



**UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA**

---

**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**PARÂMETROS DIGESTIVOS E PRODUTIVOS DE VACAS LEITEIRAS  
EM RESPOSTA A FONTES DE FIBRA LONGA, GENÓTIPOS E  
MÉTODOS DE PROCESSAMENTO DE GRÃO DE MILHO**

**BRUNO MAZZER DE OLIVEIRA RAMOS**

---

**LONDRINA – PARANÁ**

**2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**PARÂMETROS DIGESTIVOS E PRODUTIVOS DE VACAS LEITEIRAS  
EM RESPOSTA A FONTES DE FIBRA LONGA, GENÓTIPOS E  
MÉTODOS DE PROCESSAMENTO DE GRÃO DE MILHO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em  
Ciência Animal como parte das exigências para obtenção  
do título de Doutor em Ciência Animal, Área de  
Concentração em Produção Animal

Orientadora: Profa. Dra. Ivone Yurika Mizubuti  
Co-orientadora: Profa. Dra. Elzânia Sales Pereira

**Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

R175p Ramos, Bruno Mazzer de Oliveira.

Parâmetros digestivos e produtivos de vacas leiteiras em resposta a fontes de fibra longa, genótipos e métodos de processamento de grão de milho / Bruno Mazzer de Oliveira Ramos. – Londrina, 2008.  
75f. : il.

Orientador: Ivone Yurika Mizubuti.

Co-orientador: Elzânia Sales Pereira.


Tese (Doutorado em Ciência Animal) Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2008.

Inclui bibliografia.

1. Bovino de leite – Alimentação e rações – Teses. 2. Nutrição animal – Teses. 3. Feno como ração – Teses. I. Mizubuti, Ivone Yurika. II. Pereira, Elzânia Sales. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. IV. Título.


CDU 636.085

## COMISSÃO EXAMINADORA



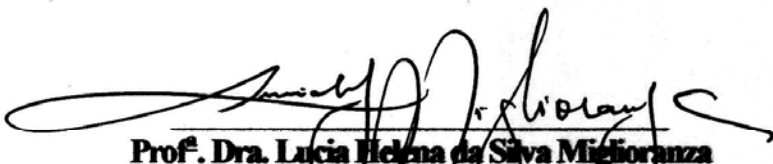
---

**Prof. Dr. Júlio César Damasceno**  
Universidade Estadual de Maringá (UEM)  
Departamento de Zootecnia



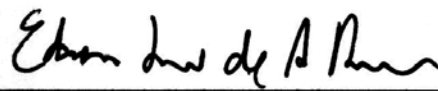
---

**Prof. Dr. Agostinho Ludovico**  
Universidade Norte do Paraná (UNOPAR)  
Campus Araçongas



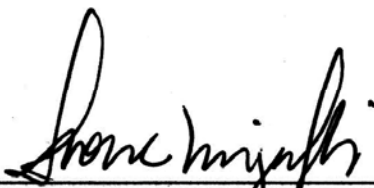
---

**Prof. Dra. Lucia Helena da Silva Miglioranza**  
Universidade Estadual de Londrina  
Departamento de Ciência e  
Tecnologia de Alimentos



---

**Prof. Dr. Édson Luis de A. Ribeiro**  
Universidade Estadual de Londrina  
Departamento de Zootecnia



---

**Prof. Dr. Ivone Yurika Mizubuti**  
Universidade Estadual de Londrina  
Departamento de Zootecnia  
Orientadora

Londrina, 28 de março de 2008.

DEDICO, COM AMOR

Aos meus pais Luiz Antonio e Lucinei

Meus irmãos Rafael e Luiz Antonio

À Juliana

Aos meus familiares e amigos

## AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Ivone Yurika Mizubuti pela orientação no decorrer de todos esses anos, apoio na realização das idéias, motivação nos momentos difíceis, por todas as conversas e trocas de informações, pela amizade.

À Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, em especial ao Prof. Dr. Amauri A. Alfieri, por acreditar e participar da conquista das aspirações desejadas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro no desenvolvimento dos projetos no Brasil e na França.

À Fundação Araucária, pelo auxílio financeiro proporcionado através da aprovação desse projeto permitindo o desenvolvimento de todas as etapas pré-definidas.

À Profa. Dra. Lúcia H. da S. Miglioranza, pela amizade, pelo apoio dado em todos os projetos que desenvolvemos em conjunto e ajuda nas últimas etapas da conclusão da tese.

Ao Prof. Dr. Édson L. de A. Ribeiro pela amizade e por todas as discussões e informações trocadas em todos esses anos de pesquisa.

À Profa. Dra. Elzânia Sales Pereira, por ter aceitado o convite de co-orientação e pelos conselhos e esclarecimentos durante todo o projeto, desde sua confecção até sua conclusão.

Ao Institute National de Recherche Agronomique - Unité de Recherche sur les Herbivores, e ao chefe da equipe DIMA, Michael Doreau, por dar a oportunidade, acreditar e permitir minha entrada na sua equipe de trabalho.

A Pierre Nozière, por me receber como seu orientado, ajudar no desenvolvimento da pesquisa e pela amizade conquistada durante esse rápido e corrido ano de 2006.

A Claude Poncet, de imensurável conhecimento e energia, como pesquisador e ser humano, meus sinceros agradecimentos por sua paciência no início dos trabalhos, pelos

conselhos e intermináveis discussões técnicas, pela sua companhia durante finais de semana de trabalhos braçais, por ter permitido fazer parte da sua família, pelas viagens e por todo o tempo de convivência, por ser meu amigo.

À Dra. Andréa P. Pinto, MSc. Márcio N. Bonin, MSc. Pedro A. Katsuki, MSc. Clovis Inocente Filho, Tiago Stella, MSc. Luciane Yoshihara, Juliana Tiemi Kuraoka, Gianne por toda a colaboração durante o desenvolvimento dos experimentos e análises dessa tese.

Ao Sr. José Volpato, Marcelo, Claudinéia, Mauro, Vanessa, Reginaldo, por abrirem as portas da empresa e permitirem que eu desenvolvesse o projeto em suas instalações.

Aos técnicos: Néelson, Tânia, Jurandir, Rogério, Sílvia, por auxiliarem no desenvolvimento do projeto e durante as análises.

Ao Prof. Raul Castro Gomes, por ser parceiro no desenvolvimento de projetos paralelos e por socorrer em muitas situações de iminente falta de condições de trabalho enfrentadas durante todo o doutorado.

Aos, na época estagiários e hoje já profissionais, Michele, Marcelo, Fábio e Glênio, por toda a colaboração dada no desenvolvimento da experimentação a campo.

À Helenice, secretária do programa, de exemplar organização e simplicidade, por todas as informações fornecidas, documentos a serem formalizados nos últimos dias ou já nos 48 minutos do 2º tempo, por toda a sua ajuda durante o doutorado.

Ao apoio e compreensão dos amigos: Rogério G. Pereira, Call, Adolfo Mansano, Claudia Mellati, Thiago Mysczak, Marlise, Saulo Clímaco, Suzane, Evandro, Mônica, Gimenes.

E um forte agradecimento aos meus familiares, pais, irmãos, tios e tias, avós e avós, primos e primas, por me apoiarem em todos os projetos que tracei como metas a conquistar, por me darem condições e forças para atingir tudo aquilo que tinha idealizado, e por serem a minha família, meu muito obrigado.



## Sumário

1. Resumo Geral .....	9
2. General Abstract .....	10
3. INTRODUÇÃO .....	11
4. REVISÃO DE LITERATURA .....	13
4.1. Consumo, digestibilidade dos nutrientes, produção e composição do leite .....	13
4.2. Digestão ruminal e intestinal de amido .....	16
4.3. Referências .....	19
5. OBJETIVOS .....	23
5.1. Objetivo Geral .....	23
5.2. Objetivos Específicos .....	23
6. ARTIGO I .....	24
CONSUMO DE NUTRIENTES, DIGESTIBILIDADE, PRODUÇÃO E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE DE VACAS EM RESPOSTA À SUBSTITUIÇÃO DE SILAGEM DE MILHO PELO FENO DE CAPIM COASTCROSS .....	24
6.1. Resumo .....	24
6.2. Abstract .....	25
6.3. Introdução .....	26
6.4. Material e Métodos .....	27
6.5. Resultados e Discussão .....	31
6.5.1. Consumo de nutrientes .....	31
6.5.2. Coeficientes de digestibilidade .....	34
6.5.3. Produção e composição do leite .....	35
6.6. Conclusão .....	41
6.7. Referências .....	41
7. ARTIGO II .....	44
Effects of vitreousness and particle size of maize grain on ruminal and intestinal <i>in sacco</i> degradation of dry matter, starch and nitrogen .....	44
7.1. Abstract .....	45

7.2. Introduction .....	45
7.3. Material and Methods .....	47
7.3.1. Experimental feeds .....	47
7.3.2. Animals and diet.....	47
7.3.3. In situ ruminal degradation kinetics .....	48
7.3.4. In situ intestinal digestibility .....	49
7.3.5. Laboratory analysis .....	50
7.3.6. Statistical Analysis .....	50
7.4. Results .....	51
7.4.1. Chemical and physical characteristics.....	51
7.4.2. Ruminal degradability .....	52
7.4.3. Intestinal digestibility .....	53
7.4.4. Relationships between DM, starch, and N degradation .....	55
7.4.5. Relationships between starch ruminal degradability and intestinal digestibility ....	56
7.5. Discussion.....	56
7.5.1. Physicochemical characteristics of feeds .....	56
7.5.2. Ruminal degradation.....	58
7.5.3. Intestinal digestion.....	59
7.5.4. Relationship between ruminal and intestinal in sacco starch digestion .....	61
7.6. Conclusion.....	62
7.7. Acknowledgements .....	63
7.8. References .....	63
8. Conclusão Geral .....	66
ANEXO I.....	67

# PARÂMETROS DIGESTIVOS E PRODUTIVOS DE VACAS LEITEIRAS EM RESPOSTA A FONTES DE FIBRA LONGA, GENÓTIPOS E MÉTODOS DE PROCESSAMENTO DE GRÃO DE MILHO

## 1. Resumo Geral

Neste trabalho foram realizados dois experimentos. O primeiro experimento foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o consumo, a digestibilidade dos nutrientes, a produção e o perfil de ácidos graxos do leite de vacas em lactação recebendo dietas com níveis crescentes de inclusão de feno de Coastcross em substituição à silagem de milho (0, 9%, 18,3% e 27,6%, na base seca). Doze vacas da raça Holandesa, com mais de 100 dias de lactação foram distribuídas em delineamento em switch-back e submetidas a quatro tratamentos experimentais compostos por dietas a base de silagem de milho, farelo de soja, farelo de algodão, milho moído e gérmen de milho, e níveis crescentes de inclusão de feno de Coastcross. Verificou-se apenas efeito linear sobre o consumo de PB, e efeitos quadráticos sobre os consumos de EE e CNF. A inclusão de níveis crescentes de feno na dieta de vacas em lactação não influenciou a digestibilidade dos nutrientes. A produção de leite (kg/dia) sofreu efeito linear inversamente proporcional aos níveis crescentes de feno na ração e os teores de nitrogênio ureico no leite (NUL) sofreram efeito linear crescente em relação ao incremento de feno nos tratamentos avaliados. Os teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais do leite não sofreram interferência dos tratamentos. Com relação ao perfil de ácidos graxos do leite, houve efeito quadrático dos tratamentos apenas sobre os teores de ácido miristoleico (C<sub>14:1</sub>) e ácido esteárico (C<sub>18:0</sub>). Conclui-se que níveis crescentes de feno na dieta de vacas em lactação de alta produção influenciaram os consumos de PB, EE e CNF, bem como a produção de leite (kg/dia) e teores de C<sub>14:1</sub>, C<sub>16:0</sub> e C<sub>18:0</sub>. No segundo experimento, o grau de interação entre a vitreosidade e o tamanho de partícula do grão de milho sobre a digestão ruminal e intestinal da matéria seca, amido e nitrogênio foi avaliado utilizando 6 genótipos de milho, caracterizados por apresentarem diferentes graus de vitreosidade. Esses alimentos foram submetidos a 3 tratamentos distintos: à moagem (em peneira de 3 mm, partículas pequenas, com tamanho médio de partículas (TMP): 526 µm) e quebrados ao passarem através de dois cilindros com diferentes distâncias entre si (partículas médias, TMP: 1360 µm; partículas grandes, TMP: 2380 µm). Os alimentos experimentais (18) foram incubados no rúmen (3 a 48 h) utilizando-se 3 vacas da raça Holandesa preparadas com cânulas no rúmen, início de duodeno e porção final do íleo. Os resíduos provenientes de 15 h de incubação foram introduzidos no duodeno em sacos de náilon móveis após permanecerem por 1,5 h em solução de HCl pepsina. A degradabilidade ruminal e a digestibilidade intestinal do amido variou entre genótipos ( $P < 0,001$ ) e diminuiu em função do aumento do tamanho das partículas ( $P < 0,001$ ). Para o mesmo tamanho de partículas, ambas a degradabilidade ruminal ( $P < 0,05$ ) e a digestibilidade intestinal ( $P < 0,002$ ) do amido decresceram em função da vitreosidade. O tamanho de partícula e a vitreosidade do grão de milho são fatores eficientes na manipulação da quantidade de amido que não sofre degradação ruminal, no entanto podem limitar a quantidade de amido que é digerida no intestino delgado.

Palavras-chave: bovinos de leite, ALC, forragem, amido, vitreosidade, tamanho de partícula.

# DIGESTIVE AND PRODUCTIVE PARAMETERS OF DAIRY COWS IN RESPONSE OF LONG FIBER SOURCE, CORN GRAIN GENOTYPES AND TECHNOLOGICAL PROCESSED METHODS

## 2. General Abstract

There were developed two essays in this work. The aim of the first one was evaluate the increasing levels of Coast cross hay (0, 9%, 18.3% e 27.6%, dry matter) replacing maize silage on intake, nutrients digestibility, milk production and fat acids profile of lactating dairy cows. Twelve Holstein cows, over than 100 days in milk, were distributed in a switch-back design and submitted to four experimental treatments. They were composed by maize silage, soybean meal, cotton seed meal, ground corn, corn germ meal, and increasing levels of coast cross hay. It was observed only a linear effect on CP intake and quadratic effects on EE and non fiber carbohydrates (NFC). The digestibility of nutrients was not affected by the increasing of hay levels in lactating dairy cow diets. Milk production (kg/day) suffered a linear effect inversely proportional of increasing hay levels on diets. Milk urea nitrogen was affected by an increasing linear effect following the increasing hay levels on diets. Total milk fat, protein, lactose and total solids were not affected by treatments. About milk fat acids profile, only a quadratic effect of increasing hay levels on diets was observed on the contents of myristoleic acid (C<sub>14:1</sub>) and stearic acid (C<sub>18:0</sub>). About this evaluation, the increasing hay levels in the diets of high production lactating dairy cows affected the intake of CP, EE and NFC, milk production (kg/day) and the contents of C<sub>14:1</sub>, C<sub>16:0</sub> and C<sub>18:0</sub>. In the second experiment, the effects of vitreousness and particle size of maize grain on ruminal and intestinal *in sacco* degradation of dry matter, starch and nitrogen was evaluated. Six maize grain genotypes characterized by differing vitreousness were ground (3-mm screen; Gr, ground particles, mean particle size (MPS): 526 µm) and cracked with a roller mill using 2 gap width settings (CS, cracked small particles, MPS: 1360 µm; CL, cracked large particles, MPS: 2380 µm). The ruminal (3 up to 48 hours) and intestinal *in sacco* degradation of dry matter, starch and nitrogen was measured on three dry Holstein cows, fitted with rumen, proximal duodenum and terminal ileum cannulas, fed maize silage *ad libitum* twice daily. Ruminal residues obtained after 15 hours of rumen incubation were reintroduced into duodenum using mobile nylon bags which were deeping previously in a HCl pepsin solution for 1.5 hour. The ruminal starch degradability and intestinal digestibility differed among genotypes ( $P < 0.001$ ) and decreased as particle size increased ( $P < 0.001$ ). For the same particle size, starch ruminal degradability decreased ( $P < 0.05$ ) and intestinal digestibility decreased ( $P < 0.002$ ) with vitreousness. Particle size and vitreousness of maize grain are efficient factors for manipulating the amount of starch escaping rumen degradation, but may be limiting for the amount of starch digested in the small intestine.

Key-words: dairy cattle, CLA, forage, starch, vitreousness, particle size.

### 3. INTRODUÇÃO

O Brasil é o sexto maior produtor de leite do mundo e responde por 66,7% do volume total de leite produzido nos países que compõem o Mercosul (FAO, 2006). O agronegócio do leite e seus derivados desempenham importante papel no suprimento de alimentos para todas as camadas da população. O país tem aproximadamente 1,1 milhão de propriedades que exploram a pecuária leiteira, empregando diretamente 3,5 milhões de pessoas (Vilela, 2002). Isto representa um enorme impacto deste setor na economia. Dentro do cenário mundial, o agronegócio do leite no Brasil tem potencial para crescimento da produção e da produtividade, inclusive para exportação de produtos lácteos. Nos últimos anos, a indústria de laticínios tem potencializado o valor nutritivo do produto, colocando no mercado produtos como as bebidas lácteas enriquecidas com vitaminas, minerais e ômega. Porém, o sucesso da produção de leite de um rebanho depende de sua eficiência produtiva econômica. Melhorias na produtividade são obtidas através da adoção de tecnologias que melhoram a eficiência do uso dos fatores de produção, dentre eles a alimentação. Em explorações leiteiras, é imprescindível que se utilizem animais de alto potencial genético e que estes recebam condições alimentares que permitam a obtenção de altas produções, a baixos custos. O manejo nutricional adequado pode auxiliar nesta obtenção de maior produção leiteira com menores custos.

Para obtenção da produção máxima de leite por animal, deve-se considerar o fornecimento de alimentos de boa qualidade e processamento que resultem na otimização de sua utilização, permitindo que o animal expresse todo seu potencial produtivo.

Os custos de alimentação representam mais de 50% do custo de produção final, e dessa forma, é imprescindível o estudo da viabilidade do uso de alimentos de boa qualidade e baixo custo em substituição aos alimentos padrões, como a silagem de milho, o próprio milho e o farelo de soja. A silagem de milho é o alimento volumoso mais empregado na maior parte dos estabelecimentos de produção de leite. Outra opção de ingrediente volumoso é o feno de

gramíneas, embora seja menos empregado. Dentre estes, tem-se o feno de capim Coastcross, alimento de baixo custo que pode substituir em parte a silagem de milho para vacas em lactação proporcionando o ajuste da dieta, sem prejuízo para o equilíbrio do ambiente ruminal.

A eficiência de utilização dos alimentos concentrados é variável de acordo com as suas características nutricionais e formas de apresentação. Diferentes processamentos tecnológicos aplicados aos grãos podem influenciar nas taxas de digestão nos diferentes compartimentos do trato digestivo de ruminantes. O conhecimento desses fatores e da intensidade com que atuam sobre os índices de digestão dos nutrientes auxilia no emprego dos alimentos em dietas dos animais de variadas categorias e situações de manejo.

## **4. REVISÃO DE LITERATURA**

### **4.1. Consumo, digestibilidade dos nutrientes, produção e composição do leite**

O consumo de alimentos em animais ruminantes é regulado por características oriundas dos alimentos e suas combinações em formulações e características intrínsecas do animal. Mertens (1994) redefiniu os conceitos e propôs que o consumo voluntário é regulado por três mecanismos: o fisiológico, onde a regulação é dada pelo balanço nutricional; o físico, relacionado à capacidade de distensão do rúmen e ainda, o psicogênico, que envolve o comportamento responsivo do animal a fatores inibidores ou estimuladores relacionados ao alimento ou ao ambiente. Dentre os mecanismos citados, alguns fatores são constantemente avaliados em experimentos, tais como: tamanho de partícula, frequência de mastigação e eficiência na fragmentação, efetividade da fibra em estimular a ruminação, fragilidade das partículas, fração indigestível da FDN, taxa de fermentação da FDN potencialmente digestível e características das contrações reticulares no bombeamento e na seletividade de partículas da digesta (Allen, 1996).

A efetividade da fibra oferecida na dieta é considerada o maior indicador de manutenção dos parâmetros do ambiente ruminal. A utilização de diferentes fontes de volumosos na dieta de vacas em lactação é uma alternativa na promoção da efetividade física da fibra devido a diferentes tamanhos de partículas e taxa de digestão característica de cada alimento e seu modo de armazenamento ou processamento. West et al. (1998) avaliaram a ingestão de MS, a digestão e a produção de leite utilizando dietas com inclusões crescentes de feno de capim Tifton 85 (8,5; 15,9 e 23,3%) em substituição à silagem de milho. Relataram que houve efeito linear inversamente proporcional ao acréscimo de feno na dieta sobre a produção de leite, e que a concentração de gordura do leite não foi influenciada pelos diferentes níveis de feno nas dietas.

O procedimento de formulação de dietas que altera a composição do leite em uma determinada característica requer estudos que avaliem o efeito da dieta sobre a ingestão de matéria seca, fermentação ruminal e balanço de nitrogênio (Fredeen, 1996). O suprimento de proteína para os ruminantes advém, em grande parte, da síntese microbiana a partir dos alimentos fornecidos na dieta. Portanto, o conhecimento de diferentes frações dos nutrientes, como proteínas e carboidratos, permite o balanceamento de dietas, fornecendo os compostos necessários para maximizar a síntese microbiana (Sniffen et al., 1992).

O leite é constituído de aproximadamente 88% de água e 12% de compostos sólidos (proteína, lactose, gorduras e minerais), sendo que a composição de sólidos totais pode ser alterada em função do tipo de ingrediente da dieta, relação volumoso:concentrado e diferenças entre raças e linhagens de animais. A gordura é o constituinte que sofre a maior variação devido a fatores diretamente ligados à dieta, incluindo quantidade e qualidade da fibra ingerida, taxa e local de degradação do amido e digestibilidade e proteção de suplementos lipídicos no rúmen (Ashes et al., 1997). A gordura do leite é composta por grande quantidade de ácido graxos oriundos da lipogênese da glândula mamária, da corrente sanguínea ou de reservas corporais de lipídios. Ácidos graxos de cadeia curta e média (de C<sub>4</sub> até C<sub>16</sub>) são sintetizados diretamente na glândula mamária e correspondem a aproximadamente 50% dos lipídios totais do leite. A digestão de carboidratos de origem fibrosa no rúmen gera produtos como os ácidos graxos voláteis (AGV), acético e butírico, que em grande parte, são transportados até a glândula mamária constituindo-se na base para a formação dos ácidos graxos de cadeia curta, através da via lipogênica chamada de síntese *de novo* (Byers e Schelling, 1988). Os ácidos graxos de cadeia longa (C<sub>18</sub> e cadeias maiores) podem ser originários das reservas lipídicas do próprio animal e/ou da dieta, e suas concentrações no leite aumentam quando a dieta é suplementada com ingredientes ricos em ácidos graxos de cadeias longas (Palmquist et al., 1993; Chiliard et al., 2001). A concentração de ácidos graxos do leite pode ser influenciada ainda pela relação volumoso:concentrado da



dieta, em que a diminuição de volumoso na dieta acarreta em queda dos percentuais dos principais ácidos graxos do leite, devido a mudança nos parâmetros fermentativos ruminais, alterando o status endócrino do animal e a distribuição de nutrientes para o tecido adiposo (Grummer, 1991).

Nos últimos anos, os pesquisadores têm voltado a atenção para os alimentos funcionais como produtos lácteos e seus derivados, devido ao ácido linolêico conjugado (ALC), considerado um anticarcinogênico, presente em produtos de origem animal como o leite e a carne de ruminantes (O'Shea et al., 1998). Segundo o NRC (1996), o ALC *cis-9, trans-11* é o único ácido graxo que tem se mostrado capaz de inibir a carcinogênese em estudos experimentais com animais. A gordura do leite é considerada a principal fonte de ALC e sua concentração pode variar dependendo do número de lactações do animal, tipo de dieta, estação do ano e suplementação de lipídios (Lawless et al., 1998; Dhiman et al., 1999; Lock e Garnsworthy, 2003).

O ALC (C18 *cis-9, trans-11*) presente na gordura do leite tem origem a partir da biohidrogenação incompleta de ácidos graxos poliinsaturados. A maior parte do ALC presente na gordura do leite é sintetizada por via endógena através da enzima  $\Delta^9$ -dessaturase a partir do C<sub>18:1</sub> *trans-11*, ácido graxo intermediário resultante do processo de biohidrogenação dos ácidos graxos no rúmen (Griinari et al., 2000). O aumento da concentração de ALC no leite está diretamente relacionado com a absorção de ALC no trato digestivo após ser produzido no rúmen como um composto intermediário do processo de biohidrogenação do ácido linolêico. Dessa forma, a concentração de ALC *cis-9, trans-11* é dependente da produção ruminal de C<sub>18:1</sub> *trans-11* e ALC, bem como da atividade tecidual da enzima  $\Delta^9$ -dessaturase (Corl et al., 1999).

Devido ao interesse de modificar a quantidade dos ácidos graxos presentes na gordura total do leite, várias pesquisas foram e são desenvolvidas para determinar os fatores que melhor contribuem para aumentar as concentrações de ALC e seus precursores no leite de

ruminantes. No entanto, os resultados destas pesquisas são controversos. Segundo Grummer (1991), a alteração do perfil de ácidos graxos de cadeia curta e média do leite tem-se mostrado ser ineficiente através da manipulação de dietas e segundo Ávila et al. (2000), essa modificação é freqüentemente observada quando ocorre redução no teor da gordura geral do próprio leite.

Por outro lado, alguns pesquisadores relatam que o aumento da concentração de ALC no leite pode ser alcançado através da alteração dos ingredientes e quantidades consumidas pelas vacas. Dhiman et al. (2000) avaliaram a concentração de ALC no leite de vacas em lactação alimentadas com uma dieta base e os demais 5 tratamentos com quantidades fixas de grãos de soja crus quebrados, grãos de soja tostados e quebrados, óleo de soja, óleo de linhaça a 2 e 4%. O estudo revelou que a ingestão de alimentos ricos em lipídios como fontes de ácido linolêico e linolênico foram significativos no acréscimo de ALC no leite em relação à dieta padrão. Storry et al. (1974) avaliaram dois tipos de dietas, uma rica em forragem que era composta de 47% de feno e 53% de concentrado por animal (na base seca), e outra rica em concentrado, com 8,3% de feno e 91,7% de concentrado (na base seca). Quando as vacas submetidas à dieta rica em concentrado, passaram a receber a dieta rica em forragem, observou-se que as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta e média reduziram drasticamente e ocorreu uma elevação na concentração de C<sub>18:2</sub>, demonstrando a influência da relação forragem:concentrado no tipo de lipídio do leite.

#### **4.2. Digestão ruminal e intestinal de amido**

Dietas de animais de alta produção contêm elevadas concentrações de amido, originários, principalmente, de cereais como grãos de milho e sorgo. Dentre os ingredientes mais utilizados na alimentação de ruminantes, o grão de milho possui a maior parte da composição em amido (68 a 74% em base seca), que representa excelente fonte de energia e

sua degradação ruminal gera o substrato necessário para as bactérias ruminais produzirem proteína microbiana e ácidos graxos voláteis. Por outro lado, dietas com elevados níveis de amido podem levar a um processo de acidose ruminal, determinando quadros de perda de performance e risco de saúde ao animal. Dessa forma, o conhecimento das fontes de amido e das características dos alimentos permite o controle dos locais e das taxas de digestão do amido, diminuindo os riscos de acidose (Sauvant, 1997).

Um amplo levantamento de trabalhos científicos mostrou que a digestão ruminal de amido pode variar de 0,2 a 5,2 kg/dia em vacas de leite, com média de 2,0 kg/dia. Os coeficientes de digestão do amido no rúmen são variáveis de acordo com a natureza do cereal e a forma de apresentação do amido. Segundo Huntington (1997), dentre os grãos de cereais mais utilizados na alimentação de ruminantes, o trigo apresentou o maior coeficiente médio de digestão ruminal do amido (88%), e o grão de milho, além de não apresentar o coeficiente mais elevado, apresentou a maior disparidade de resultados (aproximadamente 40%). A quantidade de amido que escapa à digestão ruminal pode variar de 5% a 65% do amido ingerido (Huntington, 1997; Crocker et al., 1998). Uma das fontes de variação observada para a digestão ruminal do amido de milho é atribuída aos diferentes processos tecnológicos aplicados como tratamentos do grão (moagem, quebra, peletização, extrusão, expansão e laminação) com o objetivo de aproveitar ao máximo essa fonte de energia. Os processos tecnológicos têm como premissa aumentar a área de exposição do amido para favorecer o ataque de microrganismos ruminais, resultando em diferentes quantidades de amido que não sofrem digestão ruminal e passam para os outros compartimentos do tubo digestório (Svihus et al., 2005).

O tamanho médio de partículas é um fator físico significativo na eficiência de digestão do amido. Rémond et al. (2004) avaliaram a digestão ruminal de amido de grão de milho que apresentavam diferentes tamanhos médios de partículas, após terem sido submetidos a diferentes processos físicos de quebra e moagem. Os autores mostraram que os

coeficientes de digestão ruminal do amido decresceram em função do aumento do tamanho médio das partículas de grão de milho.

A vitreosidade é uma característica conhecida que reflete a dureza dos grãos de cereais. A variabilidade da vitreosidade nos grãos de milho é observada entre diferentes genótipos. Esta característica é dada em função de parâmetros químicos e estruturais, como o arranjo formado pela malha de proteínas do milho (zeína e gluteína) presentes no endosperma, que dificultam o acesso de bactérias e enzimas aos grânulos de amido (Philippeau et al., 2000). O grau de dureza do grão não mostra estar ligado a maiores concentrações de amido, mas significativamente à maior presença de N (Philippeau et al., 1999). Segundo Philippeau et al. (1999) e Corona et al. (2006) a degradação do amido de grãos de milho de diferentes vitreosidades em ambiente ruminal foi fortemente limitada pelo aumento da vitreosidade dos grãos.

A digestão intestinal de amido que escapa do rúmen ocorre principalmente no intestino delgado devido a ação da enzima amilase pancreática (suco pancreático) e pode variar entre 38% a 88% do amido que entra no duodeno (Owens et al., 1986). O processo de digestão do amido no intestino delgado é iniciado através da amilase secretada pelo pâncreas juntamente com bicarbonato para deixar o meio em condições favoráveis para a atividade enzimática, pois a entrada do conteúdo abomasal apresenta situação desfavorável à ação de enzimas presentes no duodeno (Huntington et al., 2006). O resultado da quebra do amido pela amilase é a produção de maltose e dextrinas. Estas por sua vez sofrem a ação de maltase e isomaltase nos enterócitos da mucosa do intestino delgado. Os principais fatores limitantes da digestão do amido no intestino delgado são: as características do alimento, como a presença de compostos químicos inibidores de amilase; o difícil acesso de enzimas aos grãos de amido provavelmente por insolubilidade; os tamanhos de partículas que impedem a digestão do amido e as condições químicas desfavoráveis às enzimas (Owens et al., 1986). Outra possível limitação da digestão de amido no intestino delgado são as concentrações insuficientes de

amilase pancreática na luz intestinal, mas segundo Harmon (1992), a quantidade de amilase excretada juntamente com o suco pancreático aumenta de acordo com o nível de ingestão de grãos. Conforme Rémond et al. (2004), a vitreosidade e o tamanho de partícula influenciaram a digestão do amido de grãos de milho em experimentação com infusão duodenal de resíduos ruminais em vacas em lactação. Entretanto, outros estudos *in vivo* que avaliaram a digestão do amido no intestino delgado não mostraram o efeito do tamanho de partículas (Knowlton et al., 1998; Callison et al., 2001), nem da vitreosidade do grão (Philippeau et al., 1999).

A digestão de amido no intestino delgado é comumente avaliada através da técnica de infusão duodenal com determinação da taxa de passagem por meio de marcadores. Não foram encontrados registros da utilização da técnica de sacos de náilon móveis para a avaliação da digestibilidade intestinal de amido, contudo este procedimento foi empregado na determinação da digestão de N em bovinos e ovinos. A técnica consiste da introdução de sacos de náilon com resíduos ruminais dos alimentos a serem avaliados no duodeno, preparado através de cirurgia com cânula permanente. Os sacos foram recuperados nas fezes em grande parte dos trabalhos realizados para estudo da digestibilidade de N (Vanhatalo e Ketoja, 1995; Beckers et al., 1996), no entanto, nos trabalhos realizados por Jarosz et al. (1994) e Van Straalen et al. (1997), os sacos foram recuperados no íleo. O conhecimento da composição dos alimentos e de suas características físicas permite traçar estratégias de alimentação visando atingir a máxima eficiência de produção dos animais. A interação dos compostos de diferentes alimentos juntamente com as características fisiológicas específicas dos ruminantes possibilita manipular o local e a extensão da digestão dos alimentos e a composição dos produtos gerados a partir dos nutrientes absorvidos.

### **4.3. Referências**

ALLEN, M.S. Physical Constraints on Voluntary Intake of Forages by Ruminants. **Journal of Animal Science**, v.74, p.3063-3075, 1996.

ASHES, J.R.; GULATI, S.K.; SCOTT, T.W. Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2204-2212, 1997.

ÁVILA, C.D.; DEPETERS, E.J.; PEREZ-MONTI, H.; TAYLOR, S.J.; ZINN, R.A. Influences of saturation ratio of supplemental dietary fat on digestion and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2204-2212, 2000.

BECKERS, Y.; THÉWIS, B.; MAUDOUX, B. Intestinal digestibility of rumen undegraded N of concentrates measured by the mobile nylon bag technique. **Animal Feed Science and Technology**, v.61, p.305-323, 1996.

BYERS, F.M.; SCHELLING, G.T. Lipids in ruminant nutrition. In: CHURCH, D.C. (Ed.). **The ruminant animal**. Englewoods Cliffs, New Jersey, 1988. p.298-312.

CALLISON, S.L.; FIRKINS, J.L.; EASTRIDGE, M.L.; HULL, B.L. Site of Nutrient Digestion by Dairy Cows Fed Corn of Different Particle Sizes or Steam-Rolled. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1458-1467, 2001.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; DOREAU, M. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. **Livestock Production Science**, v.70, p.31-48, 2001.

CORL, B.A.; LACY, S.H.; BAUMGARD, L.H.; DWYER, D.A.; GRINARI, J.M.; PHILLIPS, B.S.; BAUMAN, D.E. Examination of the importance of  $\Delta^9$ -desaturase and endogenous synthesis of CLA in lactating dairy cows. **Proceedings of American Society of Animal Science**, 1999. Disponível em <http://www.asas.org/99meet/asas1.pdf>

CORONA, L.; OWENS, F.N.; ZINN, R.A. Impact of corn vitreousness and processing on site and extent of digestion by feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.84, p.3020-3031, 2006.

CROCKER, L.M.; DEPETERS, E.J.; FADEL, J.G.; PEREZ-MONTI, H.; TAYLOR, S.J.; WYCKOFF, J.A.; ZINN, R.A. Influence of processed corn grain in diets of dairy cows on digestion of nutrients and milk composition. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2394-2407, 1998.

DHIMAN, T.R.; ANAND, G.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.2146-2156, 1999.

DHIMAN, T.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W.; GALLI, M.P.; ALBRIGHT, K.; TOLOSA, M.X. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1016-1027, 2000.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. FAOSTAT – dados referentes a 2006. Informações adquiridas através do site <http://faostat.fao.org/> acessado dia 17 de janeiro de 2008.

FREDEEN, A.H. Considerations in the nutritional modification of milk composition. **Animal Feed Science Technology**, v.59, p.185-197, 1996.

GRIINARI, J.M.; CORL, B.A.; LACY, S.H.; CHOUINARD, P.Y.; NURMELA, K.V.V.; BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating cows by  $\Delta^9$ -desaturase. **Journal of Nutrition**, v.130, p.2285-2291, 2000.

GRUMMER, R.R. Effect of feed on the composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3244-3257, 1991.

HARMON, D. L. Impact of Nutrition on Pancreatic Exocrine and Endocrine Secretion in Ruminants: A review. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1290-1301, 1992.

HUNTINGTON, G.B. Starch Utilization by Ruminants: From Basics to the Bunk. **Journal of Animal Science**, v.75, p.852-867, 1997.

HUNTINGTON, G.B.; HARMON, D.L.; RICHARDS, C.J. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. **Journal of Animal Science**, v.84(E. Suppl.), p.E14-E24, 2006.

JAROSZ, L.; HVELPLUND, T.; WEISBEJERG, M.R.; JENSEN, B.B. True digestibility of protein in the small intestine and the hind gut of cows measured with the mobile bag technique using  $^{15}\text{N}$ -labelled roughage. **Acta Agriculture Scandinavica**, v.44, p.146-151, 1994.

KNOWLTON, K.F.; GLENN, G.P.; ERDMAN, R.A. Performance, ruminal fermentation, and site of starch digestion in early lactation cows fed corn grain harvested and processed differently. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1972-1984, 1998.

LAWLESS, F.; MURPHY, J.J.; HARRINGTON, D.; DEVERY, R.; STANTON, C. Elevation of conjugated *cis*-9, *trans*-11-octadecadienoic acid in bovine milk because of dietary supplementation. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.3259-3267, 1998.

LOCK, A.L.; GARNSWORTHY, P.C. Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and D9-desaturase activity in dairy cows. **Livestock Production Science**, v.79, p.47-59, 2003.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JÚNIOR, G. (Ed.). **Forage quality, evaluation, and utilization**. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p. 450-493.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Carcinogens and Anticarcinogens in the Human Diet**, Washington, D.C.: National Academy Press., 1996, 436 p.

O'SHEA, M.; LAWLESS, F.; STANTON, C.; DEVERY, R. Conjugated linoleic acid in bovine milk fat: a food-based approach to cancer chemoprevention. **Trends in Food Science & Technology**, v.9, p.192-196, 1998.

OWENS, F. N.; ZINN, R.A.; KIM, Y.K. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1634-1648, 1986.

PALMQUIST, D.L.; BEAULIEU, A.D.; BARBANO, D.M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1753-1771, 1993.

PHILIPPEAU, C.; MARTIN, C.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of grain source on ruminal characteristics and rate, site, and extent of digestion in beef steers. **Journal of Animal Science**, v.77, p.1587-1596, 1999.

PHILIPPEAU, C.; LANDRY, J.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of the protein distribution of maize endosperm on ruminal starch degradability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.404-408, 2000.

RÉMOND, D.; CABRERA-ESTRADA, J.I.; CHAMPION, M.; CHAUVEAU, B.; COUDURE, R.; PONCET, C. Effect of corn particle size on site and extent of starch digestion in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1389-1399, 2004.

SAUVANT, D. Conséquences digestives et zootechniques des variations de la vitesse de digestion de l'amidon chez les ruminants. **INRA Production Animal**, v.10, p.287-300, 1997.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; FOX, D.G.; RUSSELL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.

STORRY, J.E.; BRUMBY, P.E.; HALL, A.J.; JOHNSON, V.W. Responses in rumen fermentation and milk-fat secretion in cows receiving low-roughage diets supplemented with protected tallow. **Journal of Dairy Research**, v.41, p.165, 1974.

SVIHUS, B.; UHLEN, A.K.; HARSTAD, O.M. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v.122, p.303-320, 2005.

VAN STRAALLEN, W. M.; ODIGA, J.J.; MOSTERT, W. Digestion of feed amino acids in the rumen and small intestine of dairy cows measured with nylon-bag techniques. **British Journal of Nutrition**, v.77, p.83-97, 1997.

VANHATALO, A.; KETOJA, E. The role of the large intestine in post-ruminal digestion of feeds as measured by the mobile-bag method in cattle. **British Journal of Nutrition**, v.73, p.491-505, 1995.

VILELA, D. A importância econômica, social e nutricional do leite. **Revista Batavo**, n. 111, dezembro 2001/janeiro 2002.

WEST, J.W.; MANDEBVU, P.; HILL, G.M.; GATES, R.N. Intake, Milk yield, and digestion by dairy cows fed diets with increasing fiber content from bermudagrass hay or silage. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1599-1607, 1998.



## **5. OBJETIVOS**

### **5.1. Objetivo Geral**

Avaliar os parâmetros digestivos e produtivos de vacas leiteiras segundo a fonte e a proporção de volumoso na dieta e genótipos de milho com diferentes tamanhos de partículas.

### **5.2. Objetivos Específicos**

Avaliar o consumo, a digestibilidade dos nutrientes, a produção e composição do leite de vacas leiteiras alimentadas com rações contendo diferentes níveis de feno em substituição a silagem de milho.

Determinar o perfil de ácidos graxos da porção lipídica do leite de vacas leiteiras alimentadas com rações contendo diferentes níveis de feno em substituição a silagem de milho.

Avaliar a relação entre digestão ruminal e intestinal de amido de milho de diferentes genótipos e tamanhos de partículas.

## 6. ARTIGO I

### CONSUMO DE NUTRIENTES, DIGESTIBILIDADE, PRODUÇÃO E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE DE VACAS EM RESPOSTA À SUBSTITUIÇÃO DE SILAGEM DE MILHO PELO FENO DE CAPIM COASTCROSS

#### 6.1. Resumo

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o consumo, a digestibilidade dos nutrientes, a produção e o perfil de ácidos graxos do leite de vacas em lactação recebendo dietas com níveis crescentes de inclusão de feno de Coastcross em substituição à silagem de milho (0, 9%, 18,3% e 27,6%, na base seca). Doze vacas da raça Holandesa, com 121±22 dias de lactação foram distribuídas em delineamento em switch-back e submetidas a quatro tratamentos experimentais compostos por dietas à base de silagem de milho, farelo de soja, farelo de algodão, milho moído e gérmen de milho, e níveis crescentes de inclusão de feno de Coastcross. Entre o consumo dos nutrientes avaliados, verificou-se que apenas o consumo de PB foi linearmente influenciado pelos tratamentos ( $\hat{Y} = 0,002388542x + 3,69329861$ ;  $R^2=95,21$ ) e os consumos de EE ( $\hat{Y} = -0,00029167x^2 + 0,010640625x + 0,5108541667$ ;  $R^2=92,19$ ;  $P_{\text{máx}}= 18,24$ ) e de CNF ( $\hat{Y} = 0,002779167x^2 - 0,10839375x + 8,4912$ ;  $R^2=91,08$ ;  $P_{\text{mín}}= 19,50$ ) sofreram efeitos quadráticos dos tratamentos. A inclusão de níveis crescentes de feno na dieta de vacas em lactação não influenciou a digestibilidade dos nutrientes. A produção de leite (kg/dia) sofreu efeito linear inversamente proporcional aos níveis crescentes de feno na dieta ( $\hat{Y} = -0,00572917x + 42,18125$ ;  $R^2=99,21$ ) e os teores de nitrogênio ureico no leite (NUL) sofreram efeito linear crescente em relação ao incremento de feno nos tratamentos avaliados ( $\hat{Y} = 0,06030208x + 17,79159722$ ;  $R^2= 96,16$ ). Os teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais do leite não sofreram interferência dos tratamentos. Houve efeito quadrático dos diferentes níveis de inclusão de feno na ração apenas sobre os teores de ácido miristoleico ( $C_{14:1}$ ) ( $\hat{Y} = 0,0002083x^2 - 0,008583x + 1,193$ ;  $R^2=97,77$ ;  $P_{\text{mín}}=20,60$ ) e ácido esteárico ( $C_{18:0}$ ) ( $\hat{Y} = 0,0051x^2 - 0,1003x + 12,742$ ;  $R^2 = 0,99$ ;  $P_{\text{mín}}=9,83$ ). Pode-se concluir que níveis crescentes de feno na dieta de vacas em lactação de alta produção influenciaram os consumos de proteína bruta, extrato etéreo e carboidratos não fibrosos, bem como a produção de leite (kg/dia) e os teores de ácido miristoleico ( $C_{14:1}$ ) e esteárico ( $C_{18:0}$ ). A substituição da silagem de milho por feno de coastcross pode ser realizada em todos os níveis testados sem interferência direta sobre os parâmetros digestivos e produtivos de vacas em lactação.

Palavras-chave: Avaliação de alimentos, bovinos de leite, ALC, forragem.

# EFFECT OF COASTCROSS HAY REPLACING MAIZE SILAGE IN TOTAL MIX RATION FOR COWS IN LACTATION ON NUTRIENTS INTAKE AND DIGESTIBILITY, MILK PRODUCTION AND FAT ACIDS PROFILE.

## 6.2. Abstract

The aim of this work was evaluate the increasing levels of Coast cross hay (0, 9%, 18.3% and 27.6%, dry matter) replacing maize silage on intake, nutrients digestibility, milk production and fat acids profile of lactating dairy cows. Twelve Holstein cows, 121±22 days in milk, were distributed in a switch-back design and submitted to four experimental treatments. They were composed by maize silage, soybean meal, cotton seed meal, ground corn, corn germ meal, and increasing levels of Coast cross hay. There was only observed a linear effect by treatments on CP intake ( $\hat{Y} = 0.002388542x + 3.69329861$ ;  $R^2=95.21$ ). The intakes of EE ( $\hat{Y} = - 0.00029167x^2 + 0.010640625x + 0.5108541667$ ;  $R^2=92.19$ ;  $P_{max}= 18.24$ ) and non fiber carbohydrates (NFC) ( $\hat{Y} = 0.002779167x^2 -0.10839375x + 8.4912$ ;  $R^2=91.08$ ;  $P_{min}= 19.50$ ) were influenced by quadratic effect of treatments. The digestibility of nutrients was not affected by the increasing of hay levels in lactating dairy cow diets. Milk production (kg/day) suffered a linear effect inversely proportional of increasing hay levels on diets ( $\hat{Y}= - 0.00572917x + 42.18125$ ;  $R^2=99.21$ ). Milk urea nitrogen was affected by a increasing linear effect following the increasing hay levels on diets  $\hat{Y} = 0.06030208x + 17.79159722$ ;  $R^2= 96.16$ ). Milk fat, protein, lactose and total solids were not affected by treatments. A quadratic effect of increasing hay levels on diets was observed only on the contents of myristoleic acid (C<sub>14:1</sub>) ( $\hat{Y} = 0.0002083x^2-0.008583x+1.193$ ;  $R^2=97.77$ ;  $P_{min}=20.60$ ) and stearic acid (C<sub>18:0</sub>) ( $\hat{Y} = 0.0051x^2 - 0.1003x + 12.742$ ;  $R^2 = 0.99$ ;  $P_{min}=9.83$ ). About this evaluation, the increasing hay levels in the diets of high production lactating dairy cows affected the intake of CP, EE and NFC, milk production (kg/day) and the contents of myristoleic acid (C<sub>14:1</sub>), palmitic acid (C<sub>16:0</sub>) and stearic acid (C<sub>18:0</sub>). Maize silage can be replaced by coastcross hay for all tested levels without direct effect on digestive and production parameters of dairy cows.

Key words: feed evaluation, dairy cattle, CLA, forage.

### 6.3. Introdução

A eficiência produtiva de vacas de alta produção de leite é o resultado da interação de vários fatores, tais como, raça, linhagem genética, condições ambientais, status imuno-fisiológico e equilíbrio da relação energia vs. proteína dos alimentos fornecidos e consumidos por esses animais. Este último é considerado um dos maiores desafios para a cadeia de produção leiteira na obtenção de elevadas produções a custos mais baixos.

A utilização de feno de gramíneas é uma alternativa empregada na alimentação de vacas leiteiras devido a sua relação positiva entre a qualidade nutricional e o custo de produção em comparação a outros alimentos. Os fenos constituem uma fonte importante de fibra efetiva, característica promotora da estimulação do processo de ruminação que colabora na estabilidade físico-química do ambiente ruminal (Van Soest, 1994). O emprego de feno na dieta de vacas em lactação em substituição a outros volumosos não tem mostrado interferência sobre o consumo de MS e produção de leite, mesmo sendo empregados em diferentes tamanhos de partículas e proporções na dieta (Grant et al., 1990; Beauchemin e Buchanan-Smith, 1990).

O leite bovino apresenta grande proporção de ácidos graxos (AG) saturados, com cadeias de 4 a 16 carbonos, resultantes da síntese *de novo*. Alguns destes AG são precursores do colesterol sangüíneo de baixa densidade (LDL), que provocam doenças cardiovasculares (Parodi, 1999). No entanto, sabe-se que o aumento do teor de ácidos graxos de cadeia longa, mono e poliinsaturados, na composição da gordura do leite, possibilitam a redução do risco de doenças cardiovasculares, pois se aumenta o colesterol sanguíneo de alta densidade, o HDL (Demeyer & Doreau, 1999).

A gordura do leite é formada a partir dos lipídios sintetizados na glândula mamária (40 a 50%) e dos AG absorvidos da corrente sangüínea, que tem origem na mobilização dos lipídios corpóreos e da dieta (Demeyer & Doreau, 1999). Portanto, muitas

pesquisas têm sido realizadas com o intuito de alterar a composição do leite, sobretudo em relação à manipulação da gordura com vistas à diminuição dos efeitos deletérios à saúde humana.

Segundo Chilliard et al., (2000) alguns fatores modificam os AG da dieta em relação aos absorvidos no duodeno, são eles: ação microbiana sobre os AG insaturados promovendo a saturação por meio da bio-hidrogenação ruminal; síntese microbiana de AG de forma similar à síntese *de novo*; e ação da  $\Delta^9$ -dessorase sobre os enterócitos e a glândula mamária, incluindo uma ligação dupla *cis*-9 nos AG, transformando o ácido esteárico (C18:0) em oléico (*cis*-9 C18:1) e o vacênico (*trans*-11 C18:1) em ALC *cis*-9 *trans*-11 C18:2. O ALC apresenta ainda efeito anticarcinogênico, além de possuir propriedade imunomoduladora, promotora de crescimento e aumento de massa corporal magra (Parodi, 1999). A variação na presença de ALC no leite tem sido atribuída a características da dieta, tais como: fonte e quantidade de ácido graxo, relação volumoso:concentrado e diversidade genética entre as linhagens e raças de ruminantes (Akerlind et al., 1999; Dhiman et al., 1999; Kalscheur et al., 1997).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito do aumento do tamanho de partículas de volumoso, através da inclusão de níveis crescentes de feno em substituição a silagem de milho na dieta de vacas em lactação, sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes das rações, bem como, a produção e composição química do leite, com ênfase no perfil de ácidos graxos da gordura do leite.

#### **6.4. Material e Métodos**

O experimento foi conduzido na Agropecuária Volpato, município de Arapongas, PR. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa em fase pós-pico de produção (121±22 dias em lactação), acima da 2ª ordem de lactação, com peso médio de 660 kg, alojadas em baias

individuais no sistema tie-stall, e distribuídas em delineamento experimental em switchback. Os cochos de alimentação foram individualizados para permitir a determinação da ingestão de matéria seca.

Os tratamentos compreenderam dietas com níveis crescentes (0%, 9%, 18,3% e 27,6%) de inclusão de feno de Coastcross (*Cynodon dactylon* (L.) Pers cv. Coastcross -1) em substituição à silagem de milho, com base na matéria seca. O feno de Coastcross foi picado em partículas de aproximadamente 5 cm de comprimento. A ração concentrada foi composta de farelo de soja, farelo de algodão, milho, gérmen de milho, e núcleo mineral-vitamínico comercial. As rações foram formuladas para apresentarem características iso-proteicas e iso-energéticas (NRC, 2001) e a relação volumoso:concentrado variando em proporções crescentes aproximados de 50:50 a 40:60, para os tratamentos 0% e 27,6%, respectivamente (Tabela 1). As dietas experimentais continham todos os ingredientes que compunham as dietas que os animais recebiam antes de serem colocados em avaliação, inclusive a presença do feno.

Os alimentos foram fornecidos à vontade, 3 vezes ao dia, as 5, 10 e às 17 horas, na forma de mistura completa, e ajustados para restarem sobras (24h) em torno de 10% da quantidade fornecida. A água permaneceu à disposição dos animais durante todo experimento. O experimento foi realizado em três períodos compostos de uma fase de adaptação de 14 dias e uma fase de colheita de amostras de 7 dias por período. Amostras de alimentos ofertados e sobras foram coletadas diariamente para determinação do consumo de MS. O peso dos animais foi calculado pela média dos pesos ao início e final de cada período experimental. Amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal para determinações das digestibilidades aparentes de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDN<sub>cp</sub>), carboidratos totais (CT) e carboidratos não fibrosos (CNF). A amostragem das fezes foi realizada individualmente, as 8 e 15 horas, em dias intercalados (15º, 17º, 19º e 21º dia de

cada período) e armazenadas a -20°C. Posteriormente, assim como as amostras de alimentos e sobras, foram pré-secadas em estufa de ventilação forçada a 55±5°C, durante 76 horas. Em seguida, foram moídas em moinhos com peneira de malha de 1 mm e agrupadas por dia, animal e período.

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes (% em MS) e composição química das dietas experimentais

Ingrediente	Dietas experimentais			
	0%	9%	18,3%	27,6%
Silagem de milho	49,6	43,0	35,8	29,9
Feno de coastcross	0,0	4,3	8,0	11,4
Farelo de soja	8,9	8,7	8,7	8,8
Farelo de algodão	9,3	9,5	9,3	9,0
Milho moído	14,5	14,8	17,4	19,3
Gérmen de milho	13,3	15,3	16,3	17,0
Bicarbonato de sódio	0,7	0,7	0,7	0,7
Mistura mineral <sup>1</sup>	3,7	3,8	3,8	3,8

	Composição Química (%)					
	Silagem de milho	Feno de coastcross				
MS	40,77	92,43	53,78	56,57	59,84	62,45
MO	96,58	93,12	94,14	94,02	93,66	93,79
PB	7,26	13,18	16,24	16,20	16,33	16,67
EE	1,73	0,69	2,12	2,37	2,26	2,27
FDN <sub>cp</sub>	57,35	78,16	38,67	41,09	40,05	39,47
CT	87,59	79,25	75,78	75,45	75,07	74,86
CNF	30,23	1,09	37,11	34,37	35,02	35,39
NDT <sup>2</sup>			72,4	72,4	72,4	72,4

<sup>1</sup> - Ca 14,89%; P 2,1%; Mg 0,5%; K 0,59%; Na 3,5%; Cl 5,5%; S 2,1; Co 5,9 ppm; Cu 260 ppm; Fe 288 ppm; I 15,5 ppm; Mn 900 ppm; Se 6,73 ppm; Zn 1100 ppm; Vit A 93 KIU/kg; Vit D 23,2 KIU/kg; Vit E 579 IU/kg.

<sup>2</sup> - Valor de NDT estabelecido através do software Spartan de formulação de rações para ruminantes; MS, matéria seca; MO, matéria orgânica; EE, extrato etéreo; PB, proteína bruta; FDN<sub>cp</sub>, fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; CT, carboidratos totais; CNF, carboidratos não fibrosos; NDT, nutrientes digestíveis totais.

A estimativa da produção fecal foi realizada utilizando-se a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) como indicador. As amostras de fezes, alimentos e sobras foram incubadas por um período de 144 horas em ambiente ruminal (Cochran et al., 1986). As determinações de MS, MO, nitrogênio total (NT), EE e cinzas foram realizadas conforme AOAC (1990). Os teores de FDN nos alimentos e nas dietas experimentais foram determinados segundo Van Soest et al. (1991). Os CT foram obtidos pela equação:  $100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas)$  e a porcentagem de CNF foi calculada pela equação:  $100 - (\%FDN_{cp} + \%PB + \%EE + \%cinzas)$  (Sniffen et al., 1992). Para o cálculo de NDT, utilizou-se a equação proposta pelo NRC (2001):  $NDT = PBd + (EEd * 2,25) + FDNd + CNFd$ , em que d representa o respectivo nutriente digestível. Para a energia digestível (ED) utilizou-se  $ED = NDT * 4,409$  e a concentração de energia metabolizável (EM) foi considerada como 82% da ED (Silva e Leão, 1979).

A produção leiteira foi avaliada em medições individualizadas por animal/ordenha nas três ordenhas diárias (às 5, 13 e 20 horas) durante todo o período experimental. Amostras de leite para análise foram coletadas em cada ordenha, do 15º, 17º e 21º dia de cada período experimental, retirando-se pequenas quantidades sucessivas do medidor externo até alcançar um volume de 100 mL. As amostras compostas de cada animal referente ao mesmo dia foram obtidas pela mistura proporcional à produção de leite das 3 ordenhas. As análises qualitativas do leite (sólidos totais, proteína total, lactose e lipídios) foram realizadas por absorção infravermelho no equipamento Bentley 2000 (Bentley, 1995). A concentração de uréia no leite (mg/dL) foi realizada pelo método colorimétricoenzimático no equipamento Chemspec 150 (Bentley Instruments Inc. Chasca, MN, USA). A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura (PLG), pela equação citada por Sklan et al. (1992):  $PLG = (0,432 + 0,1625 * G) * kg$  de leite, em que G = % de gordura do leite.

Para determinar o perfil de ácidos graxos do leite, a extração dos lipídeos totais foi realizada conforme descrito por Nourooz-Zadeh e Appelqvist (1988) e o processo de



transesterificação, conforme o método 5509 da ISO (1978). A extração lipídica dos alimentos fornecidos aos animais foi realizada segundo metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959).

Os padrões de ácidos graxos utilizados para identificação do ácido linoleico conjugado (*cis*-9, *trans*-11) foi o Sigma Prod. N° O5632 e o padrão Supelco Prod. N°18919-1AMP composto de um pool de ésteres metílicos de ácidos graxos de C<sub>4</sub> a C<sub>24</sub>. A determinação foi realizada em cromatógrafo gasoso Shimadzu CG 17-A AF versão 3, sob as seguintes condições: coluna capilar de sílica, marca Supelco-Wax (100m, 0,25mm de diâmetro), gás de arraste He em fluxo de 1,2 mL min<sup>-1</sup>, split (razão de divisão da amostra) de 1/100 e a temperatura do detector foi mantida a 220°C. A temperatura da coluna foi estabilizada inicialmente a 165°C e aquecida gradativamente até 210°C.

O perfil de ácidos graxos foi calculado a partir da somatória das áreas no cromatograma dos respectivos ácidos graxos previamente selecionados e identificados através dos padrões empregados. O perfil de ácidos graxos dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais é apresentado na Tabela 2.

Os dados obtidos foram interpretados estatisticamente por meio de análises de variância e regressão utilizando o Statistical Analyses System - SAS (2001).

## **6.5. Resultados e Discussão**

### **6.5.1. Consumo de nutrientes**

Observaram-se efeitos significativos da inclusão de níveis crescentes de feno de capim coastcross em substituição à silagem de milho apenas sobre os consumos de PB, EE e CNF (Tabela 3).

O consumo de PB variou de 3,88 a 4,19 kg/d e apresentou efeito linear crescente com a inclusão de feno nos tratamentos. Embora as dietas experimentais fornecidas às vacas apresentassem valores semelhantes para teor de PB, estas consumiram menos PB quando

receberam ração contendo 9% de feno (3,88 kg/d). Provavelmente isto ocorreu porque os animais deste tratamento apresentaram um dos menores consumos de MS (valores absolutos), embora não tenha sido detectado efeito dos tratamentos testados.

Tabela 2 - Perfil de ácidos graxos (%) dos ingredientes das dietas experimentais.

Á.G.	Ingrediente					
	Silagem de milho	Feno de Coastcross	Farelo de soja	Farelo de algodão	Milho moído	Gérmen de milho
	Perfil de ácidos graxos (%)					
C <sub>6:0</sub>	nd	nd	0,10	Nd	0,06	Nd
C <sub>8:0</sub>	nd	nd	0,02	Nd	0,05	Nd
C <sub>10:0</sub>	1,19	nd	0,02	0,01	0,24	Nd
C <sub>12:0</sub>	2,85	0,48	0,05	0,01	0,26	Nd
C <sub>14:0</sub>	4,28	0,50	0,52	1,09	0,87	0,10
C <sub>14:1</sub>	2,15	nd	nd	Nd	0,07	Nd
C <sub>15:0</sub>	3,47	0,26	0,07	0,02	0,13	Nd
C <sub>16:0</sub>	40,57	20,24	19,99	22,67	15,60	11,95
C <sub>16:1</sub>	1,92	0,12	0,28	0,85	0,25	0,43
C <sub>17:0</sub>	nd	0,28	0,15	0,10	0,27	0,06
C <sub>18:0</sub>	10,82	4,02	4,80	2,51	3,30	0,23
C <sub>18:1n9c</sub>	9,77	31,44	18,42	19,66	34,13	36,48
ALC (C <sub>18:c9,t11</sub> )	nd	nd	nd	Nd	nd	nd
C <sub>18:2n6c</sub>	18,66	39,06	51,81	53,60	44,00	50,42
C <sub>18:3n3</sub>	3,56	3,06	4,12	0,60	0,81	0,82

nd – ácido graxo não detectado nos alimentos analisados

O consumo de EE apresentou efeito quadrático e variou de 0,49 a 0,60 kg/d, no entanto, como as dietas experimentais apresentaram teores de EE muito semelhantes, talvez essa diferença de ingestão possa ser decorrente da variação do consumo de MS em números absolutos, apresentados por estes animais, mesmo não tendo ocorrido efeito entre os tratamentos.

Observou-se que, mesmo não ocorrendo efeito dos tratamentos sobre o consumo de FDN<sub>cp</sub> (kg/d, %PV e kg/PV<sup>0,75</sup>), o consumo desta foi superior à recomendação mínima de 1% do peso vivo, segundo NRC (2001). Houve efeito quadrático dos tratamentos sobre o consumo de CNF ( $\hat{Y} = 0,002779167x^2 - 0,10839375x + 8,4912$ ; R<sup>2</sup>=91,08; P<sub>mín</sub>= 19,50). Observa-se que o tratamento com 0% de feno na ração proporcionou o maior consumo de

CNF, pois era constituído apenas de silagem de milho que apresentava menor tamanho de partículas, aumentando provavelmente a taxa de passagem de partículas sólidas no rúmen-retículo. Além disto, a ausência de feno neste tratamento acarretou maior concentração de CNF como o amido, provenientes de grãos de milho da silagem, aumentando o consumo.

Tabela 3 - Consumo de nutrientes em vacas em lactação recebendo dietas com níveis crescentes de feno de coastcross (na base seca) em substituição à silagem de milho.

Consumo de Nutrientes	Níveis de substituição				C.V. (%)	Regressão
	0%	9%	18,3%	27,6%		
MS, kg/d	24,82	23,74	24,71	23,44	4,10	$\hat{Y} = 24,18$
MS, %PV	3,79	3,64	3,78	3,59	4,24	$\hat{Y} = 3,70$
MS, g/kg <sup>0,75</sup>	19,17	18,37	19,08	18,13	4,22	$\hat{Y} = 18,69$
MO, kg/d	23,35	22,35	23,15	22,02	4,17	$\hat{Y} = 22,72$
PB, kg/d	4,07	3,88	4,19	4,02	2,82	<sup>1</sup>
EE, kg/d	0,49	0,54	0,60	0,53	6,96	<sup>2</sup>
FDN <sub>cp</sub> , kg/d	8,93	9,42	9,47	8,78	5,99	$\hat{Y} = 9,15$
FDN <sub>cp</sub> , %PV	1,36	1,44	1,45	1,34	6,06	$\hat{Y} = 1,40$
FDN <sub>cp</sub> , g/kg <sup>0,75</sup>	6,87	7,28	7,31	6,79	6,10	$\hat{Y} = 7,06$
CT, kg/d	18,79	17,92	18,36	17,47	4,88	$\hat{Y} = 18,14$
CNF, kg/d	10,18	8,95	9,23	9,18	6,48	<sup>3</sup>
NDT, kg/d	15,62	13,55	15,58	13,64	7,79	$\hat{Y} = 14,60$
NDT, %	66,64	62,69	68,33	63,29	8,57	$\hat{Y} = 65,24$
NDT, g/kg <sup>0,75</sup>	2,53	2,28	2,56	2,28	7,99	$\hat{Y} = 2,41$
ED, Mcal/kg MS	2,93	2,76	3,01	2,79	8,56	$\hat{Y} = 2,87$
EM, Mcal/kg MS	2,40	2,26	2,47	2,29	8,60	$\hat{Y} = 2,36$

MS, matéria seca; MO, matéria orgânica; EE, extrato etéreo; PB, proteína bruta; FDN<sub>cp</sub>, fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; CT, carboidratos totais; CNF, carboidratos não fibrosos; NDT, nutrientes digestíveis totais.

<sup>1</sup>  $\hat{Y} = 0,002388542x + 3,69329861$ ; R<sup>2</sup>=95,21

<sup>2</sup>  $\hat{Y} = -0,00029167x^2 + 0,010640625x + 0,5108541667$ ; R<sup>2</sup>=92,19; P<sub>máx</sub>= 18,24

<sup>3</sup>  $\hat{Y} = 0,002779167x^2 - 0,10839375x + 8,4912$ ; R<sup>2</sup>=91,08; P<sub>mín</sub>= 19,50

Apesar do efeito dos tratamentos observado sobre o consumo de PB e CNF, o consumo de NDT mostrou variação de 13,55 a 15,62 kg/d e não foi afetado pela inclusão crescente de feno nos tratamentos.

O efeito dos tratamentos sobre os consumos de PB, EE e CNF podem ter sido devido à diminuição da densidade das dietas em consequência da inclusão de feno, caracterizando como dieta de elevada capacidade de enchimento. Essas dietas têm a capacidade inibitória de ingestão voluntária de alimentos através do aumento de pressão interna no rúmen, identificado por receptores mecânicos presentes na parede ruminal, que enviam sinais nervosos ao centro de saciedade no cérebro, promovendo a interrupção da ingestão voluntária (Forbes, 1986).

#### **6.5.2. Coeficientes de digestibilidade**

Os coeficientes de digestibilidade da MS (56,24 a 63,64%), da MO (58,27 a 65,31%), da PB (58,76 a 66,09%), de EE (75,17 a 81,25%), de  $FDN_{cp}$  (37,17 a 46,90%), CT (57,44 a 64,04%) e de CNF (83,60 a 89,10%) não foram influenciados pelos diferentes tratamentos utilizados neste trabalho (Tabela 4).

Os valores médios de coeficientes de digestibilidade da MS e da PB foram semelhantes àqueles observados por West et al. (1998), que avaliaram a inclusão de níveis crescentes de feno de Tifton (8,5; 15,9 e 23,3%) em substituição à silagem de milho e encontraram valores médios de 63,30 e 65,77 %, respectivamente. Por outro lado, os coeficientes de digestibilidade da  $FDN_{cp}$  neste trabalho, foram inferiores aos relatados pelos referidos autores, que encontraram efeito linear para esse nutriente.

A similaridade energético-proteico das dietas experimentais através da inclusão de feno e o ajuste dos alimentos concentrados para que fossem semelhantes em disponibilidade de nutrientes, destacando apenas o acréscimo de diferentes quantidades de fibra efetiva

oriundas do feno, pode ter contribuído para que não houvesse diferença na digestibilidade dos nutrientes avaliados.

Tabela 4 - Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes das dietas com níveis crescentes de feno de capim Coastcross (na base seca) em substituição à silagem de milho.

<i>Nutriente</i>	Níveis de substituição				C.V. (%)	Regressão
	0%	9%	18,3%	27,6%		
MS (%)	62,97	56,24	63,64	57,15	9,94	$\hat{Y} = 60,00$
MO (%)	64,63	58,27	65,31	59,36	9,36	$\hat{Y} = 61,89$
PB (%)	65,48	58,76	66,09	60,52	11,31	$\hat{Y} = 62,71$
EE (%)	79,58	81,25	80,93	75,17	9,12	$\hat{Y} = 79,23$
FDN <sub>cp</sub> (%)	41,15	40,11	46,90	37,17	20,00	$\hat{Y} = 41,33$
CT (%)	64,04	57,44	64,62	58,58	8,94	$\hat{Y} = 61,17$
CNF (%)	88,72	83,60	89,10	86,99	2,82	$\hat{Y} = 87,10$

MS, matéria seca; MO, matéria orgânica; EE, extrato etéreo; PB, proteína bruta; FDN<sub>cp</sub>, fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; CT, carboidratos totais; CNF, carboidratos não fibrosos; NDT, nutrientes digestíveis totais.

### 6.5.3. Produção e composição do leite

A produção de leite variou de 39,64 a 41,12 kg/dia e foi influenciada pela inclusão de feno nas dietas experimentais apresentando efeito linear inversamente proporcional aos níveis crescentes de feno na ração (Tabela 5). O tratamento com 0% de inclusão de feno de Coastcross apresentou a maior produção de leite, fato esse que pode ser atribuído a maior ingestão de MS (Tabela 3). A diminuição da produção de leite devido a inclusão de feno em quantidades crescentes também foi relatada por West et al. (1998) ao acrescentarem feno de Tifton à dieta de vacas em lactação. Não foi observado efeito entre tratamentos para produção de leite corrigido para 3,5% de gordura.

Não houve efeito dos tratamentos sobre os teores percentuais de gordura, proteína, lactose e sólidos totais do leite. A composição percentual da gordura do leite apresentou média inferior ao esperado e variou de 2,82 a 3,05. Esses resultados foram inferiores aos teores de gordura observados por Åkerlind et al. (1999), que encontraram valores de 5,07 e

4,19% de gordura, respectivamente, ao avaliarem as produções de animais da raça Swedish Red na White selecionados para altos e baixos teores de gordura no leite, recebendo dietas a base de silagem e feno (55% e 5% na base seca da dieta total, respectivamente). Entretanto, relataram que a produção de leite desses animais foi em média de 25,7 e 29,7 kg/dia, respectivamente, para animais selecionados para alta e baixa produção de gordura no leite, o que demonstra ocorrer uma diminuição da concentração de lipídios em função do aumento da produção de leite, assim como para os demais sólidos do leite.

O acetato é o maior precursor da síntese de ácidos graxos na glândula mamária e portanto, para manter a concentração de gordura no leite é imprescindível a utilização de uma dieta com fonte de fibra de alta digestibilidade. A segurança em não reduzir a concentração de gordura no leite pode ser atingida, segundo Fox et al. (1992), mantendo-se níveis de FDN efetivo na dieta entre 19 a 21%, oriundos de forragens processadas ou ensiladas. Neste trabalho, estas recomendações foram atendidas nos tratamentos experimentais avaliados pois o menor valor de FDN efetivo observado (26,1%) foi para o tratamento com 30% de inclusão de feno (considerando que a FDN das forragens apresenta 100% de efetividade). No entanto, outro fator que pode ter contribuído para os baixos teores de gordura no leite, é a baixa relação entre a quantidade de volumoso e amido digestível na dieta, cujos valores nos tratamentos deste experimento foram de 0,97, 0,97, 0,91 e 0,88, respectivamente, para os níveis crescentes de 0% a 27,6% de inclusão de feno. Segundo Chase (1993), citado por Ashes et al. (1997), esta relação deve permanecer superior a 1, caso contrário esta condição pode direcionar a fermentação ruminal para concentrações mais elevadas de propionato, composto com alto potencial de deprimir o teor de gordura do leite.

Não foi observada interferência dos tratamentos sobre a produção dos componentes do leite, que apresentaram valores médios de 1,17, 1,79 e 4,56 kg/dia, respectivamente, para gordura, lactose e sólidos totais. Entretanto, a produção diária de

proteína variou entre 1,21 e 1,25 kg/dia e diferiu ( $P \leq 0,05$ ) entre os tratamentos com 0 e 10% de inclusão de feno.

Tabela 5 - Produção e composição do leite de vacas em lactação alimentadas com níveis crescentes de feno de capim Coastcross em substituição a silagem de milho

Item	Níveis de substituição				C.V. (%)	Regressão
	0%	9%	18,3%	27,6%		
<b>Produção de leite</b>						
PL (kg/dia) <sup>1</sup>	41,12	39,64	40,74	40,46	2,31	<sup>4</sup>
PLG 3,5% (kg/d) <sup>2</sup>	36,50	36,51	36,14	36,65	4,02	$\hat{Y} = 36,45$
<b>Composição do leite</b>						
Gordura (%)	2,85	3,05	2,82	2,99	9,86	$\hat{Y} = 2,93$
Proteína (%)	3,06	3,07	3,05	3,09	2,23	$\hat{Y} = 3,07$
Lactose (%)	4,43	4,41	4,47	4,37	1,88	$\hat{Y} = 4,42$
Sólidos Totais (%)	11,26	11,45	11,28	11,33	2,56	$\hat{Y} = 11,33$
Uréia (NUL, mg/dL)	16,92	17,98	18,24	18,88	5,38	<sup>5</sup>
<b>Produção de constituintes do leite</b>						
Gordura (kg/d)	1,15	1,19	1,14	1,18	8,87	$\hat{Y} = 1,17$
Proteína (kg/d)	1,25	1,21	1,24	1,24	1,82	$\hat{Y} = 1,24$
Lactose (kg/d)	1,82	1,75	1,82	1,77	3,12	$\hat{Y} = 1,79$
Sólidos Totais (kg/d)	4,61	4,52	4,59	4,55	2,00	$\hat{Y} = 4,57$
<b>Eficiência de produção</b>						
PL/CMS (kg/kg)	1,65	1,67	1,66	1,71	5,31	$\hat{Y} = 1,67$
N leite/CN <sup>3</sup> (g/g)	0,271	0,284	0,259	0,277	5,76	<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Produção de leite

<sup>2</sup> Produção de leite corrigida para 3,5% de gordura

<sup>3</sup> Consumo de N

<sup>4</sup>  $\hat{Y} = -0,00572917x + 42,18125$ ;  $R^2 = 99,21$

<sup>5</sup>  $\hat{Y} = 0,06030208x + 17,79159722$ ;  $R^2 = 96,16$

<sup>6</sup>  $\hat{Y} = 0,0000125x^2 - 0,0004895833x + 0,2549305556$ ;  $R^2 = 87,66$ ;  $P_{\text{mín}} = 19,58$

Os teores de nitrogênio ureico no leite (NUL) variaram de 16,92 a 18,88 mg/dL e apresentaram efeito linear crescente em relação ao incremento de feno nos tratamentos avaliados. Exceto pelos valores de 18,24 e 18,88 mg/dL apresentados pelos tratamentos com 18,3 e 27,6% de inclusão de feno, os demais se mantiveram dentro dos valores esperados e estabelecidos por Jonker et al. (1999), que é de 10 a 18 mg/dl, ajustados para as características dos animais e de produção avaliadas nesse trabalho. No entanto, esses parâmetros são baseados em indicações estabelecidas pelo NRC (2001), podendo variar de acordo com os

tipos de alimentos utilizados, nível de ingestão, nível de produção, condições ambientais, excesso de consumo de N ou de proteína degradável no rúmen, e não são considerados alarmantes os valores que ultrapassaram o limite superior. Valores de N ureico no leite observados acima dos parâmetros anteriormente citados podem ser atribuídos a um leve desequilíbrio na disponibilidade de energia de rápida assimilação pelos microrganismos ruminais em relação a quantidade de N na forma de NNP presente no rúmen. A eficiência de utilização de N, calculada a partir da relação quantidade de N no leite/consumo de N (g/g), apresentou efeito quadrático com  $P_{\text{mín.}} = 19,58$ . Dessa forma, supõe-se que o perfil de aminoácidos exigido para a lactação não foi plenamente atingido e influenciou o índice de menor eficiência de utilização de N, tendo em vista que esses aminoácidos originários dos alimentos e/ou de microrganismos ruminais podem ser empregados na síntese de outros produtos metabólicos (Cordeiro et al., 2007).

O perfil de ácidos graxos determinados no leite de vacas em lactação submetidas aos tratamentos com inclusão de níveis crescentes de feno de coastcross em substituição a silagem de milho está apresentado na Tabela 6.

Os ácidos graxos de cadeia curta e média representados pelo ácido caprótico ( $C_{6:0}$ ), ácido caprílico ( $C_{8:0}$ ), ácido cáprico ( $C_{10:0}$ ), ácido láurico ( $C_{12:0}$ ), ácido mirístico ( $C_{14:0}$ ), ácido decapentanóico ( $C_{15:0}$ ), ácido palmítico ( $C_{16:0}$ ), ácido palmitoleico ( $C_{16:1}$ ) e ácido pentadecanóico ( $C_{17:0}$ ) não apresentaram diferença entre os tratamentos e tiveram média de 1,16; 0,90; 2,61; 3,57; 14,84; 1,27; 34,33; 2,45 e 0,70, respectivamente. O teor de ácido miristoleico ( $C_{14:1}$ ) foi afetado pelos tratamentos aplicados neste estudo e apresentou efeito quadrático com  $P_{\text{mín.}} = 10,83$ . Segundo Grummer (1991), a dieta é muito ineficiente em promover a mudança no perfil de ácidos graxos de cadeia curta e média do leite, e segundo Ávila et al. (2000), essa alteração é frequentemente observada quando ocorre redução no teor da gordura geral do próprio leite. Portanto, o perfil de ácidos graxos neste trabalho já era



esperado, uma vez que não houve variação de gordura do leite entre os tratamentos experimentais.

Tabela 6 - Perfil de ácidos graxos (%) do leite de vacas em lactação alimentadas com níveis crescentes de feno de capim Coastcross em substituição a silagem de milho.

Ácidos Graxos	Níveis de substituição				C.V. (%)	Regressão
	0%	9%	18,3%	27,6%		
C <sub>6:0</sub>	1,12	1,25	1,18	1,09	14,53	$\hat{Y} = 1,16$
C <sub>8:0</sub>	0,87	0,96	0,92	0,86	12,47	$\hat{Y} = 0,90$
C <sub>10:0</sub>	2,59	2,71	2,62	2,53	11,34	$\hat{Y} = 2,61$
C <sub>12:0</sub>	3,63	3,62	3,52	3,50	7,92	$\hat{Y} = 3,57$
C <sub>14:0</sub>	15,38	14,92	14,11	14,93	14,14	$\hat{Y} = 14,84$
C <sub>14:1</sub>	1,09	1,05	0,99	1,04	6,37	<sup>1</sup>
C <sub>15:0</sub>	1,34	1,21	1,24	1,27	10,52	$\hat{Y} = 1,27$
C <sub>16:0</sub>	35,66	35,12	32,67	33,88	3,81	$\hat{Y} = 34,33$
C <sub>16:1</sub>	2,43	2,63	2,84	1,90	28,94	$\hat{Y} = 2,45$
C <sub>17:0</sub>	0,69	0,69	0,68	0,74	10,20	$\hat{Y} = 0,70$
C <sub>18:0</sub>	12,76	12,20	12,66	13,83	8,47	<sup>2</sup>
C <sub>18:1n9c</sub>	21,56	22,58	24,77	23,15	4,48	$\hat{Y} = 23,02$
ALC (C <sub>18:c9,t11</sub> )	0,37	0,45	0,43	0,45	14,66	$\hat{Y} = 0,43$
C <sub>18:2n6c</sub>	2,93	3,08	3,25	3,19	16,27	$\hat{Y} = 3,11$
C <sub>18:3n3</sub>	0,115	0,142	0,158	0,146	13,58	$\hat{Y} = 0,14$

<sup>1</sup>  $\hat{Y} = 0,0002083x^2 - 0,008583x + 1,193$ ;  $R^2 = 97,77$ ;  $P_{\text{mín}} = 20,60$

<sup>2</sup>  $\hat{Y} = 0,0051x^2 - 0,1003x + 12,742$ ;  $R^2 = 0,99$ ;  $P_{\text{mín}} = 9,83$

O ácido esteárico (C<sub>18:0</sub>) variou de 12,20 a 13,83% e sofreu efeitos quadráticos dos tratamentos, apresentando  $P_{\text{mín.}}=9,83$  ( $P<0,05$ ). Apesar do ácido oléico (C<sub>18:1n9c</sub>) do leite variar de 21,56 a 24,77%, não sofreu efeito dos tratamentos. No entanto, valores numéricos crescentes foram observados conforme a inclusão de níveis crescentes de feno nas dietas. Concentrações mais elevadas de C<sub>18:1n9c</sub> no leite de vacas submetidas aos tratamentos com inclusões maiores de feno indicam que ocorreu biohidrogenação ruminal incompleta de ácidos graxos insaturados (Dhiman et al., 1999). O comportamento do perfil destes ácidos graxos foi semelhante aos observados por Storry et al. (1974) que trabalharam com dietas ricas em forragens compostas por 47% de feno e 53% de concentrado (na base seca) e dietas ricas em concentrado, com 8,3% de feno e 91,7% de concentrado (na base seca). Kalscheur et al. (1997) e Piperova et al. (2002), estudando compostos intermediários da biohidrogenação

ruminal de ácidos graxos, observaram que diminuindo a relação volumoso:concentrado de dietas contendo silagem de milho e feno de alfafa, de 60:40 para 25:75 (na base seca), ocorreu um incremento no fluxo ruminal do ácido graxo intermediário trans 18:1 em passagem para o duodeno.

Neste trabalho verificou-se que a inclusão crescente de feno em substituição a silagem de milho não influenciaram as concentrações de ácido linolênico ( $C_{18:3n3}$ ) (0,115 a 0,158%) e ácido linolêico conjugado ( $C_{18:c9,t11}$ ), conhecido pela sigla ALC (0,366 a 0,453%), entretanto, observa-se que houve uma tendência de aumento nos teores de ácido linolênico ( $C_{18:3n3}$ ) e ALC com o aumento dos níveis de feno na ração. Shingfield et al. (2005) avaliaram o perfil de ácidos graxos do leite produzido por vacas alimentadas com dietas a base de feno em comparação a animais que receberam silagem preparada a partir da mistura de grama Timothy e festuca, e relataram que houve aumento na concentração de  $C_{18:3n3}$  no leite. Entretanto, não observaram diferença nas concentrações de ALC no leite dos animais. Da mesma forma, Dhiman et al. (1999) não encontraram diferença na concentração de ALC no leite de vacas recebendo dietas contendo 50:50 de volumoso e concentrado, com proporções crescentes de feno de alfafa (66,2% e 98,2%), e suplementação concentrada a base de milho moído. Segundo Kelly et al., (1998); Åkerlind et al., (1999) e Peterson et al., (2002), os aspectos relacionados a individualidade do animal, os números de lactações, os dias em lactação, a atividade da enzima  $\Delta^9$ -desaturase na glândula mamária e as linhagens genéticas, são características que podem influenciar na concentração de ALC no leite.

Devido a similaridade das características das dietas experimentais avaliadas (concentração dos nutrientes), os parâmetros avaliados em sua grande parte não mostraram diferenças atribuídas aos tratamentos aplicados neste trabalho.

## 6.6. Conclusão

A inclusão de níveis crescentes de feno na dieta de vacas em lactação de alta produção pode ser adotada como alternativa na diversificação de ingredientes na dieta, pois de modo geral, influenciou positivamente apenas os consumos de proteína bruta, extrato etéreo e carboidratos não fibrosos, sem afetar a digestibilidade dos nutrientes.

O aumento do tamanho das partículas de volumoso através da inclusão de níveis crescentes de feno na dieta influenciou a produção de leite (kg/dia) em vacas em lactação de alta produção, mas a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura e sua composição centesimal não foram afetados. Apenas os teores de ácido miristoleico (C<sub>14:1</sub>) e ácido esteárico (C<sub>18:0</sub>) sofreram modificações devido a inclusão de níveis crescentes de feno na dieta.

## 6.7. Referências

ASHES, J.R.; GULATI, S.K.; SCOTT, T.W. Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. **Journal of Dairy Science**, 80:2204-2212, 1997.

ÅKERLIND, M.; HOLTENIUS, K.; BERTILSSON, J.; EMANUELSON, M. Milk composition and feed intake in dairy cows selected for high or low milk fat percentage. **Livestock Production Science**, 59,p.1-11, 1999.

Association of Official Analytical Chemists - AOAC. **Official methods of analysis**. 15.ed., Virginia: Arlington. 1117p. 1990.

ÁVILA, C.D.; DEPETERS, E.J.; PEREZ-MONTI, H.; TAYLOR, S.J.; ZINN, R.A. Influences of saturation ratio of supplemental dietary fat on digestion and milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.9, p.2204-2212, 2000.

BEAUCHEMIN, K.A.; BUCHANAN-SMITH, J.G. Effects of fiber source and method of feeding on chewing activities, digestive function, and productivity of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.749-762, 1990.

Bentley Instruments. **Bentley 2000: operator's manual**. Chasca, 1995.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification, **Canadian Journal Biochemistry Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, R.M. et al. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. **Annales de Zootechnie**, v.49, p.181-205, 2000.

COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D.; GALYEAN, M.L. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1476-1483, 1986.

CORDEIRO, C.F.A.; PEREIRA, M.L.A.; MENDONÇA, S.M.; ALMEIDA, P.J.P.; AGUIAR, L.V.; FIGUEIREDO, M.P. Consumo e digestibilidade total dos nutrientes e produção e composição do leite de vacas alimentadas com teores crescentes de proteína bruta na dieta contendo cana-de-açúcar e concentrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.2118-2126, 2007 (supl.)

DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.58, p.593-607, 1999.

DHIMAN, T.R.; ANAND, G.R.; SATTER, L.D.; PARIZA, M.W. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.2146-2156, 1999.

FORBES, J.M. **The voluntary intake of farm animals**. London: Butterworths, 1986. 206p.

FOX, D.G.; SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; RUSSELL, J.B.; VAN SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III. Cattle requirements and diet adequacy. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3578-3596, 1992.

GRANT, R.J.; COLENBRANDER, V.F.; MERTENS, D.R. Milk fat depression in dairy cows: role of particle size of alfalfa hay. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.1823-1833, 1990.

GRUMMER, R.R. Effect of feed on the composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3244-3257, 1991.

International Organization for Standardization ISO. **Animal and vegetable fats and oils Preparation of methyl esters of fatty acids**. Geneve, 1978. p.1-6. (Method ISO 5509).

JONKER, J.S.; KOHN, R.A.; ERDMAN, R.A. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to national research council recommendations. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.6, p.1261-1273, 1999.

KALSCHEUR, K.F.; TETER, B.B.; PIPEROVA, L.S.; ERDMAN, R.A. Effect of dietary forage concentration and buffer addition on duodenal flow of trans-C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2104-2114, 1997.

KELLY, M.L.; KOLVER, E.S.; BAUMAN, D.E.; VAN AMBURGH, M.E.; MULLER, L.D. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1630-1636, 1998.

National Research Council - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed.rev. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001. 381p.

NOUROOZ-ZADEH, J.; APPELQVIST, L. A. Cholesterol oxides in Swedish foods and food ingredients: milk powder products. **Journal of Food Science**, v.53, p.74-87, 1988.

PARODI, P.W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.1339-1349, 1999.

PETERSON, D.G.; KELSEY, J.A.; BAUMAN, D.E. Analysis of variation in cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.9, p.2164-2172, 2002.

PIPEROVA, L.S.; SAMPUGNA, J.; TETER, B.B.; KALSCHEUR, K.; YURAXECZ, M.; KU, Y.; MOREHOUSE, K.; ERDMAN, R.A. Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate postabsorptive synthesis is the predominant source of cis9-containing CLA in lactating dairy cows. **Journal of Nutrition**, n.132, p.1235-1241, 2002.

SILVA, J.F.C. da; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição de ruminantes**. Piracicaba: Livrocere, 1979. 380p.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. FOX, D.G.; RUSSELL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.

Statistical Analysis System Intitute, Inc. 2001. **SAS user's guide: Statistics**. SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA.

SHINGFIELD, K.J.; SALO-VÄÄNÄNEN, P.; PAHKALA, E.; TOIVONEN, V.; JAAKKOLA, S.; PIIRONEN, V.; HUHTANEN, P. Effect of forage conservation method, concentrate level and propylene glycol on the fatty acid composition and vitamin content of cows' milk. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.349-361, 2005.

STORRY, J.E.; BRUMBY, P.E.; HALL, A.J.; JOHNSON, V.W. Responses in rumen fermentation and milk-fat secretion in cows receiving low-roughage diets supplemented with protected tallow. **Journal of Dairy Research**, v.41, p.165, 1974.

Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. New York: Cornell University Press, 1994.

WEST, J.W.; MANDEBVU, P.; HILL, G.M.; GATES, R.N. Intake, milk yield, and digestion by dairy cows fed diets with increasing fiber content from bermudagrass hay on silage. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.1599-1607, 1998.

## 7. ARTIGO II

O seguinte artigo foi formatado de acordo com as normas da revista *Animal Feed Science and Technology* (Anexo I) e recebeu o aceite de publicação em 3 de abril de 2008.

### **Effects of vitreousness and particle size of maize grain on ruminal and intestinal *in sacco* degradation of dry matter, starch and nitrogen**

B.M.O. Ramos<sup>1</sup>, M. Champion<sup>2</sup>, C. Poncet<sup>1</sup>, I.Y. Mizubuti<sup>3</sup>, P. Nozière<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> INRA, UR1213 Unité de Recherche sur les Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle

<sup>2</sup> Limagrain Genetics, 63720 Chappes France.

<sup>3</sup> Universidade Estadual de Londrina - Paraná – Brazil

\* To whom correspondence should be addressed. E-mail: [nozriere@clermont.inra.fr](mailto:nozriere@clermont.inra.fr)

## 7.1. Abstract

We assessed the effects of vitreousness and particle size of maize grain on ruminal and intestinal *in sacco* degradation of dry matter, starch and nitrogen. Six maize grain (*Zea mays*) genotypes characterized by differing vitreousness (proportion of vitreous in total endosperm) were ground (3-mm screen; Gr, ground particles, mean particle size (MPS): 526  $\mu\text{m}$ ) and cracked with a roller mill using 2 gap width settings (CS, cracked small particles, MPS: 1360  $\mu\text{m}$ ; CL, cracked large particles, MPS: 2380  $\mu\text{m}$ ). The ruminal and intestinal *in sacco* degradation of dry matter, starch and nitrogen was measured on three dry Holstein cows, fitted with rumen, proximal duodenum and terminal ileum cannulas, fed maize silage *ad libitum* twice daily. The ruminal starch degradability and intestinal digestibility differed among genotypes ( $P < 0.001$ ) and decreased as particle size increased ( $P < 0.001$ ). For the same particle size, starch ruminal degradability decreased ( $P < 0.05$ ) and intestinal digestibility decreased ( $P < 0.002$ ) with vitreousness. Particle size and vitreousness of maize grain are efficient factors for manipulating the amount of starch escaping rumen degradation, but may be limiting for the amount of starch digested in the small intestine.

**Keywords:** Mobile bag technique, small intestine digestibility, particle size, vitreousness, maize starch

## 7.2. Introduction

The milk and meat produced by ruminants are strongly dependent on the digestive use of ration constituents. A large part of the ration is made up of concentrates, grains or grain by-products rich in starch and protein. Starch is an important source of energy and its degradation in the rumen fuels micro-organisms for the synthesis of microbial proteins and volatile fatty acids (VFA). The starch that escapes digestion in the rumen enters the small

intestine where it is broken down by pancreatic alpha-amylase and disaccharidase action, producing glucose. The control of the site and extent of starch digestion limits the risk of ruminal acidosis (Sauvant, 1997). Also, different sites of starch digestion generate different nutrients (volatile fatty acids or glucose), which are used with different efficiencies for energy production.

The proportion of the starch that escapes degradation in the rumen ranges from 50 to 650 g/kg of starch intake (Huntington, 1997; Crocker et al., 1998). This variation depends partly on intake level and on the nature of the cereal. For the same cereal, technological treatments (grinding, cracking, steam flaking, pelleting, extrusion and expander processing) have a significant effect on ruminal starch degradability, resulting in considerable amounts of starch escaping the rumen and entering the small intestine (Svihus et al., 2005; Huntington et al., 2006). The physical characteristics of the cereal can also affect digestion rates. Vitreousness is a variable used to define the hardness of a cereal grain. It is characterized by structural and chemical features that cause the protein distribution (zeins/glutelins) in the endosperm to affect the ruminal starch degradation by hindering the access of microorganisms to starch granules (Philippeau et al., 2000). Vitreousness has been shown to adversely affect microbial colonization of grain (McAllister et al., 1990) and starch ruminal digestion in steers (Philippeau et al., 1999b) and dairy cows (Rémond et al., 2004).

Digestion of starch entering the duodenum occurs mainly in the small intestine and is estimated to range from 380 to 880 g/kg (Owens et al., 1986). The amount of pancreatic amylase secreted in the duodenum increases with increasing grain intake (Harmon, 1992). The intestinal starch digestibility still can be limited by factors as unfavorable chemical conditions in the small intestine or the presence of pancreatic amylase inhibitors, starch inaccessibility to enzymes linked to insolubility, or particle size decreasing the surface area for starch digestion (Owens et al., 1986). Whereas the effects of intrinsic features of



feeds on ruminal starch degradation have been widely investigated and quantified (Offner et al., 2003), their effects on intestinal digestion remains still unclear.

Our present objective was to evaluate intrinsic features of feeds known to affect starch digestion in the rumen and that could influence the accessibility of starch by endogenous enzymes in post-ruminal digestion. We set out to assess (i) the effects of maize genotypes (vitreousness) and physical processing (particle size) of grain on ruminal and intestinal starch degradation, and (ii) the relationships between ruminal and intestinal starch degradation. Because the protein distribution in maize grain endosperm is known to affect accessibility of starch granules and their subsequent degradation, nitrogen degradation was also measured simultaneously.

### **7.3. Material and Methods**

#### ***7.3.1. Experimental feeds***

The experimental feeds consisted of 18 maize grains (*Zea mays*) differing in genotype (two lines: V64 and V68, and four hybrids: V35, V41, V47 and V55) and in physical processing (Table 1). These genotypes were selected to represent a range of vitreousness (proportion of vitreous in total endosperm, determined by near infrared spectroscopy, Limagrain Genetics, France) from 350 to 680 g/kg. They underwent three treatments: ground to pass through a 3-mm sieve (Gr, ground), and cracked with a roller mill using two gap width settings (CS, cracked small; CL, cracked large).

#### ***7.3.2. Animals and diet***

Six non-lactating Holstein cows were surgically fitted with a permanent ruminal cannula (106 mm i.d.) made of polyamide and polyvinyl chloride (Synthesia, Nogent-sur-Marne, France). Three of them were fitted with permanent T-shaped cannulas (19 mm i.d.)

made of plastisol (Synthesia) with a gutter-type base placed at the proximal duodenum (15-20 cm caudal of the flexura cranialis) and in the terminal ileum (approximately 50 cm before the caecum). The surgery was conducted aseptically under general anaesthesia using isoflurane. Surgery and post-surgical care were conducted under conditions compliant with national legislation on the care and use of laboratory animals (Statutory Order N°. 87-848, October 19, 1987, *Journal Officiel*, France). Animals were individually housed in stalls with free access to water. The diet consisted of maize silage *ad libitum*, a mineral-vitamin supplement (200 g / cow / d) and sodium bicarbonate (140 g / cow / d), given twice daily in equal amounts at 0730 and 1630 h.

Table 1. Chemical and physical characteristics of experimental feeds

	Genotypes					
	V35	V41	V47	V55	V64	V68
DM (g/kg)	886	892	889	889	899	903
Starch (g/kg DM)	640	708	632	702	653	650
N (g/kg DM)	82	88	113	104	129	130
Vitreousness (g/kg)	350	410	470	550	640	680
Mean particle size (µm)						
Gr	500	581	552	551	547	501
CS	1364	1373	1318	1380	1423	1451
CL	2320	2294	2404	2366	2449	2450

Gr, ground; CS, cracked small; CL, cracked large.

### 7.3.3. *In situ* ruminal degradation kinetics

*In situ* ruminal degradation kinetics of each experimental feed were measured in duplicate on three cows. Approximately 3 g of experimental feed was put into a dacron bag (Ankom Co, Fairport, NY, USA; pore size: 53 µm; internal dimensions: 5 × 10 cm) and introduced into the ventral sac of the rumen at 0730 h, just before the morning meal. The bags were removed after 3, 6, 9, 15, 24 and 48 hours of incubation, rinsed under cold tap water to remove particles adhering to the outside, and frozen (-18°C). After thawing, the bags were machine-washed in cold water for four cycles of 5 minutes each, dried at 60°C for 72 h in a

forced-air oven, and weighed. Residues were grouped by experimental feed and time of incubation for subsequent starch and N determinations. Since contamination of bags by microbial N has been shown to be negligible in the determination of ruminal N degradability of maize (Michalet-Doreau and Ould-Bah, 1992), the bags were not processed with a stomacher before determining the N content in residues. Since degradation did not fit to first order kinetics, particularly with CS and CL treatments, fractional degradation rate was not determined, and the effective ruminal degradability of DM, starch and N was calculated by the step-by-step method (Kristensen et al., 1982) with a fixed outflow rate of 0.06 / h.

#### ***7.3.4. In situ intestinal digestibility***

Ruminal residues were obtained through rumen incubation of each experimental feed for 15 h. Approximately 15 g of sample was put into large nylon bags (Ankom Co, Fairport, NY, USA; pore size: 53  $\mu$ m; internal dimensions: 10  $\times$  20 cm) and introduced into the ventral sac of the rumen of three cows, just before the evening meal. One bag per cow per experimental feed was incubated in duplicate (two consecutive periods) resulting in six bags per experimental feed incubated. After removal from the rumen, the bags were rinsed, frozen, thawed, washed and dried as described for the other rumen bags. The ruminal residues were pooled by experimental feed before preparation of intestinal mobile bags.

Bags (Ankom Co, Fairport, NY, USA; pore size: 53  $\mu$ m; internal dimensions: 4  $\times$  3 cm) with heat-sealed edges were filled with approximately 1.1 g (DM basis) of rumen residues and an iron ball (6 mm diameter). The bags were processed by HCl-pepsin digestion, with 2 g pepsin/l (2000 FIP-U/g, Merck, Fédération Internationale Pharmaceutique) of HCl 0.01 N solution for 90 minutes (39°C), with a mean pH of 2.65. After the acid-enzymatic incubation, a maximum of 10 bags per cow per day, in a randomized distribution, were inserted into the proximal duodenum through the cannula at 10 min intervals in three cows. A round-ended cylindrical magnet (16 mm diameter  $\times$  13 mm, held by a rubber stopper) was

used into the ileal cannula to recover the bags leaving the small intestine by attracting the iron balls into the ileal cannula. Bags which were not recovered in the ileal cannula were recovered from the feces up to 48 h. For each bag, the time elapsed between duodenal introduction and ileal or faecal recovery was recorded. The intestinal bags were washed, dried and weighed using the same procedure as for rumen bags. The intestinal residues were then grouped by experimental feed and recovery site for subsequent starch and N determinations. Intestinal digestibilities of DM, starch and N were calculated as the percentages of these components that had disappeared from the bags between duodenal incubation and ileal (small intestine) or faecal (whole intestine) recovery.

#### ***7.3.5. Laboratory analysis***

The particle size distribution of feed was analyzed by dry granulometry based on the Tecaliman method (Tecaliman, 1996). For this evaluation, 100 g of each experimental feed was sieved in duplicate in a column with a series of 11 sieves, with 5000, 4000, 3150, 2000, 1250, 800, 500, 315, 200, 125 and 80  $\mu\text{m}$  aperture sizes, in a vertical oscillator apparatus for 10 minutes. Mean particle size of maize was calculated by fitting the data to a log normal distribution (Waldo et al., 1971).

Experimental feeds, and rumen and intestinal residues were ground in a ball mill and analyzed in duplicate for starch using an enzymatic method (Faisant et al., 1995) and for nitrogen using the Dumas method (AOAC, 1990).

#### ***7.3.6. Statistical Analysis***

Ruminal degradability (and intestinal digestibility) data were analysed by ANOVA using the MIXED procedure of SAS (1996), with genotype, treatment, and their interactions as fixed effects, and animal as random effect. The effect of vitreousness on ruminal degradability (and intestinal digestibility) was assessed by variance-covariance

models, including vitreousness, treatment, and their interaction as fixed effects, and animal as random effect. For ruminal degradability, the statistical unit was the mean per experimental feedstuff per cow ( $N = 54$ ). For intestinal digestibility, the time elapsed between duodenal introduction and ileal or faecal recovery was introduced as covariable in the models, so that the statistical unit consisted of each replicate ( $N = 171$  and  $162$  for small and whole intestine, respectively).

Variance-covariance models were used to assess the relationships between DM *vs.* starch *vs.* N digestion within each site (rumen, small intestine, whole intestine), including the explanatory variable ( $X$ ), genotype, and their interaction as fixed effects. The relationships between starch digestion in rumen *vs.* small intestine *vs.* whole intestine were assessed by single regression. In both variance-covariance and simple regression, the experimental unit was the mean per studied feedstuff ( $N = 18$ ), and both linear and quadratic models were tested.

## **7.4. Results**

### ***7.4.1. Chemical and physical characteristics***

The chemical and physical characteristics of experimental feeds are presented in Table 1. Among genotypes, the starch content ranged between 632 and 708 g/kg of DM, and the N content between 82 and 130 g/kg of DM. Vitreousness (proportion of vitreous in total endosperm) ranged between 350 and 680 g/kg, and was positively related to N content ( $P = 0.006$ ).

Mean particle size ranged from 2294  $\mu\text{m}$  to 2450  $\mu\text{m}$  with CL, from 1318  $\mu\text{m}$  to 1451  $\mu\text{m}$  with CS and from 500  $\mu\text{m}$  to 581  $\mu\text{m}$  with Gr. With CL, the mean particle size was positively related to vitreousness ( $P = 0.02$ ). The same trend was observed with CS ( $P = 0.08$ ), but not with Gr ( $P = 0.75$ ).

#### 7.4.2. Ruminal degradability

Ruminal degradability of DM, starch and N are described in Table 2. They ranged from 289 to 593 g/kg for DM, from 237 to 658 g/kg for starch, and from 289 to 526 g/kg for N. They were affected by both genotype and treatment. Differences in ruminal degradability between maize genotypes were more marked with treatment Gr than with the other treatments. Within a given treatment, differences in ruminal degradability between genotypes

Table 2. *In sacco* ruminal degradability of dry matter (DM), starch and nitrogen (N) for different maize genotypes and particles sizes

Genotype	Treatments <sup>1</sup>			SE <sup>2</sup>	Effects <sup>3</sup>		
	CL	CS	Gr		G	T	G·T
DM ruminal degradability (g/kg)							
V35	416 <sup>Ac</sup>	486 <sup>ABb</sup>	593 <sup>Aa</sup>				
V41	412 <sup>Ac</sup>	497 <sup>Ab</sup>	583 <sup>Aa</sup>				
V47	340 <sup>Bb</sup>	455 <sup>BCa</sup>	480 <sup>Ba</sup>				
V55	371 <sup>Bc</sup>	435 <sup>CDb</sup>	500 <sup>Ba</sup>				
V64	289 <sup>Cb</sup>	376 <sup>Ea</sup>	388 <sup>Ca</sup>				
V68	353 <sup>Bc</sup>	414 <sup>Db</sup>	488 <sup>Ba</sup>	21.3	***	***	**
Starch ruminal degradability (g/kg)							
V35	351 <sup>Bb</sup>	398 <sup>BCb</sup>	623 <sup>ABa</sup>				
V41	425 <sup>Ac</sup>	496 <sup>Ab</sup>	632 <sup>Aa</sup>				
V47	328 <sup>Bb</sup>	481 <sup>Aa</sup>	457 <sup>Ca</sup>				
V55	373 <sup>ABc</sup>	488 <sup>Ab</sup>	658 <sup>Aa</sup>				
V64	237 <sup>Cc</sup>	359 <sup>Cb</sup>	419 <sup>Ca</sup>				
V68	343 <sup>Bc</sup>	439 <sup>ABb</sup>	573 <sup>Ba</sup>	28.4	***	***	***
N ruminal degradability (g/kg)							
V35	354 <sup>ABc</sup>	422 <sup>ABb</sup>	526 <sup>Aa</sup>				
V41	377 <sup>Ac</sup>	434 <sup>Ab</sup>	515 <sup>Aa</sup>				
V47	318 <sup>BCb</sup>	391 <sup>BCa</sup>	424 <sup>Ca</sup>				
V55	352 <sup>ABc</sup>	408 <sup>ABb</sup>	472 <sup>Ba</sup>				
V64	289 <sup>Cb</sup>	360 <sup>Ca</sup>	354 <sup>Da</sup>				
V68	307 <sup>Cc</sup>	395 <sup>BCb</sup>	451 <sup>BCa</sup>	24.2	***	***	*

<sup>1</sup> CL = cracked large; CM = cracked small; Gr = ground.

<sup>2</sup> SE values are pooled SE for each genotype × treatment means.

<sup>3</sup> G = genotype; T = treatment.

\*  $P < 0.05$  ; \*\*  $P < 0.01$  ; \*\*\*  $P < 0.001$ .

Means within a row (small letter) or within a column (capital letter) not sharing a common superscript differ ( $P < 0.05$ ).

were negatively related to vitreousness for DM ( $P < 0.001$ ), starch ( $P < 0.05$ ) and N ( $P < 0.001$ ). Starch disappeared after 3 h incubation time (expressed as g/kg incubated starch) accounted for 111 (24 to 195) with CL, 227 (133 to 303) with CS, and 382 (193 to 524) with Gr.

#### **7.4.3. Intestinal digestibility**

The transit time of bags between the duodenum and the ileum ranged from 5 h 35 min. to 11 h 30 min., averaging 8 h 23 min. (SE = 1 h 22 min.). For the bags that travelled through whole intestinal tract and were recovered in faeces, the transit time ranged from 20 h 50 min. to 47 h 40 min., averaging 25 h 37 min. (SE = 6 h 12 min.).

Small and whole intestine digestibilities are presented in Tables 3 and 4, respectively. Small intestine digestibility ranged from 376 to 758 g/kg for DM, 392 to 851 g/kg for starch, and 451 to 875 g/kg for N. Whole intestine digestibility ranged from 501 to 862 g/kg for DM, 476 to 969 g/kg for starch, and 496 to 914 g/kg for N. In both small and whole intestine, genotype and treatment both significantly affected DM, starch and N digestibility. Differences between genotypes were more marked with treatment CL than with the other treatments, for both small and whole intestine digestibilities. Within a given treatment, differences in small intestine digestibility between genotypes were negatively related to vitreousness for DM, starch, and N ( $P < 0.001$ ). Similar trends were observed in whole intestine ( $P < 0.01$  for DM,  $P < 0.001$  for starch and N).

Intestinal digestibility was positively related to bag transit time. The increase in digestibility averaged 1.27, 1.01, and 0.89 g/100 g / h for DM ( $P < 0.05$ ), starch ( $P < 0.05$ ) and N ( $P < 0.10$ ) in small intestine, and 0.32, 0.23, and 0.26 g/100 g / h for DM ( $P < 0.001$ ), starch ( $P < 0.001$ ), and N ( $P < 0.001$ ) in whole intestine, respectively.

Table 3. *In sacco* digestibility in small intestine ( $\text{g kg}^{-1}$  of duodenal incubation) of dry matter (DM), starch and nitrogen (N) for different maize genotypes and particles sizes

Genotype	Treatments <sup>1</sup>			SE <sup>2</sup>	Effects <sup>3</sup>		
	CL	CS	Gr		G	T	G·T
DM digestibility in small intestine (g/kg)							
V35	557 <sup>Ab</sup>	678 <sup>Aa</sup>	710 <sup>Ba</sup>				
V41	565 <sup>Ac</sup>	646 <sup>ABb</sup>	757 <sup>Aa</sup>				
V47	503 <sup>Bb</sup>	688 <sup>Aa</sup>	727 <sup>ABa</sup>				
V55	550 <sup>Ac</sup>	627 <sup>Bb</sup>	758 <sup>Aa</sup>				
V64	376 <sup>Dc</sup>	566 <sup>Cb</sup>	687 <sup>Ba</sup>				
V68	442 <sup>Cc</sup>	604 <sup>BCb</sup>	686 <sup>Ba</sup>	15.8	***	***	***
Starch digestibility in small intestine (g/kg)							
V35	614 <sup>Ac</sup>	765 <sup>Ab</sup>	843 <sup>Aa</sup>				
V41	632 <sup>Ac</sup>	712 <sup>BCb</sup>	851 <sup>Aa</sup>				
V47	515 <sup>Cc</sup>	735 <sup>ABb</sup>	793 <sup>Ba</sup>				
V55	564 <sup>Bc</sup>	698 <sup>Cb</sup>	843 <sup>Aa</sup>				
V64	392 <sup>Dc</sup>	606 <sup>Db</sup>	737 <sup>Ca</sup>				
V68	493 <sup>Cc</sup>	694 <sup>Cb</sup>	795 <sup>Ba</sup>	13.5	***	***	***
N digestibility in small intestine (g/kg)							
V35	666 <sup>Ac</sup>	781 <sup>ABb</sup>	865 <sup>Aa</sup>				
V41	654 <sup>Ac</sup>	790 <sup>Ab</sup>	875 <sup>Aa</sup>				
V47	551 <sup>Bc</sup>	797 <sup>Ab</sup>	856 <sup>Aa</sup>				
V55	639 <sup>Ac</sup>	756 <sup>Bb</sup>	869 <sup>Aa</sup>				
V64	451 <sup>Dc</sup>	644 <sup>Db</sup>	794 <sup>Ba</sup>				
V68	517 <sup>Cc</sup>	679 <sup>Cb</sup>	798 <sup>Ba</sup>	11.9	***	***	***

<sup>1</sup> CL = cracked large; CM = cracked small; Gr = ground.

<sup>2</sup> SE values are pooled SE for each genotype  $\times$  treatment means.

<sup>3</sup> G = genotype; T = treatment.

\*\*\*  $P < 0.001$ .

Means within a row (small letter) or within a column (capital letter) not sharing a common superscript differ ( $P < 0.05$ ).



Table 4. *In sacco* digestibility in whole intestines (g kg<sup>-1</sup> duodenal incubation) of dry matter (DM), starch and nitrogen (N) for different maize genotypes and particles sizes

Genotype	Treatments <sup>1</sup>			SE <sup>2</sup>	Effects <sup>3</sup>		
	CL	CS	Gr		G	T	G·T
DM digestibility in whole intestines (g/kg)							
V35	635 <sup>BCb</sup>	799 <sup>ABa</sup>	786 <sup>Ba</sup>	20.4	***	***	***
V41	726 <sup>Ab</sup>	752 <sup>BCb</sup>	833 <sup>Aa</sup>				
V47	634 <sup>BCb</sup>	807 <sup>Aa</sup>	825 <sup>ABa</sup>				
V55	666 <sup>Bc</sup>	760 <sup>BCb</sup>	862 <sup>Aa</sup>				
V64	501 <sup>Dc</sup>	726 <sup>Cb</sup>	857 <sup>Aa</sup>				
V68	594 <sup>Cc</sup>	726 <sup>Cb</sup>	816 <sup>ABa</sup>				
Starch digestibility in whole intestines (g/kg)							
V35	677 <sup>Bb</sup>	895 <sup>Aa</sup>	935 <sup>ABa</sup>	16.3	***	***	***
V41	782 <sup>Ac</sup>	867 <sup>ABb</sup>	955 <sup>Aa</sup>				
V47	654 <sup>BCb</sup>	895 <sup>Aa</sup>	915 <sup>Ba</sup>				
V55	690 <sup>Bc</sup>	840 <sup>Bb</sup>	969 <sup>Aa</sup>				
V64	476 <sup>Dc</sup>	792 <sup>Cb</sup>	935 <sup>ABa</sup>				
V68	630 <sup>Cc</sup>	829 <sup>BCb</sup>	953 <sup>ABa</sup>				
N digestibility in whole intestines (g/kg)							
V35	698 <sup>BCb</sup>	851 <sup>ABa</sup>	879 <sup>Aa</sup>	17.5	***	***	***
V41	763 <sup>Ac</sup>	824 <sup>ABb</sup>	890 <sup>Aa</sup>				
V47	660 <sup>Cc</sup>	853 <sup>Ab</sup>	893 <sup>Aa</sup>				
V55	704 <sup>Bc</sup>	818 <sup>Bb</sup>	914 <sup>Aa</sup>				
V64	496 <sup>Ec</sup>	756 <sup>Cb</sup>	908 <sup>Aa</sup>				
V68	603 <sup>Dc</sup>	757 <sup>Cb</sup>	884 <sup>Aa</sup>				

<sup>1</sup> CL = cracked large; CM = cracked small; Gr = ground.

<sup>2</sup> SE values are pooled SE for each genotype × treatment means.

<sup>3</sup> G = genotype; T = treatment.

\*\*\*  $P < 0.001$ .

Means within a row (small letter) or within a column (capital letter) not sharing a common superscript differ ( $P < 0.05$ ).

#### 7.4.4. Relationships between DM, starch, and N degradation

In each digestive compartment, the DM, starch and N degradability (rumen) or digestibility (small or whole intestines) were closely and linearly correlated (Table 5). No significant interaction between the explanatory variable ( $X$ ) and the genotype was observed, and so the interaction was removed from the model. The intercept of the relationship did not significantly vary among genotypes or treatments for N vs. DM and starch vs. N, but varied among genotypes for starch vs. DM.

Table 5. Relationships between dry matter (DM), starch and nitrogen (N) *in sacco* digestibility in the rumen, the small intestine and the whole intestines.

<i>Y</i>	<i>X</i>	Intercept		Slope		<i>G</i> <sup>1</sup>	SE	<i>R</i> <sup>2</sup>
		mean ± se	<i>P</i>	mean ± se	<i>P</i>	<i>P</i>		
Ruminal degradability (g/kg)								
Starch	DM	-214±62	**	1.5±0.14	***	*	36	.91
N	DM	14±21	NS	0.9±0.05	***	NS	12	.97
Starch	N	-227±64	**	1.7±0.16	***	NS	36	.90
Digestibility in small intestine (g/kg)								
Starch	DM	-69±22	**	1.2±0.04	***	**	14	.99
N	DM	6±32	NS	1.2±0.05	***	NS	21	.97
Starch	N	-62±34	NS	1.0±0.05	***	NS	22	.97
Digestibility in whole intestines (g/kg)								
Starch	DM	-191±36	***	1.4±0.05	***	*	19	.98
N	DM	-56±27	NS	1.1±0.04	***	NS	15	.99
Starch	N	-118±30	**	1.2±0.03	***	NS	17	.99

<sup>1</sup> Effect of genotype on the intercept.

NS : not significant ( $P > 0.10$ ); \*  $P < 0.05$  ; \*\*  $P < 0.01$  ; \*\*\*  $P < 0.001$ .

#### 7.4.5. Relationships between starch ruminal degradability and intestinal digestibility

The relationships between different sites of starch digestion are shown in Figure 1. Starch digestibilities in small and whole intestines were closely correlated with ruminal degradability. The relationships were nonlinear and exhibited a significant quadratic term.

## 7.5. Discussion

### 7.5.1. Physicochemical characteristics of feeds

The six genotypes used in this assay were chosen to represent the range of vitreousness variation of maize grain that is employed as feed for cattle (Table 1). Even if cracking is not classically used by feed industry, the potential interest of this practice to control digestive processes has been well documented (Callison et al., 2001; Rémond et al., 2004), so that future development of such practices may not be excluded, particularly in short-circuit systems where the concentrate is produced within the farm. The three treatments produced large differences in particle size distribution, averaging 539, 1385 and 2380  $\mu\text{m}$  for

mean particle size with Gr, CS and CL, respectively. The vitreousness effect on mean particle size was observed for treatment CL and as a tendency for CS. In these treatments, the maize grain was crushed by the action of a roller mill set at different gap distances for CL and CS, causing grain fragmentation into different particle sizes. With the Gr treatment, the maize grain was ground to pass through a 3-mm sieve, minimizing the effect of genotypes on particle size.

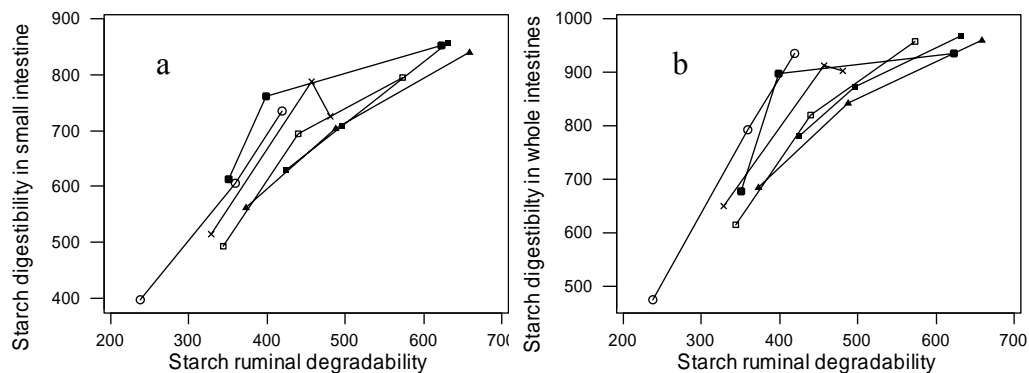


Figure 1. Relationships between starch ruminal degradability (SRD, g/kg starch incubated in the rumen), starch digestibility in small intestine (SDSI, g/kg starch incubated in the duodenum) and whole intestines (SDWI, g/kg starch incubated in the duodenum) of 18 maize grains differing in genotype (● - V35; ■ - V41; × - V47; ▲ - V55; ○ - V64; □ - V68) and particle size. Different particle sizes within the same genotype are linked.

- a)  $SDSI = -202$  (se 186,  $P = 0.30$ ) +  $2.95$  (se 0.82,  $P < 0.01$ )  $SRD - 0.0021$  (se 0.0009,  $P < 0.05$ )  $SRD^2$  ( $N = 18$ ,  $RMSE = 5.2$ ,  $R^2 = 0.84$ )
- b)  $SDWI = -380$  (se 211,  $P < 0.10$ ) +  $4.35$  (se 0.93,  $P < 0.001$ )  $SRD - 0.0035$  (se 0.0010,  $P < 0.01$ )  $SRD^2$  ( $N = 18$ ,  $RMSE = 5.9$ ,  $R^2 = 0.85$ )

Compared with other studies devoted to the effect of maize vitreousness and treatment on digestion in ruminants, the starch content of the six genotypes used in this work was similar to that presented by Philippeau et al. (1999b) and Corona et al. (2006). In agreement with Philippeau et al. (1999b), the vitreousness was not correlated with starch

content but was positively and linearly related to N content ( $P = 0.006$ ). Maize grain with low vitreousness has a weak protein structure in the endosperm and the protein matrix is discontinuous (Kotarski et al., 1992).

### **7.5.2. Rumen degradation**

Ruminal degradability presented a wide dispersion of values among genotypes. The variability observed with treatment Gr (390 to 590 g/kg for DM and 420 to 660 g/kg for starch) remains lower than that (400 to 720 g/kg for DM, 410 to 780 g/kg for starch) reported by Philippeau et al. (1999a) for 14 maize genotypes ground through a 3-mm sieve with vitreousness values ranging from 380 to 790 g/kg, which is a wider range than in this study. This may also be explained by the lower variability in MPS in the present work (500  $\mu\text{m}$  to 580  $\mu\text{m}$ ) than in Philippeau et al. (1999a) (718  $\mu\text{m}$  to 1110  $\mu\text{m}$ ). The ruminal degradability with treatment Gr was lower than previously reported for ground (3-mm or 4-mm sieve) maize grains within a similar range of vitreousness (Philippeau et al., 1999a; Correa et al., 2002). This underlines the high variability of results across studies with the *in sacco* method, as reported particularly for starch (Offner et al., 2003).

Among the three different physical processing methods, the variability in ruminal degradability among genotypes was more marked with treatment Gr than with treatments CM and CL. Genotype thus seems to be the main limiting factor for grain starch accessibility to bacterial attack in ground grain, whereas in cracked grain, accessibility is primarily limited by granulometry. However, the negative correlation between vitreousness and ruminal starch degradability with treatment Gr was weaker ( $R = -0.53$ ,  $N = 6$ ) than in previous work with immature ( $R = -0.93$ ,  $N = 9$ , Philippeau and Michalet-Doreau, 1997) or mature ( $R = -0.94$ ,  $N = 14$ , Philippeau et al., 1999a) ground maize grains, over a comparable range of vitreousness.

As expected, the increase in MPS induced by different physical processing resulted in a decrease in degradability in the rumen. We observed an average decrease in ruminal starch degradability of 120 g/kg starch, when MPS increased by 1 mm. This was mainly related to a decrease the short-term (3 h) disappearance rate, as also observed for the rapidly degradable fraction by Rémond et al. (2004). The contribution of particle losses through the bag pores is questionable when physical treatments conducting to different MPS are compared. Nevertheless, with ground (3-mm) maize grains presenting comparable starch disappearance kinetics than in the present work, starch washed out of the bag was measured and averaged 93 g/kg incubated starch (Philippeau et al., 1999). It may thus be expected that in the present study, particulate starch losses were also limited.

### **7.5.3. Intestinal digestion**

N digestibility is classically assessed by the mobile bag technique (Jarosz et al., 1994; Vanhatalo and Ketoja, 1995; Beckers et al., 1996; Van Straalen et al., 1997), but no studies have used this method to evaluate the starch digestion in the small intestine, even though a considerably amount of starch may escape ruminal digestion, and small intestinal digestibility of starch is highly variable. This constitutes the most original aspect of the present work. In the present work, starch incubated in the duodenum was obtained through rumen incubations of experimental feeds for 15 h, taken as the mean retention time of particles in the rumen. Although this procedure did not simulate the physical structure of particles arriving in the duodenum, it is a standardized procedure to evaluate the intestinal digestibility of grains escaping rumen digestion.

The retention time of mobile bags in the small and large intestines averaged nearly 8 h and 17 h, respectively. These values are consistent with retention times of digesta determined *in vivo* in cattle (Vanhatalo and Ketoja., 1995). Although transit time significantly affected the digestibility of the analysed constituents, the effect of transit time was low (on

average 1.0 and 0.2 g/100 g starch/h in small and whole intestines, respectively). The retention time was included as a covariable in the statistical model. The *in sacco* starch digestibility in the small intestine, ranging from 390 to 850 g/kg, was consistent with the large range observed *in vivo*, from 100 g/kg (Streeter et al, 1989; Knowlton et al., 1998) to 960 g/kg (Zinn, 1990).

Despite a shorter retention time in the small than in the large intestine, intestinal starch disappearance mainly occurred in the small intestine. The present results indicate that only 134 g/kg (se = 37) of starch incubated in the duodenum disappeared in the large intestines. Only 39% of the bags incubated in the duodenum were recovered through the ileal cannula. Because of the intermittence of intestinal contractions and the narrow lumen of the ileal cannula, this technique proved laborious and time-consuming, and required the presence of the experimenter near the animals. However, since the observed *in sacco* starch disappearance in the large intestines appears low and slightly variable, recovering bags in faeces could be considered satisfactory for assessing intestinal digestion of starch in small intestines.

As observed in the rumen, both particle size and vitreousness affected starch and N digestibility in the small intestine. The negative effects of particle size and vitreousness on starch digestibility in small intestine were already observed *in vivo* in dairy cows fed maize grain as starch source (Rémond et al., 2004). In contrast, other publications showed no difference in the small intestinal starch digestibility of maize grains varying in particle size (Knowlton et al., 1998; Callison et al., 2001) or vitreousness (Philippeau et al., 1999b). In contrast with starch, Rémond et al. (2004) reported no effect of maize grain genotype or granulometry on *in vivo* N apparent digestibility in small intestine, but measurements accounted for N from dietary (grain and forage), microbial and endogenous origins. We note that in contrast to ruminal degradability, the effect of genotype on intestinal digestibility of

dietary components was more marked for larger (CL) than for smaller (CS or Gr) mean particle sizes.

#### ***7.5.4. Relationship between ruminal and intestinal in sacco starch digestion***

As already observed for *in vivo* starch digestion (Rémond et al, 2004; Offner and Sauvant, 2004), small and whole intestine starch digestibilities were closely correlated with rumen degradabilities. The *in sacco* measurements performed in the present work evidence that the relationships were not linear, as illustrated in Figures 1a and 1b. This indicates that the efficiency of by-pass starch digestion in the intestine is limited with slowly degraded starch. This is in line with Knowlton et al. (1998) and Callison et al. (2001), and shows that together with enzyme concentration and transit time, intrinsic characteristics of grains can be responsible for the limited digestion of starch in the intestine.

The use of the *in sacco* method to predict the extent of starch digestion *in vivo* has been recently assessed using ruminal degradation (Offner and Sauvant, 2004), but to our knowledge, no similar work has been done on intestinal digestibility. However, assuming that the effects of particle size on the extent of starch degradation are similar *in sacco* and *in vivo* (Rémond et al., 2004), the percentage of dietary starch that is potentially digestible in the small (or whole) intestine can be estimated by the following equation:  $100 \times (1 - \text{rumen degradability}) \times \text{small (or whole) intestine digestibility}$ , with degradability and digestibility expressed as g/g. Based on this calculation, the balance of starch digestion between rumen and intestine (expressed as g digested / kg starch intake) can thus be illustrated as presented in Figure 2. We note that irrespective of genotype and granulometry, the efficiency of intestinal digestion of by-pass starch is optimal when ruminal starch degradability is near 400 g/kg. When ruminal starch degradability is higher than 400 g/kg, intestinal starch digestion is limited by the amount of starch entering the duodenum, whereas when ruminal starch

degradability is lower than 400 g/kg, intestinal starch digestion is limited by the intrinsic characteristic of grain, i.e. digestibility.

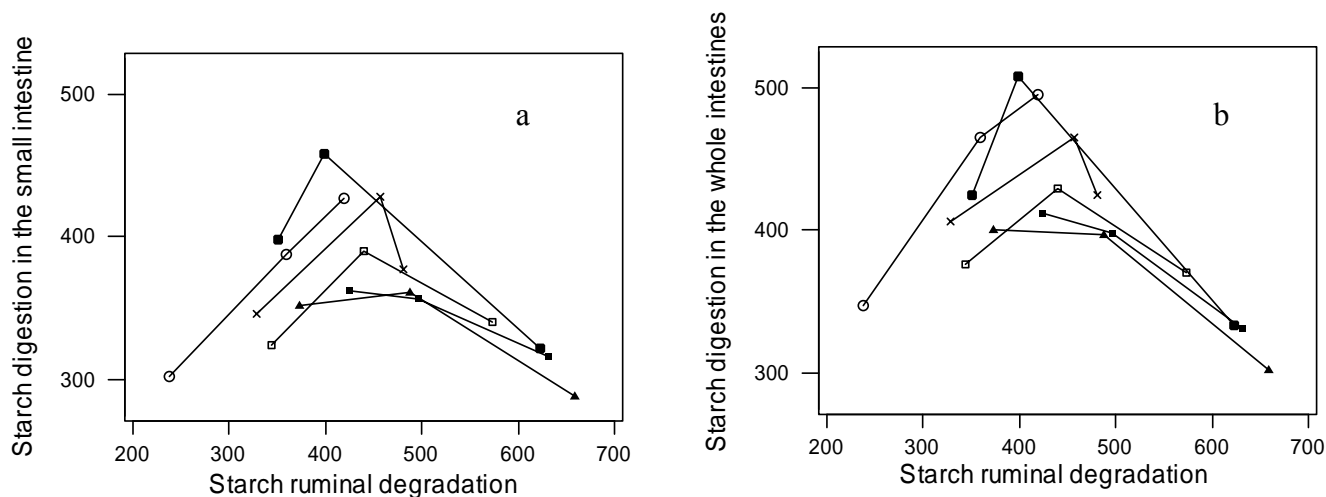


Figure 2 - Relationship between estimated starch ruminal degradation and digestion in small (a) and whole (b) intestines (g/kg starch intake) of 18 maize grains differing in genotype (● - V35; ■ - V41; × - V47; ▲ - V55; ○ - V64; □ - V68) and particle size. It is assumed that *in sacco* reflects *in vivo* degradation. Different particle sizes within the same genotype are linked.

## 7.6. Conclusion

Although both vitreousness and particle size of maize grain are efficient factors for manipulating the amount of starch escaping rumen degradation, they are also limiting factors for the amount of starch digested in the intestines. The non-linear relationship between ruminal and intestinal *in sacco* degradation implies a threshold value maximizing the fraction of starch intake digested in the intestines. The optimization of intestinal starch digestion requires a fuller understanding of size and density of concentrate particles leaving the rumen *in vivo*.



## 7.7. Acknowledgements

We thank F. Anglard, A. Giraudon, C. Mathevon, D. Roux and D. Roux for their help in manipulating the animals, J.P. Chaise and J. Ferreira for their technical assistance, L. Genestoux, for chemical analyses, Limagrain Genetics International for supplying various cultivars of maize and for their financial support of this work, Tecaliman (Nantes) for particle size analyses, and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, Brasília, DF, Brazil for providing financial support for B.M.O. Ramos.

## 7.8. References

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis (15th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Beckers, Y., Théwis, B., Maudoux, B., 1996. Intestinal digestibility of rumen undegraded N of concentrates measured by the mobile nylon bag technique. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 61, 305-323.
- Callison, S.L., Firkins, J.L., Eastridge, M.L., Hull, B.L., 2001. Site of Nutrient Digestion by Dairy Cows Fed Corn of Different Particle Sizes or Steam-Rolled. *J. Dairy Sci.*, 84, 1458-1467.
- Corona, L., Owens, F.N., Zinn R.A., 2006. Impact of corn vitreousness and processing on site and extent of digestion by feedlot cattle. *J. Anim. Sci.*, 84, 3020-3031.
- Correa, C.E.S., Shaver, R.D., Pereira, M.N., Lauer, J.G., Kohn, K., 2002. Relationship Between Corn Vitreousness and Ruminant In Situ Starch Degradability. *J. Dairy Sci.*, 85, 3008-3012.
- Crocker, L.M., DePeters, E.J., Fadel, J.G., Perez-Monti, H., Taylor, S.J., Wyckoff, J.A., Zinn, R.A., 1998. Influence of processed corn grain in diets of dairy cows on digestion of nutrients and milk composition. 1998. *J Dairy Sci*, 81, 2394-2407.
- Faisant, N., Planchot, V., Kozłowski, F., Pacouret, M.P., Colonna, P., Champ, M., 1995. Resistant starch determination adapted to products containing level of resistant starch. *Sci. Aliments*, 15, 83-89.
- Harmon, D. L., 1992. Impact of Nutrition on Pancreatic Exocrine and Endocrine Secretion in Ruminants: A Review. *J. Anim. Sci.*, 70, 1290-1301.
- Huntington, G.B., 1997. Starch Utilization by Ruminants: From Basics to the Bunk. *J. Anim. Sci.*, 75, 852-867.
- Huntington, G.B., Harmon, D.L., Richards, C.J., 2006. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. *J. Anim. Sci.*, 84(E. Suppl.), E14-E24.

Jarosz, L., Hvelplund, T., Weisbjerg, M.R., Jensen, B.B., 1994. True digestibility of protein in the small intestine and the hind gut of cows measured with the mobile bag technique using <sup>15</sup>N-labelled roughage. *Acta Agriculture Scandinavica*, 44, 146-151.

Knowlton, K.F., Glenn, G.P., Erdman, R.A., 1998. Performance, ruminal fermentation, and site of starch digestion in early lactation cows fed corn grain harvested and processed differently. *J Dairy Sci.*, 81, 1972-1984.

Kotarski, S.F., Waniska, R.D., Thurn, K.K., 1992. Starch hydrolysis by the rumen microflora. *J. Nutr.*, 122, 178- 190.

Kristensen, E.S., Moller, P.D., Hvelplund, T., 1982. Estimation of the effective protein degradability in the rumen of cows using the nylon bag technique combined with the outflow rate. *Acta. Agricultural Scandinavica Supplementum*, 32, 123-127.

McAllister, T.A., Rode, C.M., Major, D.J., Cheng, K.J., Buchanan-Smith, J.G.. 1990. Effect of ruminal microbial colonization on the cereal grain digestion. *Can. J. Anim. Sci.*, 70, 571-579.

Michalet-Doreau, B., Ould-Bah, M.Y., 1992. In vitro and in sacco methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 40, 57-86.

Offner, A., Bach, A., Sauvant, D., 2003. Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 106, 81-93.

Offner, A., Sauvant, D., 2004. Prediction of in vivo starch digestion in cattle from in situ data. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 111, 41-56.

Owens, F. N., Zinn, R.A., Kim, Y.K., 1986. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *J. Anim. Sci.*, 63, 1634-1648.

Philippeau, C., Michalet-Doreau, B., 1997. Influence of genotype and stage of maturity of maize on rate of ruminal starch degradation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 68, 25-35.

Philippeau, C., Le Deschault de Monredon, F., Michalet-Doreau, B., 1999a. Relationship Between Ruminal Starch Degradation and the Physical Characteristics of Corn Grain. *J. Anim. Sci.*, 77, 238-243.

Philippeau, C.; Martin, C; Michalet-Doreau, B., 1999b. Influence of grain source on ruminal characteristics and rate, site, and extent of digestion in beef steers. *J. Anim. Sci.*, 77, 1587-1596.

Philippeau, C., Landry, J., Michalet-Doreau, B., 2000. Influence of the protein distribution of maize endosperm on ruminal starch degradability. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 404-408.

Rémond, D., Cabrera-Estrada, J.I., Champion, M., Chauveau, B., Coudure, R., Poncet, C., 2004. Effect of corn particle size on site and extent of starch digestion in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 87, 1389-1399.

SAS. 1996. SAS/STAT<sup>®</sup> User's Guide: Statistics (Release 6.03). SAS Inst. Inc., Cary, NC.

- Sauvant, D., 1997. Conséquences digestives et zootechniques des variations de la vitesse de digestion de l'amidon chez les ruminants. *INRA Prod. Anim.*, 10(4), 287-300.
- Streeter, M.N., Wagner, D.G., Owens, F.N., Hibberd, C.A., 1989. Combinations of high moisture harvested sorghum grain and dry-rolled corn: Effects on site and extent of digestion in beef steers. *J. Anim. Sci.*, 67, 1623-1633.
- Svihus, B., Uhlen, A.K., Harstad, O.M., 2005. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 122, 303-320.
- Tecaliman, 1996. Methode de determination et d'expression de la granulometrie des aliments en farine. Fiche N° 7 – Septembre 1996.1/4
- Van Straalen, W.M., Odinga, J.J., Mostert, W., 1997. Digestion of feed amino acids in the rumen and small intestine of dairy cows measured with nylon-bag techniques. *British J. Nutr.*, 77, 83-97.
- Vanhatalo, A., Ketoja, E., 1995. The role of the large intestine in post-ruminal digestion of feeds as measured by the mobile-bag method in cattle. *British J. Nutr.*, 73, 491-505.
- Waldo, D.R., Smith, L.W., Cox, E.L., Weinland, B.T., Lucas, H.L., 1971. Logarithmic normal distribution for sieved forage materials. *J. Dairy Sci.*, 54, 1465-1469.
- Zinn, R.A., 1990. Influence of steaming time on site of digestion of flaked corn in steers. *J. Anim. Sci.*, 68, 776-781.

## 8. Conclusão Geral

A inclusão de níveis crescentes de feno na dieta de vacas em lactação de alta produção pode ser adotada como alternativa na diversificação de ingredientes na dieta, pois de modo geral, influenciou positivamente apenas os consumos de proteína bruta, extrato etéreo e carboidratos não fibrosos, sem afetar a digestibilidade dos nutrientes.

O aumento do tamanho das partículas de volumoso através da inclusão de níveis crescentes de feno na dieta influenciou a produção de leite (kg/dia) em vacas em lactação de alta produção, mas a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura e sua composição centesimal não foram afetados. Apenas os teores de ácido miristoleico (C<sub>14:1</sub>) e ácido esteárico (C<sub>18:0</sub>) sofreram modificações devido a inclusão de níveis crescentes de feno na dieta.

O tamanho de partícula e a vitreosidade do grão de milho foram fatores eficientes na manipulação da quantidade de amido que não sofre degradação ruminal, no entanto podem limitar a quantidade de amido que é digerida no intestino delgado.

## ANEXO I

### Guide for Authors

#### Animal Feed Science and Technology

##### Types of contribution

1. Original Research Papers (Regular Papers)
2. Review Articles
3. Short Communications
4. Book Reviews

*Original Research Papers* should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

*Review Articles* should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest.

A *Short Communication* is a concise but complete description of a limited investigation, which will not be included in a later paper. Short Communications should be as completely documented, both by reference to the literature and description of the experimental procedures employed, as a regular paper. They should not occupy more than six printed pages (about 12 manuscript pages, including figures, tables and references).

*Book Reviews* will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than two years old. Book reviews will be solicited by the Book Review Editor. Unsolicited reviews will not usually be accepted, but suggestions for appropriate books for review may be sent to the Book Review Editor:

Professor G. Flachowsky  
Federal Research Centre of Agriculture  
Institute of Animal Nutrition Bundesallee 50  
D-38116 Braunschweig, Germany

##### Submission of manuscripts

1. Submission to *Animal Feed Science and Technology* proceeds online via Elsevier Editorial System - <http://ees.elsevier.com/anifec>. Authors will be guided step-by-step through uploading files directly from their computers. Electronic PDF proofs will be automatically generated from uploaded files, and used for subsequent reviewing.

Authors should send queries concerning the submission process or journal procedures to [AuthorSupport@elsevier.com](mailto:AuthorSupport@elsevier.com). Authors can determine the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

2. Poorly written and/or presented manuscripts (relative to the journal's guidelines) may be returned to authors for upgrading by the editorial office, prior to a review for scientific merit.

3. Authors submitting a series of manuscripts, or multiple manuscripts on a similar topic that will be reviewed in the same period, must indicate this clearly in Author Comments. Detail the authors, title(s), and manuscript number(s) of any such submissions.

4. Authors may suggest reviewers in the Author Comments whom they judge qualified to evaluate their submission. These suggestions will only be considered if e-mail addresses are also provided. Submission of such names does not imply that they will definitely be used as referees.

5. Submission of an article is understood to imply that the article is original and is not being considered for publication elsewhere. Submission of a manuscript to more than one scientific journal at the same time is not acceptable to the Editors, and any such papers will be rejected outright. There is also the risk that future papers from authors who do this will not be considered for publication. Submission also implies that all authors have approved the paper for release and are in agreement with its content. Upon acceptance of an article, Authors will be asked to transfer copyright (for more information on copyright see ).

<http://www.elsevier.com/authors>). This transfer will ensure the widest possible dissemination of information. A letter will be sent to the corresponding Author confirming receipt of the manuscript. A form facilitating transfer of copyright will be provided.

6. Circumstances relating to animal experimentation must meet the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals as issued by the Council for the International Organizations of Medical Sciences. These are obtainable from: Executive Secretary C.I.O.M.S., c/o WHO, Via Appia, CH-1211 Geneva 27, Switzerland, or at the following URL: [http://www.cioms.ch/frame\\_1985\\_texts\\_of\\_guidelines.htm](http://www.cioms.ch/frame_1985_texts_of_guidelines.htm)

Unjustified cruelty in animal experimentation is not acceptable to the Editors of *Animal Feed Science and Technology*.

7. Questions on submission and reviewing process can be sent to: [anifee@elsevier.com](mailto:anifee@elsevier.com)

### Preparation of manuscripts

1. Manuscripts should be written in English. *Language Editing*: <http://www.elsevier.com/authors> provides details of some companies who can provide English language and copyediting services to authors who need assistance *before* they submit their article or *before* it is accepted for publication. Authors should contact these services directly. For more information about language editing services, please email [authorsupport@elsevier.com](mailto:authorsupport@elsevier.com). Please note that Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our terms & conditions at <http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

2. Before preparing their manuscript, it is suggested that authors examine the editorial by the Editors-in-Chief in Vol. 134/3-4, which outlines several practices and strategies of manuscript preparation that the Editors-in-Chief have found to be successful. This editorial also outlines practices that can lead to difficulties with reviewers and/or rejection of the manuscript for publication. There is also an example of an *Animal Feed Science and Technology* manuscript available on the journal website at <http://www.elsevier.com/locate/anifeedsci>.

3. Manuscripts should have **numbered lines**, with wide margins and **double spacing** throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered continuously.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary, one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

4. Manuscripts in general should be organized in the following order:

- Title (should be clear, descriptive, not too long and mention the animal(s) studied if appropriate)
- Name(s) of author(s)
- Complete postal address(es) of affiliations
- Full telephone and fax numbers, e-mail address of the corresponding author
- Present address(es) of author(s) if applicable
- Complete correspondence address (including e-mail address) to which the proofs should be sent
- Abstract
- Keywords (indexing terms), normally 3-6 items. Please refer to the cumulative indexes (Vol. 125/3-4).
- Abbreviations and/or acronyms
- Introduction
- Material and methods
- Results
- Discussion
- Combined 'Results and Discussion' sectors are only acceptable for 'short communications', except under compelling circumstances.
- Conclusion
- Acknowledgements and any additional information concerning research grants, etc.
- References
- Figure captions
- Tables (separate file(s))
- Figures (separate file(s))

5. Titles and subtitles should not be run within the text. They should be placed on a separate line, without

indentation. Use lower-case letter type.

6. All abbreviations/acronyms used in a manuscript must be explained in full when first used in the Abstract, and again when first used in the body of a manuscript. In addition, a separate list of abbreviations/acronyms used should follow the list of keywords. Keywords should not exceed eight and avoid words used in the title. Authors should try to restrict the use of abbreviations/acronyms to the most commonly used terms.

7. Use past tense for current findings, and the present tense for "truths" and hypotheses.

8. Percent is *only* used to indicate relative changes. For composition, both w/w (often solids composition g/kg) and w/v (e.g. g/L), v/v (e.g. mL), mol/mol or M can be accepted depending on the circumstances. Specify units (e.g. g/L) and never as percent.

9. If differences between treatments are statistically significant, this should be indicated by adding the actual 'P' value obtained. If  $0.10 > P > 0.05$ , then differences can be considered to suggest a trend, or tendency, to a difference, but the actual 'P' value should be stated. Further information on this issue can be found in *Animal Feed Science and Technology* Vol. 129/1-2.

10. Avoid using  $X Y^{-1}$  in favour of X/Y.

11. Use spaces between values and units, except for °C and %.

12. Elsevier reserves the privilege of returning to the author for revision accepted manuscripts and illustrations which are not in the proper form given in this guide.

### **Abstracts**

The abstract should be clear, descriptive and not longer than 400 words. It should contain the following specific information: purpose of study; experimental treatments used; results obtained, preferably with quantitative data; significance of findings; conclusions; implications of results if appropriate.

### **Materials and Methods**

1. If reference is made to AOAC, ISO or similar analytical procedure(s), the specific procedure identification number(s) must be cited. A number of references for neutral and acid detergent fibre (NDF, ADF) assays exist, and an alternative reference to the now out-of-print USDA Agriculture Handbook 379 must be used. There are many options for NDF and ADF assays (e.g. sodium sulfite, alpha amylase, residual ash), which must be specified in the text. For more details see the editorial in Vol. 118/3-4.

The following definitions should be used, as appropriate: a. aNDFom-NDF assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash.

b. NDFom-NDF not assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash.

c. aNDF-NDF assayed with a heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash.

d. NDF-NDF assayed without a heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash.

e. ADFom-ADF expressed exclusive of residual ash.

f. ADF-ADF expressed inclusive of residual ash.

g. Lignin (sa)-Lignin determined by solubilization of cellulose with sulphuric acid.

h. Lignin (pm)-Lignin determined by oxidation of lignin with permanganate.

While expressions of NDF and ADF inclusive of residual ash will continue to be acceptable (i.e., the terms aNDF, NDF and ADF above), the Editors-in-Chief highly recommend reporting all fibre values, including digestibilities, on an OM basis. Silica is partially soluble in ND, is quantitatively recovered in AD, and so may contribute to the 'fibre' values and to subsequent digestibility coefficients.

Reporting 'hemicellulose' values as the difference between NDF and ADF is generally only acceptable if the analyses have been sequential on the same sample. Crude fibre (CF), nitrogen-free extract (NFE) and total digestible nutrients (TDN) are not acceptable terms for describing feeds and should only be referred to in a historical context.

2. SI or SI-derived units should be used throughout (e.g. MJ and not Kcal for energy concentrations).

Concentrations should be expressed on a 'per kg' basis (w/w); however, w/v, v/v, mol/mol or M may be accepted depending on the circumstances. In addition, 'units' and 'equivalents' are acceptable. Normality

should be avoided, as it may be ambiguous for certain acids. If analytical standards have been used, they should be specified by name (e.g. yeast RNA) and form (e.g. lactose monohydrate). Percents should only be used when describing a relative increase or decrease in a response. Proportions should be maximum 1.0 or  $\leq 1.0$ . For more details see the editorial in Vol. 118/3-4.

3. Digestibility/metabolisability and degradability should always be expressed as a coefficient (not %), and the content of, for example, the digestible component should be expressed as g/kg: thus, the coefficient of digestibility of dry matter is 0.8, while the content of digestible dry matter is 800g/kg. A distinction between true and apparent digestibility should be made, as well as between faecal and ileal (e.g. coefficient of total tract apparent digestibility - CTTAD). The terms 'availability' and 'bioavailability' should be avoided without definition in context.

4. Manuscripts describing the use of commercial feed products are welcome, but should include the following information: major components, contents of active ingredients (for example enzyme activities). Independent verification, as opposed to a manufacturers guarantee, is always desirable and often avoids difficulties in the review process, especially where there are no, or few, treatment impacts. The Editors reserve the right to reject any manuscript employing such products, wherein this information is not disclosed.

5. Submissions concerning feedstuff composition are welcome when published and/or accepted analytical procedures have been employed. However, unusual feedstuffs and/or a wide range of data are pre-requisites.

Submissions concerning NIRS may be suitable when more accurate, precise or robust equations are presented. Mathematical, technical and statistical advancement, may constitute the foundation for acceptance. For more details see the editorial in Vol. 118/3-4.

6. Statistical analysis is an integral part of most manuscripts. It is suggested that authors consult the editorial in Vol. Vol. 129/1-2.

## References

1. All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of authors' names and dates are exactly the same in the text as in the reference list. The accuracy of the references is the responsibility of the author(s).

2. References published in other than the English language should be avoided, but are acceptable if they include an English language 'Abstract' and the number of non-English language references cited are reasonable (in the view of the handling Editor) relative to the total number of references cited.

3. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed - if necessary - by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that...". "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp. 12-16)".

4. If reference is made in the text to a publication written by more than two authors, the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.

5. References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on authors' names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates - publications of the same author with one co-author - publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 2001a, 2001b, etc.

6. Use the following system for arranging your references:

a. *For periodicals*

Fondevila, M., Nogueira-Filho, J.C.M., Barrios-Urdaneta, A., 2002. In vitro microbial fermentation and protein utilisation of tropical forage legumes grown during the dry season. *Anim. Feed Sci. Technol.* 95, 1-14.



b. *For edited symposia, special issues, etc. published in a periodical*

Schofield, P., Mbugua, D.M., Pell, A.N., 2001. Analysis of condensed tannins: a review. In: A.N. Pell, R.I. Mackie, I. Mueller-Harvey, L.R. Ndlovu (Eds), *Tannins: Analysis and Biological Effects in Ruminant Feeds*. Anim. Feed Sci. Technol. 91, 21-40.

c. *For books*

McDowell, L.R., 2003. *Minerals in Animal and Human Nutrition*, Second Edition. Elsevier, Amsterdam.

d. *For multi-author books*

Van Zutphen, L.F.M., Hedrich, H.J., van Lith, H.A., Prins, J.B., 2001. Genetic standardization. In: Van Zutphen, L.F.M., Baumans, V., Beynen, A.C. (Eds), *Principles of Laboratory Animal Science*. Elsevier, Amsterdam, pp.129-147.

7. Abbreviate the titles of periodicals mentioned in the list of references in accordance with BIOSIS Serial Sources, published annually by BIOSIS. The correct abbreviation for this journal is Anim. Feed Sci. Technol.

8. In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained but an English translation added in parentheses, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.

9. Work accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press".

10. References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

11. Web references may not be used except under exceptional circumstances and 'abstracts' older than two years are not normally allowed. Books and conference proceeding papers that have not been peer reviewed should be avoided. Corporate books and promotional information is not suitable as a reference.

12. Articles available online but without volume and page numbers may be referred to by means of their Digital Object identifier (DOI) code.

## **Tables**

1. Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal. Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions of a table.

2. If many data are to be presented, an attempt should be made to divide them over two or more tables.

3. Tables should be numbered according to their sequence in the text. The text should include references to all tables.

4. Each table should occupy a separate page of the manuscript. Tables should never be included in the text.

5. Each table must have a brief and self-explanatory title, and should be understandable with minimal reference to other tables, text or figures (which should be clearly specified in a footnote).

6. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. Standard abbreviations of units of measurement should be added between parentheses.

7. Vertical lines should not be used to separate columns. Leave some extra space between the columns instead.

8. Any explanation essential to the understanding of the table should be given as a footnote at the bottom of the table.

## **Figures and Illustrations**

1. References should be made in the text to each figure.


2. Each figure should have a caption. The captions to all figures should occupy a separate sheet of the

manuscript.

3. All data in figures should have a measure of variation either on the plot (e.g., error bars), in the figure legend itself, or by reference to a table with measures of variation in the figure legend.
4. Explanations should be given in the figure legend(s). Drawn text in the figures should be kept to a minimum.
5. Figures should be designed with the format of the page of the journal in mind. Any figures that are larger than the page may rotate upon generation of the PDF file by the online submission system.
6. Lettering should be big enough to allow a reduction of 50% without becoming illegible, and should be uniform throughout. Use only Arial, Courier, Helvetica, Times New Roman or Symbol. All lettering should be in English where possible, and any non-English words should be *italicised*.
7. If a scale is given, use bar scales (instead of numerical scales) that must be changed with reduction.
8. Photographs are only acceptable if they have good contrast and intensity.
9. Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font.
10. Number the illustrations according to their sequence in the text.
11. Use a logical naming convention for your artwork files.
12. Provide all illustrations as separate files.
13. Produce images near to the desired size of the printed version.

If you submit usable colour figures or illustrations, Elsevier will ensure that these figures appear free-of-charge in colour in the electronic version of your accepted paper, regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. Colour illustrations can only be included in print if the additional cost of reproduction is contributed by the author: you will receive information regarding these costs from Elsevier after receipt of your accepted article.

Please note that because of technical complications which may arise by converting colour figures to 'grey scale' (for the printed version, should you not opt for colour in print), you should submit in addition usable black and white figures corresponding to all colour illustrations.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website: 

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

### **Electronic Formats for artwork**

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please "save as" or convert the images to one of the following formats:

**EPS:** Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics".

**TIFF:** Colour or greyscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

**TIFF:** Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

**TIFF:** Combinations bitmapped line/half-tone (colour or greyscale): a minimum of 500 dpi is required.

**DOC, XLS or PPT:** If your electronic artwork is created in any of these Microsoft Office applications please supply "as is".

#### **Please do not:**

- Supply embedded graphics in your wordprocessor (spreadsheet, presentation) document
- Supply files that are optimised for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low
- Supply files that are too low in resolution
- Submit graphics that are disproportionately large for the content

### **Preparation of supplementary data**

Elsevier now accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and so on. Supplementary files supplied will be published free of charge online alongside the electronic version of your article in Elsevier web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data are provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file.

### Formulae

1. Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used.
2. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line.
3. Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.
4. The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Powers of e are often more conveniently denoted by exp.
5. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca<sup>2+</sup>, not as Ca<sup>++</sup>.
6. Isotope numbers should precede the symbols e.g. <sup>18</sup>O.
7. The repeated use of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>).
8. Spaces should be used between all values and units, except for the following: Between the value and degrees or percent. In equations around \* and /. In probability expressions (P<0.05). When probability values are given, the 'P' should be a capital letter.

### Footnotes

1. Footnotes should only be used if absolutely essential. In most cases it should be possible to incorporate the information into the normal text.
2. If used, they should be numbered in the text, indicated by superscript numbers, and kept as short as possible.

### Nomenclature

1. Authors and Editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*.
2. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.
3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.
4. For chemical nomenclature, the conventions of the *International Union of Pure and Applied Chemistry* and the official recommendations of the *IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature* should be followed.

### Copyright

If excerpts from other copyrighted works are included, the Author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by Authors in these cases: contact Elsevier's Rights Department, Oxford, UK: phone (+1) 215 239 3804 or +44(0)1865 843830, fax +44(0)1865 853333, e-mail [healthpermissions@elsevier.com](mailto:healthpermissions@elsevier.com). Requests may also be completed online via the Elsevier homepage <http://www.elsevier.com/permissions>.

Material in unpublished letters and manuscripts is also protected and must not be published unless permission has been obtained.

### **Revised Manuscripts**

Authors should use the 'Track Changes' option when revising their manuscripts, so that any changes made to the original submission are easily visible to the Editors. Those revised manuscripts upon which the changes are not clear may be returned to the author.

Specific comments made in the Author Comments in response to referees' comments must be organised clearly. For example, use the same numbering system as the referee, or use 2 columns of which one states the comment and the other the response.

### **Proofs**

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post). Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post.

Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

### **Offprints**

1. The corresponding author will, at no cost, be provided with a PDF file of the article via e-mail or, alternatively, 25 free paper offprints (100 for Review Articles). The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.
2. Additional paper offprints can be ordered on an offprint order form, which is included with the proofs.
3. UNESCO coupons are acceptable in payment of extra paper offprints.

### **Author Services**

Questions arising after acceptance of the manuscript, especially those relating to proofs, should be directed to Elsevier Ireland, Elsevier House, Brookvale Plaza, East Park, Shannon, Co. Clare, Ireland, Tel: (+353) 61 709600, Fax: (+353) 61 709111/113.

### **Authors Rights**

As an author you (or your employer or institution) may do the following:

- make copies (print or electronic) of the article for your own personal use, including for your own classroom teaching use
- make copies and distribute such copies (including through e-mail) of the article to research colleagues, for the personal use by such colleagues (but not commercially or systematically, e.g., via an e-mail list or list server)
- post a pre-print version of the article on Internet websites including electronic pre-print servers, and to retain indefinitely such version on such servers or sites
- post a revised personal version of the final text of the article (to reflect changes made in the peer review and editing process) on your personal or institutional website or server, with a link to the journal homepage (on elsevier.com)
- present the article at a meeting or conference and to distribute copies of the article to the delegates attending such a meeting
- for your employer, if the article is a 'work for hire', made within the scope of your employment, your employer may use all or part of the information in the article for other intra-company use (e.g., training)
- retain patent and trademark rights and rights to any processes or procedure described in the article
- include the article in full or in part in a thesis or dissertation (provided that this is not to be published commercially)
- use the article or any part thereof in a printed compilation of your works, such as collected writings or lecture notes (subsequent to publication of your article in the journal)
- prepare other derivative works, to extend the article into book-length form, or to otherwise re-use portions or excerpts in other works, with full acknowledgement of its original publication in the journal

### **Funding body agreements and policies**

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors who publish in Elsevier journals to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

***Animal Feed Science and Technology* has no page charges**

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)