



**UNIVERSIDADE DE ÉVORA**

**ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**Efeito do Estado Vegetativo e do Tempo de  
Fermentação da Silagem de Grão Húmido de Milho  
na Digestibilidade do Amido**

**Célia Sofia Rita Fernandes**

Orientação: Amadeu António G. B. Freitas

Luís Manuel F. M. B. Queirós

**Mestrado em Zootecnia**

Dissertação

Évora, 2013



**UNIVERSIDADE DE ÉVORA**

**ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**Efeito do Estado Vegetativo e do Tempo de  
Fermentação da Silagem de Grão Húmido de Milho  
na Digestibilidade do Amido**

**Célia Sofia Rita Fernandes**

Orientação: Amadeu António G. B. Freitas

Luís Queirós

**Mestrado em Zootecnia**

Dissertação

Évora, 2013



## RESUMO

Efeito do Estado Vegetativo e do Tempo de Fermentação da Silagem de Grão Húmido de Milho na Digestibilidade do Amido

Este trabalho teve como objectivo o estudo do efeito do estado vegetativo do grão de milho no momento da colheita (35 e 25%) e da fermentação (0, 90 e 180 dias) sobre o teor em matéria seca, o teor em amido e a digestibilidade do amido da silagem de grão húmido de milho (“pastone”).

Aos 35% de humidade do grão à colheita, os teores em amido são maiores, visto que amido atinge maiores teores quando o grão é colhido entre os 30 e 35% de humidade.

O efeito do tempo de fermentação nas características do “pastone” influenciou a digestibilidade do amido que aumentou com o tempo de fermentação. A exposição do amido ao ataque microbiano e enzimático resultante da ação mecânica da moagem e dos ácidos orgânicos resultantes do processo de fermentação quebram as ligações entre as proteínas e o amido, fazendo com que este se torne mais disponível.

Palavras-chave: milho, silagem, digestibilidade do amido, tempo de fermentação, estado vegetativo.

## ABSTRACT

Effect of the Vegetative Status and the Fermentation Period of Wet Corn Grain Silage on Starch Digestibility

This work aimed to study the effect of moisture content of corn grain at the time of harvesting (35 and 25%) and its fermentation period (0, 90 and 180 days) on dry matter content, starch content and starch digestibility in the High Moisture Corn.

At 35% of moisture when harvesting the grain, the starch levels were the highest. This factor is pragmatic as the starch levels reach its peak when the grain is harvested with a moisture level between 30 and 35%.

The effects of fermentation period on the High Moisture Corn technical features, caused an increase of starch digestibility due to the exposure to microbial and enzymatic activity originated from the mechanical action of grinding and organic acids resultant from the fermentation process, breaking the links between proteins and starch, causing it to become available.

Key words: corn grain, starch digestibility fermentation time, vegetative states

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que contribuíram para a elaboração desta tese, nomeadamente:

Ao professor Dr. Amadeu António Gomes Borges Freitas, por ter aceitado ser meu orientador neste trabalho pela disponibilidade, atenção e amizade que demonstrou ter para comigo;

Ao co-orientador Luís Queirós e aos colaboradores da empresa Pioneer pela disponibilidade em campo, obrigada Raquel Cortesão e Vasco;

Agradecer também ao professor José Manuel pela ajuda preciosa e amizade que demonstrou ter para comigo;

Uma palavra especial à minha mãe, irmão e cunhada, que tornaram realidade este meu desejo, apoiando-me sempre nos momentos mais difíceis. O apoio deles, a atenção e carinho nunca serão por mim esquecidos e há-de ser sempre recordado. Um obrigado muito sincero e de coração;

A todos os meus amigos mais próximos, um obrigado pelo apoio, atenção e gargalhadas;

À minha turma por todo o apoio e camaradagem e um especial obrigado à Catarina Vazquez;

A todas as pessoas, que não sendo nomeadas, influenciaram directa ou indirectamente este trabalho e o tornaram possível.

Muito obrigada  
*Célia Fernandes*

## ÍNDICE GERAL

Resumo .....	I
Abstract .....	II
Agradecimentos.....	III
Índice Geral .....	VI

## **CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO ..... 1**

## **CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA ..... 4**

1.1 - Silagem de Grão Húmido de Milho – “Pastone” .....	5
1.2 - Processo Produtivo .....	7
1.2.1 – Colheita .....	7
1.2.2 - Processamento do grão .....	12
1.2.3 - Armazenamento, compactação e vedação do silo .....	14
1.3 - Processos Fermentativos .....	17
1.3.1 - Fase Aeróbia.....	17
1.3.2 - Fase Anaeróbia.....	19
1.4 - Abertura do Silo .....	21
1.5 - Indicadores da Qualidade Fermentativa.....	22
2 - Valor Nutritivo da Silagem de Grão Húmido de Milho“Pastone”.....	24
2.1 - Matéria Seca.....	24

2.2 – Cinzas.....	27
2.3 - Extracto Etéreo.....	28
2.4 - Proteína Bruta.....	28
2.5 - Fibra Neutro Detergente.....	29
2.6 - Fibra Ácido Detergente.....	30
2.7 – Amido.....	31
2.7.1 - Digestibilidade do amido.....	32
2.7.1.1 - Características do grão – vitreosidade.....	33
2.7.1.2 - Processamento do grão.....	35
2.7.1.3 - Fermentação do amido e duração da fermentação.....	37
2.8 - “Pastone” na alimentação de vacas de leite.....	39
<b>CAPÍTULO III – MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>42</b>
1.1 – Materiais.....	43
1.1.1 - Delineamento experimental.....	43
1.2 – Metodologia.....	44
1.2.1 - Caracterização da exploração.....	44
1.2.2 - Recolha e processamento das espigas de milho .....	44
1.2.3 – Ensilagem .....	46
1.2.4 – Armazenamento .....	48
1.2.5 – Abertura dos mini silos .....	48
1.3 – Análises Laboratoriais.....	49
1.4 – Análise Estatística.....	50



<b>CAPÍTULO IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>51</b>
1.1 - Resultados .....	52
1.2 - Efeito do teor de humidade do grão na altura da colheita nas características do “Pastone”.....	53
1.2.1 – Teor em matéria seca (%) .....	54
1.2.2 – Teor em amido (%MV) .....	55
1.2.3 – Teor em amido (%MS) .....	56
1.2.4 – Digestibilidade do amido (%MS) .....	58
1.3- Efeito do tempo de fermentação nas características Do “Pastone”.....	60
1.3.1 – Teor em matéria seca (%) .....	60
1.3.2 – Teor em amido (%MV) .....	61
1.3.3 – Teor em amido (%MS) .....	62
1.3.4 – Digestibilidade do amido (%MS) .....	63
 <b>CAPÍTULO V – CONCLUSÕES .....</b>	 <b>66</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>70</b>
<b>ANEXO I .....</b>	<b>78</b>
<b>ANEXO II .....</b>	<b>83</b>

# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUÇÃO**

A silagem de grão húmido de milho, vulgarmente designada por “pastone” (QUEIRÓS, 2012b) pode referir-se a dois tipos de produtos: o “pastone” de grão e o “pastone” de espigas.

O “pastone” de espigas (High Moisture Ear Corn) é produzido utilizando a espiga completa, brácteas incluídas. Na colheita utiliza-se, geralmente, uma máquina auto motriz de corte de silagem, mas com uma frente de uma ceifeira-debulhadora para “ripar” a espiga (QUEIRÓS, 2012b).

A ensilagem de “pastone” é uma técnica inovadora e de baixo custo, originando um alimento de elevada qualidade nutricional, quer para monogástricos, quer para ruminantes (ANÓNIMO, sd). Baseia-se e utiliza um dos princípios de conservação de forragens, ou seja, fermentação anaeróbia com redução do pH da massa ensilada, respeitando-se todos os cuidados em relação à colheita, compactação e vedação do silo (BERNARDES, 2007).

O momento de colheita para fazer “pastone” deve ser corretamente identificado. A decisão do momento do corte da planta deve coincidir com o estado fisiológico no qual o teor de fibra neutro detergente (NDF) se encontre diluído pelo sucessivo aumento no teor de amido, consequência do enchimento do grão (NUSSIO *et al.* 2001). JOBIM *et al.* (2003) referem que o ponto ideal de colheita é quando o grão apresenta entre 30 a 35% de humidade (70 a 65% de matéria seca (MS)).

O amido é um polissacarídeo heterogéneo, composto principalmente por moléculas de amilose e de amilopectina, ligadas por pontes de hidrogénio (VAN SOEST, 1994). A proporção da amilose (polímero linear) presente no grão é a principal influenciadora da taxa de degradação e da digestibilidade do amido.

Para QUEIRÓS (2012b) são três os factores importantes na digestibilidade do amido. O primeiro fator são as características do grão (dentado/duro) em que a vitreosidade do grão é determinada pelas proteínas existentes e pelas suas ligações com outros constituintes como o amido. Verifica-se que o aumento da

vitreosidade do grão implica uma diminuição acentuada da degradabilidade do amido. O segundo fator é o processamento do grão, que tem como objetivo aumentar a exposição dos grânulos de amido à digestão, o que pode ser feito tanto de forma mecânica (reduzindo o tamanho de partícula do grão) como química (quebrando as ligações químicas da matriz proteica que envolve o grânulo). O processamento do milho e o tamanho da partícula influenciam nos padrões de fermentação ruminal e eficiência da utilização do amido e de outros nutrientes no rúmen (PASSINI *et al.*, 2002). O terceiro e último fator, o processo e tempo de fermentação. Em virtude da fermentação que ocorre durante a ensilagem, a digestibilidade ruminal do amido do “pastone” de grão ou “pastone” de espigas aumenta ao longo do tempo de fermentação. Este aumento resulta do fato dos ácidos orgânicos produzidos no processo de fermentação hidrolisarem as ligações entre as proteínas (as zeínas, uma prolamina) e o amido.

Em síntese, o que se pretende é colher quando a planta atinge a sua maturidade fisiológica, momento em que o grão possui cerca de 30% de humidade, para se obterem maiores teores de amido disponível na alimentação animal.

O objetivo do presente trabalho foi estudar o efeito do estado vegetativo do grão de milho no momento da colheita (35 e 25%) e da fermentação (em dias de fermentação: 0, 90 e 180 dias) sobre o teor em MS, o teor em amido e a digestibilidade do amido do “pastone” de espigas.

## **CAPÍTULO II**

### **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## 1.1 - Silagem de Grão Húmido de Milho – “Pastone”

Os custos relacionados com a alimentação representam a fração maioritária dos custos de produção dos produtos de origem animal. Em termos energéticos, os carboidratos são a principal fonte de alimentação dos ruminantes (BERNARDES, 2007) e o grão de milho a principal matéria-prima energética, sendo determinante no custo da alimentação (QUEIRÓS, 2012a).

Com o aumento dos preços dos cereais, nomeadamente do milho, e portanto dos alimentos compostos para animais, muitos produtores de leite têm aumentado a incorporação de silagem de milho na dieta dos animais para reduzir os custos da alimentação, sem afectar o nível produtivo (QUEIRÓS, 2012a).

Em alternativa à silagem da planta inteira de milho, que resulta do corte e ensilagem de toda a planta forrageira, pode-se cortar e ensilar apenas a parte superior da planta (a espiga) obtendo um produto com menor teor de fibra e maior digestibilidade, ou ensilar apenas o grão húmido colhido com 35 a 40% de humidade, procedendo-se à sua trituração antes da compactação e vedação do silo, obtendo um produto com maior quantidade de energia (PIONEER, 1996).

O “pastone” segundo (QUEIRÓS, 2012b) pode-se referir a dois tipos de produtos: o “pastone” de grão e o “pastone” de espigas, sobre o qual vai ser realizado o estudo.

O “pastone” de grão (High Moisture Corn), como o nome indica, é produzido apenas com o grão de milho, colhido com uma ceifeira-debulhadora, após a sua maturação completa, para assegurar um adequado teor em amido. O grão é depois triturado convenientemente e, de seguida ensilado (QUEIRÓS, 2012b).

O “pastone” de espigas (High Moisture Ear Corn) é produzido utilizando a espiga completa, brácteas incluídas. Na colheita utiliza-se, geralmente, uma máquina auto motriz de corte de silagem, mas com uma frente de uma ceifeira-debulhadora para “ripar” a espiga (QUEIRÓS, 2012b).

Os primeiros trabalhos científicos sobre a ensilagem de grãos húmidos de cereais, nomeadamente de milho, datam do final da década de cinquenta do século passado, nos Estados Unidos, e desenvolveram-se grandemente no final dos anos setenta, quer para monogástricos, quer para ruminantes (COSTA *et al.* sd).

A utilização de “pastone”, isto é, o produto da conservação em meio anaeróbio de grãos de milho colhidos logo após a maturação fisiológica (30% de humidade), momento em que termina a transferência de nutrientes para os grãos, e em que existe o máximo de amido (COSTA *et al.* 1999) pode ser uma alternativa quer à utilização da tradicional silagem de milho, quer do grão de milho seco (farinha de milho) (QUEIRÓS, 2012a).

Este processo apresenta a vantagem de o grão de milho poder ser colhido, armazenado e consumido na exploração com menores custos directos e indirectos associados às operações de pós-colheita. De acordo com NUMMER (2001) a redução de custos na alimentação animal pode representar 20 a 30% nos bovinos de carne, 20% nos bovinos de leite e 15 a 25% nos suínos.

QUEIRÓS (2012b) refere o elevado valor energético destes alimentos, afirmando que a utilização destas silagens na alimentação de vacas leiteiras é uma forma vantajosa de diminuir os custos de produção, nomeadamente quando os preços da farinha de milho são elevados, podendo esta ser substituída integralmente em determinadas fases do ciclo produtivo da vaca leiteira. Este autor salienta que o custo de produção é competitivo e que esta tecnologia pode ser atrativa para o produtor de grão, já que este pode decidir entre comercializar o grão com 14% de humidade ou vender o grão para “pastone”, poupando os custos de secagem.

A ensilagem de “pastone” é uma técnica de baixos custos, originando um alimento de elevada qualidade nutricional para bovinos, ovinos, equinos e coelhos. Baseia-se e utiliza o princípio de conservação de qualquer forragem húmida, ou seja, fermentação anaeróbia com redução do pH da massa ensilada, respeitando-se todos os cuidados em relação à colheita, compactação e vedação do silo (BERNARDES, 2007)

## **1.2 - Processo Produtivo**

Os factores fundamentais da metodologia para obtenção de silagem de “pastone”, de acordo com NUMMER (2001) e QUEIRÓS (2012b) são a colheita do milho com uma percentagem adequada de humidade, o processamento do grão (ou das espigas) e um correto e rápido processo de ensilagem (enchimento do silo, compactação do material ensilado e vedação do silo).

### **1.2.1 - Colheita**

O momento da colheita do milho é fundamental para a obtenção de “pastone” de boa qualidade, uma vez que no ciclo produtivo do milho o grão atinge a maturidade fisiológica antes de alcançar a maturidade comercial, que ocorre normalmente com 14% de humidade. Ao atingir a maturidade fisiológica, o grão alcança o máximo peso seco e o teor mais elevado em proteína e em carboidratos. Alcançada a maturidade fisiológica, a comunicação vascular entre o grão e o resto da planta é cortada e o grão começa a desidratar-se até chegar a um teor de humidade de cerca de 14%, momento em que ocorre a colheita convencional (MAGNASCO e MICHELINI, 2006).

O momento de colheita para fazer silagem de “pastone” deve ser corretamente identificado, já que a colheita antes da maturidade fisiológica se traduz em colher menos MS e nutrientes por hectare e pode conduzir a uma maior



duração da fermentação, que implicará uma maior perda de energia durante a ensilagem (MAGNASCO e MICHELINI, 2006; QUEIRÓS, 2012b). Por outro lado, o atraso na colheita, com o conseqüente aumento do teor em MS do grão, pode-se traduzir no aumento da dificuldade de se realizar uma boa compactação do material ensilado, o que facilitará o desenvolvimento de fungos, com o conseqüente aquecimento da silagem e perda de nutrientes (QUEIRÓS, 2012b). MAGNASCO e MICHELINI (2006) referem que a colheita do milho após a sua maturação, para além de originar um menor rendimento produtivo devido ao aumento das perdas que ocorrem devido a ação da máquina de colheita (quanto mais seco o grão estiver, maiores serão as perdas), também se reflete numa menor qualidade do grão, em virtude da diminuição do conteúdo em proteínas e do teor e qualidade do amido.

COSTA *et al.* (1999) referem que o grão de milho para “pastone” deve ser colhido logo após a sua maturação fisiológica, quando possui cerca de 30% de humidade e atinge os maiores teores de amido. Também JOBIM *et al.* (2003) referem que o ponto ideal de colheita é quando o grão apresenta 30 a 35% de humidade (70 a 65% de MS), acrescentando que a espiga apresenta as brácteas (camisas) secas e o grão já completou a maturação fisiológica. Este aspeto também é referenciado por NUMMER (2001) salientando que os melhores resultados têm sido obtidos com teores de humidade entre os 32 e 35%.

Segundo JOBIM *et al.* (2003), o ponto ideal de colheita ocorre quando o grão apresentar entre 32 a 36% de humidade, com um mínimo de 26 e um máximo de 40%. Após o grão atingir os 30 a 35% de humidade, a perda de água por simples evaporação para o ambiente pode ficar entre 1 e 2 pontos percentuais, o que requer muita atenção para não se perder o ponto ideal de colheita. Já o milho muito húmido (mais de 40% de umidade) pode não ter atingido a maturação fisiológica, como a conseqüente perda do valor nutricional.

BERNARDES (2008) considera que os teores em MS e em amido são essenciais para a qualidade da silagem, considerando que a colheita, quando a

planta ainda não apresenta teor de MS desejado (inferior a 30%) e o grão não acumulou uma quantidade suficiente (próxima da máxima) de amido, não é adequada. No entanto, este autor considera também que teores acima dos 35-37% também não são aconselhados, pois aumentam a resistência da massa ensilada à compactação, e teores de MS acima dos 40% exigem também uma maior potência do equipamento utilizado na colheita para manter o tamanho das partículas uniformes.

LAUER (1999) sugeriu que o teor de MS da planta deverá ser o critério utilizado para a confirmação do ponto ideal de colheita da planta de milho para ensilagem, sendo a evolução da linha de leite ou linha de solidificação do endosperma no grão o principal factor indicador do momento da colheita.

De acordo com QUEIRÓS (2012b) o momento ideal de corte do milho para produzir “pastone” difere do da colheita para fazer silagem de milho, devendo ser quando a humidade do grão se situar entre 28 e 35%, passando dos 2/3 da linha de leite para a maturação fisiológica da planta, uma vez que a partir daí não existirá mais deposição de amido no grão. Segundo TOLEDO (1980) e COSTA *et al.* (2002), a maturação fisiológica corresponde ao momento em que termina a transferência de nutrientes para o grão e é determinada pela ocorrência de uma “camada preta” no ponto de inserção do grão com o carolo, conforme se pode observar na Figura 1.

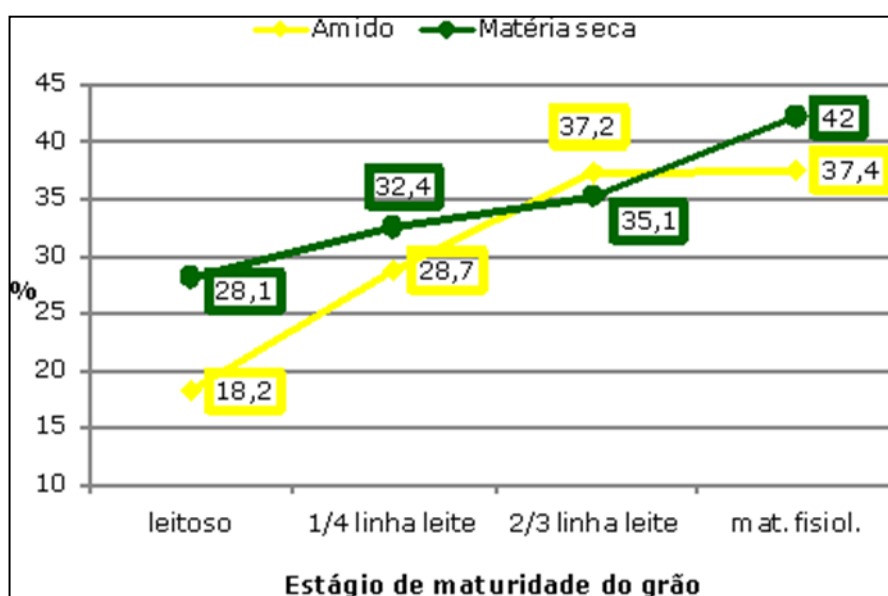


**Figura 1** – “Camada preta” no ponto de inserção do grão com o carolo  
**Fonte** - Marques (2008)

QUEIRÓS (2012b) salienta que para colheitas com a mesma humidade do grão, o “pastone” de espigas terá sempre mais 4 a 6% de humidade que o “pastone” de grão, devido à presença do carolo.

A determinação do teor em humidade para saber o momento adequado para a colheita pode ser efectuada em laboratório através da utilização de estufas ou com um determinador universal. Já no campo, o agricultor deve seleccionar algumas espigas, em diferentes pontos do campo de cultura, quebrá-las ao meio e observar nos grãos centrais da espiga se está formada a camada preta na base do grão. Se tal acontecer, será indício de que a humidade está entre 32 e 35%, ponto de maturação fisiológica (NUMMER, 2001).

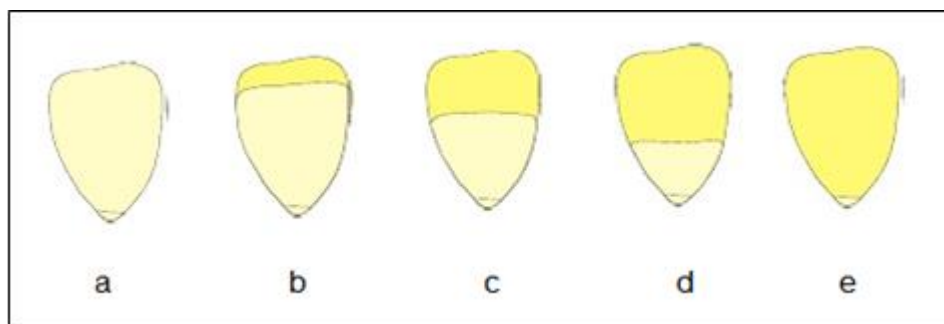
A maturidade fisiológica da planta é a chave do sucesso da produção de silagem de milho, uma vez que possibilita maximizar a produção de amido. Esta maximização ocorre quando os grãos atingem entre 50 a 60 % na linha de leite e a planta apresenta um teor de MS entre 32 a 35%. Conforme se pode observar na Figura 2, na planta colhida com um teor de MS inferior a 28-30%, o grão ainda não atingiu o teor máximo em amido. Quando o teor em MS passa de 28,1 (estado de grão leitoso) para 35,1% (2/3 da linha de leite) a concentração de amido passa de 28,7 para 37,2%, correspondendo a um aumento de 19 kg de amido por cada 100 kg de forragem.



**Figura 2** – Influência do estado de maturação do grão quanto ao teor de MS e de amido na planta de milho

Fonte - BAL *et al.* (1997)

De acordo com MARQUES (2008) a linha de solidificação do endosperma, também designada por linha de leite, é um excelente indicador do ponto de colheita do milho. Na Figura 3 pode-se observar os cinco estados de desenvolvimento da linha de leite do endosperma do grão de milho.



**Figura 3** – Representação esquemática dos cinco estados da linha de leite, (a) 0%, (b) 25%, (c) 50%, (d) 75% e (e) 100% de solidificação.

**Fonte** – Marques (2008)

A linha de leite do endosperma visível na parte posterior do grão, isto é, na face voltada para a base da espiga, pode ser dividida em 5 estados de desenvolvimento (MARQUES, 2008):

1º Estado: o endosperma encontra-se totalmente líquido, sem nenhum sinal evidente de solidificação;

2º Estado: 25% do endosperma encontra-se endurecido no ápice do grão de milho, sendo visível a linha que separa a fase líquida da sólida do endosperma;

3º Estado: 50% do endosperma encontra-se endurecido e a linha de solidificação é visível na porção mediana do grão;

4º estado: 75% do endosperma está endurecido e a linha de solidificação aproxima-se da base do grão; este estado, em geral, coincide com a maturidade fisiológica do grão de milho;

5º Estado: 100% do endosperma está endurecido e a linha de solidificação já não visível.

De acordo com NUSSIO *et al.* (2001) o momento ideal de colheita deve ser quando a planta atinge um estado fisiológico onde seja possível conciliar a maior acumulação líquida de biomassa, tanto de grão como da planta toda. Assim, a colheita deve-se realizar quando existir uma maior percentagem do grão relativamente à espiga, originando uma diminuição do teor em NDF, sem alteração da digestibilidade e do teor energético, favorecendo o processo fermentativo e originando um aumento da quantidade ingerida.

### **1.2.2 - Processamento do grão**

De forma semelhante ao que acontece com a silagem da planta inteira de milho, também no “pastone” o processamento do grão é fundamental para a obtenção de um produto de qualidade. De acordo com QUEIRÓS (2012b) é importante assegurar que pelo menos 90% dos grãos sejam partidos. Assim, antes de ser colocado no silo, o grão de milho deve ser triturado, transportado para o silo e compactado o mais rapidamente possível, visando obter uma silagem de alta qualidade.

Para moer o milho são utilizados moinhos trituradores ou moinhos laminadores, funcionando através de energia eléctrica ou movidos por energia da tomada de força do tractor. Também existem máquinas no mercado (Moedoras Ensiladoras) que permitem realizar numa única operação a colheita e a moagem dos grãos com a granulometria desejada, e o enchimento do silo com a compactação adequada, eliminando assim os riscos de perdas e garantindo a qualidade do produto ensilado (NUMMER, 2001).

No processo de ensilagem do grão húmido, os rolos moedores devem ser regulados de forma a obter-se uma granulometria desejada e uma perfeita compactação do material ensilado, garantindo um perfeito ambiente anaeróbio. NUMMER (2001) salienta que o processamento do grão tem como principal

objectivo favorecer a compactação do material ensilado e deve ter em consideração a espécie animal que utilizará a silagem, referindo que, de acordo com o tipo de moinho utilizado, os grãos podem ser moídos finos, quando se destinam a suínos, ou quebrados ou laminados, se a silagem se destinar a bovinos de carne e leite e ovinos.

Segundo COSTA *et al.* (sd) a variação do tamanho das partículas deve estar entre 0,5 e 2,5 mm o que vai facilitar a compactação do material e a eliminação do ar na massa ensilada. A variação entre o maior e o menor tamanho da partícula não deve ultrapassar 20%.

QUEIRÓS (2012b) refere que a qualidade do processamento do grão de milho pode, e deve ser, avaliada através de uma análise laboratorial ao tamanho médio das partículas de grão. Segundo este autor, no “pastone” destinado à alimentação de ruminantes (vacas leiteiras) esta avaliação, utilizando um conjunto de crivos, deve ter como objectivo determinar a percentagem de grão com partículas superiores a 4,75 mm, uma vez que as partículas com uma dimensão inferior a 4,75 mm, ao chegarem ao rúmen, ficam imediatamente disponíveis para a flora microbiana. De forma a garantir a obtenção de “pastone” de elevada qualidade para ruminantes, deve-se garantir, em termos ideais, que 70% do grão de milho tenha uma dimensão inferior a 4,75 mm (QUEIRÓS, 2012b).

### 1.2.3 - Armazenamento, compactação e vedação do silo

Tradicionalmente a silagem de milho, quer de planta inteira, quer de espigas ou de grão húmido, era feita utilizando silos tipo trincheira, também designados por “bunkers”, conforme se ilustra na Figura 4.



**Figura 4** – Silo de trincheira ou bunker

**Fonte** – Google ([www.geocities.ws](http://www.geocities.ws) ) ([www.dejongandsons.ca](http://www.dejongandsons.ca))

Mais recentemente, surgiram os silos tipo bag (Silo-tubo tipo salsicha) que são muito utilizados nos Estados Unidos, Canadá e Europa, bem como na Argentina e no Brasil, para ensilar grãos húmidos de milho. Segundo NUSSIO *et al.* (1999) este tipo de silo permite o armazenamento da silagem num tubo de plástico flexível, com 1,5 a 3,0 metros de diâmetro e 60 a 80 metros de comprimento. Com recurso a maquinaria apropriada, é possível assegurar uma capacidade de ensilar 1,3 a 2,5 toneladas por metro linear, ou seja, entre 70 e 220 toneladas por tubo.

Na Figura 5 pode-se observar este tipo de silo e a máquina utilizada no processo de enchimento.



**Figura 5** – Silo tubo (tipo salsicha) e máquina de enchimento

**Fonte** – Google ([www.reciclabag.com.br](http://www.reciclabag.com.br))

QUEIRÓS (2012b) também refere que o “pastone” pode ser conservado num silo normal ou em silo tipo chouriço, salientando que a utilização deste último tipo de silo implica ter em atenção que a renovação da silagem será mais lenta, pelo que é fundamental adequar a largura do silo à quantidade diária utilizada de modo a não comprometer a estabilidade aeróbica do silo.

O mesmo autor chama a atenção para o facto de um dos principais problemas para maximizar o valor nutritivo do “pastone” é a sua susceptibilidade à deterioração aeróbica (pós-fermentação), pelo que é aconselhável o uso de inoculante. Os inoculantes favorecem uma fermentação mais eficiente, diminuindo a proteólise e a desaminação da proteína, tornando mais eficiente a utilização dos açúcares solúveis, originando menores perdas de MS (cerca de um terço) e uma melhor estabilidade aeróbica, o que se pode traduzir no melhoramento da performance animal entre 5 e 10%, comparativamente à silagem sem inoculantes.



Os silos devem, de preferência, estar localizados próximo do local de consumo dos animais, de forma a minimizar perdas durante a fase de abertura dos silos e do fornecimento da silagem aos animais (BERNARDES *et al.* 2005; SIQUEIRA *et al.* 2005).

A presença de oxigénio ( $O_2$ ) na frente do silo e o seu avanço para as camadas internas durante a sua utilização determinam a multiplicação, de alguns grupos de microrganismos aeróbios que consomem os compostos energéticos presentes na silagem (PAHLOW *et al.* 1999), o que eleva as perdas de MS e a diminuição do valor nutritivo, repercutindo-se negativamente no desempenho produtivo dos animais. Desta forma, o enchimento do silo tipo trincheira ou “bunker” deve ser efectuado por camadas distribuídas uniformemente com aproximadamente 20 cm cada. No processo de enchimento do silo deve ser dada extrema atenção à compactação do material a ensilar, independentemente do tipo de silo utilizado, já que quanto melhor for a compactação melhor vai ser a qualidade da silagem (NUMMER, 2001). Assim, é importante que o enchimento do silo seja feito o mais rápido possível, e que se estabeleçam rapidamente as condições de anaerobiose no material ensilado, por meio da sua compactação e da vedação hermética do silo (COSTA *et al.*, s.d).

De acordo com NUMMER (2001), a vedação do silo é importante para proteger o material ensilado da entrada de  $O_2$ . Este autor recomenda vedar todo o silo com plástico preto e de boa qualidade, de forma a evitar a entrada de ar durante o período em que o material está sendo ensilado. Por fim, colocar sobre o plástico algum peso como terra ou pneus velhos.

O tempo de armazenagem da silagem depende da compactação e da vedação do silo. Um silo fechado de forma adequada pode armazenar “pastone” durante muito tempo, podendo atingir um período máximo de 2 anos (NUMMER, 2001).

De acordo com BERNARDES (2007), este tipo de silagem apresenta um alto risco à deterioração aeróbica, quer seja no armazenamento, quer no fornecimento aos animais. Segundo este autor, a densidade da massa ensilada

é determinante nesse processo, já que aliada à concentração de MS, a porosidade do alimento vai condicionar a taxa de movimentação do ar e, conseqüentemente, o potencial de deterioração.

Num estudo realizado em silagem de milho, com o objectivo de relacionar a densidade e as perdas com os potenciais factores inerentes ao meio, MUCK e HOLMES (2001), concluíram que para além dos factores inerentes à cultura, como a concentração de MS, também a habilidade do operador e as características da maquinaria utilizada na colheita, processamento, compactação e enchimento do silo têm grande importância na qualidade da silagem obtida.

### **1.3 - Processos Fermentativos**

A conservação do alimento na forma de silagem depende da fermentação natural dos açúcares em ácidos, principalmente do ácido láctico e acético, que resultam da actividade fermentativa de bactérias lácticas homo e heterofermentativas, sob condições de anaerobiose (HENDERSON, 1993).

Após o enchimento e vedação do silo inicia-se a fermentação da silagem, ocorrendo, quando todo o processo de ensilagem é cuidadosamente executado, duas fases distintas: uma fase aeróbia e uma anaeróbia.

#### **1.3.1 - Fase Aeróbia**

A fase aeróbia é a fase que ocorre desde a colheita do material biológico para ensilar até ao esgotamento de O<sub>2</sub> no silo. Nesta fase as células da planta continuam a viver utilizando o O<sub>2</sub> disponível, o que leva à perda de qualidade do produto ensilado. Daí a necessidade de compactar bem o silo e fechá-lo rapidamente.

Segundo COSTA *et al.* (sd) nesta fase ocorre respiração celular na massa ensilada ainda viva e a respiração dos microrganismos aeróbios (bactérias como os *Clostridium*, *Coliformes* e fungos) presentes na massa ensilada.

SILVA (2005) refere que ao colocar-se o grão de milho triturado no silo, ocorre respiração e actividade enzimática importante para a conservação da matéria-prima. A respiração dá origem à transformação completa dos hidratos de carbono solúveis (açúcares) da planta em dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e água, ocorrendo libertação de calor. Ao mesmo tempo as proteases da planta degradam as proteínas, com produção de aminas (asparagina e glutamina) e peptídeos. COSTA *et al.* (sd) também referem que na respiração são utilizados os carboidratos solúveis presentes na massa, produzindo o CO<sub>2</sub>, a água, e gerando calor, com a consequente elevação da temperatura. Nesta fase, a produção excessiva de calor (> 44 °C) pode resultar em reacções de Maillard, reduzindo a digestibilidade da proteína e componentes da fibra (SILVA, 2005). Outro aspeto importante é a perda de hidratos de carbono solúveis, principal substrato das bactérias lácticas para a síntese de ácidos orgânicos necessários à preservação da silagem.

De acordo com BERNARDES (2007) o O<sub>2</sub> pode penetrar na massa mesmo quando o silo se encontra fechado, mas, sobretudo durante a fase de recolha e fornecimento da silagem aos animais. Segundo PAHLOW *et al.* (1999) a presença de O<sub>2</sub> na face do silo e seu respectivo avanço para as camadas internas durante a sua utilização determina a multiplicação de alguns grupos de microrganismos aeróbios que consomem os compostos energéticos presentes na silagem, o que eleva as perdas de MS e diminui o valor nutritivo, repercutindo-se negativamente sobre o desempenho produtivo dos animais. SIQUEIRA *et al.* (2005) salientam que o “pastone” representa um substrato de alto valor nutricional para o desenvolvimento dos microrganismos oportunistas e responsáveis pela deterioração aeróbia, caracterizando-a como uma silagem de alta degradação aeróbia. De acordo com estes autores, quando as silagens são expostas ao ar, os microrganismos oportunistas iniciam actividade

metabólica produzindo calor e consumindo nutrientes, e alguns produtos da fermentação passam a ser substrato para microrganismos outrora latentes, que se começam a desenvolver. A oxidação no pós-abertura será tanto mais intensa, quanto melhor for a qualidade da silagem, em função dos maiores teores de hidratos de carbono solúveis residuais.

A fase aeróbia termina quando todo o O<sub>2</sub> é esgotado com duração de pouco mais de 24 horas, e o pH da silagem inicia a queda nos seus valores.

### 1.3.2 - Fase Anaeróbia

Na fase anaeróbia, as células morrem e as bactérias começam a fermentação dos glúcidos. No decorrer desta fermentação é libertado ácido láctico, acidificando o meio. As bactérias lácticas são a microflora mais importante da silagem, pois esta é preservada pela redução do pH no meio produzido pelo ácido láctico (SILVA, 2005).

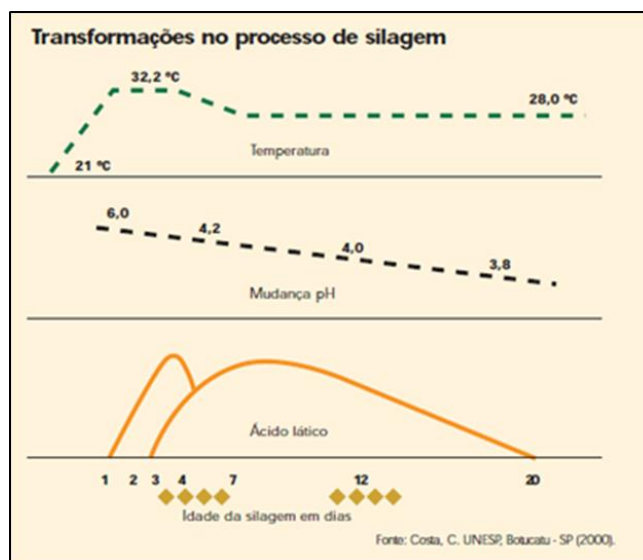
As enterobactérias são as primeiras bactérias a se desenvolverem, produzindo ácidos gordos voláteis (AGVs), principalmente ácido acético, com abaixamento do pH de 6,5 para 5,5. Ao mesmo tempo, desenvolvem-se as bactérias *Streptococcus faecalis*, originando produção de ácido láctico e o abaixamento do pH de 5,5 para 5,0 (COSTA *et al.*, sd).

LIN *et al.* (1992) referem que outros microrganismos, principalmente as enterobactérias do género *Clostridium*, têm impactos negativos sobre a silagem, podendo causar fermentação secundária, convertendo açúcares e ácidos orgânicos em ácido butírico, resultando em perdas de MS e energia digestível. Também, transformam aminoácidos em outros produtos, como a amónia e ácidos orgânicos voláteis. As enterobactérias têm pH óptimo médio de 6,5 e não crescem quando esse valor é inferior a 5. Assim, a população de enterobactérias é normalmente alta na silagem e activa durante as primeiras 12 a 36 h de ensilagem. Com a redução de pH a população de enterobactérias diminui rapidamente e o processo fermentativo pára quando o pH for inferior a

4, levando entre 3 a 4 semanas a que este processo se complete. O pH baixo inibe o crescimento de microrganismos indesejáveis, como as bactérias do género *Clostridium* (KUNG & MUCK, 1997). O crescimento de enterobactérias não se verifica ou não é comum no “pastone”, pela rápida redução do pH e seu grau de humidade baixo (SILVA, 2005).

Após o desenvolvimento das bactérias lácticas, o produto ensilado passa para a fase estável. Se o silo estiver correctamente fechado e o pH baixo, a actividade biológica será pequena (SILVA, 2005).

Na Figura 6 pode-se observar a evolução da temperatura e do pH ao longo do processo de ensilagem.



**Figura 6** – Transformações no processo de silagem

**Fonte** – COSTA (s.d)

## 1.4 - Abertura do Silo

BITTENCOURT (2007) refere que o silo deve permanecer fechado no mínimo 21 dias, tempo necessário para que ocorram os principais processos de fermentação e a silagem atinja a estabilidade. Decorrido esse período, o silo pode ser aberto e o volumoso consumido. Uma vez aberto o silo, a entrada de ar faz com que os microorganismos que se encontravam em dormência pela anaerobiose (ausência de ar) possam multiplicar-se rapidamente, o que provoca a deterioração da silagem. Este é um processo irreversível e manifesta-se, sobretudo, com a elevação da temperatura e o aparecimento de fungos na forragem ensilada.

De acordo com WOOLFORD (1984) e MUCK & PITT (1993) a abertura do silo expõe a silagem ao O<sub>2</sub>, o que pode provocar perdas nutricionais pela ação de microorganismos aeróbios que consomem açúcares, produtos de fermentação (ácidos lácticos e acéticos) e outros nutrientes solúveis na silagem.

Segundo McDONALD *et al.* (1991) o facto de serem microaeróbios ou aeróbios, vai fazer com que haja um crescimento rápido e quando a concentração de bactérias ou leveduras atinge 10<sup>7</sup> unidades formadoras de colónias por grama de silagem, ocorre o aquecimento da massa ensilada e perda significativa de nutrientes. O tempo requerido para que ocorra aquecimento depende de factores como: a concentração de microorganismos aeróbios, o tempo de exposição ao O<sub>2</sub>, as características de fermentação da silagem e a temperatura ambiente.

Para evitar perdas a forragem deve ser retirada em fatias e/ou camadas de no mínimo 20 a 30 cm/dia, o que implica um correto dimensionamento do silo, a fim de permitir que uma fatia completa seja retirada diariamente. A formação de degraus ou dentes deve ser evitada, pois aumenta a superfície de exposição ao ar e, conseqüentemente, a degradação aeróbica (BITTENCOURT, 2007).

## 1.5 - Indicadores da Qualidade Fermentativa

Tradicionalmente, uma rápida e simples maneira de se fazer uma avaliação bromatológica da silagem é verificar se apresenta um odor agradável, se possui aspeto uniforme e se está a ser consumida pelos animais. Para além destas características subjectivas e de fácil avaliação que se podem verificar directamente na silagem, existem outros parâmetros como o pH e a concentração em ácidos orgânicos (lático, acético, propiónico, butírico), que permitem avaliar a qualidade da silagem (TORRES e MORGADO, sd).

Segundo JOBIM *et al.* (2007) o pH do “pastone” tem sido considerado um importante indicador da qualidade de fermentação, sendo actualmente utilizado com critério para inferir a qualidade de fermentação, uma vez que silagens de materiais com baixo teor de humidade invariavelmente apresentam valores de pH elevados, geralmente acima de 4,2. Porém, CHERNEY & CHERNEY (2003) consideram que o pH permanece como um bom indicador da qualidade de fermentação em silagens com baixo teor de MS, apesar de não o considerarem adequado para silagens com MS elevada.

Após o processo fermentativo estabilizar e segundo SILVA (2005), o “pastone” de boa qualidade deve apresentar valores de pH entre 3,5 e 4. De acordo com OSHIMA & McDONALD (1977) valores elevados de pH podem ocorrer quando se faz uma colheita tardia, quando existe carência de substrato para as bactérias produzirem ácidos orgânicos, o teor de humidade é baixo e existe exposição ao ar.

Em ensaios realizados por ÍTAVO *et al.* (2006) determinou-se um valor médio de pH de 3,97 em “pastone” aos 64 dias, de grandeza semelhante aos obtidos por PHILLIP & FELLNER (1992) e por PETIT & SANTOS (1996) respectivamente de 3,91 e de 3,90.

O teor em ácidos orgânicos da silagem também permite avaliar a sua qualidade. Num “pastone” bem conservada, o ácido lático deve ser predominante, apresentando normalmente um teor entre 6 e 8% MS. Os

restantes ácidos orgânicos devem ter uma expressão muito menor. Em termos gerais, numa silagem de boa qualidade o ácido acético deverá ter uma concentração inferior a 2%, o propiónico inferior a 1% e o butírico menos de 0,1% (TORRES e MORGADO, sd).

Quando o silo é aberto, o ácido láctico pode servir de substrato para os microrganismos deterioradores, o que determinará a redução da estabilidade aeróbia da silagem (KUNG *et al.*, 2003). O aumento de outros ácidos, como o acético, o propiónico e o butírico, poderá aumentar a estabilidade, pois são inibidores de fungos deterioradores (MOON, 1983), o que ocorre naturalmente em “pastone”, no decurso de fermentações inadequadas (ANDRADE & MELOTTI, 2003; SILVA *et al.* 2005).



## **2 - Valor Nutritivo da Silagem de Grão Húmido de Milho – “Pastone”**

A qualidade de uma silagem depende, por um lado da qualidade da conservação, relacionada com os produtos finais resultantes da fermentação do material biológico ensilado e, por outro, do seu valor nutritivo, que está directamente associado à sua composição química (QUIROZ, 2009)

O valor nutritivo das silagens deriva do seu conteúdo em princípios nutritivos (proteína, fibra, amido, etc) e das respectivas digestibilidades e depende da composição química da matéria-prima no momento da colheita e das modificações químicas que ocorrem durante o processo de ensilagem.

### **2.1 - Matéria Seca**

O conhecimento do teor em MS da silagem é importante não apenas como um componente analítico do valor nutritivo, mas também porque os outros componentes (proteína bruta, fibra bruta, amido, etc) podem ser expressos na base da MS. A MS permite expressar os resultados de análises realizadas em diferentes épocas, locais ou regiões, na mesma base, possibilitando a sua comparação (COSTA *et al.*, s.d.).

O teor em MS da silagem está relacionado com o teor dos diferentes princípios nutritivos que permaneceram na matéria-prima durante o processo de ensilagem. Por outro lado, as perdas de MS que ocorrem durante o processo correspondem também a perdas de outros nutrientes como a proteína bruta e o amido (QUIROZ, 2009).

Segundo BAL *et al.* (1997) o aumento do teor de MS está normalmente associado ao aumento do consumo voluntário de MS da silagem e/ou da produção de leite, sendo os melhores resultados obtidos, em silagens com teores de MS entre 30 e 35%.

JOBIM *et al.* (1997) salientam que a composição química do “pastone” pode variar em função do teor de humidade no momento da ensilagem e da proporção de carolo presente, entre outros fatores. Estes factores podem explicar a variação do teor em MS do “pastone”. Os mesmos autores referem que teores de humidade acima de 35% (65% de MS) favorecem as perdas de MS, podendo alterar significativamente os conteúdos em azoto e em carboidratos solúveis. No entanto, LAVEZZO *et al.* (1997) estudaram o efeito do estado de desenvolvimento do milho sobre a produção, a composição da planta e a qualidade da silagem, concluindo que existia uma razoável flexibilidade quanto à escolha do momento de corte, factor observado pela manutenção da composição bromatológica do material, e das silagens obtidas quando as plantas de milho fossem cortadas com teores de MS variando de 23,5 (grãos no estágio leitoso) a 30,7% (grãos no estágio semi-duro).

JOBIM *et al.* (2003) numa compilação dos teores da composição química do “pastone” determinada por diferentes autores, apresentam teores de MS variando entre 61,4 e 73,5%. Mais recentemente, JOBIM *et al.* (2010) referem que o “pastone” apresenta normalmente teores de MS entre 64 e 70%, esclarecendo que esses valores são obtidos no estágio de maturação fisiológica completa, momento da colheita mais adequado para obter-se equilíbrio na qualidade dos grãos e boa qualidade de fermentação no silo.

Segundo PRIGGE *et al.* (1976) alguns estudos têm mostrado que a solubilização do azoto ocorre durante o período de fermentação e armazenamento do “pastone”, uma vez que teores de humidade acima de 35% favorecem as perdas de MS, podendo alterar significativamente os conteúdos de azoto e de carboidratos solúveis. Assim, o teor em azoto proteico diminui ao longo do tempo de armazenagem. O aumento na quantidade de azoto solúvel

pode resultar da solubilização ácida ou da proteólise pela ação de microrganismos.

No triticale, a presença de grandes quantidades de carboidratos de rápida fermentação, segundo ROJAS *et al.* (1991), pode resultar num maior desenvolvimento de microrganismos especializados na degradação de açúcares e amido, prejudicando desta forma os especializados na degradação dos componentes da fibra e conseqüentemente, reduzir a digestibilidade da MS.

Quanto à digestibilidade da MS, NUSSIO *et al.* (2001) verificaram uma variação mínima com o aumento do teor de MS na planta desde o estado de grão leitoso até ao de grão duro.

HOLMES *et al.* (1973) avaliando o “pastone” em suínos, obtiveram coeficientes de digestibilidade total da MS, energia e azoto maiores com uma ração contendo “pastone” do que com grão de milho seco.

Já JOBIM *et al.* (2003) referem que estudos com “pastone” têm comprovado que há um aumento na digestibilidade da matéria orgânica, devido ao aumento na digestão do amido, principal componente do grão.

Segundo PHILIPPEAU *et al.* (1996) antes de se completar a maturação do grão, a matriz proteica que encobre os grânulos de amido no milho duro, já está em formação e limitará a digestão ruminal do amido. Em razão disso, a colheita do milho para silagem com maior teor de umidade, em relação ao grão seco, pode ter efeito benéfico sobre a digestibilidade ruminal da MS, visto que a degradabilidade do amido do grão normalmente diminui com o avanço da maturidade (JOBIM *et al.* 2003).

Estudos realizados por PHILIPPEAU *et al.* (1996) demonstram que o estado de maturação do grão de milho tem uma forte variabilidade na degradação ruminal do amido em função do genótipo (dentado, duro), verificando-se uma redução de ~30% (62,2 para 47,8%) e de ~26% (87,0 para 69,0%) quando o teor de MS da planta passou de 30 para 35%, respectivamente, para milho duro e milho dentado. Esta redução é independente do genótipo e é ligada, em grande parte, à diminuição da proporção de amido rapidamente degradável.

## 2.2 – Cinzas

As cinzas ou Matéria Mineral (MM) quantificam o conteúdo em elementos minerais, sendo determinada através da incineração da amostra do alimento numa mufla a 550° C até se obter uma cinza bem clara, indicando a ausência de matéria orgânica (MO). Diminuindo ao teor em MS o teor em MM, obtém-se o teor em MO (COSTA *et al.* s.d.).

O “pastone” apresenta um teor reduzido em minerais. JOBIM *et al.* (2010) referem valores variando entre 0,9 e 1,8%, salientando que essa variação pode ser atribuída às diferenças do híbrido de milho utilizado e à magnitude das perdas de compostos solúveis no processo de ensilagem. SILVA (2005) para valores corrigidos de MS para 87,45%, refere um teor médio de 0,23% de fósforo total e de 0,01% de cálcio.

Valores elevados de MM podem indiciar a ocorrência de contaminação com terra do material ensilado (Argenteria *et al.* 1997, citados por QUIROZ, 2009) ou ser indicativo de perdas, pois quando ocorre uma fermentação inadequada, existem perdas de material orgânico, aumentando a participação relativa de material mineral na MS (Ashbell, 1995 citado por JOBIM *et al.* 2010).

## 2.3 - Extracto Etéreo

O Extracto Etéreo (EE) representa o teor em lípidos dos alimentos, substâncias insolúveis em água, mas solúveis no éter, clorofórmio, benzeno e outros solventes orgânicos chamados de extratores (COSTA *et al.*, sd).

SILVA (2005), refere que a silagem de “pastone” com 87,35% de MS apresenta um valor médio de EE de 3,86%. Este teor não levanta problemas para a alimentação dos ruminantes, uma vez que nas dietas destes animais não se deve ultrapassar os 5% de EE, para evitar a alteração da flora microbiana normal do rúmen com incremento de protozoários, reduzindo a digestão da fibra e diminuindo o consumo animal (COSTA *et al.* s.d.).

## 2.4 - Proteína Bruta

A Proteína Bruta (PB) representa a fração azotada dos alimentos, obtida através da determinação do azoto total multiplicado, no caso do milho, pelo factor 6,25. Considera-se que, em média, a proteína tem 16% de azoto ( $16/100 = 6,25$ ), (COSTA *et al.* s.d.).

A PB é um parâmetro importante já que influencia directamente a resposta produtiva dos animais e é um factor muito importante na economia da alimentação animal.

Os teores de PB do “pastone” determinados por diferentes autores (JOBIM *et al.* 1997; DeBRABANDER *et al.* 1992; REIS *et al.* 2004, PETIT & SANTOS, 1996 e SANTOS *et al.* 2002) apresentam alguma variação, estando compreendidos entre 7,7 e 11,4%.

Esta variação foi confirmada, mais recentemente, por JOBIM *et al.* (2010) ao constatarem que, normalmente, silagens de grãos de milho apresentam valores entre 9 e 11% de PB. Diferenças na época de sementeira e de colheita, nas variedades ensiladas, nas características climáticas e na percentagem de carolo na massa ensilada podem ser responsáveis pelas variações na composição química (SANTOS *et al.* 2002).

Um aspeto importante relacionado com o teor proteico é referido por JOBIM *et al.* (2003). Estes autores referem que alguns estudos têm mostrado que a solubilização do azoto ocorre durante o período de fermentação e armazenagem do “pastone”. Assim, o teor de azoto proteico diminui ao longo do tempo de armazenagem e o aumento na quantidade de azoto solúvel pode resultar da solubilização ácida ou proteólise pela ação de microrganismos.

OLIVEIRA *et al.* (2004) determinou que a digestibilidade da PB do “pastone” foi de 84%. DE la ROZA (2005) citado por QUIROZ (2009) chama a atenção para o facto de a ensilagem ser um processo biológico onde se gera calor e se produz um aumento da temperatura da massa ensilada que pode originar perdas importantes de MS e diminuir a digestibilidade da proteína da silagem.

## 2.5 - Fibra Neutro Detergente

A NDF representa a fração do alimento que corresponde às paredes celulares, sendo composta por celulose, pectina, hemicelulose e lignina (QUIROZ, 2009). A % de NDF aumenta com o estado de maturação da planta, estando negativamente associada com a ingestão de MS. Níveis elevados de NDF, ao limitarem o consumo de MS, podem não satisfazer as exigências nutricionais dos animais e originar um fornecimento superior de alimentos concentrados (COSTA *et al.* s.d.).

Segundo NUSSIO *et al.* (2001) a decisão do momento do corte da planta deve coincidir com o estado fisiológico no qual o teor de NDF se encontre diluído pelo sucessivo aumento no teor de amido, consequência do enchimento do grão.

JOBIM *et al.* (2003) ao reunirem os valores de NDF, constataram que o “pastone” apresenta valores mínimos de 7,1 e valores máximos de 15,1%. No entanto, JOBIM *et al.*, (2010) referem que os teores de NDF encontrados para as silagens de milho são variáveis em função da presença de carolo e da própria cultivar utilizada, tendo constatado na literatura valores que variam entre 9,0 e 16,0 % para “pastone”.

Os teores de NDF devem ser inferiores a 45% na MS, uma vez que valores superiores indicam um desenvolvimento deficiente da espiga da planta, podendo ser devido a factores como o stress hídrico, corte prematuro e diferente densidade de sementeira (TORRES e MORGADO sd).

## 2.6 - Fibra Ácido Detergente

A fibra ácido detergente (ADF) corresponde ao teor em celulose e lignina do alimento. Esta fração está relacionada com a fração indigerível da silagem, sendo utilizada para estimar a densidade energética da forragem. A lignina constitui a fração indigerível da porção fibrosa e limita a digestibilidade da silagem, pelo que silagens com níveis mais baixos de ADF terão maiores valores energéticos (COSTA *et al.* sd.).

JOBIM *et al.* (2003) com base nos valores de ADF da silagem de “pastone” determinado por diferentes autores, referem um valor mínimo de 2,5 e um valor máximo de 3,95%. ÍTAVO *et al.* (2006) determinaram valores ADF de 4,05%, ligeiramente superiores aos valores (2,5 e 3,6%) dos autores que citaram (PETIT & SANTOS, 1996 e SANTOS *et al.* 2002) salientando que a maior ou

menor proporção de carolo na massa ensilada pode justificar as diferenças nos teores em ADF do “pastone”.

## 2.7 - Amido

O grão do milho é composto por três frações: pericarpo, gérmen e endosperma. O pericarpo é a camada mais externa, composta principalmente de celulose e hemicelulose, e representa 2% do grão. O gérmen, rico em proteína e óleo, contém a informação genética para a propagação da planta, representa 8 a 10% do peso do grão. O endosperma é composto, principalmente, por grânulos de amido, cerca de 98%, encapsulados numa matriz proteica, composta por proteínas (glutelinas e zeínas), perfazendo 80 a 85% do peso do grão (JOBIM *et al.* 2003).

No milho de endosperma farináceo, os grânulos de amido são esferas dispersas no endosperma enquanto, que no milho de endosperma vítreo os grânulos de amido são helicoidais e adensados. A ligação entre os grânulos de amido e as prolaminas é muito forte no endosperma vítreo, o que dificulta a ação das amilases e maltases, necessárias para que ocorra a quebra enzimática do amido libertando glicose, no rúmen ou nos intestinos (DANÉS e FERRARETO, 2012).

O amido é um polissacarídeo heterogéneo, composto principalmente por moléculas de amilose e de amilopectina, ligadas por pontes de hidrogénio. (VAN SOEST, 1994). Segundo KOTARSKI *et al.* (1992) a proporção de amilose no grão varia de 14 a 34%, enquanto a amilopectina representa cerca de 70 a 80% do amido nos grãos de milho.

A proporção da amilose (polímero linear) presente no grão é a principal influenciadora da taxa de degradação e da digestibilidade do amido. A amilose possui uma estrutura mais resistente que a da amilopectina pelo que, normalmente, a digestibilidade do amido é inversamente proporcional ao teor de amilose. Desta forma, fontes de amido com maiores teores de amilopectina,



como o grão de milho húmido, podem apresentar maior digestibilidade (JOBIM *et al.* 2003).

O amido é um carboidrato não fibroso de degradação rápida no rúmen, que confere valor energético à silagem de milho, reduzindo a necessidade de alimentos concentrados (PEREIRA, 2011). DANÉS e FERRARETTO (2012) referem que o amido contribui com aproximadamente 75% do valor energético do grão de milho e a sua digestibilidade em vacas leiteiras varia de 70 a 100% do total ingerido.

JOBIM *et al.* (2003) referem que os estudos com “pastone” têm evidenciado que há aumento da digestibilidade da matéria orgânica, devido ao aumento da digestão do amido, principal componente do grão.

BERNARDES (2007) refere a elevação do teor em energia metabolizável de “pastone” comparativamente ao grão seco, devido principalmente ao aumento na digestão do amido, pois a ensilagem provoca a fragilização da matriz proteica que recobre os grânulos de amido.

QUEIRÓS (2012b) fazendo a comparação entre o “pastone” e a farinha de milho, refere que o valor nutritivo do “pastone” é elevadíssimo, sendo similar ao da farinha milho no que concerne à componente energética e proteica, salientando a elevada digestibilidade ruminal do amido.

### **2.7.1 - Digestibilidade do amido**

Segundo QUEIRÓS (2012b) a digestibilidade do amido é provavelmente o ponto mais importante e também controverso na qualidade final do “pastone” de grão e no “pastone” de espigas. Para este autor, são três os factores de extrema importância na digestibilidade do amido: as características do grão, o processamento do grão e o processo e o tempo de fermentação.

Também DANÉS e FERRARETTO (2012) afirmam que a maturidade e a quebra dos grãos são fatores primordiais para a digestibilidade do amido na silagem de milho.

#### **2.7.1.1 - Características do grão - vitreosidade**

Segundo QUEIRÓS (2012b) no que respeita às características do grão, o milho pode ser classificado como dentado ou “soft” e “flint” ou vítreo. A vitreosidade do grão é determinada pelas proteínas existentes e pelas suas ligações com outros constituintes, como o amido.

As proteínas que envolvem o amido consistem principalmente em prolaminas (como as zeínas), que interferem determinantemente na digestibilidade do amido. As prolaminas estão presentes tendencialmente em maior quantidade no endosperma vítreo, quando comparado com o endosperma dentado, daí a ideia que a digestibilidade ruminal e até a digestibilidade total do amido seja influenciada negativamente pela maior vitreosidade do grão (QUEIRÓS, 2012b).

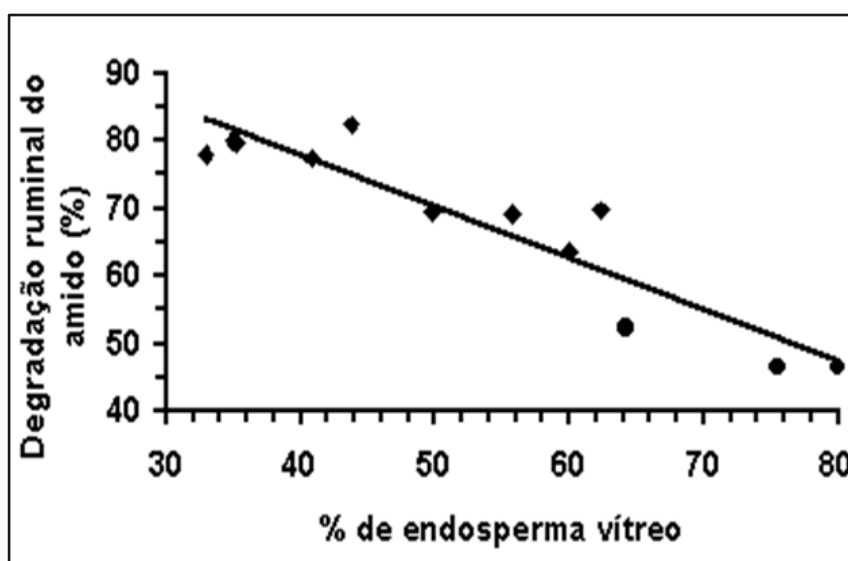
DANÉS e FERRARETTO (2012) relembram que a maioria dos estudos que mostram melhoria na produção e digestibilidade do amido com processamentos mais intensos foram realizados nos EUA e Europa, onde se utilizam híbridos de milho do tipo dentado, enquanto no Brasil se utiliza mais milho do tipo duro (“flint”), com endosperma muito mais vítreo do que o milho dentado (média de 73% de vitreosidade para o flint contra 48% para o dentado).

Na farinha de milho, a vitreosidade do grão influencia negativamente a digestibilidade ruminal do amido, razão pela qual o grão deve ser bem moído, já que com moendas finas, a digestibilidade ruminal do amido em variedades mais vítreas é bastante semelhante à de variedades mais dentadas (QUEIRÓS, 2012b).

Existem evidências de que quanto maior a vitreosidade do grão de milho, menor a degradabilidade ruminal do amido e que grãos de milho de alta vitreosidade têm menor fermentabilidade do amido no rúmen que milho de endosperma farináceo. Grãos de alta vitreosidade têm alta proporção de endosperma vítreo em relação ao endosperma farináceo, são mais densos que grãos farináceos, têm menor teor de humidade que farináceos no mesmo estágio de maturação, e têm maior teor de prolaminas, que conforme já referido dificultam a digestão do amido (CORREA *et al.* 2002).

CORREA *et al.* (2002) compararam a degradabilidade “*in situ*” em vacas leiteiras de híbridos de milho no mesmo estágio de maturidade e diferentes graus de vitreosidade, tendo constatado a existência de uma correlação negativa entre vitreosidade e degradabilidade ruminal.

Conforme se evidencia na Figura 7, o aumento da vitreosidade do grão implica uma diminuição acentuada da degradabilidade do amido. Uma percentagem de 30% de endosperma vítreo corresponde a uma degradabilidade ruminal do amido de 85% enquanto uma percentagem de 80% corresponde a uma degradabilidade ruminal de 45%.



**Figura 7** – Relação entre % de endosperma vítreo e degradação ruminal do amido (%)

Fonte: CORREA *et al.* (2002)

Na silagem de milho e “pastone”, pelo facto de se proceder à colheita bastante mais cedo e também pela fermentação efectuada aquando do processo de ensilagem, assim como o correcto processamento do grão, a diferença entre variedades mais vítreas e dentadas no que respeita à Digestibilidade Ruminal do Amido é praticamente anulada, não sendo hoje em dia já, um problema importante a ter em conta (QUEIRÓS, 2012b).

### 2.7.1.2 - Processamento do grão

Conforme foi referido anteriormente, o grão de milho apresenta uma matriz proteica ao redor do grânulo de amido que dificulta o acesso e a ação dos microrganismos e das enzimas digestivas envolvidas na sua digestão. Dessa forma, o processamento do grão de milho tem como objetivo aumentar a exposição dos grânulos de amido à digestão, o que pode ser feito tanto de forma mecânica (reduzindo o tamanho de partícula do grão) como química (quebrando as ligações químicas da matriz proteica que envolve o grânulo). O processamento do milho e o tamanho da partícula influenciam os padrões de fermentação ruminal, a produção microbiana e a eficiência da utilização do amido e de outros nutrientes no rúmen (PASSINI *et al.* 2002).

DANÉS e FERRARETTO (2012) referem que a moagem do grão é a forma de processamento mais utilizada, podendo ser fina (tamanho médio de partículas menor 1.2 mm) ou grosseira (tamanho médio de partículas entre 2 e 4 mm) e visa o aumento da superfície de contacto dos microrganismos (no rúmen ou no intestino) e das enzimas digestivas com os grânulos de amido para facilitar o rompimento parcial da matriz proteica.

A laminação dos grãos de milho é outra possibilidade de processamento que, em vez de utilizar moinho de martelo, como ocorre na moagem, utiliza rolos que amassam o grão, promovendo também a redução do tamanho de partículas, resultando em partículas mais homogêneas do que as obtidas com o moinho de martelo (DANÉS e FERRARETTO, 2012).

QUEIRÓS (2012b) salienta que a dimensão da partícula do grão influencia decisivamente a digestibilidade ruminal do amido, quer sob a forma de farinha de milho, quer sob a forma de silagem de milho ou “pastone”. Na Tabela 1, apresentada por este autor, é evidente o efeito da dimensão da partícula do grão sobre a digestibilidade ruminal do amido.

**Tabela 1** – Efeito da dimensão da partícula na digestibilidade do amido

<b>Tipo de grão</b>	<b>Dimensão média da partícula (microns)</b>	<b>Digestibilidade ruminal do amido (%)</b>
Partido	4 308	44,6
Partido: partículas pequenas	2 577	53,3
Moído	686	64,5

**Fonte:** Adaptado de Queirós (2012b)

JOBIM *et al.* (2003) referem que o processamento aumenta a degradação ruminal do amido, com maior produção de ácidos gordos e proteína microbiana. Segundo HUTINGTON (1997) citado por JOBIM *et al.* (2003) o amido que chega ao intestino delgado tem maior digestibilidade, resultando num maior aumento de energia e proteína metabolizável para o animal, havendo um maior desempenho desse.

Os processamentos húmidos (ensilagem do grão húmido e flocação) aumentam mais a digestibilidade do amido do que os processamentos a seco (moagem e laminação) devido à adicional quebra química da matriz proteica. Esse aumento, segundo DANÉS e FERRARETTO (2012) ocorre tanto na digestibilidade total como na digestibilidade ruminal do amido, já que apesar da eficiência de digestão do amido no intestino ser maior do que no rúmen (devido a perdas energéticas com produção de metano e calor que ocorrem no rúmen), a digestibilidade intestinal do milho moído ou laminado é menor do que a do milho ensilado húmido.

Em resumo, pode-se concluir que os processamentos que maximizam a digestibilidade do amido no rúmen também se traduzem na maior digestibilidade de amido no trato total, originando um melhor desempenho produtivo dos animais. Outra vantagem do aumento da digestibilidade do amido é o incremento da disponibilidade de energia no rúmen, originando uma maior produção de proteína microbiana, o que explica porque é que em muitos dos ensaios com vacas em lactação, o processamento mais intenso do grão de milho aumenta a produção de proteína do leite e reduz o azoto não proteico no leite (DANÉS e FERRARETTO 2012).

### **2.7.1.3 - Fermentação do amido e duração da fermentação**

QUEIRÓS (2012b) refere que a digestibilidade do amido da farinha de milho mantém-se mais ou menos constante ao longo do tempo, já que o grão é colhido com cerca de 14% de humidade, já no seu estado final de maturação, originando uma matéria-prima estática que não sofre grandes alterações. No caso do “pastone” o momento ideal de colheita do grão para ensilar deve ser quando a humidade do grão for cerca de 28 a 35%, teores apropriados para garantir uma adequada compactação do material ensilado e uma fermentação de qualidade.

Em virtude da fermentação que ocorre durante a ensilagem a digestibilidade ruminal do amido do “pastone” de grão ou “pastone” de espigas aumenta, ao longo do tempo de fermentação (QUEIRÓS, 2012b). Segundo este autor, este aumento deriva dos ácidos orgânicos resultantes do processo de fermentação hidrolisarem as ligações entre as proteínas (proteínas zeína ou prolaminas) e o amido. BERNARDES (2007) também é da mesma opinião, ao afirmar que a exposição do amido ao ataque microbiano e enzimático, proporcionado pela ensilagem, está relacionado principalmente com a ação mecânica da moagem e a presença de ácidos orgânicos, que determinam o rompimento da matriz proteica. Assim, no início da fermentação a forte ligação dos grânulos de amido

com a matriz proteica que os envolve impedem o ataque da flora microbiana e à medida que decorre a fermentação esta ligação vai enfraquecendo, permitindo que o amido se torne mais disponível ao longo do tempo. Desta forma, é importante ajustar o período de fermentação do “pastone” em função do teor em amido do grão ensilado, de forma a precaver a ocorrência de acidoses ruminais, aquando do fornecimento da silagem aos animais.

Como regra geral, podemos admitir que a digestibilidade ruminal do amido é ao redor de 70% no início do processo de fermentação, aumentando em média cerca de 3% por mês, atingindo um *plateau* ao fim de 150-160 dias de fermentação. (QUEIRÓS, 2012b).

Para além da digestibilidade ruminal e total do amido do “pastone” poder superar a da farinha de milho, também o local de digestão é claramente distinto. QUEIRÓS (2012b) refere que 86% do amido do “pastone” é digerido a nível ruminal, contra 78% na farinha de milho moída e 69% na farinha de milho partido. Por outro lado, 7% do amido do “pastone” é digerido a nível pós-ruminal, enquanto 18 e 21% do amido, respectivamente na farinha de milho moído e de milho partido. Em consequência destes valores, QUEIRÓS (2012b) constatou uma digestibilidade total do amido de cerca de 93% no “pastone” e de 90 e 96% respectivamente na farinha de milho moído e de milho partido.

Segundo NETO (2004) o aumento da digestibilidade do amido melhora a utilização do azoto pelas vacas, o que se reflecte num aumento da proteína microbiana no rúmen, permitindo aumentar a produção de leite. SIMAS (1997) também afirma que o aumento da produção de leite é devido ao aumento da utilização do amido, já que a alta digestibilidade ruminal origina o aumento da energia absorvida e da proteína microbiana disponível para a absorção.

De acordo com HUNTINGTON (1994) a quantidade de amido degradado no rúmen traduz-se num aumento da eficiência alimentar (ganho de peso/kg de alimento), e um aumento do teor de proteína no leite. No entanto segundo DEMARQUILLY (1996) existe uma teoria que sugere que o amido é utilizado

mais eficazmente quando é digerido e absorvido sob a forma de glicose no intestino delgado, em relação à degradação de AGVs no rúmen, contraditório ao que é referenciado por HUNTINGTON (1994). No entanto, este refere que a digestão do amido tem dupla vantagem: 1) aumento da síntese de proteína microbiana no rúmen; 2) aumento na digestibilidade no intestino delgado do amido "by pass", devido ao aumento da secreção do pâncreas, em resposta a uma maior quantidade de proteínas que chegam ao intestino delgado.

O amido que chega ao rúmen é degradado principalmente pela actividade das bactérias amilolíticas, sendo uma pequena proporção de amido hidrolisado por fungos e protozoários (HUNTINGTON, 1994, HUNTINGTON, 1997). As bactérias amilolíticas são muito pequenas para ingerir partículas de amido, precisando de proteínas ligantes para hidrolisar o amido a maltoligosacarídeos que podem ser transportados para o interior de célula (KOTARSKI *et al.*, 1992). Porém nem todas as bactérias possuem todas as enzimas necessárias para promover todo ao processo de degradação do amido em glicose. Desta forma, podemos verificar que tem de haver uma correcta sintonia entre as diversas bactérias para que ocorra a fermentação do amido (HUNTINGTON, 1997).

## 2.8 - "Pastone" na alimentação de vacas de leite

Actualmente tem-se verificado que vacas de leite alimentadas com fontes ricas em amido têm aumentado o seu desempenho produtivo como se verifica no estudo realizado por SIMAS (1997) pois segundo este, a alimentação de vacas de leite deve conter cerca de 25 a 35 % de amido, para que estas tenham uma melhor eficiência na utilização do amido, traduzindo-se em litros de leite produzidos. Esse aumento na produção é devido ao aumento da utilização do amido, em fontes de amido de alta degradabilidade ruminal, provavelmente devido a uma maior energia absorvida (AGVs) e uma maior absorção da proteína microbiana disponível no rúmen.



Resultados também verificados por SAN EMETERIO *et al.* citado por JOBIM *et al.* (2003) e NETO (2004) constaram que vacas alimentadas com “pastone” produziram mais leite (39,8 kg/dia) em relação às vacas que receberam silagem milho (38 kg/dia) na dieta. Factor também evidenciado pelo estudo de JOHNSON & KOONS (1997). Quanto à fermentação ruminal, destacaram que é favorecida pela alta disponibilidade do amido, que aumenta a utilização da amónia e fornece mais energia para as vacas (SAN EMETERIO *et al.* citado por JOBIM *et al.* 2003).

No que se refere ao teor de gordura no leite, verificou-se que houve um decréscimo quando as vacas foram alimentadas com “pastone”, fator esse garantido pela maior digestibilidade do amido proveniente da silagem de grão. Já em relação ao teor de proteína no leite, vê-se que houve efeito do processamento da ensilagem, no entanto a produção de proteína (kg/dia) foi maior para as vacas que receberam “pastone” em relação às alimentadas com grão seco na dieta, concluindo-se assim que a digestibilidade do amido no silagem de “pastone” aumenta com a redução do tamanho das partículas do grão, melhora a proteína microbiana do rúmen e favorece a utilização do azoto pelas vacas traduzindo-se numa maior produção de leite (JOHNSON & KOONS, 1997).

De acordo com o estudo realizado por WILKERSON *et al.* (1997) e citado por JOBIM *et al.* (2003) as diferenças verificadas na produção e composição do leite resultaram no aumento da digestibilidade da matéria orgânica na dieta com “pastone”, devido à maior digestibilidade da proteína, do amido e dos carboidratos não fibrosos. Estes resultados relataram que em média existe um aumento de EL1 de 20% a mais com “pastone” em relação ao grão seco, evidenciando assim o uso de grãos húmidos ensilados em relação aos grãos secos na dieta de vacas em lactação.

SORIANO *et al.* (2000) observaram o desempenho de vacas Holandesas em pastagem de dactilis (*Dactylis glometata*) e trevo branco (*Trifolium repens*) suplementadas com “pastone” ou “pastone” de grão seco em diferentes

quantidades, constatando que vacas alimentadas com “pastone” produziram mais leite até à quarta semana de avaliação, enquanto o teor de gordura e sólidos-não-gordurosos não apresentaram diferenças no período total de avaliação de 10 semanas. Concluíram assim que a produção e composição do leite não foram comprometidas pelo tipo de milho, nem pela quantidade de silagem fornecida, no entanto referem que silagens moídas (finamente) normalmente apresentam maior digestibilidade.

Desta forma podemos verificar que a utilização de “pastone” na alimentação de vacas leiteiras pode contribuir em muito para melhorar a performance dos animais bem como a rentabilização das suas produções.

## **CAPITULO III**

### **MATERIAIS E MÉTODOS**

## 1.1 - Materiais

### 1.1.1 - Delineamento experimental

Este trabalho teve como objectivo o estudo do estado vegetativo do grão de milho no momento da colheita (35 e 25%) da fermentação (em dias de fermentação: 0, 90 e 180 dias) sobre o teor em MS, o teor em amido e a digestibilidade do amido do “pastone” de espigas, com base em 48 amostras, como no delineamento experimental que se apresenta na Tabela 2.

**Tabela 2** – Delineamento experimental

	35 % de humidade do grão à colheita			25 % de humidade do grão à colheita		
	Fermentação (dias de fermentação)					
	0 d	90 d	180 d	0 d	90 d	180 d
<b>Planeados</b>	8 silos	8 silos	8 silos	8 silos	8 silos	8 silos
<b>Obtidos</b>	8 silos	7 silos	8 silos	8 silos	6 silos	5 silos

No planeamento inicial cada grupo em estudo (% de humidade do grão x fermentação) seria constituído por 8 silos, originando um total de 24 amostras para cada teor de humidade do grão na altura da colheita e 16 amostras para cada tempo de fermentação.

Aquando da abertura dos mini silos, após o período de fermentação delineado verificou-se que alguns deles estavam danificados, pelo que apenas foram analisadas laboratorialmente 23 amostras colhidas com 35% de humidade e 19 amostras colhidas com 25% de humidade. No que diz respeito ao tempo de fermentação, foram analisadas 16 amostras para o tempo 0 e 13 amostras para os 90 e 180 dias de fermentação.

## **1.2 – Metodologia**

Este estudo decorreu ao abrigo de um protocolo estabelecido com o departamento técnico da empresa Pioneer Hi Bred Sementes de Portugal, SA e o Departamento de Zootecnia da Universidade de Évora.

### **1.2.1 - Caracterização da exploração**

As amostras de “pastone” para os ensaios foram recolhidas na exploração de bovinos de leite Sociedade Agrícola Granja do Valado Lda. em Valado dos Frades (Nazaré), que produz o próprio alimento para os seus animais.

### **1.2.2 - Recolha e processamento das espigas de milho**

Para o ensaio em estudo foi utilizado o milho do tipo híbrido simples, tipo dentado em que a cor do grão é amarela da variedade PR34B39 da gama Pioneer do ciclo FAU 500, inscrito no catálogo comum da variedade C.E.E. (ANSEME, 2012).

As sementeiras tiveram início em Junho de 2011, e a colheita das espigas ocorreu em Setembro de 2011.

De acordo com os objectivos estabelecidos a colheita das espigas deveria realizar-se quando o teor em humidade do grão fosse de 35 e 25%. Para se ter a certeza que as espigas eram colhidas com os teores de humidade pretendidos, efectuaram-se visitas à exploração e utilizou-se um medidor electrónico automático da marca DICKEY-John, medidor de humidade oficial para efeito de classificação de grãos dos Estados Unidos (Figura 8). A operação consistia em ligar o medidor, proceder ao seu auto-ajuste para grão de milho e colocar uma quantidade se amostra suficiente para encher a câmara de medição (aproximadamente 30 grãos de milho). O teor em humidade era determinado automaticamente pelo equipamento, sendo visível no visor.



**Figura 8** – Medidor de humidade da marca DICKEY-Jonh  
**Fonte:** Própria

Uma vez verificado, que o teor de MS correspondia ao desejado (65 e 75%), procedeu-se à recolha de aproximadamente 40 espigas, para cada um destes estados de maturidade do grão. As espigas foram colhidas manualmente e aleatoriamente, em diferentes locais do campo (em 6 linhas de 10 metros cada) (Figura 9). A colheita das espigas com 35 % de humidade decorreu no dia 12 de Setembro pela manhã e no dia 23 de Setembro também pela manhã recolheram-se as espigas com 25% de humidade.



**Figura 9** – Zona representativa do campo onde foram colhidas as espigas  
**Fonte:** Própria

Após a colheita procedeu-se ao processamento das espigas, as quais foram moídas numa máquina processadora de milho para silagem (recolha de amostras) (Figura 10), com uma afinação de 8mm, de forma a se obter um produto homogéneo. Com este processamento pretendeu-se que 70% das partículas de “pastone” tivessem uma dimensão inferior a 5mm.



**Figura 10** - Máquina processadora de milho para silagem  
**Fonte:** Própria

### 1.2.3 - Ensilagem

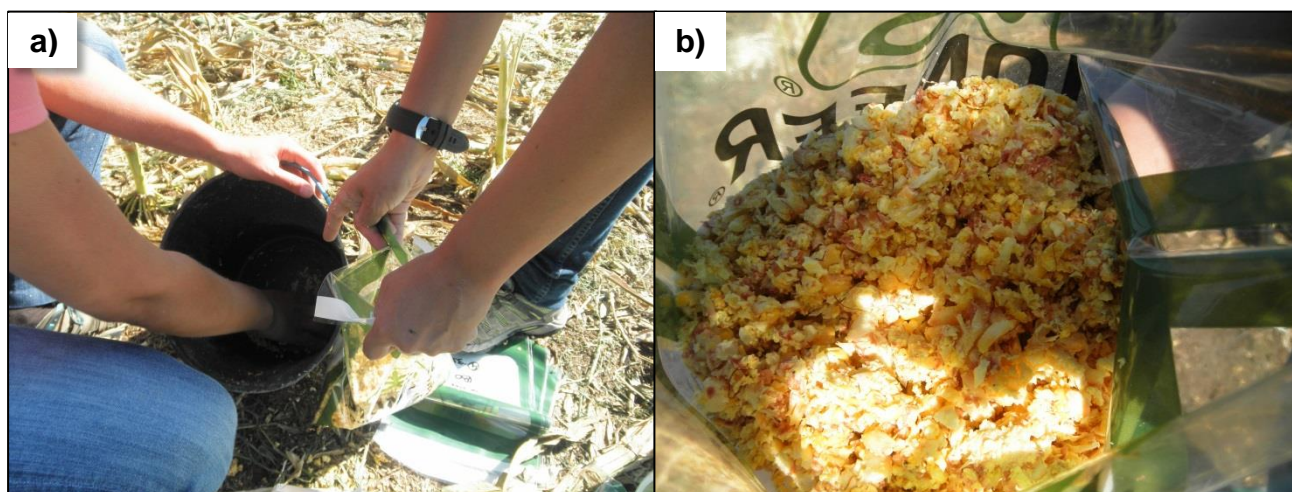
Após o processamento da diminuição do tamanho das espigas (moenda) procedeu-se á sua homogeneização no recipiente de plástico, antes de se realizar a ensilagem em silos experimentais (mini silos em sacos de plástico) (Figura 11).

As espigas moídas e homogeneizadas (Figura 12) referentes a cada um dos teores de humidade do grão foram repartidas por 3 grupos de 8 amostras, cada uma delas com um peso médio de cerca de 500g, com objectivo de estudar o efeito da fermentação (0, 90 e 180 dias), de acordo com o delineamento experimental.





**Figura 11** – Moenda de espigas para um recipiente de plástico, homogeneização e enchimento dos mini silos (sacos de plástico)  
**Fonte:** Própria



**Figura 12** – a) Homogeneização das espigas moídas b) Aspecto final das espigas homogeneizadas  
**Fonte:** Própria

Em concordância com as regras estabelecidas para um processo de ensilagem adequado, teve-se o cuidado de compactar muito bem o material recolhido, de forma a evitar a permanência de ar dentro dos mini silos. Uma vez cheios, os mini silos foram numerados e de seguida fechados hermeticamente, recorrendo-se a uma máquina de vácuo para retirar todo o ar.



#### 1.2.4 - Armazenamento

Uma vez fechados todos os mini silos, estes foram armazenados num saco térmico (para evitar alterações de temperatura e impedir a entrada de luz solar) e transportados para o Laboratório de Pastagens e Forragens da Universidade de Évora.

No laboratório, os 16 mini silos do grupo controlo (0 dias de fermentação) com teores de humidade de 35% (8 mini silos) e 25% (8 mini silos) foram armazenados numa arca congeladora regulada a uma temperatura de -20°C, até ao seu envio para o laboratório. Os restantes mini silos (16 referentes ao “pastone” proveniente da colheita com 35% de humidade e 16 referentes ao “pastone” proveniente da colheita com 25% de humidade) foram armazenados em local seco e sem de radiação solar, até ao seu respectivo dia de abertura.

#### 1.2.5 – Abertura dos mini silos

Após 90 dias de fermentação procedeu-se a abertura dos mini silos (17 de Dezembro de 2011), tendo-se verificado que um mini silo referente ao teor de 35% de humidade e 2 mini silos referentes a 25% humidade estavam danificados, tendo sido excluídos. Após a abertura dos mini silos, estes foram congelados numa arca congeladora regulada a uma temperatura de -20°C até ao seu envio para o laboratório. O mesmo procedimento foi seguido para as amostras referentes aos 180 dias de fermentação (10 de Março de 2012). Nesta data verificou-se que 3 mini silos dos 25% de humidade estavam danificados (os sacos de plástico estavam rebentados).

Por fim a 12 Abril de 2012 as amostras foram enviadas congeladas para o laboratório Dairyland Lab, para análise laboratorial.

### 1.3 – Análises Laboratoriais

As análises laboratoriais referentes ao teor em MS, ao teor em amido e à digestibilidade do amido do “pastone”, foram efectuadas no laboratório Dairyland Laboratories dos Estados Unidos.

O teor em MS foi determinado recorrendo à secagem das amostras numa estufa de ventilação forçada a uma temperatura de  $105 \pm 3^{\circ}$  C durante 3 horas, de acordo com o método NFTA 2.1.4- Dry Matter by Over Drying for 3 hr at  $105^{\circ}$  C, cujo protocolo se apresenta em anexo I.

O teor em amido foi determinado por hidrólise enzimática de acordo com o método proposto na 30ª reunião anual da AOAC (Official methods of analysis of AOAC Internacional) baseado na quantificação da glicose através do analisador YSI 2700 Select Biochemistry Analyzer (protocolo em anexo II).

A digestibilidade do amido foi determinado pelo método “*in vitro*” proposto por GOERING e SOEST (1970) modificado por RICHARDS *et al.* (1995), no respeitante ao inóculo ruminal utilizado, cujo protocolo se apresenta no anexo II.

## 1.4 – Análise Estatística

Os resultados foram sujeitos a análise de variância multifactorial (2 factores x 3 níveis) de forma a determinar os efeitos de cada factor testado (teor de humidade do grão no momento da colheita e tempo de fermentação) sobre cada uma das variáveis estudadas, tendo-se utilizado o seguinte modelo:

$$X_{ijk} = m + H_i + F_j + HF_{ij} + S_{ijk}$$

em que:

$X_{ijk}$  - valor da característica do indivíduo  $k$  - ésimo

$m$  - média geral

$H_i$  - efeito fixo do factor teor em humidade do grão com  $i = 1,2$

$F_j$  - efeito fixo do factor tempo de fermentação com  $j = 1,3$

$HF_{ij}$  - interacção teor em humidade x Tempo de fermentação

$S_{ijk}$  - erro residual

Uma vez que a interacção não foi estatisticamente significativa (teste de Tukey) procedeu-se a análise de variância testando-se o efeito do teor em humidade do grão e do tempo de fermentação.

Para cada um destes fatores, quando foram observadas diferenças significativas entre médias procedeu-se à sua separação através do teste da menor diferença significativa (LSD).

Na apresentação de resultados considerou-se a seguinte simbologia:

NS – Não significativo

\* - Significativo para  $P < 0,05$

\*\* - Significativo para  $P < 0,01$

\*\*\* Significativo para  $P < 0,001$

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 1.1 - Resultados

No Quadro 1 são referidos os resultados globais do ensaio, apresentando-se as médias e respectivos erros padrões para cada grupo em estudo (% de humidade do grão x fermentação).

**Quadro 1** - Resultados globais do ensaio (média ± erro padrão)

	35 % de humidade do grão à colheita			25 % de humidade do grão à colheita			EP	SIG		
	Fermentação (dias de fermentação)							H	F	H/F
	0 d	90 d	180 d	0 d	90 d	180 d				
<b>Matéria Seca (%)</b>	52,46	<b>50,46</b>	50,73	60,34	60,71	<b>61,78</b>	1,03	***	NS	NS
<b>Amido (% MV)</b>	30,47	<b>29,36</b>	30,08	33,33	33,13	<b>34,91</b>	0,59	***	NS	NS
<b>Amido (% MS)</b>	<b>59,53</b>	58,17	59,29	55,18	<b>54,61</b>	56,45	0,84	***	NS	NS
<b>Digestibilidade Amido (% MS)</b>	76,96	84,21	<b>85,22</b>	<b>69,11</b>	75,45	72,48	1,35	***	**	NS

\*\*\* P<0,001

\*\* P<0,01

H - Humidade do grão à colheita

F - Fermentação (em dias)

H/F - Interação humidade/ fermentação

MV - Matéria verde

Uma vez que a análise estatística prévia demonstrou que a interacção entre o teor de humidade do grão no momento da colheita e o tempo de fermentação não foi significativa, passamos a descrever sumariamente os principais resultados.

No que se refere ao teor em MS (%), podemos verificar que aos 180 dias de fermentação para 25% de humidade do grão à colheita obtivemos o valor máximo de 61,78% e um valor mínimo de 50,46% aos 90 dias de fermentação para 35% de humidade do grão à colheita.

Para o teor em amido (% MV) verificamos um valor máximo de 34,91% aos 180 dias de fermentação para 25% de humidade do grão à colheita e um valor mínimo de 29,36% aos 90 dias de fermentação para 35% de humidade do grão à colheita, quanto ao teor em amido (% MS) obtivemos um valor máximo de 59,53% aos 0 dias de fermentação para os 35% de humidade do grão à colheita e o valor mínimo de 54,61% aos 90 dias de fermentação para 25% de humidade do grão à colheita.

Quanto à digestibilidade do amido (% MS) obtivemos um valor máximo de 85,22% aos 180 dias de fermentação para os 35% de humidade do grão à colheita e o valor mínimo de 69,11% aos 0 dias de fermentação para 25% de humidade do grão à colheita.

A apresentação e discussão dos resultados incidirá separadamente em cada um dos factores estudados, visto não ter havido interacção significativa, sendo abordado em primeiro lugar o efeito do teor em humidade do grão no momento da colheita e, posteriormente o efeito do tempo de fermentação sobre as características do “pastone”.

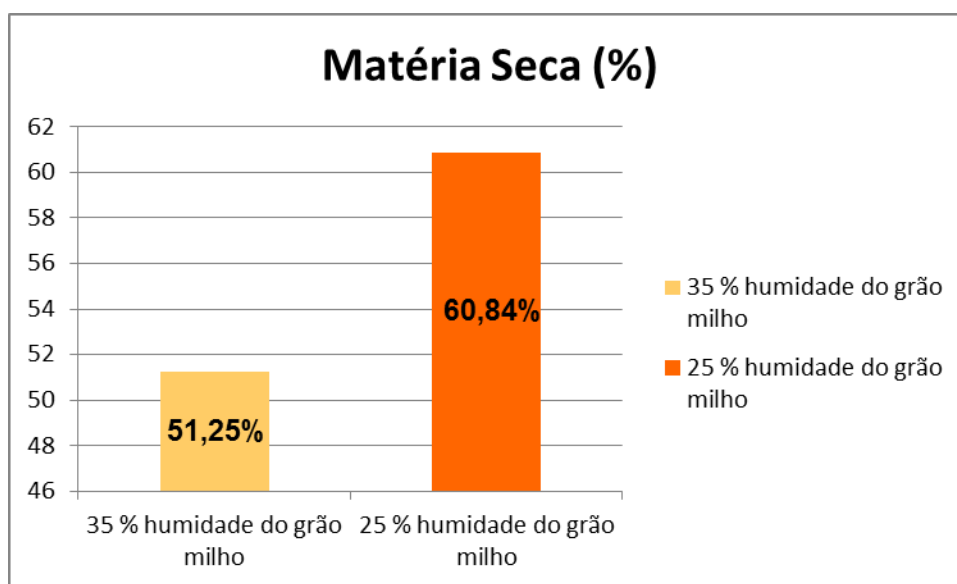
## **1.2 - Efeito do teor de humidade do grão na altura da colheita nas características do “Pastone”**

Os valores médios e erros-padrão referentes ao efeito do teor em humidade do grão na altura da colheita sobre o teor em MS, o teor em amido e à digestibilidade do amido do “pastone” referem-se à média de 23 amostras

colhidas com 35% de humidade e 19 amostras colhidas com 25% de humidade do grão.

### 1.2.1 – Teor em matéria seca (%)

O teor em humidade do grão no momento da colheita influenciou significativamente ( $P < 0,001$ ) o teor em MS do pastone, tendo-se determinado valores médios de  $51,25\% \pm 0,50$  e de  $60,84\% \pm 0,34$  respectivamente para as amostras colhidas com 35 e 25% de humidade, conforme se pode observar no gráfico 1. Registou-se um valor superior em 18,7% no teor de MS quando comparámos o tratamento colhido ao nível mais baixo de humidade (25%).



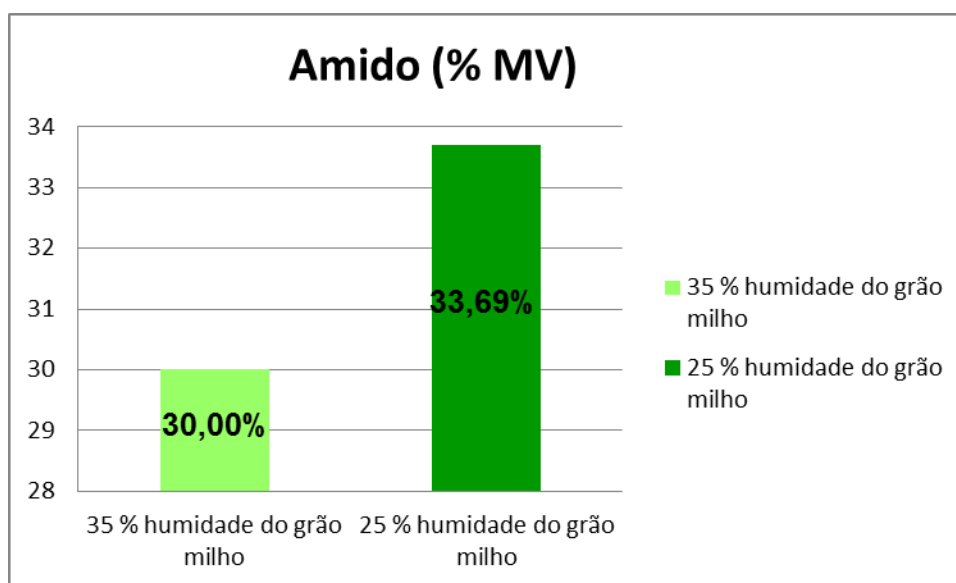
**Gráfico 1** – Teor em MS para os 35 e 25% de humidade do grão de milho á colheita

QUEIRÓS (2012b) aconselha que se deve ensilar o “pastone” quando a humidade do grão variar entre 28 e 35%, no entanto para a mesma humidade do grão o “pastone” de espigas terá sempre mais 4 a 6% de humidade que o “pastone” de grão.

Os resultados obtidos no teor em MS(%), aos 35 e aos 25% de humidade do grão no momento da colheita, respectivamente de 51,25 e 60,84%, foram inferiores aos referidos por JOBIM *et al.* (2003), possivelmente devido a diferenças no tipo de grão, no momento da colheita, no processamento do grão e no tipo de “pastone” (QUEIRÓS, 2012a). O facto de estarmos a trabalhar com “pastone” de espigas e a MS analisada para decidir a altura da colheita ter sido feita no grão, pode também ter influenciado estes valores. Na realidade, a presença do carolo no material ensilado pode explicar esta discrepância de valores.

### 1.2.2 – Teor em amido (% MV)

O teor em humidade do grão no momento da colheita influenciou significativamente ( $P < 0,001$ ) o teor em amido (% MV) do “pastone”, tendo-se determinado valores médios de 30,00%  $\pm$  0,31 e de 33,69%  $\pm$  0,3 respectivamente para as amostras colhidas com 35 e 25% de humidade, conforme se pode observar no gráfico 2. Verificou-se um aumento do teor em amido de 12% com a diminuição do teor de humidade do grão e consequente aumento da MS no momento da colheita.

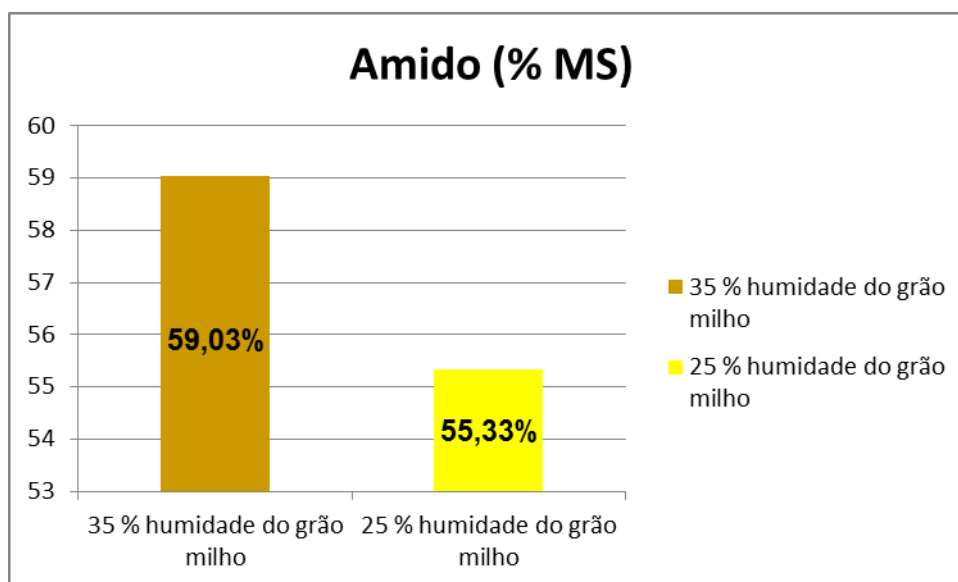


**Gráfico 2** – Teor em amido (% MV) para os 35 e 25% de humidade do grão de milho á colheita



### 1.2.3 – Teor em amido (% MS)

O teor em humidade do grão no momento da colheita influenciou significativamente ( $P < 0,001$ ) o teor em amido (% MS) do “pastone”, tendo-se determinado valores médios de  $59,03\% \pm 0,45$  e de  $55,33\% \pm 0,90$  respectivamente para as amostras colhidas com 35 e 25% de humidade, conforme se pode observar no gráfico 3.



**Gráfico 3** – Teor em amido (% MS) para os 35 e 25% de humidade do grão de milho á colheita

Os resultados evidenciam um aumento do teor em amido (% MS) de 6,7% quando o grão é colhido com 35% de humidade e o “pastone” apresenta um teor inferior de MS (51,25%), comparativamente ao grão colhido com 25% de humidade e o “pastone” tem 60,84% de MS.

A quantidade de amido no “pastone” colhido aos 35% de humidade do grão (59,03%) é maior que a determinada no colhido aos 25% de humidade. QUEIRÓS (2012a) refere que as diferenças nutricionais para o “pastone” de espigas ao nível da humidade geralmente são superiores 4-6% a mais do que em “pastone” de grão, pela presença de brácteas e de toda a espiga. Assim,

apesar de manter uma elevada digestibilidade. devemos contar com um teor de fibra (NDF) mais elevado e um teor de amido mais baixo (diluído pela fibra).

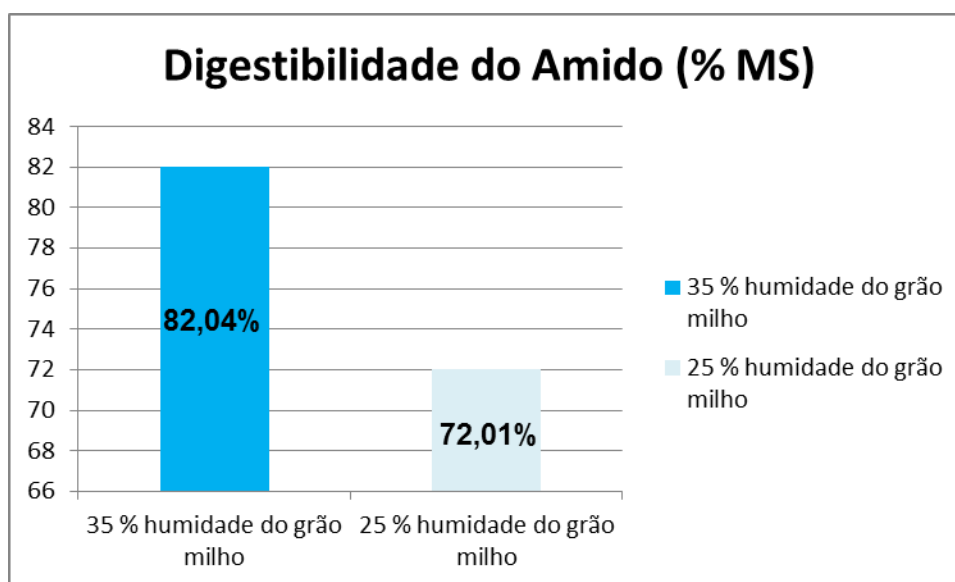
De acordo com os resultados obtidos por NUSSIO *et al.* (2001), o teor em amido é consequência do enchimento do grão e que este está relacionado com o teor em NDF.

BAI *et al.* (1997) refere que quando a planta é colhida com teores de MS inferiores a 28-30%, o grão ainda não atingiu o máximo de amido, pois segundo este autor quando o teor em MS passa de 28,1% (estado de grão leitoso) para 35,1% (2/3 da linha de leite) a concentração de amido passa de 28,7 para 37,2%, correspondendo a um aumento de 19 kg de amido por cada 100 kg de forragem.

Para COSTA *et al.* (1999) o “pastone” deve ser colhido logo após a sua maturação fisiológica, quando possui cerca de 30% de humidade. Já JOBIM *et al.* (2003) referem que o ponto ideal de colheita é quando o grão apresentar entre 30 a 35% de humidade (70 a 65% de MS) e, mais recentemente, JOBIM *et al.* (2010) referem que, normalmente o “pastone” apresenta teores de MS entre 64 e 70%. Também NUMMER (2001) salienta que os melhores resultados têm sido obtidos com teores de humidade entre os 32 a 35% e QUEIRÓS (2012b) aconselha que se deve ensilar o “pastone” quando a humidade do grão for superior a 25% (entre 28 e 32%). Segundo este último autor, colher com teores de humidade acima dos 40% também não é aconselhável, pois os grãos podem ainda não ter atingido a maturação fisiológica o que se traduz em perdas de MS e menor valor nutritivo, podendo haver alterações significativas dos conteúdos em azoto e em carboidratos solúveis, conduzindo a fermentações mais longas e resultando em perdas energéticas durante o seu armazenamento. A massa para silagem com teores de MS acima dos 40% apresenta uma maior resistência quanto à compactação durante a sua confecção reduzindo a densidade e requer uma maior potencia dos equipamentos utilizados para se manter o tamanho das partículas uniformes.

#### 1.2.4 – Digestibilidade do amido (% MS)

O teor em humidade do grão no momento da colheita influenciou significativamente ( $P < 0,001$ ) a digestibilidade do amido (% MS) do “pastone”, tendo-se determinado valores médios de  $82,04\% \pm 0,90$  e de  $72,01\% \pm 1,09$  respectivamente para as amostras colhidas com 35 e 25% de humidade, conforme se pode observar no gráfico 4.



**Gráfico 4** – Digestibilidade do amido (% MS) para os 35 e 25% de humidade do grão de milho à colheita

De acordo com os resultados obtidos verificamos que houve um aumento de 14% para a digestibilidade do amido (%MS) quando as espigas são colhidas com 35% de humidade em relação às colhidas com 25% de humidade, o que também se verificou no estudo realizado por PHILIPPEAU *et al.* (1996) com grão (dentado, duro). Neste estudo, os autores demonstram que o estado de maturação do grão de milho induz uma forte variabilidade na degradação ruminal do amido em função do genótipo (dentado, duro), verificando-se uma redução de 14,4 pontos percentuais (62,2 para 47,8%) e de 18,0 pontos percentuais (87,0 para 69,0%) quando o teor de MS da planta passou de 30 para 35%, respectivamente, para milho duro e milho dentado. Esta redução foi

independente do genótipo e está ligada, em grande parte, à diminuição da proporção de amido rapidamente degradável.

De acordo com JOBIM *et al.* (2003) colher com maior teor de humidade pode ter efeito benéfico sobre a digestibilidade ruminal da MS visto que a degradabilidade do amido do grão normalmente diminui com o avanço da maturidade. A taxa de degradação e a digestibilidade do amido estão relacionadas com a proporção da amilose (polímero linear) e da amilopectina (polímero ramificado) presentes no grão. Desta forma, fontes de amido com maiores teores de amilopectina, como o grão de milho húmido, podem apresentar maior digestibilidade.

No que diz respeito à digestibilidade ruminal do amido, a diferença entre variedade mais vítrea e dentada, não é actualmente um problema a ter em conta, uma vez que se procede à colheita bastante mais cedo para silagem de milho e “pastone” e a fermentação efectuada durante o processo de ensilagem assim como a compactação, não vão afectar a digestibilidade ruminal do amido.

Também DANÉS e FERRARETTO (2012) afirmam que a maturidade e a quebra dos grãos são fatores primordiais para a digestibilidade do amido na silagem de milho, desta forma e segundo vários autores devemos assegurar que 90% dos grãos se encontrem moídos e que o tamanho das partículas não deve ultrapassar 20% (0,5 a 2,5 mm).

QUEIRÓS (2012b) refere que em “pastone” para vacas de leite, as partículas devem ter uma dimensão inferior a 4,74 mm uma vez que ao chegarem ao rúmen ficam imediatamente disponíveis para a flora microbiana.

### 1.3- Efeito do tempo de fermentação nas características do “Pastone”

Passamos a apresentar os valores médios e erros-padrão referentes ao efeito do tempo de fermentação sobre o teor em MS, o teor em amido e a digestibilidade do amido do “pastone”. Uma vez que a análise estatística prévia demonstrou que a interação entre o teor de humidade do grão e o tempo de fermentação não foi significativa, os valores para cada tempo de fermentação resultaram da média de 16 amostras analisadas para um tempo de fermentação de 0 dias e de 13 amostras para tempos de fermentação de 90 e 180 dias

#### 1.3.1 – Teor em matéria seca (%)

De acordo com os valores obtidos podemos verificar que para cada tempo de fermentação (0, 90 e 180 dias) as diferenças não são significativas quanto ao teor de MS (%), tendo-se determinado que aos 0 dias de fermentação o valor médio obtido foi de 56,41%, aos 90 dias de fermentação foi de 55,19% e aos 180 dias de fermentação foi de 54,99%, como podemos verificar no gráfico 5.

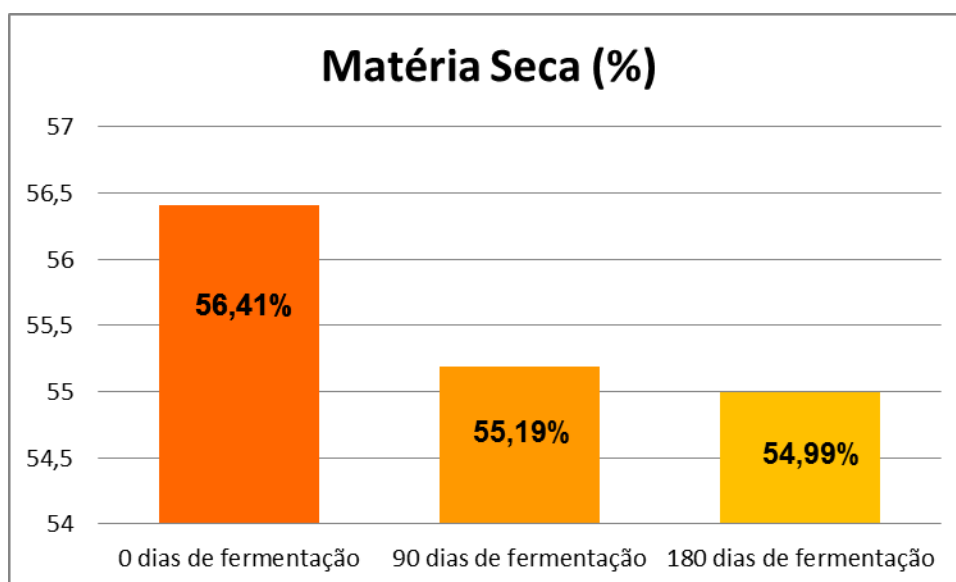
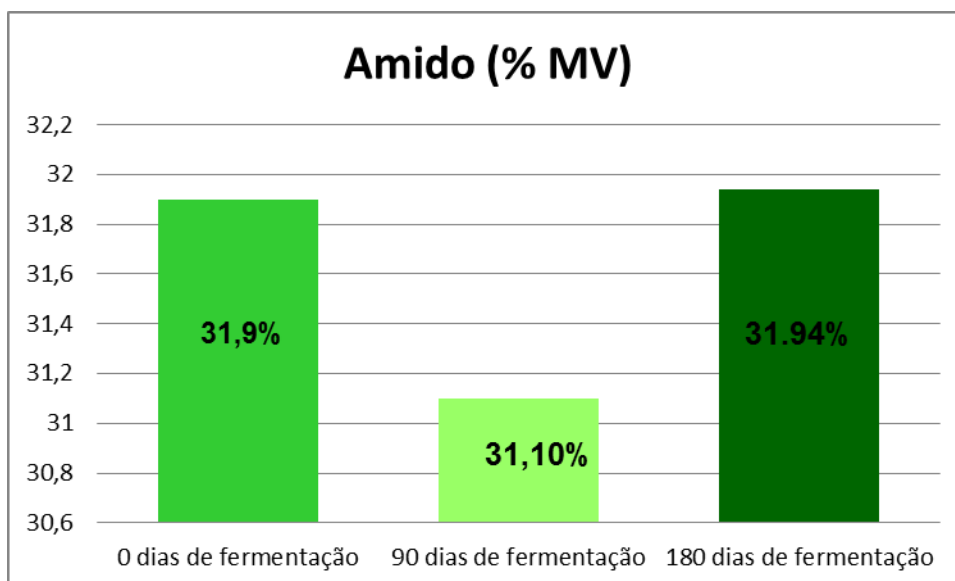


Gráfico 5 – Efeito do tempo da fermentação do pastone na MS (%)

Verificamos que o teor de MS (%) dos 0 para os 90 dias de fermentação apresentou valores inferiores em média 2,16%, dos 90 dias aos 180 dias de fermentação valores inferiores em média 0,36% de MS e dos 0 dias aos 180 dias de fermentação o teor de MS apresentou valores inferiores em média 2,51%. Este último tempo de fermentação foi aquele onde se verificou a menor % MS.

### 1.3.2 – Teor em amido (% MV)

De acordo com os resultados obtidos verificamos que para cada tempo de fermentação (0, 90 e 180 dias) os resultados não são significativos quanto ao teor em amido (% MV), tendo-se verificado que aos 0 dias de fermentação o valor médio obtido foi de 31,9%, aos 90 dias de fermentação foi de 31,1% e aos 180 dias de fermentação foi de 31,94%, como se pode verificar no gráfico 6, em que aos 180 dias de fermentação obtivemos o valor máximo e aos 90 dias o valor mínimo quanto ao teor em amido (% MV) ao longo do período de fermentação no “pastone”.

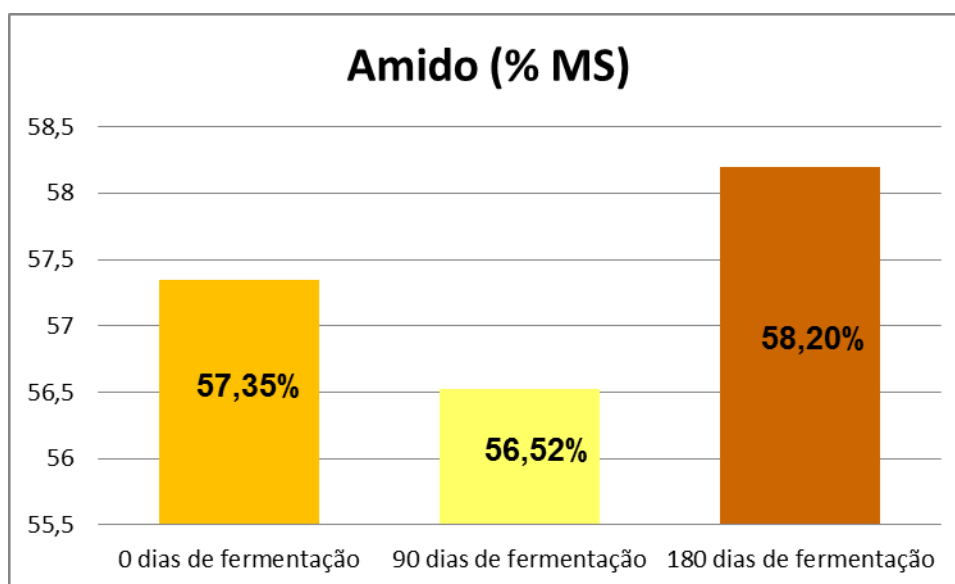


**Gráfico 6** - Efeito do tempo da fermentação do “pastone” quanto ao teor em amido (% MV)

O teor em amido (% MV) dos 0 dias de fermentação para os 90 dias de fermentação foi inferior em média 2,5% dos 90 dias aos 180 dias de fermentação foi superior em média de 2,7% e dos 0 dias aos 180 dias foi superior em média de 0,13%.

### 1.3.3 – Teor em amido (% MS)

Como podemos verificar nos resultados obtidos não existem diferenças significativas para os tempos de fermentação (0, 90 e 180 dias) quanto ao teor em amido (% MS), tendo-se verificado que aos 0 dias de fermentação o valor médio obtido foi de 57,35%, aos 90 dias de fermentação foi de 56,52% e aos 180 dias de fermentação foi de 58,20%, como se pode verificar no gráfico 7, em que aos 180 dias de fermentação obtivemos o valor máximo e aos 90 dias o valor mínimo quanto ao teor em amido (% MS) ao longo do período de fermentação no “pastone”.



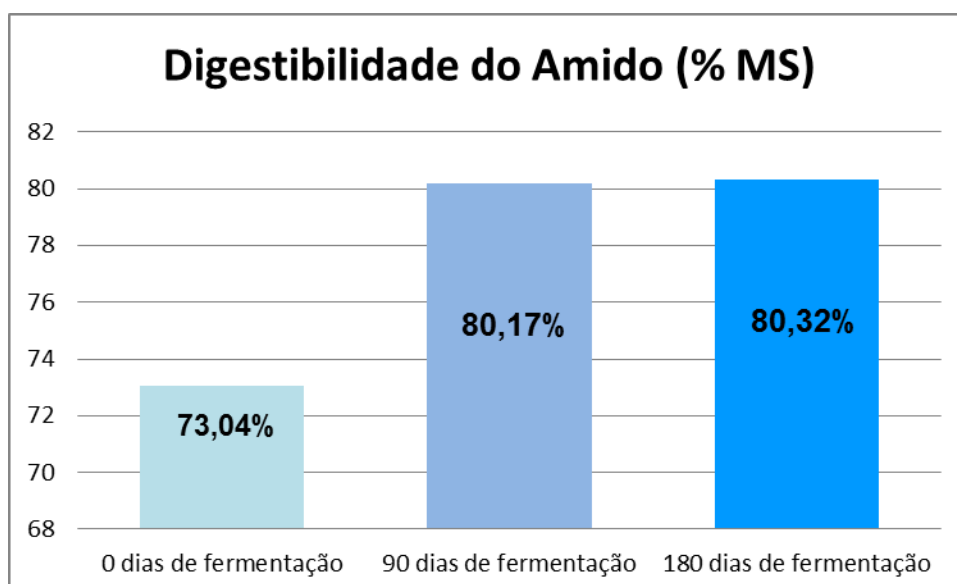
**Gráfico 7** - Efeito do tempo da fermentação do “pastone” quanto ao teor em amido (% MS)

O teor em amido (% MS) dos 0 dias de fermentação para os 90 dias de fermentação foi inferior em média 1,45%, dos 90 dias aos 180 dias de

fermentação teve um aumento em média de 2,97% e dos 0 dias aos 180 dias foi superior em média de 1,48%.

### 1.3.4 – Digestibilidade do amido (%MS)

O efeito do tempo de fermentação (0, 90 e 180 dias) no pastone influenciou significativamente ( $P < 0,01$ ) a digestibilidade do amido (% MS), tendo-se verificado que aos 0 dias de fermentação o valor médio obtido da digestibilidade do amido (% MS) foi de 73,04%, aos 90 dias de fermentação foi de 80,17% e aos 180 dias de fermentação foi de 80,32%, como se pode verificar no gráfico 8.



**Gráfico 8** - Efeito do tempo da fermentação do “pastone” quanto à digestibilidade do amido

Constatou-se que o aumento do tempo de fermentação dos 90 dias para os 180 dias não originou uma diferença significativa ( $P > 0,05$ ) na digestibilidade do amido (% MS), pelo que a abertura dos mini silos poderia ter sido feita aos 90 dias, sem perdas significativas no valor nutritivo do “pastone” e diminuindo o tempo de espera do agricultor para utilizar o “pastone” na alimentação animal.



Os resultados poderão ser explicados devido ao fato de que no início da fermentação a forte ligação dos grânulos de amido com a matriz proteica que os envolve, impedir o ataque da flora microbiana e à medida que decorre a fermentação esta ligação vai enfraquecendo, permitindo que o amido se torne mais disponível ao longo do tempo (HALE, 1973). Este autor refere também que o método de processamento a que os grãos são submetidos, vai fazer com que haja um rompimento da matriz de natureza proteica facilitando a acção enzimática e a digestão do amido.

(QUEIRÓS, 2012b) refere que a fermentação origina um aumento da digestibilidade ruminal do amido do “pastone” de grão ou “pastone” de espigas, justificando que esse aumento, ao longo do tempo de fermentação, deriva dos ácidos orgânicos resultantes do processo de fermentação hidrolisarem as ligações entre as proteínas e o amido. Tal também é confirmado por BERNARDES (2007) que afirma que a exposição do amido ao ataque microbiano e enzimático, proporcionado pela ensilagem, está relacionada principalmente com a ação mecânica da moagem e a presença de ácidos orgânicos, que determinam o rompimento da matriz proteica.

Aos 0 dias de fermentação a digestibilidade do amido foi de 73,04%, resultados semelhantes foram obtidos por QUEIRÓS (2012b) que refere que a digestibilidade ruminal do amido é de cerca de 70% no início do processo de fermentação. Admitindo que aos 90 dias e aos 180 dias de fermentação a digestibilidade do amido foi de 80%, verificamos que os resultados obtidos (80,17 e 80,32%) foram inferiores aos obtidos por QUEIRÓS (2012b) que constatou que a digestibilidade total do amido é de cerca de 93% no “pastone”. No entanto, este mesmo autor refere que a digestibilidade do amido aumenta em média 3% por mês, atingindo um *plateau* ao fim de 150-160 dias, o que não se verificou, tendo-se obtido neste ensaio um valor superior médio de 9,76% dos 0 dias aos 90 dias de fermentação e 9,96% dos 0 para os 180 dias de fermentação. Estes resultados poderão não estar de acordo com os obtidos por

QUEIRÓS (2012b) pelo fato do método utilizado na determinação da digestibilidade do amido não ter sido o mesmo.

Conjugando o teor em amido (% MS) com a digestibilidade do amido (% MS) estimamos que aos 0 dias de fermentação o teor em amido digestível era de 419 g/kg MS, aumentando para 453 g/kg MS no “pastone” com 90 dias de fermentação e para 468 g/kg MS no “pastone” após 180 dias de fermentação. Estes resultados sugerem que a abertura dos silos mais tarde, aumentando o período de fermentação do “pastone” poderá incrementar o teor energético do “pastone”, com efeitos benéficos na resposta produtiva dos animais alimentados com “pastone”.

A maior produção de leite verificada nas vacas é devido ao aumento da digestibilidade do amido que melhora a utilização do azoto pelas vacas o que se reflete num aumento da proteína microbiana no rúmen em que a alta digestibilidade ruminal origina um aumento da energia absorvida e uma maior absorção da proteína microbiana disponível (NETO, 2004 e SIMAS 1997).

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSÕES**

Este trabalho teve como objectivo principal estudar o efeito do teor de humidade do grão de milho no momento da colheita (35 e 25%) e da fermentação (em dias de fermentação: 0, 90 e 180 dias) sobre a digestibilidade do amido, o teor em amido e o teor em MS do “pastone” de espigas.

A interação entre teor de humidade do grão de milho no momento da colheita e o tempo de fermentação não foi significativa. No entanto, a análise dos resultados obtidos para os seis grupos de amostras estudados evidenciou que o teor mais elevado de amido (% MS) pertenceu ao “pastone” colhido com 35% de humidade do grão de milho aos 0 dias de fermentação, enquanto que o valor mais elevado da digestibilidade do amido (% MS) foi determinado no “pastone” colhido com 35% de humidade e com 180 dias de fermentação.

Os resultados referentes ao efeito do teor em humidade (35 e 25%) do grão no momento da colheita evidenciaram um efeito significativo ( $P < 0,001$ ) deste teor sobre o teor em MS, o teor em amido e a digestibilidade do amido do “pastone”.

O “pastone” colhido com 35% de humidade do grão apresentou um menor teor em MS (51,25%), mas um teor em amido superior, quando expresso na MS (59,03%) e com uma digestibilidade superior (82,04%) comparativamente ao pastone colhido com 25% de humidade do grão no momento da colheita, onde foram determinados valores médios de 60,84% de MS, de 55,33% de amido (% MS) com uma digestibilidade de 72,01%.

É de salientar o valor mais elevado em cerca de 14% da digestibilidade do amido (% MS) quando as espigas são colhidas com 35% de humidade em relação às colhidas com 25% de humidade, sendo a maturidade do grão (% MS) e o processo de moagem dos grãos um factor de extrema importância para a digestibilidade do amido na silagem. Os resultados são concordantes com o referido na bibliografia de que o amido atinge maiores teores e digestibilidade superior quando o grão é colhido entre os 30 e 35% de humidade.

No que diz respeito ao efeito do tempo de fermentação (0, 90 e 180 dias) nas características do “pastone”, não se verificaram diferenças significativas no teor de MS (%) e no teor em amido (quer expresso na MV, quer expresso na MS).

Determinaram-se teores médios de MS de 56,41% aos 0 dias de fermentação e de 55,19 e 54,99% respectivamente após 90 e 180 dias de fermentação.

Aos 0 dias de fermentação o teor médio em amido (%MV) foi de 31,90%, muito idêntico aos teores médios determinados aos 90 (31,10%) e 180 dias de fermentação (31,94%). A mesma tendência foi observada quando o teor em amido foi expresso em termos de MS, tendo-se determinado teores médios de 57,35, 56,52 e 58,20%, respectivamente aos 0, 90 e 180 dias de fermentação.

A fermentação influenciou significativamente ( $P < 0,01$ ) a digestibilidade do amido (% MS) do “pastone” de espigas. Aos 0 dias de fermentação o valor médio obtido da digestibilidade do amido (73,04% MS) foi significativamente inferior ao determinado aos 90 dias de fermentação (80,17% MS) e aos 180 dias de fermentação (80,32% MS). Entre os 90 e os 180 dias de fermentação as diferenças não foram significativas. A fermentação durante 90 dias originou um valor superior médio da digestibilidade do amido de 9,76%, enquanto que os 180 dias de fermentação originaram um valor superior da mesma grandeza (9,96%).

A não existência de diferenças significativas na digestibilidade do amido do “pastone” após 90 e 180 dias de fermentação sugere que a abertura dos silos poderá ser feita aos 90 dias, sem perdas significativas na digestibilidade do “pastone”, diminuindo o tempo para a utilização do “pastone” para alimentar os animais.

Por outro lado, conjugando o teor em amido (% MS) com a digestibilidade do amido (% MS) estimamos que aos 90 dias de fermentação o teor em amido digestível era de 453 g/kg MS aumentando para 468 g/kg MS no “pastone”

após 180 dias de fermentação. Estes resultados sugerem que o aumento do período de fermentação do “pastone” poderá incrementar o teor energético do “pastone” de espigas com efeitos benéficos na resposta produtiva dos animais.

Face à globalidade dos resultados obtidos, parece evidente concluir que o grau de humidade do grão de milho no momento da colheita foi um factor de extrema importância que influenciou o valor nutritivo do “pastone” de espigas, expresso pelo teor em amido e pela digestibilidade do amido.

No que diz respeito à fermentação também se poderá concluir que não afectou o teor em amido do “pastone” de espigas, mas influenciou positiva e significativamente a digestibilidade do amido. No entanto, a duração da fermentação não se traduziu na melhoria significativa da digestibilidade do amido.

No futuro será importante realizar novos ensaios, com um número superior de amostras e de tempos de fermentação e abrangendo a análise de mais parâmetros nutritivos, como por exemplo o teor proteico, a composição da proteína, o teor e digestibilidade do NDF e o valor energético. A realização de ensaios de alimentação também será determinante para consolidar os conhecimentos sobre o efeito do tempo de fermentação no valor nutritivo do pastone de espigas.

## BIBLIOGRAFIA

- ANDRADE, S.J.T., MELOTTI, L. (2003). Inoculantes bacterianos na ensilagem do capim-elefante (*Pennisetum purpurem*, Schum). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 40: 219-223.
- ANÓNIMO (sd). Silagem de grão úmido de milho na suinocultura. Departamento Técnico Nuvital. [Online] <http://www.agr.feis.unesp.br/defers/docentes/mauricio/pdf/Silagem%20de%20graos%20umidos%20de%20milho.pdf>. [Consulta em 31 de Maio de 2013].
- ANSEME. (2012). Milho Híbrido. Lista de variedades em comercialização na campanha de 2012. [Online]. <http://www.anseme.pt> [Consulta em 17 de Setembro de 2013].
- BAL, M.A., COORS, J.G., SHAVER, R.D. (1997). Impact of maturity of corn for use as silage in the diets of dairy cows on intake, digestion and milk production. *Journal of Dairy Science*, 80: 2497-2503.
- BERNARDES, T. F. (2007). Ensilagem de Grãos de Cereais: Parte I e Parte II. [Online]. <http://www.milkpoint.com.br/>. [Consulta em 8 de Setembro de 2013].
- BERNARDES, T. F. (2008). Causa-lhes espanto falar de ponto de colheita na produção de silagem de milho. [Online]. <http://www.milkpoint.com.br/>. [Consulta em 23 de Maio de 2011].
- BERNARDES, T.F., SIQUEIRA, G.R., REIS, R.A. (2005). Importância do planejamento na produção e uso da silagem. *Forragicultura e pastagens: temas em evidência*. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 5: 121-176.
- BITTENCOURT, E. (2007). Silagem na dieta alimentar - silagens verdes - produtos alternativos - resíduos agro-industriais - grão úmido, etc. *Sinuelo. Genética & Tecnologia Agropecuária*. [Online]. <http://www.sinueloagropecuaria.com.br/>. [Consulta em 8 de Setembro de 2013].

- CHERNEY, J.H., CHERNEY, D.J.R. (2003). Assessing Silage Quality. In: Buxton et al. Silage Science and Technology. Madison, Wisconsin, USA., 141-198.
- CORREA, C.E.S., SHAVER, R.D., PEREIRA, M.N., LAUER, J.G., KOHN, K. (2002). Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. Journal of Dairy Science., 85: 3008-3012.
- COSTA, C., ARRIGONI, M.D.B., SILVEIRA, A C., CHARDULO, L. A L. (1999). Silagem de grãos úmidos. In: Anais do 7º Simpósio sobre Nutrição de Bovinos. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, Piracicaba: 69-88.
- COSTA, C., ARRIGONI, M. D. B., SILVEIRA, A. C., OLIVEIRA, H. N. (2002). Desempenho de bovinos superprecoces alimentados com silagem de milho ou feno de aveia e grão de milho ensilados ou secos. Acta Scientiarum of Animal Science, 24: 1175-1173
- COSTA, C., SANTOS, I. R., RESTLE, J., NUSSIO, L. G., PEREIRA, M. N., OLIVEIRA, J. S. (s.d.). Guia de Campo Sementes Agroceres Milho & Sorgo Silagem. Sementes Agroceres. [Online]. [http://www.sementesagroceres.com.br/downloads/8691\\_007GuiaSilagem.pdf](http://www.sementesagroceres.com.br/downloads/8691_007GuiaSilagem.pdf) [Consulta em 8 de Setembro de 2013].
- DANÉS, M. A. C., FERRARETTO, L. F. (2012). Estratégias para aumentar a digestibilidade de amido na silagem e no grão de milho. [Online] <http://www.milkpoint.com.br/>. [Consulta em 25 de Agosto de 2013].
- DeBRABANDER, D.L., COTTYN, B.G., BOUCQUE, C.H.V. (1992). Substitution of concentrates by ensiled high moisture maize grain in dairy cattle diets. Animal Feed Science and Technology, 38: 57-67.
- DEMARQUILLY, C. (1996). Quelles Méthodes - Pour quels objectifs? In: Colloque maïs ensilage. Nantes-France, 87-91.
- HALE, W.H. (1973). Influence of processing on the utilization of grain (starch) by ruminants. Journal of Animal Science, 37: 1075-1081.



HENDERSON, N. (1993). Silage additives. *Animal Feed Science and Technology*, 45: 35-56.

HOLMES, J.H.G., BAYLEY, H.S., HORNEY, F.D. (1973). Digestion and absorption of dry and high-moisture maize diets in the small and large intestine of the pig. *British Journal of Nutrition*, 30: 401-410.

HUNTINGTON, G. B. (1994). Ruminant starch utilization progress has been extensive. *Feedstuffs*, 6: 16 - 18 e 38 - 43

HUNTINGTON, G. B. (1997). Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *Journal of Animal Science* 75: 852– 867.

ÍTAVO, C. C. B. F., MORAIS, M. G., ÍTAVO, L. C. V., SOUZA, A. R. D. L., DAVY, F. C. A., ALBERTINI, T. Z., COSTA, C., LEMPP, B., JOBIM, C. C. (2006). Padrão de fermentação e composição química de silagens de grãos úmidos de milho e sorgo submetidas ou não a inoculação microbiana. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 35: 65- 664.

JOBIM, C.C., BRANCO, A.B., SANTOS, G.T. (2003). Silagem de grãos úmidos na alimentação de bovinos leiteiros. In: V Simpósio Goiano sobre Manejo e Nutrição de Bovinos de Corte e Leite. Goiânia – Goiás, 357-376.

JOBIM, C.C., JUNIOR, M. C., JUNIOR, V. H. B., OLIVEIRA, F. C. de L. (2010). Composição química e qualidade de conservação de silagens de grãos de milho (*Zea mays* L.) com diferentes níveis de grãos de soja (*Glycine max* Merrill). *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, 31: 773-782

JOBIM, C.C., NUSSIO, L. G., REIS, R. A., SCHMIDT, P. (2007). Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36: 101-119.

JOBIM, C.C., REIS, R. A., RODRIGUES, L. R. A. (1997). Avaliação da silagem de grão húmido de milho (*Zea mays*). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 32: 311-331

JOHNSON, T.R., KOONS, C.W. (1997). Utilization of further processed high moisture shelled corn by lactating dairy cows. *Journal of Animal Science*. 75 (Suppl. 1): Abstract., 62.

KOTARSKI, S.F., WANISHA, R.D., THUR, K.K. (1992) Starch hydrolysis by ruminal microflora. *Journal of Nutrition*, 122: 178-190.

KUNG JR., L., STOKES, M.R., LIN, C.J. (2003). Silage additives. *Silage Science and Technology*. Madison: American Society of Agronomy, 1: 305-360.

KUNG, L., Jr. & MUCK, R.E. (1997). Animal Response to silage additives. *Proc. From the Silage: Field to Feedbunk North American Conference*. NRAES, 99: 200-210.

LAUER, J. (1996). Harvesting silage at the correct moisture, *Wisconsin Crop Manager*. [Online]. <http://corn.agronomy.wisc.edu/silage/> [Consulta em 14 de Setembro de 2013].

LAUER, J. (1999). Kernel Milkline: how should we use it for harvesting silage? *Agronomy Advice*. [Online]. <http://corn.agronomy.wisc.edu/silage/> [Consulta em 14 de Setembro de 2013].

LAVEZZO, W., LAVEZZO, O.E.N., CAMPOS NETO, O. (1997). Estádio de desenvolvimento do milho. Efeito sobre a produção, composição da planta e qualidade da silagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 26: 675-682.

LIN, C. BOLSEN, K. K., BRENT, B. E., HART, R.A., DICKERSON, J. T., FEYERHERM, A.M., AIMUTIS, W.R. (1992). Epiphytic microflora on alfalfa and whole-plant corn. *Journal Dairy Science*, 75: 2484-2493.

MAGNASCO, A. A., MICHELINI, B. (2006). Ensilaje de grano de maíz húmedo. [Online]. <http://www.produccion-animal.com.ar> [Consulta em 14 de Setembro de 2013 ].

MARQUES, O. J. (2008). Ponto de colheita e suas implicações na qualidade do milho. Seminário apresentado na disciplina Produção de grandes culturas I –

Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá. Maringá. [Online]. <http://pt.scribd.com> [Consulta em 30 Agosto 2013].

McDONALD, P., HENDERSON, A., HERON, S. J. E. (1991). The Biochemistry of Silage. 2nd.ed. Merlow: Chalcombe Publications, 340.

MOON, N.J. (1983). Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. *Journal of Applied Bacteriology*, 55: 453-460.

MUCK, R.E. & PITT, R. E. (1993). Progression of aerobic deterioration relative to the silo face. In: Proceedings of the 10th Silage Research Conference, Dublin City University, Dublin, Ireland, 38-39.

MUCK, R.E., HOLMES, B.J. (2001). Density and losses in pressed bag silos. ASAE Annual International Meeting Sponsored by ASAE, 20.

NETO, A. G. C. (2004). Silagem de grãos úmidos de milho na alimentação de bovinos de leite- Parte III. [Online]. [http:// www.ccxopo.com.br](http://www.ccxopo.com.br). [Consulta em 3 de Junho de 2011].

NUMMER, I. F. (2001). Silagem de grão húmido de milho. 9º Seminário Nacional de Desenvolvimento da Suinocultura. Pioneer. 25 a 27 de Abril — Gramado, RS.Brasil, 29-34.

NUSSIO, L. G., PENATI, M. A., DEMARCHI, J. J. A de A. (1999). Guia para produção de silagem. Uberlândia, MG, Sementes AGROCERES, 49.

NUSSIO, L.G., CAMPOS, F. P., DIAS, F. N. (2001). Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. In: Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas. 127-145

OLIVEIRA, R.P., LANA, R.P., BORGES, A.C., QUEIROZ, A.C., ALMEIDA, I.C.C. (2004). Valor nutritivo e desempenho de leitões alimentados com rações contendo silagem de grãos úmidos de milho. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33: 146-156.

PAHLOW, G., MUCK, R.E., DRIEHUIS, F., OUDE ELFERINK, S.J.W.H., SPOELSTRA, S.F. (1999). Microbiology of ensiling. In: Silage Science and Technology (Editado por Buxton, D.R. Muck, R.E. e Harrison, J.H.). Madison, WI: American Society of Agronomy, 31-94.

PASSINI, R., A.C. SILVEIRA, E.A.L., TITTO, P.H.M., RODRÍGUEZ, M.B., ARRIGONI, C., COSTA, e L.A. LOYOLA. (2002). Silagem de grãos úmidos de milho e de sorgo e níveis protéicos sobre desempenho e características da carcaça de novilhos superprecoces. *Acta Scientiarum*, 24:1133-1140.

PETIT, H.V., SANTOS, G.T. (1996). Milk yield and composition of dairy cows fed concentrate based on high moisture wheat or high moisture corn. *Journal of Dairy Science*, 79: 2292-2296.

PHILIPPEAU C., CHAMPION M. AND MICHALET-DOREAU B. 1996. Influence du génotype et du stade de maturité sur la digestion ruminale de l'amidon de maïs récolté au stade ensilage. Colloque Maïs ensilage, Nantes, France. Session 1: 379-380.

PHILLIP, L.E., FELLNER, V. (1992). Effects of bacterial inoculation of high-moisture ear corn on its aerobic stability, digestion, and utilization for growth by beef steers. *Journal of Animal Science*, 70: 3178-3187.

PIONEER, (1996). Sumula Técnica Santa Cruz do Sul: Pioneer Sementes. Boletim informativo., 2: 20

PRIGGE, E.C., JOHNSON, R.R., OWENS, F.N., et al. (1976). Utilization of nitrogen from ground high moisture and dry corn by ruminants. *Journal of Animal Science*, 43: 705.

QUEIRÓS, L. (2012a). Fonte de energia para a produção de leite. *Agrotec-Revista técnico-científica agrícola*, 2: 20-22.

QUEIRÓS, L. (2012b). "Pastone" High moisture corn ou silagem de grãos húmidos. Departamento Técnico de Nutrição Animal Pioneer Hi Bred Sementes

de Portugal, SA. Lacticoop - Boletim Informativo dos Cooperantes. Novembro/Dezembro, 257: 11-13.

QUIROZ, M.A.M. (2009). Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero. Trabalho de fin de master en Zootecnia y Gestión sostenible: ganadería ecológica e integrada por la Universidad de Córdoba. Revista Brasileira de Zootecnia. suplemento especial, 36: 101-119.

REIS, R.A., BERNARDES, T.F., SIQUEIRA, G.R. (2004). Tecnologia de produção e valor alimentício de silagens de capins tropicais In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas (Editado por JOBIM, C.C., CECATO, U., DAMASCENO, J.C.; SANTOS, G.T.), 2.ed. Maringá: UEM, 87-126.

RICHARDS, C.J., PEDERSEN, J.F., BRITTON, R.A., STOCK, R.A., KREHBIEL, C.R. (1995). In vitro starch disappearance procedure modifications. Animal Feed Science and Technology, 55: 35-45

ROJAS, C., ADRIAN-CATRILEO., ALVARO--LETELIER. (1991). Niveles de triticale en raciones para engordade novillas hereford. Agricultura Técnica, 51: 9-14.

SANTOS, C.P., FURTADO, C.E., JOBIM, C.C., FURLAN, A.C., MUNDIM, C.A., GRAÇA, E.P. (2002). Avaliação da silagem de grãos úmidos de milho na alimentação de equinos em crescimento: valor nutricional e desempenho. Revista Brasileira de Zootecnia, 31: 1214-122.

SILVA, A. A. (2005). Silagem de grão húmido de milho para suínos: digestibilidade e balanços metabólicos. Universidade federal de santa Maria centro de ciências rurais, programa de pós-graduação em zootecnia.

SILVA, B.C., PEREIRA, O.G., PEREIRA, D.H. (2005). Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes e ganho de peso de bovinos de

corde alimentados com silagem de *Brachiaria brizantha* e concentrado em diferentes proporções. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34: 1060-1069.

SIMAS, J.M. (1997). Processamento de grãos para rações de vacas leiteiras. In: *Simpósio Sobre Produção Animal. Anais. Piracicaba, FEALQ*, 9: 7-32.

SIQUEIRA, G.R., BERNARDES, T.F., REIS, R.A. (2005). Instabilidade aeróbia de silagens: efeitos e possibilidades de prevenção. *Volumosos na produção de ruminantes. Jaboticabal: FUNEP*, 2: 25-60.

SORIANO, F.D., POLAN, C.E., MILLER, C.N. (2000). Milk production and composition, rumen fermentation parameters, and grazing behavior of dairy cows supplemented with different forms and amounts of corn grain. *Journal of Dairy Science*, 83: 1520-1529.

TOLEDO, F. F. (1980). Tecnologia das sementes. In: PATERNIANI, E. *Melhoramento e produção de milho no Brasil. ESALQ. Piracicaba*, 571-619.

TORRES, A., MORGADO, E. (sd). A Silagem de Milho. Cooperativa Agrícola de Barcelos, CRL. Serviço de Alimentação Animal. [Online]. <http://www.agribar.pt>. [Consulta em 9 de Setembro de 2013].

VAN SOEST, P.J. (1994). *Nutrition ecology of the ruminants*. Ithaca: Cornell University Press, 20: 476.

WOOLFORD, M. K. (1984). *The silage fermentation. Microbiological Series*. Marcel Dekker, New York and Basel, 14.

# ANEXO I

**Dairyland Laboratories Inc. Methods 6.29.2012**

Ash - Ash of Animal Feed: *AOAC Official Method 942.05*(1996)

**Corn Silage Processing Score (CSPS)**

1. peNDF – **Particle Size, Fragmentation Index, and Effective Fiber: Tools for Evaluating the Physical Attributes of Corn Silages.** *Proc. Four State Dairy Nut pg211-220* 2005 Mertens, D.R.. 2005
2. Starch – Dietary Starch – **Starch Analysis in Animal Feed: Method workshop from 30<sup>th</sup> Annual MW AOACI Meeting and Exposition.** Method that is undergoing AOAC collaborative study. (Modification: Glucose analysis completed on YSI 2700 Select Biochemistry analyzer instead of using GOPOD.) Analysis completed on particles greater than 4.75mm from peNDF method.

**Digestibility**

1. NDFD(Neutral Detergent Fiber Digestibility) - Fermented in flasks using the method of Goering and Van Soest (1970) with the modification that a composite inoculum containing strained ruminal fluid and blended ruminal solids. Residue analyzed by NDF procedure.
2. Starch Digestibility – **In vitro Starch Disappearance Procedure Modifications** – *Animal Feed Science and Technology 55 pg 35-45* 1995. (Modification include using Goering and Soest (1970) method with modification that a composite inoculums containing strained ruminal fluid and blended ruminal solids for digestion and starch procedure below for residual starch determination.)

**Dry Matter**

1. Dairy Liquid Dry Matter - **Solids (Total) in Milk.** *AOAC Official Method 990.20* 16<sup>th</sup> Edition, Ch 33 pg 32.
2. Partial Dry Matter Using Forced-air Drying Ovens – Adapted from Goering, H.K., and P.J. Van Soest. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications. ARS/USDA Handbook No. 379, Superintendent of Documents, US Government Printing Office, Washington, D.C. 20402. *NFTA Method 2.2.1.1*
3. Dry matter in forages - Microwave drying at varying times and power settings dependent upon sample type until sample contains less than 6% moisture. This is followed by *NFTA Method 2.1.4* Dry Matter by Oven Drying for 3 hours at 105° C.



4. Moisture in Meat - **Method MOI** *Analytical Chemistry Laboratory Guidebook, USDA Food Safety and Inspection Service, May 1993*

#### Fat

1. Acid Hydrolysis Fat. As requested or with non-dairy liquid samples. - **Determination of total fat in feed and feed ingredients using the SoxCap 2047 in combination with Soxtec extraction systems**, *Foss Analytical AB Soxtec System Application Note AN3902(2006)*.
2. Crude Fat: Diethyl Ether Extract. Default Method. - **Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feeds**, *AOAC Official Method 920.39 16<sup>th</sup> Edition ch4 pg25* (Automated with Foss Soxtec 2047 instrument with the use of diethyl ether)
3. Crude Fat: Petroleum Ether Extract. Official Method of the Distillers Grain Technology Council.- **Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feeds**, *AOAC Official Method 920.39 16<sup>th</sup> Edition ch4 pg25* (Automated with Foss Soxtec 2047 instrument with the use of petroleum ether)
4. Fatty Acid Analysis – **Fatty Acid Analysis in Animal Feeds: Method workshop from 30<sup>th</sup> Annual MW AOACI Meeting and Exposition**. Kraft, J. and Palmquist, D. (Modification using a packed column instead of capillary column)
5. Mojonnier Fat - **Mojonnier method**, *Standard Methods for the Examination of Dairy Products; 16<sup>th</sup> edition ch15F pp474-479(1992)*

#### Fiber

1. ADF(Acid Detergent Fiber) - **Fiber (Acid Detergent) and Lignin in Animal Feed**: *AOAC Official Method 973.18(1996)* (Modification includes use of Sea Sand for filter aid as needed).
2. Crude Fiber - **Fiber (Crude) in Animal Feed and Pet Food (Fritted Glass Crucible Method)**: *AOAC Official Method 978.10 ch4 p28 (1979)* (Modification includes use of Sea Sand for filter aid as needed).
3. Lignin - **Fiber (Acid Detergent) and Lignin in Animal Feed**: *AOAC Official Method 973.18(1996)* (Modification includes use of Sea Sand for filter aid as needed, use of Whatman GF/C filter paper to collect residue, and holding crucibles in beakers to cover fiber with 72% sulfuric acid for full time required)
4. NDF (Neutral Detergent Fiber) - **Amylase-Treated Neutral Detergent Fiber in Feeds** *AOAC Official Method 2002.04 2005*(Modification includes use of Sea Sand for filter aid and Whatman GF/C filter paper for residue collection)

Forage Particle size - **Method of Determining and Expressing Particle Size of Chopped Forage Materials by Screening**, *ASAE Forage Harvesting and Utilization Committee*, ANSI/ASAE S424 June 24, 1988.

**Mineral – Metals in Plants.** *AOAC Official Method 953.01 16<sup>th</sup> edition*, Ch3 pg 2

1. Dry Ash – **Phosphorus, Potassium, Calcium, and Magnesium (Short Mineral Analysis)** *Wisconsin Soil Testing and Plant Analysis Procedures No. 6 Soil Fertility Series* 1970 Revised 1977.
2. Microwave Digestion – 50% Nitric Acid in High Energy CEM MarS Express microwave, diluted to 10% then analyzed on ICP.
3. Mineral Mix - .5 grams of sample, 10 mls of HCl to dryness then 10 mLs of Aquaregia for 10 minutes on hot plate, diluted to 100mL of water then analyzed by ICP.

**Chloride** – Sample is extracted in water, filtered and measured by way of Corning 926 Chloride Analyzer.

#### Nitrate

1. Screening Analysis – **Blue-Violet for Nitrate Ion.** *Journal of Chem. Educ Grotz, Leonard C.; Vol. 50, No. 1 Jan. 1973, p 63*(Diphenylamine used on dried ground sample to screen for nitrate presence).
2. Quantitative Analysis – **Nitrate in Forages.** *AOAC Official Method 986.31 16<sup>th</sup> Edition, Chp14 pg 5.* (Modified to include boric acid, silver sulfate, and sulfamic acid in the extracting solution).

#### Nitrogen

1. ADICP (Acid Detergent Insoluble Crude Protein): Residue from ADF method is collected by use of Whatman 541 (nitrogen free) paper or Whatman GF/C filter paper before analysis for nitrogen by Crude Protein method.
2. Ammonia - **Ammonium-N determination by distillation.** *Recommended Methods of Manure Analysis. ch4 sec1: 25* (2003), (Modification using Kjelsorb reagent)
3. Nitrogen and Crude Protein - **Protein (Crude) in Animal Feed: Combustion Method.** *AOAC Official Method 990.03 16<sup>th</sup> Edition, Ch 4 pg 18.*

4. Neutral Detergent Insoluble Crude Protein - Residue from NDF method (minus sodium sulfite) is collected by use of Whatman 541 (nitrogen free) paper or Whatman GF/C filter paper before analysis for nitrogen by Crude Protein method.
5. Protein Dispersibility Index - *AOCS Official Method., BA 10-65*

**pH** - *Analytical Methods Guide*, Orion Research, May 1977

**Prolamin - Determination of Prolamin Proteins in Corn.** *UW Grain Evaluation System Workshop 6/2/09*

#### **Starch**

1. Acid Hydrolysis Starch - **Determining Corn Germ and Pericarp Residual Starch by Acid Hydrolysis** *Cereal Chemistry 86(2):133-135* Vidal, B.C Jr., Rausch, K.D., Tumbleson, M.E., Singh, V.
2. Dietary Starch – **Starch Analysis in Animal Feed: Method workshop from 30<sup>th</sup> Annual MW AOACI Meeting and Exposition.** Method that is undergoing AOAC collaborative study. (Modification: Glucose analysis completed on YSI 2700 Select Biochemistry analyzer instead of using GOPOD.)

**Thin Layer Chromatography Toxin Analysis - Silage Screen Quantitative TLC Method.**  
*Method Code: ssc-tl-01-00.2, Romer Labs Inc.*

**Total Ethanol Soluble Carbohydrates - Neutral Detergent-Soluble Carbohydrates Nutritional Relevance and Analysis.** *Hall, M.B., Lab Manual(University of Florida) Bulletin 339*

**Urease Activity** - *AOCS Official Method., BA 9-58*

**Volatile Fatty Acids, Lactic Acid and Ethanol - Determination of Volatile Carboxylic Acids (C1-C5i) and Lactic Acid in Aqueous Acid Extracts of Silage by High Performance Liquid Chromatography**-*Journal of Sci. Food Agric 35pp1178-1182(1984)*  
Modification by Dr. Richard Muck, U.S. Dairy Forage Research Center, Madison, WI

# ANEXO II

*National Forage Testing Association Reference Method*  
**NFTA Method 2.1.4 - Dry Matter by Oven Drying for 3 hr at 105 °C**

**Date last Revised:** September, 2006

**Authors** Brian Shreve, National Forage Testing Association  
Nancy Thiex, South Dakota State University  
Michael Wolf, JL Analytical Services

**Introduction**

NFTA has done research to determine the best Dry Matter (DM) method as a reference method for forage testing. Karl Fischer dry matter determination is a direct measure of water by titration and is generally accepted as the standard against which all other procedures are compared. All oven-based determinations may differ from actual sample DM because a) some volatile compounds may be driven off at higher temperatures or with long drying periods, 2) lower temperatures or short drying periods may fail to remove all moisture from a sample. NFTA has found that the oven method described herein provided a close relationship to the Karl Fischer DM method for forage samples, and adapted as a reference method in 2000.

**Scope**

This procedure is applicable for the determination of dry matter on ground air-dry or partially dried (>85% dry matter) forages with low volatile acid content. Samples dried by this procedure are not appropriate for subsequent fiber, lignin, or detergent insoluble nitrogen analysis. Volatile acids and alcohols may be lost from fermented samples when using this method. This procedure is recommended for developing unfermented forage dry matter calibrations for NIR.

**Basic Principle**

Moisture is evaporated from the sample by oven drying. Dry matter is determined gravimetrically as the residue remaining after drying.

**Equipment**

Forced-air drying oven at 105° ± 3°C. Oven should be equipped with a wire rod shelf to allow the circulation of air. It should be vented and operated with vents open.

1. Analytical electronic balance, accurate to 0.1 mg
2. Aluminum dish (pan), > 50 mm diameter, <40 mm deep
3. Desiccator.
  - a) Slide the desiccator lid open. Do not place the lid on the countertop with the grease side down. The grease will pick up dirt, preventing formation of a seal.
  - b) Seals should be kept clean and well greased and the lid should always slide easily on or off. If the lid “grabs,” it is time to remove the old grease and apply fresh lubricant.

*National Forage Testing Association Reference Method*  
NFTA Method 2.1.4 - Dry Matter by Oven Drying for 3 hr at 105 °C

- c) If a lid can be directly lifted off the desiccator, either the desiccator was not properly sealed or, more likely, it needs fresh lubricant.
- d) Rubber stoppers in the lid should always be pliable.
- e) Desiccant should be checked daily and dried weekly. Replace at least twice annually. Use of desiccant with color indicator for moisture is recommended.

**Reagents**

None.

**Safety Precautions**

- Use standard precautions when working around electrical equipment or glassware.
- Make sure that all electrical equipment is properly grounded and installed and maintained by qualified electricians.

**Procedure**

1. Dry aluminum dish at 105°C ±3° C for at least 2 hr.
2. Remove dishes to desiccator. Sample dishes should not be packed excessively tight in a desiccator. Air movement is necessary to cool sample dishes. Dishes should not touch each other.
3. Immediately cover desiccator and allow dishes to cool to room temperature. Weigh the dishes as soon as possible after they have come to room temperature. Do not allow dishes to remain in desiccator more than 2 to 3 hr.
4. Weigh dishes ( $W_1$ ) to nearest 0.1 mg, removing one at a time from desiccator and keeping desiccator closed between dish removals.
5. Add approximately 2 g ground sample to each dish. Record weight of dish and sample ( $W_2$ ) to nearest 0.1 mg.
6. Shake dish gently to uniformly distribute the sample and expose the maximum area for drying.
7. Insert samples into preheated oven at 105°C and dry for 3 hr after oven has returned to temperature. Time and temperature must be adhered to closely. Samples should be placed in drying oven so that air can circulate freely. Containers should not touch.
8. Move samples to desiccator, seal desiccator and allow to cool to room temperature. Dried forages have a great affinity for moisture and will absorb moisture from a desiccant if allowed time to do so. Weigh the samples as soon as possible after they have come to room temperature. Do not allow samples to remain in desiccator for more than 2 to 3 hr. Open a loaded desiccator very slowly after samples have cooled. A vacuum forms during cooling and abrupt opening results in turbulence, which can blow samples out of uncovered containers.
9. Weigh dish and dried sample ( $W_3$ ), recording weight to nearest 0.1 mg. Desiccator lid should be slid open for the removal of each container and closed during weighing. Leaving the lid open allows samples to absorb moisture.

**National Forage Testing Association Reference Method**  
**NFTA Method 2.1.4 - Dry Matter by Oven Drying for 3 hr at 105 °C**

**Calculations**

Percent Total Dry Matter (Total DM)

$$\% \text{ Total DM} = \frac{W_3 - W_1}{W_2 - W_1} \times 100$$

Where  $W_1$  = tare weight of dish in grams  
 $W_2$  = initial weight of sample and dish in grams  
 $W_3$  = dry weight of sample and dish in grams

**Example Calculation**

Weight of dish = 14.0238 grams  
Weight of sample + dish = 16.0523 grams  
Weight of sample + dish after drying = 15.8256 grams

$$\% \text{ Total DM} = \frac{15.8256 - 14.0238}{16.0523 - 14.0238} \times 100 = 88.82325\%$$

**Reporting Rules**

Report Dry Matter as a percent to one place past the decimal.

*Example:*

The above example calculation should be reported as 88.8%

**Quality Control**

Include at least one set of duplicates in each run if single determinations are being made.

An acceptable average standard deviation among replicated analyses for moisture or dry matter is about  $\pm 0.10$  %DM, which results in a warning limit (2s) of  $\pm 0.20$  %DM and a control limit (3s) of  $\pm 0.30$  %DM.

Plot the results of the duplicate analyses on an R-control chart and examine the chart for trends. Results outside the warning limits warn of possible problems with the analytical system. Results outside the control limits indicate loss of control, and results of the run should be discarded. If more than five or six points in succession fall on one side or the other of the 50 percent line, it is a strong indication that something has changed and is cause for investigation.

*National Forage Testing Association Reference Method*  
**NFTA Method 2.1.4 - Dry Matter by Oven Drying for 3 hr at 105 °C**

See the NFTA's Quality Assurance/ Quality Control Guidelines document for additional guidance.

**Reference**

B. Shreve, N. Thiex, M. Wolf. 2006. National Forage Testing Association Reference Method: Dry Matter by Oven Drying for 3 Hours at 105° C. NFTA Reference Methods. National Forage Testing Association, Omaha, NB, [www.foragetesting.org](http://www.foragetesting.org)

Drying of feeds at 135°C for 2 hr. (930.15). Official Methods of Analysis. 1990. Association of Official Analytical Chemists. 15th Edition.