



## Digestibilidade da matéria seca de silagens de milho e de suplementos concentrados determinada por diferentes procedimentos *in vitro*

Rosemeire Aparecida de Carvalho Dornellas<sup>1</sup>, Fernando César Ferraz Lopes<sup>2</sup>, José Alberto Bastos Portugal<sup>3</sup>, Jailton da Costa Carneiro<sup>4</sup>, Pedro Braga Arcuri<sup>4</sup>, Jackson Silva e Oliveira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Ciências Biológicas do CES-JF. Assistente da Embrapa Gado de Leite – Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Juiz de Fora/MG. Bolsista de IC do CES-JF. E-mail: [miererose@yahoo.com.br](mailto:miererose@yahoo.com.br).

<sup>2</sup>Analista da Embrapa Gado de Leite. E-mail: [fernando@cnpqgl.embrapa.br](mailto:fernando@cnpqgl.embrapa.br).

<sup>3</sup>Professor do CES-JF. E-mail: [portugal@cesjf.br](mailto:portugal@cesjf.br).

<sup>4</sup>Pesquisador da Embrapa Gado de Leite. E-mails: [jailton@cnpqgl.embrapa.br](mailto:jailton@cnpqgl.embrapa.br), [pba1@cnpqgl.embrapa.br](mailto:pba1@cnpqgl.embrapa.br) e [jackoliv@cnpqgl.embrapa.br](mailto:jackoliv@cnpqgl.embrapa.br), respectivamente.

**Resumo:** Para otimizar o emprego de recursos financeiros e humanos, sistemas automatizados de fermentação *in vitro* foram desenvolvidos, permitindo processar maior número de amostras em relação ao método de dois estágios realizado em tubos individuais, tradicionalmente adotado na determinação da digestibilidade *in vitro*. Foi objetivo deste experimento comparar valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) de quatro silagens de milho e de seis concentrados (três protéicos e três energéticos), determinados pelo método de dois estágios realizado em tubos individuais ou em equipamento automatizado de fermentação, bem como avaliar a ocorrência de efeito associativo na digestão de alimentos destas três classes incubadas em um mesmo jarro de fermentação da Incubadora *In vitro* ou em jarros diferentes, contendo a mesma classe de alimentos. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 3 (procedimentos *in vitro* x classes de alimentos), com os alimentos sendo as repetições. Os valores de DIVMS determinados pelo método dos tubos foram mais próximos dos relatados na literatura e inferiores ( $P < 0,02$ ) aos obtidos dos procedimentos automatizados. Não foi observada diferença ( $P > 0,05$ ) nos valores de DIVMS dos concentrados e das silagens de milho quando incubados no mesmo jarro de fermentação da Incubadora ou, separadamente por alimento, em jarros diferentes.

**Palavras-chave:** análise química, composição química, método de análise, nutrição de ruminantes

### Dry matter digestibility of corn silages and supplements concentrates determined by different *in vitro* procedures

**Abstract:** To optimize the financial and human resources automatic systems of *in vitro* fermentation were developed, allowing to process greater number of samples compared to the two-stage 48 h digestion technique, that utilizes individual sample digestion tubes, traditionally used for *in vitro* digestibility determination. The aim of this trial was to compare values of *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) of four corn silages and six concentrates (three proteic and three energetics), determined by the two-stage technique that utilizes individual digestion tubes and by an automatic equipment of fermentation (filter bag technique). Also, it evaluated the occurrence of associative effect on digestion of these three food classes when incubated in the same fermentation jar of the “*In vitro* Incubator” and when in different vessels contend the same class of food. The experimental design was completely randomized with a 3 x 3 factorial arrangement (*in vitro* procedures x food classes), with foods being the repetitions. The IVDMD values determined in tubes were closer to those found in the literature and lower ( $P < 0,02$ ) to those obtained by the automatic procedure. No differences were found ( $P > 0,05$ ) in IVDMD of concentrates and silages when incubated together in the same fermentation jar or separated by food class in separated jars.

**Keywords:** chemical analysis, chemical composition, method of analysis, ruminant nutrition

### Introdução

Dentre os muitos métodos publicados para determinação do valor de digestibilidade de alimentos, o procedimento *in vitro* de dois estágios de TILLEY & TERRY (1963) é o mais difundido e utilizado em estudos de nutrição de ruminantes (ADESOGAN, 2002). No entanto, apresenta restrições relacionadas ao excesso de tempo e de trabalho despendidos à realização das etapas químico-microbiológicas da análise,



bem como à necessidade metodológica de que cada alimento avaliado na bateria seja incubado individualmente em tubos, o que limita sobremaneira sua eficiência na utilização dos recursos humanos, financeiros e de infra-estrutura do laboratório. Para superar este problema, sistemas automatizados de determinação de digestibilidade *in vitro* estão atualmente sendo comercializados, permitindo redução dos custos relacionados ao trabalho e processando até 100 amostras por vez, coletivamente fermentadas em jarros de digestão, ao invés de individualmente incubadas em tubos, como no procedimento tradicional de TILLEY & TERRY (1963). Os resultados de digestibilidade obtidos a partir de equipamentos automatizados de fermentação *in vitro* podem ser afetados por inúmeros fatores, podendo-se citar a potencial ocorrência de efeito associativo na digestão de amostras incubadas em um mesmo jarro de fermentação (WILMAN & ADESOGAN, 2000). Foi objetivo deste experimento comparar valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca de silagens de milho e de concentrados protéicos e energéticos, determinados pelo procedimento de dois estágios de TILLEY & TERRY (1963) ou em equipamento automatizado de fermentação, bem como avaliar a ocorrência de efeito associativo na digestão de alimentos destas três classes incubadas em um mesmo jarro de fermentação da “Incubadora *In vitro*” ou em jarros diferentes contendo alimentos pertencentes à mesma classe.

### Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Digestibilidade da Embrapa Gado de Leite (Coronel Pacheco, MG). Foram comparados três procedimentos de determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS): 1) tradicional, de dois estágios de TILLEY & TERRY (1963); 2) automatizado, utilizando Incubadora *In vitro* modelo TE-150 (Tecnal Equipamentos para Laboratório, Piracicaba, SP), onde alimentos concentrados (protéicos e energéticos) e volumosos (silagens de milho) foram incubados em sacos confeccionados em TNT-100 (Tecido-não-tecido, 100% polipropileno; 5,5 x 5,5 cm), e colocados em um mesmo jarro de fermentação; 3) automatizado, mas incubando-se os sacos contendo cada uma das três classes de alimentos (concentrados protéicos e energéticos e silagens de milho) nos respectivos três jarros de fermentação restantes da Incubadora. Os alimentos avaliados foram quatro silagens de milho, três concentrados protéicos e três energéticos (Tabela 1). As amostras de alimentos foram pré-secas em estufa de ventilação forçada (72 h, 55°C) e moídas (1 mm). No procedimento de TILLEY & TERRY (1963), os dez alimentos foram incubados em duplicata, individualmente, em tubos com 50 mL de solução tamponada, preparada utilizando-se relação 4:1 (v/v) de saliva artificial e de inóculo ruminal coletado de vaca Holandês x Zebu fistulada no rúmen, recebendo dieta baseada em silagem de milho. Dois tubos contendo somente a solução tamponada (“prova em branco”) e dois tubos com amostra de forragem de digestibilidade conhecida (“alimento-padrão”) foram incluídos à bateria. Após 48 h de incubação, 4 mL de ácido clorídrico (HCl) a 7,4% (v/v) e 2 mL de pepsina 1:10.000 a 5% (p/v) foram adicionados a cada tubo e, após novo período de 48 h de incubação, foram realizados os procedimentos de filtragem a vácuo, secagem e pesagem dos resíduos, visando aos cálculos de DIVMS (SILVA & QUEIROZ, 2002). No método automatizado, no tratamento em que os seis concentrados e as quatro silagens de milho foram incubados em um mesmo jarro de fermentação, foram utilizadas duas réplicas por alimento, além de dois sacos para “prova em branco” e dois com o “alimento-padrão”, totalizando 24 sacos no jarro de fermentação, que continha 1.200 mL da mesma solução tamponada relatada anteriormente. Após 48 h de incubação foram adicionados 96 mL de HCl a 7,4 (v/v) e 48 mL de pepsina 1:10.000 a 5% (p/v), e após novo período de 48 h de incubação foram realizados os procedimentos de lavagem, secagem e pesagem dos sacos, visando aos cálculos da DIVMS. No tratamento em que procedeu-se à incubação de cada uma das três classes de alimentos em diferentes jarros de fermentação foram utilizadas seis réplicas por alimento, além de três sacos para “prova em branco” e três com o “alimento-padrão”, totalizando 24 sacos em cada um dos três jarros de fermentação. Os demais procedimentos foram realizados conforme relatado para o tratamento anterior. O experimento foi conduzido, utilizando delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 3 (procedimentos *in vitro* x classes de alimentos), com os alimentos sendo as repetições. Os valores de DIVMS determinados pelo método de TILLEY & TERRY (1963) foram comparados àqueles obtidos dos dois procedimentos automatizados, que também foram comparados entre si por meio de contrastes ortogonais (P<0,05).

Tabela 1 Composição química dos alimentos volumosos e concentrados avaliados no estudo<sup>a</sup>

Alimentos	PB (% da MS)	FDN (% da MS)	FDA (% da MS)
Silagens de milho	9,1 a 10,7	41,5 a 51,0	37,3 a 41,0
Farelo de soja	50,2	9,8	-
Farelo de algodão	40,4	31,8	22,5



Seja grão	33,8	14,5	
Fubá de milho	10,4	6,9	3,5
Farelo de trigo	17,8	-	-
Polpa cítrica	6,6	18,9	-

<sup>a</sup>MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro e FDA = fibra em detergente ácido.

### Resultados e Discussão

De modo geral, os valores de DIVMS determinados pelo método de TILLEY & TERRY (1963) foram mais próximos daqueles relatados na literatura (VALADARES FILHO et al., 2000) do que os obtidos do equipamento automatizado de fermentação *in vitro*. Não houve evidência de maior precisão de um procedimento *in vitro* em detrimento dos demais, haja vista que em função do alimento avaliado, houve variações nos desvios-padrão das médias de DIVMS. Foram observados efeitos de classe de alimentos ( $P < 0,002$ ) e do procedimento de determinação da DIVMS ( $P < 0,035$ ). No entanto, não houve interação entre os fatores estudados ( $P > 0,05$ ). Os valores de DIVMS determinados pelo método de TILLEY & TERRY (1963) foram consistentemente inferiores ( $P < 0,0189$ ) aos obtidos dos dois procedimentos de incubação realizados na Incubadora *In vitro*. Estes resultados corroboram aqueles relatados por WILMAN & ADESOGAN (2000). Ademais, ao utilizar-se a Incubadora *In vitro*, os valores de DIVMS do “alimento-padrão” foram superestimados em relação ao valor real, enquanto que na incubação realizada nos tubos, obteve-se boa concordância entre estes. Não foi observada diferença ( $P > 0,05$ ) nos valores de DIVMS dos suplementos concentrados e das silagens de milho, quando incubados no mesmo jarro do equipamento automatizado de fermentação ou, separadamente por alimento, em jarros diferentes. HOLDEN (1999) também não observou diferença ( $P > 0,05$ ) nos valores de DIVMS de diversos alimentos volumosos e concentrados, quando incubados no mesmo ou em jarros de fermentação diferentes. No presente estudo observou-se que os sacos confeccionados com TNT-100 freqüentemente desfiavam-se, facilitando a adesão de partículas suspensas da solução tampoadas.

### Conclusões

A não ocorrência de efeito associativo na digestão de silagens de milho e de suplementos concentrados, incubados em um mesmo jarro de fermentação do equipamento automatizado permite otimizar a utilização dos recursos humanos, financeiros e de infra-estrutura do laboratório na determinação de digestibilidade *in vitro*.

A superestimativa dos valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca de alimentos volumosos e concentrados comumente utilizados na dieta de ruminantes, condiciona a recomendação do emprego do equipamento automatizado à implementação de novos estudos, com ênfase naqueles relacionados ao material utilizado na confecção dos sacos de incubação.

### Agradecimentos

À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade de realização do trabalho e ao Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora (CES-JF) pela concessão da bolsa de Iniciação Científica.

### Literatura citada

ADESOGAN, A. T. What are feeds worth?: A critical evaluation of selected nutritive values methods. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 13., 2002, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: University of Florida, 2002, pág.33-47. Disponível em: <<http://www.animal.ufl.edu/dairy/2002ruminantconference/default.htm>>. Acesso em: 2 abr. 2004.

HOLDEN, L. A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for ten feeds. **J. Dairy Sci.**, v. 82, n. 8, p. 1791-1794, 1999.

SILVA, J.S.; QUEIROZ, A.C.da. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **J. Brit. Grassl. Soc.**, v. 18, p. 104-111, 1963.

VALADARES FILHO, S. C.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; CAPPELLE, E. R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. Viçosa: UFV, DZO, DPI, 2002. 297p.



WILMAN, D. Dr.; ADESOGAN, A. A comparison of filter bag methods with conventional tube methods of determining the in vitro digestibility of forages. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v. 84, p. 33-47, 2000.