

MARCIA DIAS

**INDICADORES NA COLETA DE DIGESTA OMASAL E NA
CINÉTICA DE TRÂNSITO DO TRATO GASTRINTESTINAL DE
BOVINOS**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2009

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

T

D541i
2009 Dias, Marcia, 1981-
 Indicadores na coleta de digesta omasal e na cinética
 de trânsito do trato gastrointestinal de bovinos / Marcia Dias.
 – Viçosa, MG, 2009.
 xii, 96f.: il. (algumas col.); 29cm.

Orientador: Maria Ignez Leão.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Bovino - Alimentação e rações - Avaliação. 2. Bovino
- Sistema gastrointestinal - Análise. 3. Rúmen. 4. Cinética.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

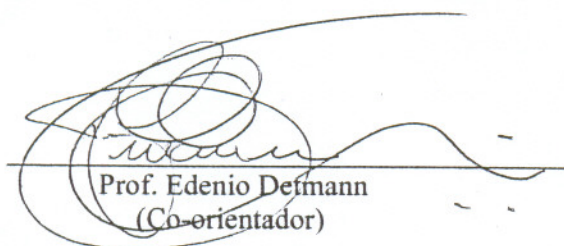
CDD 22.ed. 636.2084

MARCIA DIAS

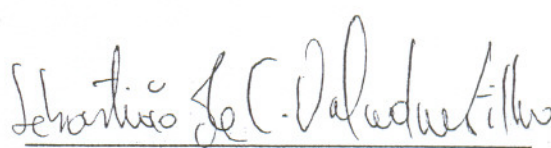
**INDICADORES NA COLETA DE DIGESTA OMASAL E NA
CINÉTICA DE TRÂNSITO DO TRATO GASTRINTESTINAL DE
BOVINOS**

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

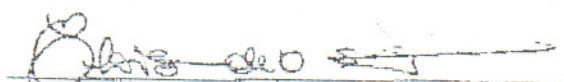
APROVADA: 12 de maio de 2009.



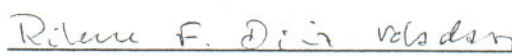
Prof. Edenio Defmann
(Co-orientador)



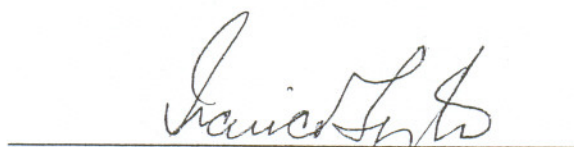
Prof. Sebastião de Campos Valadares Filho
(Co-orientador)



Prof. Eloísa de Oliveira Simões Saliba



Prof. Rilene Ferreira Diniz Valadares



Prof. Maria Ignez Leão
(Orientadora)

*As pessoas mais importantes da minha vida,
meus pais, irmãos e meu noivo.
A eles eu dedico este trabalho.*

*“Sábio é o homem que conhece alguma coisa
sobre tudo e não tudo sobre alguma coisa.
O mais sábio é aquele que estuda como se fosse
viver eternamente e vive como se fosse morrer
amanhã”.
(Anônimo)*

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela presença constante em minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização deste curso.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

Aos professores Maria Ignez Leão, Edenio Detmann e Sebastião de Campos Valadares Filho, pelos ensinamentos e sugestões para a realização deste trabalho.

À professora Eloísa de Oliveira Simões Saliba e Rilene Ferreira Diniz Valadares, pelo apoio, pronto atendimento e sugestões para a realização deste trabalho.

Ao professor Ciro Alexandre Alves Torres, por ter cedido o Laboratório de Reprodução Animal para a realização de algumas análises, pela amizade, conselhos e agradável convivência.

Aos demais professores da Universidade Federal de Viçosa, pelo conhecimento transferido.

Aos funcionários do Laboratório Animal, pela primordial ajuda durante a condução do experimento.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, pela ajuda na realização das análises laboratoriais.

Aos demais funcionários do Departamento de Zootecnia, pelo apoio concedido durante a realização do curso.

A Cristina Veloso, pela amizade, preocupação, e ajuda prestadas em momentos importantes, meu eterno agradecimento.

Aos estagiários vindo de outras instituições que permaneceram por pouco tempo, mas fizeram a diferença, Annanda, Charles, Luciana e Ludmilla.

Aos estagiários Alexandro, Daniel Conde, Daniel Rates, Isabela, Jéssica, Juninho e Natália, pelo fundamental auxílio para a realização desse experimento, pela amizade e pelos agradáveis momentos de descontração.

A Jô, por ter sido mais que uma estagiária, minha salva-vida, que conseguiu acompanhar desde o primeiro experimento até o último e socorrido nos momentos difíceis, além de ser ótima companhia, pela amizade e momentos agradáveis, meu eterno agradecimento.

Aos amigos da Zootecnia, que terminaram a jornada nesta cidade e estão continuando em outro local, Ângela, Henrique, Juliana, Leonília e Mauro, pela amizade e agradável convivência.

Aos amigos da Zootecnia que ainda estão aqui, Belmiro, Cacau, Fabrício, Guilherme, Joana, Juscilene, Larissa, Luisa, Marlos e Viviane, por tornarem a vivência em Viçosa mais agradável e descontraída.

À Maura e Walquiria, pela amizade, apoio, confiança, torcida e constante presença, mesmo à distância.

À Kell, Roberto, Bri e Walter, pela amizade e apoio.

A professora Mariazinha, ao Antônio e ao Sr. Luiz Antônio, pelo incentivo e pelo apoio.

Aos meus pais, irmãos e demais familiares, pela confiança, torcida, pela força em todas as fases desta caminhada, enfim, por tudo.

Ao meu amor, minha vida, meu futuro esposo Vinício, pela ajuda primordial na realização deste trabalho e por ter sido o sol na minha vida enquanto estive aqui.

Às minhas crianças, por terem sido mais que animais experimentais, sem elas nada seria possível.

A todos que direta ou indiretamente, mesmo que não mencionados, são responsáveis pela realização deste trabalho, meu eterno agradecimento.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	v
RESUMO	vii
ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO GERAL	1
Literatura citada	7
FREQUÊNCIA DE INFUSÃO E PERFIL NICTEMERAL DE INDICADORES NA DIGESTA OMASAL DE BOVINOS.....	10
Resumo.....	10
Abstract	10
Introdução	11
Material e Métodos	12
Resultados e Discussão	14
Conclusões	20
Literatura citada	20
PERFIL NICTEMERAL DE INDICADORES DA FASE SÓLIDA DA DIGESTA OMASAL DE BOVINOS.....	22
Resumo.....	22
Abstract	22
Introdução	23
Material e Métodos	24
Resultados e Discussão	27
Conclusões	32
Literatura citada	32

COLETA DE DIGESTA OMASAL DE BOVINOS COM DIFERENTES SISTEMAS DE INDICADORES	34
Resumo.....	34
Abstract	34
Introdução	35
Material e Métodos	36
Resultados e Discussão	41
Conclusões	50
Literatura citada	50
INDICADORES E MODELOS MATEMÁTICOS PARA ESTUDO DA CINÉTICA DE PASSAGEM DE PARTÍCULAS E DE FLUIDOS EM BOVINOS.....	53
Resumo.....	53
Abstract	53
Introdução	55
Material e Métodos	56
Resultados e Discussão	60
Conclusões	69
Literatura citada	69
CANA-DE-AÇÚCAR, SILAGEM DE MILHO E CONCENTRADO NA DIETA DE BOVINOS	72
Resumo.....	72
Abstract	72
Introdução	74
Material e Métodos	75
Resultados e Discussão	79
Conclusões	85
Literatura citada	86
CONCLUSÕES GERAIS	89
APÊNDICE	90

RESUMO

DIAS, Marcia, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2009.
Indicadores na coleta de digesta omasal e na cinética de trânsito do trato gastrointestinal de bovinos. Orientadora: Maria Ignez Leão. Co-orientadores: Edenio Detmann e Sebastião de Campos Valadares Filho.

Objetivou-se avaliar indicadores e sistemas de indicadores na coleta de digesta omasal; comparar a estimação da cinética de passagem de partículas e fluidos por diferentes indicadores e modelos matemáticos; avaliar a estimação da taxa de passagem pela técnica de esvaziamento ruminal e pelo ajustamento de modelo matemático não-linear; utilizando dois volumosos (cana-de-açúcar e silagem de milho) e dois níveis de concentrado (0 e 25%) na dieta de novilhas. Foram realizados três experimentos. No primeiro experimento, utilizaram-se quatro novilhas Nelore, fistuladas no rúmen, confinadas, alimentadas com feno de capim-Tifton (*Cynodon spp.*) *ad libitum* e 1 kg de concentrado (16% PB) por 32 dias, com quatro períodos de quatro dias cada. A adaptação à dieta experimental foi de sete dias e intervalo de três dias entre os períodos. Os quatro tratamentos avaliados compreenderam quatro tempos de infusão do Co-EDTA e do YbCl₃ em diferentes fases da digesta omasal: uma (T1v), duas (T2v), quatro (T4v) e seis (T6v) vezes ao dia em intervalos iguais. Os tempos de coleta de digesta omasal compreenderam um período de 24 horas e intervalo de duas horas. Determinou-se o perfil nictemeral pelo modelo em série de Fourier. A concentração média do Co e do Yb não diferiu ($P>0,05$) entre os diferentes tempos de infusão e fases da digesta omasal, apresentando índice de variação inferior a 10%. O índice de variação e a amplitude de oscilação para ambos os indicadores foram menores para o T4v. Os índices de variação foram inferiores a 10%, com menores valores para a FDNi (0,66-2,07%), FDAi (1,16-4,46%) e LIPE[®] (0,64-2,96%) e maiores para Cr₂O₃ (2,52-9,64%) e TiO₂ (2,75-3,49%). Comparando a dimensão fundamental do ciclo excretório (*c*) nas fases da digesta omasal, excetuando a fase líquida (FL), os melhores valores ($P<0,05$) foram observados para a FDAi, Cr₂O₃ e LIPE[®], correspondendo a períodos fundamentais menores de 4,5 horas. As fibras indigestíveis (FDNi, FDAi) e o LIPE[®] apresentam perfis nictemerais na digesta omasal mais estáveis que o Cr₂O₃ e o TiO₂. No segundo experimento, utilizaram-se quatro novilhas Holandês-Zebu, fistuladas no

rúmen e no íleo, mantidas em regime de confinamento com dieta à base de feno de capim-Tifton (*Cynodon* spp.) oferecido *ad libitum* e 1,2 kg de concentrado (22% PB). O experimento durou 39 dias, com três períodos de seis dias cada. A adaptação à dieta experimental e o intervalo entre os períodos foram de sete dias. Em cada período experimental, foram realizadas coleta total de fezes (1º ao 3º dia) e coleta de digesta omasal e ileal (4º ao 6º dia). Foram comparados três sistemas de indicadores para avaliar o fluxo de digesta omasal: único (FDNi, FDAi, Cr₂O₃, TiO₂); duplo (associação do Co-EDTA ou do YbCl₃ com os indicadores do sistema único); e triplo (associação entre o Co-EDTA e o YbCl₃ com o sistema único). Para estimativa do fluxo ileal, foram utilizados apenas os indicadores únicos. Não houve efeito ($P>0,05$) do período de coleta sobre os fluxos omasal e ileal. O fluxo omasal foi melhor estimado pela FDNi, FDAi e associações com o Co-EDTA e o YbCl₃. No terceiro e último experimento, utilizaram-se quatro novilhas Holandês-Zebu com fístulas no rúmen e íleo, em quadrado latino 4x4. As dietas consistiram de fatorial 2x2, dois volumosos (cana-de-açúcar e silagem de milho) e dois níveis de concentrado (0 e 25% da MS da dieta total). Do 8º ao 14º dia realizou-se a estimativa de trânsito de digesta com indicadores, a fibra mordantada com cromo (Cr) e complexada com európio (Eu) e itérbio (Yb) para marcar a fase sólida dos volumosos, e o complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) para a líquida. No 8º dia foi realizada coleta de líquido ruminal e, do 14º ao 16º dia, esvaziamento ruminal. As curvas de concentração dos indicadores de fase sólida foram ajustadas aos modelos multicompartimental ($G_{1(n)} \rightarrow O$) e bicompartimental ($G_2 \rightarrow G_1 \rightarrow O$) e de fluidos ao modelo unicompartimental tempo-independente ($G_1 \rightarrow$) e tempo-dependente ($G_2 \rightarrow$). A k_2 do modelo multicompartimental foi aproximadamente o dobro daquela do modelo bicompartimental, enquanto os k_1 foram semelhantes. Tanto nos modelos multi como bicompartimental, a utilização do Yb resultou no comportamento gráfico e na uniformidade dos pontos menos adequado dentre os indicadores avaliados, enquanto que o Cr representou melhor os dados da taxa de passagem de sólidos. Comparando os modelos, o modelo multicompartimental foi melhor que o bicompartimental. Os modelos avaliados para a taxa de passagem de fluidos apresentaram comportamento semelhante, mas o desvio-padrão assintótico foi menor para o modelo tempo-dependente. O cromo e o Co-EDTA foram bons indicadores para avaliação da taxa de passagem de partículas e fluidos, respectivamente. Os modelos recomendados para a taxa de passagem de partículas foi o multicompartimental ($G_{1(n)} \rightarrow O$) e para fluidos o

unicompartimental tempo-dependente ($G_2 \rightarrow$). Desta forma, compararam-se as dietas e os métodos de estimação da taxa de passagem de partículas utilizando esses indicadores e modelos. Foi verificado maior ($P<0,05$) consumo de MS e FDNcp pelos animais recebendo silagem de milho, e de MS e MO, quando alimentados com concentrado. Não houve efeito ($P>0,05$) do volumoso sobre a massa ruminal, mas a adição de concentrado reduziu ($P<0,05$) a massa ruminal de FDN na digesta total e na fase sólida. Os coeficientes de digestão total da PB, FDNcp e CNF foram maiores ($P<0,05$) para cana-de-açúcar que para silagem de milho. A adição de concentrado melhorou ($P<0,05$) a digestibilidade total da MO e de CNF. O pH ruminal foi maior ($P<0,05$) para a cana-de-açúcar e na dieta sem concentrado. A cana-de-açúcar apresentou menor concentração de $N-NH_3$ em comparação à silagem de milho e não foi verificado efeito do concentrado. A coleta de digesta omasal pode ser realizada pelo sistema único, utilizando a FDNi, a FDAi ou o LIPE[®], ou o sistema duplo com Co-EDTA ou $YbCl_3$, infundindo a cada seis horas, associado a FDNi ou FDAi. A amostragem de digesta pode ser feita a cada quatro horas, apenas no período diurno. Para a estimação da taxa de passagem da fração fibrosa são recomendados o cromo e o modelo multicompartimental (G_n) e, para a de fluidos, o Co-EDTA e o modelo unicompartimental tempo-dependente (G_2). A estimação da taxa de passagem da fração fibrosa pelo método do eszaviamento ruminal, em relação aos modelos matemáticos, resulta em estimativa de cerca do dobro do valor. A silagem de milho ou a adição de 25% de concentrado na dieta de novilhas apresenta melhores resultados.

ABSTRACT

DIAS, Marcia, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2009.
Markers in cattle omasal digesta collection and gastrointestinal tract flow kinetics. Adviser: Maria Ignez Leão. Co-Advisers: Edenio Detmann and Sebastião de Campos Valadares Filho.

It was aimed to evaluate markers and markers systems in omasal digesta collection; to compare the estimate of particles and fluids flow kinetics by different markers and mathematical models; to evaluate the estimate of the flow rate by ruminal emptying technique and by the no-linear mathematical model adjustment; using two roughages (sugarcane and corn silage) and two concentrate levels (0 and 25%) in heifers diet. Three experiments were conducted. In the first experiment, four rumen fistulated Nelore heifers were used, which were confined, fed Tifton-grass (*Cynodon* spp.) hay *ad libitum* and 1 kg of concentrate (16% CP) for 32 days, with four periods of four days each. The adaptation to the experimental diet was of seven days and interval of three days between the periods. The four treatments evaluated consisted of four Co-EDTA and YbCl₃ infusion times in different omasal digesta phases: one (T1v), two (T2v), four (T4v) and six (T6v) times a day with the same intervals. The times of omasal digesta collection comprehended a period of 24 hours and interval of two hours. The nictimeral profile was determined by the Fourier series model. The Co and Yb average concentration did not differ ($P>0.05$) among the different infusion times and omasal digesta phases, presenting variation index inferior to 10%. The variation index and the oscillation amplitude for both indicators went smaller for T4v. The variation index were inferior to 10%, with smaller values for iNDF (0.66-2.07%), iADF (1.16-4.46%) and LIPE[™] (0.64-2.96%) and greater for Cr₂O₃ (2.52-9.64%) and TiO₂ (2.75-3.49%). Comparing the fundamental dimension of the excretory cycle (c) in omasal digesta phases, excepting the liquid phase, the best values ($P<0.05$) values were observed for iADF, Cr₂O₃ and LIPE[™], corresponding to fundamental periods smaller than 4.5 hours. The indigestible fibers (iNDF, iADF) and LIPE[™] present more stable nictimeral profiles in omasal digesta than Cr₂O₃ and TiO₂. In the second experiment, four Holstein-Zebu heifers, fistulated in the rumen and ileum were maintained in confinement regimen with diet based on Tifton-grass (*Cynodon* spp.) hay offered *ad*

libitum and 1.2 kg of concentrate (22% CP). The experiment lasted 39 days, with three periods of six days each. The adaptation to the experimental diet and the interval between the periods were of seven days. In each experimental period, total collection of feces (1st to the 3rd day) was realized; collection of omasal and ileal digesta (4th to the 6th day). Three markers systems were compared to evaluate the omasal digesta flow: unique (iNDF, iADF, Cr₂O₃, TiO₂); double (association of Co-EDTA or YbCl₃ with the markers of the unique system); and triple (association between Co-EDTA and YbCl₃ with the unique system). For estimate of the ileal flow, only the unique markers were used. There was no effect ($P>0.05$) of the collection period on omasal and ileal flows. The omasal flow was better estimated by iNDF, iADF and associations with the Co-EDTA and YbCl₃. In the third and last experiment, four Holstein-Zebu heifers fistulated in rumen and ileum were used in a 4x4 Latin square. The diets consisted of a 2x2 factorial, with two roughages (sugarcane and corn silage) and two concentrate levels (0 and 25% of total diet DM). From the 8th to the 14th day the estimate of digesta flow was estimated with markers, the chrome (Cr) mordent fiber and complexed with európio (Eu) and ytterbium (Yb) to mark the solid phase of the roughages, and the cobalt-etilenodiaminotetracetic acid (Co-EDTA) for the liquid. In the 8th day, collection of ruminal liquid was done and, from the 14th to the 16th day, ruminal emptying. The curves of concentration of solid phase indicators were adjusted to the multi-compartmental ($G_{1(n)} \rightarrow 0$) and bi-compartmental ($G_2 \rightarrow G_1 \rightarrow 0$) models and of fluids to the time-independent ($G_1 \rightarrow$) and time-dependent ($G_2 \rightarrow$) uni-compartmental models. The k_2 of the multi-compartmental model was approximately the double of that of the bi-compartmental model, while the k_1 were similar. Both in the multi as in the bi-compartmental models, the use of Yb resulted in the least behavior and uniformity of the points among the evaluated markers, while Cr was the one which best represented the data of solids passage rate. Comparing the models, the multi-compartmental model was better than the bi-compartmental. The models evaluated for fluids passage rate presented similar behavior, but the asymptotic standard deviation was smaller for the time-dependent model. Chrome and Co-EDTA were good indicators to evaluate particles and fluids passage rate, respectively. The models recommended for particles passage rate was the multi-compartmental ($G_{1(n)} \rightarrow 0$) and, for fluids, the time-dependent unicompartimental ($G_2 \rightarrow$). This way, the diets and the methods of estimate particles passage rate were compared using these indicators and models. Greater ($P<0.05$) DM and NDFap intake was verified in the animals receiving

corn silage, and DM and OM intake, when fed with concentrate. There was no effect ($P>0.05$) of the roughage on ruminal mass, but the concentrate addition reduced ($P<0.05$) the NDF ruminal mass in total digesta and in solid phase. The CP, NDFap and NFC total digestion coefficients were greater ($P<0.05$) for sugarcane than for corn silage. The concentrate addition improved ($P<0.05$) the OM and NFC total digestibility. Rumen pH was higher ($P<0.05$) for the sugarcane and in the diet without concentrate. The sugarcane presented smaller N-NH₃ concentration compared to corn silage and it was not verified any concentrate effect. The omasal digesta collection can be accomplished by the unique system, using iNDF, iADF or LIPETM, or the double system with Co-EDTA or YbCl₃, infusing every six hours, associated to iNDF or iADF. The digesta sampling can be made every four hours, only in the day period. To estimate the fibrous fraction passage rate it is recommended the chrome and the multi-compartmental (Gn) model and, for the one of fluids, the Co-EDTA and the time-dependent uni-compartmental (G₂) model. The estimate of fibrous fraction passage rate by rumen emptying method, compared to the mathematical models, results in estimate of about the double of the value. The corn silage or the addition of 25% of concentrate in the heifers diet present better results.

INTRODUÇÃO GERAL

Os métodos para a estimação do valor nutricional de alimentos tem sido alvo de diversas pesquisas nacionais e internacionais na nutrição de ruminantes, uma vez que os ensaios com animais são onerosos, laboriosos e relativamente longos. Entretanto, os métodos *in vivo* continuam a ser importantes por serem referência, tanto na avaliação de alimentos, como na validação dos métodos de estimação.

Para esses ensaios, são necessários animais fistulados. As fistulas permitem o acesso ao lúmen do trato digestivo para a coleta de digesta e para a infusão de nutrientes e indicadores para o monitoramento dos aspectos químicos (hidrólise e síntese) e físicos (fluxo) da digestão. No entanto, busca-se reduzir o número de fistulas em um mesmo animal, para permitir maior conforto ao mesmo e aumentar sua permanência em experimentos.

Como alternativa à realização de fistulações no duodeno ou no abomaso, a coleta de digesta omasal apresenta a vantagem de ser menos invasiva, por implicar na utilização apenas da fistula ruminal. A fistulação apenas no rúmen tem a vantagem de ser menos invasiva, normalmente não apresentar complicação pós-cirúrgica, com rápida recuperação e fácil manutenção dos animais. Espera-se, assim, permanência por mais tempo dos animais em experimentação do que os fistulados adicionalmente no abomaso ou duodeno, uma vez que estas últimas, normalmente, apresentam complicações pós-cirúrgicas (rejeição de cânulas) e os animais terem seu desempenho prejudicado. Além disso, secreções endógenas do abomaso podem ocasionar erros na estimativa da digestão dos nutrientes (Huhtanen et al., 1997).

No caso da técnica de coleta de digesta omasal, admite-se que as amostras não são representativas da digesta que está deixando o rúmen e passando para o omaso, sendo divididas em três fases (líquida; pequenas; médias e grandes partículas), o que pode demandar a utilização de múltiplos indicadores (um para cada fase) para reconstituir matematicamente a digesta e, consequentemente, diminuir o erro da técnica (Huhtanen et al., 1997; Ahvenjärvi et al., 2000). Entretanto, a digesta omasal pode ser dividida em duas fases, quando não se separa a fase líquida e de pequenas partículas (fase líquida e de pequenas partículas e a fase de grandes partículas), possibilitando a utilização de apenas dois indicadores (Dias et al., 2007).

Para a coleta de digesta omasal, Huhtanen et al. (1997) e Ahvenjärvi et al. (2000) recomendam a infusão contínua do indicador complexo de cobalto-ácido

etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) e do cloreto de itérbio (YbCl_3), via cânula ruminal, com a utilização de bombas peristálticas.

Essa técnica é utilizada em estudos de digestão nos Estados Unidos e Europa, mas, no Brasil, ainda há poucos experimentos. Isso se deve, provavelmente, à sugestão de utilização de bombas peristálticas para a infusão dos indicadores, que torna o procedimento oneroso, limitando sua utilização. Assim, é interessante a substituição do emprego dessas bombas pela infusão dos indicadores em intervalos de tempos pré-definidos.

Para avaliação da precisão da infusão dos indicadores em intervalos de tempos pré-definidos, a análise dos perfis nictemerais dos indicadores pode ser utilizada para verificar a variação do indicador ao longo do dia. Além disso, pode-se entender melhor como os horários de coleta afetam as estimativas dos fluxos, possibilitando comparações entre indicadores e auxiliando na definição dos melhores momentos de amostragem, melhorando a precisão dos indicadores.

Para avaliação *in vivo* de alimentos, a utilização de indicadores pode ser realizada por infusão contínua ou por dose pulso. A infusão contínua baseia-se no fornecimento contínuo de uma dosagem do indicador, com a finalidade de marcar uniformemente a digesta, a fim de causar uma razão constante entre o indicador e a digesta (Owens & Hanson, 1992). Desta forma, admite-se que a dosagem da concentração em uma amostra pode ser representativa da concentração em todo o elemento amostrado. Contudo, a suposição de excreção constante, durante o período de um dia, deve ser interpretada cuidadosamente, uma vez que o perfil nictemeral de excreção encontrado pode não possuir forma linear e estável, mas sim oscilatória (Smith & Reid, 1955; Corbett et al., 1959; Hopper et al., 1978).

O uso de indicadores em infusão contínua pressupõe o alcance de um estado de estaticidade de fluxo, denominado de *steady-state*, que é atingido quando a dinâmica do compartimento não é alterada (Mertens, 2005). Para isso, são infundidas quantidades de indicadores várias vezes, entretanto, cada vez que o indicador é fornecido, os animais devem ser contidos. Isto amplia o estresse, que pode alterar o comportamento de consumo e, conseqüentemente, a excreção fecal (Burns et al., 1994). A partir desse argumento, especula-se se o nível de interferência pode ser significativo no comportamento de consumo; assim, número de dosagens diárias reduzido poderia fornecer estimativas mais próximas ao real, devido ao menor distúrbio (Langlands et al., 1963; Owens & Hanson, 1992).

A dose única ou dose pulso, consiste na aplicação de única dose e subsequente

amostragem de digesta a tempos definidos, com vistas a caracterizar o pulso ou a curva de excreção do indicador, sendo largamente utilizada na estimação de parâmetros da cinética de trânsito do trato gastrointestinal de ruminantes (Pond et al., 1988; Moore et al., 1992; Susmel et al., 1996).

Pela utilização das duas formas de infusão, pode-se obter informações importantes. Dose pulso tipicamente é usada para calcular volume de digesta e tempo de retenção em partes específicas do intestino. A partir do conhecimento do volume e do tempo de retenção, pode ser calculada a taxa de fluxo. A infusão contínua é principalmente usada para medir o fluxo instantâneo em um ponto específico no trato digestório (por exemplo, abomasal ou fluxo duodenal e produção fecal).

Ampla número de substâncias tem sido avaliados como indicadores para estudar a digestão nos ruminantes, sendo classificados em internos, o que ocorrem naturalmente nos alimentos, ou externos, adicionados à dieta ou administrado ao animal. Entre os indicadores internos, as fibras indigestíveis são as mais utilizadas. Segundo Cochran et al. (1986), a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) são indicadores com potencial de utilização para a estimação da digestibilidade. Entre os indicadores externos, o mais utilizado é o óxido de cromo (Cr_2O_3). Atualmente, em alguns trabalhos propõe-se o dióxido de titânio (TiO_2 ; Titgemeyer et al., 2001) como alternativa a esse indicador externo.

Recentemente, foi proposta uma nova classe, os intra-indicadores, que não se designam substâncias únicas, mas, grupamentos constituintes de substâncias que podem ser utilizadas como indicadores (Saliba et al., 1999). Um tipo de lignina com grupamentos fenólicos não encontrados normalmente nos compostos *in natura*, foi enriquecida originando um hidroxifenilpropano modificado, a lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]). O LIPE[®] é o hidroxifenilpropano modificado e enriquecido, que tem apresentado resultados eficientes como indicador de digestibilidade em pesquisas realizadas com diversas espécies (Saliba et al., 2003; Vasconcellos et al., 2007; Lanzetta et al., 2009).

Com a infusão de indicadores em dose pulso, os indicadores utilizados para a cinética de passagem de partículas sólidas são os indicadores mordentes, insolúveis, que se ligam covalentemente à fração fibrosa do alimento, como o cromo (Cr) na forma iônica de dicromato e os elementos químicos, como os lantanídeos ou terras raras, como o európio (Eu), cério (Ce), praseodímio (Pr) e o itérbio (Yb), também na forma iônica (Owens & Hanson, 1992). O Cr forma ligação covalente via grupo hidroxila e as terras raras ligam-se com a matriz orgânica pela troca de cátions. Porém, estes elementos,

quando ligados à parede celular, são inibitórios, ou seja, reduzem a digestibilidade e formam ligações resistentes à ação enzimática. As soluções de terras raras, assim como as de Cr complexado, reagem com substâncias que possuem grupos carboxílicos livres, oxalatos, fosfatos, parede celular microbiana e saliva, portanto, não devem ser administradas diretamente no rúmen, mas previamente complexadas às partículas do alimento (Van Soest, 1994).

Podem ocorrer variações nas estimativas dos parâmetros de cinética, como a taxa de passagem, devido à quantificação das partículas complexadas; às diferentes propriedades físicas entre as partículas e o alimento; e ao grau de complexação dos elementos complexados, que podem migrar das partículas complexadas (Beauchemin & Buchanan-Smith, 1989). Se um indicador migra de uma partícula para um nutriente solúvel no órgão que está sendo avaliado, torna-se menos exata a estimativa. Porém, se a migração ocorre após o órgão de interesse, pode não haver comprometimento. Portanto, a solubilização de terras raras no abomaso não altera as estimativas de cinética baseadas nas concentrações do indicador nas fezes, ainda que o fluxo pós-ruminal acompanhe o fluido e não a partícula de interesse (Owens & Hanson, 1992).

O indicador mais utilizado na estimação da taxa de passagem de fluidos é o Co-EDTA. Usa-se ainda o quelato de Cr (Cr-EDTA) e o polietilenoglicol (PEG). O PEG é normalmente utilizado como agente neutralizante do efeito deletério dos taninos sobre a digestibilidade dos nutrientes, porém, tem apresentado resultado satisfatório em dietas livres de taninos (Landau et al., 2003). Atualmente, está sendo desenvolvido um indicador líquido considerando alguns compostos fenólicos da lignina (p-hidroxibenzaldeído, siringaldeído, vanilina).

Para a cinética de trânsito ou passagem, geralmente são categorizados modelos matemáticos em dois tipos: o primeiro é composto por modelos tempo-independentes, que são determinísticos, ou seja, assumem que os sistemas podem ser simulados com segurança por conhecimentos prévios. Nesse tipo de modelo é assumido que a digesta flui irreversivelmente por um número fixo de compartimentos subsequentes, de acordo com a cinética de primeira ordem, com distribuição exponencial (Lalles et al. 1991). O segundo é composto por modelos tempo-dependentes, que são estocásticos, os quais assumem que o sistema opera em princípios de probabilidade ou contém elementos aleatórios, que não podem ser conhecidos com segurança. Este modelo usa γ -funções (distribuições de tempo de permanência não-exponenciais) para descrever a passagem da digesta pelos diferentes segmentos do trato gastrointestinal. Assim, o modelo tempo-independente assume igual probabilidade para escape de todas as partículas de

diferentes tamanhos, enquanto o tempo-dependente implica que a probabilidade para passagem aumenta com o tempo (Quiroz et al., 1988). A flexibilidade inerente aos modelos tempo-dependentes permitiram o uso em dados de excreção fecal de ruminantes (Pond et al., 1988). Já os modelos tempo-independentes, por serem mais rígidos, falharam (Ellis et al., 1979; Úden et al., 1982). O fracasso de modelos tempo-independentes pode ser atribuído, em parte, ao fato de assumirem volume constante e mistura instantânea de digesta dentro de um compartimento do trato gastrointestinal (por exemplo, rúmen), além da mesma oportunidade para escape de partícula, independente do tempo de permanência da digesta (Ellis et al., 1994).

Outra classificação inerente aos modelos matemáticos refere-se ao número de compartimentos considerados, sendo classificados em unicompartmentais, considerando apenas um (unicompartmental), dois (bicompartimental) ou vários (multicompartmental) compartimentos. A sugestão de que existem mais de dois *pools* no trato digestório foi feita por Dhanoa et al. (1985), assumindo que o fluxo da digesta apresentava uma evolução de forma exponencial em "n" compartimentos.

A partir desses tipos de modelos, há a possibilidade de diferentes modelos pela combinação do número de compartimentos e a distribuição sequencial de compartimentos tempo dependente ou independente. Dentre os modelos propostos, os mais utilizados são os descritos por Grovum & Willians (1973), Ellis et al. (1979) e Dhanoa et al. (1989), os quais atribuem ao trato digestório características compartimentais, sequenciais e irreversíveis (France et al., 1988).

A cinética de trânsito ou passagem pode ser estimada por métodos diretos e indiretos. O método indireto é realizado por indicadores e modelos matemáticos não-lineares, discutidos anteriormente. As medições diretas do conteúdo ruminal e da taxa de passagem podem ser realizadas fazendo-se a evacuação ruminal e a quantificação do fluxo diário de material que deixa o rúmen, utilizando-se animais fistulados no rúmen (Fontes et al., 2001). Um pré-requisito para estimação segura dos parâmetros cinéticos de digestão e de passagem que usam esvaziamento do rúmen ou técnica de abate é que os animais estejam em *steady-state*, ou que os esvaziamentos sejam realizados para permitir estimação com acurácia e precisão do tamanho médio do *pool* do rúmen. Outra condição prévia é que os procedimentos de esvaziamento não interfiram com as funções normais do rúmen (Huhtanen et al., 2007).

Somando-se às informações geradas com a utilização dessas técnicas, o conhecimento do pH e da concentração de nitrogênio amoniacal ruminal é importante para avaliar os alimentos. Satter & Slyter (1974) estabeleceram o nível de 5 mg N/dL de

fluido ruminal para que ocorra máxima fermentação ruminal, considerando os níveis de nitrogênio amoniacal. A concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen é indispensável para o crescimento bacteriano, desde que associada a fontes de energia, e está diretamente relacionada com a solubilidade da proteína dietética e com a retenção de nitrogênio pelo animal (Harmeyer & Mertens, 1980). De acordo com Hoover & Stokes (1991), para o máximo crescimento microbiano, os valores de pH devem estar entre 5,5 e 7,1; variando conforme o tipo e a frequência de arraçãoamento.

Com a utilização dessas técnicas, pode-se analisar o efeito das dietas sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes e, como consequência imediata, o desempenho dos animais. O uso de concentrados na dieta de bovinos de corte, seja em confinamento, ou em pastagem, é para melhorar o desempenho. Entretanto, dependendo dos níveis de concentrado utilizados, podem ocorrer alterações no consumo, na digestibilidade dos nutrientes e nos parâmetros de desempenho. Além disso, estes alimentos constituem a mais onerosa fração da ração dos ruminantes, devendo ser empregados com o intuito de corrigir as deficiências da dieta, ou seja, apenas para balanceá-la. Assim, é necessário determinar a quantidade ideal de concentrado na dieta para equilibrar a receita. Embora os alimentos concentrados apresentem papel fundamental no desempenho de ruminantes, ainda é a fração volumosa a que participa em maior proporção na dieta dos mesmos.

O volumoso é o componente de menor custo na dieta de bovinos confinados, devendo-se dar atenção especial à qualidade nutritiva, pois está inversamente relacionada com a necessidade de concentrados na dieta.

Devido ao elevado teor de carboidratos não-fibrosos na estação seca do ano e da alta produtividade da cultura, a cana-de-açúcar é importante alimento volumoso utilizado na alimentação de bovinos no Brasil. Durante vários anos, a cana-de-açúcar foi amplamente utilizada para bovinos confinados, sendo que a mesma começou a ser substituída por alimentos volumosos de maior concentração energética, à medida que se procurava melhor desempenho dos animais. Dentre esses volumosos, a silagem de milho tornou-se um dos mais utilizados no Brasil.

Normalmente, são implementadas estratégias conscientes e racionais de suplementação da forragem com alimentos concentrados, objetivando níveis mais elevados de produção animal. No entanto, estudos sobre o tipo de suplemento a ser fornecido devem ser realizados, principalmente no que diz respeito aos impactos de seu consumo sobre a cinética de trânsito da digesta ao longo do trato gastrointestinal, fator diretamente associado à proporção dos nutrientes dietéticos que serão digeridos,

absorvidos e utilizados pelo animal. Além disso, é importante a realização de experimentos para melhorar a precisão e a acurácia das técnicas utilizadas para avaliação dos alimentos.

Com a realização desse experimento, objetivou-se avaliar:

- frequências de infusão (uma, duas, quatro e seis vezes ao dia) e indicadores (Co-EDTA e YbCl₃) na coleta de digesta omasal;
- o perfil nictemeral da concentração de indicadores (FDNi, FDAi, Cr₂O₃, TiO₂ e LIPE[®]) na digesta omasal;
- a digestibilidade intestinal da fibra em detergente neutro, estimada por diferentes indicadores, e o efeito das amostras coletadas no período diurno ou diário sobre a digestibilidade parcial desse nutriente;
- indicadores e modelos matemáticos para estimação da cinética de passagem de partículas e fluidos;
- estimação da taxa de passagem pela técnica de esvaziamento ruminal e pelo ajustamento de modelo matemáticos não-linear;
- dois volumosos (cana-de-açúcar e silagem de milho) e dois níveis de concentrado (0 e 25%) na dieta de novilhas.

Literatura citada

- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; HUHTANEN, P. et al. Determination of reticule-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. *British Journal of Nutrition*, v.83, n.1, p.67-77, 2000.
- BEAUCHEMIN, K.A.; BUCHANAN-SMITH, J.G. Evaluation of markers, sampling sites and models for estimating rates of passage of silage or hay in dairy cows. *Animal Feed of Science and Technology*, v.27, p.59-75, 1989.
- BURNS, J.C.; POND, K.R.; FISHER, D.S. Measurement of forage intake. In: FAHEY JR., G.C. *Forage quality, evaluation, and utilization*. Winsconsin: American Society of Agronomy, p.494-532, 1994.
- COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. *Journal of Animal Science*, v.63, n.5, p.1476-1483, 1986.
- CORBETT, J.L.; GREENHALGH, J.F.D.; FLORENCE, E. Distribution of chromium sesquioxide and polyethyleneglycol in the reticulum-rumen of cattle. *British Journal of Nutrition*, v.13, n.3, p.337-345, 1959.
- DHANO, M.S.; SIDDONS, R.C.; FRANCE, J. et al. A multicompartimental model to describe marker excretion patterns in ruminant faeces. *British Journal of Nutrition*, v.53, n.3, p.663-671, 1985.
- DIAS, M.; DETMANN, E.; LEÃO, M.I. et al. Indicadores para estimativa da digestibilidade parcial em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.3,

- p.689-697, 2007.
- ELLIS, W.C.; MATIS, J.H.; HILL, T.M. et al. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forages. In: FAHEY Jr, G.C. *Forage quality, evaluation, and utilization*. Wisconsin: American Society of Agronomy, p.682-756, 1994.
- ELLIS, W.C.; MATIS, J.H.; LASCANO, C. Quantitating ruminal turnover. *Federation Proc.*, v.38, n.13, p.2702-2706, 1979.
- FONTES, C.A.A.; ALVES, G.R.; PAULINO, M.F. et al. Influência do nível de consumo sobre degradabilidade das partículas e características ligadas à cinética ruminal, em novilhos pastejando capim-Elefante. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.6s, p.2134-2144, 2001.
- GROVUM, W.L.; WILLIAMS, V.J. Rate of passage of digesta in sheep. 4. Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. *British Journal of Nutrition*, v.30, n.3, p.313-329, 1973.
- HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. *Journal of Dairy Science*, v.63, n.10, p.1707-1728, 1980.
- HOOVER, W.H.; STOKES, S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *Journal of Dairy Science*, v.74, n.10, p.3630-3644, 1991.
- HOPPER, J.T.; HOLLOWAY, J.W.; BUTTS JR., W.T. Animal variation in chromium sesquioxide excretion patterns of grazing cows. *Journal of Animal Science*, v.46, n.4, p.1098-1102, 1978.
- HUHTANEN, P.; ASIKAINEN, U.; ARKKILA, M. et al. Cell wall digestion and passage kinetics estimated by marker and in situ methods or by rumen evacuations in cattle fed hay 2 or 18 times daily. *Animal Feed Science and Technology*, v.133, p.206-227, 2007.
- HUHTANEN, P.; BROTZ, P.G.; SATTER, L.D. Omasal sampling technique for assessing fermentative digestion in the forestomach of dairy cows. *Journal of Animal Science*, v.75, n.5, p.1380-1392, 1997.
- LALLES, J.P.; DELVAL, E.; PONCET, C. Mean retention time of dietary residues within the gastrointestinal tract of the young ruminant: a comparison of non-compartmental (algebraic) and compartmental (modelling) estimation methods. *Animal Feed Science and Technology*, v.35, p.139-159, 1991.
- LANDAU, S.; XUE, B.; DVASH, L. et al., Polyethylene glycol, used to alleviate the negative effects of dietary tannins, can also serve as a marker of fecal output in goats. *Animal Feed Science and Technology*, v.48, n.1, p.37-43, 2003.
- LANGLANDS, J.P.; CORBETT, J.L.; McDONALD, I. et al. Estimation of the faeces output of grazing animals from the concentration of chromium sesquioxide in a sample of faeces. 1. Comparison of estimates from samples taken a fixed times of day with faeces outputs measured directly. *British Journal of Nutrition*, v.17, n.2, p.211-218, 1963.
- LANZETTA, V.A.S.; REZENDE, A.S.C.; SALIBA, E.O.S. et al. Validação do Lipe® como método para determinar a digestibilidade dos nutrientes em equínos. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.38, n.1, p.69-74, 2009.
- MERTENS, D.R. Rate and extent of digestion. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J.M.; FRANCE, J. *Quantitative of ruminant digestion and metabolism*. 2 ed. Oxfordshire: CABI International, p.13-47, 2005.

- MOORE, J.A.; POND, K.R.; POORE, M.H. et al. Influence of model and marker on digesta kinetic estimates for sheep. *Journal of Animal Science*, v.70, n.11, p.3528-3540, 1992.
- OWENS, F.N.; HANSON, C.F. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. *Journal of Dairy Science*, v.75, n.9, p.2605-2617, 1992.
- POND, K.R.; ELLIS, W.C.; MATIS, J.H. et al. Compartment models for estimating attributes of digesta flow in cattle. *British Journal of Nutrition*, v.60, n.3, p.571-595, 1988.
- QUIROZ, R.A.; POND, K.R.; TOLLEY, E.A. et al. Selection among nonlinear models for rate of passage studies in ruminants. *Journal of Animal Science*, v.66, n.11, p.2977-2986, 1988.
- SALIBA, E.O.S.; RODRIGEZ, N.M.; PILO-VELOSO, D. et al. Estudo comparativo da coleta total com a lignina purificada como indicador de digestibilidade para ovinos em experimento com feno de Tifton 85. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. *Anais...* Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. (CD-ROM).
- SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C. et al. Caracterização microscópica das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e de soja submetidos a fermentação ruminal e seus efeitos sobre a digestibilidade da fibra. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.51, n.1, p.89-96, 1999.
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal of Nutrition*, v.32, n.2, p.199-208, 1974.
- SMITH, A.M., REID, J.T. Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the purpose of determining the intake of a pasture herbage by grazing cows. *Journal of Dairy Science*, v.38, n.5, p.515-524, 1955.
- SUSMEL, P.; STEFANON, B.; SPANGHERO, M. et al. Ability of mathematical models to predict faecal output with a pulse dose of indigestible marker. *British Journal of Nutrition*, v.75, n.4, p.521-532, 1996.
- TITGEMEYER, E.C.; ARMENDARIZ, C.K.; BINDEL, D.J. et al. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *Journal of Animal Science*, v.79, p.1059-1063, 2001.
- ÚDEN, P.; ROUNSAVILLE, T.R.; WIGGANS, G.R. et al. The measurement of liquid and solid digesta retention in ruminants, equines and rabbits given timothy (*Phleum pratense*) hay. *British Journal of Nutrition*, v.48, p.329-339, 1982.
- VAN SOEST, P.J. *Nutrition ecology of the ruminant*. 2 ed. London: Constock Publishing Associates, USA, 1994. 476p.

FREQUÊNCIA DE INFUSÃO E PERFIL NICTEMERAL DE INDICADORES NA DIGESTA OMASAL DE BOVINOS

Resumo: Objetivou-se avaliar diferentes frequências de infusão de Co-EDTA e cloreto de itérbio (uma, duas, quatro e seis vezes ao dia) na coleta de digesta omasal. Utilizaram-se quatro novilhas Nelore, fistuladas no rúmen, confinadas, alimentadas com feno de capim-Tifton (*Cynodon* spp.) *ad libitum* e 1 kg de concentrado (16% PB) por 32 dias, com quatro períodos de quatro dias cada. A adaptação à dieta experimental foi de sete dias e intervalo de três dias entre os períodos. Os quatro tratamentos avaliados compreenderam quatro tempos de infusão do Co-EDTA e do YbCl₃ em diferentes fases da digesta omasal: uma (T1v), duas (T2v), quatro (T4v) e seis (T6v) vezes ao dia em intervalos iguais. Determinou-se o perfil nictemeral pelo modelo em série de Fourier. A concentração média do Co e do Yb não diferiu ($P>0,05$) entre os diferentes tempos de infusão e fases da digesta omasal, apresentando índice de variação inferior a 10%. O índice de variação e a amplitude de oscilação para ambos os indicadores foram menores para o T4v. A infusão dos indicadores Co-EDTA e YbCl₃ pode ser realizada quatro vezes ao dia, em intervalo de seis horas, possibilitando a amostragem de digesta omasal com intervalo de quatro horas. Ambos indicadores podem ser empregados para estimar o fluxo de digesta omasal da fase líquida e de pequenas partículas, entretanto, mais estudo devem ser realizados.

Palavras-chave: cloreto de itérbio, Co-EDTA, omaso, série de Fourier

Frequency of infusion and nictimeral profile of markers in cattle omasal digesta

Abstract: The objective was to evaluate different frequencies of infusion of Co-EDTA and ytterbium chloride (one, two, four and six times a day) in the omasal digesta collection. Four Nelore heifers, fitted with rumen cannula, confined and fed *ad libitum* with Tifton grass hay (*Cynodon* spp.) plus 1 kg of concentrate (16% CP) were used for 32 days, with four periods of four days each. The adaptation to the experimental diet was of seven days and three days of interval between periods. The four treatments evaluated comprised four Co-EDTA and YbCl₃ infusion times in different phases of omasal digesta: one (T1v), two (T2v), four (T4v) and six (T6v) times a day in equal intervals. The nictimeral profile was determined by the Fourier series model. The average concentration of Co and Yb did not differ ($P>0.05$) among the different infusion times and omasal digesta phases, presenting variation index inferior to 10%. The variation index and the oscillation width for both markers were smaller for T4v. The infusion of the markers Co-EDTA and YbCl₃ can be accomplished four times a day, in six hours interval, making possible the omasal digesta sampling with four hours interval. Both markers can be employed to estimate the omasal digesta flow of the liquid phase and of small particles, however, more study shall be accomplished.

Keywords: Co-EDTA, Fourier series, omasum, ytterbium chloride

Introdução

As fistulas permitem o acesso ao lúmen do trato digestivo para coleta de digesta e para infusão de nutrientes e indicadores para o monitoramento dos aspectos químicos (hidrólise e síntese) e físicos (fluxo) da digestão. No entanto, busca-se reduzir o número de fistulas em um mesmo animal, para permitir maior conforto ao mesmo e aumentar sua permanência em experimentos.

Como alternativa à realização de fistulações no duodeno ou no abomaso, a coleta de digesta omasal apresenta a vantagem de ser menos invasiva, por implicar na utilização e necessitar apenas da fistula ruminal. As fistulações apenas no rúmen tem a vantagem de ser menos invasiva, normalmente não apresentar complicação pós-cirúrgica, com rápida recuperação e fácil manutenção dos animais. Espera-se, assim, permanência por mais tempo dos animais em experimentação do que os fistulados no abomaso ou duodeno, uma vez que estas últimas, normalmente, apresentam complicações pós-cirúrgicas (rejeição de cânulas) e os animais terem seu desempenho prejudicado. Além disso, secreções endógenas do abomaso podem ocasionar erros na estimativa da digestão dos nutrientes (Huhtanen et al., 1997).

Contudo, no caso da técnica de coleta de digesta omasal, admite-se que as amostras não são representativas da digesta que está deixando o rúmen e passando para o omaso, sendo dividida em três fases (líquida; pequenas; médias e grandes partículas) o que pode demandar a utilização de múltiplos indicadores (um para cada fase) para reconstituir matematicamente a digesta e, consequentemente, diminuir o erro da técnica (Huhtanen et al., 1997; Ahvenjärvi et al., 2000). Entretanto, a digesta omasal pode ser dividida em duas fases, quando não se separa a fase líquida e de pequenas partículas (fase líquida e de pequenas partículas e a fase de grandes partículas), possibilitando a utilização de apenas dois indicadores (Dias et al., 2007).

Para a coleta de digesta omasal Huhtanen et al. (1997) e Ahvenjärvi et al. (2000) recomendaram a infusão contínua do indicador complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) e do cloreto de itérbio (YbCl_3), via cânula ruminal, com a utilização de bombas peristálticas.

Essa técnica é utilizada em estudos de digestão nos Estados Unidos e Europa, mas no Brasil ainda há poucos experimentos. Isso se deve, provavelmente à sugestão de utilização de bombas peristálticas para a infusão dos indicadores, que tornar o procedimento oneroso, limitando sua utilização. É interessante a substituição do emprego dessas bombas pela infusão dos indicadores em intervalos de tempos pré-

definidos.

A análise dos perfis nictemerais dos indicadores pode esclarecer como os horários de coleta afetam as estimativas dos fluxos, possibilitando comparações entre indicadores e auxiliando na definição dos melhores momentos de amostragem, melhorando a precisão das estimativas.

Assim, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes frequências de infusão (uma, duas, quatro e seis vezes ao dia) e indicadores (Co-EDTA e YbCl₃) sobre as estimativas de fluxo de digesta omasal.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, e as análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da mesma instituição.

Foram utilizadas quatro novilhas da raça Nelore, fistuladas no rúmen, com peso vivo médio inicial de 316,8±2,2 kg e idade de 18 meses, mantidas em baias individuais de alvenaria de 3 m², cobertas, com bebedouros automáticos, comedouros e pisos recobertos com borracha.

O arraçoamento foi realizado duas vezes ao dia (8h00 e 16h00) com dieta constituída de feno de capim-Tifton (*Cynodon* spp.) fornecido *ad libitum* e 1 kg de concentrado (Tabela 1). O concentrado foi composto, em base de MS, de 23,09% de farelo de soja; 74,57% de fubá de milho; 1,01% de sal; 0,77% de fosfato bicálcio; 0,12 de sulfato de amônia; 0,36% de cloreto de potássio e 0,07% de premix mineral. Este último foi composto de 82,24% de sulfato de zinco; 16,45% de sulfato de cobre; 0,99% de sulfato de cobalto e 0,33% de selenito de sódio.

Os tratamentos avaliados foram quatro frequências de infusão do Co-EDTA e do YbCl₃ na digesta omasal: uma (T1v), duas (T2v), quatro (T4v) e seis (T6v) vezes ao dia.

Devido ao oferecimento da mesma dieta experimental aos animais durante toda a realização do experimento, foi realizada adaptação inicial à dieta por sete dias. Após esse período, foi realizado o experimento propriamente dito com delineamento experimental em quadrado latino 4x4, compreendendo as quatro frequências de infusão dos indicadores e quatro períodos de coleta de digesta omasal de quatro dias (16 dias). Entre os períodos de coleta houve intervalo de três dias (9 dias), totalizando 32 dias de

duração do experimento.

Tabela 1 Composição química dos alimentos e do concentrado (% na MS)

Variável	Feno de capim-Tifton	Fubá de milho	Farelo de soja	Concentrado
MS	87,28	88,26	88,81	88,62
MO	93,59	98,28	93,59	94,98
PB	12,58	7,50	45,03	15,98
EE	0,99	4,13	1,30	3,38
FDNcp	69,80	11,61	10,27	11,04
CNF ¹	10,21	75,04	36,99	64,58
FDA	49,89	1,92	8,81	3,46

¹Carboidratos não-fibrosos: $100 - (\%PB + \%EE + \%MM + \%FDNcp)$.

O Co-EDTA foi produzido conforme procedimentos de Úden et al. (1980) e o YbCl₃ conforme Siddons et al. (1985), os quais foram diluídos em água para infusão, via fistula, em diferentes locais do rúmen com auxílio de uma seringa, começando três dias antes do início do primeiro período experimental até o término do experimento conforme procedimentos descritos por Dias et al. (2007). Os horários de infusão foram: 12h00 (T1v); 8h00 e 20h00 (T2v); 0h00; 6h00; 12h00 e 18h00 (T4v) e 0h00; 4h00; 8h00; 12h00; 16h00 e 20h00 (T6v). As doses diárias infundidas foram divididas em frações iguais, respeitando a dosagem total de 16 g de Co-EDTA (1.783 mg de Co) e 70 mL de solução de YbCl₃ (216 mg de Yb): 120 mL (T1v); 60 mL (T2v); 30 mL (T4v) e 20 mL (T6v).

A coleta de digesta omasal foi realizada da seguinte forma: no primeiro dia de coleta, antes do arração matinal (0 hora), oito e 16 horas após o mesmo; no segundo dia, às duas, 10 e 18 horas após o arração; no terceiro dia às quatro, 12 e 20 horas após e no último dia, às seis, 14 e 22 horas, totalizando 24 horas de coleta de digesta com intervalo de duas horas.

Na coleta de amostras de digesta omasal foi utilizado um conjunto de dispositivos que consistiram de um kitassato, um tubo coletor e uma bomba à vácuo, conforme técnica descrita por Leão (2002), totalizando de cerca de 750 mL.

As amostras de digesta omasal foram congeladas (-20°C) logo após a coleta até serem processadas. Após o descongelamento em temperatura ambiente, foram filtradas através de uma camada de tecido de algodão, separando a amostra em duas fases: o líquido filtrado constituiu a fase líquida e pequenas partículas (FLP) e o resíduo retido, a fase de grandes partículas (FG) da digesta. A separação da FLP na fase líquida (FL) e na fase de pequenas partículas (FP) foi realizada pela a centrifugação de parte da FLP a 1.6000 rpm por 5 minutos. Após a centrifugação, o pélete correspondeu à FP e o

líquido, a FL.

As amostras das diferentes fases da digesta omasal foram submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C, durante 96 horas, e moídas em moinho de bola, sendo armazenadas em frascos para posteriores análises. Todas as amostras coletadas foram analisadas quanto ao teor de matéria seca (MS; AOAC, 1990) e de cobalto (Co) e itérbio (Yb) em espectrofotômetro de absorção atômica, conforme método descrito por Savastano (1993), utilizando digestão nitroperclórica.

O perfil nictemeral foi avaliado segundo o modelo em série de Fourier descrito por Hopper et al. (1978):

$$Y_t = A_0 + A_1 \sin(ct) + A_2 \cos(ct) + A_3 \sin(2ct) + A_4 \cos(2ct);$$

em que Y_t = concentração omasal predita do indicador (%) no tempo t ; A_0 = concentração média do indicador (%); c = período fundamental ou a duração do ciclo de oscilação na digesta (rad/h); t = momento de avaliação (h); e A_1 , A_2 , A_3 , A_4 = parâmetros sem interpretação biológica direta.

Os ajustes do modelo em série de Fourier foram realizados utilizando o procedimento iterativo de Gauss-Newton.

Os dados utilizados para o ajustamento do modelo, foram previamente corrigidos para o efeito do animal i e período j . Para isso, obteve-se a média de cada animal e período para a concentração de cada indicador em cada fase da digesta omasal. Além da média geral de cada indicador em cada fase pelo método dos quadrados mínimos. A partir dessas médias, o efeito foi calculado pela diferença da média geral do indicador (Co ou Yb) na fase da digesta omasal (FL, FP, FLP ou FG) pela média da variável (animal i ou período j). O ajuste foi calculado pela diferença entre o valor observado (ij) menos o efeito do animal i e período j .

A comparação entre os parâmetros dos modelos foi realizada por variável dummy (Schabenberger, s/d).

Todas as análises foram realizadas a 5% de significância no programa SAS (1999).

Resultados e Discussão

As equações estimadas dos perfis nictemerais para o Co-EDTA e o ClYb₃ nas diferentes fases da digesta omasal estão no Apêndice (Tabela 1A e 2A, respectivamente) e os gráficos referentes aos perfis nictemerais na Figura 1.

A concentração média do Co e do Yb não diferiu ($P>0,05$) entre as diferentes frequências de infusão nas mesmas fases da digesta omasal (Tabela 2). Esse resultado foi devido a utilização de mesma dose de indicador e a frequência de amostragem ter sido alta (a cada duas horas). Observa-se que as maiores concentrações foram observadas na FL e na FLP para o Co, enquanto que para o Yb, na FP e na FLP. As menores concentrações foram observadas na FG para o Co e na FL para o Yb.

As diferenças na concentração dos indicadores nas diferentes fases são decorrentes das características físico-químicas dos indicadores, o Co-EDTA é solubilizado no líquido ruminal e o Yb tem afinidade pela parede celular das plantas (Hartnell & Satter, 1979; Ellis et al., 2002). Os indicadores foram encontrados nas diferentes fases da digesta, porque a fração líquida é formada pela água livre, na qual são encontradas partículas sólidas de pequeno tamanho, material solúvel e microrganismos e a fração sólida é composta basicamente por partículas de alimento de diferentes formas e tamanhos e substâncias insolúveis, que permanecem em suspensão na fase líquida. Por isso, a digesta omasal é separada a digesta em três fases e empregam-se esses indicadores (Co-EDTA para FL e YbCl_3 para FP) e os consideram como não-ideais, sendo analisados em todas as fases. Ahvenjärvi et al. (2003) também observaram as maiores concentrações de Co na FL e de Yb na FP.

Devido à afinidade do Co-EDTA pela fase líquida da digesta omasal, este indicador pode ser utilizado na fração líquida da digesta do trato gastrintestinal. Já o Yb, pela afinidade as pequenas partículas, poderia ser utilizado como indicador para avaliar o fluxo ou a taxa de passagem de concentrados, devido a granulometria das partículas do concentrado.

Ao comparar a amplitude de oscilação da concentração os indicadores pela observação dos perfis nictemerais (Figura 1), observa-se, de modo geral, maior amplitude para o T1v e T2v, em ambos indicadores e em todas as fases da digesta. O que pode ser verificado, também, pelos valores entre as frequências de infusão dos indicadores para a amplitude de oscilação da concentração média (A_0) dos indicadores (Tabela 2). A maior amplitude de oscilação observada no T1v e T2v pode ser devido à quantidade de vezes de infusão dos indicadores ter resultado em altas concentrações após a infusão, mas insuficientes para manter as concentrações elevadas, resultando em concentrações baixas. Já os menores valores foram observados para o T4v, variando de 29,40 a 29,84% para o Co, excetuando para a FP que foi de 61,41%, que representou o maior valor. O Yb variou de 9,76 a 37,42%, apresentando o menor valor na FP.

Tabela 2 Concentração omasal média (A_0 , média±erro-padrão), amplitude de oscilação e índice de variação (IV) do cobalto (Co) e do itérbio (Yb) nas diferentes fases da digesta omasal e frequência de infusão dos indicadores

Fase da digesta omasal ²	Frequência de infusão ¹			
	T1v	T2v	T4v	T6v
Concentração omasal média (A_0 , %) ³				
Cobalto				
FL	0,1817±0,0157a	0,1853±0,0112a	0,1820±0,0089a	0,1761±0,0068a
FP	0,0614±0,0036a	0,0623±0,0038a	0,0596±0,0024a	0,0698±0,0028a
FLP	0,1441±0,0113a	0,1355±0,0116a	0,1404±0,0049a	0,1316±0,0062a
FG	0,0162±0,0010a	0,0153±0,0008a	0,0156±0,0008a	0,0154±0,0006a
Itérbio				
FL	0,0930±0,0086a	0,0917±0,0060a	0,0914±0,0052a	0,0895±0,0051a
FP	0,1954±0,0111a	0,1957±0,0096a	0,1926±0,0040a	0,1893±0,0077a
FLP	0,1758±0,0112a	0,1712±0,0106a	0,1697±0,0054a	0,1707±0,0068a
FG	0,1313±0,0112a	0,0948±0,0070a	0,1293±0,0031a	0,1255±0,0080a
Amplitude de oscilação (%) ⁴				
Cobalto				
FL	48,60	46,73	29,40	38,78
FP	63,84	50,40	61,41	34,67
FLP	40,04	84,58	29,84	41,87
FG	44,44	75,82	29,49	35,71
Itérbio				
FL	51,29	58,01	37,42	43,35
FP	31,58	38,83	9,76	35,39
FLP	39,53	50,01	24,45	40,66
FG	53,85	47,05	17,32	49,80
Índice de variação de A_0 (%) ⁵				
Cobalto				
FL	8,64	6,04	4,89	3,86
FP	5,86	6,10	4,03	4,01
FLP	7,84	8,56	3,49	4,71
FG	6,17	5,23	5,13	3,90
Itérbio				
FL	9,25	6,54	5,69	5,70
FP	5,68	4,90	2,08	4,07
FLP	6,37	6,19	3,18	3,98
FG	8,53	7,38	2,40	6,37

¹T1v = infusão do indicador uma vez/dia; T2v = infusão do indicador duas vez/dia; T4v = infusão do indicador quatro vez/dia; T6v = infusão do indicador seis vez/dia. ²FL = fase líquida; FP = fase de pequenas partículas; FLP = fase líquida e de pequenas partículas; FG = fase de grandes partículas.

³Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si ($P>0,05$). ⁴Amplitude de oscilação = ((máxima-mínima)/ A_0)x100. ⁵Índice de variação de A_0 = (erro-padrão/ A_0)x100.

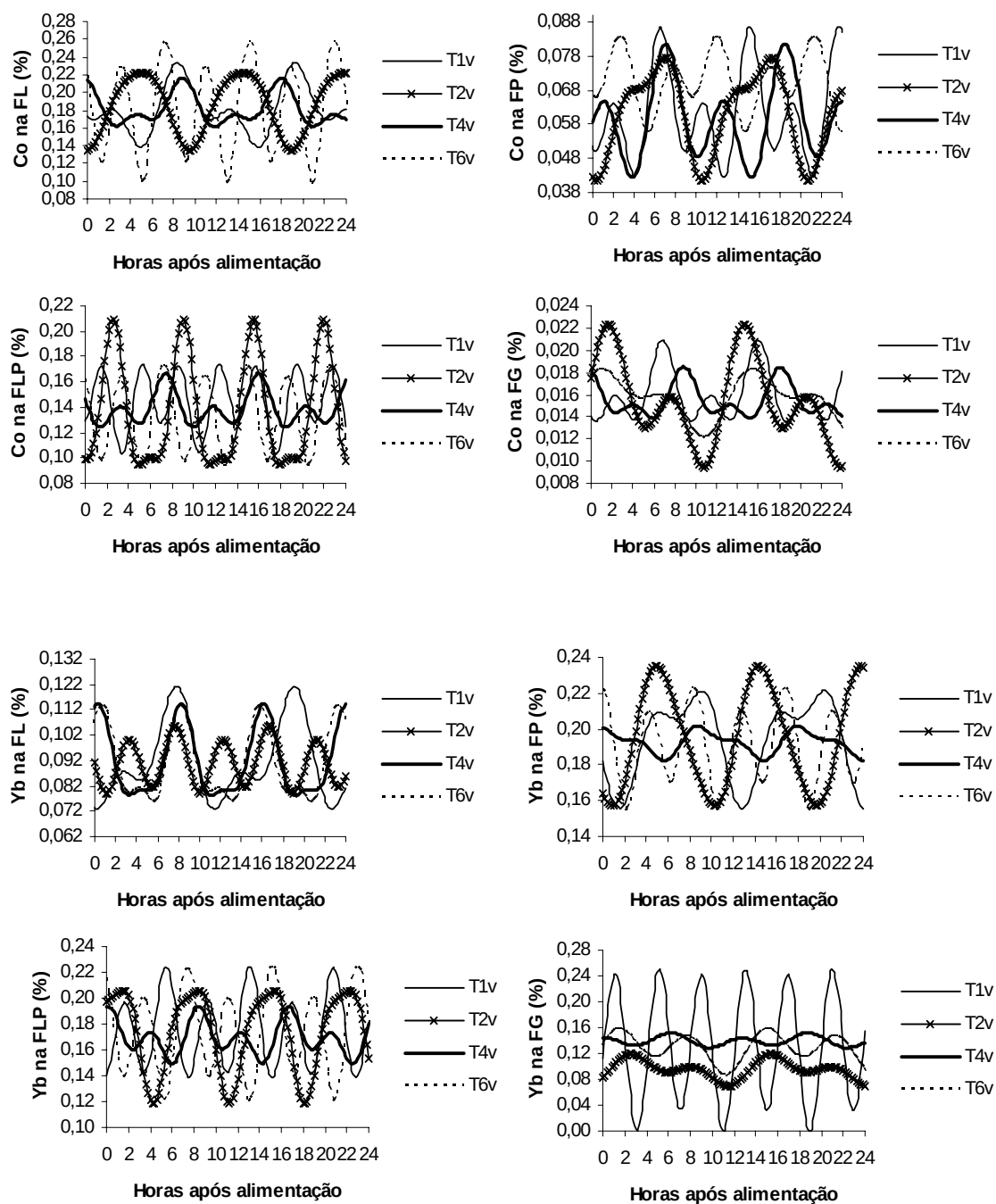


Figura 1 Perfis nictemerai dos indicadores (Co-EDTA e YbCl₃) em função dos diferentes tratamentos.

As maiores amplitudes de oscilação para T6v que T4v, tanto para o Co (34,67 a 41,87%) e o Yb (35,39 a 49,80%) podem ter sido decorrentes da maior manipulação do ambiente ruminal, 9 e 7 vezes ao dia, respectivamente. Talvez, o ganho da estabilidade do indicador, pela maior frequência de infusão do indicador, não tenha sido suficiente para compensar a maior manipulação ruminal, como no caso do T4v.

Analisando o índice de variação (IV), estes foram inferiores a 10% e os maiores valores também foram observados para T1v e T2v, para todos os indicadores em todas as fases da digesta omasal (Tabela 2). A infusão do Co-EDTA seis vezes ao dia apresentou melhor precisão na FL e na FG, pior na FLP e semelhante na FP quando infundido quatro vezes. Enquanto que para o YbCl₃, o T4v foi semelhante na FL e menor na FP, na FLP e na FG. Desta forma, ao infundir quatro vezes ao dia os indicadores, aumenta-se a probabilidade de amostrar digesta em diferentes tempos com concentrações semelhantes dos indicadores. Além disso, espera-se que a concentração de um indicador seja constante ao longo do dia ou siga um padrão de excreção definido (Brisson et al., 1957). Bons resultados com a utilização desses indicadores foram verificados por Brandyberry et al. (1991) ao observarem que a recuperação fecal para o Co-EDTA e YbCl₃ não diferiu de 100%.

O melhor resultado para o T4v pode ser confirmado por aqueles obtidos por Dias et al. (2007) ao utilizarem a infusão do Co-EDTA quatro vezes ao dia para testar indicadores e sistema único e duplo de indicadores na coleta de digesta omasal e estimarem adequadamente o fluxo omasal, ao considerarem a pressuposição de digestibilidade nula para a FDN corrigida para cinzas e proteínas no intestino delgado.

Embora alguns autores (Huhtanen et al., 1997; Ahvenjärvi et al., 2000) recomendem a divisão da digesta omasal em três fases para a estimação do fluxo omasal, uma alternativa é a divisão em duas fases, utilizando a FG e a FLP. Assim, a comparação da utilização do Co-EDTA e do YbCl₃ na FLP, é interessante. Quando esses indicadores são infundidos quatro vezes ao dia, a amplitude de oscilação (Co = 29,84 e Yb = 24,45%) e o IV (Co = 3,49 e Yb = 3,18%) foram semelhantes, podendo sugerir que ambos indicadores podem ser utilizados na FLP. Entretanto, por ser uma técnica nova, mais estudos devem ser realizados a fim de melhorar a sua acurácia e precisão. Todavia, Dias et al. (2007), ao dividir apenas a digesta em duas fases (FG e FLP), utilizando apenas o Co-EDTA para a FLP e outros indicadores para a FG, estimaram adequadamente o fluxo omasal. Já Ahvenjärvi et al. (2003) ao comparar ambos indicadores, verificaram maior precisão para o Co-EDTA.

Os períodos fundamentais dos ciclos de oscilação (*c*), de forma geral, diferiram

($P < 0,05$) entre as diferentes frequências de infusão dos indicadores (Tabela 3). Porém, a estimativa da duração do período fundamental foi baixa e variou pouco para o mesmo indicador na mesma fase da digesta.

Considerando-se como base o tratamento o T4v, devido à menor amplitude de oscilação e ao baixo índice de variação para a concentração média dos indicadores (Tabelas 2 e 3; Figura 1), e que os valores para c foram diferentes ($P > 0,05$) de zero, comprovando perfil cíclico, e a duração do período fundamental foi próximo a quatro horas, recomenda-se amostragem a cada quatro horas da digesta omasal.

Tabela 3 Período fundamental do ciclo de oscilação (c) e período fundamental do cobalto (Co) e do itérbio (Yb) nas diferentes fases da digesta omasal e tempo de infusão dos indicadores

Fase da digesta omasal ²	Frequência de infusão ¹			
	T1v	T2v	T4v	T6v
Período fundamental do ciclo de oscilação (c , rad/h) ³				
Cobalto				
FL	0,5781±0,0672a	0,6637±0,0509a	0,6886±0,0673a	0,7975±0,0720a
FP	0,7321±0,0477a	0,6166±0,0385c	0,5469±0,0185d	0,6724±0,0283b
FLP	0,8847±0,0415b	0,9728±0,0845a	0,7328±0,0424d	0,8205±0,1765c
FG	0,6884±0,0541a	0,4811±0,0189a	0,6782±0,0706a	0,4356±0,0459a
Itérbio				
FL	0,5590±0,0727d	0,7013±0,0423c	0,7931±0,0625b	0,8328±0,0486a
FP	0,5572±0,0446c	0,6668±0,0457b	0,6863±0,1030ab	0,7443±0,0571a
FLP	0,8199±0,0874c	0,9065±0,0761a	0,7616±0,1207d	0,8068±0,0631b
FG	0,7937±0,1300a	0,4913±0,0464b	0,4964±0,0426b	0,4632±0,0302b
Período fundamental (h) ⁴				
Cobalto				
FL	5,43	4,73	4,56	3,94
FP	4,29	5,09	5,74	4,67
FLP	3,55	3,23	4,29	3,83
FG	4,56	6,53	4,63	7,21
Itérbio				
FL	5,62	4,48	3,96	3,77
FP	5,64	4,71	4,58	4,22
FLP	3,83	3,47	4,12	3,89
FG	3,96	6,39	6,33	6,78

¹T1v = infusão do indicador uma vez/dia; T2v = infusão do indicador duas vez/dia; T4v = infusão do indicador quatro vez/dia; T6v = infusão do indicador seis vez/dia. ²FL = fase líquida; FP = fase de pequenas partículas; FLP = fase líquida e de pequenas partículas; FG = fase de grandes partículas.

³Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si ($P > 0,05$).

Comparando os indicadores pelo período fundamental (c) na FLP, o maior ($P < 0,05$) valor foi observado para o T2v (Co = 0,9728; Yb = 0,9065 rad/h) e o menor ($P < 0,05$) para o T4v (Co = 0,7328; Yb = 0,7616 rad/h). Esses valores corresponderam a 3,23 e 4,29 horas para Co e 3,47 e 4,12 horas, para o Yb, respectivamente para T2v e

T4v. Como foi verificado para a amplitude de oscilação e o índice de variação, os perfis nictemerais apresentaram valores matematicamente semelhantes entre os indicadores quando infundidos quatro vezes ao dia, sugerindo a possibilidade da utilização de ambos indicadores para a estimação do fluxo da FLP omasal.

Conclusões

A infusão dos indicadores Co-EDTA e YbCl₃ pode ser realizada quatro vezes ao dia em intervalo de tempo de seis horas.

Sugere-se a utilização de Co-EDTA como indicador da fase líquida da digesta e o YbCl₃ para a fase de pequenas partículas. Todavia, sugere-se a utilização de qualquer um dos indicadores para estimar conjuntamente o fluxo da fase líquida e de pequenas partículas.

A amostragem da digesta omasal pode ser realizada a cada quatro horas.

Literatura citada

- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; HUHTANEN, P. et al. Determination of reticule-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. *British Journal of Nutrition*, v.83, n.1, p.67-77, 2000.
- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; SHINGFIELD, K.J. et al. Determination of digesta flow entering the omasal canal of dairy cows using different marker systems. *British Journal of Nutrition*, v.90, n.1, p.41-52, 2003.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. 1990. *Official methods of analysis*. 15. ed., v.1. Virginia: Arlington. 1117p.
- BRANDYBERRY, S.D.; COCHRAN, R.C.; VANZANT, E.S. et al. Technical note: effectiveness of different methods of continuous marker administration for estimating fecal output. *Journal of Animal Science*, v.69, p.4611-4615, 1991.
- BRISSON, G.J.; PIGDES, W.J.; SYLVESTRE, P.E. Effect of frequency of administration of chromic oxide on its fecal excretion pattern by grazing cattle. *Canadian Journal Animal Science*, v.37, n.1, p.90-94, 1957.
- DIAS, M.; DETMANN, E.; LEÃO, M.I. et al. Indicadores para estimativa da digestibilidade parcial em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.3, p.689-697, 2007.
- ELLIS, W.C.; WYLIE, M.J.; MATIS J.H. Validity of specifically applied rare earth elements and compartmental models for estimating flux of undigested plant tissue residues through the gastrointestinal tract of ruminants. *Journal of Animal Science*, v.80, n.8, p.2753-2758, 2002.
- HARTNELL, G.F.; SATTER, L.D. Determination of rumen fill, retention time and ruminal turnover rates of ingesta at different stages of lactation in dairy cows. *Journal of Animal Science*, v.48, n.2, 1979.

- HUHTANEN, P.; BROTZ, P.G.; SATTER, L.D. Omasal sampling technique for assessing fermentative digestion in the forestomach of dairy cows. *Journal of Animal Science*, v.75, n.5, p.1380-1392, 1997.
- LEÃO, M.I. *Metodologias de coletas de digestas omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: consumo, digestibilidade e produção microbiana*. 2002. Belo Horizonte, MG:UFMG-Escola de Veterinária, 57p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2002.
- SAS. *SAS/STAT User's Guide (Release 8.0)*. SAS Inst., Inc., Cary, NC. 1999.
- SCHABENBERGER, O. *Nonlinear regression in SAS*. UCLA: Academic Thechnology Services, Statistical Consulting Group. <<http://www.ats.ucla.edu/stat/sas/library/SASNLin_os.htm>> (Acessado 29 de novembro de 2007)
- SIDDONS, R.C.; PARADINE, J.; BEEVER, D.E. et al. 1985. Ytterbium acetate as a particulate-phase digesta-flow marker. *British Journal of Nutrition*, 54(2):509-520.
- ÚDEN, P.; COLUCCI, P.E.; VAN SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *Journal of Science and Food and Agriculture*, v.31, n.7, p.625-632, 1980.

PERFIL NICTEMERAL DE INDICADORES DA FASE SÓLIDA DA DIGESTA OMASAL DE BOVINOS

Resumo: Objetivou-se avaliar o perfil nictemeral da concentração de indicadores (fibra em detergente neutro indigestível-FDNI, fibra em detergente ácido indigestível-FDAi, óxido crômico-Cr₂O₃, dióxido de titânio-TiO₂ e lignina purificada e enriquecida-LIPE[®]) na digesta omasal. Utilizaram-se quatro novilhas Nelore, fistuladas no rúmen, confinadas, alimentadas com feno de capim-Tifton (*Cynodon* spp.) *ad libitum* e 1 kg de concentrado (16% PB) por 32 dias, com quatro períodos de quatro dias cada. A adaptação à dieta experimental foi de sete dias e intervalo de três dias entre os períodos. Os indicadores foram fornecidos após quatro horas do arraçamento matinal (10 g de Cr₂O₃ e de TiO₂, uma cápsula de 0,5 g de LIPE[®]) e os tempos de coleta de digesta omasal compreenderam um período de 24 horas e intervalo de duas horas. Determinou-se o perfil nictemeral pelo modelo em série de Fourier. Os índices de variação (IV) foram inferiores a 10%, com menores valores para a FDNI (0,66-2,07%), FDAi (1,16-4,46%) e LIPE[®] (0,64-2,96%) e maiores para Cr₂O₃ (2,52-9,64%) e TiO₂ (2,75-3,49%). Comparando a dimensão fundamental do ciclo excretório (c) nas fases da digesta omasal, excetuando a FL, os melhores (P<0,05) valores foram observados para a FDAi, Cr₂O₃ e LIPE[®], correspondendo a períodos fundamentais menores que 4,5 horas. As fibras indigestíveis (FDNI, FDAi) e o LIPE[®] apresentam perfis nictemerai na digesta omasal mais estáveis que o Cr₂O₃ e o TiO₂, possibilitando a amostragem de digesta omasal com intervalo de quatro horas.

Palavras-chave: dióxido de titânio, fibras indigestíveis, LIPE[®], omaso, óxido crômico

Nictimeral profile of solid phase markers in omasal digesta of cattle

Abstract: The objective was to evaluate the nictimeral profile of the concentration of markers (indigestible neutral detergent fiber-iNDF, indigestible acid detergent fiber-iADF, chromium oxide-Cr₂O₃, titanium dioxide-TiO₂ and purified lignin-LIPE[™]) in the omasal digesta. Four rumen fistulated Nellore heifers, confined and fed *ad libitum* with Tifton grass (*Cynodon* spp.) hay plus 1 kg of concentrate (16% CP) were used for 32 days, with four periods of four days each. The adaptation to the experimental diet was of seven days and three days of interval between periods. The markers were supplied four hours after the morning feeding (10 g of Cr₂O₃ and TiO₂, one capsule of 0.5 g of LIPE[™]) and the times of omasal digesta collection comprised a period of 24 hours and interval of two hours. The nictimeral profile was determined by the Fourier series model. The variation indexes (VI) were inferior to 10% with smaller values for iNDF (0.66-2.07%), iADF (1.16-4.46%) and LIPE[™] (0.64-2.96%) and greater for Cr₂O₃ (2.52-9.64%) and TiO₂ (2.75-3.49%). Comparing the fundamental dimension of the excretory cycle (c) in the omasal digesta phases, excepting the LP, the best values (P<0.05) were observed for FDAi, Cr₂O₃ and LIPE[™], corresponding to fundamental periods smaller than 4.5 hours. The indigestible fibers (iNDF, iADF) and LIPE[™] presented more stable nictimeral profiles in omasal digesta than Cr₂O₃ and TiO₂, making possible the omasal digesta sampling with interval of four hours.

Keywords: chromium oxide, indigestible fibers, LIPE[™], omasum, titanium dioxide

Introdução

As fistulações são importantes para estudos de digestão e de parâmetros ruminais, sendo necessário a fistulação de animais em diferentes segmentos do trato digestivo. Em alguns casos são relatados, em animais cirurgicamente preparados (fistula abomasal, duodenal, ileal), problemas de redução do apetite e outros distúrbios (Wenham e Wyburn, 1980), devido à difícil recuperação pós-cirúrgica. Desta forma, a amostragem de digesta com redução do número de fistulações é desejável. Uma das maneiras de se obter estas amostras é a coleta de digesta omasal, via fístula ruminal, pela sucção da digesta com o uso de bomba a vácuo.

A amostragem no omaso apresenta vantagens quando comparada àquela realizada no abomaso ou no duodeno por ser menos invasiva e necessitar apenas da fístula ruminal. Além disso, secreções endógenas do abomaso podem ocasionar erros nas estimativas da digestão dos nutrientes. Outro fator a justificar a coleta de digesta omasal é a facilidade de manutenção da cânula ruminal, o que possibilita a utilização de mais animais nos experimentos e por períodos mais longos (Huhtanen et al., 1997).

De acordo com France & Siddons (1986), a digesta apresenta-se em três fases: líquida (líquido); de pequenas partículas e sólida (médias e grandes partículas). No entanto, pode ser dividida em duas fases: fase líquida (líquido e pequenas partículas) e sólida (média e grande partículas) possibilitando a utilização de dois indicadores ou mesmo em única fase, ao invés de três (Dias et al., 2007; 2008a).

A técnica de amostragem de digesta omasal foi descrita por Huhtanen et al. (1997) e Ahverjärvi et al. (2000). Contudo, de acordo com esses autores, as amostras de digesta omasal não são representativas da digesta que está deixando o rúmen e passando para o omaso, sendo dividida em três fases, o que requer a utilização de indicadores, considerados não-ideais, para reconstituir matematicamente a digesta e, conseqüentemente, diminuir o erro da técnica. Recomendaram a utilização na fase líquida do complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA), na fase de pequenas partículas o cloreto de itérbio (YbCl_3) e na fase de grandes partículas a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi). Em trabalho recente (Dias et al, 2007) foram comparados outros indicadores e a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) também apresentou bons resultados.

Para a fase de grandes partículas, além do emprego das fibras indigestíveis (FDAi e FDNi), poderiam ser utilizados outros indicadores, normalmente aplicados na avaliação da excreção fecal e do fluxo em outros segmentos (abomasal, duodenal, ileal).

O óxido crômico (Cr_2O_3) é bastante utilizado e, atualmente, em alguns trabalhos estão comparando a lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]) e o dióxido de titânio (TiO_2 ; Titgemeyer et al., 2001) como alternativa a esse indicador externo.

Ao analisar os perfis nictemerais dos indicadores, pode-se entender melhor como os horários de coleta afetam as estimativas dos fluxos, possibilitando comparações entre indicadores e auxiliando na definição dos melhores momentos de amostragem, melhorando a precisão dos indicadores.

Embora a utilização de indicadores para estimação da digestibilidade, tem sido muito discutida, até o momento, não foi encontrada substância com características de indicador perfeito ou definido um componente químico que se assemelhe às características desejadas. Por esta razão, a procura de melhores indicadores constitui um dos assuntos de grande interesse na pesquisa de técnicas que facilitem estudos de nutrição animal.

Desta forma, objetivou-se avaliar o perfil nictemeral da concentração de indicadores (FDNi, FDAi, Cr_2O_3 , TiO_2 e LIPE[®]) na digesta omasal.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da mesma instituição, excetuando a análise de LIPE[®] que foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Foram utilizadas quatro novilhas da raça Nelore, fistuladas no rúmen, com peso vivo médio inicial de $316,8 \pm 2,2$ kg e idade de 18 meses, mantidas em baias individuais de alvenaria de 3 m², cobertas, com bebedouros automáticos, comedouros e pisos recobertos com borracha.

O arraçãoamento foi realizado duas vezes ao dia (8h00 e 16h00) com dieta constituída de feno de capim-Tifton (*Cynodon* spp.) fornecido *ad libitum* e 1 kg de concentrado (Tabela 1). O concentrado foi composto, em base de MS, de 23,09% de farelo de soja; 74,57% de fubá de milho; 1,01% de sal; 0,77% de fosfato bicálcio; 0,12% de sulfato de amônia; 0,36% de cloreto de potássio e 0,07% de premix mineral. Este último foi composto de 82,24% de sulfato de zinco; 16,45% de sulfato de cobre; 0,99% de sulfato de cobalto e 0,33% de selenito de sódio.

Tabela 1 Composição química dos alimentos e do concentrado (% na MS)

Variável	Feno de capim-Tifton	Fubá de milho	Farelo de soja	Concentrado
MS	87,28	88,26	88,81	88,62
MO	93,59	98,28	93,59	94,98
PB	12,58	7,50	45,03	15,98
EE	0,99	4,13	1,30	3,38
FDNcp	69,80	11,61	10,27	11,04
CNF ¹	10,21	75,04	36,99	64,58
FDA	49,89	1,92	8,81	3,46
FDNi	31,66	2,48	1,88	2,29
FDAi	14,75	0,59	0,69	0,60

¹Carboidratos não-fibrosos: $100 - (\%PB + \%EE + \%MM + \%FDNcp)$.

Devido ao oferecimento da mesma dieta experimental aos animais durante toda a realização do experimento, foi realizada adaptação inicial à dieta por sete dias. Após esse período, foi realizado o experimento propriamente dito, compreendendo quatro períodos de coleta de digesta omasal de quatro dias (16 dias). Entre os períodos de coleta houve intervalo de três dias (9 dias), totalizando 32 dias de duração do experimento.

Foi avaliado o perfil nictemeral na digesta omasal de cinco indicadores: fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), óxido crômico (Cr_2O_3), dióxido de titânio (TiO_2) e lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]).

Os animais receberam uma dose diária de 10 g de Cr_2O_3 e de TiO_2 , acondicionados em cartuchos de papel, diretamente no rúmen, através da fistula ruminal, após quatro horas do arração matinal, durante toda a duração do experimento. No mesmo momento do fornecimento desses indicadores, foram fornecidos 0,5 g de LIPE[®] encapsulado, começando três dias antes do início até o término do período experimental.

As coletas de digestas omasal foram realizadas da seguinte forma: no primeiro dia de coleta antes do arração matinal (0 hora), oito e 16 horas após o mesmo; no segundo dia, às duas, 10 e 18 horas após o arração; no terceiro dia às quatro, 12 e 20 horas após e no último dia, às seis, 14 e 22 horas, totalizando 24 horas de coleta de digesta com intervalo de duas horas.

Na coleta de amostras de digesta omasal foi utilizada um conjunto de dispositivos que consistiram de um kitassato, um tubo coletor e uma bomba à vácuo

conforme técnica descrita por Leão (2002), totalizando uma amostra de cerca de 750 mL.

Após o descongelamento, as amostras foram homogeneizadas e parte da digesta omasal foi separada e outra foi filtrada. A amostra que não foi filtrada constituiu a digesta total, correspondendo a digesta de fase única (FU). A outra parte foi filtrada através de uma camada de tecido de algodão, separando a amostra em duas fases: o líquido filtrado constituiu a fase líquida e pequenas partículas (FLP) e o resíduo retido, a fase de grandes partículas (FG) da digesta. A separação da FLP na fase líquida (FL) e na fase de pequenas partículas (FP) foi realizada pela a centrifugação de parte amostra a 1.600 rpm por 5 minutos. Após a centrifugação, o pélete correspondeu à FP e o líquido, a FL.

A cada procedimento descrito anteriormente, as amostras foram pesadas, para estimar os pesos totais de cada fase da digesta omasal coletada por período. As amostras das diferentes fases da digesta omasal foram submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C, durante 96 horas, e moídas em moinho de bola. Posteriormente foi feita amostra composta por animal ao unir as amostras com pesos iguais dos quatros períodos experimentais, devido à quantidade de amostra ser insuficiente para a análise de todos os indicadores.

Todas as amostras coletadas foram analisadas quanto ao teor de matéria seca (MS; AOAC, 1990) e a concentração dos indicadores. A análise de FDN_i e FDA_i foi realizada pela incubação *in situ*, em duas vacas com fistula ruminal, por 288 horas em sacos de tecido não tecido (TNT) de 100 g/m². O teor de cromo foi avaliado em espectrofotômetro de absorção atômica, conforme método descrito por Savastano (1993), utilizando digestão nitroperclórica, o de titânio segundo Myers et al. (2004) e a análise de LIPE[®], em espectroscopia no infravermelho (VARION FTIV 850).

O perfil nictemeral foi avaliado segundo o modelo em série de Fourier descrito por Hopper et al. (1978):

$$Y_t = A_0 + A_1 \sin(ct) + A_2 \cos(ct) + A_3 \sin(2ct) + A_4 \cos(2ct);$$

em que Y_t = concentração omasal predita do indicador (%) no tempo t ; A_0 = concentração média do indicador (%); c = período fundamental ou a duração do ciclo de oscilação na digesta (rad/h); t = momento de avaliação (h); e A_1 , A_2 , A_3 , A_4 = parâmetros sem interpretação biológica direta.

Os ajustes do modelo em série de Fourier foram realizados utilizando o procedimento iterativo de Gauss-Newton.

Os dados utilizados para o ajustamento do modelo, foram previamente

corrigidos para o efeito do animal i e período j . Para isso, obteve-se a média de cada animal e período para a concentração de cada indicador em cada fase da digesta omasal. Além da média geral de cada indicador em cada fase pelo método dos quadrados mínimos. A partir dessas médias, o efeito foi calculado pela diferença da média geral do indicador (Co ou Yb) na fase da digesta omasal (FL, FP, FLP ou FG) pela média da variável (animal i ou período j). O ajuste foi calculado pela diferença entre o valor observado (ij) menos o efeito do animal i e período j .

A comparação entre os parâmetros dos modelos foi realizada por variável dummy (Schabenberger, s/d).

Todas as análises foram realizadas a 5% de significância no programa SAS (1999).

Resultados e Discussão

As equações estimadas dos perfis nictemerais, para os diferentes indicadores, nas diferentes fases da digesta omasal, estão no Apêndice (Tabela 3A) e os gráficos referentes aos perfis nictemerais na Figura 1.

A concentração média dos indicadores FDNi e FDAi na FG foi superior à da FP, inverso foi verificado para o Cr_2O_3 e o TiO_2 , enquanto para o LIPE[®] foi semelhante. Ahvenjärvi et al. (2003) verificaram maior concentração de FDNi e Cr na FG.

Desconsiderando a FL, uma vez que não foi avaliada a concentração de FDNi e FDAi nesta fase da digesta omasal, que foi considerada nula, a amplitude de oscilação para a concentração média (A_0) dos indicadores diferiu (Tabela 2, Figura 2.1). Os menores valores foram observados para as fibras indigestíveis FDNi (9,08 a 27,71%) e FDAi (18,83 a 45,48%), seguidas pelo LIPE[®] (4,55 a 36,98%). Os percentuais observados para o TiO_2 (30,56 a 64,45%) e Cr_2O_3 (29,69 a 113,77%) foram superiores, demonstrando menor precisão desses indicadores.

Barros et al. (2007), ao analisarem o perfil nictemeral de indicadores na excreção fecal de bovinos, também observaram melhor estabilidade para os indicadores internos (FDNi e FDAi) em relação ao Cr_2O_3 , obtendo amplitudes de oscilação inferiores a 5%. Os valores observados por estes autores foram menores do que os verificados neste experimento. Huhtanen et al. (1997) verificaram menor variação da concentração de Cr nas amostras de fezes que nas de omaso. Devido a essa maior variação da digesta omasal, torna-se necessário maior número de amostras de digesta

em diferentes tempos e dias. Entretanto, pode-se utilizar a FDNi e a FDAi na estimação do fluxo omasal (Dias et al., 2007).

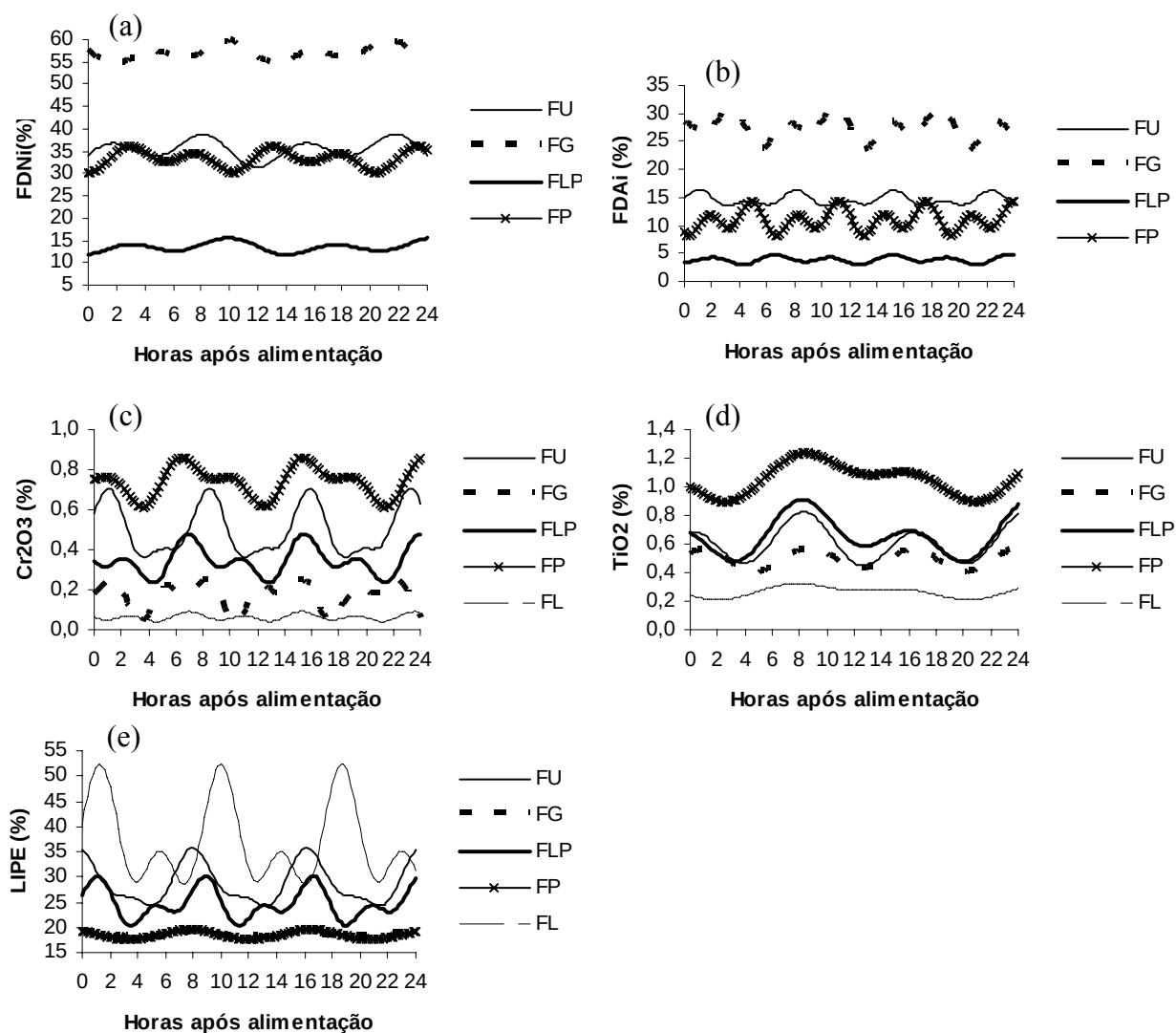


Figura 1 Perfis nictemerais dos indicadores nas diferentes fases das digesta omasal: (a) FDNi, (b) FDAi, (c) Cr_2O_3 , (d) TiO_2 e (e) LIPE[®].

Os índices de variação para A_0 foram inferiores a 10% e também menores para a FDNi (0,66 a 2,07%), FDAi (1,16 a 4,46%) e LIPE[®] (0,64 a 2,96%) e maiores para Cr_2O_3 (2,52 a 9,64%) e TiO_2 (2,75 a 3,49%). Desta forma, ao se utilizar as fibras indigestíveis e o LIPE[®], aumenta-se a probabilidade de amostrar digesta em diferentes tempos, com concentrações semelhantes dos indicadores. Além disso, espera-se que a concentração de um indicador seja constante ao longo do dia ou siga um padrão de excreção definido (Brisson et al., 1957).

Tabela 2 Concentração omasal média (A_0 , média±erro-padrão), amplitude de oscilação e índice de variação (IV) dos indicadores nas diferentes fases da digesta omasal

Fase da digesta omasal ²	Indicador ¹				
	FDNi (%)	FDAi (%)	Cr ₂ O ₃ (%)	TiO ₂ (%)	LIPE® (ppm)
Concentração omasal média (A_0)					
FU	35,1630 ±0,4782	14,530 ±0,2299	0,4923 ±0,0256	0,6071 ±0,0212	28,8535 ±0,7038
FG	56,9326 ±0,3770	27,3217 ±0,3172	0,1670 ±0,0161	0,4898 ±0,0154	18,4736 ±0,1185
FLP	13,5398 ±0,2804	3,8880 ±0,1101	0,3475 ±0,0097	0,6717 ±0,0228	24,6155 ±0,7278
FP	33,3474 ±0,5448	11,0299 ±0,4925	0,7454 ±0,0188	1,0762 ±0,0296	18,5619 ±0,2999
FL	-	-	0,0631 ±0,0296	0,2717 ±0,0077	36,9177 ±2,3675
Amplitude de oscilação (%) ³					
FU	20,73	18,83	68,53	58,19	36,98
FG	9,08	21,22	113,77	30,67	4,55
FLP	27,71	37,80	61,15	64,45	30,99
FP	14,41	45,48	29,69	30,56	12,27
FL	-	-	56,42	40,63	60,95
Índice de variação de A_0 (%) ⁴					
FU	1,36	1,58	5,20	3,49	2,44
FG	0,66	1,16	9,64	3,14	0,64
FLP	2,07	2,83	2,79	3,39	2,96
FP	1,63	4,46	2,52	2,75	1,62
FL	-	-	46,91	2,83	6,41

¹FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; Cr₂O₃= óxido crômico; TiO₂= dióxido de titânio; LIPE®= lignina purificada do eucalipto. ²FU = fase única; FG = fase de grandes partículas; FLP = fase líquida e de pequenas partículas; FP = fase de pequenas partículas; FL = fase líquida. ³Amplitude de oscilação= ((máxima-mínima)/ A_0)x100. ⁴Índice de variação de A_0 = (erro-padrão/ A_0)x100.

Ahvenjärvi et al. (2001) observaram maior variação da concentração de Cr que de FDNi na digesta omasal, sugerindo que a FDNi seria melhor na estimativa do fluxo omasal, entretanto em experimento posterior (Ahvenjärvi et al., 2003) verificaram precisão semelhante entre a FDNi e o Cr₂O₃ na digesta omasal. Titgemeyer et al. (2001) obtiveram maior variação na concentração fecal de TiO₂ coletada de manhã que à tarde, ocasionando recuperação fecal desse indicador diferente de 100%, assim como para o Cr₂O₃. Entretanto, Myers et al. (2006) não observaram variação diurna na concentração de TiO₂ e Cr₂O₃ fecal, embora tenha observado na digesta duodenal.

Na FL o Cr₂O₃ apresentou o maior índice de variação (46,91%) e alta amplitude de oscilação (56,42%), o que pode ter sido decorrente da sua baixa concentração nessa fase da digesta omasal (0,0631%) uma vez que este indicador é pouco solúvel em água. O TiO₂ e o LIPE® apresentaram melhor precisão que o Cr₂O₃.

Comparando a dimensão fundamental do ciclo de concentração (c) nas fases da digesta omasal e considerando que para o ciclo de concentração constante o valor é 1, excetuando a FL, os maiores ($P<0,05$) valores foram observados para a FDAi, Cr_2O_3 e LIPE[®], correspondendo em períodos fundamentais menores de 4,5 horas (Tabela 3). Desta forma, o ciclo de oscilação para esses indicadores foram mais constantes ao longo do dia.

Tabela 3 Período fundamental do ciclo de oscilação (c) e período fundamental dos indicadores nas diferentes fases da digesta omasal

Fase da digesta omasal ²	Indicador ¹				
	FDNi	FDAi	Cr_2O_3	TiO_2	LIPE [®]
	Período fundamental do ciclo de oscilação (c , rad/h) ³				
FU	0,4593 ±0,0206c	0,8857 ±0,0209a	0,8496 ±0,0221ab	0,3858 ±0,0146c	0,7657 ±0,0329b
FG	0,5523 ±0,0204b	0,8257 ±0,0286a	0,8971 ±0,0251a	0,4093 ±0,0192b	0,8160 ±0,0466a
FLP	0,4349 ±0,0250a	0,7393 ±0,0400b	0,7366 ±0,0291b	0,3752± 0,0145b	0,8110 ±0,0430a
FP	0,6181 ±0,0243b	0,9881 ±0,0580a	0,7028 ±0,0305ab	0,3429 ±0,0282c	0,7270 ±0,0406ab
FL	-	-	0,7518 ±0,0543a	0,2674 ±0,0258b	0,8252 ±0,0355a
	Período fundamental (h) ⁴				
FU	6,84	3,55	3,70	8,14	4,10
FG	5,64	3,80	3,50	7,68	3,85
FLP	7,22	4,25	4,26	8,37	3,87
FP	5,08	3,18	4,47	9,16	4,32
FL	-	-	4,18	11,75	3,81

¹FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; Cr_2O_3 = óxido crômico; TiO_2 = dióxido de titânio; LIPE[®]= lignina purificada do eucalipto. ²FU = fase única; FG = fase de grandes partículas; FLP = fase líquida e de pequenas partículas; FP = fase de pequenas partículas; FL = fase líquida. ³Médias seguidas, na mesma linha, por letras iguais não diferem entre si ($P>0,05$).

Na FU a FDAi e o Cr_2O_3 apresentaram os maiores valores ($P<0,05$) para c , entretanto, o Cr_2O_3 não diferiu ($P>0,05$) do LIPE[®]. A FDNi e o TiO_2 não diferiram entre si ($P>0,05$) e resultaram nos menores valores. Entretanto, a FDAi apresentou a melhor precisão e o LIPE[®] foi mais precisa que o Cr_2O_3 . Dias et al. (2007) também observaram melhor precisão para a FDAi e o Cr_2O_3 , em relação a FDNi para o fluxo omasal.

Em ordem crescente, os períodos fundamentais na FU foram de 3,55; 3,70; 4,10; 6,84 e 8,14 horas para FDAi, Cr_2O_3 , FDNi, LIPE[®] e TiO_2 , respectivamente. Barros et al. (2007) não observaram diferenças para essa variável entre a FDNi, a FDAi e o Cr_2O_3 , obtendo, respectivamente, 3,46; 3,74 e 3,25 horas. Nota-se que o período de oscilação para o Cr_2O_3 foi inferior a 6,84 horas observados neste experimento para a coleta de

digesta omasal, portanto menor que 24 horas (Smith e Reid, 1955) ou 0,13 rad/h (Hopper et al., 1978) observados no perfil nictemeral fecal em outros experimentos.

Considerando que os valores para c foram diferentes ($P>0,05$) de zero, comprovando perfil cíclico, e a duração do período fundamental ter sido próximo a quatro horas, os períodos múltiplos de quatro horas poderiam ser empregados para representar adequadamente a concentração omasal média dos indicadores. Entretanto, como recomendado para o Co-EDTA e o YbCl_3 (Dias et al, 2008b, Fae et al., 2008), discutido anteriormente, devido a menor estabilidade dos indicadores na digesta omasal, recomenda-se amostragem a cada quatro horas, sendo necessários mais estudos.

Desta forma, ao utilizar único indicador para estimar o fluxo omasal, a FDAi foi o indicador com melhores resultados, devido ao baixo índice de variação (1,58%), amplitude de oscilação (18,83%) e período fundamental (3,55 horas). Corroborando com Dias et al. (2008a) que observaram melhores resultados com o uso de FDAi para as estimativas de excreção fecal e digestibilidade total, embora não tenha observado diferença na estimativa da digestibilidade intestinal utilizando a coleta de digesta omasal.

Na FG, como na FU, os maiores ($P<0,05$) resultados para c , ou seja, ciclo mais constante, foram observados para a FDAi, o Cr_2O_3 e o LIPE[®], que não diferindo ($P>0,05$) entre si. A FDNi e o TiO_2 não diferiram entre si ($P>0,05$) e resultaram nos menores valores. Vale ressaltar que a amplitude de oscilação para o Cr_2O_3 foi superior a 100%. De acordo com Ahvenjärvi et al. (2001), variações entre o tamanho das frações de partículas são consideravelmente maiores para a concentração de Cr que para a concentração de FDNi, indicando que nas amostras não representativas, como no caso da omasal, o Cr sofre maior efeito que a FDNi.

Na FLP houve a menor variação (IV de 2,07 à 2,96%) entre os indicadores, apresentando boa precisão, o que pode ser decorrente dessa fase conter tanto partículas sólidas quanto líquido, diminuindo a variabilidade desses indicadores .

Para estimar o fluxo omasal pelo sistema de duplo indicador, considerando os indicadores não ideais, para melhor precisão, espera-se que os períodos fundamentais dos indicadores na FG e FLP sejam próximos. A FDAi, o Cr_2O_3 e o LIPE[®] apresentaram valores próximos de quatro horas em ambas as fases, podendo realizar amostragem a intervalos de quatro horas. Para o TiO_2 , os períodos fundamentais foram próximos e a amostragem pode ser realizada em intervalos de oito horas. Já para a FDNi, observou-se a maior diferença entre os períodos fundamentais (FLP = 7,22; FG = 5,64 horas).

Ao fracionar a digesta omasal em três fases, considerando os períodos fundamentais na FG e FP dos indicadores, novamente a FDAi, o Cr₂O₃ e o LIPE[®] apresentaram valores próximos de quatro horas, o mesmo foi observado na FL para o Cr₂O₃ e o LIPE[®]. Por esses resultados pode-se confirmar que a amostragem de digesta pode ser realizada a intervalos de quatro horas. Para o TiO₂, os períodos fundamentais aumentaram cerca de uma hora de uma fase para outra (FG = 7,68; FLP = 8,37; FP = 9,16; FL = 11,75), demonstrando comportamento irregular, o que dificulta a estimação do fluxo da digesta omasal. O período fundamental da FDNi na FG (5,64 h) e FP (5,08 h) foi mais próximo que FG e FLP (7,22 h).

Conclusões

As fibras indigestíveis (FDNi e FDAi) e o LIPE[®] apresentam perfis nictemerais na digesta omasal mais estáveis que o Cr₂O₃ e o TiO₂, possibilitando simplificações na amostragem de digesta omasal.

A amostragem da digesta omasal pode ser realizada a cada quatro horas.

Literatura citada

- AHVENJÄRVI, S.; SKIBA, B.; HUHTANEN, P. Effect heterogeneous digesta chemical composition on the accuracy of measurements of fiber flow in dairy cows. *Journal of Animal Science*, v.79, n.6, p.1611-1620, 2001.
- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; HUHTANEN, P. et al. Determination of reticule-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. *British Journal of Nutrition*, v.83, n.1, p.67-77, 2000.
- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; SHINGFIELD, K.J. et al. Determination of digesta flow entering the omasal canal of dairy cows using different marker systems. *British Journal of Nutrition*, v.90, n.1, p.41-52, 2003.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. *Official methods of analysis*. 15. ed., v.1. Virginia: Arlington. 1990. 1117p.
- BARROS, E.E.L.; FONTES, C.A.A.; DETMANN, E. et al. Avaliação do perfil nictemeral de excreção de indicadores internos e de óxido crômico em ensaios de digestão com ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.6, p.2106-2108, 2007.
- DIAS, M.; DETMANN, E.; LEÃO, M.I. et al. Indicadores para estimativa da digestibilidade parcial em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.3, p.689-697, 2007.
- DIAS, M.; LEÃO, M.I.; DETMANN, E. et al. Técnicas para estimativa da digestibilidade e produção microbiana em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.3, p.504-512, 2008.

- FAE, J.T.; DIAS, M.; LEÃO, M.I. et al. Tempos de infusão e indicadores no fluxo de digesta omasal. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA, 45., 2008, Lavras. *Anais...* São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia/Gmosis, [2008]. (CD-ROM).
- FRANCE, J.; SIDDON, R.C. Determination of digesta flow by continuous marker infusion. *Journal of Theoretical Biology*, v.121, n.2, p.105-119, 1986.
- HOOVER, W.H.; STOKES, S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *Journal of Dairy Science*, v.74, n.10, p.3630-3644, 1991.
- HUHTANEN, P.; BROTZ, P.G.; SATTER, L.D. Omasal sampling technique for assessing fermentative digestion in the forestomach of dairy cows. *Journal of Animal Science*, v.75, n.5, p.1380-1392, 1997.
- LEÃO, M.I. *Metodologias de coletas de digestas omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: consumo, digestibilidade e produção microbiana*. 2002. Belo Horizonte, MG:UFMG-Escola de Veterinária, 57p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2002.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. et al. Excretion patterns of titanium dioxide and chromic oxide in duodenal digesta and feces of ewes. *Small Ruminant Research*, v. 63, p.135–141, 2006
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. et al. Technical Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *Journal of Animal Science*, v.82, p.179-183, 2004.
- SAS. *SAS/STAT User's Guide (Release 8.0)*, SAS Inst., Inc., Cary, NC. 1999.
- SAVASTANO, S. *Efeito do nível de concentrado sobre os parâmetros digestivos do feno de capim gordura (Melinis minutiflora Pal de Beauv), em bovinos*. Belo Horizonte: Escola de Veterinária, 142p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 1993.
- SCHABENBERGER, O. *Nonlinear regression in SAS*. UCLA: Academic Thechnology Services, Statistical Consulting Group. <<http://www.ats.ucla.edu/stat/sas/library/SASNLin_os.htm>> (Acessado 29 de novembro de 2007)
- SMITH, A.M.; REID, J.T. Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the purpose of determining the intake of a pasture herbage by grazing cows. *Journal of Dairy Science*, v.38, n.5, p.515-524, 1955.
- TITGEMEYER, E.C.; ARMENDARIZ, C.K.; BINDEL, D.J. et al. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *Journal of Animal Science*, v.79, p.1059-1063, 2001.
- WENHAM, G.; WYBURN, R.S. A radiological investigation of the effects of cannulation on intestinal motility and digesta flow in sheep. *The Journal of Agricultural Science*, v.95, p.539-546, 1980.

COLETA DE DIGESTA OMASAL DE BOVINOS COM DIFERENTES SISTEMAS DE INDICADORES

Resumo: Objetivou-se avaliar a digestibilidade intestinal da fibra em detergente neutro, estimada por diferentes indicadores e o efeito das amostras coletadas no período diurno ou diário sobre a digestibilidade desse nutriente. Utilizaram-se quatro novilhas Holandês-Zebu, fistuladas no rúmen e no íleo, mantidas em regime de confinamento com dieta à base de feno de capim-Tifton (*Cynodon* spp.) oferecido *ad libitum* e 1,2 kg de concentrado (22% PB). O experimento ocorreu em 39 dias, com três períodos de seis dias cada. A adaptação à dieta experimental e o intervalo entre os períodos foram de sete dias. Em cada período experimental foram realizadas coleta total de fezes (1º ao 3º dia) e coleta de digesta omasal e ileal (4º ao 6º dia). Foram comparados três sistemas de indicadores para avaliar o fluxo de digesta omasal: único (FDNi, FDAi, Cr₂O₃, TiO₂); duplo (associação do Co-EDTA ou do YbCl₃ com os indicadores do sistema único); e triplo (associação entre o Co-EDTA e o YbCl₃ com o sistema único). Para estimativa do fluxo ileal, foram utilizados apenas os indicadores únicos. Não houve efeito ($P>0,05$) do período de coleta para o fluxo omasal e ileal. O fluxo omasal foi melhor estimado pela FDNi, FDAi e associações com o Co-EDTA e o YbCl₃. A amostragem da digesta para estimar a digestibilidade parcial pode ser realizada somente no período diurno, com a utilização simultânea de FDNi ou FDAi no omaso e no íleo.

Palavras-chave: dióxido de titânio, fibras indigestíveis, omaso, óxido crômico, período de coleta

Collection of cattle omasal digesta with different systems of markers

Abstract: It was aimed to assess neutral detergent fiber intestinal digestibility, estimated by different markers and the effect of samples collected during daytime period or daily on digestibility of this nutrient. Four Holstein-Zebu heifers, rumen and ileum fistulated, were kept in confinement with diet based on Tifton grass (*Cynodon* spp.) hay offered *ad libitum* and 1.2 kg of concentrate (22% CP). The experiment lasted 39 days, with three periods of six days each. The adaptation to the experimental diet and the interval between the periods were of seven days. In each experimental period total feces collection (1st to the 3rd day) and omasal and ileal digesta collection (4th to the 6th day) were done. Three systems of markers were compared to evaluate the omasal digesta flow: unique (iNDF, iADF, Cr₂O₃, TiO₂); double (association of Co-EDTA or YbCl₃ with the markers of the unique system); and triple (association among Co-EDTA, YbCl₃ and the unique system). To estimate the ileal flow, only the unique markers were used. There was no effect ($P>0.05$) of the collection period for omasal and ileal flow. The omasal flow was better estimated by iNDF, iADF and associations with Co-EDTA and YbCl₃. The digesta sampling to estimate the partial digestibility can only be accomplished in the daytime period, with the simultaneous use of iNDF or iADF in omasum and ileum.

Keywords: collection period, chromium oxide, indigestible fibers, omasum, titanium dioxide

Introdução

Em uma revisão sobre canulações em ruminante comparando os locais de fistulação no trato gastrointestinal, verificou-se que a maioria dos laboratórios que fazem ensaios de digestão nos Estados Unidos da América, faz no duodeno (89%) e somente 55% já fizeram no íleo (Harmon & Richards, 1997). Essas diferenças são decorrentes da imobilidade do duodeno e menor número de bactérias na digesta, o que reduz as complicações pós-cirúrgicas e aumenta o período dos animais em experimentos em relação à fistulação ileal, devido à mobilidade e maior número de bactérias na digesta ileal.

Fistulações no abomaso também apresentam complicações pós-cirúrgicas e podem apresentar secreções que causam erros nas estimativas da digestão de proteína (Huhtanen et al., 1997). Uma alternativa a essas fistulações é coleta de digesta omasal, que necessita apenas da fistula ruminal e a digesta é coletada por sucção com bombas peristálticas. Devido ao uso dessas bombas, a amostra coletada não seria representativa da digesta que está entrando no omaso, necessitando de reconstituir matematicamente a digesta para melhorar a estimativa do fluxo omasal (Ahvenjärvi et al., 2001).

Na reconstituição da digesta são utilizados diferentes indicadores para cada fase (Faichney, 1975; France & Siddons, 1986). Para a coleta de digesta omasal, tem sido recomendado a utilização de triplo indicador, em vez do sistema de indicadores duplos ou único, utilizando o complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA), o cloreto de itérbio (YbCl_3) e a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), principalmente, mas também utilizam o cromo (Cr) em substituição a FDNi (Ahvenjärvi et al., 2000; 2003; 2006; Olmos Colmenero & Broderick, 2006). Mas há trabalhos com resultados satisfatórios utilizando dois indicadores ou mesmo um (Dias et al., 2007; 2008a).

Um indicador que vem sendo analisado é o dióxido de titânio (TiO_2), como alternativa ao uso do óxido crômico (Cr_2O_3), apresentando bons resultados (Titgemeyer et al., 2001).

Mesmo com constantes pesquisas, ainda não foi encontrado indicador que tenha as características desejáveis. Desta forma, objetivou-se avaliar a digestibilidade intestinal da fibra em detergente neutro estimada por diferentes indicadores e o efeito das amostras coletadas no período diurno ou diário sobre a digestibilidade parcial desse nutriente.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, e as análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da mesma instituição.

Foram utilizadas quatro novilhas mestiças Holandês-Zebu, fistuladas no rúmen e no íleo, com peso vivo médio inicial de $352,5 \pm 7,0$ kg e idade de 24 meses, mantidas em baias individuais de alvenaria de 3 m², cobertas, com bebedouros automáticos, comedouros e pisos recobertos com borracha.

O arraçoamento foi realizado duas vezes ao dia (8h00 e 16h00) com dieta constituída de feno de capim-Tifton (*Cynodon spp.*) fornecida *ad libitum* e 1,2 kg de concentrado (Tabela 1). O concentrado foi composto, em base de matéria seca (MS), de 22,83% de farelo de soja; 74,91% de fubá de milho; 0,98% de sal; 0,75% de fosfato bicálcio; 0,12% de sulfato de amônia; 0,35% de cloreto de potássio e 0,07% de premix mineral. Este último foi composto de 82,01% de sulfato de zinco; 16,72% de sulfato de cobre; 0,96% de sulfato de cobalto e 0,32% de selenito de sódio.

Foram comparados três sistemas de indicadores para avaliar o fluxo de digesta omasal: único com comparação da fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), óxido crômico (Cr₂O₃) e dióxido de titânio (TiO₂); duplo com comparação da associação entre o complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) ou do cloreto de itérbio (YbCl₃) com os indicadores do sistema único (Co-FDNi, Co-FDAi, Co-Cr, Co-TiO₂, Yb-FDNi, Yb-FDAi, Yb-Cr e Yb-TiO₂); e triplo com comparação da associação entre o Co-EDTA e o YbCl₃ com o sistema único (Co-Yb-FDNi, Co-Yb-FDAi, Co-Yb-Cr e Co-Yb-TiO₂). O fluxo ileal foi comparado apenas o sistema único.

A duração do experimento foi de 39 dias, compreendendo sete dias de adaptação dos animais a dieta, três períodos experimentais de seis dias cada e intervalo entre períodos de sete dias. Em cada período experimental realizaram-se as seguintes atividades: coleta total de fezes (1º ao 3º dia); coleta de digesta omasal e ileal (4º ao 6º dia).

Tabela 1 Composição química dos alimentos e do concentrado (% na MS)

Variável	Feno de capim-Tifton	Fubá de milho	Farelo de soja	Concentrado
MS	89,78	88,19	87,65	88,30
MO	93,18	98,58	93,53	95,20
PB	13,63	8,23	44,98	16,43
EE	1,81	2,38	1,16	2,05
FDN _{cp}	67,59	10,79	10,12	10,39
CNF ¹	10,16	77,18	37,27	66,33
FDA	49,78	4,98	16,96	5,79
FDNi	26,07	2,82	2,96	2,79
FDAi	13,99	1,22	1,67	1,29

¹Carboidratos não-fibrosos: $100 - (\%PB + \%EE + \%MM + \%FDN_{cp})$.

Os animais receberam dose diária de 10 g de Cr₂O₃ e de TiO₂, acondicionados em cartuchos de papel, diretamente no rúmen, através da fistula ruminal, após quatro horas do arração matinal, durante toda a duração do experimento. O Co-EDTA foi produzido conforme procedimentos de Úden et al. (1980) e o YbCl₃ conforme Siddons et al. (1985), os quais foram diluídos em água para infusão, totalizando uma solução de 120 mL com 16 g de Co-EDTA (1.783 mg de Co) e 70 mL de solução de YbCl₃ (216 mg de Yb). A administração, via fistula ruminal, foi realizada cinco dias antes do início da coleta de digesta omasal até o seu término, em quatro doses iguais de 30 mL às 0h00; 6h00; 12h00 e 18h00, conforme Dias et al. (2007).

Foram coletadas amostras dos alimentos para posteriores análises químicas e, todos os dias antes do arração matinal, amostras de sobras. Imediatamente após a coleta das sobras, foi feita a pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C, durante 72 horas. Após secas e moídas (1 mm) em moinho de faca tipo Willey, foram compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal e período antes de serem armazenadas.

A coleta total de fezes foi realizada por 24 horas iniciando imediatamente antes do arração matinal. A cada seis horas, a produção fecal obtida pela defecação espontânea de cada animal, foi pesada, homogeneizada e amostrada (10% do peso em matéria natural). Após o período de coleta, foi quantificada a produção fecal total pela soma das quatro pesagens e feita amostra composta das quatro sub-amostragens.

As coletas de digestas omasal e ileal foram realizadas da seguinte forma: no primeiro dia de coleta antes do arração matinal (0 hora) e 12 horas após o mesmo; no segundo dia, às 4 e 16 horas após o arração e no último dia às 8 e 20 horas, totalizando 24 horas de coleta de digesta com intervalo de quatro horas.

Na coleta de amostras de digesta omasal foi utilizado um conjunto de

dispositivos que consistiram de um kitassato, um tubo coletor e uma bomba à vácuo conforme técnica descrita por Leão (2002), totalizando uma amostra de cerca de 400 mL. As amostras de digesta ileal foram coletadas em sacos plásticos adaptados na extremidade do tubo da cânula até que a digesta fluísse normalmente.

As amostras de digestas (omasal e ileal) foram congeladas (-20°C) logo após a coleta até serem processadas. Após descongelamento, foi feita amostra composta por animal, por período de coleta (diurno e noturno) e por período experimental. As coletas do período diurno compreenderam os tempos zero, quatro e oito horas, já aquelas do período noturno, os tempos 12, 16 e 20 horas.

Após o descongelamento, as amostras foram homogeneizadas e parte da digesta omasal foi separada e outra foi filtrada. A amostra que não foi filtrada constituiu a digesta total, correspondendo a digesta de fase única (FU). A outra parte foi filtrada através de uma camada de tecido de algodão, separando a amostra em duas fases: o líquido filtrado constituiu a fase líquida e pequenas partículas (FLP) e o resíduo retido, a fase de grandes partículas (FG) da digesta. A separação da FLP na fase líquida (FL) e na fase de pequenas partículas (FP) foi realizada pela centrifugação de parte amostra a 1.600 rpm por 5 minutos. Após a centrifugação, o pélete correspondeu à FP e o líquido, a FL. A cada procedimento descrito anteriormente, as amostras foram pesadas, para estimar os pesos totais de cada fase da digesta omasal coletada por período.

As amostras de fezes, fases da digesta omasal e dos diferentes tempos de coleta da digesta ileal foram submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C, durante 96 horas, e moídas em moinho de bola. Nas amostras de digesta ileal, foi feita uma amostra composta por animal, por período de coleta (diurno e noturno) e por período experimental, considerando o peso seco ao ar. Para o preparo da amostra composta por período de coleta, foram considerados os mesmos tempos utilizados nas amostras de digesta omasal.

Nas amostras de alimentos (volumoso e concentrado), sobras, fezes e digesta ruminal, foram analisados os teores de MS, matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), de acordo com técnicas descritas por Association of Official Analytical Chemistry – AOAC (1990). Excetuando as amostras da fase líquida da digesta omasal, todas foram analisadas quanto ao teor de fibra em detergente neutro (FDN) pela técnica da micro-extração (Pell & Schofield, 1993). No resíduo da FDN foram estimados os teores de cinza e a proteína para a obtenção da FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp). Já os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos por intermédio da equação (Sniffen et al., 1992): $100 - (\%PB + \%EE + \%MM + \%FDNcp)$.

Todas as amostras de digesta omasal e ileal foram submetidas à análise de teor de cromo (Cr), cobalto (Co), itérbio (Yb) e titânio (Ti). A concentração dos três primeiros indicadores foi avaliada em espectrofotômetro de absorção atômica, conforme método descrito por Savastano (1993), utilizando digestão nitroperclórica, e o de titânio, segundo Myers et al. (2004).

As amostras dos alimentos, sobras, FU, FG, FLP, FP e ileal foram submetidas a análise de FDN_i e FDA_i realizada pela incubação *in situ*, em duas vacas com fistula ruminal, por 288 horas em sacos de tecido não tecido (TNT) de 100g/m².

A excreção fecal estimada pelos indicadores foi calculada com base na razão entre a quantidade do indicador fornecido e sua concentração nas fezes. A digestibilidade aparente da MS e dos nutrientes foi calculada pelo método direto, ou seja, pela diferença entre consumido e excretado.

O cálculo do fluxo de MS e de FDN_{cp} foram realizados conforme equação de France & Siddons (1986), calculando o fluxo ileal com único indicador e considerando os indicadores omasais não-ideais no sistema duplo e triplo indicador:

- único indicador: $F_D = I_{FG}/C_{FG}$, $F_{FDN_{cp}} = F_D * C_{FDN_{cp}} * 0,001$;
- duplo indicador: $F_D = I_{FLP} * (1 + R_{FLP}) / (C_{FLP,X} + R_{FLP} * C_{FLP,FLP})$, $F_{FDN_{cp}} = C_{FDN_{cp},D} * F_D * 0,001$, calculando $R_{FLP} = (C_{FG,X} / I_{FG} - C_{FLP,X} / I_{FLP}) / (C_{FLP,FLP} / I_{FLP} - C_{FG,FG} / I_{FG})$, $C_{i,X} = (C_{i,FLP} * FLP + C_{i,FG} * FG) / (FLP + FG)$ e $C_{FDN_{cp},D} = (C_{FDN_{cp},X} + R_{FLP} * C_{FDN_{cp},FLP}) / (1 + R_{FLP})$;
- triplo indicador com análise de FDN_i, FDA_i, Cr₂O₃ e TiO₂ na FG e FP: $F_D = I_{FL} * (1 + R_{FL} + R_{FP}) / (C_{FL,X} + R_{FL} * C_{FL,FL})$, $F_{FDN_{cp}} = C_{FDN_{cp},D} * F_D * 0,001$, calculando $R_{FL} = [(I_{FG}/I_{FP} * C_{FP,X} - I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,X}) * (I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,FP} - C_{FG,FP}) - (I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,FP} - I_{FG}/I_{FP} * C_{FP,FP}) * (C_{FG,X} - I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,X})] / [(I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,FL} - I_{FG}/I_{FP} * C_{FL,FL}) * (I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,FP} - C_{FG,FP}) - (I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,FP} - I_{FG}/I_{FP} * C_{FP,FP}) * (I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,FL})]$; $R_{FP} = [(I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,FL} - I_{FG}/I_{FP} * C_{FL,FL}) * (C_{FG,X} - I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,X}) - (I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,FL}) * (I_{FG}/I_{FP} * C_{FP,X} - I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,X})] / [(I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,FL} - I_{FG}/I_{FP} * C_{FL,FL}) * (I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,FP} - C_{FG,FP}) - (I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,FP} - I_{FG}/I_{FP} * C_{FP,FP}) * (I_{FG}/I_{FL} * C_{FL,FL})]$; $C_{i,X} = (C_{i,FL} * FL + C_{i,FP} * FP + C_{i,FG} * FG) / (FL + FP + FG)$, $C_{FDN_{cp},D} = (C_{FDN_{cp},X} + R_{FP} * C_{FDN_{cp},FP}) / (1 + R_{FL} + R_{FP})$;
- triplo indicador com análise de Cr₂O₃ e TiO₂ na FG, FP e FL: $F_D = I_{FL} * (1 + R_{FL} + R_{FP}) / (C_{FL,X} + R_{FL} * C_{FL,FL} + R_{FP} * C_{FL,FP})$, $F_{FDN_{cp}} = C_{FDN_{cp},D} * F_D * 0,001$, calculando $R_{FL} = [(C_{FP,X}/I_{FP} - C_{FL,X}/I_{FL}) * (C_{FL,FP}/I_{FL} - C_{FG,FP}/I_{FG}) - (C_{FG,X}/I_{FG} - C_{FL,X}/I_{FL}) * (C_{FL,FP}/I_{FL} - C_{FP,FP}/I_{FP})] / [(C_{FL,FL}/I_{FL} - C_{FP,FL}/I_{FP}) * (C_{FL,FP}/I_{FL} - C_{FG,FP}/I_{FG}) - (C_{FL,FL}/I_{FP} - C_{FG,FL}/I_{FG}) * (C_{FL,FP}/I_{FL} - C_{FP,FP}/I_{FP})]$; $R_{FP} = [(C_{FL,FL}/I_{FL} - C_{FP,FL}/I_{FP}) * (C_{FL,FP}/I_{FL} - C_{FG,FP}/I_{FG}) - (C_{FL,FL}/I_{FP} - C_{FG,FL}/I_{FG}) * (C_{FL,FP}/I_{FL} - C_{FP,FP}/I_{FP})]$;

$$(C_{FG,X}/I_{FG} - C_{FL,X}/I_{FL}) - (C_{FG,X}/I_{FG} - C_{FL,X}/I_{FL}) * (C_{FP,X}/I_{FP} - C_{FL,X}/I_{FL}) / [(C_{FL,FL}/I_{FL} - C_{FP,FL}/I_{FP}) * (C_{FL,FP}/I_{FL} - C_{FG,FP}/I_{FG}) - (C_{FL,FL}/I_{FP} - C_{FG,FL}/I_{FG}) * (C_{FL,FP}/I_{FL} - C_{FP,FP}/I_{FP})]; C_{i,X} = (C_{i,FL} * FL + C_{i,FP} * FP + C_{i,FG} * FG) / (FL + FP + FG), C_{FDNcp,D} = (C_{FDNcp,X} + R_{FP} * C_{FDNcp,FP}) / (1 + R_{FL} + R_{FP}).$$

Onde F_D = fluxo de matéria seca da digesta omasal ou ileal (kg/dia); I_{FG} , I_{FLP} , I_{FP} e I_{FL} = dose do indicador da FG (FDNi, FDAi, Cr_2O_3 , TiO_2 ; g/dia), da FLP (Co-EDTA ou $YbCl_3$; mg/dia), da FP ($YbCl_3$; mg/dia) e da FL (Co-EDTA; mg/dia), respectivamente; R_{FLP} , R_{FL} e R_{FP} = fator de reconstituição da FLP, FL e FP, respectivamente; $C_{i,j}$ = concentração de FDNcp ou do indicador (i = FDNcp ou do indicador da FG, FLP, FP ou FL), na amostra da digesta omasal (j = X, não-representativa; D, representativa; FG; FLP; FP e FL); $C_{FDNcp,X}$, $C_{FDNcp,D}$, $C_{FDNcp,FG}$, $C_{FDNcp,FLP}$, $C_{FDNcp,FP}$, $C_{FDNcp,FL}$ = concentração de FDNcp (mg/g digesta) na amostra da digesta omasal não-representativa, representativa, FG, FLP, FP e FL, respectivamente.

Os valores das estimativas dos fluxos omasal e ileal e da digestibilidade intestinal da FDNcp, do período diurno compreenderam as amostras analisadas do período diurno e as diárias, a média das estimativas dos períodos diurno e noturno.

Os dados foram analisados de forma independente para cada indicador ou combinação de indicadores, segundo o modelo:

$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + e_{ij} + C_k + \varepsilon_{ijklm}$; em que: μ é a constante geral; A_i é o efeito relacionado ao animal i ; P_j é o efeito relacionado ao período j ; e_{ij} é o efeito residual das parcelas experimentais; C_k é o efeito relacionado ao esquema de coleta k e ε_{ijklm} é o erro aleatório, associado a cada observação, pressuposto NID (0; σ^2).

Todas as análises estatísticas foram realizadas por intermédio do programa SAS (1999) a 5% de significância. A comparação entre indicadores ou combinação de indicadores foi realizada pelo intervalo de confiança, considerando como critério de igualdade a observação de sobreposição dos intervalos.

Frente ao pressuposto teórico de digestibilidade nula do FDNcp no intestino delgado, os indicadores ou combinação de indicadores que contiveram o valor paramétrico zero em seus respectivos intervalos de confiança para este parâmetro, foram considerados exatos como estimadores do coeficiente de digestibilidade intestinal e, conseqüentemente, dos fluxos de digesta.

Resultados e Discussão

O fluxo omasal de FDNcp, estimado com a associação de Cr_2O_3 e de TiO_2 no sistema duplo de indicadores com YbCl_3 (Yb-Cr e Yb-Ti) e pelo sistema triplo, com análise desses indicadores na FG e FP ou nas três fases da digesta omasal, apresentou alta variação e, em todos, foram estimados fluxos individuais negativos e sem significado biológico (Tabela 2). Devido a isso, esses sistemas de indicadores não foram utilizados para comparação das variáveis em estudo. Vale ressaltar que os fluxos desconsiderados foram todos que apresentavam o Cr_2O_3 e o TiO_2 associados no sistema duplo e triplo de indicadores, o que sugere limitação desses indicadores na coleta de digesta omasal. Esse resultado pode ter sido devido aos indicadores serem um pó extremamente fino e pouco solúvel em água, ou por apresentarem características cinéticas distintas das fases da digesta as quais se pretende avaliar, devido à sua densidade específica ser maior do que a do alimento (Merchen, 1993). Ahvenjärvi et al. (2001) sugeriram que a maior variação encontrada entre as frações com diferentes tamanhos de partículas para a concentração do Cr do que para a de FDNi indica que a amostragem não representativa tem maior efeito na concentração de Cr. Assim, a variação na concentração desse indicador teria maior efeito na estimativa do fluxo omasal.

Tabela 2 Fluxos omasal de FDNcp (média, kg/dia), em função dos períodos de coleta e dos indicadores avaliados

Indicador ¹	Período de coleta		Desvio-padrão
	Diurno	Diário	
Yb-Cr	6,118	-0,793	24,629
Yb-Ti	3,267	2,442	2,130
Co-Yb-Cr2	-10,069	-10,402	11,580
Co-Yb-Ti2	-42,440	-3,455	87,102
Co-Yb-Cr3	1702,952	-11,258	4188,816
Co-Yb-Ti3	-19,27	6,695	24,223

¹Yb-Cr e Yb-Ti = cloreto de itérbio associado ao óxido crômico e ao dióxido de titânio, respectivamente; Co-Yb-Cr2 e Co-Yb-Ti2 = Co-EDTA associado ao cloreto de itérbio e associado ao óxido crômico e dióxido de titânio, ambos analisados na fase de pequenas partículas e sólidas da digesta omasal, respectivamente; Co-Yb-Cr3 e Co-Yb-Ti3 = Co-EDTA associado ao cloreto de itérbio e associado ao óxido crômico e dióxido de titânio, ambos analisados na fase líquida, de pequenas partículas e sólidas da digesta omasal, respectivamente.

Não houve efeito ($P>0,05$) do período de coleta sobre o fluxo omasal e ileal (Tabela 3), podendo ser devido à taxa de passagem ruminal e ao fluxo de digesta terem sido aproximadamente constantes no intestino delgado, ao longo do dia. Dias et al. (2008a) também não verificaram efeito desses períodos no fluxo omasal e ileal e Tibo et

al. (2000), para o período diurno e noturno, na amostragem de fezes, digesta abomasal e ileal.

Comparando os desvios-padrão, o fluxo omasal foi melhor estimado pela FDNi, FDAi e associações com o Co-EDTA e o YbCl₃ (Tabela 3). A associação do Co-EDTA com o Cr₂O₃ foi a menos precisa, seguida do Co-Ti, Cr₂O₃, triplo indicadores e TiO₂ (Tabela 3). No fluxo ileal, a FDNi e a FDAi apresentaram melhor precisão e o Cr₂O₃ foi mais preciso que o TiO₂, enquanto, no omasal, foi o TiO₂.

A maior precisão da estimativa dos fluxos obtidos com a utilização das fibras indigestíveis, independente do sistema de indicadores, reforçam os resultados já observados na Tabela 2, quando o Cr₂O₃ e o TiO₂ foram os indicadores que mais apresentaram fluxos biologicamente incoerentes. A melhor resposta das fibras indigestíveis pode ser devida à presença dos indicadores internos no alimento e na digesta ser de forma uniforme, por causa da constante ingestão de alimentos, permanecendo assim durante o processo de digestão e excreção ao longo do trato digestório.

A menor precisão das estimativas do fluxo omasal obtidas com Cr₂O₃ e TiO₂ em relação às fibras indigestíveis pode ser decorrente da menor precisão desses indicadores na FU (Dias et al., 2008b) e na FG (Fae et al., 2008a) da digesta omasal, necessária para estimar o fluxo omasal pelo sistema duplo e triplo de indicadores. Ahvenjärvi et al. (2001) também verificaram maior variação do Cr₂O₃ que da FDNi na digesta omasal. Para melhorar a precisão dos indicadores na digesta omasal, pode-se aumentar o número de amostras (Reynal et al., 2006).

Considerando os sistemas de indicadores, o único com FDNi ou FDAi e o duplo com associação desses indicadores e o Co-EDTA e YbCl₃ apresentaram precisão semelhante e foram superiores ao sistema de triplo indicador (Co-Yb-FDNi, Co-Yb-FDAi). Desta forma, diferindo dos resultados obtidos por Dias et al. (2007), com melhor precisão para os indicadores duplos, tendo o Co-FDAi apresentado a maior precisão, e a FDNi, a menor. Ahvenjärvi et al. (2003) também observaram maior precisão dos indicadores duplos em comparação ao único.

Analizando os intervalos de confiança (IC) do fluxo omasal no período diurno, observa-se a formação de três grupos de indicadores (P<0,05) distintos. Os menores fluxos foram observados para Cr₂O₃, TiO₂ e Co-Ti, os maiores para o sistema triplo (Co-Yb-FDNi e Co-Yb-FDAi) e o IC dos outros indicadores apresentaram valores intermediários (Tabela 4). O Co-Cr foi o único indicador que não diferiu entre o grupo dos indicadores com valores médios e maiores, por ter apresentado o maior IC (1,614 a

2,050). No período diário, foi observado comportamento semelhante com formação de três grupos de indicadores ($P<0,05$). Entretanto, o Yb-FDNi diferiu ($P<0,05$) da FDAi e os indicadores triplos diferiram ($P<0,05$) dos demais indicadores. Além disso, o tamanho dos IC dos indicadores praticamente não variou entre os períodos, confirmando não haver diferença na estimativa do fluxo omasal entre os diferentes períodos. Porém, para o fluxo ileal, o comportamento entre períodos diferiu. No período diurno, o fluxo ileal estimado pela FDAi só não diferiu ($P>0,05$) da FDNi, enquanto os demais indicadores não diferiram ($P>0,05$) entre si. No período diário, houve a formação de dois grupos de indicadores, as fibras indigestíveis, com maior fluxo ileal, e o Cr_2O_3 e o TiO_2 , com menor fluxo.

Tabela 3 Fluxos omasal e ileal de FDNcp (média), em função dos períodos de coleta e dos indicadores avaliados

Indicador ¹	Período de coleta		Valor-P ²	Desvio-padrão
	Diurno	Diário		
Fluxo omasal (kg/dia)				
FDNi	1,720	1,753	0,5023	0,113
FDAi	1,636	1,648	0,7693	0,100
Cr ₂ O ₃	1,154	1,165	0,9097	0,223
TiO ₂	0,960	0,987	0,7063	0,171
Co-FDNi	1,687	1,746	0,1497	0,094
Co-FDAi	1,631	1,677	0,2742	0,097
Co-Cr	1,832	1,650	0,2205	0,343
Co-Ti	1,129	1,160	0,7657	0,249
Yb-FDNi	1,758	1,805	0,3319	0,114
Yb-FDAi	1,693	1,745	0,2059	0,095
Co-Yb-FDNi	2,182	2,298	0,1998	0,208
Co-Yb-FDAi	2,094	2,172	0,3486	0,195
Fluxo ileal (kg/dia)				
FDNi	1,701	1,856	0,0857	0,201
FDAi	1,529	1,676	0,0998	0,200
Cr ₂ O ₃	1,169	1,004	0,3100	0,381
TiO ₂	1,300	1,092	0,2474	0,418

¹FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; Cr_2O_3 = óxido crômico; TiO_2 = dióxido de titânio; Co-FDNi, Co-FDAi, Co-Cr e Co-Ti = Co-EDTA associado à FDNi, FDAi, óxido crômico e ao dióxido de titânio, respectivamente; Yb-FDNi e Yb-FDAi= cloreto de itérbio associado à FDNi e FDAi, respectivamente; Co-Yb-FDNi e Co-Yb-FDAi= Co-EDTA associado ao cloreto de itérbio e associado à FDNi e FDAi, respectivamente. ²Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre período de coletas.

Comparando o fluxo omasal do sistema único (FDAi e FDNi) e duplo (Co-FDNi; Co-FDAi, Yb-FDNi e Yb-FDAi) pelos seus IC, estes não diferiram ($P<0,05$) entre si e pertenceram ao grupo de indicadores com valores intermediários de fluxo omasal, ou seja, diferiram do sistema triplo de indicadores (Tabela 4). Resultado semelhante foi verificado por Dias et al. (2007) para o sistema duplo e único. Lundy et

al. (2004) também não observaram diferença entre o sistema duplo e único de indicadores para a digesta omasal por encontrarem digestibilidade da MS e da FDN similares às observadas por Reynal & Broderick (2003), utilizando apenas o Cr_2O_3 como indicador omasal em vez do indicador triplo combinando Co-EDTA, YbCl_3 e FDAi.

Tabela 4 Limites inferior (LI) e superior (LS) do intervalo de confiança a 95% de probabilidade para os fluxos omasal e ileal de FDNcp, em função dos períodos de coleta e dos indicadores avaliados

Indicador ¹	Período de coleta			
	Diurno		Diário	
	LI	LS	LI	LS
Omasal (kg/dia)				
FDNi	1,648	1,793	1,680	1,825
FDAi	1,572	1,700	1,584	1,712
Cr_2O_3	1,012	1,296	1,023	1,307
TiO_2	0,851	1,069	0,878	1,096
Co-FDNi	1,627	1,746	1,687	1,806
Co-FDAi	1,569	1,693	1,615	1,739
Co-Cr	1,614	2,050	1,432	1,868
Co-Ti	0,970	1,287	1,001	1,318
Yb-FDNi	1,685	1,830	1,733	1,878
Yb-FDAi	1,632	1,753	1,684	1,805
Co-Yb-FDNi	2,050	2,315	2,166	2,431
Co-Yb-FDAi	1,970	2,218	2,048	2,296
Ileal (kg/dia)				
FDNi	1,573	1,828	1,728	1,983
FDAi	1,402	1,656	1,549	1,803
Cr_2O_3	0,927	1,412	0,762	1,246
TiO_2	1,035	1,565	0,826	1,357

¹FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; Cr_2O_3 = óxido crômico; TiO_2 = dióxido de titânio; Co-FDNi, Co-FDAi, Co-Cr e Co-Ti = Co-EDTA associado à FDNi, FDAi, óxido crômico e ao dióxido de titânio, respectivamente; Yb-FDNi e Yb-FDAi= cloreto de itérbio associado à FDNi e FDAi, respectivamente; Co-Yb-FDNi e Co-Yb-FDAi= Co-EDTA associado ao cloreto de itérbio e associado à FDNi e FDAi, respectivamente.

Da mesma forma que ocorreu para os fluxos omasal e ileal, a digestibilidade no intestino delgado da FDNcp não foi influenciada ($P>0,05$) pelos períodos de coleta, confirmando a possibilidade de realizar amostragem de digesta omasal apenas no período diurno (Tabela 5). O mesmo foi observado por Dias et al. (2007), ao estudar a técnica de coleta de digesta omasal em novilhas alimentadas com feno de capim-Tifton.

Considerando que não há digestibilidade da FDNcp no intestino delgado, o coeficiente de digestibilidade desse componente deveria ser teoricamente nulo. A combinação dos indicadores, no omaso, com FDNi e FDAi e associações, excetuando o sistema triplo, com esses indicadores no íleo, foram os que apresentaram os valores

mais próximos ao desejável para ambos os períodos de coleta, sugerindo melhor exatidão (Tabela 5). As combinações Cr₂O₃, TiO₂ e Co-Ti no omaso, com associações com o Cr₂O₃ e TiO₂, no íleo, também apresentaram valores próximos a zero. Já o sistema triplo de indicadores, independente dos indicadores utilizados, foram os que apresentaram valores mais distantes (8,64 a 32,14%), diferindo da recomendação de Ahvenjärvi et al. (2001) de utilização do sistema Co-Yb-FDNi.

Tabela 5 Coeficientes de digestibilidade no intestino delgado (% do total ingerido) de FDN_{cp}, estimados por diferentes indicadores usados no omaso e íleo, em função dos períodos de coleta e das combinações de indicadores

Indicador ¹		Períodos de coleta		Valor-P ²	Desvio-padrão
Omaso	Íleo	Diurno	Diário		
FDNi	FDNi	0,09 ³	-2,37 ³	0,2953	5,49
	FDAi	5,03	2,43 ³	0,2898	5,73
	Cr ₂ O ₃	15,14	17,97	0,6310	14,05
	TiO ₂	10,19	14,60	0,5132	15,98
FDAi	FDNi	-2,01 ³	-5,05	0,1642	4,99
	FDAi	2,92 ³	-0,26 ³	0,1661	5,25
	Cr ₂ O ₃	13,03	15,29	0,6959	13,80
	TiO ₂	8,09 ³	11,92	0,5626	15,72
Cr ₂ O ₃	FDNi	-15,19	-17,45	0,5519	9,04
	FDAi	-10,26	-12,66	0,5100	8,65
	Cr ₂ O ₃	-0,14 ³	2,89 ³	0,6338	15,15
	TiO ₂	-5,09 ³	-0,48 ³	0,5072	16,45
TiO ₂	FDNi	-18,83	-21,12	0,4592	7,31
	FDAi	-13,90	-16,35	0,4193	7,09
	Cr ₂ O ₃	-3,79 ³	-0,78 ³	0,6172	14,33
	TiO ₂	-8,73 ³	-4,15 ³	0,4973	15,98
Co-FDNi	FDNi	-0,93 ³	-2,90	0,2763	4,20
	FDAi	4,00	1,89 ³	0,2279	4,03
	Cr ₂ O ₃	14,11	17,44	0,5155	12,14
	TiO ₂	9,16	14,07	0,4017	13,78
Co-FDAi	FDNi	-2,19 ³	-4,59	0,1959	4,26
	FDAi	2,74	0,21 ³	0,1578	4,10
	Cr ₂ O ₃	12,85	15,76	0,5728	12,23
	TiO ₂	7,91 ³	12,38	0,4403	13,68
Co-Cr	FDNi	5,11 ³	-2,28	0,1307	11,09
	FDAi	10,05	2,51 ³	0,1039	10,41
	Cr ₂ O ₃	20,16	18,06	0,7031	13,13
	TiO ₂	15,21	14,69	0,9273	13,71
Co-Ti	FDNi	-13,06	-14,94	0,5629	7,70
	FDAi	-8,13	-10,14	0,5261	7,54
	Cr ₂ O ₃	1,99 ³	5,41 ³	0,4824	11,52
	TiO ₂	-2,96 ³	2,03 ³	0,4148	14,43

Yb-FDNI	FDNI	0,80 ³	-1,49 ³	0,2407	4,52
	FDAi	5,73	3,31	0,2043	4,41
	Cr ₂ O ₃	15,85	18,85	0,5541	12,07
	TiO ₂	10,90	15,48	0,4298	13,69
Yb-FDAi	FDNI	-0,67	-2,89	0,2206	4,20
	FDAi	4,26	1,90 ³	0,1798	4,04
	Cr ₂ O ₃	14,38	17,45	0,5462	12,09
	TiO ₂	9,43	14,07	0,4224	13,65
Co-Yb-FDNI	FDNI	12,99	11,80	0,5631	4,89
	FDAi	17,92	16,59	0,5597	5,42
	Cr ₂ O ₃	28,04	32,14	0,4984	14,36
	TiO ₂	23,09	28,77	0,3931	15,65
Co-Yb-FDAi	FDNI	10,98	8,64	0,2472	4,69
	FDAi	15,92	13,44	0,2664	5,18
	Cr ₂ O ₃	26,03	28,98	0,6190	14,15
	TiO ₂	21,08	25,61	0,4850	15,35

¹FDNI= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; Cr₂O₃= óxido crômico; TiO₂= dióxido de titânio; Co-FDNI, Co-FDAi, Co-Cr e Co-Ti = Co-EDTA associado à FDNI, FDAi, óxido crômico e ao dióxido de titânio, respectivamente; Yb-FDNI e Yb-FDAi= cloreto de itérbio associado à FDNI e FDAi, respectivamente; Co-Yb-FDNI e Co-Yb-FDAi= Co-EDTA associado ao cloreto de itérbio e associado à FDNI e FDAi, respectivamente. ²Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre período de coletas.

³O valor paramétrico zero está contido no intervalo de confiança (1 - α = 0,95).

Ao se analisar os desvios-padrão das combinações de indicadores (Tabela 5), observou-se que a combinação dos indicadores no omaso com FDNI e FDAi, e associações (duplo e triplo) com esses indicadores no íleo, foram as que obtiveram estimativas mais precisas. Nota-se que, embora o sistema triplo de indicadores tenha apresentado valores mais distantes de zero, a precisão foi semelhante à dos demais. Dias et al. (2007), comparando as combinações de indicadores, com exceção da combinação do Cr₂O₃, verificaram que as combinações FDNI+FDNI, FDAi+FDAi, Co-FDNI+FDNI e Co-FDAi+FDAi foram mais precisas do que a combinação dos indicadores omasais com o Cr₂O₃, como indicador ileal. Essa menor precisão para o Cr₂O₃ também foi verificada neste experimento e observada para o TiO₂, o que pode ser explicado pela menor precisão da estimativa dos fluxos omasal e ileal por estes indicadores (Tabela 3).

Comparando o intervalo de confiança (IC) para o coeficiente de digestibilidade da FDNcp no intestino delgado, considerando o pressuposto teórico de digestibilidade nula da FDNcp no intestino delgado, os indicadores que contiveram o valor paramétrico zero em seus respectivos IC foram considerados exatos (Tabela 5; anexo Tabela 4A). As combinações de indicadores que não foram exatas podem ter sido decorrentes dos indicadores não terem resultado em amostra representativa da digesta omasal.

As combinações de indicadores consideradas exatas, nos dois períodos de coleta, foram FDNI+FDNI, FDAi+FDAi, Cr₂O₃+Cr₂O₃, Cr₂O₃+TiO₂, TiO₂+Cr₂O₃, TiO₂+TiO₂,

Co-Ti+Cr₂O₃, Co-Ti+TiO₂ e Yb-FDNi+FDNi. As combinações FDAi+FDNi, FDAi+Cr₂O₃, Co-FDNi+FDNi, Co-FDAi+FDNi, Co-FDAi+TiO₂ e Yb-FDAi+FDNi foram exatas apenas no período diurno e FDNi+FDAi, Co-FDNi+FDAi, Co-FDAi+FDAi, Co-Cr+FDAi e Yb-FDAi+FDAi apenas no período diário. Dentre as combinações dos indicadores que contiveram o valor zero no IC, ou seja, foram eficientes em estimar a digestibilidade intestinal da FDNcp, as com indicadores iguais na digesta omasal da FU ou da FG e na ileal, de modo geral, foram precisas, pois apresentaram menor comprimento de IC e, conseqüentemente, menor variação de dados, confirmando os resultados observados na Tabela 5, na qual os valores para essas combinações de indicadores foram mais próximos de zero. Resultado semelhante foi observado por Dias et al. (2007).

Dentre as combinações de indicadores consideradas exatas, no período diurno, os menores comprimentos para o IC foram observados para FDNi+FDNi, FDAi+FDNi, FDAi+FDAi, Co-FDNi+FDNi, Co-FDAi+FDNi, Yb-FDNi+FDNi e Yb-FDAi+FDNi e, no período diário, FDNi+FDNi, FDNi+FDAi, FDAi+FDAi, Co-FDNi+FDAi, Co-FDAi+FDAi, Yb-FDNi+FDNi e Yb-FDAi+FDAi. Desta forma, as combinações FDNi+FDNi, FDAi+FDAi e Yb-FDNi+FDNi foram as mais precisas em ambos períodos de coleta. Por esses resultados, observa-se que as fibras indigestíveis apresentaram os melhores resultados, corroborando com os resultados já verificados neste experimento.

Considerando apenas o sistema duplo, embora as associações das fibras indigestíveis com o Co-EDTA e o YbCl₃ não tenham diferido ($P>0,05$) no período diurno ou diário, para o fluxo omasal, as associações do Co-EDTA com FDNi, FDAi, Cr₂O₃ e TiO₂ estimaram, com exatidão, o coeficiente de digestibilidade da FDNcp em pelo menos um período de coleta, enquanto o YbCl₃ só com as fibras indigestíveis. Entretanto, Fae et al. (2008b) verificaram perfis nictemerais para esses indicadores semelhantes na FLP da digesta omasal, sugerindo a possibilidade de ambos indicadores serem utilizados na estimativa do fluxo da digesta na FLP. Ao contrário, Ahvenjärvi et al. (2003) verificaram que estimativas do fluxo de FDN, matéria orgânica e nitrogênio foram mais precisas com Yb-Cr ou Yb-FDNi que com as associações de Co-EDTA. Entretanto, o uso de itérbio foi criticado devido à possível dissociação e migração durante passagem no trato gastrointestinal (Beauchemin & Buchanan-Smith, 1989), associação preferencial com partículas pequenas (Siddons et al., 1985) e degradação microbiana, deslocando o itérbio ligado ao alimento (Bernard & Doreau, 2000).

Devido às características descritas acima sobre o Yb e à utilização de duplo

indicador no omaso ser menos prática, embora as combinações de indicadores FDNi+FDNi, FDAi+FDAi e Yb-FDNi+FDNi terem sido as mais precisas, em ambos períodos de coleta, recomenda-se as duas primeiras combinações. Dias et al. (2007) também recomendaram o uso simultâneo de FDNi ou FDAi, no omaso e no íleo, para estimar a digestibilidade.

Para melhor avaliação dos sistemas dos indicadores, considerando que a digestibilidade ruminal de FDNcp do capim-Tifton é em torno de 90%, foi verificada a digestibilidade ruminal (% do digerido) de FDNcp estimado pelos diferentes indicadores usados no omaso, pela coleta total de fezes e o fluxo omasal diário (Tabela 6). Confirmando os resultados verificados anteriormente, a digestibilidade ruminal apresentou valores mais próximos a verificada na literatura com a utilização das fibras indigestíveis no sistema único ou no duplo com associação ao Co. A digestibilidade ruminal foi subestimada quando empregado o sistema triplo de indicadores e apresentou os menores valores. A utilização de Cr₂O₃, TiO₂ e Co-Ti resultaram em valores maiores que 100%. A digestibilidade ruminal estimada pelo sistema duplo de indicadores com o Co, foi maior e mais próximo ao valor observado na literatura que a com o Yb.

Tabela 6 Coeficientes de digestibilidade ruminal (% do digerido) de FDNcp estimado por diferentes indicadores usados no omaso

Indicadores ¹	Digestibilidade ruminal ² (CV= 14,34%) ³
FDNi	84,15
FDAi	88,25
Cr ₂ O ₃	107,09
TiO ₂	112,90
Co-FDNi	84,86
Co-FDAi	87,41
Co-Cr	83,13
Co-Ti	103,43
Yb-FDNi	76,15
Yb-FDAi	78,89
Co-Yb-FDNi	61,99
Co-Yb-FDAi	66,90

¹FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; Cr₂O₃= óxido crômico; TiO₂= dióxido de titânio; Co-FDNi, Co-FDAi, Co-Cr e Co-Ti = Co-EDTA associado à FDNi, FDAi, óxido crômico e ao dióxido de titânio, respectivamente; Yb-FDNi e Yb-FDAi= cloreto de itérbio associado à FDNi e FDAi, respectivamente; Co-Yb-FDNi e Co-Yb-FDAi= Co-EDTA associado ao cloreto de itérbio e associado à FDNi e FDAi, respectivamente. ²Considerando o fluxo omasal diário e a coleta total de fezes. ³Coeficiente de variação.

A excreção fecal foi subestimada pela utilização do Cr₂O₃ e TiO₂ e superestimada com a FDNi, enquanto que a estimativa a partir da FDAi não diferiu (P>0,05) da coleta

total de fezes (Tabela 7). Por causa disso, todos os coeficientes de digestibilidade dos diferentes nutrientes estimados pela FDAi não diferiram ($P>0,05$) com os da coleta total, enquanto os estimados pela FDNi foram subestimados e os de Cr_2O_3 e TiO_2 foram subestimados.

Tabela 7 Excreção fecal, coeficientes de digestibilidade total dos nutrientes estimados por diferentes métodos

Variáveis ³	Métodos ^{1,2}					CV (%) ⁴
	Coleta total	FDNi	FDAi	Cr ₂ O ₃	TiO ₂	
Excreção fecal (kg/dia)						
MS	2,303b	2,740a	2,497ab	1,889c	1,947c	10,32
Coeficiente de digestibilidade total (%)						
MS	65,27b	58,79c	62,48b	71,23a	70,38a	4,35
MO	67,03b	60,86c	64,38b	72,69a	71,90a	4,04
PB	69,68b	64,05c	67,27b	74,94a	74,17a	3,63
EE	59,13b	51,78c	56,03b	66,21a	65,40a	5,86
FDNcp	65,17b	58,81c	62,51b	71,13a	70,34a	4,27
CNF	62,34b	54,86c	58,81bc	68,96a	68,23a	6,62

¹FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; Cr_2O_3 = óxido crômico; TiO_2 = dióxido de titânio. ²Médias, na mesma linha, seguidas por letras diferentes, são diferentes pelo teste de Tukey ($P<0,05$). ³MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; PB= proteína bruta; EE= extrato etéreo; CHO= carboidratos totais; FDNcp= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína; CNF= carboidratos não-fibrosos. ⁴Coeficiente de variação.

Existem na literatura vários trabalhos comparando a FDNi e a FDAi, porém os dados são diversificados. Dias et al. (2008) observaram que a FDAi apresentou melhor recuperação e produziu estimativas similares para a excreção fecal e a digestibilidade total quando comparada com a coleta total de fezes, enquanto que as estimativas com FDNi diferiram. O mesmo resultado foi observado por Freitas et al. (2002), no entanto, ambos indicadores foram adequados para estimar o fluxo de digesta duodenal, o que não ocorreu com o Cr_2O_3 . Ítavo et al. (2002), avaliando a utilização do Cr_2O_3 e da FDAi para estimar a produção fecal e a digestibilidade dos nutrientes em bovinos, relataram que do Cr_2O_3 subestimou a digestibilidade e sugeriram a FDAi como melhor indicador.

Zeoula et al. (2002) relataram que a FDAi subestimou a digestibilidade aparente da MS quando comparada à coleta total de fezes. Pina et al. (2006), também observaram melhor resposta com a utilização de FDNi. Detmann et al. (2001) avaliaram o óxido crômico e diversos indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços. A FDNi juntamente com a matéria seca indigestível (MSi) não diferiram entre si nos resultados de consumo de matéria seca, sendo recomendados para estudos com animais em pastejo. Neste experimento, a FDAi mostrou resultados variáveis entre tratamentos, sendo em média superior à MSi e FDNi e inferior à digestibilidade *in vitro*

da matéria seca. Titgemeyer et al. (2001) também verificaram que a excreção fecal estimada pelo do Cr_2O_3 e TiO_2 diferiram da estimada pela coleta total.

Conclusões

A amostragem da digesta omasal pode ser realizada somente no período diurno em vez de um período de 24 horas.

Recomenda-se a utilização simultânea de FDNi ou FDAi, no omaso e no íleo, para estimar o fluxo de digesta.

Literatura citada

- AHVENJÄRVI, S.; JOKI-TOKOLA, E.; VANHATALO, A. et al. Effects of replacing grass silage with barley silage in dairy cow diets. *Journal of Dairy Science*, v.89, n.5, p.1678-1687, 2006.
- AHVENJÄRVI, S.; SKIBA, B.; HUHTANEN, P. Effect heterogeneous digesta chemical composition on the accuracy of measurements of fiber flow in dairy cows. *Journal of Animal Science*, v.79, n.6, p.1611-1620, 2001.
- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; HUHTANEN, P. et al. Determination of reticule-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. *British Journal of Nutrition*, v.83, n.1, p.67-77, 2000.
- AHVENJÄRVI, S.; VANHATALO, A.; SHINGFIELD, K.J. et al. Determination of digesta flow entering the omasal canal of dairy cows using different marker systems. *British Journal of Nutrition*, v.90, n.1, p.41-52, 2003.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. *Official methods of analysis*. 15. ed., v.1. Virginia: Arlington. 1990. 1117p.
- BEAUCHEMIN, K.A.; BUCHANAN-SMITH, J.G. Evaluation of markers, sampling sites and models for estimating rates of passage of silage or hay in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, v.27, p.59-75, 1989.
- BERNARD, L.; DOREAU, M. Use of rare earth elements as external markers for mean retention time measurements in ruminants. *Reproduction Nutrition Development*, v.40, n.2, p.89-101, 2000.
- DETMANN, E.; CECON, P.R.; PAULINO, M.F. et al. Estimação de parâmetros da cinética de trânsito de partículas em bovinos sob pastejo por diferentes seqüências amostrais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.1, p.222-230, 2001.
- DIAS, M.; LEÃO, M.I.; DETMANN, E. et al. Técnicas para estimativa da digestibilidade e produção microbiana em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.3, p.504-512, 2008.
- DIAS, M.; LEÃO, M.I.; DETMANN, E. et al. Técnicas para estimativa da digestibilidade e produção microbiana em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.3, p.504-512, 2008.
- DIAS, M.; LEÃO, M.I.; NASCIMENTO, V.A. et al. Perfil nictemeral de indicadores na

- digesta omasal. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA, 45., 2008b, Lavras. *Anais...* São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia/Gmosis, [2008b]. (CD-ROM).
- FAE, J.T.; DIAS, M.; LEÃO, M.I. et al. Perfil nictemeral de indicadores na fase de grandes partículas da digesta omasal. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA, 45., 2008a, Lavras. *Anais...* São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia/Gmosis, [2008a]. (CD-ROM).
- FAE, J.T.; DIAS, M.; LEÃO, M.I. et al. Tempos de infusão e indicadores no fluxo de digesta omasal. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA, 45., 2008b, Lavras. *Anais...* São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia/Gmosis, [2008b]. (CD-ROM).
- FAICHNEY, G.J. The use of markers to partition the digestion within the gastrointestinal tract of ruminants. In: McDONALD, I.W.; WARNER, A.C.I. (ed.). *Digestion and metabolism in the ruminant*. Armidale, Australia: University England Publishing Unit, p.277-291, 1975.
- FRANCE, J.; SIDONS, R.C. Determination of digesta flow by continuous marker infusion. *Journal of Theoretical Biology*, v.121, n.2, p.105-119, 1986.
- FREITAS, D.; BERCHIELLI, T.T.; SILVEIRA, R.N. Consumo e digestibilidade aparente total e parcial de rações com cana-de-açúcar e raspa de mandioca ensilados com polpa cítrica. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.3, p.1531-1542, 2002. (suplemento)
- HARMON, D.L.; RICHARDS, C.J. Considerations for gastrointestinal in ruminants. *Journal of Animal Science*, v.75, n.8, 2248-2255, 1997.
- HUHTANEN, P.; BROTZ, P.G.; SATTER, L.D. Omasal sampling technique for assessing fermentative digestion in the forestomach of dairy cows. *Journal of Animal Science*, v.75, n.5, p.1380-1392, 1997.
- ÍTAVO, L.C.V.; SILVA, F.F.; FERREIRA, C.C.B. et al. Comparação de indicadores e metodologia de coleta para estimativas de produção fecal e fluxo da digesta em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.4, p.1833-1839, 2002.
- LEÃO, M.I. *Metodologias de coletas de digestas omasal e abomasal em novilhos submetidos a três níveis de ingestão: consumo, digestibilidade e produção microbiana*. 2002. Belo Horizonte, MG: UFMG-Escola de Veterinária, 57p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2002.
- MERCHEN, N.R. Digestion, absorption and excretion in ruminantes In: CHURCH, D.C. (Ed.) *The ruminant animal digestive physiology and nutrition*. 4.ed. Carvallis: O&B Books. 1993. p.172-201.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGHUGU, V. et al. Technical Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *Journal of Animal Science*, v.82, p.179-183, 2004.
- OLMOS COLMENERO, J.J.; BRODERICK, G.A. Effect of dietary crude protein concentration on ruminal nitrogen metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.89, n.5, p.1694-1703, 2006.
- PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. *Journal of Dairy Science*, v.76, n.4, p.1063-1073, 1993.
- PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E. et al. Efeitos de indicadores e dias de coleta na digestibilidade dos nutrientes e nas estimativas do valor

- energético de alimentos para vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n.6, p.2461-2468, 2006.
- REYNAL, S.M.; BRODERICK, G.A.; LARGET, B. Short Communication: Effectiveness of sample duplication to control error in ruminant digestion studies. *Journal of Dairy Science*, v.86, n.9, p.3501-3504, 2006.
- SAVASTANO, S. *Efeito do nível de concentrado sobre os parâmetros digestivos do feno de capim gordura (Melinis minutiflora Pal de Beauv), em bovinos*. Belo Horizonte: Escola de Veterinária, 1993. 142p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 1993.
- SAS. *SAS/STAT User's Guide (Release 8.0)*, SAS Inst., Inc., Cary, NC. 1999.
- SIDDONS, R.C.; PARADINE, J.; BEEVER, D.E. et al. Ytterbium acetate as a particulate-phase digesta-flow marker. *British Journal of Nutrition*, v.54, n.2, p.509-520, 1995.
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluation cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- TIBO, G.C.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de concentrado em dietas de novilhos mestiços F1 Simental x Nelore. 1 Consumo e digestibilidades. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n.3, p.910-920, 2000.
- TITGEMEYER, E.C.; ARMENDARIZ, C.K.; BINDEL, D.J. et al. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *Journal of Animal Science*, v.79, p.1059-1063, 2001.
- ÚDEN, P.; COLUCCI, P.E.; VAN SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.31, n.7, p.625-632, 1980.
- ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.; DIAN, P.H.M. et al. Recuperação fecal de indicadores internos avaliados em ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.4, p.1865-1874, 2002.

INDICADORES E MODELOS MATEMÁTICOS PARA ESTUDO DA CINÉTICA DE PASSAGEM DE PARTÍCULAS E DE FLUIDOS EM BOVINOS

Resumo: Objetivou-se avaliar indicadores e modelos matemáticos para estimativa da cinética de passagem de partículas e líquido. Utilizaram-se quatro novilhas Holandês-Zebu com fístulas no rúmen e íleo, em quadrado latino 4x4. As dietas consistiram de fatorial 2x2, dois volumosos (cana-de-açúcar e silagem de milho) e dois níveis de concentrado (0 e 25% da MS da dieta total). Do 8º ao 14º dia realizou-se a estimativa de trânsito de digesta com indicadores, usando a fibra mordantada com cromo (Cr), európio (Eu) e itérbio (Yb) para marcar a fase sólida dos volumosos, e o complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) para a líquida. As curvas de concentração dos indicadores de fase sólida foram ajustadas ao modelo multicompartimental ($G_{1(n)} \rightarrow O$) e bicompartimental ($G_2 \rightarrow G_1 \rightarrow O$) e as de fluidos pelo modelo unicompartimental tempo-independente ($G_1 \rightarrow$) e o tempo-dependente ($G_2 \rightarrow$). A k_2 do modelo multicompartimental foi aproximadamente o dobro do modelo bicompartimental, enquanto os k_1 foram semelhantes. Tanto nos modelos multi como bicompartimental, a utilização do Yb resultou no comportamento gráfico e na uniformidade dos pontos menos adequado dentre os indicadores avaliados, enquanto que o Cr representou melhor os dados para a taxa de passagem de sólidos. Comparando os modelos, o modelo multicompartimental foi melhor que o bicompartimental. Os modelos avaliados para a taxa de passagem de fluidos apresentaram comportamento semelhante, mas o desvio padrão assintótico foi menor para o modelo tempo-dependente. O cromo e o Co-EDTA são bons indicadores para avaliação da taxa de passagem de partículas e fluidos, respectivamente. Os modelos recomendados para a taxa de passagem de partículas é o multicompartimental ($G_{1(n)} \rightarrow O$) e, para fluidos, o unicompartimental tempo-dependente ($G_2 \rightarrow$).

Palavras-chave: Co-EDTA, cromo mordante, európio, taxa de passagem, itérbio

Markers and mathematical models to study the passage kinetics of particles and fluids in cattle

Abstract: It was aimed at to evaluate markers and mathematical models to estimate the passage kinetics of particles and fluids. Four Holstein-Zebu heifers, rumen and ileum fistulated, were used in a 4x4 Latin square. The diets consisted of a 2x2 factorial, two roughages (sugarcane and corn silage) and two concentrate levels (0 and 25% of total diet DM). From the 8th to the 14th day the estimate of digesta flow was accomplished with markers, using the fiber mordanted with chrome (Cr), europium (Eu) and ytterbium (Yb) to mark the roughage solid phase and the Co-EDTA compound for the fluid phase. The markers concentration curves of solid phase were adjusted to the multi-compartmental ($G_{1(n)} \rightarrow O$) and bi-compartmental ($G_2 \rightarrow G_1 \rightarrow O$) models and that of fluids by the time-independent ($G_1 \rightarrow$) and time-dependent ($G_2 \rightarrow$) uni-compartmental model. The k_2 of the multi-compartmental model was approximately the double of that of the bi-compartmental model, while the k_1 were similar. Both in the multi as in the bi-compartmental models, the use of Yb resulted in the least appropriate graphic behavior and uniformity of the points among the evaluated markers, while Cr was the one which best represented the data of solids passage rate. Comparing the models, the multi-compartmental model was better than the bi-compartmental. The models evaluated for fluids passage rate presented similar behavior, but the asymptotic standard deviation was smaller for the time-dependent model. Chrome and Co-EDTA are good indicators to evaluate particles and fluids passage rate, respectively. The models

recommended for particles passage rate was the multi-compartmental ($G_{1(n)} \rightarrow 0$) and, for fluids, the time-dependent uni-compartmental ($G_2 \rightarrow$).

Keywords: Co-EDTA, europium, mordent chromium, passage rate, ytterbium

Introdução

Nas últimas décadas, diversos modelos matemáticos têm sido desenvolvidos com o objetivo de representar e estimar a taxa de passagem de partículas e fluidos. Com esses modelos, obtém-se estimativas dos parâmetros da cinética de passagem, a partir do ajuste de diferentes modelos aos dados, que explicam o mecanismo de escape das partículas e dos fluidos da câmara fermentativa ruminal, e contribuem para melhorar a predição e o ajuste do aporte de nutrientes às exigências do animal. Isso é importante, especialmente no caso de forragens tropicais, que apresentam baixa degradação da fibra e lenta taxa de passagem ao longo do trato gastrointestinal, resultando em baixo consumo voluntário e desempenho animal (Huhtanen et al., 1997).

A cinética de trânsito ou passagem refere-se ao fluxo de resíduos não-digeridos do alimento ao longo do trato digestivo, podendo ser estimado por métodos diretos e indiretos. As medições diretas do conteúdo ruminal e da taxa de passagem podem ser realizadas fazendo-se a evacuação ruminal e a determinação do fluxo diário de material que deixa o rúmen, utilizando-se animais fistulados no rúmen. Entre os métodos indiretos, tem sido utilizada a técnica *in situ*, para determinação de taxas de degradação e a marcação das partículas do alimento com cromo ou terras raras (indicadores mordentados), para estimar as taxas de passagem.

Os indicadores mordentados empregados na estimação da cinética de trânsito da digesta é realizada por intermédio do ajustamento à curva de excreção do indicador nas fezes de modelos matemáticos não-lineares, como os descritos por Grovum & Willians (1973), Ellis et al. (1979) e Dhanoa et al. (1985), os quais atribuem ao trato digestivo características compartimentais, sequenciais e irreversíveis (France et al., 1988).

Ampla número de substâncias tem sido avaliado como indicadores para estudar a função digestiva nos ruminantes, sendo classificados em internos (ocorre naturalmente no alimento) ou externos (adicionado na dieta ou administrado ao animal). Recentemente, foi proposta uma nova classe, os intra-indicadores, que não se designam substâncias únicas, mas, grupamentos constituintes de substâncias que podem ser utilizadas como indicadores (Saliba et al., 1999). Determinado tipo de lignina com grupamentos fenólicos, não encontrados normalmente no composto *in natura*, foi enriquecida originando um hidroxifenilpropano modificado, a lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]) que vem sendo utilizada como indicador. Agora está sendo desenvolvido um indicador líquido considerando alguns compostos fenólicos da lignina (p-hidroxibenzaldeído, siringaldeído, vanilina).

Na literatura são encontrados artigos comparando diferentes modelos, entretanto, o modelo a ser usado para descrever o movimento da digesta através do trato gastrointestinal ainda apresenta dúvidas, uma vez que diferenças no tipo de forragem, no tamanho de partículas marcadas e na espécie animal podem influenciar na escolha do modelo.

Podem ocorrer variações nas estimativas dos parâmetros da cinética de trânsito, como a taxa de passagem, devido à quantificação das partículas complexadas; à variação devido às diferentes propriedades físicas entre as partículas e o alimento; e ao grau de complexação dos elementos marcados, que podem migrar das partículas marcadas (Beauchemin & Buchanan-Smith, 1989).

Apesar de vários modelos terem sido propostos, não existe um critério seguro para determinar qual modelo é mais apropriado para as diferentes condições encontradas. Desta forma, objetivou-se avaliar indicadores e modelos matemáticos para estimação de parâmetros da cinética de passagem de partículas e fluidos.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da mesma instituição, excetuando a análise dos compostos fenólicos da lignina que foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Foram utilizadas quatro novilhas mestiças Holandês-Zebu, fistuladas no rúmen e no íleo, com peso vivo médio inicial de 422,3±8,8 kg e idade de 24 meses, mantidas em baias individuais de alvenaria de 3 m², cobertas, com bebedouros automáticos, comedouros e pisos recobertos com borracha.

O delineamento experimental foi o quadrado latino 4x4, compreendendo quatro animais, quatro períodos e quatro dietas. As dietas consistiram de um fatorial 2x2, dois volumosos e dois níveis de concentrado (Tabela 1). Os volumosos avaliados foram a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e a silagem de milho (*Zea mays*) sem a adição de concentrado (Tcana, Tmilho) e com 25% na matéria seca (MS) da dieta total (TcanaC, TmilhoC).

O concentrado foi composto, em base de MS, de 66,56% de fubá de milho e 33,44% de farelo de soja. O sal mineral foi composto de 49,64% de sal; 50,00% de

fosfato bicálcio; e 0,18% de sulfato de zinco; 0,15% de sulfato de cobre; 0,01% de sulfato de cobalto, 0,01% de iodato de potássio e 0,01% de selenito de sódio. Para tornar as dietas isoprotéicas, foram adicionados 1% e 0,5% de uréia na matéria natural da cana-de-açúcar picada e da silagem de milho, respectivamente, diluídos em água e aspergidos sobre o volumoso, no cocho, durante o arração. O arração foi realizado duas vezes ao dia (8h00 e 16h00), com a dieta e o sal mineral fornecidos *ad libitum*.

Tabela 1 Composição química dos alimentos e do concentrado (% na MS)

Variável	Cana-de-açúcar	Silagem de milho	Concentrado
MS	25,76	26,44	89,50
MO	95,12	93,58	97,02
PB	3,82	7,71	22,43
EE	1,01	2,02	2,42
FDN _{cp}	51,40	57,12	10,37
CNF ¹	38,89	26,73	61,80
FDNi	27,45	19,78	1,55
FDAi	15,88	11,04	0,51

¹Carboidratos não-fibrosos: $100 - (\%PB + \%EE + \%MM + \%FDN_{cp})$.

A duração do experimento foi de 64 dias, com quatro períodos experimentais de 16 dias, compreendendo sete dias de adaptação dos animais a dieta e nove dias de coleta de dados. Do oitavo ao 14º dia foram realizadas coletas de fezes diretamente do reto para mensurar a curva de excreção fecal dos indicadores. Do oitavo ao 10º dia, foram coletadas amostras de líquido ruminal.

Foram coletadas amostras de concentrado para posteriores análises e, no período de coleta, amostras do volumoso e das sobras de alimento, todos os dias antes do arração matinal para a quantificação do consumo de FDNi.

Do oitavo ao 14º dia foi realizada a avaliação de trânsito de digesta com indicadores usando a fibra mordentada com cromo (Cr) e complexada com európio (Eu) e itérbio (Yb) para marcar a fase fibrosa dos volumosos (silagem de milho e cana-de-açúcar) e o complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA) e os compostos fenólicos da lignina para a fase líquida. O preparo do Co-EDTA e a fibra mordente com Cr foi feito segundo descrito por Udén et al. (1980) e os demais indicadores por Ellis & Beever (1984), citados por Pereira (1992). As doses utilizadas foram de 100 g de cada fibra mordentada com Cr e complexada com Eu e Yb por animal, 15 g de Co-EDTA (1.672 mg de Co) e 20 mL da solução contendo os compostos fenólicos da lignina, os quais foram colocados diretamente no rúmen dos

animais, via fístula ruminal, imediatamente antes do arraçoamento matinal do oitavo dia. Os indicadores líquidos foram previamente diluído em 400 mL de água. As coletas de amostras de fezes foram feitas nos seguintes horários: 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120 e 144 horas após a introdução dos indicadores de fases líquida e sólida; e amostras de líquido ruminal foram realizadas 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 36 e 48 após a introdução dos indicadores.

O líquido ruminal coletado foi filtrado em tecido de algodão e amostrado 50 mL para dosagem de Co e 60 mL para a análise do teor de p-hidroxibenzaldeído, siringaldeído e vanilina.

Imediatamente após a coleta das sobras, foi feita a pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C, durante 72 horas. Após secas e moídas (1 mm) em moinho de faca tipo Willey, foram compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal e período antes de serem armazenadas.

Todas as amostras foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS; AOAC, 1990) e nas amostras de fezes foram submetidas à análise de teor de Cr, Eu e Yb por espectrometria de plasma, utilizando digestão nitroperclórica, conforme método descrito por Savastano (1993).

O líquido ruminal coletado para a dosagem de Co foi congelado e posteriormente centrifugado a 16.000 g, por 15 minutos, em temperatura de 22°C. O sobrenadante foi armazenado e analisado por espectrofotometria de absorção atômica para o teor de cobalto. O líquido ruminal para análise do teor de p-hidroxibenzaldeído, siringaldeído e vanilina, foi seco (60°C) e analisado em espectroscopia no infravermelho, sendo utilizado para a avaliação da taxa de passagem de fluido a soma da concentração dos três compostos.

As curvas de concentração dos indicadores de fase sólida foram ajustadas a dois diferentes modelos matemáticos não-lineares, propostos por Dhanoa et al. (1985) e Pond et al. (1988), ($G_{1(n)} \rightarrow O$ e $G_2 \rightarrow G_1 \rightarrow O$, respectivamente) apresentados abaixo:

- Modelo $G_{1(n)} \rightarrow O$: Modelo Multicompartimental

$$Y = Ae^{-k_1 t} \exp[-Be^{-k_2 t}]$$

Em que: Y = concentração fecal do indicador num determinado tempo “t” (h); t = tempo (h); A e B = parâmetros de escala (biologicamente indefinidos); k_1 (h^{-1}) = taxa de passagem no rúmen; e k_2 (h^{-1}) = taxa de passagem no pós-rúmen.

- Modelo $G_2 \rightarrow G_1 \rightarrow O$: Modelo Bicompartimental com distribuição gama para um compartimento e exponencial para o outro

$$Y = C_2 [\delta^2 e^{-k_2 (t-TT)} - e^{-\lambda_1 (t-TT)} (\delta^2 + \delta \lambda_1 t)]$$

Em que: C_2 = concentração inicial do indicador no segundo compartimento; k_2 = a taxa para os tempos de permanência com distribuição exponencial; t = tempo (h); TT = tempo de trânsito; λ_1 = parâmetro-taxa para os tempos de permanência com distribuição gama; e $\delta = \lambda_1 / (\lambda_1 - k_2)$.

Para estimação da taxa de passagem de fluidos, as curvas de concentração ruminal do cobalto foram ajustadas ao modelo proposto por Colucci et al. (1990) e Ellis et al. (1994), $G_1 \rightarrow$ e $G_2 \rightarrow$, respectivamente, apresentados abaixo:

- Modelo $G_1 \rightarrow$: Unicompartimental com distribuição exponencial, tempo-independente

$$Y = Ae^{-k_1 t}$$

Em que: Y = concentração do indicador no tempo “ t ”; A = concentração do indicador no tempo “zero”; k_1 = taxa de passagem ou de diluição do indicador; e t = tempo (h).

- Modelo $G_2 \rightarrow$: Unicompartimental com distribuição gama-2, tempo-dependente

$$Y = A e^{-\lambda t} (1 + \lambda t)$$

Em que: Y = concentração do indicador no tempo t ; A = concentração do indicador no tempo “zero”; λ = parâmetro-taxa para os tempos de permanência com distribuição gama-2; e t = tempo (h).

Para o modelo $G_2 \rightarrow G_1 \rightarrow O$ e o $G_2 \rightarrow$ o k_1 foi calculado multiplicando-se λ (parâmetro-taxa) por 0,59635, uma constante para estimar a taxa de passagem em modelos gama-2 (Ellis et al., 1994).

Todas as análises dos dados foram realizadas no programa SAS versão 9.0 (2002) a 5% de probabilidade. Todos os ajustamentos não-lineares dos modelos matemáticos foram realizados pelo método de alogaritmo de Marquardt. A qualidade do ajustamento das equações não-lineares foi avaliada por intermédio do desvio-padrão assintótico (DPA) e do resíduo padronizado (RP) conforme Detmann et al. (2007) onde as análises de resíduos foram calculadas pela diferença entre o valor observado e o estimado. Adotou-se ainda, o coeficiente de variação assintótico (CVa), sendo calculado como o DPA dividido pela média da concentração do indicador, afim de expressar a variabilidade dos dados tirando a influência da ordem de grandeza da variável.

Os valores de desvio-padrão assintótico foram estimados pelo método da máxima verossimilhança:

$$DPA = \sqrt{\frac{\sum_i \hat{e}_i^2}{n}} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n}}$$

Em que: DPA = desvio padrão assintótico; $\hat{e}_i$ = erro relativo à observação i ; y_i = valor observado i ; $\hat{y}_i$ = valor estimado i ; e n = número de observações.

Os resíduos padronizados foram obtidos a partir da relação:

$RP = \hat{e}_i/DPA = (y_i - \hat{y}_i)/DPA$, em que: RP = resíduo padronizado i .

Foi avaliada a dispersão dos resíduos padronizados em função dos tempos de incubação, e analisado o comportamento gráfico, ou seja, sua uniformidade e maior proximidade de zero. Quando observada alguma tendenciosidade na dispersão dos resíduos, o modelo foi considerado menos adequado à descrição dos perfis de excreção fecal do indicador.

Resultados e Discussão

No modelo multicompartimental, as taxas de passagem pelo rúmen (k_1) e pelo pós-rúmen (k_2), para todos os indicadores e dietas, apresentaram relação k_2/k_1 superior a 1,5 (Tabela 2). De acordo com Ellis et al. (1994), a razão k_2/k_1 superior a 1,5 indica que o segundo compartimento é confiável e estabelece uma distinção real de dois compartimentos. Para o modelo bicompartimental, as estimativas geradas pelo uso do Cr, com exceção da dieta de cana-de-açúcar mais 25% de concentrado, atenderam essa condição (Tabela 3). O európio, para as dietas com cana-de-açúcar, também atendeu essa condição; já para as dietas com silagem de milho, apresentou valores próximos ao desejável (1,46). Entretanto, para o Yb, os valores foram inferiores a 1,5. Essa condição pode ser explicada pelo ajustamento de um modelo que especifica dois compartimentos tempo-independentes a dados resultantes de compartimentos tempo-dependente; existência de dois compartimentos aproximadamente de mesma massa e, consequentemente, com taxas semelhantes; ou, ainda, a existência de um compartimento tempo-dependente ao invés de dois compartimentos tempo-independentes distintos. Além disso, o fato de λ tender a k , como foi o caso do modelo bicompartimental, na dieta de cana-de-açúcar, é inconsistente com a hipótese de haver dois compartimentos sequenciais, podendo resultar em consideráveis erros de estimação para λ (Ellis et al., 1994).

A taxa de passagem no retículo-rúmen (k_1), no modelo multicompartimental, foi menor com a utilização do Cr em relação às terras raras, que apresentaram valores mais

próximos entre si. Para a taxa de passagem pós-ruminal (k_2), a dieta contendo apenas cana-de-açúcar resultou em valores próximos entre os indicadores, as com silagem-de-milho apresentaram taxas crescentes ($Cr < Eu < Yb$), enquanto a dieta com cana-de-açúcar mais 25% de concentrado, com o európio, resultou na menor taxa, seguida do Cr e do Yb, sugerindo diferenças entre os indicadores. Huhtanen & Kukkonen (1995) também verificaram taxa de passagem maior com o uso do Cr do que com o Yb.

A k_2 do modelo multicompartimental foi aproximadamente o dobro do modelo bicompartimental, enquanto as k_1 foram semelhantes. Dhanoa et al. (1985) e Beachemin & Buchanan-Smith (1989) também verificaram valores semelhantes para k_1 e maiores para k_2 , no modelo multicompartimental, comparado com o bicompartimental.

Tabela 2 Estimativas de parâmetros de modelos não-lineares da taxa de passagem de sólidos, utilizando diferentes indicadores, no modelo $G_{1(n)} \rightarrow 0$

Parâmetro ²	Dieta ¹			
	Tcana	TcanaC	Tmilho	TmilhoC
	Cromo			
k_1 (h^{-1})	0,0174	0,0081	0,0370	0,0289
k_2 (h^{-1})	0,0514	0,0633	0,0826	0,0767
k_2/k_1	2,95	7,81	2,23	2,65
DPA	74,46	94,61	55,30	76,32
CVa	0,59	0,90	0,45	0,58
	Európio			
k_1 (h^{-1})	0,0219	0,0151	0,0580	0,0450
k_2 (h^{-1})	0,0624	0,0469	0,1137	0,1049
k_2/k_1	2,85	3,11	1,96	2,33
DPA	6,81	8,74	3,01	4,58
CVa	0,74	1,22	0,48	0,61
	Itérbio			
k_1 (h^{-1})	0,0261	0,0213	0,0624	0,0450
k_2 (h^{-1})	0,0570	0,1543	0,1483	0,1842
k_2/k_1	2,18	7,24	2,38	4,09
DPA	8,05	7,31	1,61	4,78
CVa	1,11	1,18	0,76	1,33

¹Tcana e Tmilho = dieta com cana-de-açúcar e silagem de milho, respectivamente; TcanaC e TmilhoC = Tcana e Tmilho com 25% de concentrado na MS total, respectivamente. ² k_1 e k_2 = taxas de trânsito através dos compartimentos; k_2/k_1 = razão das taxas de passagem; DPA = desvio-padrão assintótico; CVa = coeficiente de variação corrigido pela concentração média do indicador.

Ao comparar os DPA dos modelos, para o mesmo indicador e dieta, estes foram semelhantes, com valores inferiores para o modelo multicompartimental. Como este parâmetro está vinculado à concentração do indicador, a fim de expressar a variabilidade dos dados, tirando a influência da ordem de grandeza dessa variável, para comparação entre os diferentes indicadores, adotou-se o CVa. Com base nesses valores, observa-se que, embora o DPA tenha sido maior para o Cr, o CVa foi menor para o Cr

em relação às terras raras, e o Yb apresentou o maior valor. Desta forma, o Cr apresenta melhor precisão dos dados e o Yb a menor.

Analisando os gráficos de dispersão dos resíduos padronizados, desconsiderando-se o ponto referente à zero hora, tanto no modelo multi como bicompartimental, a utilização do Yb resultou no comportamento gráfico e na uniformidade dos pontos menos adequados dentre os indicadores avaliados (Figuras 1 a 6), enquanto o Cr representou melhor os dados. No modelo multicompartimental, as diferenças na dispersão dos valores entre o Cr e o európio foram menos evidentes, mas, no bicompartimental, o uso de európio resultou na superestimativa dos valores, seguido da subestimativa, nas primeiras horas, com melhor visualização desse comportamento nas dietas com silagem-de-milho (Figuras 4 e 5), demonstrando o Cr foi superior em relação às terras raras, em ambos modelos. Esses resultados são confirmados pelos resultados anteriores, nos quais o Cr apresentou o menor CVa e o Yb, o maior (Tabelas 2 e 3).

A melhor precisão do Cr em relação aos terras raras pode ser explicada pela quantificação das partículas complexadas; à variação devido às diferentes propriedades físicas entre as partículas e o alimento; e ao grau de complexação dos elementos marcados, que podem migrar das partículas marcadas (Beauchemin & Buchanan-Smith, 1989). Os locais de ligação do Yb à fibra do alimento são de alta e baixa afinidade (Teeter et al., 1984; Worley et al., 2003). Os locais de baixa afinidade são ligados após a saturação dos locais de alta afinidade, sendo notada dissociação até mesmo em solução aquosa, mas, principalmente, em condições ácidas (Bernard & Doreau, 2000; Worley et al., 2003). Com base nestes resultados, é recomendado dosar a fibra com pouco indicador, para saturar só os locais de alta afinidade e evitar problemas com a detecção e a dissociação do indicador nos locais de baixa afinidade (Teeter et al., 1984; Worley et al., 2003), uma vez que a dissociação dos indicadores das partículas marcadas ocasiona erros nas estimativas dos parâmetros da cinética de digestão (Richart & Schlecht, 2006).

Tabela 3 Estimativas de parâmetros de modelos não-lineares da taxa de passagem de sólidos, utilizando diferentes indicadores, no modelo $G_2 \rightarrow G_1 \rightarrow 0$

Parâmetro ²	Dieta ¹			
	Tcana	TcanaC	Tmilho	TmilhoC
Cromo				
Λ	0,0368	0,0597	0,0611	0,0559
k_1	0,0219	0,0356	0,0364	0,0333
k_2	0,0340	0,0107	0,0547	0,0523
k_2/k_1	1,55	0,30	1,50	1,57
DPA	74,86	94,25	58,76	76,66
CVa	0,59	0,89	0,48	0,58
Európio				
Λ	0,0361	0,0307	0,0645	0,0671
k_1	0,0215	0,0183	0,0385	0,0400
k_2	0,0337	0,0280	0,0561	0,0585
k_2/k_1	1,57	1,53	1,46	1,46
DPA	7,21	8,76	4,68	5,13
CVa	0,78	1,22	0,75	0,68
Itérbio				
Λ		0,0555	0,0771	0,0757
k_1		0,0331	0,0460	0,0451
k_2		0,0447	0,0676	0,0633
k_2/k_1		1,35	1,47	1,40
DPA		7,44	1,95	4,99
CVa		1,20	0,91	1,39

¹Tcana e Tmilho = dieta com cana-de-açúcar e silagem de milho, respectivamente; TcanaC e TmilhoC = Tcana e Tmilho com 25% de concentrado na MS total, respectivamente. ² λ = taxa para os tempos de permanência com distribuição gama; k_1 e k_2 = taxas de trânsito através dos compartimentos; k_2/k_1 = razão das taxas de passagem; DPA = desvio-padrão assintótico; CVa = coeficiente de variação corrigido pela concentração média do indicador.

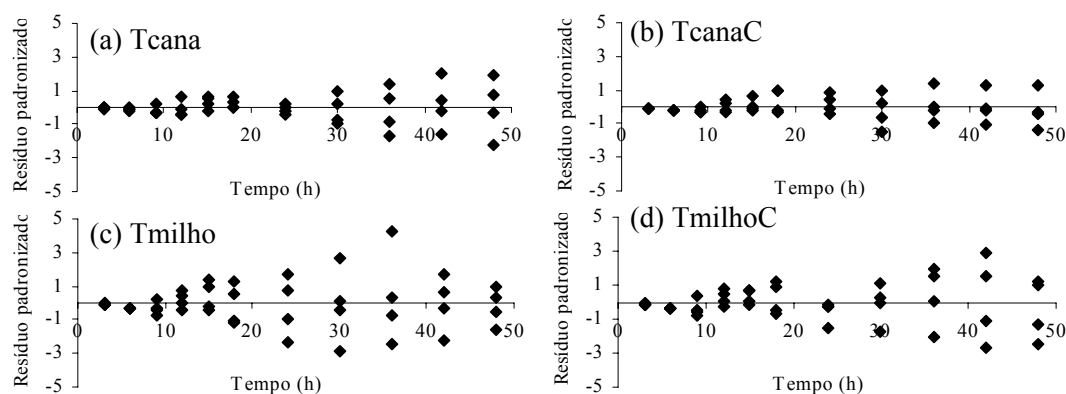


Figura 4.1 Dispersão gráfica dos resíduos padronizados nos tempos de coleta (h) do modelo $G_{1(n)} \rightarrow 0$, utilizando cromo como indicador para diferentes dietas: (a) Tcana; (b) TcanaC; (c) Tmilho; (d) TmilhoC.

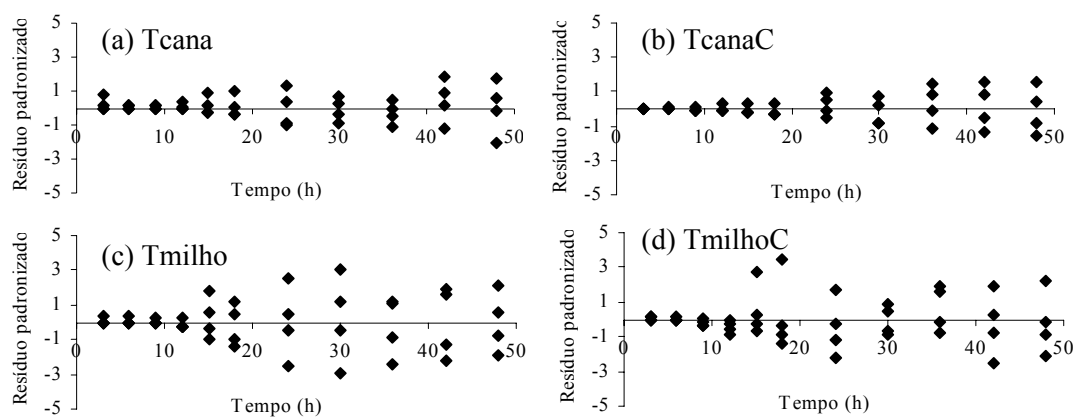


Figura 2 Dispersão gráfica dos resíduos padronizados nos tempos de coleta (h) do modelo $G_{1(n)} \rightarrow 0$, utilizando európio como indicador para diferentes dietas: (a) Tcana; (b) TcanaC; (c) Tmilho; (d) TmilhoC.

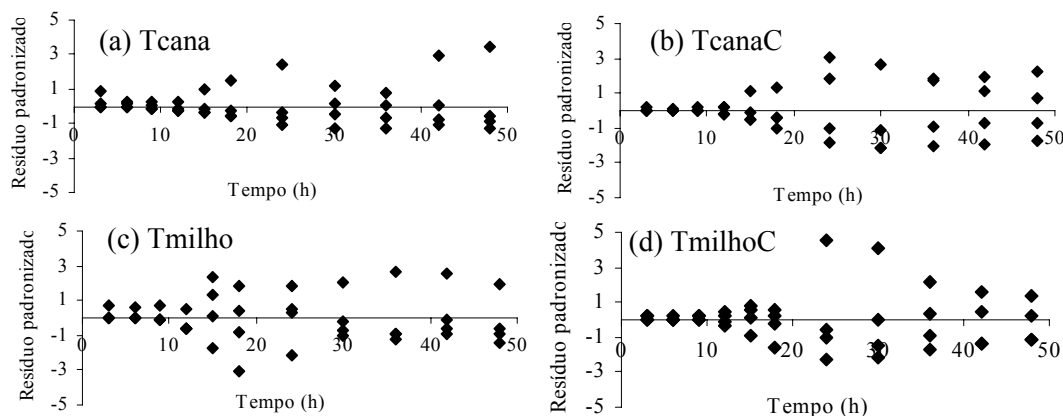


Figura 3 Dispersão gráfica dos resíduos padronizados nos tempos de coleta (h) do modelo $G_{1(n)} \rightarrow 0$, utilizando itérbio como indicador para diferentes dietas: (a) Tcana; (b) TcanaC; (c) Tmilho; (d) TmilhoC.

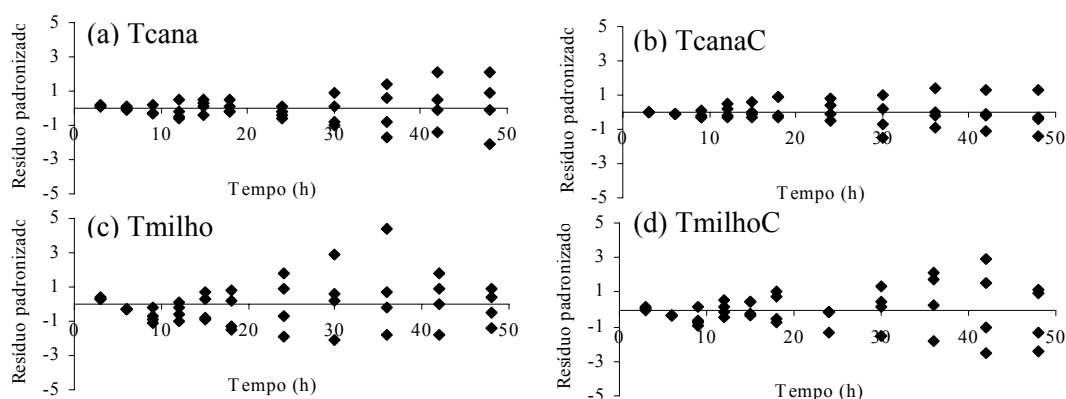


Figura 4 Dispersão gráfica dos resíduos padronizados nos tempos de coleta (h) do modelo $G_2 \rightarrow G_1 \rightarrow 0$, utilizando cromo como indicador para diferentes dietas: (a) Tcana; (b) TcanaC; (c) Tmilho; (d) TmilhoC.

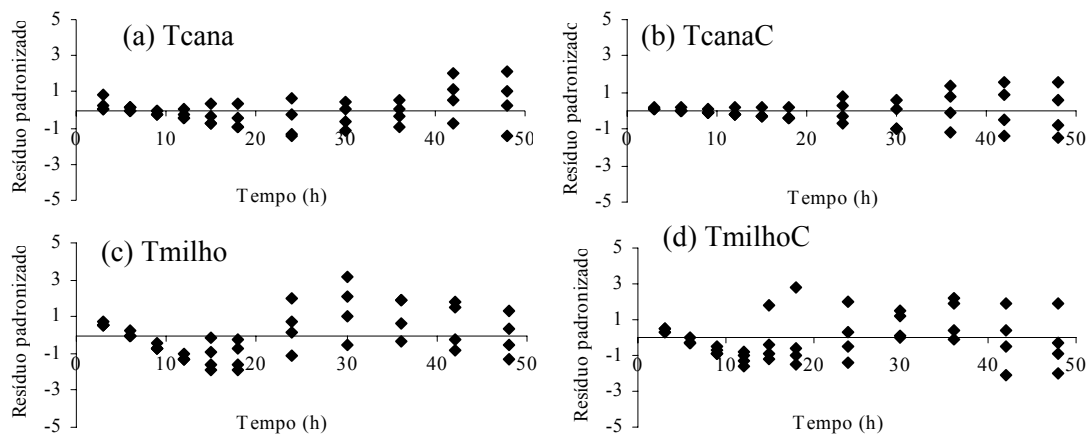


Figura 5 Dispersão gráfica dos resíduos padronizados nos tempos de coleta (h) do modelo $G_2 \rightarrow G_1 \rightarrow 0$, utilizando európio como indicador para diferentes dietas: (a) Tcana; (b) TcanaC; (c) Tmilho; (d) TmilhoC.

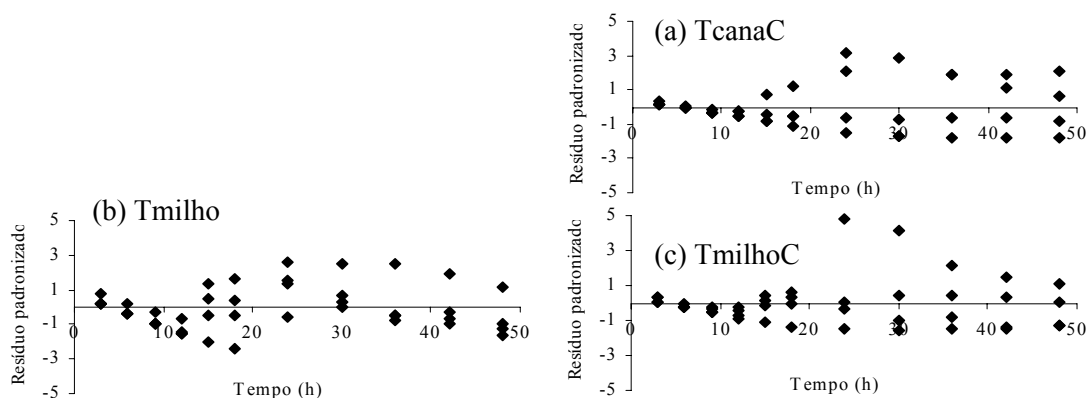


Figura 6 Dispersão gráfica dos resíduos padronizados nos tempos de coleta (h) do modelo $G_2 \rightarrow G_1 \rightarrow 0$, utilizando itérbio como indicador para diferentes dietas: (a) TcanaC; (b) Tmilho; (c) TmilhoC.

Beauchemin & Buchanan-Smith (1989) observaram maior recuperação do Cr mordente do que do Yb, embora Hartnell & Satter (1979) tenham recomendado o uso das terras raras por sua complexação com frações de baixa digestibilidade, como a lignina, que determinaria menor possibilidade de migração, uma vez que observaram 10% de migração para partículas marcadas. Devido a essas características, as terras raras seriam mais indicadas para a cinética de passagem de alimentos fibrosos, uma vez que a ocorrência de migração pode ser devida a procedimentos na complexação dos elementos ou na análise do teor da terra rara (Ellis et al., 2002).

Em outros experimentos, o Cr foi melhor que o Yb e outras terras raras. Dhanoa et al. (1985) atribuíram as diferenças em relação ao cromo mordente à possível inibição da ação dos microrganismos, com consequente redução da taxa de degradação,

promovida pelo processo de preparo do mordente. Lira et al. (2006) observaram melhor dispersão gráfica para o Cr, em comparação com o Yb e o európio. Abreu (2008) também observou melhor resultado com o Cr, em comparação ao Yb.

Comparando os modelos, pela dispersão gráfica dos resíduos padronizados, o modelo multicompartimental foi melhor que o bicompartimental. Embora as diferenças entre os modelos tenham sido menos evidentes quando foi utilizado o Cr (Figuras 4.1 e 4.4), para o európio (Figuras 4.2 e 4.5) e o Yb (Figuras 4.3 e 4.6), principalmente nas dietas com silagem de milho, nas primeiras horas de amostragem, torna-se mais evidente o melhor comportamento gráfico do modelo multicompartimental. Lira et al. (2006), comparando o modelo bicompartimental $G_2 \rightarrow G_1 \rightarrow 0$ com o multicompartimental, verificaram melhores resultados para o modelo multicompartimental, como observado neste experimento. Dhanoa et al. (1985) concluíram que o modelo multicompartimental foi superior a todos os modelos a ele comparados, inclusive ao modelo bicompartimental, avaliado neste experimento. Os autores também verificaram, como neste experimento, que o modelo bicompartimental apresentou maior desvio dos dados dos primeiros pontos da curva de excreção fecal.

Analisando os modelos não-lineares sobre as taxas de passagem de fluidos, estimadas para os diferentes indicadores e dietas (Tabelas 4 e 5), observa-se que as obtidas pelo modelo tempo-independente ($G_1 \rightarrow$) foram menores que a do tempo-dependente ($G_2 \rightarrow$). Comparando os indicadores, as taxas de passagem estimadas pelos compostos fenólicos da lignina foram inferiores às observadas com o uso do Co-EDTA e às citadas na literatura. Além disso, o CVa foi superior ao observado com o Co-EDTA. Assim, o Co-EDTA demonstrou ser adequado para avaliação da taxa de passagem de fluidos, ao contrário dos compostos fenólicos da lignina. Além disso, para as dietas contendo cana-de-açúcar e concentrado, para o modelo $G_1 \rightarrow$, houve convergência para uma taxa de passagem negativa e, no modelo $G_2 \rightarrow$, a convergência dos dados não ocorreu, o que pode ser devido à inadequação desses indicadores para estimação da taxa de passagem de fluidos.

Considerando o DPA dos modelos, os valores foram próximos, sendo o do $G_1 \rightarrow$ numericamente maior, o que sugere melhor precisão do modelo tempo-dependente. Entretanto, o comportamento gráfico da dispersão dos resíduos padronizados foi semelhante para ambos os modelos, nas diferentes dietas (Figuras 7 a 16).

Tabela 4 Estimativas de parâmetros de modelos não-lineares da taxa de passagem de fluidos, utilizando diferentes indicadores, no modelo $G_1 \rightarrow$

Parâmetro ²	Dieta ¹			
	Tcana	TcanaC	Tmilho	TmilhoC
Co-EDTA				
k	0,0486	0,0459	0,0584	0,0596
DPA	19,48	19,13	19,11	18,25
CVa	0,85	0,73	0,96	0,90
Compostos fenólicos da lignina				
k	0,0051	-0,0017	0,0208	0,0025
DPA	0,36	0,22	0,34	0,20
CVa	1,09	0,68	0,84	0,61

¹Tcana e Tmilho = dieta com cana-de-açúcar e silagem de milho, respectivamente; TcanaC e TmilhoC = Tcana e Tmilho com 25% de concentrado na MS total, respectivamente. ²k₁ = taxa de trânsito através do compartimento; DPA = desvio-padrão assintótico; CVa = coeficiente de variação corrigido pela concentração média do indicador.

Tabela 5 Estimativas de parâmetros de modelos não-lineares da taxa de passagem de fluidos utilizando diferentes indicadores no modelo $G_2 \rightarrow$

Parâmetro ¹	Dieta ²			
	Tcana	TcanaC	Tmilho	TmilhoC
Co-EDTA				
λ	0,1199	0,1130	0,1408	0,1446
k	0,0715	0,0674	0,0840	0,0862
DPA	18,39	18,01	17,86	17,04
CVa	0,80	0,71	0,84	0,84
Compostos fenólicos da lignina				
λ	0,0210		0,0517	0,0123
k	0,0125		0,0308	0,0073
DPA	0,36		0,33	0,20
CVa	1,08		0,82	0,61

¹Tcana e Tmilho = dieta com cana-de-açúcar e silagem de milho, respectivamente; TcanaC e TmilhoC = Tcana e Tmilho com 25% de concentrado na MS total, respectivamente. ² λ = taxa para os tempos de permanência com distribuição gama; k₁ = taxa de trânsito através do compartimento; DPA = desvio-padrão assintótico; CVa = coeficiente de variação corrigido pela concentração média do indicador.

Para o Co-EDTA, nas primeiras horas após a administração do indicador, há subestimação dos valores, em ambos modelos (Figuras 7 e 12). Já para os estimados com os compostos fenólicos da lignina (Figuras 11 e 16), não foi observado esse comportamento, entretanto, houve maior dispersão dos valores.

Assim, o modelo tempo-dependente foi o modelo que melhor se ajustou aos dados de taxa de passagem de fluidos, comprovando que existe a dependência do tempo para que haja uma mistura dos fluidos já existentes com os que estão sendo inseridos no compartimento. Abreu (2008) obteve resultados semelhantes. Entretanto, Lira et al. (2006), avaliando os modelos $G_1 \rightarrow$, $G_2 \rightarrow$ e $G_3 \rightarrow$, verificaram melhor ajustamento dos dados com o modelo $G_1 \rightarrow$, ou seja, que haveria completa homogeneização da digesta, independente do tempo, diferindo dos resultados obtidos neste experimento.

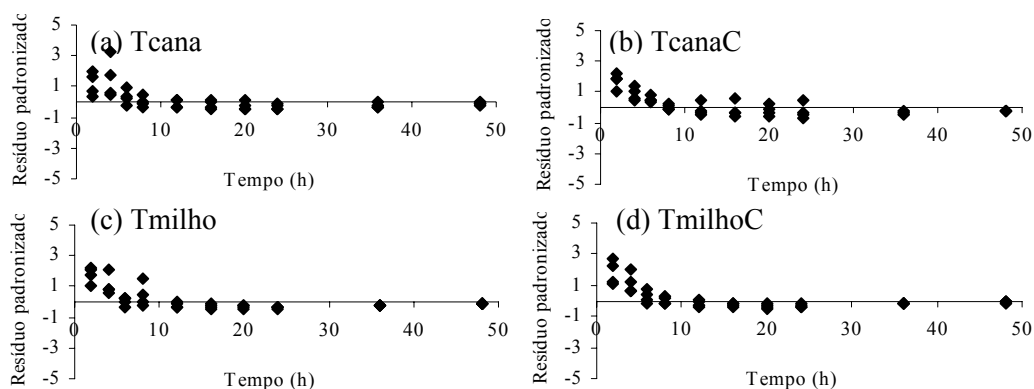


Figura 7 Dispersão gráfica dos resíduos padronizados nos tempos de coleta (h) do modelo $G_1 \rightarrow$, utilizando Co-EDTA como indicador para diferentes dietas: (a) Tcana; (b) TcanaC; (c) Tmilho; (d) TmilhoC.

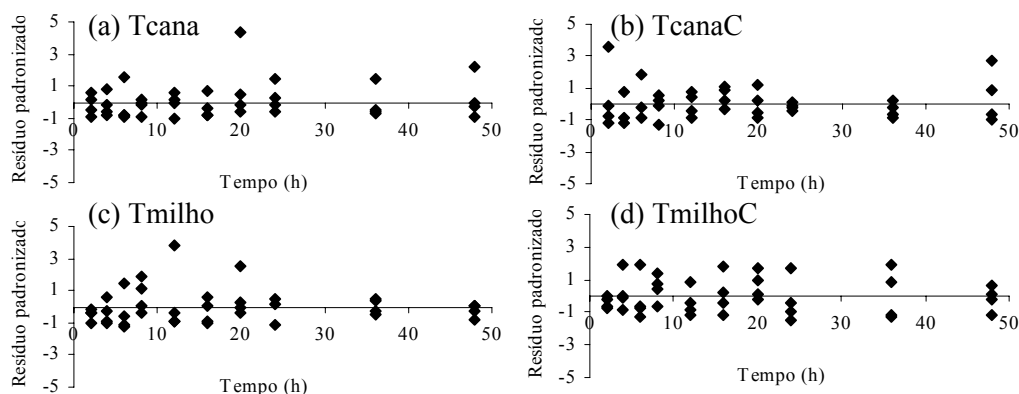


Figura 8 Dispersão gráfica dos resíduos padronizados nos tempos de coleta (h) do modelo $G_1 \rightarrow$, utilizando composto fenólicos da lignina como indicador para diferentes dietas: (a) Tcana; (b) TcanaC; (c) Tmilho; (d) TmilhoC.

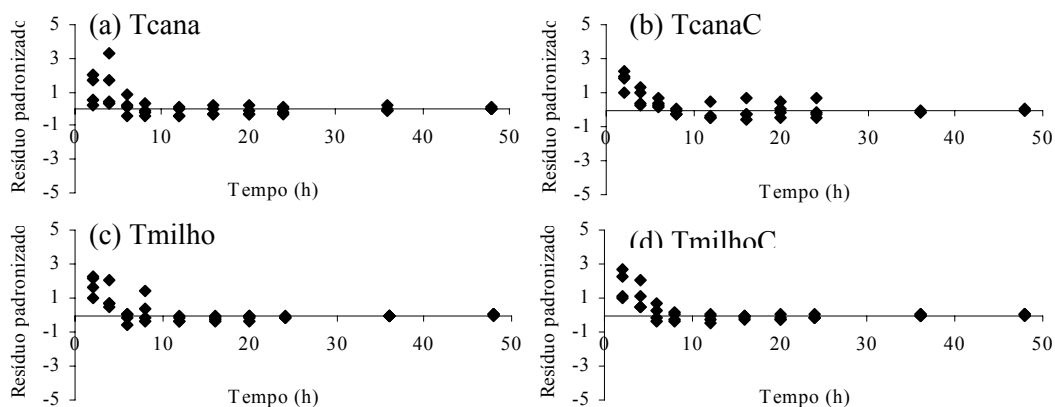


Figura 9 Dispersão gráfica dos resíduos padronizados nos tempos de coleta (h) do modelo $G_2 \rightarrow$, utilizando Co-EDTA como indicador para diferentes dietas: (a) Tcana; (b) TcanaC; (c) Tmilho; (d) TmilhoC.

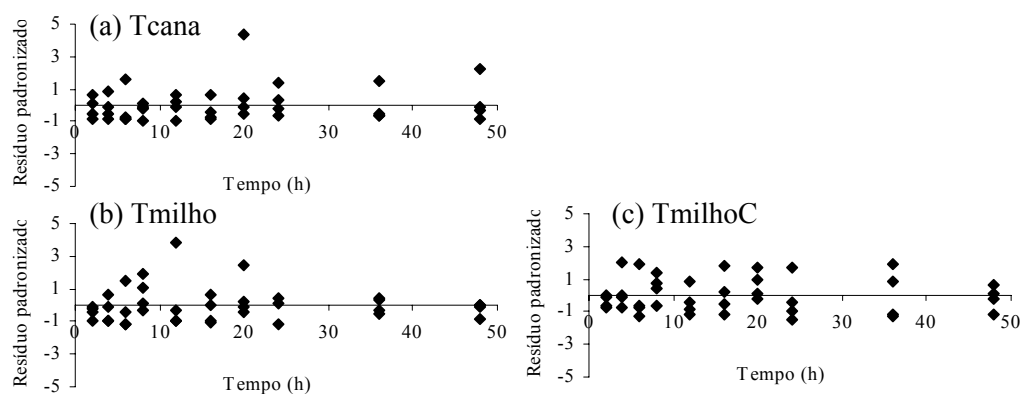


Figura 10 Dispersão gráfica dos resíduos padronizados nos tempos de coleta (h) do modelo $G_2 \rightarrow$, utilizando compostos fenólicos da lignina como indicador para diferentes dietas: (a) Tcana; (b) Tmilho; (c) TmilhoC.

Conclusões

O cromo constitui indicador mais adequado para a marcação da fibra de volumosos na avaliação da taxa de passagem de partículas em comparação ao európio e ao itérbio. Para a taxa de passagem de fluidos, o Co-EDTA mostra-se mais adequado em comparação aos compostos fenólicos da lignina.

O modelo recomendado para avaliação da taxa de passagem de partículas é o multicompartimental (G_n) e, para fluidos, o unicompartimental tempo-dependente (G_2).

Literatura citada

- ABREU, C.L. *Simulação da cinética de transito da fibra proveniente de diversos volumosos utilizando diferentes modelos matemáticos*. Viçosa: Departamento de Zootecnia, 2008. 48p. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2008.
- BEAUCHEMIN, K.A.; BUCHANAN-SMITH, J.G. Evaluation of markers, sampling sites and models for estimating rates of passage of silage or hay in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, v.27, p.59-75, 1989.
- BERNARD, L.; DOREAU, M. Use of rare earth elements as external markers for mean retention time measurements in ruminants. *Reproduction Nutrition Development*, v.40, n.2, p.89-101, 2000.
- COLUCCI, P. E.; MACLEOD, G. K.; GROVUM, W. L.; BARNEY, D. J., Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes. *Journal of Dairy Science*, v.73, n.8, p.2143-2156, 1990.
- DETMANN, E.; CECON, P.R.; PAULINO, M.F. et al. Variáveis ruminais avaliadas por meio de funções matemáticas contínuas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*,

- v.42, n.11, p.1651-1657, 2007.
- DHANOVA, M.S.; SIDDONS, R.C.; FRANCE, J. et al. A multicompartimental model to describe marker excretion patterns in ruminant faeces. *British Journal of Nutrition*, v.53, n.3, p.663-671, 1985.
- ELLIS, W. C.; WYLIE, M. J.; MATIS J. H., Validity of specifically applied rare earth elements and compartmental models for estimating flux of undigested plant tissue residues through the gastrointestinal tract of ruminants, *Journal of Animal Science*, v.80, n. 8, p. 2753–2758, 2002.
- ELLIS, W.C., MATIS, J.H., LASCANO, C. Quantitating ruminal turnover. *Federation Proc.*, v.38, n.13, p.2702-2706, 1979.
- ELLIS, W.C.; MATIS, J.H.; HILL, T.M. et al. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forages. In: FAHEY Jr, G.C. *Forage quality, evaluation, and utilization*. Wisconsin: American Society of Agronomy, p.682-756, 1994.
- FONTES, C.A.A.; ALVES, G.R.; PAULINO, M.F. et al. Influência do nível de consumo sobre degradabilidade das partículas e características ligadas à cinética ruminal, em novilhos pastejando capim-Elefante. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.6s, p.2134-2144, 2001.
- FRANCE, J., DHANOVA, M.S., SIDDONS, R.C. et al. Estimating the fecal producing by ruminants from faecal marker concentration curves. *Journal of Theoretical Biology*, v.135, n.2, p.383-391, 1988.
- GROVUM, W.L.; WILLIAMS, V.J. Rate of passage of digesta in sheep. 4. Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. *British Journal of Nutrition*, v.30, n.3, p.313-329, 1973.
- HARTNELL, G.F.; SATTER, L.D. Extent of particulate marker (samarium, lanthanum and cerium) movement from one digesta particle to another. *Journal of Animal Science*, v.48, n.2, p.375-380, 1979.
- Huhtanen, P.; Kukkonen, U. Comparison of methods, markers, sampling sites and models for estimating digesta passage kinetics in cattle fed at two levels of intake. *Animal Feed Science and Technology*, v.52, p.141-158, 1995.
- HUNTANEN, P.; ASIKAINEN, U.; ARKKILA, M. et al. Cell wall digestion and passage kinetics estimated by marker and in situ methods or by rumen evacuations in cattle fed hay 2 or 18 times daily. *Animal Feed Science and Technology*, v.133, p.206–227, 2007.
- LIPPKE, H.; ELLIS, W.C.; JACOBS, .F. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. *Journal of Dairy Science*, v.69, n.2, p.403-412, 1986.
- LIRA, V.M.C.; PEREIRA, J.C.; VIEIRA, R.A.M. et al. Avaliação de marcadores e modelos matemáticos para o estudo das cinéticas de trânsito e de degradação ruminal em novilhos mantidos em pastagem de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n.3, p.902-913, 2006.
- PEREIRA, J.C.; CARRO, M.D.; GONZÁLEZ, J. et al. Rúmen degradability and intestinal digestibility of brewer's grains as affected by origin and heat treatment and of barley roots. *Animal Feed Science and Technology*, v.74, p.107-121, 1998.
- PEREIRA, J.C.; RIBEIRO, M.D.; VIEIRA, R.A.M. et al. Avaliação de modelos

- matemáticos para o estudo da cinética de passagem de partículas e de fluidos por bovinos em pastagem recebendo suplementos contendo diferentes níveis de proteína não-degradável no rúmen. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.6s, p.2475-2485, 2005.
- POND, K.R.; ELLIS, W.C.; MATIS, J.H. et al. Compartment models for estimating attributes of digesta flow in cattle. *British Journal of Nutrition*, v.60, n.3, p.571-595, 1988.
- RICHTER, H.; SCHLECHT, E. Accounting for marker disassociation when modelling time-dependent ruminal escape of particles based on the faecal excretion of Ytterbium. *Animal Feed Science and Technology*, v.128, p.135–154, 2006.
- SAVASTANO, S. *Efeito do nível de concentrado sobre os parâmetros digestivos do feno de capim gordura (Melinis minutiflora Pal de Beauv), em bovinos*. Belo Horizonte: Escola de Veterinária, 1993. 142p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 1993.
- TEETER, R.G.; OWENS, F.N.; MADER, T.L. Ytterbium chloride as a marker for particulate matter in the rumen. *Journal of Animal Science*, v.58, p.465–473, 1984.
- ÚDEN, P.; COLUCCI, P.E.; VAN SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.31, n.7, p.625-632, 1980.
- WORLEY, R.; CLEARFIELD, A.; ELLIS, W.C. Binding affinity and capacities for ytterbium(3+) and hafnium(4+) by chemical entities of plant tissue fragments. *Journal of Animal Science*, v.81, p.3307–3314, 2003.

CANA-DE-AÇÚCAR, SILAGEM DE MILHO E CONCENTRADO NA DIETA DE BOVINOS

Resumo: Objetivou-se avaliar dois volumosos (cana-de-açúcar e silagem de milho) e dois níveis de concentrado (0 e 25% da MS da dieta total) na dieta de bovinos, consistindo em um fatorial 2x2. Utilizaram-se quatro novilhas Holandês-Zebu com fístulas no rúmen e no íleo, em quadrado latino 4x4. Foram coletadas amostras de fezes (8º ao 10º dia), líquido ruminal (8º dia) e feito esvaziamento ruminal (14º e 16º dias). A comparação dos tratamentos foi realizada por contrastes, avaliando o efeito do volumoso e do concentrado. Foi verificado maior ($P<0,05$) consumo de MS e FDNcp para os animais recebendo silagem de milho e de MS e MO, quando alimentados com concentrado. Não houve efeito ($P>0,05$) do volumoso sobre a massa ruminal, mas a adição de concentrado reduziu ($P<0,05$) a massa ruminal de FDN na digesta total e na fase sólida, além da redução ($P<0,05$) da MS e da MO na fase sólida. A taxa de ingestão de MS e FDNcp e o tempo de renovação foram menores ($P<0,05$) para os animais recebendo cana-de-açúcar como volumoso. A adição de concentrado proporcionou maior ($P<0,05$) taxa de ingestão de MO e PB e não afetou ($P>0,05$) o tempo de renovação. Os coeficientes de digestão total da PB, FDNcp e CNF foram maiores ($P<0,05$) para cana-de-açúcar que para silagem de milho. A adição de concentrado melhorou ($P<0,05$) a digestibilidade total da MO e de CNF. O pH ruminal foi maior ($P<0,05$) para a cana-de-açúcar e na dieta sem concentrado. A cana-de-açúcar apresentou menor concentração de N-NH₃ em comparação à silagem de milho e não foi verificado efeito do concentrado. A silagem de milho ou a adição de 25% de concentrado na dieta bovinos melhora o consumo, a taxa de ingestão e a digestibilidade de nutrientes. Pode-se utilizar a técnica de estimação da taxa de passagem de partículas pelo esvaziamento ruminal ou pelo ajustamento de modelo matemático não-linear.

Palavras-chave: esvaziamento ruminal, consumo, digestibilidade, nitrogênio amoniacal, pH, taxa de ingestão

Sugarcane, corn silage and concentrate in cattle diet

Abstract: It was aimed to evaluate two roughage (sugarcane and corn silage) and two concentrate levels (0 and 25% of total diet DM) in cattle diet, consisting in a 2x2 factorial. Four Holstein-Zebu heifers, rumen and ileum fistulated, were used in a 4x4 Latin square. Samples of feces were collected (8th to the 10th day), rumen fluid (8th day) and rumen evacuation was carried out (14th and 16th days). Treatments comparison was accomplished by contrasts, evaluating the effect of the roughage and of the concentrate. Greater ($P<0.05$) DM and NDFap intake was verified in the animals receiving corn silage, and DM and OM intake, when fed with concentrate. There was no effect ($P>0.05$) of the roughage on ruminal mass, but the concentrate addition reduced ($P<0.05$) the NDF ruminal mass in total digesta and in solid phase, besides the reduction ($P<0.05$) of DM and OM in solid phase. The DM and NDFap intake rate and the renewal time were smaller ($P<0.05$) in animals receiving sugarcane as roughage. The concentrate addition provided greater ($P<0.05$) OM and CP ingestion rate and it did not affect ($P>0.05$) the renewal time. The CP, NDFap and NFC total digestion coefficients were greater ($P<0.05$) for sugarcane than for corn silage. The concentrate addition improved ($P<0.05$) the OM and NFC total digestibility. The rumen pH was higher ($P<0.05$) for the sugarcane and in the diet without concentrate. The sugarcane presented smaller N-NH₃ concentration compared to corn silage and it was not verified any concentrate effect. The corn silage or the addition of 25% of concentrate in cattle diet improves the intake, the ingestion rate and the nutrients digestibility. The technique of

particles passage rate estimate can be performed by ruminal emptying or by the adjustment of no-linear mathematical model.

Keywords: ammonia nitrogen, digestibility, ingestion rate, intake, pH, rumen evacuation

Introdução

A dieta, em si, pode afetar o consumo e a digestibilidade dos nutrientes e, como consequência imediata, o desempenho dos animais. O uso de concentrados na dieta de bovinos de corte, seja em confinamento, ou em pastagem, tem sido empregado como uma forma de melhorar seu desempenho. Entretanto, dependendo dos níveis de concentrado utilizados, podem ocorrer alterações no consumo, na digestibilidade e no desempenho. Além disso, estes alimentos constituem a mais onerosa fração da ração dos ruminantes, devendo ser empregados com o intuito de corrigir as deficiências da dieta, ou seja, apenas para balanceá-la. Assim, é necessário determinar a quantidade ideal de concentrados na dieta para equilibrar a receita.

Embora os alimentos concentrados exerçam papel fundamental no desempenho de ruminantes, ainda é a fração volumosa a que participa em maior proporção na dieta dos mesmos. O volumoso é o componente de mais baixo custo na dieta de bovinos confinados, devendo-se dar atenção especial a sua qualidade nutritiva, pois ela é inversamente relacionada com a necessidade de concentrados na dieta.

Devido ao elevado teor de carboidratos não-fibrosos na estação seca do ano e da alta produtividade da cultura, a cana-de-açúcar é um importante alimento volumoso utilizado na alimentação de bovinos no Brasil. Durante vários anos, a cana-de-açúcar foi amplamente utilizada para bovinos confinados, sendo que a mesma começou a ser substituída por alimentos volumosos de maior concentração energética, à medida que se procurava melhor desempenho dos animais. Dentre esses volumosos, a silagem de milho tornou-se um dos mais utilizados no Brasil.

Normalmente, são implementadas estratégias conscientes e racionais de suplementação da forragem com alimentos concentrados, objetivando níveis mais elevados de produção animal. No entanto, estudos sobre o tipo de suplemento a ser fornecido devem ser realizados, principalmente no que diz respeito aos impactos de seu consumo sobre a cinética de trânsito da digesta ao longo do trato gastrointestinal, fator diretamente associado à proporção dos nutrientes dietéticos que serão digeridos, absorvidos e utilizados pelo animal.

A cinética de trânsito ou passagem refere-se ao fluxo de resíduos não-digeridos do alimento ao longo do trato digestório, podendo ser estimada por métodos diretos e indiretos. As medições diretas do conteúdo ruminal e da taxa de passagem podem ser realizadas fazendo-se a evacuação ruminal e a quantificação do fluxo diário de material que deixa o rúmen, utilizando-se animais fistulados (Fontes et al., 2001). Um pré-

requisito para estimação segura dos parâmetros cinéticos de digestão e de passagem que usam esvaziamento do rúmen ou técnica de abate é que os animais estejam em *steady-state*, ou seja, em estado de equilíbrio, ou que os esvaziamentos sejam realizados para permitir estimar com acurácia e precisão o tamanho médio do *pool* ruminal. Outra condição prévia é que os procedimentos de esvaziamento não interfiram com as funções normais do rúmen (Huhtanen et al., 2007).

Ao realizar este experimento, objetivou-se avaliar dois volumosos (cana-de-açúcar e silagem de milho) e dois níveis de concentrado (0 e 25% da MS) na dieta de bovinos, assim como, comparar as estimativas da taxa de passagem ruminal dos componentes fibrosos pela técnica de esvaziamento ruminal e pelo ajustamento de modelo matemático não-linear.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da mesma instituição.

Foram utilizadas quatro novilhas mestiças Holandês-Zebu, fistuladas no rúmen e no íleo, com peso vivo médio inicial de $422,3 \pm 8,8$ kg e idade de 24 meses, mantidas em baias individuais de alvenaria de 3 m², cobertas, com bebedouros automáticos, comedouros e pisos recobertos com borracha.

O delineamento experimental foi o quadrado latino 4x4, compreendendo quatro animais, quatro períodos e quatro dietas. As dietas consistiram de um fatorial 2x2, dois volumosos e dois níveis de concentrado (Tabela 1). Os volumosos avaliados foram a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e a silagem de milho (*Zea mays*) sem a adição de concentrado (Tcana, Tmilho) e com 25% na matéria seca (MS) da dieta total (TcanaC, TmilhoC).

O concentrado foi composto, em base de MS, de 66,56% de fubá de milho e 33,44% de farelo de soja. O sal mineral foi composto de 49,64% de sal; 50,00% de fosfato bicálcio; e 0,18% de sulfato de zinco; 0,15% de sulfato de cobre; 0,01% de sulfato de cobalto, 0,01% de iodato de potássio e 0,01% de selenito de sódio. Para tornar as dietas isoprotéicas, foram adicionados 1% e 0,5% de uréia na matéria natural da cana-de-açúcar picada e da silagem de milho, respectivamente, diluídos em água e aspergidos sobre o volumoso, no cocho, durante o arraçoamento. O arraçoamento foi

realizado duas vezes ao dia (8h00 e 16h00), com a dieta e o sal mineral fornecidos *ad libitum*.

Tabela 1 Composição química dos alimentos e do concentrado (% na MS)

Variável	Cana-de-açúcar	Silagem de milho	Concentrado
MS	25,76	26,44	89,50
MO	95,12	93,58	97,02
PB	3,82	7,71	22,43
EE	1,01	2,02	2,42
FDNcp	51,40	57,12	10,37
CNF ¹	38,89	26,73	61,80
FDNi	27,45	19,78	1,55
FDAi	15,88	11,04	0,51

¹Carboidratos não-fibrosos: $100 - (\%PB + \%EE + \%MM + \%FDNcp)$.

A duração do experimento foi de 64 dias, com quatro períodos experimentais de 16 dias, compreendendo sete dias de adaptação dos animais à dieta e nove dias de coletas. Do oitavo ao 14º dia foram realizadas coletas de fezes diretamente do reto para avaliar a curva de excreção fecal e, conseqüentemente, a cinética de trânsito de partículas. Do oitavo ao 10º dia, foram coletadas amostras de líquido ruminal. No 14º e no 16º dia foram realizada o esvaziamento ruminal quatro horas após e antes do arraçoamento matinal, respectivamente, para estimativas da cinética ruminal.

Foram coletadas amostras de concentrado para posteriores análises e, no período de coleta, amostras do volumoso e das sobras de alimento, todos os dias antes do arraçoamento matinal para quantificação do consumo.

Do oitavo ao 14º dia foi realizada a avaliação do trânsito de digesta, utilizando a fibra mordentada com cromo (Cr) e o complexo de cobalto-ácido etilenodiaminotetracético (Co-EDTA), para a taxa de passagem de partículas fibrosas e fluidos, respectivamente. O preparo destes indicadores foi feito segundo descrito por Udén et al. (1980). As doses utilizadas foram de 100 g de cada fibra mordente e 15 g de Co-EDTA por animal, os quais foram colocados diretamente no rúmen dos animais, via fístula ruminal, imediatamente antes do arraçoamento matinal do oitavo dia. O indicador líquido foi previamente diluído em 400 mL de água.

As coletas de amostras de fezes para a curva de excreção fecal do cromo mordente para avaliação da taxa de passagem de partículas foram feitas nos seguintes horários: 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120 e 144 horas após fornecimento do indicador. Já as amostras de líquido ruminal para estimar a taxa de passagem de fluido foram realizadas 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 36 e 48 após a

introdução do indicador.

O líquido ruminal coletado foi filtrado em tecido de algodão e amostrado 50 mL para dosagem de cobalto (Co). Nos tempos 0, 4, 8, 12, 16 e 20 horas, do líquido ruminal filtrado, ainda, foi mensurado o pH por potenciômetro digital e mais 50 mL de líquido foram acondicionadas em recipientes plásticos contendo 1 mL de solução de ácido sulfúrico (1:1) e armazenadas em congelador para quantificação do teor de nitrogênio amoniacal (N-NH_3), conforme técnica colorimétrica de Chany e Marbach (1962).

Para a cinética ruminal, avaliada pela técnica de esvaziamento ruminal (Robinson et al., 1987), foi retirada toda a digesta ruminal, pesada e coletadas duas amostras que foram pré-secas em cada tempo de avaliação (antes e quatro horas após arraçoamento matinal). Depois, todo o conteúdo ruminal foi filtrado em tecido de algodão para separação da massa sólida e líquida ruminal e novamente retiradas duas amostras de cada fase da digesta ruminal. Após a retirada das amostras, o restante da digesta ruminal (fase sólida e líquida) foi misturada e devolvida ao rúmen do animal.

Foram coletadas amostras de concentrado para posteriores análises e, no período de coleta, amostras do volumoso e das sobras de alimento, todos os dias, antes do arraçoamento matinal.

Imediatamente após a coleta das sobras, foi feita a pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C, durante 72 horas. Após secas e moídas (1 mm) em moinho de faca tipo Willey, foram compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por animal e período, antes de serem armazenadas.

Nas amostras de alimentos (volumoso e concentrado), sobras, fezes e digesta ruminal, foram analisados os teores de MS, matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), de acordo com técnicas descritas por Association of Official Analytical Chemistry – AOAC (1990) e fibra em detergente neutro (FDN) pela técnica da micro-extração (Pell & Schofield, 1993). No resíduo da FDN foram estimados os teores de cinza e a proteína para a obtenção da FDN corrigida para cinzas e proteína (FDNcp). Já os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos por intermédio da equação (Sniffen et al., 1992): $100 - (\%PB + \%EE + \%MM + \%FDNcp)$. O consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi calculado por (Sniffen et al., 1992): $\text{consumo de NDT} = (\text{PB ingerido} - \text{PB fecal}) + 2,25(\text{EE ingerido} - \text{EE fecal}) + (\text{CHOT ingerido} - \text{CHOT fecal})$; em que $\text{CHOT} = 100 - (\text{PB} + \text{EE} + \text{MM})$.

Para estimação da excreção fecal, utilizando o teor de fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), foi feita amostra composta pelo peso da amostra seca ao ar, das amostras coletas dos tempos 3, 9, 15, 30, 42, 60 e 72, o que correspondeu à 0, 3, 6, 9,

12, 15 e 18 horas após o arraçoamento matinal, respectivamente. Nessas amostras, juntamente com as de alimentos (volumoso e concentrado) e sobras, foi analisada a FDAi pela incubação *in situ*, em duas vacas com fistula ruminal, por 288 horas, em sacos de tecido não tecido (TNT) de 100g/m². A mesma técnica foi utilizada nas amostras de digesta ruminal total e dos alimentos para análise do teor de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi).

A excreção fecal foi estimada utilizando-se a FDAi, calculada com base na razão entre a quantidade do indicador fornecido e sua concentração nas fezes. A digestibilidade aparente da MS e dos nutrientes foi calculada pelo método direto, ou seja, pela diferença entre consumido e excretado.

A taxa de ingestão (ki) estimada pelo esvaziamento ruminal foi calculada da seguinte forma (Robinson et al., 1987): $k_i \text{ (h}^{-1}\text{)} = \text{consumo por hora (kg)}/\text{conteúdo ruminal (kg)}$. O tempo de renovação do rúmen (TR) foi calculado pela fórmula: $\text{TR (h)} = \text{conteúdo de MS ruminal (kg)}/\text{consumo de MS por hora (kg)}$. Já a taxa de passagem de partículas foi obtida pela relação do consumo por hora (kg) de FDNi e o conteúdo ruminal (kg) desse indicador segundo Cannas et al. (2003).

O modelo matemático não-linear propostos por Dhanoa et al. (1985) foi ajustado a curva de concentração do cromo mordante:

$$Y = Ae^{-k_1 t} \exp[-Be^{-k_2 t}]$$

Em que: Y = concentração fecal do indicador num determinado tempo “t” (h); t = tempo (h); A e B = parâmetros de escala (biologicamente indefinidos); $k_1 \text{ (h}^{-1}\text{)}$ = taxa de passagem no rúmen; e $k_2 \text{ (h}^{-1}\text{)}$ = taxa de passagem no pós-rúmen.

Para estimativa da taxa de passagem de fluidos, o modelo proposto por Ellis et al. (1994) foi ajustado a curva de concentração ruminal do cobalto:

$$Y = A e^{-\lambda t} (1 + \lambda t)$$

Em que: Y = concentração do indicador no tempo t; A = concentração do indicador no tempo “zero”; λ = parâmetro-taxa para os tempos de permanência com distribuição gama-2; e t = tempo (h). Neste modelo, o k_1 foi calculado multiplicando-se λ (parâmetro-taxa) por 0,59635, uma constante para estimar a taxa de passagem em modelos gama-2 (Ellis et al., 1994).

Todas as análises dos dados foram realizadas no programa SAS versão 9.0 (2002), a 5% de probabilidade, em delineamento em quadrado latino 4x4.

Os ajustamentos não-lineares dos modelos matemáticos foram realizados pelo método de algoritmo de Marquardt e a comparação dos tratamentos pelo teste de identidade de modelos de regressão não-linear (Regazzi & Silva, 2004).

A comparação dos tratamentos foi realizada por contrastes, comparando o efeito do volumoso, do concentrado e interação.

Resultados e Discussão

Não houve ($P>0,05$) efeito de interação entre o tipo de volumoso e o nível de concentrado sobre o consumo (Tabela 2). Observou-se que os animais alimentados com as dietas contendo cana-de-açúcar apresentaram menor ($P<0,05$) consumo de MS, FDNcp e NDT em relação aos que estavam recebendo silagem de milho. Também foi verificado maior ($P<0,05$) consumo desses nutrientes para a silagem de milho, quando expresso em g/kg PV.

Tabela 2 Consumo diário de nutrientes em função dos tratamentos

Item	Tratamento ¹				CV ² (%)	Contraste ^{3,4}		
	Tcana	Tmilho	TcanaC	TmilhoC		Vol	Conc	Int
kg/dia								
MS	5,706	7,851	6,887	8,800	18,5	0,0237	0,1654	0,8689
MO	0,337	0,474	2,135	2,319	19,1	0,2475	<0,0001	0,8566
PB	0,816	0,962	1,083	1,333	19,2	0,0955	0,0191	0,6233
EE	0,032	0,043	0,072	0,084	27,0	0,1869	0,0020	0,9110
FDNcp	2,790	4,388	2,621	4,020	18,1	0,0030	0,4236	0,7621
CNF	0,541	0,538	0,753	0,749	17,6	0,9729	0,0105	0,9909
NDT	4,220	5,175	4,925	6,142	16,6	0,0430	0,0964	0,7686
g/kg PV								
MS	13,54	18,54	16,43	20,78	17,6	0,0220	0,1432	0,8412
MO	0,80	1,15	5,14	5,49	17,5	0,2478	<0,0001	0,9895
FDNcp	6,64	10,36	6,26	9,47	18,4	0,0036	0,4312	0,7446
NDT	9,95	12,17	11,76	14,48	15,4	0,0379	0,0692	0,7982

¹Tcana e Tmilho = dieta com cana-de-açúcar e silagem de milho, respectivamente; TcanaC e TmilhoC = Tcana e Tmilho com 25% de concentrado na MS total, respectivamente. ²Coefficiente de variação. ³Vol = Tcana+TcanaC versus Tmilho+TmilhoC; Conc = Tcana+Tmilho versus TcanaC+TmilhoC; Int = Tcana+TmilhoC versus TcanaC+Tmilho. ⁴Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre volumosos (Vol), níveis de concentrado (Conc) e sua interação (Int).

Considerando a adição de 25% de concentrado na dieta, os animais recebendo concentrado apresentaram maior ($P<0,05$) consumo de MO, PB, EE e CNF, em kg/dia, e maior consumo de MO, em g/kg PV. A ausência de efeito do concentrado sobre o consumo de FDNcp deve-se ao menor percentual desse nutriente nas dietas com concentrado. Por sua vez o aumento do consumo de PB, EE e CNF parece ser decorrente da maior concentração desses nutrientes nas dietas com adição de concentrado. Silva et al. (2002) e Moraes et al. (2008) também não observaram maior

consumo de FDN com a adição de concentrado na dieta de bovinos. Em outros experimentos utilizando cana-de-açúcar, também foi verificado aumento no consumo com adição de concentrado (Costa et al., 2005; Moraes et al., 2008).

Analisando as frações físicas e químicas da digesta ruminal, não houve efeito do tipo de volumoso ($P>0,05$) e da interação dos efeitos principais, excetuando para FDNi, o qual foi afetado pelo volumoso (Tabela 3). Porém, a adição de concentrado reduziu ($P<0,05$) a massa ruminal de MS da fase sólida da digesta e de FDN e FDNi, além da redução ($P<0,05$) do volume ruminal total. Enquanto que a quantidade de FDNi ruminal foi menor ($P<0,05$) para os animais recebendo silagem de milho. Dado & Allen (1995) também observaram aumento da massa ruminal de FDN na digesta total com o aumento da concentração de FDN na dieta (25 e 35%), sem diferenças para o conteúdo de MS e MO.

Tabela 3 Frações físicas e químicas da digesta ruminal (kg/dia) em função dos tratamentos

Item	Tratamento ¹				CV ² (%)	Contraste ^{3,4}		
	Tcana	Tmilho	TcanaC	TmilhoC		Vol	Conc	Int
Fração física								
MS total	3,338	3,361	3,158	3,124	6,2	0,9592	0,0837	0,7876
MS sólido	2,537	2,662	2,219	2,323	8,4	0,3049	0,0181	0,9204
MS líquido	0,801	0,699	0,939	0,801	31,9	0,3888	0,3897	0,8952
Volume ruminal (L/dia)	48,216	47,245	42,059	43,923	6,2	0,7619	0,0152	0,3532
Fração química								
MO	3,014	3,025	2,854	2,797	6,4	0,8127	0,0826	0,7273
PB	0,297	0,323	0,344	0,341	11,7	0,5738	0,1390	0,4592
FDN	2,416	2,346	2,228	2,112	6,0	0,2177	0,0205	0,7457
FDNi	1,457	1,117	1,154	0,971	6,3	0,0004	0,0009	0,0780

¹Tcana e Tmilho = dieta com cana-de-açúcar e silagem de milho, respectivamente; TcanaC e TmilhoC = Tcana e Tmilho com 25% de concentrado na MS total, respectivamente. ²Coefficiente de variação. ³Vol = Tcana+TcanaC versus Tmilho+TmilhoC; Conc = Tcana+Tmilho versus TcanaC+TmilhoC; Int = Tcana+TmilhoC versus TcanaC+Tmilho. ⁴Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre volumosos (Vol), níveis de concentrado (Conc) e sua interação (Int).

O conteúdo ruminal de FDN tem sido considerado o componente mais associado com as propriedades de enchimento da digesta ruminal, por ser o componente que possui menor taxa de desaparecimento no trato digestório, quer seja pela lenta degradação da entidade nutricional ou pela lenta redução do tamanho de partícula, o que atrasa seu escape do compartimento (Van Soest, 1994). De acordo com Pond et al. (1988), o limite físico do rúmen pode ser medido a partir de esvaziamento total do

rúmen, sendo o conteúdo de FDN do rúmen o principal determinante do enchimento ruminal. Soares et al. (2009), avaliando o enchimento físico ruminal, sugeriram que outros efeitos deveriam ser considerados, além do conteúdo ruminal de MS e FDN e da composição química dos alimentos, para o entendimento do controle do enchimento físico ruminal. De acordo com Forbes (1995), vários fatores estão inter-relacionados durante o processo de controle da ingestão em ruminantes, como os nutrientes (aminoácidos, minerais e vitaminas), doenças, condições ambientais e pressões sociais.

Os coeficientes de digestibilidade total, assim, como nas demais variáveis avaliadas não apresentaram ($P>0,05$) efeito de interação entre volumosos e nível de concentrado (Tabela 4). Os coeficientes de digestibilidade total da PB e CNF foram maiores ($P<0,05$) para cana-de-açúcar que para silagem de milho. A adição de concentrado elevou ($P<0,05$) a digestibilidade total da MO e de CNF, o que pode ser devido ao aumento do consumo de CNF (Tabela 2) e consequente aumento do consumo de MO, resultando em maior concentração de CNF e menor concentração de FDNcp na dieta ingerida, uma vez que a digestibilidade dos CNF é maior que a da FDN e a adição de concentrado na dieta reduz a concentração de carboidratos fibrosos e aumenta o teor de carboidratos não-fibrosos.

Vale ressaltar que, apesar da digestibilidade da MO e dos CNF terem sido superiores nas dietas contendo concentrado, nenhum outro componente teve sua digestibilidade afetada, denotando que a digestibilidade total de uma dieta é o resultado dos efeitos interativos e associativos de todos os nutrientes da dieta, e não do efeito isolado de determinado constituinte. Mesmo com a adição do concentrado, a digestibilidade da porção fibrosa da dieta não foi afetada, provavelmente devido à obtenção do balanceamento entre o total da proteína dietética degradável no rúmen e o teor de energia da dieta, uma vez que essa associação ajuda a manter a digestão da fibra, mesmo em situações em que suplementos ricos em amido são fornecidos aos animais (Bodine et al., 2001).

Ao contrário do observado neste experimento, Costa et al. (2005) e Pereira et al. (2006) não observaram influência do nível de concentrado sobre a digestibilidade da MO, entretanto, também não observaram efeito para a MS, como neste experimento. Resultados diversos dos aqui apresentados também foram relatados por Tibo et al. (2000) e Moraes et al. (2008), que encontraram efeito linear crescente do nível de concentrado da dieta sobre a digestibilidade da MO, da PB e do EE. Ainda, Costa et al. (2005) não observaram aumento da digestibilidade da PB e efeito linear crescente na

digestibilidade do EE, de acordo com o aumento do nível de concentrado em dietas contendo cana-de-açúcar. Já Resende et al. (2001) e Moraes et al. (2008) encontraram efeito quadrático dos níveis de concentrado sobre a digestibilidade total da FDN.

Tabela 4 Coeficientes de digestibilidade total (%) em função dos tratamentos

Item	Tratamento ¹				CV ² (%)	Contraste ^{3,4}		
	Tcana	Tmilho	TcanaC	TmilhoC		Vol	Conc	Int
MS	66,95	63,66	67,84	68,16	5,7	0,4654	0,2060	0,3787
MO	40,98	49,75	90,69	89,37	13,7	0,4530	<0,0001	0,3195
PB	80,00	68,69	73,30	73,45	4,2	0,0078	0,3802	0,0551
EE	51,89	72,83	41,58	49,79	32,2	0,2768	0,2265	0,6031
FDNcp	52,69	57,52	42,50	56,08	10,9	0,0181	0,0877	0,1766
CNF	92,38	86,62	94,39	90,75	1,5	0,0005	0,0038	0,2031

¹Tcana e Tmilho = dieta com cana-de-açúcar e silagem de milho, respectivamente; TcanaC e TmilhoC = Tcana e Tmilho com 25% de concentrado na MS total, respectivamente. ²Coeficiente de variação. ³Vol = Tcana+TcanaC versus Tmilho+TmilhoC; Conc = Tcana+Tmilho versus TcanaC+TmilhoC; Int = Tcana+TmilhoC versus TcanaC+Tmilho. ⁴Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre volumosos (Vol), níveis de concentrado (Conc) e sua interação (Int).

Não houve interação ($P>0,05$) do tempo de coleta e dos tratamentos sobre o pH e a concentração de $N-NH_3$ ruminal (Tabela 5). Moraes et al. (2008) também não observaram interação do tempo de coleta e níveis de concentrado. Os valores de pH não foram menores que o mínimo preconizado por Ørskov (1982), que afirmou que o pH ruminal abaixo de 6,2 reduziria a atividade de bactérias celulolíticas e a digestão de palhas. Tampouco as concentrações de $N-NH_3$ foram inferiores aos 5,0 mg de $NH_3/100$ mL, nível mínimo necessário para manter as funções normais do rúmen (Satter & Slyter, 1974).

O pH foi maior ($P<0,05$) para a cana-de-açúcar e na dieta sem concentrado. O pH elevado com a cana-de-açúcar pode ser resultante de insalivação mais abundante nas dietas com este volumoso, em virtude de maior tempo despendido com a mastigação e ruminação das rações (Leng & Preston, 1976). Além disso, foi adicionado maior quantidade de uréia (1 versus 0,5%) para a cana-de-açúcar. Franzolin et al. (2000) verificaram que a substituição de silagem de milho por cana-de-açúcar promoveu aumento linear no pH do conteúdo ruminal em ovinos. Neste experimento, foi observado efeito quintico ($P<0,05$) do pH ao longo do tempo, variando de 6,43 a 6,88 (Tabela 6).

Tabela 5 pH e nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃; mg/dL) em função dos tratamentos

Item	Tratamento ¹				CV ² (%)	Contraste ^{3,4}		
	Tcana	Tmilho	TcanaC	TmilhoC		Vol	Conc	Int
pH	6,99	6,48	6,68	6,56	2,40	<0,0001	0,0013	0,0576
N-NH ₃	13,78	19,53	15,42	20,02	33,18	0,0001	0,3670	0,6261

¹Tcana e Tmilho = dieta com cana-de-açúcar e silagem de milho, respectivamente; TcanaC e TmilhoC = Tcana e Tmilho com 25% de concentrado na MS total, respectivamente.

²Coeficiente de variação. ³Vol = Tcana+TcanaC *versus* Tmilho+TmilhoC; Conc = Tcana+Tmilho *versus* TcanaC+TmilhoC; Int = Tcana+TmilhoC *versus* TcanaC+Tmilho. ⁴Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre volumosos (Vol), níveis de concentrado (Conc) e sua interação (Int).

Tabela 6 pH e nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃; mg/dL) em função das horas de amostragem

Item	Hora						CV (%)	Contraste ¹				
	0	4	8	12	16	20		Linear	Quadrático	Cúbico	Quártico	Quíntico
pH	6,88	6,72	6,64	6,43	6,59	6,80	2,40	0,0043	<0,0001	0,0216	0,5415	0,0259
N-NH ₃	14,13	25,17	18,34	18,35	15,24	11,92	33,18	0,0018	0,0001	0,0047	0,0071	0,0444

¹Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre contrastes.

A redução do pH com o aumento do nível de concentrado na dieta pode ser decorrente do efeito de substituição da FDN por carboidratos mais solúveis, cuja taxa de fermentação é mais rápida (Cecava et al., 1991). Moraes et al. (2008) também verificaram redução do valor de pH com a adição de concentrado.

A cana-de-açúcar apresentou menor ($P<0,05$) concentração de $N-NH_3$ em comparação à silagem de milho e não foi verificado efeito ($P>0,05$) do concentrado. Em outros experimentos, foi verificado efeito do concentrado na concentração de $N-NH_3$ ruminal (Carvalho et al., 1997; Moraes et al., 2008). Como no observado para o pH ruminal, foi observado efeito quintico ($P<0,05$) do $N-NH_3$ ao longo do tempo, variando de 11,92 a 25,17 mg/dL.

As taxas de passagem foram influenciadas ($P<0,05$) pelo tipo de volumoso e adição de concentrado, porém não houve ($P>0,05$) interação desses fatores (Tabela 7). A taxa de passagem de fluidos foi maior ($P<0,05$) para os animais que consumiam silagem de milho ou não recebiam concentrado. A taxa de passagem de partículas no rúmen, independente da técnica de estimação, apresentou maior taxa ($P<0,05$) nos animais com dieta contendo silagem, porém não foi verificado efeito ($P>0,05$) com a adição de concentrado na dieta. Já a taxa de passagem de partículas pós-rúmen foi maior nos animais recebendo silagem de milho ou concentrado.

Comparando as duas técnicas para estimação da taxa de passagem de partículas, pela equação de regressão entre as duas estimativas obteve-se $Y(\text{esvaziamento}) = 0,0318 + 0,4405X$ (modelo não-linear; $r^2 = 0,23$, Figura 1). Pelo teste “t”, verificou-se ($P<0,05$) que $\beta_1 \neq 1$ e que $\beta_0 \neq 0$, ou seja, a inclinação da reta obtida pela regressão difere da reta ideal de igualdade entre as técnicas ($Y=X$), o que indica que não há relação entre as técnicas. Desta foram, ambas as técnicas estimam valores diferentes, sendo que as estimativas obtidas pelo esvaziamento ruminal foram maiores. Entretanto, ambas podem ser utilizadas para comparação de tratamentos, uma vez que foram obtidos as mesmas conclusões estatísticas ao avaliar, neste experimento, o efeito do tipo de volumoso e a adição de concentrado (Tabela 7).

Tabela 7 Taxas de passagem (k ; h^{-1}) estimadas por parâmetros de modelos não-lineares e por esvaziamento ruminal, em função dos tratamentos

Taxa de passagem ²	Tratamento ¹				Efeito ou contraste ³		
	Tcana	Tmilho	TcanaC	TmilhoC	Vol	Conc	Int
Modelo não-linear ⁴							
Fluido							
k	0,0715 ±0,0173	0,0840 ±0,0198	0,0674 ±0,0156	0,0862 ±0,0202	0,8552	0,1416	<0,0001
Partículas fibrosas							
k ₁	0,0174 ±0,0067	0,0370 ±0,0073	0,0195 ±0,0103	0,0289 ±0,0052	0,2616	0,0339	<0,0001
k ₂	0,0514 ±0,0192	0,0826 ±0,0200	0,0496 ±0,0258	0,0767 ±0,0252	0,7401	0,3001	<0,0001
Esvaziamento ruminal ⁵							
k	0,0357 ±0,0050	0,0521 ±0,0050	0,0415 ±0,0050	0,0523 ±0,0050	0,0350	0,5702	0,5955

¹Tcana e Tmilho = dieta com cana-de-açúcar e silagem de milho, respectivamente; TcanaC e TmilhoC = Tcana e Tmilho com 25% de concentrado na MS total, respectivamente. ²k₁ e k₂ = taxa de passagem no rúmen e no pós-rúmen, respectivamente. ³Vol = Tcana+TcanaC versus Tmilho+TmilhoC; Conc = Tcana+Tmilho versus TcanaC+TmilhoC; Int = Tcana+TmilhoC versus TcanaC+Tmilho. ⁴ns e * = não significativo e significativo a 5% de probabilidade. ⁵Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre volumosos (Vol), níveis de concentrado (Conc) e sua interação (Int).

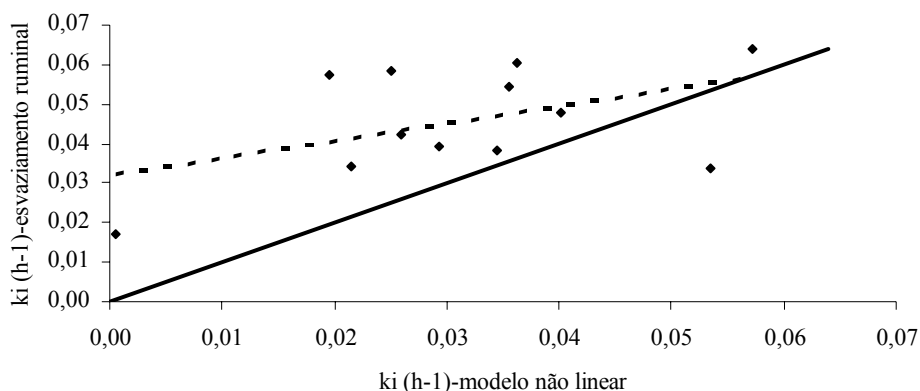


Figura 1 Relação entre a taxa de passagem (k ; h^{-1}) estimada por esvaziamento e por modelo não-linear. A linha contínua representa a relação ideal de igualdade entre as técnicas ($Y=X$) e a linha pontilhada é a regressão linear $Y(\text{esvaziamento}) = 0,0318 + 0,4405X$ (modelo não-linear; $r^2 = 0,23$).

Conclusões

O oferecimento de silagem de milho, em vez de cana-de açúcar, ou a adição de

25% de concentrado na dieta de novilhas resulta em melhor consumo e digestibilidade de nutrientes, assim como parâmetros da cinética de passagem dos animais.

A utilização da técnica de estimação da taxa de passagem de partículas pelo esvaziamento ruminal ou pelo ajustamento de modelo matemático não-linear, para comparação da estimativa da taxa de passagem de partículas entre tratamentos em experimentos, pode ser realizada com o emprego de ambas técnicas. Entretanto, as estimativas com a técnica de esvaziamento ruminal apresentam maior valor.

Literatura citada

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. *Official methods of analysis*. v.1, 15.ed., Virginia: Arlington. 1990. 1117p.
- BODINE, T.N.; PURVIS II, H.T.; LALMAN, D.L. Effects of supplement type on animal performance, forage intake, digestion, and ruminal measurements of growing beef cattle. *Journal of Animal Science*, v.79, n.4, p.1041-1051, 2001.
- CANNAS, A.; VAN SOEST, P.J.; PELL, A.N. Use of animal and dietary information to predict rumen turnover. *Animal Feed Science and Technology*, v.106, p.95-117, 2003.
- CARVALHO, A.U.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. et al. Níveis de concentrados em dietas de zebuínos. 4. Concentrações ruminiais de amônia e pH, taxa de passagem de digesta ruminal e degradação *in situ* dos alimentos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.26, n.5, p.1016-1024, 1997.
- CECAVA, M.J.; MERCHEN, N.R.; BERGER, L.L. et al. Effects of dietary energy level and protein source on nutrient digestion and ruminal nitrogen metabolism in steers. *Journal of Animal Science*, v.69, n.8, p.2230-2243, 1991.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clinical Chemistry*, v.8, p.130-132, 1962.
- COSTA, M.A.L.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Desempenho, digestibilidade e características de carcaça de novilhos zebuínos alimentados com dietas contendo diferentes concentrados. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.1, p.268-279, 2005.
- DADO, R.G.; ALLEN, M.S. Intake limitations, feeding behaviour, and rumen function of cows challenged with rumen fill from dietary fiber inert bulk. *Journal of Dairy Science*, v.78, p.118-133, 1995.
- FONTES, C.A.A.; ALVES, G.R.; PAULINO, M.F. et al. Influência do nível de consumo sobre degradabilidade das partículas e características ligadas à cinética ruminal, em novilhos pastejando capim-elefante. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.6s, p.2134-2144, 2001.
- FORBES, J.M. Voluntary food intake and diet selection in farm animals. CAB International. Walingford. 1995. 532p.

- HUHTANEN, P.; ASIKAINEN, U.; ARKKILA, M. et al. Cell wall digestion and passage kinetics estimated by marker and in situ methods or by rumen evacuations in cattle fed hay 2 or 18 times daily. *Animal Feed Science and Technology*, v.133, p.206-227, 2007.
- LENG, R.A.; PRESTON, T.R. Sugarcane for cattle production: present constraints, perspectives and research priorities. *Tropical Animal Production*, v.1, n.1, p.1-22, 1976.
- LIPPKE, H.; ELLIS, W.C.; JACOBS, .F. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. *Journal of Dairy Science*, v.69, n.2, p.403-412, 1986.
- FRANZOLIN, M.H.T.; LUCCI, C.S.; FRANZOLIN, R. Efeitos de rações com níveis crescentes de cana-de-açúcar em substituição à silagem de milho sobre a população de protozoários ciliados no rúmen de ovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n.5, p.1452-1457, 2000.
- MORAES, K.A.K.; VALADARES FILHO, S.C.; MORAES, E.H.B.K. et al. Parâmetros nutricionais de novilhas de corte alimentadas com cana-de-açúcar tratada com óxido de cálcio e diferentes níveis de concentrado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.7, p.1301-1310, 2008.
- ORSKOV, E.R. *Protein nutrition in ruminants*. London: Academic Press, 1982. 160p.
- PEREIRA, D.H.; PEREIRA, O.G.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Consumo, digestibilidade dos nutrientes e desempenho de bovinos de corte recebendo silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) e diferentes proporções de concentrado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n.1, p.282- 291, 2006.
- POND, K.R.; ELLIS, W.; MATIS, C. Compartment models for estimating attributes of digesta flow in cattle. *British Journal of Nutrition*, v.60, n.2, p. 571-595, 1988.
- REGAZZI, A.J.; SILVA, C.H.O. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. I. Dados no delineamento inteiramente casualizado. *Revista de Matemática e Estatística*, v.22, n.3, p.33-45, 2004.
- RESENDE, F.D.; QUEIROZ, A.C.; OLIVEIRA, J.V. et al. Bovinos mestiços alimentados com diferentes proporções de volumosa: concentrado. 1. Digestibilidade aparente dos nutrientes, ganho de peso e conversão alimentar. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.1, p.261-269, 2001.
- ROBINSON, P.J.; TAMMINGA, S.; VAN VUUREN, A.M. Influence of declining level of feed intake and varying proportion of starch in the concentrate on rumen ingesta quantity, composition and kinetics of ingesta turnover in dairy cows. *Livest. Prod. Sci.*, v.17, p.37-62, 1987.
- SAS. *SAS/STAT User's Guide* (Release 9.0), SAS Inst., Inc., Cary, NC. 2002.
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal of Nutrition*, v.32, n.2, p.199-208, 1974.
- SILVA, F. F.; VALADARES FILHO, S.C.; ÍTAVO, L.C.V. et al. Consumo, desempenho, e características de carcaça e biometria do trato gastrointestinal e dos órgãos internos de novilhos nelore recebendo dietas com diferentes concentrados e proteína. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.4, p.1849-1864, 2002.

- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluation cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- SOARES, J.P.G.; DERESZ, F.; SALMAN, A.K.D. et al. Consumo de capim-elefante com diferentes idades fornecido para vacas leiteiras. *Archivos de Zootecnia*, v.58, 2009. (nota prévia)
- TIBO, G.C.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Concentrado em dietas de novilhos mestiços F1 Simental x Nelore. 1. Consumo e digestibilidades. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n.3, p.910-920, 2000.
- VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca: Cornell, 1994. 476p.
- 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, n.10, p.3583-3597, 1991.

CONCLUSÕES GERAIS

Para a realização de métodos *in vivo* de avaliação de alimentos a utilização de indicadores é imprescindível.

Na coleta de digesta omasal, a utilização de um ou dois indicadores, ou seja, considerar única digesta ou dividi-la em duas fases (fase de grandes partículas-FG e fase líquida e de pequenas partículas-FLP) para estimar o fluxo omasal pode ser realizada. Para isso, podem ser utilizados na FLP os indicadores Co-EDTA ou YbCl₃, com infusão realizada quatro vezes ao dia em intervalo de tempo de seis horas.

Considerando a fase sólida e a digesta total, podem ser empregados as fibras indigestíveis (FDNi e FDAi) e o LIPE[®] em vez do Cr₂O₃ e o TiO₂.

Independente dos indicadores e das fases da digesta consideradas é recomendado a amostragem da digesta omasal em intervalos de quatro, podendo ser realizada somente no período diurno em vez de um período de 24 horas. Recomenda-se ainda, estimar a digestibilidade parcial de nutrientes com a utilização simultânea de FDNi ou FDAi no omaso e no íleo.

Em ensaios de cinética ruminal, o indicador recomendado na avaliação da taxa de passagem de partículas de volumosos é o cromo em vez das terras raras (európio ou itérbio). Para a taxa de passagem de fluidos o Co-EDTA é o melhor indicador em comparação aos compostos fenólicos da lignina. Devendo empregar o modelo multicompartimental (Gn) para sólidos e o unicompartmental tempo-dependente (G2) para fluidos. Ao utilizar o modelo multicompartimental (Gn) com o cromo mordente para estimar a taxa de passagem de partículas, as taxas são menores que as estimadas pela técnica de esvaziamento ruminal, entretanto, as conclusões estatísticas são iguais, possibilitando a utilização de ambas técnicas em experimentos comparando tratamentos.

Ao utilizar os indicadores, pode-se comparar diferentes alimentos e dietas. Dentre os alimentos mais utilizados na nutrição de ruminantes a silagem de milho e a cana-de-açúcar são os volumosos mais utilizados e costuma-se associar ao oferecimento de concentrado, para melhorar o desempenho animal.

Considerado esses volumosos e a adição de concentrado na dieta, O oferecimento de silagem de milho, em vez de cana-de-açúcar, ou a adição de 25% de concentrado na dieta de novilhas resulta em melhor consumo e digestibilidade de nutrientes, assim como parâmetros da cinética de passagem dos animais.

APÊNDICE

Tabela 1A Equações estimadas dos perfis nictemerais para o Co-EDTA, nas diferentes fases da digesta omasal, em função das frequências de infusão do indicador

Tratamento ¹	Equação estimada do perfil nictemeral
Fase líquida da digesta omasal	
T1v	$0,1817 - 0,0237\text{sen}(0,5781t) + 0,0155\text{cos}(0,5781t) + 0,0010\text{sen}(1,1562t) - 0,0240\text{cos}(1,1562t)$
T2v	$0,1853 - 0,0019\text{sen}(0,6637t) - 0,0436\text{cos}(0,6637t) + 0,0011\text{sen}(1,3274t) - 0,0068\text{cos}(1,3274t)$
T4v	$0,1826 - 0,0069\text{sen}(0,6886t) + 0,0200\text{cos}(0,6886t) - 0,0033\text{sen}(1,3772t) + 0,0121\text{cos}(1,3772t)$
T6v	$0,1761 + 0,00094\text{sen}(0,7975t) + 0,0184\text{cos}(0,7975t) - 0,0620\text{sen}(1,5950t) + 0,0244\text{cos}(1,5950t)$
Fase de pequenas partículas da digesta omasal	
T1v	$0,0614 - 0,0113\text{sen}(0,7321t) + 0,0039\text{cos}(0,7321t) + 0,00021\text{sen}(1,4642t) - 0,0139\text{cos}(1,4642t)$
T2v	$0,0623 - 0,0068\text{sen}(0,6166t) - 0,0135\text{cos}(0,6166t) - 0,00085\text{sen}(1,2332t) - 0,0063\text{cos}(1,2332t)$
T4v	$0,0596 - 0,0076\text{sen}(0,5469t) - 0,0048\text{cos}(0,5469t) + 0,0013\text{sen}(1,0938t) + 0,0037\text{cos}(1,0938t)$
T6v	$0,0698 + 0,0060\text{sen}(0,6724t) + 0,0035\text{cos}(0,6724t) - 0,0054\text{sen}(1,3448t) - 0,0070\text{cos}(1,3448t)$
Fase líquida e de pequenas partículas da digesta omasal	
T1v	$0,1441 - 0,0024\text{sen}(0,8847t) + 0,0120\text{cos}(0,8847t) + 0,0073\text{sen}(1,7694t) - 0,0276\text{cos}(1,7694t)$
T2v	$0,1355 + 0,0339\text{sen}(0,9728t) - 0,0431\text{cos}(0,9728t) - 0,0180\text{sen}(1,9456t) + 0,0266\text{cos}(1,9456t)$
T4v	$0,1404 - 0,0104\text{sen}(0,7328t) + 0,0076\text{cos}(0,7328t) - 0,0131\text{sen}(1,4656t) - 0,0010\text{cos}(1,4656t)$
T6v	$0,1316 + 0,00024\text{sen}(0,8205t) + 0,0044\text{cos}(0,8205t) - 0,0252\text{sen}(1,6410t) + 0,0267\text{cos}(1,6410t)$
Fase de grandes partículas da digesta omasal	
T1v	$0,0162 - 0,0025\text{sen}(0,6884t) + 0,00000004\text{cos}(0,6884t) - 0,00006\text{sen}(1,3768t) - 0,0022\text{cos}(1,3768t)$
T2v	$0,0153 + 0,0035\text{sen}(0,4811t) + 0,0014\text{cos}(0,4811t) + 0,0036\text{sen}(0,9622t) + 0,00074\text{cos}(0,9622t)$
T4v	$0,0156 - 0,00029\text{sen}(0,6782t) + 0,0017\text{cos}(0,6782t) - 0,00073\text{sen}(1,3564t) + 0,00093\text{cos}(1,3564t)$
T6v	$0,0154 + 0,0020\text{sen}(0,4356t) + 0,0009\text{cos}(0,4356t) + 0,00044\text{sen}(0,8712t) + 0,0013\text{cos}(0,8712t)$

¹T1v = infusão do indicador uma vez/dia; T2v = infusão do indicador duas vez/dia; T4v = infusão do indicador quatro vez/dia; T6v = infusão do indicador seis vez/dia.

Tabela 2A Equações estimadas dos perfis nictemerais para o YbCl₃, nas diferentes fases da digesta omasal, em função das frequências de infusão do indicador

Tratamento ¹	Equação estimada do perfil nictemeral
Fase líquida da digesta omasal	
T1v	$0,0930 - 0,0152\text{sen}(0,5590t) - 0,0100\text{cos}(0,5590t) + 0,0049\text{sen}(1,1180t) - 0,0097\text{cos}(1,1180t)$
T2v	$0,0917 - 0,0028\text{sen}(0,7013t) + 0,00093\text{cos}(0,7013t) - 0,0112\text{sen}(1,4026t) - 0,0016\text{cos}(1,4026t)$
T4v	$0,0914 + 0,0037\text{sen}(0,7931t) + 0,0167\text{cos}(0,7931t) + 0,0034\text{sen}(1,5862t) + 0,0049\text{cos}(1,5862t)$
T6v	$0,0895 + 0,0099\text{sen}(0,8328t) + 0,0133\text{cos}(0,8328t) + 0,0065\text{sen}(1,6656t) - 0,0039\text{cos}(1,6656t)$
Fase de pequenas partículas da digesta omasal	
T1v	$0,1954 - 0,0225\text{sen}(0,5572t) - 0,0133\text{cos}(0,5572t) - 0,0142\text{sen}(1,1144t) - 0,00020\text{cos}(1,1144t)$
T2v	$0,1957 - 0,0132\text{sen}(0,6668t) - 0,0355\text{cos}(0,6668t) - 0,0033\text{sen}(1,3336t) + 0,0034\text{cos}(1,3336t)$
T4v	$0,1926 + 0,0026\text{sen}(0,6863t) + 0,0070\text{cos}(0,6863t) - 0,0035\text{sen}(1,3726t) + 0,0013\text{cos}(1,3726t)$
T6v	$0,1893 - 0,0075\text{sen}(0,7443t) + 0,0064\text{cos}(0,7443t) - 0,00074\text{sen}(1,4886t) + 0,0269\text{cos}(1,4886t)$
Fase líquida e de pequenas partículas da digesta omasal	
T1v	$0,1758 - 0,0126\text{sen}(0,8199t) - 0,0047\text{cos}(0,8199t) + 0,0160\text{sen}(1,6398t) - 0,0312\text{cos}(1,6398t)$
T2v	$0,1712 + 0,0312\text{sen}(0,9065t) + 0,0284\text{cos}(0,9065t) - 0,0108\text{sen}(1,8130t) - 0,0028\text{cos}(1,8130t)$
T4v	$0,1697 + 0,0058\text{sen}(0,7616t) + 0,0100\text{cos}(0,7616t) + 0,00082\text{sen}(1,5232t) + 0,0136\text{cos}(1,5232t)$
T6v	$0,1707 + 0,0041\text{sen}(0,8068t) + 0,0145\text{cos}(0,8068t) - 0,0276\text{sen}(1,6136t) + 0,0304\text{cos}(1,6136t)$
Fase de grandes partículas da digesta omasal	
T1v	$0,1313 - 0,0126\text{sen}(0,7937t) + 0,0111\text{cos}(0,7937t) + 0,1110\text{sen}(1,5874t) - 0,0307\text{cos}(1,5874t)$
T2v	$0,0948 + 0,0139\text{sen}(0,4913t) - 0,0052\text{cos}(0,4913t) + 0,0109\text{sen}(0,9826t) - 0,0075\text{cos}(0,9826t)$
T4v	$0,1293 + 0,0020\text{sen}(0,4964t) - 0,0040\text{cos}(0,4964t) - 0,00017\text{sen}(0,9928t) + 0,0084\text{cos}(0,9928t)$
T6v	$0,1255 + 0,0148\text{sen}(0,4632t) - 0,0025\text{cos}(0,4632t) + 0,0230\text{sen}(0,9264t) + 0,0110\text{cos}(0,9264t)$

¹T1v = infusão do indicador uma vez/dia; T2v = infusão do indicador duas vez/dia; T4v = infusão do indicador quatro vez/dia; T6v = infusão do indicador seis vez/dia.

Tabela 3A Equações estimadas dos perfis nictemerai para os diferentes indicadores nas diferentes fases da digesta omasal

Tratamento ¹	Equação estimada do perfil nictemeral
Fase única da digesta omasal	
FDNi	$35,1630 + 0,3518\text{sen}(0,4593t) - 1,5191\text{cos}(0,4593t) + 2,4525\text{sen}(0,9186t) + 0,4987\text{cos}(0,9186t)$
FDAi	$14,5305 + 0,7322\text{sen}(0,8857t) + 0,6609\text{cos}(0,8857t) + 0,7590\text{sen}(1,7714t) - 0,3055\text{cos}(1,7714t)$
Cr ₂ O ₃	$0,4923 + 0,1113\text{sen}(0,8496t) + 0,1080\text{cos}(0,8496t) + 0,0581\text{sen}(1,6992t) - 0,0229\text{cos}(1,6992t)$
TiO ₂	$0,6071 + 0,0037\text{sen}(0,3858t) - 0,0695\text{cos}(0,3858t) + 0,0178\text{sen}(0,7716t) + 0,1448\text{cos}(0,7716t)$
LIPE [®]	$28,8535 - 0,2757\text{sen}(0,7657t) + 5,1285\text{cos}(0,7657t) - 1,1336\text{sen}(1,5314t) + 1,5280\text{cos}(1,5314t)$
Fase de grandes partículas da digesta omasal	
FDNi	$56,9326 - 1,2754\text{sen}(0,5523t) + 0,5752\text{cos}(0,5523t) - 1,5696\text{sen}(1,1046t) + 0,2539\text{cos}(1,1046t)$
FDAi	$27,3217 + 1,6219\text{sen}(0,8257t) - 0,9188\text{cos}(0,8257t) - 1,0934\text{sen}(1,6514t) + 2,0937\text{cos}(1,6514t)$
Cr ₂ O ₃	$0,1670 + 0,0055\text{sen}(0,8971t) + 0,0725\text{cos}(0,8971t) + 0,0174\text{sen}(1,7942t) - 0,0565\text{cos}(1,7942t)$
TiO ₂	$0,4898 - 0,0136\text{sen}(0,4093t) - 0,00084\text{cos}(0,4093t) + 0,0526\text{sen}(0,8186t) + 0,0503\text{cos}(0,8186t)$
LIPE [®]	$18,4736 + 0,1479\text{sen}(0,8160t) + 0,3543\text{cos}(0,8160t) + 0,1185\text{sen}(1,6320t) + 0,1552\text{cos}(1,6320t)$
Fase líquida e de pequenas partículas da digesta omasal	
FDNi	$13,5398 - 0,5521\text{sen}(0,4349t) - 0,6407\text{cos}(0,4349t) + 0,7317\text{sen}(0,8698t) - 1,0296\text{cos}(0,8698t)$
FDAi	$3,8880 - 0,2248\text{sen}(0,7393t) + 0,2883\text{cos}(0,7393t) - 0,1066\text{sen}(1,4786t) - 0,6177\text{cos}(1,4786t)$
Cr ₂ O ₃	$0,3475 - 0,0501\text{sen}(0,7366t) + 0,0557\text{cos}(0,7366t) - 0,0326\text{sen}(1,4732t) - 0,0580\text{cos}(1,4732t)$
TiO ₂	$0,6717 - 0,0362\text{sen}(0,3752t) - 0,1172\text{cos}(0,3752t) - 0,0416\text{sen}(0,7504t) + 0,1213\text{cos}(0,7504t)$
LIPE [®]	$24,6155 + 1,6879\text{sen}(0,8110t) + 2,7596\text{cos}(0,8110t) + 2,2606\text{sen}(1,6220t) - 1,0644\text{cos}(1,6220t)$
Fase de pequenas partículas da digesta omasal	
FDNi	$33,3474 + 0,6229\text{sen}(0,6181t) - 1,2155\text{cos}(0,6181t) - 0,4616\text{sen}(1,2362t) - 1,8747\text{cos}(1,2362t)$
FDAi	$11,0299 - 1,3449\text{sen}(0,9881t) - 0,4115\text{cos}(0,9881t) - 0,7741\text{sen}(1,9762t) - 1,9447\text{cos}(1,9762t)$
Cr ₂ O ₃	$0,7454 - 0,0787\text{sen}(0,7028t) + 0,0412\text{cos}(0,7028t) + 0,0439\text{sen}(1,4056t) - 0,0326\text{cos}(1,4056t)$
TiO ₂	$1,0762 - 0,0499\text{sen}(0,3429t) - 0,1093\text{cos}(0,3429t) - 0,0661\text{sen}(0,6858t) + 0,0385\text{cos}(0,6858t)$
LIPE [®]	$18,5619 - 0,6111\text{sen}(0,7220t) + 0,7336\text{cos}(0,7220t) + 0,4010\text{sen}(1,4540t) - 0,3709\text{cos}(1,4540t)$

Continuação da Tabela 3A

Tratamento ¹	Equação estimada do perfil nictemeral
	Fase líquida da digesta omasal
FDNi	
FDAi	
Cr ₂ O ₃	$0,0631 - 0,0075\text{sen}(0,7518t) + 0,0091\text{cos}(0,7518t) - 0,0148\text{sen}(1,5036t) - 0,0079\text{cos}(1,5036t)$
TiO ₂	$0,2717 - 0,0111\text{sen}(0,2674t) - 0,0367\text{cos}(0,2674t) - 0,0266\text{sen}(0,5348t) + 0,0043\text{cos}(0,5348t)$
LIPE [®]	$36,9177 + 6,9643\text{sen}(0,8252t) + 5,0812\text{cos}(0,8252t) + 6,6037\text{sen}(1,6504t) - 1,6176\text{cos}(1,6504t)$

¹FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; Cr₂O₃= óxido crômico; TiO₂= dióxido de titânio; LIPE[®]= lignina purificada do eucalipto.

Tabela 4A Limites inferior (LI) e superior (LS) do intervalo de confiança a 95% de probabilidade para os coeficientes de digestibilidade intestinal (% do total ingerido) de FDNcp, estimados por diferentes indicadores usados no omaso e íleo, em função dos períodos de coleta e das combinações de indicadores

Indicador ¹		Diurno		Diário	
Omaso	Íleo	LI	LS	LI	LS
FDNi	FDNi	-3,39	3,58 ²	-5,86	1,12 ²
	FDAi	1,39	8,67	-1,21	6,07 ²
	Cr ₂ O ₃	6,21	24,06	9,05	26,90
	TiO ₂	0,03	20,35	4,44	24,76
FDAi	FDNi	-5,19	1,16 ²	-8,22	-1,88
	FDAi	-0,41	6,25 ²	-3,59	3,08 ²
	Cr ₂ O ₃	4,27	21,80	6,53	24,06
	TiO ₂	-1,90	18,07 ²	1,93	21,90
Cr ₂ O ₃	FDNi	-20,93	-9,44	-23,20	-11,71
	FDAi	-15,75	-4,76	-18,15	-7,17
	Cr ₂ O ₃	-9,77	9,48 ²	-6,74	12,51 ²
	TiO ₂	-15,54	5,36 ²	-10,94	9,97 ²
TiO ₂	FDNi	-23,48	-14,19	-25,76	-16,48
	FDAi	-18,40	-9,40	-20,83	-11,82
	Cr ₂ O ₃	-12,89	5,32 ²	-9,88	8,33 ²
	TiO ₂	-18,89	1,42 ²	-14,31	6,00 ²
Co-FDNi	FDNi	-3,61	1,73 ²	-5,57	-0,23
	FDAi	1,43	6,56	-0,67	4,46 ²
	Cr ₂ O ₃	6,39	21,83	9,72	25,16
	TiO ₂	0,41	17,92	5,31	22,82
Co-FDAi	FDNi	-4,90	0,52 ²	-7,30	-1,88
	FDAi	0,14	5,35	-2,40	2,81 ²
	Cr ₂ O ₃	5,08	20,62	7,99	23,53
	TiO ₂	-0,79	16,60 ²	3,69	21,08
Co-Cr	FDNi	-1,93	12,16 ²	-2,28	-9,33
	FDAi	3,43	16,65	-4,10	9,13 ²
	Cr ₂ O ₃	11,82	28,51	9,72	26,41
	TiO ₂	6,50	23,92	5,98	23,40
Co-Ti	FDNi	-17,95	-8,17	-19,83	-10,04
	FDAi	-12,91	-3,33	-14,93	-5,35
	Cr ₂ O ₃	-5,33	9,31 ²	-1,91	12,73 ²
	TiO ₂	-12,13	6,21 ²	-7,14	11,20 ²
Yb-FDNi	FDNi	-2,07	3,67 ²	-4,36	1,38 ²
	FDAi	2,94	8,53	0,51	6,11
	Cr ₂ O ₃	8,17	23,52	11,18	26,53
	TiO ₂	2,20	19,60	6,78	24,18
Yb-FDAi	FDNi	-3,36	2,00 ²	-5,56	-0,23
	FDAi	1,70	6,83	-0,66	4,47 ²
	Cr ₂ O ₃	6,69	22,06	9,77	25,13
	TiO ₂	0,75	18,10	5,40	22,75

Co-Yb-FDNI	FDNi	9,88	16,09	8,69	14,90
	FDAi	14,48	21,36	13,15	20,04
	Cr ₂ O ₃	18,91	37,16	23,02	41,27
	TiO ₂	13,15	33,03	18,82	38,71
Co-Yb-FDAi	FDNi	8,00	13,96	5,67	11,62
	FDAi	12,62	19,21	10,14	16,73
	Cr ₂ O ₃	17,04	35,02	19,99	37,97
	TiO ₂	11,33	30,84	15,85	35,37

¹FDNi= fibra em detergente neutro indigestível; FDAi= fibra em detergente ácido indigestível; Cr₂O₃= óxido crômico; TiO₂= dióxido de titânio; Co-FDNI, Co-FDAi, Co-Cr e Co-Ti = Co-EDTA associado à FDNi, FDAi, óxido crômico e ao dióxido de titânio, respectivamente; Yb-FDNI e Yb-FDAi= cloreto de itérbio associado à FDNi e FDAi, respectivamente; Co-Yb-FDNI e Co-Yb-FDAi= Co-EDTA associado ao cloreto de itérbio e associado à FDNi e FDAi, respectivamente. ²Intervalo de confiança contendo o valor zero.