

TIAGO NEVES PEREIRA VALENTE

**UTILIZAÇÃO DE TECIDOS NA AVALIAÇÃO DE  
COMPOSTOS FIBROSOS E NA DEGRADAÇÃO RUMINAL  
*IN SITU* DE ALIMENTOS PARA RUMINANTES**

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  
2010

TIAGO NEVES PEREIRA VALENTE

**UTILIZAÇÃO DE TECIDOS NA AVALIAÇÃO DE  
COMPOSTOS FIBROSOS E NA DEGRADAÇÃO RUMINAL  
*IN SITU* DE ALIMENTOS PARA RUMINANTES**

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: 01 de março de 2010.

---

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

---

Prof. Augusto César de Queiroz  
(Co-orientador)

---

Profa. Rilene Ferreira Diniz Valadares

---

Prof. Luciana Navajas Rennó

---

Prof. Edenio Detmann  
(Orientador)

Agradeço a Deus

Ao meu pai Armando e minha mãe Vera por toda confiança depositada, sempre me deram força para que conquistasse meus objetivos

Ao meu irmão Rodrigo por ter sempre me ajudado

A minha avó que mesmo a distância sempre se mostrava presente

A Crislen Adrielle Luz Sobrinho, por estar sempre comigo mesmo nos momentos mais difíceis

Esta não é somente uma conquista minha e sim de todos que me apoiaram e acreditaram no meu sonho

Obrigado

## **AGRADECIMENTOS**

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG; Programa Pesquisador Mineiro) e ao CNPq, pelo suporte financeiro para realização do trabalho de pesquisa.

Ao INCT-Ciência Animal pelo apoio à pesquisa.

Ao Professor Edenio Detmann, pela oportunidade concedida, ajuda e orientação ao longo do curso, e pelo incentivo que permitiu o meu aperfeiçoamento e crescimento profissional.

Aos Professores Sebastião de Campos Valadares Filho, Augusto César Queiroz e Mário Fonseca Paulino pela co-orientação

Aos demais professores do Departamento de Zootecnia

Às Professoras Rilene Ferreira Diniz Valadares e Luciana Navajas Rennó pelas sugestões

À Professora Maura da Cunha do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual do Centro de Biociências e Biotecnologia da UENF.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia da UFV

Aos meus amigos de pós-graduação Janderson Figueiras, Cláudia Sampaio, Marjorrie Souza, Daiany Gomes, Isis Lazarinni, Henrique Machado e Bruno Mendonça, aos graduandos Erick e William.

Às minhas amigas Viviane Aparecida Carli Costa e Lara Toledo Henriques.

Ao meu amigo Jorge Osamu Tsuruta.

## **BIOGRAFIA**

Tiago Neves Pereira Valente, filho de Armando Pinto Valente e Vera Neves Pereira Valente, nasceu no Rio de Janeiro, no dia 17 de setembro de 1980.

Em fevereiro de 2005, concluiu o curso de Graduação em Zootecnia pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Em março de 2005 iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia, pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Ruminantes, submetendo-se à defesa de dissertação em 31 de julho de 2006.

Em março de 2007, iniciou o curso de Doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa, desenvolvendo estudos na área de Nutrição de Ruminantes, submetendo-se à defesa de tese em 1º de março de 2010.

## ÍNDICE

|                                 | Página |
|---------------------------------|--------|
| RESUMO-----                     | vii    |
| ABSTRACT-----                   | x      |
| INTRODUÇÃO GERAL-----           | 1      |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS----- | 4      |

### **Avaliação dos teores de fibra em detergente neutro em forragens, concentrados e fezes bovinas moídas em diferentes tamanhos e em sacos de diferentes tecidos**

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| Resumo-----                 | 6  |
| Abstract-----               | 7  |
| Introdução-----             | 8  |
| Material e Métodos-----     | 9  |
| Resultados e Discussão----- | 12 |
| Conclusões-----             | 21 |
| Literatura Citada-----      | 22 |

### **Simulação de variações na composição de amostras na avaliação dos teores de fibra em detergente neutro por intermédio padrão de celulose em sacos confeccionados com diferentes tecidos**

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| Resumo-----                 | 24 |
| Abstract-----               | 25 |
| Introdução-----             | 26 |
| Material e Métodos-----     | 27 |
| Resultados e Discussão----- | 31 |
| Conclusões-----             | 41 |
| Literatura Citada -----     | 42 |

**Estimação *in situ* dos teores de componentes indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos com sacos de diferentes tecidos**

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| Resumo-----                 | 44 |
| Abstract-----               | 45 |
| Introdução-----             | 46 |
| Material e Métodos-----     | 47 |
| Resultados e Discussão----- | 51 |
| Conclusões-----             | 65 |
| Literatura Citada -----     | 65 |

**Avaliação dos perfis de degradação ruminal de volumosos utilizando sacos confeccionados por diferentes tecidos**

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| Resumo-----                 | 68 |
| Abstract-----               | 69 |
| Introdução-----             | 70 |
| Material e Métodos-----     | 71 |
| Resultados e Discussão----- | 75 |
| Conclusões-----             | 88 |
| Literatura Citada -----     | 88 |

## RESUMO

VALENTE, Tiago Neves Pereira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2010.

**Utilização de tecidos na avaliação de compostos fibrosos e na degradação ruminal *in situ* de alimentos para ruminantes.** Orientador: Edenio Detmann. Co-orientadores: Augusto César de Queiroz, Mário Fonseca Paulino e Sebastião de Campos Valadares Filho.

A presente tese foi elaborada com base em quatro artigos. No primeiro artigo objetivou-se avaliar a influência do tamanho das partículas sobre os teores de fibra em detergente neutro (FDN) utilizando-se sacos confeccionados com os tecidos nylon, F57 (Ankom®) e tecido não-tecido (TNT – 100 g/m<sup>2</sup>). Com o intuito de aferir os teores de FDN obtidos por intermédio dos diferentes tecidos, utilizou-se papel de filtro quantitativo (celulose purificada) como padrão analítico. O material foi processado em 1 e 2 mm e acondicionado nos sacos seguindo-se a relação de 20 mg de matéria seca/cm<sup>2</sup> de superfície. Utilizou-se aparelho analisador de fibras (Ankom<sup>220</sup>), empregando-se  $\alpha$ -amilase termoestável. Não foram verificados efeitos do tamanho de partículas. Perdas de partículas significativas foram verificadas com o uso do nylon. Em uma segunda etapa foram utilizadas amostras de forragem (feno de capim-braquiária, cana de açúcar, feno de coastcross, palha de milho, silagem de milho e capim-elefante cortado aos 50 dias e 250 dias de rebrotação), alimentos concentrados (sorgo grão, glúten de milho, polpa cítrica, farelo de algodão, farelo de soja, farelo de trigo, milho grão, soja grão e casca de soja) e fezes bovinas oriundas de animais alimentados com dietas contendo 15% e 50% de concentrado. As amostras foram preparadas, acondicionadas e analisadas como descrito no experimento anterior. De forma geral, os menores teores de FDN foram encontrados para o nylon, indicando perda de partículas devido à porosidade do saco. Recomenda-se a moagem de amostras em peneiras de porosidade 1 mm, o que propicia a extração eficiente do conteúdo celular pela ação do detergente neutro e maior superfície específica para ação da  $\alpha$ -amilase termoestável. Neste contexto, partículas processadas em 2 mm conduzem à superestimação dos teores de FDN. No segundo artigo objetivou-se avaliar a eficiência da utilização dos tecidos nylon (50  $\mu$ m), F57 e TNT, na avaliação laboratorial de FDN utilizando papel de filtro quantitativo como padrão de celulose, simulando-se diferentes composições de amostras com adições de amido de milho, pectina, caseína e óleo de soja.



O papel foi processado em moinho de facas com peneira de porosidade 1 mm e os procedimentos de análise dos teores de FDN foram conduzidos em aparelho analisador de fibras (Ankom<sup>220</sup>®). Quatro experimentos foram simulados com adições dos diferentes ingredientes ao papel de filtro, sendo o amido de milho adicionado nos níveis de 15 ou 50%; pectina 15 ou 50%; caseína 10 ou 30%; e óleo de soja 0, 5, 10, 15, 25 ou 50% na base da matéria seca (MS), respectivamente. Obedeceu-se à relação de 20 mg de MS/cm<sup>2</sup> de superfície. Quando pertinente, em função dos tratamentos avaliados, utilizou-se  $\alpha$ -amilase termoestável. A utilização dos tecidos F57 e TNT resultaram em estimativas acuradas dos teores de FDN, enquanto o tecido nylon propiciou perda de partículas fibrosas insolúveis, o que compromete a exatidão dos resultados. Para amostras que contenham amido a utilização da  $\alpha$ -amilase termoestável é recomendada na avaliação dos teores de FDN. A pectina e caseína foram completamente solubilizadas pela solução de detergente neutro. Níveis de óleo de soja superiores a 10% causaram superestimação dos teores de FDN. No terceiro artigo objetivou-se avaliar as estimativas de concentração dos indicadores internos matéria seca (MSi), fibra em detergente neutro (FDNi) e fibra em detergente ácido (FDAi) indigestíveis em amostras de alimentos e fezes bovinas processadas em diferentes tamanhos de partículas (1, 2 e 3 mm) utilizando-se sacos confeccionados com os tecidos nylon (50  $\mu$ m), F57 e TNT em procedimento de avaliação *in situ*. Foram utilizadas oito amostras de alimentos concentrados, sete amostras de alimentos volumosos e duas amostras de fezes bovinas. O material foi acondicionado nos sacos seguindo-se a relação de 20 mg de MS/cm<sup>2</sup> de superfície. Foram utilizados três sacos de cada tecido para cada tamanho de partícula, totalizando 405 sacos, que foram submetidos a 264 horas de incubação ruminal. Os teores dos indicadores foram avaliados seqüencialmente. Sacos em branco foram utilizados para avaliação microscópica da integridade física dos tecidos e para avaliação da resistência à tração. A presença de contaminantes causou alta variabilidade dos resultados relativos à MSi, o que indica comprometimento de sua aplicação como indicador interno. Os tecidos F57 e TNT produziram estimativas similares para os teores de FDNi e FDAi, enquanto o tecido nylon subestimou a concentração de compostos indigestíveis, possivelmente em função da perda de partículas devido à sua porosidade. O nylon apresentou perda de resistência em todas as etapas analíticas, o que amplia sua probabilidade de ruptura, principalmente após extração com detergente ácido. Sugere-se a

moagem de amostras em peneiras com porosidade de 2 mm para procedimentos *in situ* de avaliação de compostos indigestíveis. No quarto artigo objetivou-se avaliar o perfil de degradação ruminal da MS e da FDN de diferentes alimentos volumosos, utilizando-se sacos confeccionados com os tecidos nylon, F57 e TNT em procedimento de avaliação *in situ*. Foram utilizadas oito amostras de alimentos volumosos: cana-de-açúcar, silagem de milho, capim elefante cortado aos 50 e 250 dias de rebrotação, palha de milho, feno de capim braquiária, feno de capim coastcross e alfafa. Foram avaliados os seguintes tempos de incubação: 0, 3, 6, 12, 18, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240 e 312 horas. Utilizaram-se dois sacos de cada tecido para cada tempo de incubação, totalizando 768 sacos. Foram utilizados dois novilhos Holandês x Zebu, fistulados no rúmen. Observou-se diferença para todos os alimentos, com exceção da cana-de-açúcar para as estimativas da taxa fracional conjunta de latência e degradação ( $\lambda$ ) para os perfis de degradação ruminal da MS. De forma geral, maiores estimativas de  $\lambda$  foram obtidas com o nylon, seguidos pelos tecidos TNT e F57. Avaliando-se o parâmetro  $\lambda$  para os perfis de degradação de ruminal da FDN, diferenças entre tecidos foram observadas em todos os alimentos, com maiores estimativas obtidas com o nylon. Perfis de degradação ruminal da MS e da FDN não devem ser avaliados utilizando-se os tecidos F57 e TNT, pois estes subestimam a taxa de degradação devido a limitações quanto à troca de material com o ambiente ruminal.

## ABSTRACT

VALENTE, Tiago Neves Pereira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March of 2010.

**Utilization of textiles in the evaluation of fibrous compounds and *in situ* ruminal degradation of ruminant feeds.** Adviser: Edenio Detmann. Co-advisers: Augusto César de Queiroz, Mário Fonseca Paulino and Sebastião de Campos Valadares Filho.

This thesis was prepared from four papers. The first one was carried out to evaluate the effects of different particles sizes on neutral detergent fiber (NDF) content using bags made from the textiles: nylon (50  $\mu$ m), F57 (Ankom®), and non-woven textile (NWT – 100 g/m<sup>2</sup>). In the first experiment, quantitative filter paper (purified cellulose) was used as analytical standard to check NDF analysis in the bags. The samples were processed (1- or 2-mm) and put in the bags in a ratio of 20 mg of dry matter/cm<sup>2</sup> of surface. The extraction procedure was carried out in a fiber analyzer (Ankom<sup>220</sup>) using a heat-stable  $\alpha$ -amylase. No effects of different particles sizes were found. Particles loss was observed for nylon bags. In a second step level, samples of forage (signal grass hay, sugar cane, coastcross hay, corn straw, corn silage, and elephant grass at 50 and 250 days of growing after cutting), concentrate feeds (sorghum grain, gluten meal, citrus pulp, cottonseed meal, soybean meal, wheat bran, corn grain, whole soybean, and soybean hulls), and feces of cattle fed diets containing 15 or 50% of concentrate, were used. The samples were prepared, put in the bags, and analyzed as described for the previous experiment. In a general way, the smaller NDF results were found with nylon. It could indicate particles loss caused by textile porosity. It is recommended that samples be ground using 1-mm screen sieve, which implicates higher specific surface and allows better cellular content extraction by detergent and action of the heat-stable  $\alpha$ -amylase. In this context, the use of particles ground at 2-mm causes overestimation of NDF contents. In the second paper the objective was to evaluate the effect of different textiles (nylon -50  $\mu$ m; F57; and NWT on NDF content estimates using quantitative filter paper as purified cellulose standard. It was simulated different sample compositions using starch, pectin, casein or soybean oil. The quantitative filter paper was processed in 1-mm screen sieve. The extraction procedure was carried out in fiber analyzer (Ankom<sup>220</sup>®). Four experiments were carried out with additions of the different ingredients together filter paper: corn starch at 15 or 50%; pectin at 15 or 50%;

casein at 10 or 30%; and soybean oil at 0, 5, 10, 15, 25 or 50%, on dry matter basis (DM); respectively. The samples were put in the bags in a ratio of 20 mg of DM/cm<sup>2</sup> of surface. When pertinent, according to treatments, heat-stable  $\alpha$ -amylase was used. It were found similar NDF results by using NWT or F57. The nylon textile caused loss of fibrous particles and produced inaccurate estimates of NDF contents. The heat-stable  $\alpha$ -amylase is recommended in the evaluation of NDF contents of starch containing samples. The pectin and casein were totally removed by neutral detergent solution. Samples containing levels up to 10% of oil caused overestimated NDF contents. In the third paper the objective was to evaluate the estimate the contents of internal markers indigestible dry matter (iDM), indigestible neutral detergent fiber (iNDF) and indigestible acid detergent fiber (iADF) in samples of cattle feed and feces processed at different particle sizes (1-, 2-, and 3 - mm) using bags made by the textiles nylon, F57, and NWT in a *in situ* procedure. It were used eight samples of concentrates, seven samples of forages and two samples of cattle feces. The samples were put in the bags according to a ratio of 20 mg of DM/cm<sup>2</sup> of surface. It were used three bags of each textile and particle sizes, totality 405 bags. The bags were submitted to 264 hours *in situ* rumen incubation. The contents of markers were sequentially evaluated. Blank bags were used for microscopic evaluation of textile integrity and for evaluation of the physical resistance. The presence of contaminants caused high variability of iDM results, which indicated that its use as internal marker is not recommended. F57 and NWT presented similar estimates of iNDF and iADF, while nylon underestimated the concentration of indigestible compounds. This result is probably associated with particle loss. The nylon showed decrease in physical resistance after each analytical step. That pattern leads to an increase of the rupture probability, mainly after acid detergent extraction. It was recommended the milling of samples at 2 - mm particles size to evaluate indigestible compounds through *in situ* procedures. In the fourth paper it were evaluated the *in situ* degradation profiles of DM and NDF of different forages using bags made from nylon (50  $\mu$ m), F57 and NWT. Eight forages samples were used: sugarcane, corn silage, elephant grass cut at 50 and 250 days of regrowth, corn straw, signal grass hay, coastcross hay, and fresh alfafa. The samples were incubated for 0, 3, 6, 12, 18, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240, and 312 hours. Two bag of each textile were used at each incubation time, totalizing 768 bags, using two crossbred Holstein x Zebu steers fitted with

ruminal cannulae. There was difference in the common rate of lag and degradation ( $\lambda$ ) of DM for all forages, excepting sugarcane. In general, higher  $\lambda$  estimates were obtained using nylon, followed by NWT and F57. Concerning NDF degradation profiles, differences in  $\lambda$  were observed for all forages. Higher estimates were obtained using nylon. Degradation profiles of DM and NDF must be not evaluated using F57 and NWT. These textiles underestimate the degradation rate because there are limitations regarding exchange between bags inside and rumen environment.

## Introdução Geral

O conhecimento dos teores de fibra em detergente neutro (FDN) dos alimentos permite a formulação de dietas mais adequadas para animais de produção (Knudsen, 2001). O método para obtenção dos teores de FDN foi originalmente desenvolvido por P.J. Van Soest na década de 1960 e, desde então, tem sofrido numerosas modificações. A dificuldade para extração e lavagem dos resíduos fibrosos de algumas amostras adiciona dificuldade no conhecimento exato do valor de FDN das forragens (Mertens, 2002).

Com o surgimento do sistema Ankom® para análises de fibras, novas perspectivas foram dadas ao uso de tecidos na avaliação laboratorial de alimentos. Este sistema tem se mostrado vantajoso por ter menor custo e ser menos laborioso (Cherney, 2000) e não apresentar diferenças em comparação ao sistema convencional com o uso de vidrarias (Komarek, 1993; Vogel et al., 1999).

Adicionalmente, a avaliação de parâmetros da digestão em ruminantes é considerada de maior exatidão pela utilização de métodos *in vivo*. Contudo, por questões de custos e bem estar animal, observa-se tendência de redução deste tipo de experimentação, ocasionando aumento no interesse pelos procedimentos *in vitro* ou *in situ* (Broderick & Cochran, 2000). Contudo, entre estas duas técnicas, os procedimentos *in situ* têm sido preferidos (Marinucci et al., 1992; Vanzant et al., 1998), principalmente por serem conduzidos no próprio ambiente ruminal, propiciando degradação mais eficiente quando comparados aos sistemas *in vitro* (Varel & Kreikemeier, 1995). Em adição, sua utilização evita o acúmulo de produtos finais da fermentação que podem

afetar a degradação, como ocorre muitas vezes em sistemas *in vitro* (Cherney et al., 1993).

Por intermédio da modelagem matemática dos perfis de degradação dos alimentos *in situ* torna-se possível a estimação de diferentes parâmetros da dinâmica ruminal, incluindo-se, entre outros, a taxa e extensão da degradação, as frações efetivamente degradada e indegradável e o efeito de repleção ruminal da fração fibrosa (Vieira et al., 1997; Sampaio et al., 2009).

Vários tecidos têm sido propostos para avaliação laboratorial de fibras e quantificação de parâmetros da degradação ruminal, destacando-se o nylon (50 µm), o F57 (Ankom®) e o tecido não-tecido (TNT, 100 g/m<sup>2</sup>). O nylon tem sido empregado como recipiente padrão (Nocek, 1988). Porém, uma das principais limitações com o uso de tecidos para análise de resíduos fibrosos insolúveis, como a FDN, e resíduos da degradação ruminal reside sobre a possibilidade de perda de partículas devido à estrutura de porosidade (Vanzant et al., 1998, Hvelpund & Weisbjerg, 2000; Casali et al., 2009), o que pode comprometer a exatidão dos resultados.

Para que os tecidos utilizados em incubações sejam úteis, faz-se necessário que os sacos tenham porosidade que não permita a perda de partículas intactas ou não degradadas e, ao mesmo tempo, tenham abertura suficiente que permita o influxo de fluido e microrganismos e o efluxo de produtos finais do processo de degradação, permitindo ação microbiana no interior dos sacos semelhante à encontrada no ambiente ruminal (Nozière & Michalet-Doreau, 2000; Ørskov, 2000). Existem relatos na literatura que permitem evidenciar que o uso de diferentes tecidos pode afetar as estimativas de degradação dos alimentos (Figroid et al., 1972; Van Hellen & Ellis, 1977; Weakley et al., 1983; Huhtanen et al., 1994).

No entanto, diante da possibilidade de utilização de diferentes tecidos para avaliação laboratorial de compostos fibrosos e de parâmetros da degradação ruminal dos alimentos, entende-se que conhecimentos a respeito destes devam ser gerados e estudos sobre os aspectos primários de interferência sobre a exatidão e precisão dos resultados, e aspectos secundários, envolvendo custos e praticidade operacional, devem ser considerados (Casali et al., 2009).

Diante do exposto, utilizando-se os tecidos nylon (50 µm), F57 (Ankom®) e TNT (100 g/m<sup>2</sup>), definiram-se como objetivos nesta tese avaliar:

- 1.a perda de partículas utilizando-se papel de filtro quantitativo como padrão analítico de FDN e estimar o teor de FDN de amostras de alimentos volumosos, concentrados e fezes de bovinos moídos em peneiras de 1 e 2 mm;
- 2.a eficiência da utilização dos tecidos na avaliação de FDN utilizando papel de filtro quantitativo como padrão de celulose, simulando-se diferentes composições de amostras com adições de amido, pectina, caseína e óleo de soja;
- 3.as estimativas de concentração dos indicadores matéria seca indigestível, fibra em detergente neutro indigestível e fibra em detergente ácido indigestível em amostras de alimentos e fezes bovinas processadas em diferentes tamanhos de partículas em procedimento de avaliação *in situ*; e
- 4.o perfil de degradação ruminal *in situ* da matéria seca e da fibra em detergente neutro de diferentes alimentos volumosos.

Os artigos constantes nesta Tese foram formatados segundo as normas da Revista Brasileira de Zootecnia.



## Referências Bibliográficas

- BRODERICK, G.A.; COCHRAN, R.C. *In vitro* and *in situ* methods for estimating digestibility with reference to protein degradability. In: THEODOROU, M.K.; FRANCE, J. (Eds.). **Feeding systems and feed evaluation models**. Wallingford: CAB International, 2000. p.53-85.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.130-138, 2009.
- CHERNEY, D.J.R. Characterization of forages by chemical analysis. In: GIVENS, D.I., OWENS, E., AXFORD, R.F.E. et al. (Eds.) **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International, 2000. p.281-300.
- CHERNEY, D.J.R.; SICILIANO-JONES, J.; PELL, A.N. Forage *in vitro* dry matter digestibility as influenced by fiber source in the donor cow diet. **Journal of Animal Science**, v.71, p.1335-1338, 1993.
- FIGROID, W.; HALE, W.H.; THEURER, B. An evaluation of the nylon bag technique for estimating rumen utilization of grains. **Journal of Animal Science**, v.35, p.113-120, 1972.
- HUHTANEN, P.; KAUSTELL, K.; JAAKKOLA, S. The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.48, p.211-227, 1994.
- HVELPLUND, T.; WEISBJERG, M.R. *In situ* techniques for the estimation of protein degradability and postrumen availability. In: GIVENS, D.I.; OWENS, E.; AXFORD, R.F.E. et al. (Eds.). **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International, 2000. p.233-258.
- KNUDSEN, K.E.B. The nutritional significance of “dietary fibre” analyses. **Animal Feed Science and Technology**, v. 90, p.3-20, 2001.
- KOMAREK, A.R. A filter bag procedure for improved efficiency of fiber analysis. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.250, 1993 (Suppl.1).
- MARINUCCI, M.T.; DEHORITY, B.A.; LOERCH, S.C. *In vitro* and *in vivo* studies of factors affecting digestion of feeds in synthetic fiber bags. **Journal of Animal Science**, v.70, p.296-307, 1992.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, p.1217-1240, 2002.
- NOCEK, J.E. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2051-2069, 1988.
- NOZIÈRE, P.; MICHALET-DOREAU, B. *In sacco* methods. In: D’MELLO, J.P.F. (Ed.) **Farm animal metabolism and nutrition**. London: CAB International, 2000. p.233-253.

- ØRSKOV, E.R. The *in situ* technique for the estimation of forage degradability in ruminants. In: GIVEN, D.I.; OWENS, E.; AXFORD, R.F.E. et al (Eds). **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International, 2000. p.175-188.
- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; LAZZARINI, I. et al. Rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.560-569, 2009.
- Van HELLEN, R.W.; ELLIS, W.C. Samples container porosities for rumen *in situ* studies. **Journal of Animal Science**, v. 44, p.141-146, 1977.
- VANZANT, E.S.; COCHRAN, C.; TITGEMEYER, E.C. Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2717-2729, 1998.
- VAREL, V.H.; KREIKEMEIER, K.K. Comparison of *in vitro* and *in situ* digestibility methods. **Journal of Animal Science**, v.73, p.578-582, 1995.
- VIEIRA, R.A.M.; PEREIRA, J.C.; MALAFAIA, P.A.M et al. The influence of elephant grass (*Pennisetum purpurem* Schum. Mineiro variety) growth on the nutrient kinetics in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v.66, p.197-210, 1997.
- VOGEL, K.P.; PETERSEN, J.F.; MASTERSON, S.D. et. al. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVDMD forage analysis. **Crop Science**, v.39, p.276-279, 1999.
- WEAKLEY, D.C.; STERN, M.D.; SATTER, L.D. Factors affecting disappearance of feedstuffs from bags suspended in the rumen. **Journal of Animal Science**, v.56, p.493-507, 1983.

## **Avaliação dos teores de fibra em detergente neutro em forragens, concentrados e fezes bovinas moídas em diferentes tamanhos e em sacos de diferentes tecidos<sup>1</sup>**

**RESUMO** – Foram realizados dois experimentos, objetivando-se avaliar a influência do tamanho das partículas sobre os teores de fibra em detergente neutro (FDN), utilizando-se sacos confeccionados com os tecidos nylon, F57 (Ankom®) e tecido não-tecido (TNT – 100 g/m<sup>2</sup>). No primeiro experimento, com o intuito de aferir os teores de FDN obtidos por intermédio dos diferentes tecidos, utilizou-se papel de filtro quantitativo (celulose purificada) como padrão analítico. O material foi processado em 1 e 2 mm e acondicionado nos sacos seguindo-se a relação de 20 mg de matéria seca/cm<sup>2</sup> de superfície. Utilizou-se aparelho analisador de fibras (Ankom<sup>220</sup>), empregando-se  $\alpha$ -amilase termoestável. Não foram verificados efeitos do tamanho de partículas. Perdas de partículas significativas foram verificadas com o uso do nylon. No segundo experimento foram utilizadas amostras de forragem (feno de capim-braquiária, cana de açúcar, feno de coastcross, palha de milho, silagem de milho e capim-elefante cortado aos 50 dias e 250 dias de rebrotação), alimentos concentrados (sorgo grão, glúten de milho, polpa cítrica, farelo de algodão, farelo de soja, farelo de trigo, milho grão, soja grão e casca de soja) e fezes bovinas oriundas de animais alimentados com dietas contendo 15% e 50% de concentrado. As amostras foram preparadas, acondicionadas e analisadas como descrito no experimento anterior. De forma geral, os menores teores de FDN foram encontrados para o nylon, indicando perda de partículas devido à porosidade do saco. Recomenda-se a moagem de amostras em peneiras de porosidade 1 mm, o que propicia a extração eficiente do conteúdo celular pela ação do detergente neutro e maior superfície específica para ação da  $\alpha$ -amilase termoestável. Neste contexto, partículas processadas em 2 mm conduzem à superestimação dos teores de FDN.

**Palavras-chave:** celulose purificada, F57, nylon, tecido não-tecido

---

<sup>1</sup> Artigo submetido à Revista Brasileira de Zootecnia, sob o protocolo 00129-09.

## **Evaluation of neutral detergent fiber contents in forages, concentrates and cattle feces ground at different particle sizes and using bags made from different textiles**

**ABSTRACT:** Two experiment were carried out to evaluate the effects of different particles sizes on neutral detergent fiber (NDF) content using bags made from the textiles: nylon (50  $\mu\text{m}$ ), F57 (Ankom®), and non-woven textile (NWT – 100  $\text{g}/\text{m}^2$ ). In the first experiment, quantitative filter paper (purified cellulose) was used as analytical standard to check NDF analysis in the bags. The samples were processed (1- or 2-mm) and put in the bags in a ratio of 20 mg of dry matter/ $\text{cm}^2$  of surface. The extraction procedure was carried out in a fiber analyzer (Ankom<sup>220</sup>) using a heat-stable  $\alpha$ -amylase. No effects of different particles sizes were found. Particles loss was observed for nylon bags. In the second experiment, samples of forage (signal grass hay, sugar cane, coastcross hay, corn straw, corn silage, and elephant grass at 50 and 250 days of growing after cutting), concentrate feeds (sorghum grain, gluten meal, citrus pulp, cottonseed meal, soybean meal, wheat bran, corn grain, whole soybean, and soybean hulls), and feces of cattle fed diets containing 15 or 50% of concentrate, were used. The samples were prepared, put in the bags, and analyzed as described for the previous experiment. In a general way, the smaller NDF results were found with nylon. It could indicate particles loss caused by textile porosity. It is recommended that samples be ground using 1-mm screen sieve, which implicates higher specific surface and allows better cellular content extraction by detergent and action of the heat-stable  $\alpha$ -amylase. In this context, the use of particles ground at 2-mm causes overestimation of NDF contents.

**Keywords:** F57, non-woven textile, nylon, purified cellulose

## **Introdução**

O conhecimento dos teores de fibra em detergente neutro (FDN) dos alimentos permite a formulação de dietas mais adequadas para animais de produção (Knudsen, 2001). Desde o seu desenvolvimento na década de 1960, o método para obtenção dos teores de FDN tem sofrido numerosas modificações. A dificuldade para extração e lavagem dos resíduos fibrosos de algumas amostras adiciona dificuldade no conhecimento exato do valor de FDN das forragens (Mertens, 2002).

Com o surgimento do sistema Ankom® para análises de fibras, novas perspectivas foram dadas ao uso de tecidos na avaliação de alimentos, incorporando-se análises de rotina laboratoriais voltadas à estimação do teor de compostos fibrosos insolúveis. Este sistema tem se mostrado vantajoso por ter menor custo, ser menos laborioso (Cherney, 2000) e não apresentar diferenças em comparação ao sistema convencional com o uso de vidrarias (Komarek, 1993; Vogel et al., 1999).

No entanto, devido à natureza química heterogênea da FDN, dificulta-se o estabelecimento de um padrão analítico que permita inferir sobre a exatidão das estimativas obtidas com tecidos, limitando as conclusões à precisão das mesmas (Casali et al., 2009). Neste contexto, o uso de papel de filtro laboratorial quantitativo como padrão analítico para estudo da FDN pode constituir alternativa para avaliação da exatidão de alternativas metodológicas na análise de fibra insolúvel em laboratório. Este é constituído por celulose purificada, sendo esta componente da FDN (Van Soest, 1994). Assim, define-se, por analogia, que os papéis de filtro quantitativos são constituídos única e exclusivamente por FDN.

Por outro lado, vários tecidos têm sido propostos para avaliação de fibras, tanto em termos analíticos diretos, como em termos de resíduos obtidos após procedimento de degradação ruminal, destacando-se o nylon (50 µm), o F57 (Ankom®) e o tecido não-

tecido (TNT, 100g/m<sup>2</sup>). Uma das principais limitações com o uso de tecidos para análise de resíduos fibrosos insolúveis, como a FDN, reside sobre a possibilidade de perda de partículas devido à estrutura de porosidade (Hvelplund & Weisbjerg, 2000; Casali et al., 2009). Contudo, informações comparativas quanto à eficiência analítica dos tecidos ainda são escassas.

Adicionalmente, o tamanho das partículas dos alimentos pode influenciar nas estimativas de concentrações de compostos fibrosos insolúveis. Amostras finamente moídas favorecem a ação de extração pelo detergente; contudo, podem dificultar o processo de filtração. Tem-se sugerido, para avaliações laboratoriais, que as amostras sejam processadas em peneiras com porosidade de 1 mm (Van Soest et al., 1991). No entanto, quando se utilizam tecidos como recipientes para as amostras em avaliações *in situ*, processamento com peneiras de porosidade 2 mm é sugerido (Vanzant et al., 1998; NRC, 2001) para se evitar perda de partículas através dos poros dos tecidos.

Assim, diante do exposto, definiu-se como o objetivo neste trabalho avaliar a perda de partículas utilizando-se papel de filtro quantitativo como padrão analítico de FDN e estimar o teor de FDN de amostras de alimentos volumosos, concentrados e fezes de bovinos moídos em peneiras de 1 e 2 mm e acondicionadas em sacos confeccionados com diferentes tecidos.

### **Material e Métodos**

Foram realizados dois experimentos no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. Para os dois experimentos foram confeccionados sacos de dimensão 4 x 5 cm com os tecidos nylon (50 µm) e TNT (100 g/m<sup>2</sup>). Os sacos do tecido F57 foram adquiridos

confeccionados pelo fabricante (Ankom®), os quais apresentavam dimensões similares aos demais.

Para o primeiro experimento, utilizou-se como padrão analítico para aferição dos teores de FDN amostras de papel de filtro quantitativo de filtragem rápida (faixa preta; diâmetro 12,5 cm; cód. 050154, Vetec®). Os discos de papel foram processados em moinho de facas (peneiras com porosidades 1 e 2 mm). O papel de filtro quantitativo é composto por celulose purificada, apresentando 0,0086% de cinzas e 96,53% de matéria seca (MS).

O material moído foi adicionado em cinco sacos de cada tecido para cada tamanho de partículas, totalizando 30 sacos utilizando-se a relação de 20 mg MS/cm<sup>2</sup> de superfície (Nocek, 1988). Após serem selados por calor, os sacos foram acondicionados em aparelho analisador de fibras (Ankom<sup>220</sup>®).

A solução de detergente neutro foi produzida segundo recomendações de Mertens (2002), omitindo-se o uso de sulfito de sódio e utilizando-se  $\alpha$ -amilase termoestável (Termamyl 2X, Novozymes), na proporção de 50  $\mu$ L/g de MS. A relação detergente neutro:amostra foi mantida em 100 mL/g de MS, com tempo efetivo de extração de 1 hora em temperatura de 100°C. Nenhum procedimento para correção quanto aos compostos nitrogenados e cinzas insolúveis em detergente neutro foi conduzido.

Ressalta-se que a  $\alpha$ -amilase termoestável foi adicionada em conjunto com o detergente neutro não-aquecido. Isto visou propiciar a ativação da enzima em conjunto com o aquecimento gradativo do detergente neutro. Embora o material adicionado aos sacos não contivesse amido, optou-se pelo uso da  $\alpha$ -amilase termoestável com a finalidade de aplicação do padrão do método em termos de reagentes, conforme sugestão de Mertens (2002).

Após a extração, foram realizadas lavagens sequenciais com água quente e acetona. Após esse tratamento, os sacos foram secos em estufa com ventilação forçada (60°C/72 horas) e, sequencialmente, em estufa não-ventilada (105°C/45 minutos), acondicionados em dessecador e pesados. Para o manejo do dessecador, os sacos foram manejados em grupos não superiores a 20 unidades para que o tempo de pesagem não se tornasse demasiadamente prolongado e houvesse alteração de peso devido à higroscopicidade da fibra.

Previamente aos procedimentos de extração, os sacos foram lavados com detergente neutro em ebulição, água quente e acetona e secos e pesados conforme o procedimento descrito anteriormente para se obterem as taras.

Pelo fato do padrão analítico de FDN ser constituído por celulose purificada, pressupõe-se que o papel apresente 100% de FDN, com base na MS. Desta forma, por pressuposição, admitiu-se que as diferenças em relação ao valor paramétrico 100% constituíssem perdas de partículas fibrosas. Neste contexto, o vício observado (diferença entre o teor estimado e o valor paramétrico 100) foi avaliado por intermédio de análise de variância, segundo delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2 (três tecidos e dois tamanhos de partículas), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey-Kramer. Para a verificação da significância dos vícios, foram construídos intervalos de confiança ( $1-\alpha = 0,99$ ).

Para o segundo experimento amostras de forragens, alimentos concentrados e fezes de bovinos foram obtidas no município de Viçosa-MG. Utilizaram-se como amostras de forragem: feno de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), cana-de-açúcar *in natura* (*Saccharum* sp.), feno de coastcross (*Cynodon* sp.), palha de milho (*Zea mays*), silagem de milho (*Zea mays*) e capim-elefante *in natura* (*Pennisetum purpureum*), cortado com 50 e 250 dias de rebrotação. Como concentrados utilizaram-



se: sorgo grão, glúten de milho, polpa cítrica, farelo de algodão, farelo de soja, farelo de trigo, milho grão (fubá), soja grão e casca de soja. Foram coletadas fezes de dois bovinos alimentados com dietas contendo 15% e 50% de concentrado, com base na MS, as quais foram denominadas fezes de baixo concentrado (BC) e de alto concentrado (AC), respectivamente.

As amostras de forragens úmidas e fezes foram secas sob ventilação forçada (60°C) e, em conjunto com as demais amostras, processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade 1 e 2 mm. Exceção foi feita ao glúten de milho, que foi adquirido em tamanho de partícula de 1 mm, impedindo a avaliação a 2 mm. Foram utilizados cinco sacos de cada tecido para cada tamanho de partícula, totalizando 525 sacos. Utilizou-se a relação de 20 mg de matéria seca/cm<sup>2</sup> de superfície (Nocek, 1988).

Os procedimentos de avaliação dos teores de FDN seguiram os protocolos descritos para o primeiro experimento.

Os teores de FDN dos alimentos volumosos, concentrados e fezes bovinas foram avaliados, de forma independente para cada material, por intermédio de análise de variância, segundo delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2 (três tecidos e dois tamanhos de partículas). As médias foram comparadas por intermédio do teste de Tukey-Kramer.

Os procedimentos estatísticos, tanto do primeiro, como do segundo experimento, foram realizados por intermédio do programa SAS (Little et al., 1991) utilizando-se 0,01 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

## **Resultados e Discussão**

Para o primeiro experimento, não houve efeito de tamanho de partículas ou interação entre tecido e tamanho partículas sobre as estimativas obtidas ( $P > 0,01$ ). Desta

forma, os resultados foram apresentados por intermédio da média geral para ambos os tamanhos de partículas (Tabela 1).

A ausência de efeito de tamanho de partículas assemelha-se aos resultados obtidos por Casali et al. (2009), que verificaram, em procedimento de incubação *in situ*, que o tamanho das partículas (1, 2 ou 3 mm) não influenciou a dimensão do resíduo indigestível de FDN.

Por outro lado, verificou-se efeito do tecido sobre as estimativas de FDN, sendo inferiores ( $P < 0,01$ ) para o nylon em relação ao F57 e TNT, os quais não diferiram entre si ( $P > 0,01$ ). Comportamento similar foi observado para a perda de partículas (Tabela 1).

Este comportamento aparentemente sugere que poderia ser facultativo o uso de partículas com 1 ou 2 mm na análise laboratorial de FDN. Caso confirmado, isto incorreria em vantagem laboratorial, uma vez que, em condições de avaliação simultânea de alimentos em termos laboratoriais e por procedimentos *in situ*, um único processo de moagem poderia ser realizado (2 mm), ao invés do fracionamento da amostra (1 mm para análises laboratoriais, Van Soest et al., 1991; e 2 mm para avaliações *in situ*; NRC, 2001).

Tabela 1 - Médias e coeficientes de variação (CV) para os teores de fibra em detergente neutro (FDN % da matéria seca) e perda de partículas fibrosas (% da matéria seca) obtidos com sacos confeccionados por diferentes tecidos utilizando-se padrão de celulose

| Item                                            | Tecido |        |        | CV(%) |
|-------------------------------------------------|--------|--------|--------|-------|
|                                                 | F57    | TNT    | Nylon  |       |
| FDN (%) <sup>1</sup>                            | 99,68a | 99,55a | 98,00b | 0,50  |
| Perda de partículas Fibrosas (%) <sup>1 2</sup> | 0,32b  | 0,45b  | 2,00*a | 49,0  |
| EPM <sup>3</sup>                                | 0,07   | 0,14   | 0,22   | -     |

<sup>1</sup> Médias na linha, seguidas por letras diferentes, são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ( $P < 0,01$ ). <sup>2</sup> (\*) estatisticamente diferente de zero ( $P < 0,01$ ). <sup>3</sup> EPM = erro-padrão da média.

As perdas de partículas para os tecidos F57 e TNT não foram significativas ( $P>0,01$ ), indicando que os teores de FDN obtidos podem ser considerados iguais a 100%. Isto evidencia a exatidão destes tecidos para avaliação dos níveis de FDN e indica a possibilidade do uso de papel de filtro quantitativo composto por celulose purificada como padrão para aferição de métodos de análise de FDN em laboratório.

De outra forma, as perdas de partículas observadas para o nylon foram significativas ( $P<0,01$ ), implicando teor de FDN inferior a 100% (Tabela 1). Hvelplund & Weisbjerg (2000) apontaram a perda de partículas como o principal fator de comprometimento sobre a exatidão de procedimentos de avaliação de alimentos com o uso de tecidos, principalmente em procedimentos *in situ*. Casali et al. (2009) encontraram resposta semelhante ao compararem a perda de partículas pelos três tecidos avaliados neste trabalho, corroborando que o nylon (50  $\mu\text{m}$ ) possa não ser um tecido adequado para a confecção de sacos destinados à análise de componentes fibrosos insolúveis.

O vício observado com o nylon na avaliação de FDN (Tabela 1) pode se propagar para outros procedimentos analíticos. Vanzant et al. (1998) afirmaram que o maior tamanho dos poros pode promover maior escape de partículas do alimento em procedimento de avaliação *in situ*, fazendo com que a fração perdida seja erroneamente assumida como degradada. Este comportamento foi verificado por Casali et al. (2009), que obtiveram menores estimativas dos teores de FDN indigestível em alimentos com o uso do nylon em comparação ao TNT e F57. Esses autores verificaram, por intermédio de microscopia eletrônica, que a estrutura de poros do nylon (50  $\mu\text{m}$ ) poderia ser responsável pela perda de partículas.

As médias dos teores de FDN para diferentes tamanhos de partículas, obtidos com os diferentes tecidos para alimentos volumosos podem ser verificadas na Tabela 2.

Para a silagem de milho e capim elefante (50 dias) não se observaram efeitos de tamanho de partículas, tecido ou sua interação ( $P>0,01$ ).

Tabela 2 - Médias e coeficientes de variação (CV) para os teores de fibra em detergente neutro (% da matéria seca) em função do tecido e do tamanho de partículas para os diferentes alimentos volumosos avaliados

| Alimentos                            | Partículas | Tecido  |         |         | Média  | CV(%) |
|--------------------------------------|------------|---------|---------|---------|--------|-------|
|                                      |            | F57     | Nylon   | TNT     |        |       |
| Feno de braquiária <sup>1</sup>      | 1 mm       | 86,78   | 83,59   | 86,98   | 85,78  | 1,9   |
|                                      | 2 mm       | 87,26   | 84,95   | 87,69   | 86,63  |       |
|                                      | Média      | 87,02a  | 84,27b  | 87,33a  | -      |       |
| Cana-de-açúcar <sup>1</sup>          | 1 mm       | 62,42Aa | 53,06Bc | 58,20Bb | -      | 2,4   |
|                                      | 2 mm       | 65,15Aa | 64,63Aa | 67,16Aa | -      |       |
|                                      | Média      | -       | -       | -       | -      |       |
| Feno de Coastcross <sup>1</sup>      | 1 mm       | 86,69Aa | 81,40Ab | 81,89Bb | -      | 1,5   |
|                                      | 2 mm       | 85,61Aa | 84,99Aa | 86,72Aa | -      |       |
|                                      | Média      | -       | -       | -       | -      |       |
| Palha de milho <sup>1</sup>          | 1 mm       | 90,94   | 87,02   | 91,77   | 89,91B | 1,7   |
|                                      | 2 mm       | 92,14   | 88,90   | 93,68   | 91,57A |       |
|                                      | Média      | 91,54a  | 87,96b  | 92,73a  | -      |       |
| Silagem de milho <sup>1</sup>        | 1 mm       | 56,46   | 54,45   | 55,45   | 55,45  | 2,1   |
|                                      | 2 mm       | 56,50   | 56,35   | 56,58   | 56,48  |       |
|                                      | Média      | 56,48   | 55,40   | 56,02   | 55,97  |       |
| Capim-elefante 50 dias <sup>1</sup>  | 1 mm       | 78,42   | 74,31   | 75,69   | 76,14  | 2,6   |
|                                      | 2 mm       | 76,38   | 75,76   | 75,77   | 75,97  |       |
|                                      | Média      | 77,40   | 75,03   | 75,73   | 76,06  |       |
| Capim-elefante 250 dias <sup>1</sup> | 1 mm       | 82,63   | 80,59   | 83,00   | 82,07B | 1,7   |
|                                      | 2 mm       | 85,57   | 84,88   | 83,77   | 84,73A |       |
|                                      | Média      | 84,10   | 82,73   | 83,38   | -      |       |

<sup>1</sup> Médias nas linhas, seguidas por letras minúsculas diferentes, e na coluna, seguidas por letras maiúsculas diferentes, são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ( $P<0,01$ )

Por outro lado, observou-se interação ( $P<0,01$ ) entre tecidos e tamanho de partículas para cana de açúcar e feno de coastcross. Para a cana de açúcar, a elevação do tamanho de partículas ampliou ( $P<0,01$ ) as estimativas de FDN nos tecidos TNT e nylon, não influenciando, contudo, os resultados obtidos com F57 ( $P>0,01$ ). Os tecidos influenciaram as estimativas somente com partículas de 1 mm, com maiores valores obtidos para o F57 ( $P<0,01$ ) seguidos do TNT e nylon. Em 2 mm, não se observou diferença entre tecidos ( $P>0,01$ ). Para o feno de coastcross, verificou-se comportamento

similar ao da cana, com exceção de os tecidos nylon e TNT apresentarem resultados similares ( $P < 0,01$ ) quando as amostras foram processadas a 1 mm (Tabela 2).

Para o feno de capim-braquiária o tamanho de partículas não afetou as estimativas de FDN ( $P > 0,01$ ). No entanto, maior valor de FDN em 2 mm foi obtido para a palha de milho e capim-elefante (250 dias) ( $P < 0,01$ ).

Diferenças nas estimativas médias de FDN entre tecidos foram obtidas para o feno de capim-braquiária e palha de milho. Em ambos os casos o F57 e o TNT não diferiram ( $P > 0,01$ ) e propiciaram valores superiores aos encontrados com o nylon ( $P < 0,01$ ).

Não se verificou interação ( $P > 0,01$ ) entre tecido e tamanho de partículas para nenhum dos alimentos concentrados ou fezes (Tabela 3). Para o farelo de algodão e farelo de trigo não se verificou efeito ( $P > 0,01$ ) de tamanho de partículas ou tecido. Por sua vez, para o glúten não se observou efeito ( $P > 0,01$ ) de tecido, uma vez que se avaliou somente um único tamanho de partícula.

Em termos de tamanho de partículas verificou-se efeito significativo ( $P < 0,01$ ) para o sorgo, polpa cítrica, fubá, soja grão, casca de soja e fezes (BC e AC), sendo as estimativas obtidas em 2 mm superiores às obtidas em 1 mm (Tabela 3).

Efeito dos tecidos ( $P < 0,01$ ) foi observado para polpa cítrica, farelo de soja e fezes (BC e AC). De forma geral, exceção feita ao farelo de soja, o nylon propiciou estimativas inferiores ( $P < 0,01$ ) ao TNT e ao F57, que não diferiram entre si ( $P > 0,01$ ).

De forma geral, segundo os dados expressos nas Tabelas 2 e 3, partículas de maior tamanho tendem a apresentar maiores estimativas de concentração de FDN.

Como anteriormente ressaltado, a recomendação da moagem de amostras em peneiras de porosidade 2 mm tem por principal objetivo reduzir a perda de partículas através dos poros dos tecidos. Contudo, os resultados aqui obtidos (Tabelas 2 e 3)

indicam que vícios podem ser introduzidos nos resultados, não havendo assim benefício na exatidão das estimativas.

Tabela 3 - Médias e coeficientes de variação (CV) para os teores de fibra em detergente neutro (% da matéria seca) em função do tecido e do tamanho de partículas para os diferentes alimentos concentrados e fezes avaliados

| Material      | Partículas <sup>1</sup> | Tecido <sup>1</sup> |        |        | Média  | CV(%) |
|---------------|-------------------------|---------------------|--------|--------|--------|-------|
|               |                         | F57                 | Nylon  | TNT    |        |       |
| Sorgo Grão    | 1 mm                    | 11,58               | 10,12  | 11,32  | 11,01B | 15,2  |
|               | 2 mm                    | 34,20               | 29,53  | 34,29  | 32,67A |       |
|               | Média                   | 22,89               | 19,83  | 22,82  | -      |       |
| Glúten        | 1 mm                    | 12,44               | 11,56  | 13,01  | 12,34  | 9,7   |
| Polpa Cítrica | 1 mm                    | 22,75               | 19,53  | 22,85  | 21,71B | 6,8   |
|               | 2 mm                    | 23,95               | 23,23  | 25,63  | 24,27A |       |
|               | Média                   | 23,35a              | 21,38b | 24,24a | -      |       |
| F. de algodão | 1 mm                    | 29,07               | 27,10  | 28,36  | 28,18  | 4,2   |
|               | 2 mm                    | 29,33               | 28,68  | 30,08  | 29,36  |       |
|               | Média                   | 29,20               | 27,89  | 29,22  | 28,77  |       |
| F. de soja    | 1 mm                    | 16,92               | 14,18  | 13,46  | 14,85  | 7,5   |
|               | 2 mm                    | 16,95               | 14,39  | 16,29  | 15,88  |       |
|               | Média                   | 16,93a              | 14,28b | 14,87b | -      |       |
| F. de trigo   | 1 mm                    | 44,77               | 45,42  | 44,39  | 44,86  | 6,7   |
|               | 2 mm                    | 45,26               | 45,69  | 46,76  | 45,90  |       |
|               | Média                   | 45,01               | 45,55  | 45,57  | 45,38  |       |
| Fubá          | 1 mm                    | 12,53               | 12,55  | 12,25  | 12,45B | 2,6   |
|               | 2 mm                    | 23,18               | 21,87  | 22,61  | 22,55A |       |
|               | Média                   | 17,86               | 17,21  | 17,43  | -      |       |
| Soja Grão     | 1 mm                    | 22,79               | 22,57  | 21,79  | 22,39B | 7,8   |
|               | 2 mm                    | 36,53               | 34,38  | 33,12  | 34,68A |       |
|               | Média                   | 29,66               | 28,48  | 27,46  | -      |       |
| Casca de soja | 1 mm                    | 65,77               | 66,24  | 66,63  | 66,22B | 1,7   |
|               | 2 mm                    | 68,30               | 68,19  | 68,82  | 68,44A |       |
|               | Média                   | 67,04               | 67,22  | 67,73  | -      |       |
| Fezes BC      | 1 mm                    | 67,27               | 64,34  | 66,93  | 66,18B | 2,3   |
|               | 2 mm                    | 72,06               | 66,38  | 68,73  | 69,05A |       |
|               | Média                   | 69,66a              | 65,36b | 67,83a | -      |       |
| Fezes AC      | 1 mm                    | 58,81               | 49,08  | 55,63  | 54,51B | 3,8   |
|               | 2 mm                    | 59,97               | 54,90  | 59,21  | 58,03A |       |
|               | Média                   | 59,39a              | 51,99b | 57,42a | -      |       |

<sup>1</sup> Médias nas linhas, seguidas por letras minúsculas diferentes, e na coluna, seguidas por letras maiúsculas diferentes, dentro de cada material, são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer (P<0,01)

A observação em particular dos alimentos sorgo grão e milho grão (fubá) evidencia que os resultados obtidos com 2 mm são irreais e extremamente elevados em comparação com os valores médios observados em condições brasileiras (Valadares Filho et al., 2006). Assim, embora a moagem a 2 mm pudesse propiciar menor perda de partículas, a redução da superfície específica em comparação a 1 mm parece constituir entrave para a correta extração do conteúdo celular pelo detergente e, com grande possibilidade, para ação eficiente da  $\alpha$ -amilase (argumento corroborado pelas diferenças mais drásticas observadas para os concentrados ricos em amido, como sorgo grão e milho grão; Tabela 3).

Ressalta-se que alimentos diferentes possuem fragmentação diferenciada durante o processo de moagem (Nozière & Michaellet-Doreau, 2000). Isto pode acarretar maior ou menor proporção de partículas com baixo diâmetro e, conseqüentemente, heterogeneidade em termos de superfície específica dentro de um mesmo padrão de moagem. Isto justificaria a não observação de efeitos significativos do tamanho de partículas em alguns alimentos (Tabelas 2 e 3).

Os resultados obtidos com alimentos em termos de efeito do tamanho de partículas (Tabelas 2 e 3) contradizem aqueles observados com o padrão purificado de celulose, dos quais retirou-se a recomendação inicial para utilização de ambos os tamanhos aqui avaliados (1 ou 2 mm), sem comprometimento sobre as estimativas.

Esta divergência de comportamento permite evidenciar que a recomendação obtida com padrão de celulose deve ser vista com cautela. Possivelmente, em função da alta complexidade físico-química de alimentos integrais frente ao padrão purificado (isento de conteúdo celular e de ligações químicas e interações físicas da parede celular), haveria demanda de ação mais complexa do detergente para extração do

conteúdo celular, a qual seria incrementada com a maior superfície específica obtida com processamento a 1 mm.

Em estudo *in situ* com grão de sorgo processado em diferentes tamanhos de partículas, Figroid et al. (1972) perceberam que quanto maior o tamanho da partícula menor foi o desaparecimento ruminal da MS, possível reflexo da menor superfície específica.

Casali et al. (2008) verificaram que, para avaliação da concentração de FDN indigestível (FDNi) em alimentos e fezes de bovinos, a moagem em peneiras de porosidade 1 ou 2 mm conferiam resultados similares. Contudo, ressalta-se que após longo tempo de permanência no rúmen e aplicação de lavagem com água corrente (procedimentos utilizados na estimação do teor de FDNi), pouco ou nenhum conteúdo celular (e amido) seria observado nas amostras. Assim, nestes casos, exigir-se-ia menor ação do detergente, não havendo comprometimento sobre as estimativas, ao contrário da avaliação de material não-incubado (Tabelas 2 e 3).

Desta forma, diante destes argumentos, pode-se concluir que para alimentos concentrados e fezes, as amostras devem ser processadas a 1 mm para permitir a completa remoção do conteúdo celular e do amido pela ação da amilase. Partículas processadas com peneiras de 2 mm de porosidade, embora possam ser consideradas adequadas para estudos *in situ*, conferem estimativas não exatas do teor de FDN de materiais não incubados.

Nestas mesmas circunstâncias, os efeitos do tamanho de partículas são menos proeminentes em alimentos volumosos, o que parece refletir uma relação inversa entre o teor de conteúdo celular e amido e a demanda de ação do detergente e da enzima  $\alpha$ -amilase. Contudo, considerando-se particularmente os resultados obtidos com palha de milho e capim-elefante (250 dias) (Tabela 2), percebe-se que a ampliação do tamanho



de partículas eleva os teores de FDN, mostrando que as inferências construídas sobre concentrados e fezes devem ser também projetadas sobre alimentos volumosos.

De forma geral, resguardando-se pequena variabilidade, observaram-se menores estimativas do teor de FDN utilizando-se o nylon (Tabelas 2 e 3). Estes resultados aparentemente indicam perda de partículas propiciadas por sua estrutura física, fato argumentado por outros autores (Casali et al., 2009; Valente et al., 2010) e corroborado pelos resultados obtidos com o padrão de celulose (Tabela 1), o que levaria à subestimação dos teores de FDN.

Avaliando-se os alimentos nos quais se observou interação entre tecido e tamanho de partículas (cana e feno de coastcross; Tabela 2), verifica-se que a mudança de partículas de 1 para 2 mm conferiu ao nylon estimativas mais elevadas de FDN, sendo estas similares aos demais tecidos ( $P < 0,01$ ). Isto constitui reflexo de redução na perda de partículas. Contudo, diante da visão geral de redução da exatidão com o uso de partículas processadas em 2 mm, esta alteração não seria recomendada para implementação de análises de rotina com o uso do nylon. Assim, diante da exigência da moagem empregando-se peneiras com 1 mm de porosidade, as perdas de partículas constituem a principal limitação do uso do nylon para análise de fibra insolúvel em laboratório.

Por outro lado, a similaridade de resultados entre F57 e TNT (com pequenos desvios observados para cana, feno de coastcross e farelo de soja) indica que o TNT pode constituir tecido alternativo ao F57, importado e de maior custo. Estes resultados corroboram aqueles apresentados por Casali et al. (2009).

As divergências observadas entre TNT e F57, considerando-se partículas moídas a 1 mm para cana de açúcar e feno de coastcross (Tabela 2) e as médias marginais para o farelo de soja (Tabela 3), talvez possam ser atribuídas às características de resistência

física dos tecidos. Segundo resultados demonstrados por Valente et al. (2010), o TNT apresenta menor resistência física em relação ao F57 após algumas etapas de análise de compostos indigestíveis. Desta forma, rompimentos de pequena magnitude, não perceptíveis visualmente, poderiam ter ocasionado perdas de partículas, as quais se concentraram, sem causa evidente, sobre estes materiais. Assim, considerando-se que apenas três entre os dezenove materiais avaliados evidenciaram esta divergência, tais diferenças parecem ser casuais. Contudo, evidencia-se que estudos em que se contemplem aspectos físicos dos tecidos devem ser conduzidos.

Por outro lado, tomando-se como base os resultados obtidos em ambos os experimentos, percebe-se que o padrão de celulose, proposto neste trabalho, constitui alternativa viável de padrão analítico para aferição de métodos para análise de FDN, notadamente em termos de capacidade de recuperação quando comparados diferentes recipientes. Contudo, em termos de avaliação da capacidade de extração de detergentes, o mesmo deve ser aplicado com cautela em virtude de sua maior simplicidade físico-química em comparação a alimentos integrais.

### **Conclusões**

O papel de filtro quantitativo composto por celulose purificada pode ser utilizado como padrão na aferição da exatidão de procedimentos analíticos para fibra em detergente neutro, resguardando-se sua limitação em simular a complexidade físico-química de alimentos integrais. A utilização dos tecidos F57 (Ankom®) e tecido não-tecido (TNT – 100g/m<sup>2</sup>) proporcionam estimativas acuradas dos teores de fibra em detergente neutro. Por sua vez, a exatidão dos resultados obtidos com nylon (50 µm) é comprometida em função da perda de partículas. Para a análise laboratorial de fibra em detergente neutro, a moagem deve ser feita utilizando-se peneiras de porosidade 1 mm

para que haja correta extração do conteúdo celular pelo detergente neutro e ação eficiente da enzima  $\alpha$ -amilase termoestável.

### Literatura Citada

- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p.335-342, 2008.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.130-138, 2009.
- CHERNEY, D.J.R. Characterization of forages by chemical analysis. In: GIVENS, D.I.; OWEN, E.; AXFORD, R.F.E. et al (Eds.) **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International, 2000. p.281-300.
- FIGROID, W.; HALE, W. H.; THEURER, B. An evaluation of the nylon bag technique for estimating rumen utilization of grains. **Journal of Animal Science**, v.35, p.113-120, 1972.
- HVELPLUND, T.; WEISBJERG, M.R. *In situ* techniques for the estimation of protein degradability and post rumen availability. In: GIVENS, D.I.; OWENS, E.; AXFORD, R.F.E. et al. (Eds.). **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International, 2000. p.233-258.
- KNUDSEN, K.E.B. The nutritional significance of “dietary fibre” analyses. **Animal Feed Science and Technology**, v.90, p.3-20, 2001.
- KOMAREK, A.R. A filter bag procedure for improved efficiency of fiber analysis. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.250, 1993. (Suppl.1)
- LITTELL, R.C.; FREUND, R.J.; SPECTOR, P.C. **SAS system for linear models**. Cary: SAS Institute, 1991. 329p.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Washington, DC: Academic Press, 2001. 381p.
- NOCEK, J.E. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2051-2069, 1988.
- NOZIÈRE, P.; MICHALET-DOREAU, B. *In sacco* methods. In: D’MELLO, J.P.F. (Ed.) **Farm animal metabolism and nutrition**. London: CAB International, 2000. p.233-253.
- VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA JR., V.R. et al. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2 ed. Viçosa: DZO-UFV, 2006. 329p.

- VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Estimação *in situ* dos teores de componentes indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos com sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2010 (submetido).
- Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed.; Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A.S Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VANZANT, E.S.; COCHRAN, C.; TITGEMEYER, E.C. Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2717-2729, 1998.
- VOGEL, K.P.; PETERSEN, J.F.; MASTERSON, S.D. et. al. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVDMD forage analysis. **Crop Science**, v.39, p.276-279, 1999.

## **Simulação de variações na composição de amostras na avaliação dos teores de fibra em detergente neutro por intermédio padrão de celulose em sacos confeccionados com diferentes tecidos<sup>1</sup>**

**RESUMO** – Objetivou-se avaliar a eficiência da utilização dos tecidos nylon (50 µm), F57 (Ankom®) e tecido não-tecido (TNT – 100 g/m<sup>2</sup>), na avaliação laboratorial de fibra em detergente neutro (FDN) utilizando papel de filtro quantitativo como padrão de celulose, simulando-se diferentes composições de amostras com adições de amido de milho, pectina, caseína e óleo de soja. O papel foi processado em moinho de facas com peneira de porosidade 1 mm e os procedimentos de análise dos teores de FDN foram conduzidos em aparelho analisador de fibras (Ankom<sup>220</sup>®). Quatro experimentos foram simulados com adições dos diferentes ingredientes ao papel de filtro, sendo o amido de milho adicionado nos níveis de 15 ou 50%; pectina 15 ou 50%; caseína 10 ou 30%; e óleo de soja 0, 5, 10, 15, 25 ou 50% na base da matéria seca, respectivamente. Obedeceu-se à relação de 20 mg de matéria seca/cm<sup>2</sup> de superfície. Quando pertinente, em função dos tratamentos avaliados, utilizou-se  $\alpha$ -amilase termoestável. A utilização dos tecidos F57 e TNT resultaram em estimativas acuradas dos teores de FDN, enquanto o tecido nylon propiciou perda de partículas fibrosas insolúveis, o que compromete a exatidão dos resultados. Para amostras que contenham amido a utilização da  $\alpha$ -amilase termoestável é recomendada na avaliação dos teores de FDN. A pectina e caseína foram completamente solubilizadas pela solução de detergente neutro. Níveis de óleo de soja superiores a 10% causaram superestimação dos teores de FDN.

**Palavras-chave:** amilase termo-estável, F57, nylon, tecido não-tecido

---

<sup>1</sup> Artigo submetido à Revista Brasileira de Zootecnia, sob o protocolo 00486-09.

## **Simulation of variations in the composition of samples in the evaluation of neutral detergent fiber contents by using cellulose standard in bags made from different textiles**

**ABSTRACT** – The objective of this study was to evaluate the effect of different textiles (nylon -50  $\mu\text{m}$ ; F57 - Ankom®; and non-woven textile - NWT - 100  $\text{g}/\text{m}^2$ ) on NDF content estimates using quantitative filter paper as purified cellulose standard. It was simulated different sample compositions using starch, pectin, casein or soybean oil. The quantitative filter paper was processed in 1-mm screen sieve. The extraction procedure was carried out in fiber analyzer (Ankom<sup>220</sup>®). Four experiments were carried out with additions of the different ingredients together filter paper: corn starch at 15 or 50%; pectin at 15 or 50%; casein at 10 or 30%; and soybean oil at 0, 5, 10, 15, 25 or 50%, on dry matter basis; respectively. The samples were put in the bags in a ratio of 20 mg of dry matter/ $\text{cm}^2$  of surface. When pertinent, according to treatments, heat-stable  $\alpha$ -amylase was used. It were found similar NDF results by using NWT or F57. The nylon textile caused loss of fibrous particles and produced inaccurate estimates of NDF contents. The heat-stable  $\alpha$ -amylase is recommended in the evaluation of NDF contents of starch containing samples. The pectin and casein were totally removed by neutral detergent solution. Samples containing levels up to 10% of oil caused overestimated NDF contents.

**Key words:** heat-stable  $\alpha$ -amylase, F57, nylon, woven-non-woven

## **Introdução**

Com o surgimento do sistema Ankom® para análises de fibras, novas perspectivas foram dadas ao uso de tecidos na avaliação laboratorial de alimentos. Este sistema tem se mostrado vantajoso por ter menor custo e ser menos laborioso que o sistema convencional, baseado no uso de vidrarias (Cherney, 2000).

Neste contexto, vários tecidos têm sido propostos para avaliação de fibras, destacando-se o nylon, o F57 (Ankom®) e o tecido não-tecido (TNT, 100 g/m<sup>2</sup>). Contudo, uma das principais limitações com uso de tecidos para análise de resíduos fibrosos insolúveis, como a fibra em detergente neutro (FDN), consiste na possibilidade de perda de partículas devido à estrutura de porosidade (Vazante et al., 1998; Hvulpund & Weisbjerg, 2000; Casali et al., 2009; Valente et al., 2010a), o que pode comprometer a exatidão dos resultados.

No entanto, devido à natureza química heterogênea da FDN, dificulta-se o estabelecimento de um padrão analítico que permita inferir sobre a exatidão das estimativas obtidas, limitando as conclusões à precisão dos mesmos (Casali et al., 2009). Papéis de filtro laboratoriais quantitativos são produzidos a partir de celulose purificada (componente natural da FDN). Desta forma, por analogia, esses são constituídos única e exclusivamente por FDN. Assim, os mesmos têm sido propostos como padrão para o aferimento da acurácia de tecidos empregados em análise de fibra insolúvel (Valente et al. 2010a). Contudo, quando se utilizam tecidos nas análises de fibra é possível que ocorram interações dos tecidos com os diferentes compostos presentes na amostra, podendo também haver retenção de compostos não-fibrosos que deveriam ser solubilizados no processo analítico, superestimando o valor da FDN.

Desta forma, definiu-se como objetivo avaliar a eficiência da utilização dos tecidos nylon, F57 e TNT na avaliação de FDN utilizando papel de filtro quantitativo como padrão

de celulose, simulando-se diferentes composições de amostras com adições de amido, pectina, caseína e óleo de soja.

### **Material e Métodos**

Foram realizados quatro experimentos no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

Em todos os experimentos utilizaram-se os mesmos procedimentos de análises, sendo estes diferenciados somente no tocante à composição das amostras simuladas. Desta forma, procedeu-se inicialmente à descrição dos métodos básicos empregados nos quatro experimentos realizados.

Para todos os experimentos foram confeccionados sacos de dimensão 4 x 5 cm com os tecidos nylon (50 µm de porosidade) e TNT (100 g/m<sup>2</sup>). Os sacos do tecido F57 foram adquiridos confeccionados pelo fabricante (Ankom®), os quais apresentavam dimensões similares aos demais. Utilizou-se a relação de 20 mg de matéria seca (MS)/cm<sup>2</sup> de superfície (Nocek, 1988).

Em todos os procedimentos experimentais, após o acondicionamento das amostras, os sacos foram selados por calor. Os procedimentos de análise dos teores de FDN foram conduzidos em aparelho analisador de fibras (Ankom<sup>220</sup>®), utilizando-se a formulação de detergente neutro preconizada por Mertens (2002), omitindo-se o uso de sulfito de sódio. A relação detergente amostra foi mantida em 100 mL/g de MS, com tempo efetivo de extração de 1 hora. Nenhum procedimento para correção quanto aos compostos nitrogenados e cinzas insolúveis em detergente neutro foi conduzido.

Quando pertinente, em função da natureza dos tratamentos, utilizou-se α-amilase termoestável (Termamyl 2X, Novozymes), na proporção de 50 µL/g de MS. Para que se obtivesse a correta ativação da enzima, o detergente neutro foi adicionado sobre as



amostras a temperatura ambiente, acrescentando-se em seguida a  $\alpha$ -amilase termoestável. A partir deste momento procedeu-se ao aquecimento do detergente, sendo o tempo de extração contabilizado a partir do momento em que a temperatura de extração foi atingida (100°C).

Após a extração, foram realizadas lavagens seqüenciais com água quente e acetona. Após esse procedimento, os sacos foram secos em estufa com ventilação forçada (60°C/72 horas) e, seqüencialmente, em estufa não-ventilada (105°C/45 minutos), acondicionados em dessecador e pesados. No dessecador os sacos foram manejados em grupos não superiores a 20 unidades para que o tempo de pesagem não se tornasse demasiadamente prolongado e houvesse alteração de peso devido à higroscopicidade da fibra (Sampaio et al., 2010).

Previamente aos procedimentos de extração os sacos foram lavados com detergente neutro em ebulição, água quente e acetona; secos e pesados conforme o procedimento descrito anteriormente para se obterem as taras.

O padrão analítico para os teores de FDN foi obtido a partir de papel de filtro quantitativo de filtragem rápida (faixa preta; diâmetro 12,5 cm; cód. 050154; Vetec®). Este material é composto por celulose purificada, apresentando 0,0086% de cinzas e 96,53% de MS. O papel foi processado em moinho de facas com peneira de porosidade 1 mm, conforme recomendações de Valente et al. (2010a).

Nesta situação, hipotetizou-se que, em virtude de sua pureza, o material pudesse ser utilizado como padrão para aferição dos teores de FDN em laboratório (Valente et al., 2010a), uma vez que materiais convencionais somente permitem a aferição da precisão das estimativas, e não sua exatidão (Van Soest, 1994; Casali et al., 2009).

No primeiro experimento buscou-se simular amostras contendo diferentes teores de amido. Neste contexto, além do padrão de celulose, adicionou-se aos sacos, amido de

milho puro de uso laboratorial, com 91,62 % de MS (*corn starch*, S-5296, Sigma), perfazendo 15 ou 50 % da MS total da amostra. Avaliou-se conjuntamente o uso ou não de  $\alpha$ -amilase termoestável. Foram utilizados dez sacos de cada tecido para cada nível de inclusão de amido, totalizando 60 sacos, sendo que destes 30 sacos foram tratados com  $\alpha$ -amilase e 30 sacos não.

O experimento foi conduzido segundo delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2 x 2 (três tecidos, dois níveis de inclusão de amido e uso ou não de  $\alpha$ -amilase).

No segundo experimento simularam-se amostras contendo diferentes teores de pectina. Desta forma, adicionou-se aos sacos, além do padrão de celulose, pectina (*Pectin from citrus fruits*, P-9135, Sigma; 87,55% de MS), perfazendo 15 ou 50 % da MS total. Foram utilizados cinco sacos de cada tecido para cada nível de inclusão de pectina, totalizando 30 sacos.

O experimento foi conduzido segundo delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2 (três tecidos e dois níveis de inclusão de pectina).

No terceiro experimento foram simuladas amostras contendo amido (*corn starch*, S-5296, Sigma; 91,62 % de MS) e diferentes níveis de proteína solúvel, a qual foi representada por caseína (*Casein from bovine milk technical grade*, C-7078, Sigma; 91,65% de MS). Todas as amostras foram construídas adicionando-se 20% de amido e 10% ou 30% de caseína, com base na MS. Neste experimento, avaliou-se concomitantemente a adição ou não de  $\alpha$ -amilase termoestável. Foram utilizados dez sacos de cada tecido para cada nível de caseína, totalizando 60 sacos, sendo 30 sacos tratados com  $\alpha$ -amilase e 30 sacos não.

O experimento foi conduzido segundo delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2 x 2 (três tecidos, dois níveis de inclusão de caseína e uso ou não de  $\alpha$ -amilase).

No quarto experimento buscou-se simular amostras com diferentes teores de extrato etéreo (EE). Desta forma as amostras foram construídas adicionando-se 0, 5, 10, 15, 25 ou 50% de óleo de soja refinado sobre o padrão de celulose, com base na MS. O óleo, processado pelo fabricante, era isento de proteína, cinzas, carboidratos e apresentava 100% de MS. Foram utilizados cinco sacos de cada tecido para cada nível de inclusão de óleo, totalizando 90 sacos.

O experimento foi conduzido segundo delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 6 (três tecidos e seis níveis de inclusão de óleo de soja).

Em todos os experimentos, avaliou-se o vício de recuperação da FDN, o qual foi estimado como:

$$VRF = \frac{M_{Fo} - M_{Fe}}{M_{Fe}} \times 100$$

em que: VRF = vício de recuperação da FDN (%); MFe = massa de FDN esperada ou massa do padrão de celulose (g); M<sub>Fo</sub> = massa de FDN observada ou resíduo obtido após a análise (g).

A estimativa do vício foi assim obtida sob o pressuposto de o padrão utilizado de celulose apresentar 100% de FDN, com base na MS (Valente et al., 2010a). Desta forma, como todos os demais componentes utilizados na simulação das amostras não são componentes da FDN, todas as variações observadas no resíduo de análise em relação à massa de padrão adicionada devem ser assumidas como viés do processo analítico. Neste contexto, vícios negativos indicariam perda de material fibroso insolúvel. Por outro lado, vícios positivos indicariam contaminação pela retenção de outros compostos que não a FDN.

Para todos os vícios médios, em todos os experimentos, foram construídos intervalos de confiança ( $1-\alpha = 0,99$ ). Neste contexto, a presença do valor paramétrico 0 (zero) no intervalo de confiança indica vício de recuperação não significativo ( $P>0,01$ ).

Adicionalmente, as comparações dos vícios médios de recuperação entre os níveis de cada fator estudado foram realizadas por intermédio do teste de Tukey-Kramer, exceção feita aos níveis de óleo avaliados no quarto experimento, os quais foram comparados por intermédio de técnicas de regressão não-linear.

Todos os procedimentos estatísticos foram realizados por intermédio do programa SAS (PROC GLM e PROC NLIN) utilizando-se 0,01 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

## **Resultados e Discussão**

No primeiro experimento foi observada interação tripla entre os fatores estudados ( $P<0,01$ ). De forma geral, com a não utilização de  $\alpha$ -amilase termoestável ocorreu superestimação do teor de FDN ( $P<0,01$ ), com estimativas de vícios médios similares para ambos os níveis de inclusão de amido (Tabela 1). Nesta situação, observou-se vícios variando de +3,89 a +9,88%, o que reitera a influência deletéria do amido sobre a avaliação laboratorial dos teores de FDN.

Com a não utilização de  $\alpha$ -amilase todos os tecidos apresentaram vícios ( $P<0,01$ ). Contudo, as estimativas foram, em média, inferiores com o uso do nylon em comparação ao F57 e ao TNT ( $P<0,01$ ), resultado mais evidente com a inclusão de 50% de amido (Tabela 1).

Por outro lado, com a utilização de  $\alpha$ -amilase, os vícios médios para ambos os níveis de inclusão de amido foram não-significativos ( $P>0,01$ ), evidenciando a eficiência de remoção do amido como contaminante do resíduo insolúvel (Tabela 1). No entanto,

vício negativo médio (considerando-se ambos níveis de amido), foi verificado para o nylon ( $P<0,01$ ).

Tabela 1 - Vício de recuperação dos teores de fibra em detergente neutro com inclusão de amido em 15 ou 50 %, com base da matéria seca, e com a utilização ou não de  $\alpha$ -amilase termoestável obtidos através de sacos confeccionados por diferentes tecidos

| $\alpha$ -amilase | Amido | Tecido <sup>1,2</sup> |         |          | Média        |
|-------------------|-------|-----------------------|---------|----------|--------------|
|                   |       | F57                   | TNT     | Nylon    |              |
| Não               | 15    | 5,41*Ba               | 8,97*Aa | 6,33*Aa  | 6,90*A       |
|                   | 50    | 9,88*Aa               | 6,98*Aa | 3,89*Ab  | 6,91*A       |
|                   | Média | 7,65*a                | 7,97*a  | 5,11*b   | -            |
| Sim               | 15    | -0,20Aa               | -0,39Aa | -1,73*Aa | -0,77A       |
|                   | 50    | -0,51Aa               | -0,52Aa | -1,25Aa  | -0,76A       |
|                   | Média | -0,36a                | -0,46a  | -1,49*a  | CV(%) = 45,9 |

<sup>1</sup> Médias na linha, seguidas por letras minúsculas diferentes ou na coluna, seguidas por letras maiúsculas diferentes, dentro de cada nível do fator amilase, são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ( $P<0,01$ ). <sup>2</sup> (\*) estatisticamente diferente de zero ( $P<0,01$ ).

A avaliação conjunta do nylon em ambas situações de uso da  $\alpha$ -amilase evidencia que o menor vício observado na ausência de  $\alpha$ -amilase em comparação aos demais tecidos (Tabela 1) não constituiu melhor eficiência do tecido, mas sim perdas de partículas fibrosas insolúveis, causando aparente entendimento de que menor contaminação por amido seria observada com o uso do nylon.

A perda de partículas fibrosas tem sido apontada como a principal limitação do nylon com tecido para análises laboratoriais de FDN (Casali et al., 2009; Valente et al., 2010a;b). Tal limitação não foi verificada neste trabalho com o uso do TNT e do F57, os quais demonstraram exatidão similar (Tabela 1).

De maneira geral, avaliando-se os vícios de recuperação da FDN com uso ou não de  $\alpha$ -amilase termoestável percebe-se que o amido pode efetivamente superestimar o valor da FDN quando não utilizada a  $\alpha$ -amilase (Tabela 1). Comportamento similar foi

evidenciado por Cherney et al. (1989) ao avaliaram os teores de FDN de forragens que continham grãos.

Neste trabalho, a utilização da enzima  $\alpha$ -amilase termoestável foi eficiente na retirada do amido quando adicionada à solução de detergente neutro à temperatura ambiente no momento em que os sacos foram colocados no aparelho analisador de fibra. Isto indica que não houve limitação da ação enzimática devido ao tempo de ação da enzima, contrariando alguns resultados previamente obtidos com a utilização de enzimas menos eficientes, nos quais evidenciou-se a necessidade da enzima permanecer junto com a amostra por pelo menos uma noite (McQueen & Nicholson, 1979), muitas vezes com o uso de soluções de uréia (Van Soest et al., 1991), antes do procedimento padrão de extração com solução de detergente neutro. Em outra recomendação, a extração com detergente neutro envolvendo o uso de  $\alpha$ -amilase demandava a divisão do processo de extração em duas etapas (Undersander et al., 1993). Desta forma, os resultados aqui obtidos indicam que os procedimentos de análise podem ser conduzidos com maior praticidade.

O viés positivo nos teores de FDN pode ser explicado pelo fato de o amido sofrer gelatinização quando exposto a temperaturas de 90 a 100°C (Hall, 2007) (faixa de temperatura alcançada durante o período de extração), impedindo sua retirada dos sacos durante a filtração. Quando a  $\alpha$ -amilase termoestável foi utilizada, o amido foi removido dos sacos dos três tecidos. Este comportamento concorda com a recomendação feita pela AOAC para amostras que contenham amido (Mertens, 2002), o que evita a superestimação do teor de FDN (Faithfull, 2002).

No segundo experimento não se verificou efeito dos níveis de pectina ou interação entre níveis e tecidos sobre os vícios de recuperação da FDN ( $P>0,01$ ). No tocante aos tecidos, observaram-se resultados similares para TNT e F57 ( $P>0,01$ ), os quais diferiram do nylon ( $P<0,01$ ). Por outro lado, o nylon foi o único tecido que apresentou

vício de recuperação significativo ( $P<0,01$ ), o qual assumiu valor negativo, mais uma vez evidenciando perda significativa de partículas fibrosas insolúveis (Tabela 2).

Tabela 2 - Vício de recuperação dos teores de fibra em detergente neutro com inclusão de pectina em 15 ou 50 %, com base da matéria seca, obtidos através de sacos confeccionados por diferentes tecidos

| Pectina (%)          | Tecido |        |         | Média        |
|----------------------|--------|--------|---------|--------------|
|                      | F57    | TNT    | Nylon   |              |
| 15                   | -0,26  | -0,35  | -2,42   | -1,01        |
| 50                   | -0,44  | -0,40  | -2,12   | -0,99        |
| Média <sup>1,2</sup> | -0,35b | -0,37b | -2,27*a | CV(%) = 57,6 |

<sup>1</sup> Médias na linha, seguidas por letras diferentes, são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ( $P<0,01$ ). <sup>2</sup> (\*) estatisticamente diferente de zero ( $P<0,01$ ).

A pectina, mesmo sendo componente da parede celular vegetal (Hall, 2003), é completamente solubilizada pela solução de detergente neutro, fazendo parte da fibra solúvel dos alimentos (Bailey & Ulyatt, 1970; Dryden, 2008). Existem evidências que o aquecimento por si só é suficiente para permitir que a pectina se solubilize, sendo que temperaturas maiores que 80°C seriam necessárias para sua completa extração (Van Soest, 1994). A fibra solúvel apresenta degradação ruminal diferente dos outros componentes da parede celular que compõem a fibra insolúvel (Van Soest, 1967; Hall et al., 1997; Russell, 2002) e uma incompleta extração da pectina pela solução de detergente neutro poderia causar confundimento entre as avaliações laboratoriais e os ensaios de digestibilidade (Chesson & Monro, 1982).

Por outro lado, segundo Undersander et al. (1993), amostras com altos teores de pectina podem apresentar problemas durante o processo de filtração, principalmente se houver contato com a vidraria não-aquecida. Contudo, de acordo com os resultados aqui obtidos, mesmo com o uso de 50% de pectina, não se observou viés positivo significativo (Tabela 2), o que indica que não ocorreram problemas de retenção de material péctico durante a filtração. Isto parece constituir vantagem ao uso de tecidos como recipientes,

uma vez que os mesmos são aquecidos em conjunto com as amostras, não propiciando os problemas acima relatados.

No terceiro experimento foi observada significância para o efeito de interação entre tecido e uso de  $\alpha$ -amilase ( $P < 0,01$ ). Nenhum efeito associado aos níveis de proteína foi significativo ( $P > 0,01$ ).

Este experimento foi proposto visando-se simular amostras de composição mais heterogênea em comparação ao primeiro e segundo experimentos, associando-se a isto a avaliação de amostras com altos níveis de proteína de conteúdo celular, simulada pela utilização da caseína.

A proteína tem sido apontada como o maior contaminante na avaliação de resíduos fibrosos insolúveis (Goering & Van Soest, 1970). Embora grande parte dos resíduos protéicos contaminantes esteja associada aos compostos fibrosos insolúveis da parede celular (Krishnamoorthy et al., 1982; Henriques et al., 2007), o excesso de proteína, principalmente glicoproteínas, pode dificultar o processo de filtração, superestimando o teor de FDN (Undersander et al., 1993), de forma similar ao anteriormente discutido para amostras com alto teor de pectina. Para alguns materiais com níveis elevados de proteína faz-se muitas vezes necessária a utilização de proteases para minimizar as interferências na análise de FDN (Van Soest & Robertson, 1985). Neste contexto, como previamente discutido, o uso de tecidos parece ser também vantajoso na avaliação de amostras desta natureza.

O desdobramento do efeito de interação entre tecidos e utilização de  $\alpha$ -amilase verificado no terceiro experimento (Tabela 3) corroborou os resultados obtidos no primeiro experimento (Tabela 1). Na ausência de  $\alpha$ -amilase observou-se vício de recuperação positivo ( $P < 0,01$ ) para todos os tecidos, sendo, contudo inferior para o nylon ( $P < 0,01$ ) em comparação ao TNT e F57, que não diferiram entre si ( $P > 0,01$ ). Na presença de  $\alpha$ -amilase,



os tecidos TNT e F57 não apresentaram vícios de recuperação significativos ( $P>0,01$ ). Contudo, vício negativo ( $P<0,01$ ) foi verificado para o nylon. Isto reitera a perda de partículas fibrosas insolúveis com o uso do nylon, o que parece ser a causa de seu menor vício na ausência de  $\alpha$ -amilase (Tabela 3).

Tabela 3 - Vício de recuperação dos teores de fibra em detergente neutro (FDN - % da matéria seca) com a utilização ou não de  $\alpha$ -amilase termoestável obtidos através de sacos confeccionados por diferentes tecidos

| $\alpha$ -amilase | Tecido <sup>1,2</sup> |         |          |
|-------------------|-----------------------|---------|----------|
|                   | F57                   | TNT     | Nylon    |
| Sim               | -0,45Ba               | -0,40Ba | -1,20*Ba |
| Não               | 5,44*Aa               | 4,03*Aa | 1,04*Ab  |

<sup>1</sup> Médias na linha, seguidas por letras minúsculas diferentes, ou na coluna, seguidas por letras maiúsculas diferentes, são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ( $P<0,01$ ) (CV = 75,8%). <sup>2</sup> (\*) estatisticamente diferente de zero ( $P<0,01$ ).

No quarto experimento verificou-se efeito de interação entre os níveis de óleo e tecidos sobre os vícios de recuperação da FDN ( $P<0,01$ ) (Tabela 4; Figuras 1, 2 e 3).

Avaliando-se os diferentes tecidos dentro de cada nível de óleo utilizado, observou-se que vícios de recuperação significativos e positivos ( $P<0,01$ ) somente ocorreram para os níveis 15, 25 e 50% (Tabela 4). De forma geral, os menores vícios nestes três níveis foram verificados com a utilização do nylon ( $P<0,01$ ).

Estes menores vícios de recuperação da FDN com o uso do nylon parecem estar associados a duas causas distintas. Em primeiro lugar, como discutido anteriormente e ressaltado por outros autores (Casali et al., 2009; Valente et al., 2010a,b), a perda de partículas fibrosas insolúveis devido à sua estrutura de porosidade parecem constituir a maior limitação do nylon na análise de compostos fibrosos em laboratório. Esta justificativa parece ser suportada pelos resultados obtidos nos níveis 0, 5 e 10% de óleo. Nesta situação, embora não tenham sido observados vícios significativos atribuídos ao nível de óleo ( $P>0,01$ ) ou diferenças entre tecidos ( $P>0,01$ ), verificou-se que o nylon

produziu estimativas numéricas de vício sistematicamente mais proeminentes em relação ao F57 e TNT (Tabela 4), o que pode ter contribuído para as menores estimativas dos vícios nos níveis mais elevados de óleo.

Tabela 4 - Vício de recuperação dos teores de fibra em detergente neutro com inclusão de diferentes níveis óleo de soja (% da matéria seca) obtidos através de sacos confeccionados por diferentes tecidos

| Óleo de Soja (%) | Tecido <sup>1,2</sup> |         |         |
|------------------|-----------------------|---------|---------|
|                  | F57                   | TNT     | Nylon   |
| 0                | -0,40a                | -0,56a  | -1,06a  |
| 5                | -0,40a                | -0,58a  | -1,28a  |
| 10               | -0,15a                | -0,09a  | -1,24a  |
| 15               | 6,04*a                | 5,45*a  | 2,30*b  |
| 25               | 23,24*a               | 23,79*a | 17,80*b |
| 50               | 34,13*b               | 41,34*a | 29,60*c |

<sup>1</sup> Médias na linha, seguidas por letras diferentes, são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer (P<0,01) (CV = 19,6%). <sup>2</sup> (\*) estatisticamente diferente de zero (P<0,01).

Por outro lado, embora o padrão de celulose constitua ferramenta para aferição da exatidão do teor de FDN em laboratório, algumas limitações são ainda observadas, pois o mesmo não é capaz de reproduzir totalmente a alta complexidade físico-química de alimentos integrais, pois é isento de conteúdo celular e de ligações químicas e interações físicas da parede celular (Valente et al., 2010a). A gordura presente nos alimentos localiza-se no conteúdo celular. Logo, sua extração seria dependente da ação do detergente em extraí-la do interior da célula. Com a simulação adotada neste trabalho, a gordura utilizada foi homogeneizada ao padrão, o que não permite simular adequadamente sua posição na célula. Em contato com o meio aquoso, haveria a formação natural de micelas devido à hidrofobicidade da gordura. Em estudos de microscopia eletrônica evidenciou-se que os poros no nylon podem ser considerados maiores que os observados no F57 e no TNT (Casali et al., 2009; Valente et al., 2010b). Desta forma, com o uso do nylon não haveria ação mais eficiente do detergente na remoção de gordura; mas devido aos maiores poros

facilitar-se-ia a saída de micelas de gordura integrais, o que teria contribuído para os menores vícios observados com este tecido nos níveis mais elevados de gordura (Tabela 4).

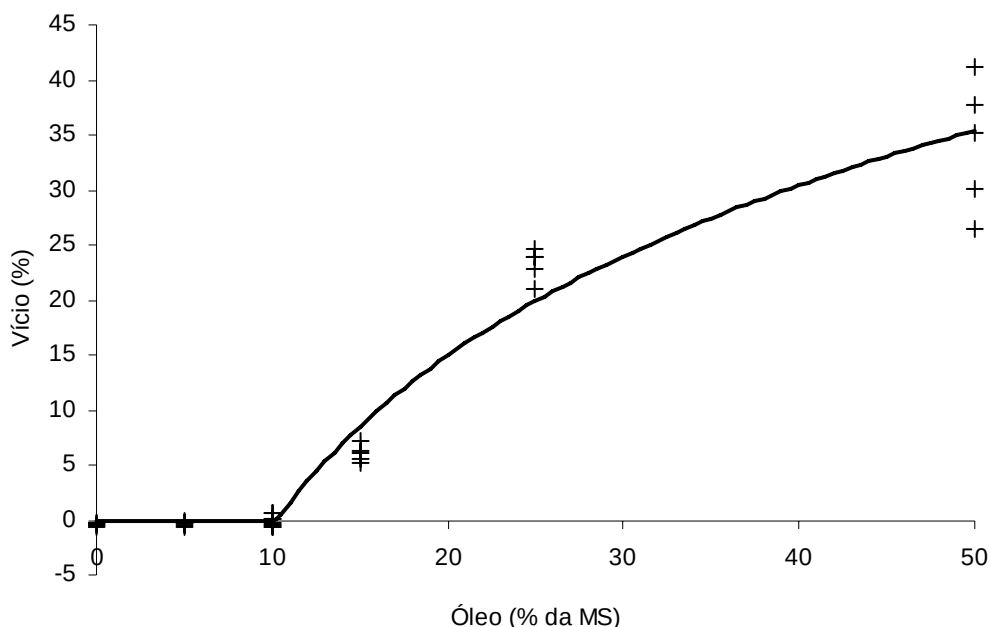


Figura 1 – Estimativa do vício de recuperação do teor de fibra em detergente neutro em função do nível de óleo de soja na amostra utilizando-se o tecido F57 ( $\hat{Y} = 0, \forall X < 10,2526$ ;  $\hat{Y} = -52,004 + 22,343\ln(X), \forall X \geq 10,2526$ ;  $R^2 = 0,9360$ ).

A avaliação do comportamento dos dados de cada tecido em função dos diferentes níveis de óleo sugeriu a adoção de modelo com estrutura não-linear logarítmica descontínua, o qual permitiu a identificação do ponto a partir do qual os vícios de recuperação tornar-se-iam significativos (Figuras 1, 2 e 3). Tais pontos foram identificados sobre os níveis de 10,25; 10,80 e 11,45% de óleo, para os tecidos F57, TNT e nylon, respectivamente. Desta forma, considerando-se as limitações anteriormente apresentadas para o nylon, ou seja, relevando-se somente as informações obtidas com o TNT e F57, vícios de recuperação da FDN seriam observados a partir de níveis próximos a 10% de óleo.

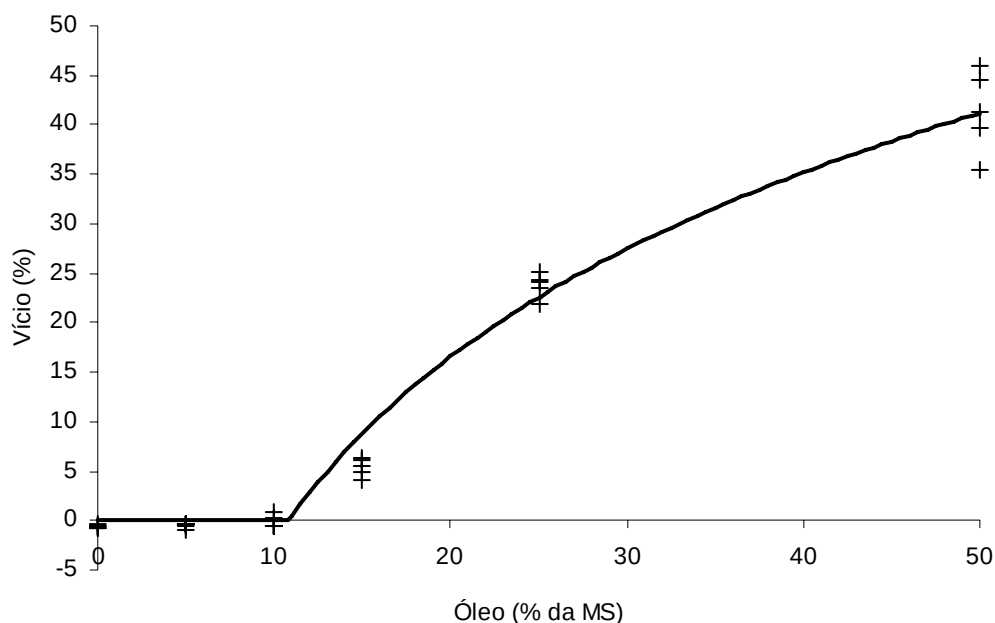


Figura 2 – Estimativa do vício de recuperação do teor de fibra em detergente neutro em função do nível de óleo de soja na amostra utilizando-se o tecido TNT ( $\hat{Y} = 0$ ,  $\forall X < 10,8038$ ;  $\hat{Y} = -63,993 + 26,889\ln(X)$ ,  $\forall X \geq 10,8038$ ;  $R^2 = 0,9698$ ).

A explicação para os valores superestimados de FDN obtidos com a inclusão de óleo acima de 10% reside sobre a formulação do detergente neutro, no qual utiliza-se como substância com ação detergente o lauril sulfato de sódio em concentração que permite a máxima solubilização de componentes não fibrosos com o mínimo volume de água (Van Soest, 1963). A molécula de lauril sulfato de sódio apresenta cadeia com 12 átomos de carbono, ligados a um grupo sulfato, dando à molécula propriedades anfipáticas requeridas por um detergente. O lauril sulfato de sódio apresenta resultado satisfatório para a maioria das análises laboratoriais e pode ser encontrado em diversos países, o que permite a padronização da solução de detergente neutro (Van Soest & Robertson, 1985).

Forragens normalmente apresentam baixos teores de EE; mas quando se avaliam sementes de oleaginosas, com alto EE, pode ocorrer saturação da solução de detergente neutro, tornando incompleta a retirada dos componentes apolares (lipídeos). Isto pode ser

agravado em amostras de alimentos como sementes de oleaginosas, pois a solubilização parcial do detergente em óleo reduz sua capacidade de extração. Assim, é necessário o pré-desengorduramento de amostras com alto EE (Van Soest et al., 1991; Faithfull, 2002).

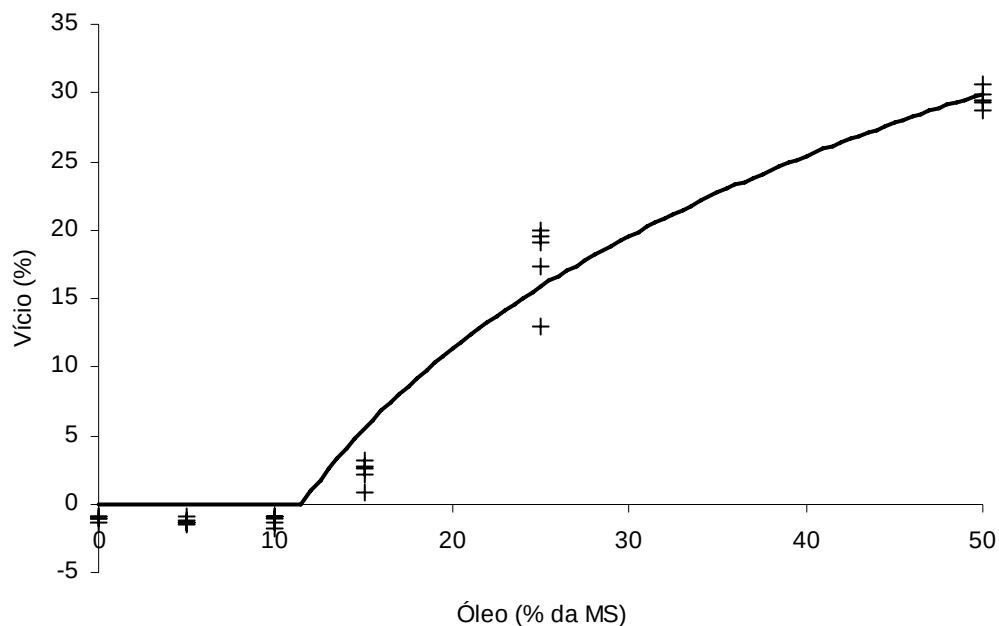


Figura 3 – Estimativa do vício de recuperação do teor de fibra em detergente neutro em função do nível de óleo de soja na amostra utilizando-se o tecido nylon ( $\hat{Y} = 0$ ,  $\forall X < 11,4598$ ;  $\hat{Y} = -49,533 + 20,310\ln(X)$ ,  $\forall X \geq 11,4598$ ;  $R^2 = 0,9611$ ).

Neste contexto, considerando-se que os resultados obtidos com diferentes níveis de óleo de soja possam representar o comportamento de amostras com diferentes níveis de EE, recomenda-se o desengorduramento parcial de amostras com teores de EE superiores a 10%, de forma a torná-las aptas a serem analisadas quanto aos teores de FDN sem que vícios sejam introduzidos sobre as estimativas obtidas.

De modo geral, os resultados obtidos nos quatro experimentos permitem evidenciar que a utilização do nylon gera resultados viesados dos teores de FDN. Em estudos utilizando microscopia eletrônica verificou-se que a estrutura de porosidade do nylon, mais

ampla em comparação ao F57 e ao TNT, acrescida de sua maior susceptibilidade ao rompimento durante os procedimentos analíticos, constituem a grande limitação deste tecido (Casali et al., 2009; Valente et al., 2010b). Isto torna sua utilização não recomendável em avaliações de compostos fibrosos insolúveis em laboratório. O TNT e o F57 têm estruturas físicas bem semelhantes e resultaram em teores de FDN similares; então, o TNT pode constituir alternativa ao F57 na análise de FDN por apresentar menor custo.

Por outro lado, com base nos resultados aqui obtidos, os tecidos TNT e F57 apresentam resultados igualmente exatos. Desta forma, infere-se que o TNT possa constituir alternativa ao F57, de maior custo, em análises laboratoriais do teor de FDN, o que corrobora os resultados obtidos por outros autores (Casali et al., 2009; Valente et al., 2010a).

### **Conclusões**

A utilização dos tecidos F57 (Ankom®) e tecido não-tecido (TNT – 100g/m<sup>2</sup>) proporcionam estimativas acuradas dos teores de fibra em detergente neutro. Por sua vez, a exatidão dos resultados obtidos com nylon (50 µm) é comprometida pela perda de partículas. Para amostras que contenham amido a utilização da  $\alpha$ -amilase termoestável é recomendada na avaliação dos teores de fibra em detergente neutro. Para alimentos que contenham mais de 10% de extrato etéreo é necessária a realização de desengorduramento parcial da amostra para que se obtenham estimativas acuradas dos teores de fibra em detergente neutro.

### Literatura citada

- BAILEY, R.W.; ULYATT, M. Pasture quality and ruminant nutrition. II Carbohydrate and lignin composition of detergent-extracted residues from pasture grasses and legumes. **New Zealand Journal of Agriculture Research**. v.13, p.591-604, 1970.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.130-138, 2009.
- CHERNEY, D.J.R. Characterization of forages by chemical analysis. In: GIVENS, D.I., OWENS, E., AXFORD, R.F.E. et al. (Eds.) **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International, 2000. p.281-300.
- CHERNEY, D.J.R.; PATTERSON, J.A; CHERNEY, J.H. Use of 2-ethoxyethanol and  $\alpha$ -amilase in the neutral detergent fiber method of feed analysis. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.3079-3084, 1989.
- CHESSON, A.; MONRO, J.A. Legume pectin substances and their degradation in the ovine rumen. **Journal of Science Food Agriculture**, v.33, p.852-859, 1982.
- DRYDEN, G.McL. **Animal nutrition science**. Wallingford: CAB International, 2008. 320p.
- FAITHFULL, N.T. **Methods in agricultural chemical analysis**. A Practical Handbook. Wallingford: CAB International, 2002. 266p.
- GOERING, H.K.; Van SOEST, P.J. **Forage fiber analyses** (apparatus, reagents, procedures and some applications). USDA-ARS Agriculture Handbook 379. U. S. Government Printing Office, Washington, D. C. 1970. 20p.
- HALL, M.B. Challenges with nonfiber carbohydrate methods. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 3226-3232, 2003.
- HALL, M.B. Methodological challenges in carbohydrate analyses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p. 359-367, 2007 (Suplemento Especial).
- HALL, M.B.; LEWIS, B.A.; Van SOEST, P.J. et al. A simple method for estimation of neutral detergent-soluble fibre. **Journal Science Food Agriculture**. v.74, p.441-449, 1997.
- HENRIQUES, L.T.; DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C. et al. Frações dos compostos nitrogenados associados à parede celular em forragens tropicais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, p.258-263, 2007.
- HVELPLUND, T.; WEISBJERG, M.R. In situ techniques for the estimation of protein degradability and postrumen availability. In: GIVENS, D.I.; OWENS, E.; AXFORD, R.F.E. et al. (Eds.). **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International, 2000. p.233-258.
- KRISHNAMOORTHY, U.; MUSCATO, T.V.; SNIFFEN, C.J. et al. Nitrogen fractions in selected feedstuffs. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.217-225, 1982.
- McQUEEN, R.E.; NICHOLSON, J.W.G. Modification of the neutral-detergent fiber procedure for cereals and vegetables by using alpha-amylase. **Journal of AOAC International**, v.62, p.676-680, 1979.

- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, p.1217-1240, 2002.
- NOCEK, J.E. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2051-2069, 1988.
- RUSSELL, J.B. **Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition**. Ithaca: James B. Russell, 2002. 119p.
- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; VALENTE, T.N.P. et al. Recuperação fecal e vício de tempo longo de indicadores internos e externos em ensaio de digestão com bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2010 (no prelo).
- UNDERSANDER, D.; MERTENS, D.R.; THIEX, N. **Forage analyses procedures**. Omaha: National Forage Testing Association, 1993. 139p.
- VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Avaliação dos teores de fibra em detergente neutro em forragens, concentrados e fezes bovinas moídas em diferentes tamanhos e em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2010a (submetido).
- VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Estimação *in situ* dos teores de componentes indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos com sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2010b (submetido).
- Van SOEST, P. J. The use of detergents in the analyses of fibrous feeds: II. A rapid method for determination of fiber and lignin. **Journal of the Association of Official Agricultural Chemists**, v.46, p.829, 1963.
- Van SOEST, P.J. Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. **Journal of Animal Science**, v.26, p.119-128, 1967.
- Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed.; Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. **Analysis of forage and fibrous foods**. Ithaca: Cornell University, 1985. 202p.
- Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A.S. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VANZANT, E.S.; COCHRAN, C.; TITGEMEYER, E.C. Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2717-2729, 1998.



## **Estimação *in situ* dos teores de componentes indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos com sacos de diferentes tecidos<sup>1</sup>**

**RESUMO** – Objetivou-se avaliar as estimativas de concentração dos indicadores internos matéria seca (MSi), fibra em detergente neutro (FDNi) e fibra em detergente ácido (FDAi) indigestíveis em amostras de alimentos e fezes bovinas processadas em diferentes tamanhos de partículas (1, 2 e 3 mm) utilizando-se sacos confeccionados com os tecidos nylon (50 µm), F57 (Ankom®) e tecido não-tecido (TNT – 100 g/m<sup>2</sup>) em procedimento de avaliação *in situ*. Foram utilizadas oito amostras de alimentos concentrados, sete amostras de alimentos volumosos e duas amostras de fezes bovinas. O material foi acondicionado nos sacos seguindo-se a relação de 20 mg de matéria seca/cm<sup>2</sup> de superfície. Foram utilizados três sacos de cada tecido para cada tamanho de partícula, totalizando 405 sacos, que foram submetidos a 264 horas de incubação ruminal. Os teores dos indicadores foram avaliados seqüencialmente. Sacos em branco foram utilizados para avaliação microscópica da integridade física dos tecidos e para avaliação da resistência à tração. A presença de contaminantes causou alta variabilidade dos resultados relativos à MSi, o que indica comprometimento de sua aplicação como indicador interno. Os tecidos F57 e TNT produziram estimativas similares para os teores de FDNi e FDAi, enquanto o tecido nylon subestimou a concentração de compostos indigestíveis, possivelmente em função da perda de partículas devido à sua porosidade. O nylon apresentou perda de resistência em todas as etapas analíticas, o que amplia sua probabilidade de ruptura, principalmente após extração com detergente ácido. Sugere-se a moagem de amostras em peneiras com porosidade de 2 mm para procedimentos *in situ* de avaliação de compostos indigestíveis.

**Palavras-Chave:** F57, indicadores internos, nylon, tamanho de partículas, tecido não-tecido

---

<sup>1</sup> Artigo submetido à Revista Brasileira de Zootecnia, sob o protocolo 00265-09.

***In situ* estimation of indigestible compounds contents in cattle feed and feces using  
bags made from different textiles**

**Abstract** – The objective of this experiment was to evaluate the estimate the contents of internal markers indigestible dry matter (iDM), indigestible neutral detergent fiber (iNDF) and indigestible acid detergent fiber (iADF) in samples of cattle feed and feces processed at different particle sizes (1-, 2-, and 3-mm) using bags made by the textiles nylon (50 µm), F57 (Ankom®), and non-woven textile (NWT – 100 g/m<sup>2</sup>) in a *in situ* procedure. It were used eight samples of concentrates, seven samples of forages and two samples of cattle feces. The samples were put in the bags according to a ratio of 20 mg of dry matter/cm<sup>2</sup> of surface. It were used three bags of each textile and particle sizes, totality 405 bags. The bags were submitted to 264 hours *in situ* rumen incubation. The contents of markers were sequentially evaluated. Blank bags were used for microscopic evaluation of textile integrity and for evaluation of the physical resistance. The presence of contaminants caused high variability of iDM results, which indicated that its use as internal marker is not recommended. F57 and NWT presented similar estimates of iNDF and iADF, while nylon underestimated the concentration of indigestible compounds. This result is probably associated with particle loss. The nylon showed decrease in physical resistance after each analytical step. That pattern leads to an increase of the rupture probability, mainly after acid detergent extraction. It was recommended the milling of samples at 2 mm particles size to evaluate indigestible compounds through *in situ* procedures.

**Key Words:** F57, internal markers, nylon, non-woven textile, particle size

## Introdução

Indicadores internos são compostos de referência presentes nos alimentos utilizados para estimar o fluxo de digesta e a massa fecal em ruminantes. Atualmente, estes compostos são mais comumente representados pela fração física matéria seca indigestível (MSi) e pelas frações químicas fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) (Detmann et al., 2004).

Entre as características ideais de um indicador destaca-se a capacidade deste ser totalmente recuperado nas fezes (Owens & Hanson, 1992) ou em qualquer segmento do trato gastrointestinal. A ausência desta característica pode acarretar estimativas viesadas de fluxo de digesta ou excreção fecal. Embora a capacidade de recuperação seja teoricamente inerente ao próprio indicador (Detmann et al., 2007), influências indiretas dos métodos utilizados para estimação de sua concentração podem causar desvios aparentes de recuperação (Freitas et al., 2002; Detmann et al., 2007).

Diferentes tecidos têm sido utilizados em procedimentos *in situ* para avaliação da concentração de indicadores internos, entre os quais destacam-se o nylon (50  $\mu\text{m}$ ), o F57 (Ankom®) e o tecido não-tecido (TNT – 100 g/m<sup>2</sup>). O nylon tem sido empregado como recipiente padrão. Contudo, resultados controversos têm sido relatados quanto à eficiência da utilização deste tipo de tecido no processo de estimação de compostos indigestíveis, que parecem estar associados principalmente à possibilidade de perda de partículas (Casali et al., 2009).

Com a possibilidade de utilização de diferentes tecidos para realização de procedimentos *in situ* para estimação das concentrações de resíduos indigestíveis, entende-se que conhecimentos a respeito destes tecidos devam ser gerados e estudos sobre os

aspectos primários de interferência sobre a exatidão e precisão dos resultados, e aspectos secundários, envolvendo custos e praticidade operacional, devem ser analisados.

Objetivou-se avaliar as estimativas de concentração dos indicadores MSi, FDNi e FDAi em amostras de alimentos e fezes bovinas processadas em diferentes tamanhos de partículas utilizando-se sacos confeccionados com os tecidos nylon (50 µm), F57 e TNT em procedimento de avaliação *in situ*, avaliando-se, adicionalmente, aspectos da resistência física dos tecidos supracitados.

### **Material e Métodos**

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

Foram utilizadas amostras de alimentos concentrados (sorgo grão, glúten de milho, polpa cítrica, farelo de algodão, farelo de soja, farelo de trigo, milho grão e casca de soja) e de alimentos volumosos (feno de capim braquiária, cana-de-açúcar *in natura*, feno de capim-coastcross, palha de milho, silagem de milho e capim-elefante *in natura* cortado aos 50 e 250 dias de rebrotação). Foram também avaliadas amostras de fezes obtidas de dois bovinos alimentados com dietas contendo 15% e 50% de concentrado, com base na matéria seca (MS), as quais foram denominadas fezes de baixo concentrado (BC) e de alto concentrado (AC), respectivamente.

As amostras de silagem de milho, cana de açúcar, capim elefante (50 e 250 dias) e fezes (BC e AC) foram secas em estufa com ventilação forçada (60°C) e, posteriormente, em conjunto com as demais amostras, processadas em moinho de facas com peneiras com malha de 1, 2 e 3 mm. A amostra de glúten de milho somente foi avaliada com tamanho de partícula compatível com peneira de malha de 1 mm em função de a amostra ter sido

processada desta forma pelo fabricante. Adicionalmente, as amostras de sorgo grão, farelo de algodão, polpa cítrica e farelo de soja só foram processados a 1 e 2 mm. Isto se justificou para o sorgo devido ao pequeno tamanho do grão, o qual passava intacto pela peneira com malha de 3 mm. As amostras de farelo de algodão, polpa cítrica e farelo de soja foram processadas pelos fabricantes com tamanhos de partículas compatíveis com peneira de malha 2 mm.

As avaliações químicas das amostras foram feitas com amostras processadas a 1 mm, sendo os teores de MS, matéria orgânica (MO) e proteína bruta (PB) avaliados segundo Silva & Queiroz (2002). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em ácido (FDA) foram avaliados utilizando-se as formulações de detergente recomendadas por Mertens (2002) e Goering & Van Soest (1975), respectivamente, empregando-se a técnica de micro-extração (Pell & Schofield, 1993) (Tabela 1). Nas análises de FDN utilizou-se  $\alpha$ -amilase termoestável (Termamyl 2X, Novozymes), omitindo-se o uso de sulfito de sódio. Nenhum procedimento para correção quanto aos compostos nitrogenados e cinzas insolúveis em detergente neutro ou ácido foi adotado.

Para avaliação dos teores de MS<sub>i</sub>, FDN<sub>i</sub> e FDA<sub>i</sub> foram confeccionados sacos de dimensão 4 x 5 cm com os tecidos nylon (50  $\mu$ m) e tecido não-tecido (TNT - 100 g/m<sup>2</sup>). O material moído foi adicionado nos sacos previamente confeccionados e nos sacos F57 (Ankom®). Foram utilizados três sacos de cada tecido para cada tamanho de partícula, totalizando 405 sacos. Utilizou-se a relação de 20 mg de MS/cm<sup>2</sup> de superfície (Nocek, 1988). Em todos os procedimentos experimentais, após o acondicionamento das amostras, os sacos foram selados por calor.

Para obtenção dos resíduos indigestíveis as amostras foram incubadas no rúmen de três vacas mestiças Holandês x Zebu fistuladas no rúmen e alimentadas com dieta mista

(forragem e concentrado), sendo um saco de cada material em cada tamanho de partícula em cada um dos animais. As amostras permaneceram incubadas por 264 horas, como proposto por Casali et al. (2008). Após o término da incubação, os sacos foram retirados do rúmen e lavados manualmente com água corrente até o total clareamento desta, secos sequencialmente em estufas ventilada (60°C/72 horas) e não-ventilada (105°C/45 minutos), acondicionados em dessecador e pesados. Neste ponto obtiveram-se os teores de MSi.

Tabela 1 - Composição química de alimentos e fezes

| Material                | Item <sup>1</sup> |                 |                 |                  |                  |
|-------------------------|-------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
|                         | MS<br>(%)         | MO<br>(% da MS) | PB<br>(% da MS) | FDN<br>(% da MS) | FDA<br>(% da MS) |
| Sorgo Grão              | 88,54             | 99,11           | 8,68            | 11,61            | 3,15             |
| Glúten de milho         | 90,76             | 99,03           | 63,48           | 12,85            | 6,43             |
| Polpa Cítrica           | 85,76             | 94,21           | 5,40            | 25,56            | 17,31            |
| Farelo de Algodão       | 89,28             | 92,53           | 39,93           | 27,92            | 15,36            |
| Farelo de Soja          | 89,39             | 93,20           | 43,07           | 13,49            | 6,48             |
| Farelo de Trigo         | 83,59             | 93,18           | 14,95           | 47,74            | 14,18            |
| Milho Grão              | 86,28             | 98,65           | 8,25            | 13,61            | 2,64             |
| Casca de Soja           | 89,77             | 95,96           | 10,83           | 67,34            | 44,62            |
| Feno de Braquiária      | 90,54             | 96,59           | 3,71            | 86,29            | 50,29            |
| Cana-de-Açúcar          | 22,28             | 96,33           | 2,90            | 60,41            | 37,34            |
| Feno de Coastcross      | 89,96             | 94,41           | 11,43           | 83,93            | 40,44            |
| Palha de Milho          | 90,43             | 98,50           | 1,88            | 90,80            | 45,55            |
| Silagem de Milho        | 30,97             | 93,06           | 4,49            | 57,79            | 29,37            |
| Capim-Elefante 50 dias  | 13,55             | 92,17           | 9,07            | 74,35            | 51,88            |
| Capim-Elefante 250 dias | 22,54             | 93,54           | 7,20            | 85,34            | 53,67            |
| Fezes (BC)              | 13,37             | 88,83           | 8,88            | 66,03            | 36,44            |
| Fezes (AC)              | 14,66             | 91,07           | 10,51           | 54,20            | 24,08            |

<sup>1</sup> MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido.

Os procedimentos de análise dos teores de FDNi e FDAi foram conduzidos em aparelho analisador de fibras (Ankom<sup>220</sup>®). As formulações dos detergentes neutro e ácido

seguiram as recomendações de Mertens (2002) e Goering & Van Soest (1975). A relação detergente: amostra foi de 100 mL/g de MS com tempo efetivo de extração de 1 hora.

Ao término do tempo de extração com detergente neutro os sacos foram lavados sequencialmente com água quente e acetona, secos em estufa ventilada (60°C/72 horas) e não-ventilada (105°C/45 minutos), acondicionados em dessecador e pesados, obtendo-se os teores de FDNi. A avaliação dos teores de FDAi foi conduzida em sequência, utilizando-se os mesmos procedimentos aplicados para a FDNi.

Anteriormente aos procedimentos de incubação os sacos foram lavados com detergente neutro em ebulição, água quente e acetona, secos e pesados, como descrito anteriormente, para que se obtivessem as taras.

Para a avaliação da integridade dos tecidos após as diferentes etapas analíticas foram utilizados oito sacos de cada tecido. Os sacos, em duplicata, foram submetidos aos seguintes procedimentos: A) lavagem com detergente neutro (tecido “novo”); B) todos os procedimentos descritos em A, seguidos de 264 horas de incubação ruminal, lavagem com água corrente até o total clareamento desta e submissão ao procedimento de secagem (60°C/72 horas seguido de 105°C/45 minutos); C) todos os procedimentos descritos em B, seguidos de extração com detergente neutro (100°C/1 hora), lavagem com água quente e acetona e secagem como descrito anteriormente; e D) todos os procedimentos descritos em C, seguidos de extração com detergente ácido (100°C/1 hora), lavagem com água quente e acetona e secagem como descrito anteriormente. A sequência de procedimentos foi implementada visando simular a avaliação sequencial dos indicadores MSi, FDNi e FDAi.

Alíquotas de tecido de um saco em cada situação foram submetidas à avaliação por microscopia eletrônica de varredura (Silveira, 1998). Os fragmentos dos tecidos foram fixados com auxílio de cola contendo prata em suportes metálicos, cobertos com camada de

ouro (20 nm) e avaliados em aumentos de 30 e 100x em microscópio eletrônico de varredura (DSEM 962, Zeiss Co.). Todos os procedimentos de microscopia foram realizados no Laboratório de Biologia Celular e Tecidual do Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes-RJ.

Para o teste de resistência à tração, um saco de cada tecido em cada situação foi encaminhado ao Laboratório de Ensaios Físicos e de Composição do SENAI/CETIQT (Rio de Janeiro-RJ). Para tal avaliação utilizou-se dinamômetro (Instron, modelo 4467) com as seguintes características: velocidade de deslocamento da garra - 100 mm/min, distância entre garras - 3 cm e tamanho das garras (posteriores e anteriores) - 2,5 x 7,5 cm.

Os teores de MSi, FDNi e FDAi foram avaliados de forma independente para cada material por intermédio de análise de variância, segundo delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 3 (três tecidos e três tamanhos de partículas, quando pertinente). Devido ao desbalanceamento causado pela perda de alguns sacos, as análises de variância foram conduzidas utilizando-se somas de quadrados do tipo III, sendo as médias comparadas por intermédio do teste de Tukey-Kramer (Littell et al., 1991). Todos os procedimentos estatísticos foram realizados por intermédio do programa SAS (*Statistical Analysis System*) utilizando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

### **Resultados e Discussão**

Não foi verificada interação entre tecidos e tamanho de partículas ( $P > 0,05$ ), com exceção dos teores de MSi e FDNi em fezes AC ( $P < 0,05$ ).

Os teores de MSi, para a maioria dos materiais avaliados, foram similares quando obtidos com os tecidos TNT e F57 ( $P > 0,05$ ), sendo estes superiores aos obtidos com nylon ( $P < 0,05$ ). Resultados divergentes a estes foram obtidos com polpa cítrica, farelo de trigo,



milho grão e feno de coastcross, nos quais se observou diferença entre todos os tecidos utilizados ( $P < 0,05$ ), com os menores valores atribuídos ao nylon. Não foram verificadas diferenças entre os teores de MSi ( $P > 0,05$ ) obtidos com os diferentes tecidos para o glúten de milho (Tabela 2).

Por outro lado, para todos os materiais avaliados, com exceção do milho grão, observaram-se teores de FDNi similares ( $P > 0,05$ ) quando utilizados os tecidos TNT e F57, sendo estes superiores ao nylon (Tabelas 3 e 5). No caso específico do milho, todos os tecidos propiciaram estimativas diferentes ( $P < 0,05$ ), embora maior aproximação tenha sido verificada entre os tecidos F57 e TNT (Tabela 2).

Não foram obtidas estimativas de teores de FDAi com o uso do nylon, uma vez que todos os sacos sofreram rompimento durante o processo de extração com detergente ácido. De forma similar ao observado para a FDNi, os tecidos F57 e TNT propiciaram estimativas similares dos teores de FDAi ( $P > 0,05$ ), com exceção feita ao milho grão (Tabela 4).

De forma geral, percebeu-se maior variabilidade entre tecidos na avaliação dos teores de MSi (Tabela 2), em comparação aos teores de FDNi e FDAi (Tabelas 3 e 4).

Em alguns estudos com indicadores internos em ruminantes têm-se sugerido a utilização da MSi (Huhtanen et al., 1994; Detmann et al., 2001), a qual apresentaria a vantagem de menor custo analítico em comparação a resíduos fibrosos indigestíveis (Detmann et al., 2001). Contudo, a presença de contaminantes pode comprometer os resultados obtidos (Huhtanen et al., 1994; Casali et al., 2009), uma vez que não se utilizam detergentes para limpeza do resíduo pós-incubação, o que limita a retirada de resíduos microbianos por ação aniônica (Van Soest, 1994; Clipes et al., 2006). Em adição, a ação de detergentes poderia também contribuir para a redução de resíduos não-microbianos

(partículas de alimentos), normalmente aderidos à superfície externa dos sacos após a retirada do rúmen.

A contaminação por resíduos na avaliação *in situ* dos teores de MSi parece não ser constante entre materiais (Casali et al., 2008) e, possivelmente, não ocorre de forma homogênea entre replicatas (Sampaio et al., 2010). Assim, parte das diferenças associadas aos diferentes tecidos para os teores de MSi podem refletir confundimento com variações nos níveis de contaminação por resíduos microbianos e não-microbianos, tornando inconsistentes as inferências e comprometendo o uso da MSi como indicador interno.

Considerando-se os resultados dos teores de FDNi e FDAi (Tabelas 2 e 3) pode-se assumir que as estimativas produzidas pelos tecidos F57 e TNT são equivalentes. A diferença observada para a amostra de milho grão pode ser assumida como casual ou aleatória, uma vez que representa apenas uma entre dezessete avaliadas e nenhuma causa aparente pôde ser atribuída para este comportamento. Resultados similares entre os tecidos F57 e TNT quando utilizados para avaliação laboratorial dos teores de FDN e para avaliação *in situ* dos teores de FDNi foram relatados por Valente et al. (2010) e Casali et al. (2009), respectivamente.

Os menores teores de FDNi obtidos com a utilização do nylon (Tabelas 2 e 5) podem ser atribuídos à perda de partículas fibrosas insolúveis devido à sua estrutura de porosidade em comparação aos tecidos F57 e TNT (Figura 1), argumento este corroborado por outros autores (Casali et al., 2009; Valente et al., 2010).

Tabela 2 - Médias e coeficientes de variação dos teores de matéria seca indigestível (% da matéria seca) para amostras processadas em diferentes tamanhos de partículas, obtidos com sacos confeccionados com diferentes tecidos

| Material                | Tecido <sup>1</sup> |        |        | Partículas (mm) <sup>1</sup> |         |        | CV(%) | Valor-P <sup>2</sup> |         |        |
|-------------------------|---------------------|--------|--------|------------------------------|---------|--------|-------|----------------------|---------|--------|
|                         | F57                 | Nylon  | TNT    | 1                            | 2       | 3      |       | T                    | P       | TxP    |
| Sorgo Grão              | 5,34a               | 1,21b  | 3,83a  | 3,39                         | 3,52    | -      | 29,1  | <0,0001              | 0,7885  | 0,8296 |
| Glúten                  | 3,58                | 1,58   | 2,91   | -                            | -       | -      | 48,2  | 0,2376               | -       | -      |
| Polpa Cítrica           | 6,66a               | 2,71c  | 4,91b  | 4,54                         | 4,98    | -      | 12,0  | <0,0001              | 0,1552  | 0,6894 |
| Farelo de Algodão       | 25,09a              | 12,98b | 20,96a | 18,77                        | 20,58   | -      | 15,2  | <0,0001              | 0,2228  | 0,2877 |
| Farelo de Soja          | 3,93a               | 0,74b  | 2,51a  | 1,92                         | 2,86    | -      | 43,1  | 0,0006               | 0,0776  | 0,3252 |
| Farelo de Trigo         | 17,94a              | 13,32c | 15,76b | 13,87b                       | 15,29b  | 17,86a | 7,4   | <0,0001              | <0,0001 | 0,9635 |
| Milho Grão              | 3,63a               | 0,61c  | 1,78b  | 1,96                         | 2,10    | 1,97   | 19,3  | <0,0001              | 0,7037  | 0,2218 |
| Casca de Soja           | 8,54a               | 3,55b  | 7,11a  | 5,84                         | 6,48    | 6,89   | 29,8  | <0,0001              | 0,5148  | 0,7356 |
| Feno de Braquiária      | 54,86a              | 35,96b | 49,10a | 40,82b                       | 45,13b  | 53,97a | 11,4  | <0,0001              | 0,0003  | 0,9244 |
| Cana de Açúcar          | 38,08a              | 27,40b | 35,59a | 32,56                        | 34,63   | 33,87  | 9,0   | <0,0001              | 0,3814  | 0,9069 |
| Feno de Coastcross      | 41,38a              | 27,34c | 36,86b | 33,95b                       | 33,75b  | 37,89a | 9,5   | <0,0001              | 0,0399  | 0,2565 |
| Palha de Milho          | 42,87a              | 22,65b | 39,73a | 34,84                        | 34,99   | 35,43  | 25,3  | 0,0003               | 0,9892  | 0,8956 |
| Silagem de Milho        | 29,14a              | 14,29b | 25,81a | 22,19                        | 22,38   | 24,66  | 24,6  | 0,0001               | 0,6051  | 0,7871 |
| Capim Elefante 50 dias  | 37,70a              | 22,51b | 34,63a | 27,97b                       | 32,45ab | 34,42a | 16,5  | <0,0001              | 0,0476  | 0,6248 |
| Capim Elefante 250 dias | 57,81a              | 44,63b | 52,44a | 47,24b                       | 51,21ab | 56,43a | 9,9   | 0,0005               | 0,0101  | 0,5594 |
| Fezes BC                | 65,19a              | 46,18b | 58,57a | 51,57b                       | 54,23b  | 64,13a | 10,4  | <0,0001              | 0,0012  | 0,9370 |
| Fezes AC <sup>3</sup>   | -                   | -      | -      | -                            | -       | -      | 5,4   | <0,0001              | <0,0001 | 0,0149 |

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras diferentes, dentro dos fatores tecido e tamanho de partículas, são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ( $P < 0,05$ ). <sup>2</sup> T = efeito do tecido; P = efeito do tamanho de partículas; T x P = interação entre tecido e tamanho de partículas. <sup>3</sup> Ver desdobramento de interação na Tabela 5.

Tabela 3 - Médias e coeficientes de variação dos teores de fibra em detergente neutro indigestível (% da matéria seca) para amostras processadas em diferentes tamanhos de partículas, obtidos com sacos confeccionados com diferentes tecidos

| Material                | Tecido <sup>1</sup> |        |        | Partículas (mm) <sup>1</sup> |         |        | CV(%) | Valor-P <sup>2</sup> |         |        |
|-------------------------|---------------------|--------|--------|------------------------------|---------|--------|-------|----------------------|---------|--------|
|                         | F57                 | Nylon  | TNT    | 1                            | 2       | 3      |       | T                    | P       | TxP    |
| Sorgo Grão              | 2,90a               | 0,55b  | 2,56a  | 1,88                         | 2,13    | -      | 45,7  | 0,0016               | 0,5731  | 0,9490 |
| Glúten                  | 1,61a               | 0,18b  | 1,36a  | -                            | -       | -      | 37,5  | 0,0093               | -       | -      |
| Polpa Cítrica           | 4,58a               | 2,01b  | 4,08a  | 3,48                         | 3,64    | -      | 11,1  | <0,0001              | 0,4362  | 0,3937 |
| Farelo de Algodão       | 14,02a              | 10,57b | 14,51a | 12,76                        | 13,31   | -      | 11,2  | 0,0010               | 0,4362  | 0,6737 |
| Farelo de Soja          | 2,04a               | 0,16b  | 1,88a  | 1,15b                        | 1,58a   | -      | 27,3  | <0,0001              | 0,0296  | 0,1215 |
| Farelo de Trigo         | 15,11a              | 11,33b | 14,00a | 12,06b                       | 12,88b  | 15,50a | 7,4   | <0,0001              | <0,0001 | 0,9192 |
| Milho Grão              | 1,70a               | 0,19c  | 1,13b  | 0,97                         | 1,11    | 0,93   | 24,5  | <0,0001              | 0,2558  | 0,4319 |
| Casca de Soja           | 5,40a               | 2,74b  | 5,04a  | 3,67                         | 4,70    | 4,81   | 26,0  | 0,0004               | 0,1019  | 0,7215 |
| Feno de Braquiária      | 48,65a              | 30,91b | 44,07a | 35,00b                       | 39,88b  | 48,75a | 14,2  | <0,0001              | 0,0008  | 0,9173 |
| Cana de Açúcar          | 33,06a              | 24,56b | 30,34a | 27,27b                       | 30,25ab | 30,44a | 7,8   | <0,0001              | 0,0254  | 0,7082 |
| Feno de Coastcross      | 35,48a              | 23,49b | 31,99a | 29,34                        | 28,91   | 32,71  | 10,8  | <0,0001              | 0,0693  | 0,1711 |
| Palha de Milho          | 37,14a              | 17,04b | 34,46a | 28,16                        | 30,70   | 29,77  | 26,7  | 0,0002               | 0,8120  | 0,8809 |
| Silagem de Milho        | 23,27a              | 10,34b | 21,92a | 17,38                        | 17,67   | 20,48  | 29,2  | 0,0009               | 0,4801  | 0,8505 |
| Capim Elefante 50 dias  | 28,42a              | 17,38b | 29,38a | 21,06b                       | 25,80ab | 28,32a | 18,7  | <0,0001              | 0,0133  | 0,4742 |
| Capim Elefante 250 dias | 51,85a              | 40,40b | 47,91a | 42,05b                       | 45,95ab | 52,16a | 10,9  | 0,0016               | 0,0047  | 0,5996 |
| Fezes BC                | 53,22a              | 36,82b | 49,61a | 41,25b                       | 44,47b  | 53,94a | 11,8  | <0,0001              | 0,0006  | 0,7465 |
| Fezes AC <sup>3</sup>   | -                   | -      | -      | -                            | -       | -      | 5,7   | <0,0001              | <0,0001 | 0,0321 |

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras diferentes, dentro dos fatores tecido e tamanho de partículas, são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ( $P < 0,05$ ). <sup>2</sup> T = efeito do tecido; P = efeito do tamanho de partículas; T x P = interação entre tecido e tamanho de partículas. <sup>3</sup> Ver desdobramento de interação na Tabela 5.

Tabela 4 - Médias e coeficientes de variação dos teores de fibra em detergente ácido indigestível (% da matéria seca) para amostras processadas em diferentes tamanhos de partículas, obtidos com sacos confeccionados com diferentes tecidos

| Material                | Tecido <sup>1</sup> |       |       | Partículas (mm) <sup>1</sup> |        |        | CV(%) | Valor-P <sup>2</sup> |         |        |
|-------------------------|---------------------|-------|-------|------------------------------|--------|--------|-------|----------------------|---------|--------|
|                         | F57                 | Nylon | TNT   | 1                            | 2      | 3      |       | T                    | P       | TxP    |
| Sorgo Grão              | 1,63                | -     | 1,46  | 1,55                         | 1,55   | -      | 54,2  | 0,7317               | 0,9973  | 0,9813 |
| Glúten                  | 0,83                | -     | 0,61  | -                            | -      | -      | 33,4  | 0,3387               | -       | -      |
| Polpa Cítrica           | 3,28                | -     | 3,00  | 3,05                         | 3,24   | -      | 12,9  | 0,2623               | 0,4433  | 0,1293 |
| Farelo de Algodão       | 10,49               | -     | 10,43 | 10,36                        | 10,57  | -      | 11,1  | 0,9326               | 0,7631  | 0,7963 |
| Farelo de Soja          | 1,40                | -     | 1,18  | 1,04b                        | 1,54a  | -      | 29,1  | 0,3323               | 0,0497  | 0,2874 |
| Farelo de Trigo         | 7,92                | -     | 7,52  | 7,10b                        | 7,34b  | 8,71a  | 4,6   | 0,0516               | <0,0001 | 0,9682 |
| Milho Grão              | 0,71a               | -     | 0,38b | 0,45b                        | 0,63a  | 0,56a  | 17,3  | 0,0001               | 0,0499  | 0,0527 |
| Casca de soja           | 3,30                | -     | 3,15  | 2,90                         | 3,06   | 3,71   | 19,5  | 0,6301               | 0,1032  | 0,5354 |
| Feno de Braquiária      | 31,12               | -     | 28,27 | 24,75b                       | 28,49b | 35,84a | 14,0  | 0,1858               | 0,0035  | 0,9904 |
| Cana de Açúcar          | 20,21               | -     | 19,54 | 19,44                        | 19,99  | 20,19  | 11,9  | 0,5752               | 0,8556  | 0,6958 |
| Feno de Coastcross      | 16,90               | -     | 15,09 | 16,00                        | 14,72  | 17,26  | 15,8  | 0,1531               | 0,2569  | 0,7267 |
| Palha de Milho          | 20,94               | -     | 19,85 | 20,58                        | 20,63  | 19,97  | 27,2  | 0,6866               | 0,9743  | 0,4485 |
| Silagem de Milho        | 13,28               | -     | 12,38 | 11,96                        | 11,82  | 14,71  | 31,5  | 0,6776               | 0,4514  | 0,6583 |
| Capim Elefante 50 dias  | 17,52               | -     | 17,71 | 14,96                        | 18,54  | 19,35  | 22,2  | 0,9171               | 0,1591  | 0,4607 |
| Capim Elefante 250 dias | 35,71               | -     | 33,00 | 31,27                        | 33,84  | 37,94  | 12,6  | 0,2514               | 0,0836  | 0,7532 |
| Fezes BC                | 33,23               | -     | 30,60 | 27,59b                       | 29,97b | 38,20a | 10,0  | 0,1050               | 0,0002  | 0,2277 |
| Fezes AC                | 20,14               | -     | 18,98 | 16,34b                       | 21,64a | 20,72a | 7,4   | 0,1474               | 0,0003  | 0,8233 |

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras diferentes, dentro dos fatores tecido e tamanho de partículas, são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer (P<0,05). <sup>2</sup> T = efeito do tecido; P = efeito do tamanho de partículas; T x P = interação entre tecido e tamanho de partículas.

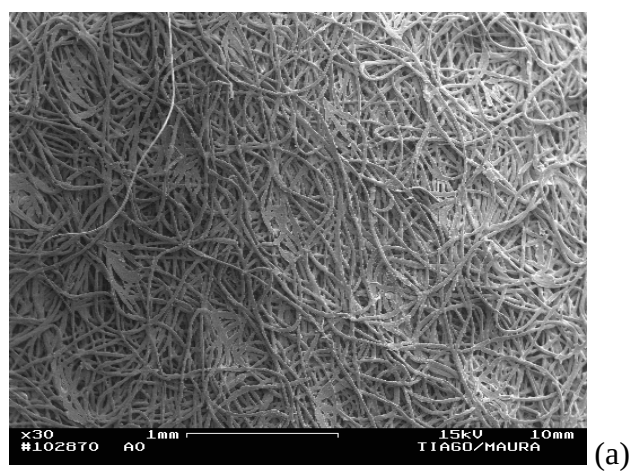
O nylon, devido à disposição geométrica regular dos feixes de sua estrutura (Figuras 1 e 2), permite a saída de partículas fibrosas em avaliações laboratoriais da FDN (Valente et al., 2010). Este comportamento pode ser ampliado quando amostras são incubadas *in situ* durante longos períodos (Casali et al., 2009), levando à subestimação da concentração de indicadores. Desta forma, estas características conduzem à não recomendação do nylon para avaliação *in situ* de componentes indigestíveis.

Tabela 5 - Desdobramento do efeito de interação entre tecido e tamanho de partículas para os teores de matéria seca indigestível e fibra em detergente neutro indigestível em amostras de fezes obtidas de bovino alimentado com alto nível de concentrado

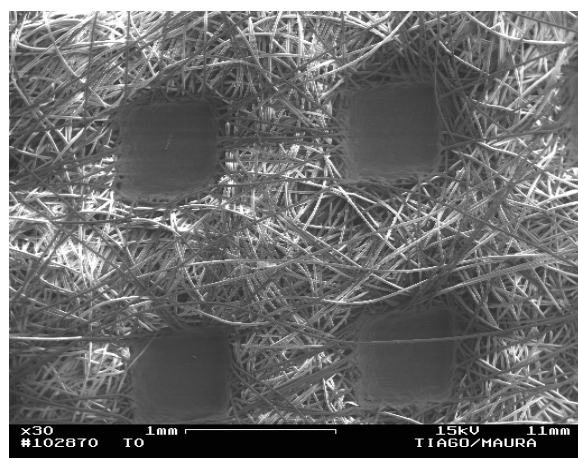
| Partículas (mm) <sup>1</sup>                                | Tecido <sup>1</sup> |          |         |
|-------------------------------------------------------------|---------------------|----------|---------|
|                                                             | F57                 | Nylon    | TNT     |
| Matéria seca indigestível (% da matéria seca)               |                     |          |         |
| 1                                                           | 43,67Ba             | 21,77Bc  | 35,67Bb |
| 2                                                           | 54,37Aa             | 25,95ABb | 50,37Aa |
| 3                                                           | 56,02Aa             | 31,94Ab  | 49,08Aa |
| Fibra em detergente neutro indigestível (% da matéria seca) |                     |          |         |
| 1                                                           | 30,83Ba             | 16,45Bb  | 30,38Ba |
| 2                                                           | 40,51Aa             | 19,82ABb | 38,16Aa |
| 3                                                           | 40,17Aa             | 24,96Ab  | 36,42Aa |

<sup>1</sup> Médias nas linhas, seguidas por letras maiúsculas diferentes, e na coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, para cada indicador, são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer (P<0,05).

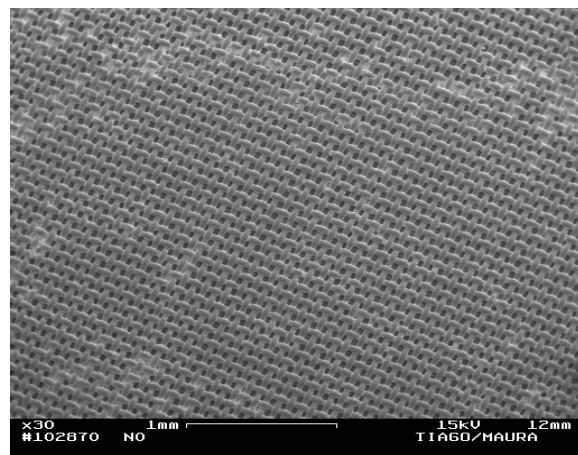
A estrutura superficial dos tecidos F57 (Figura 3) e TNT (Figura 4) são similares, com arranjo geométrico irregular dado pela sobreposição de fibras em esquema não-tecido, o que parece atribuir porosidade inferior ao nylon (Figura 2). Contudo, a superfície do TNT não apresenta poros em sua totalidade, uma vez que parte da superfície é vedada por calor durante o processo de fabricação do tecido (Figura 1), o que reduziria sua superfície porosa por unidade de área. No entanto, este fato parece não impedir o influxo de microrganismos para dentro dos tecidos, como também o efluxo de material solúvel, o que é completamente desejável (Nozière & Michalet-Doreau, 2000), uma vez que estimativas similares da concentração de FDNi e FDAi foram obtidas em comparação ao F57 (Tabelas 3 e 4).



(a)



(b)



(c)

Figura 1 - Fotomicrografias eletrônicas de varredura dos tecidos F57 (a), TNT (b) e nylon (c) (30x).

Por outro lado, por apresentarem menor porosidade em comparação ao nylon, os tecidos TNT e F57 poderiam comprometer a retirada de gases oriundos da fermentação,

limitando a acessibilidade microbiana e, conseqüentemente, reduzindo a degradação (Udén et al., 1974). Desta forma, o acúmulo de gases poderia ser utilizado como argumento para as maiores estimativas de FDNi obtidas (Tabela 3).

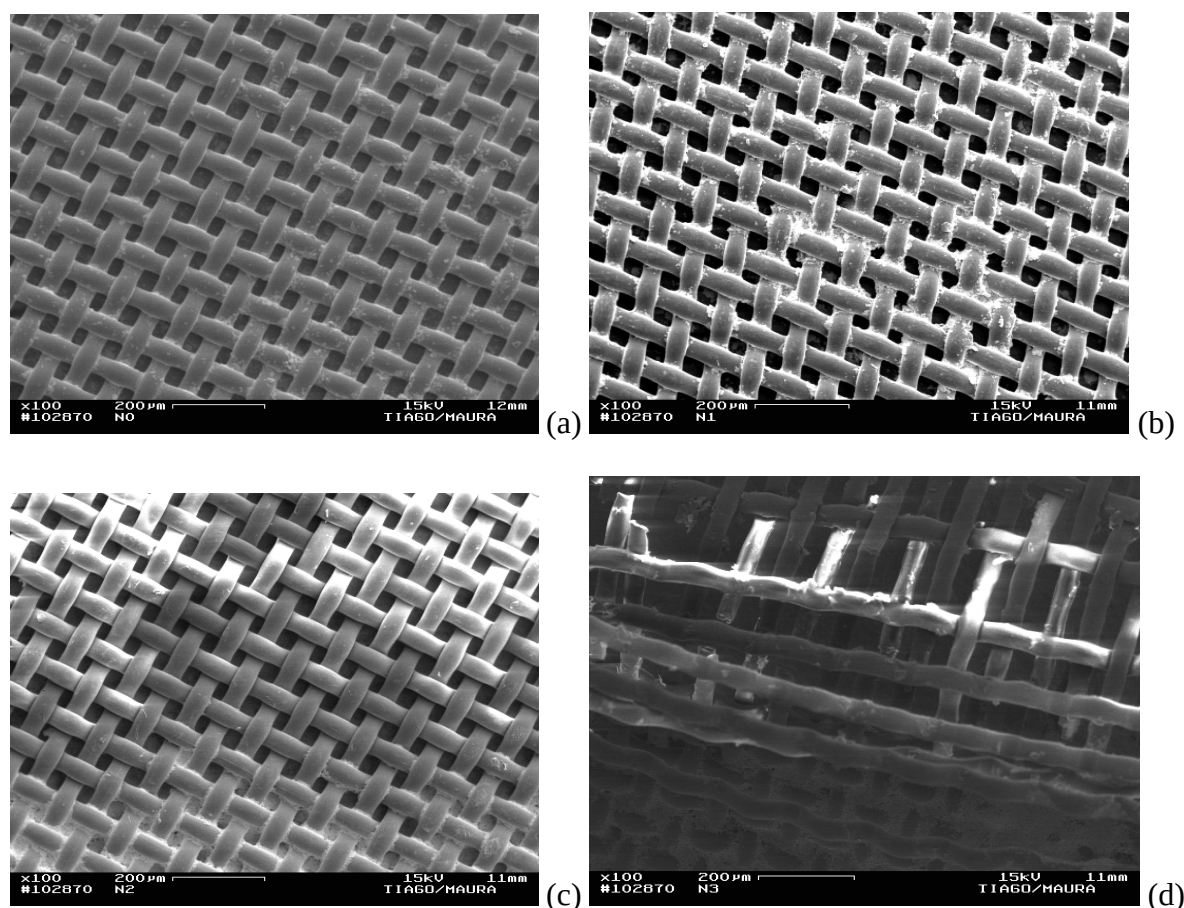


Figura 2 - Fotomicrografias eletrônicas de varredura do tecido nylon (100x) (a – tecido “novo”; b – após incubação ruminal; c – após extração seqüencial com detergente neutro; d – após extração seqüencial com detergente ácido).

No entanto, estas interferências somente podem ser consideradas significativas em tempos curtos de incubação (Lindberg & Knutsson, 1981, citados por Udén & Van Soest, 1984), o que, portanto, não acarretaria subestimação da degradação dos materiais incubados na avaliação de indicadores internos quando longos tempos de incubação são utilizados



(Casali et al., 2009). Assim, mais uma vez se corrobora a perda de partículas propiciada pelo nylon como o principal fator de interferência sobre a exatidão das estimativas.

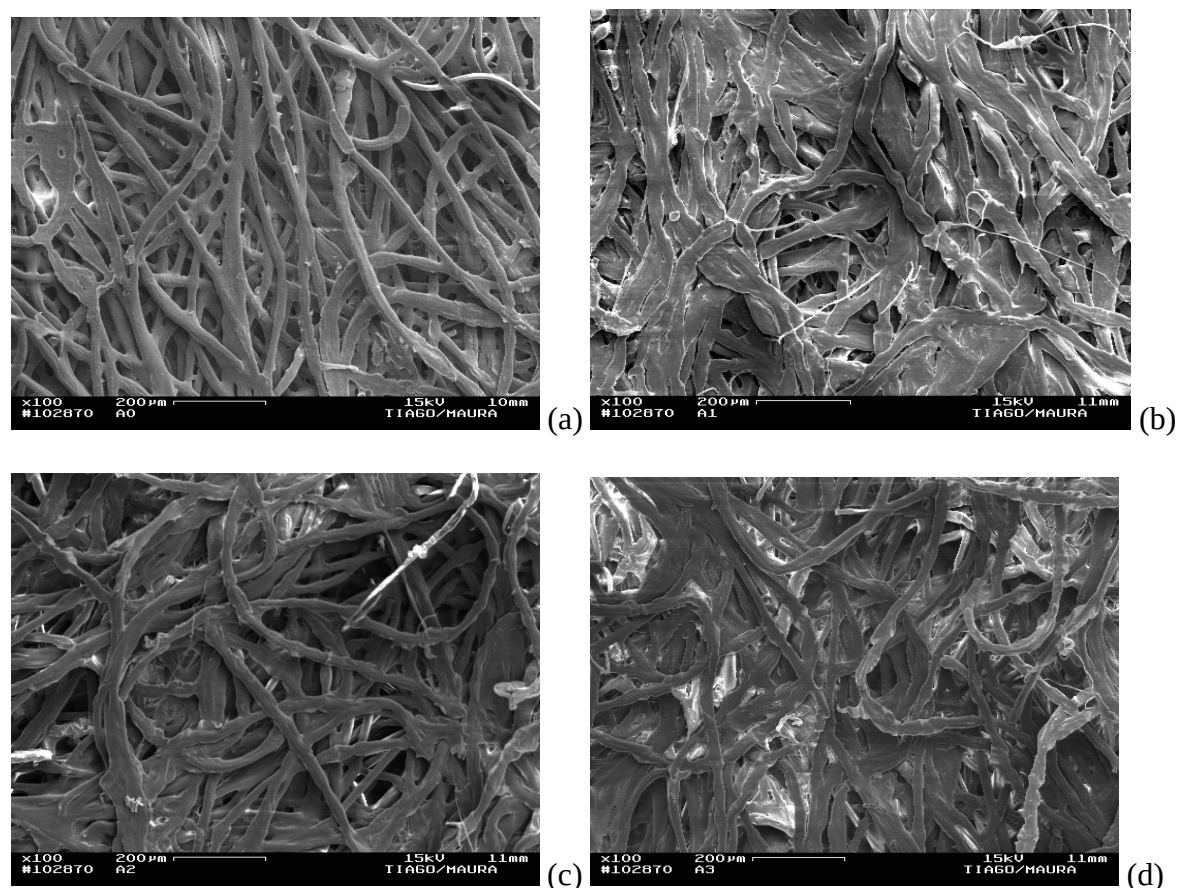


Figura 3 - Fotomicrografias eletrônicas de varredura do tecido F57 (100x) (a – tecido “novo”; b – após incubação ruminal; c – após extração sequencial com detergente neutro; d – após extração sequencial com detergente ácido).

Foram verificados efeitos de tamanho de partículas ( $P < 0,05$ ) sobre oito e seis dos materiais avaliados para FDNi e FDAi, respectivamente (Tabelas 3, 4 e 5). Os resultados relativos à MSi não foram considerados na discussão em virtude do possível efeito de confundimento relativo à presença de contaminantes, como apresentado anteriormente. Em todas as situações, observaram-se maiores estimativas utilizando-se partículas processadas a 3 mm em comparação a 1 mm ( $P < 0,05$ ).

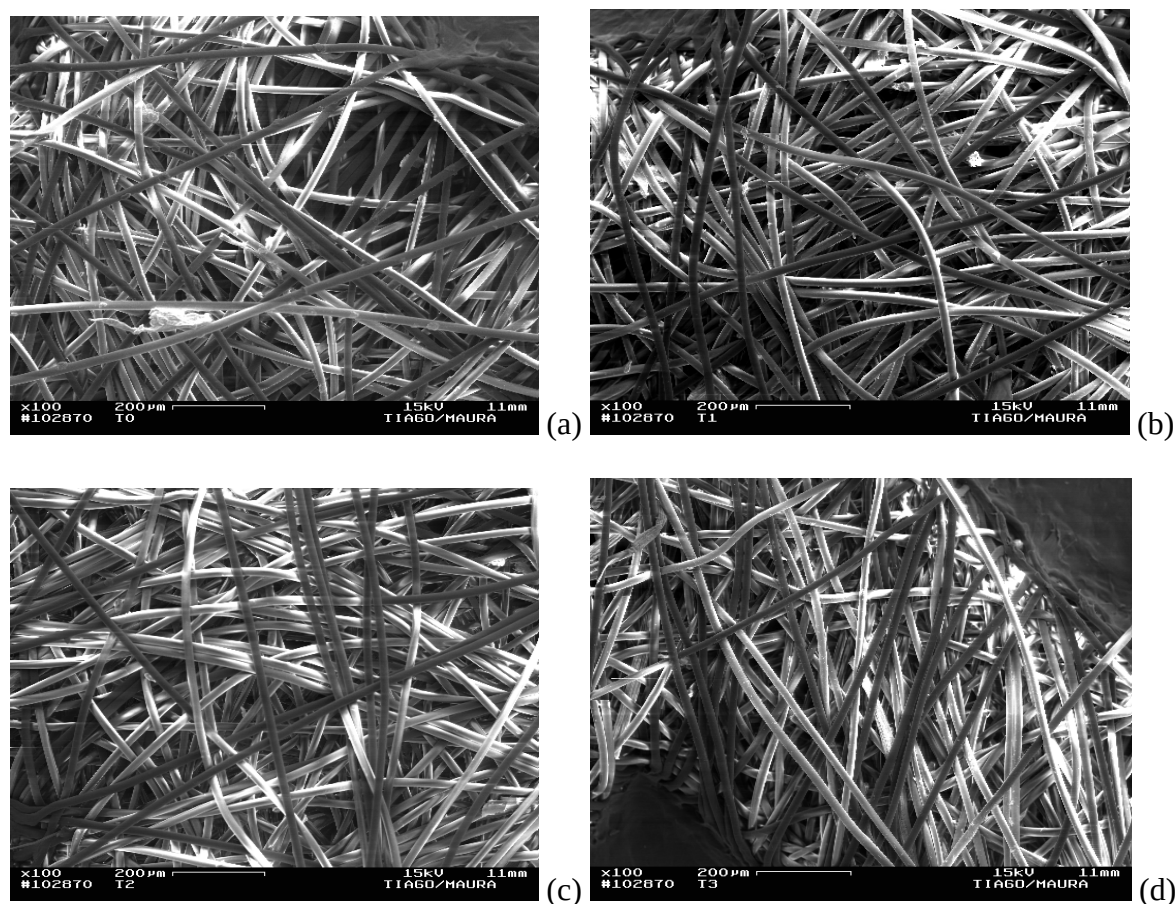


Figura 4 - Fotomicrografias eletrônicas de varredura do tecido TNT (100x) (a – tecido “novo”; b – após incubação ruminal; c – após extração sequencial com detergente neutro; d – após extração sequencial com detergente ácido).

A utilização de partículas processadas a 2 mm propiciou resultados variados, sendo, para a FDN<sub>i</sub>, similares a 1 mm, mas inferiores a 3 mm, para farelo de trigo, feno de braquiária, fezes BC e fezes AC (considerando-se apenas os resultados obtidos com TNT e F57); ou similares a 1 e 3 mm, assumindo posição intermediária na comparação múltipla, para cana-de-açúcar e para o capim-elefante cortado aos 50 e 250 dias de rebrotação (Tabelas 3 e 5). Para a FDA<sub>i</sub>, os resultados obtidos a 2 mm foram similares a 1 mm, mas inferiores a 3 mm, para farelo de trigo, feno de braquiária e fezes BC; ou similares a 3 mm, mas superiores a 1 mm, para milho grão e fezes AC (Tabela 4). Para o farelo de soja observou-se diferença

( $P < 0,05$ ) entre as estimativas obtidas com os dois tamanhos de partículas avaliados (1 e 2 mm), tanto para FDNi, como para FDAi.

A falta de padronização dos procedimentos *in situ* é uma das principais limitações desta técnica (Vanzant et al., 1998; Broderick & Cochran, 2000). Partículas de diferentes tamanhos têm sido incubadas no rúmen (Bowman & Firkins, 1993; Nocek & Kohn, 1988). Moagem a 2 e 5 mm para concentrados e forragens, respectivamente, foi sugerida por Nocek (1988), na tentativa de compensar a ausência de ruminação de alimentos incubados *in situ*. Contudo, tamanhos de partículas elevados podem comprometer a acessibilidade das enzimas microbianas (Nozière & Michalet-Doreau, 2000), sendo os padrões de incubação a 5 mm para forragens não mais recomendados (Hvelplund & Weisbjerg, 2000; NRC, 2001).

Por outro lado, a elevada variabilidade entre materiais no tocante ao efeito de tamanho de partículas parece ser justificado pelo fato de a distribuição real do tamanho de partículas após moagem poder ser diferente para cada material avaliado, tanto para forragens como para concentrados (Nozière & Michalet-Doreau, 2000). Assim, para alguns materiais, a moagem a 1 mm pode gerar partículas de dimensão suficientemente pequena para essas escaparem intactas pelos poros dos tecidos, superestimando a degradação e, conseqüentemente, subestimando a concentração do resíduo.

Ao que tudo indica, a moagem a 2 mm parece propiciar, resguardando-se a heterogeneidade entre materiais, ponto de equilíbrio entre o controle de perda de partículas e a garantia de superfície específica para ação das enzimas microbianas. Este tamanho de partículas constitui recomendação atual para a condução de procedimentos *in situ* de avaliação de alimentos (Vanzant et al., 1998; Nozière & Michalet-Doreau, 2000; NRC, 2001).

Embora as extrações com detergentes demandem partículas de 1 mm para que haja extração eficiente dos materiais solúveis em alimentos, principalmente em meio neutro, esta

exigência parece não interferir sobre a avaliação de resíduos fibrosos obtidos após longo tempo de incubação, uma vez que não se espera concentração significativa de componentes do conteúdo celular no material residual (Valente et al., 2010). Assim, a extração com detergentes neutro e ácido podem ser conduzidas com segurança nos resíduos oriundos de material incubado com 2 mm.

Na avaliação de resistência à tração verificou-se que o tecido F57 não sofreu alterações, observando-se valores aproximadamente estáveis após todas as etapas analíticas (Tabela 6). Isto é corroborado pela inspeção visual da superfície do tecido, que se mostrou estável após todas as etapas de avaliação (Figura 3).

Tabela 6 - Resistência à tração (kgf) dos sacos confeccionados com diferentes tecidos de acordo com a situação experimental

| Situação Experimental <sup>1</sup> | Tecido |       |       |
|------------------------------------|--------|-------|-------|
|                                    | F57    | TNT   | Nylon |
| A                                  | 30,16  | 35,26 | 24,57 |
| B                                  | 31,47  | 27,38 | 22,36 |
| C                                  | 32,38  | 29,50 | 19,39 |
| D                                  | 31,72  | 28,02 | 7,89  |

<sup>1</sup> A = tecido “novo”; B = após incubação ruminal; C = após incubação ruminal e extração com detergente neutro; e D = após incubação ruminal e extração seqüencial com detergentes neutro e ácido.

Por outro lado, o TNT apresentou queda na resistência à tração após o procedimento de incubação, mantendo-se numericamente estável durante os procedimentos de extração com detergentes (Tabela 6). Quando tecidos são incubados no rúmen durante longos períodos, mesmo que visualmente não se perceba nenhuma alteração em sua estrutura física (como verificado neste estudo; Figura 4), os sacos podem sofrer diminuição de sua resistência, porque a todo o momento o rúmen tem movimentos de tração devido às contrações ruminais (Van Soest, 1994). O comportamento verificado para o TNT indica que este tecido apresenta-se inerte ou inalterado no tocante a extrações químicas com detergentes, mas é sensível ao excesso de tensão física causada pelo longo tempo de incubação ruminal. Esta queda de

resistência durante a incubação no rúmen parece não conduzir a perdas significativas de partículas, uma vez que propiciou resultados similares ao F57 (Tabelas 3 e 4). Contudo, isto parece indicar que a re-utilização do tecido em um segundo procedimento de incubação poderia levar ao aumento significativo na probabilidade de ruptura dos sacos, o que possivelmente não seria observado com o F57.

O nylon apresentou menor resistência em comparação aos demais tecidos e sofreu quedas na tensão de ruptura a cada procedimento avaliado (Tabela 6). Isto indica que este tecido, além de maior fragilidade, mostra-se sensível a intempéries físicas, químicas e biológicas, ampliando a probabilidade de rompimento durante os procedimentos analíticos. Esta queda gradativa na resistência culminou com a observação de ruptura das fibras (Figura 2) e a perda de todos os sacos durante a extração com detergente ácido (Tabela 7). Resultados similares foram encontrados por Senger et al. (2008), que afirmaram que pelo fato do nylon ser constituído por poliamidas, o rompimento se deve à não resistência do tecido quando somados a ação do calor e da solução de detergente ácido. Isto poderia comprometer e exatidão das estimativas e ampliar o labor dos procedimentos laboratoriais subseqüentes, haja vista a necessidade de se retirar a amostra do saco para a análise de resíduos insolúveis em detergente ácido.

Ressalta-se que a perda de sacos confeccionados com F57 e TNT foi pequena durante os procedimentos e considerada casual, ou seja, sem nenhuma causa sistemática aparente (Tabela 7).

Tabela 7 - Perda acumulativa de sacos após os procedimentos seqüenciais para obtenção das concentrações dos indicadores

| Item           | Incubação Ruminal |       |     | Extração Detergente Neutro |       |     | Extração Detergente Ácido |       |     |
|----------------|-------------------|-------|-----|----------------------------|-------|-----|---------------------------|-------|-----|
|                | F57               | Nylon | TNT | F57                        | Nylon | TNT | F57                       | Nylon | TNT |
| Sacos perdidos | 3                 | 4     | 1   | 3                          | 11    | 2   | 3                         | 135   | 3   |
| % de perda     | 2,2               | 3,0   | 0,7 | 2,2                        | 8,2   | 1,5 | 2,2                       | 100,0 | 2,2 |

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que o TNT (100 g/m<sup>2</sup>) pode constituir alternativa de menor custo ao F57 em estudos para quantificação de compostos fibrosos indigestíveis em alimentos. Segundo Casali et al. (2009), o TNT e o F57 apresentam, em geral, estimativas com níveis similares de exatidão e precisão, sendo que o baixo custo do TNT (US\$ 0,02/saco) o coloca em posição economicamente vantajosa em relação ao F57 (US\$ 2,00/saco), mesmo podendo haver reaproveitamento deste último em um segundo procedimento de avaliação.

### Conclusões

Os tecidos F57 (Ankom®) e tecido não-tecido (100 g/m<sup>2</sup>) propiciam estimativas similares dos teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas. O tecido nylon (50 µm) subestima a concentração de compostos indigestíveis, pois propicia perda de partículas devido à sua porosidade e baixa resistência física. Sugere-se a moagem de amostras em peneiras com porosidade de 2 mm para procedimentos *in situ* de avaliação de compostos indigestíveis.

### Literatura Citada

- BOWMAN, J.G.P.; FIRKINS, J.L. Effects of forage species and particle size on bacterial cellulolytic activity and colonization *in situ*. **Journal of Animal Science**, v.71, p.1623-1633, 1993.
- BRODERICK, G.A.; COCHRAN, R.C. *In vitro* and *in situ* methods for estimating digestibility with reference to protein degradability. In: THEODOROU, M.K.; FRANCE, J. (Eds.). **Feeding systems and feed evaluation models**. Wallingford: CAB International, 2000. p.53-85.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.335-342, 2008.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.130-138, 2009.

- CLIPES, R.C.; DETMANN, E.; COELHO DA SILVA, J.F. et al. Evaluation of acid detergent insoluble protein as an estimator of rumen non-degradable protein in tropical grass forages. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.694-697, 2006.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1600-1609, 2001.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Avaliação da técnica dos indicadores na estimação do consumo por ruminantes em pastejo. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, v.46, p.40-57, 2004.
- DETMANN, E.; SOUZA, A.L.; GARCIA, R. et al. Avaliação do vício de “tempo longo” de indicadores internos em ensaio de digestão com ruminantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, p.182-188, 2007.
- FREITAS, D.; BERCHIELLI, T.T.; SILVEIRA, R.N. et al. Produção fecal e fluxo duodenal de matéria seca e matéria orgânica estimados através de indicadores. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.1521-1530, 2002.
- GOERING, H.K.; Van SOEST, P.J. **Forage fiber analyses** (apparatus, reagents, procedures and some applications). Washington, DC: USDA-ARS, 1975. 20p. (Agriculture Handbook 379)
- HUHTANEN, P.; KAUSTELL, K.; JAAKKOLA, S. The use of internal marks to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.48, p.211-227, 1994.
- HVELPLUND, T.; WEISBJERG, M.R. *In situ* techniques for the estimation of protein degradability and post rumen availability In: GIVENS, D.I.; OWEN, E.; AXFORD, R.F.E. et al. (Eds.) **Forage evaluation in ruminant nutrition**. London: CAB International, 2000. p.233-258.
- LITTELL, R.C.; FREUND, R.J.; SPECTOR, P.C. **SAS system for linear models**. Cary: SAS Institute Inc., 1991. 329p.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- NOCEK, J.E. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2051-2069, 1988.
- NOCEK, J.E.; KOHN, R.A. *In situ* particle size reduction of alfafa and timothy hay as influence by form and particle size. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.932-945, 1988.
- NOZIÈRE, P.; MICHALET-DOREAU, B. *In sacco* methods. In: D’MELLO, J.P.F. (Ed.) **Farm animal metabolism and nutrition**. London: CAB International, 2000. p.233-253.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Washington, DC: Academic Press, 2001. 381p.
- 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, p.2605-2617, 1992.
- PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1063-1073, 1993.

- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; VALENTE, T.N.P. et al. Recuperação fecal e vício de tempo longo de indicadores internos e externos em ensaio de digestão com bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2010 (no prelo).
- SENGER, C.C.D.; KOZLOSKI, G.V.; SANCHEZ, L.M. B. et al., Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v.146, p.169-174, 2008.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos**. Métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235p.
- SILVEIRA, M. Preparo de amostras biológicas para microscopia eletrônica de varredura. In: SOUZA, W. (Ed.) **Técnicas básicas de microscopia eletrônica aplicadas às ciências biológicas**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica, 1998. p.33-44.
- UDÉN, P.; PARRA, R.; Van SOEST, P.J. Factors influencing reliability of the nylon bag technique. **Journal of Dairy Science**, v.57, p.622-622, 1974.
- UDÉN, P.; Van SOEST, P.J. Investigation of the *in situ* bag technique and a comparison of the fermentation in heifers, sheep, ponies and rabbits. **Journal of Animal Science**, v.58, p.213-221, 1984.
- VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Avaliação dos teores de fibra em detergente neutro em forragens, concentrados e fezes bovinas moídas em diferentes tamanhos e em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2010 (submetido).
- Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VANZANT, E.S.; COCHRAN, C.; TITGEMEYER, E.C. Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2717-2729, 1998.



## **Avaliação dos perfis de degradação ruminal de volumosos utilizando sacos confeccionados por diferentes tecidos<sup>1</sup>**

**RESUMO** – Objetivou-se avaliar o perfil de degradação ruminal da matéria seca (MS) e da fibra em detergente neutro (FDN) de diferentes alimentos volumosos, utilizando-se sacos confeccionados com os tecidos nylon (50 µm), F57 (Ankom®) e tecido não-tecido (TNT – 100 g/m<sup>2</sup>) em procedimento de avaliação *in situ*. Foram utilizadas oito amostras de alimentos volumosos: cana-de-açúcar, silagem de milho, capim elefante cortado aos 50 e 250 dias de rebrotação, palha de milho, feno de capim braquiária, feno de capim coastcross e alfafa. Foram avaliados os seguintes tempos de incubação: 0, 3, 6, 12, 18, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240 e 312 horas. Utilizaram-se dois sacos de cada tecido para cada tempo de incubação, totalizando 768 sacos. Foram utilizados dois novilhos Holandês x Zebu, fistulados no rúmen. Observou-se diferença para todos os alimentos, com exceção da cana-de-açúcar para as estimativas da taxa fracional conjunta de latência e degradação ( $\lambda$ ) para os perfis de degradação ruminal da MS. De forma geral, maiores estimativas de  $\lambda$  foram obtidas com o nylon, seguidos pelos tecidos TNT e F57. Avaliando-se o parâmetro  $\lambda$  para os perfis de degradação ruminal da FDN, diferenças entre tecidos foram observadas em todos os alimentos, com maiores estimativas obtidas com o nylon. Perfis de degradação ruminal da MS e da FDN não devem ser avaliados utilizando-se os tecidos F57 e TNT, pois estes subestimam a taxa de degradação devido a limitações quanto à troca de material com o ambiente ruminal.

**Palavras-Chave:** F57, incubação *in situ*, nylon, tecido não-tecido

---

<sup>1</sup> Artigo submetido à Revista Brasileira de Zootecnia, sob o protocolo 00052-10.

## **Evaluation of rumen degradation profiles of forages using bags made from different textiles**

**ABSTRACT** – It were evaluated the *in situ* degradation profiles of dry matter (DM) and neutral detergent fiber (NDF) of different forages using bags made from nylon (50  $\mu\text{m}$ ), F57 (Ankom®) and non-woven textile (NWT – 100 g/m<sup>2</sup>). Eight forages samples were used: sugarcane, corn silage, elephant grass cut at 50 and 250 days of regrowth, corn straw, signal grass hay, coastcross hay, and fresh alfafa. The samples were incubated for 0, 3, 6, 12, 18, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240, and 312 hours. Two bag of each textile were used at each incubation time, totalizing 768 bags, using two crossbred Holstein x Zebu steers fitted with ruminal canulae. There was difference in the common rate of lag and degradation ( $\lambda$ ) of DM for all forages, excepting sugarcane. In general, higher  $\lambda$  estimates were obtained using nylon, followed by NWT and F57. Concerning NDF degradation profiles, differences in  $\lambda$  were observed for all forages. Higher estimates were obtained using nylon. Degradation profiles of DM and NDF must be not evaluated using F57 and NWT. These textiles underestimate the degradation rate because there are limitations regarding exchange between bags inside and rumen environment.

**Key words:** F57, *in situ* method, nylon, non-woven textile

## Introdução

A avaliação de parâmetros da digestão em ruminantes é considerada de maior exatidão pela utilização de métodos *in vivo*. Contudo, por questões de custos e bem estar animal, observa-se tendência de redução deste tipo de experimentação, ocasionando aumento no interesse pelos procedimentos *in vitro* ou *in situ* (Broderick & Cochran, 2000). Contudo, entre estas duas técnicas, os procedimentos *in situ* têm sido preferidos (Marinucci et al., 1992; Vanzant et al., 1998), principalmente por serem conduzidos no próprio ambiente ruminal, propiciando degradação mais eficiente quando comparados aos sistemas *in vitro* (Varel & Kreikemeier, 1995). Em adição, sua utilização evita o acúmulo de produtos finais da fermentação que podem afetar a degradação, como ocorre muitas vezes em sistemas *in vitro* (Cherney et al., 1993).

Por outro lado, por intermédio da modelagem matemática dos perfis de degradação dos alimentos *in situ* torna-se possível a estimação de diferentes parâmetros da dinâmica ruminal, incluindo-se, entre outros, a taxa e extensão da degradação, a fração efetivamente degradada e o efeito de repleção ruminal da fração fibrosa (Vieira et al., 1997; Sampaio et al., 2009).

Na aplicação de métodos *in situ*, diferentes tecidos têm sido propostos como recipientes para avaliações no rúmen, destacando-se o nylon (50  $\mu\text{m}$ ), o F57 (Ankom®) e o tecido não-tecido (TNT, 100 g/m<sup>2</sup>). No entanto, diante da possibilidade de utilização de diferentes tecidos para avaliação dos perfis de degradação ruminal dos alimentos, entende-se que conhecimentos a respeito destes tecidos devam ser gerados e estudos sobre os aspectos primários de interferência sobre a exatidão e precisão dos resultados, e aspectos secundários, envolvendo custos e praticidade operacional, devem ser considerados (Casali et al., 2009).

Para que os tecidos utilizados em incubações sejam úteis, é necessário que os sacos tenham porosidade que não permitam a perda de partículas intactas ou não degradadas e, ao mesmo tempo, tenham abertura suficiente que permita o influxo de fluido e microrganismos e o efluxo de produtos finais do processo de degradação, permitindo ação microbiana no interior dos sacos semelhante à encontrada no ambiente ruminal (Nozière & Michalet-Doreau, 2000; Ørskov, 2000). Existem relatos na literatura que permitem evidenciar que o uso de diferentes tecidos pode afetar as estimativas de degradação dos alimentos (Figroid et al., 1972; Van Hellen & Ellis, 1977; Weakley et al., 1983; Huhtanen et al., 1994).

Porém, informações comparativas quanto à eficiência analítica dos tecidos durante procedimentos de incubação *in situ* ainda são escassas (Valente et. al., 2010a), notadamente no tocante a tecidos desenvolvidos mais recentemente, como o TNT e o F57.

Desta forma, objetivou-se avaliar o perfil de degradação ruminal *in situ* da matéria seca e da fibra em detergente neutro de diferentes alimentos volumosos, utilizando-se sacos confeccionados com os tecidos nylon (50 µm), F57 (Ankom®) e tecido não-tecido (TNT – 100 g/m<sup>2</sup>).

### **Material e Métodos**

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

Foram utilizadas amostras de oito alimentos volumosos: cana-de-açúcar *in natura*, silagem de milho, capim elefante *in natura* cortado aos 50 e 250 dias de rebrotação, palha de milho, feno de capim braquiária, feno de capim coastcross e alfafa *in natura*. Todas as amostras foram colhidas no município de Viçosa-MG.

As amostras úmidas foram secas em estufa com ventilação forçada (60°C) e, posteriormente, em conjunto com as demais amostras, processadas em moinho de facas com peneiras com malhas de 1 e 2 mm.

As avaliações químicas das amostras foram feitas com amostras processadas a 1 mm, sendo os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica e proteína bruta avaliados segundo Silva & Queiroz (2002). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) foram avaliados utilizando-se as formulações de detergente recomendadas por Mertens (2002), utilizando-se analisador de fibras (Ankom<sup>220</sup>®). Nas análises de FDN utilizou-se  $\alpha$ -amilase termoestável, omitindo-se o uso de sulfito de sódio. Nenhum procedimento para correção quanto aos compostos nitrogenados e cinzas insolúveis em detergente neutro foi conduzido (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição química dos alimentos

| Alimento                  | Item <sup>1</sup>   |                     |                     |                      |
|---------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
|                           | MS (%) <sup>2</sup> | MO (%) <sup>3</sup> | PB (%) <sup>3</sup> | FDN (%) <sup>3</sup> |
| Cana-de-açúcar            | 22,28               | 96,33               | 2,90                | 60,41                |
| Silagem de milho          | 30,97               | 93,06               | 4,49                | 57,79                |
| Capim elefante (50 dias)  | 13,55               | 92,17               | 9,07                | 74,35                |
| Capim elefante (250 dias) | 22,54               | 93,54               | 7,20                | 85,34                |
| Palha de milho            | 90,43               | 98,50               | 1,88                | 90,80                |
| Feno de capim braquiária  | 90,54               | 96,59               | 3,71                | 86,29                |
| Feno de coastcross        | 89,96               | 94,41               | 11,43               | 83,93                |
| Alfafa                    | 25,31               | 90,70               | 21,96               | 49,50                |

<sup>1</sup> MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro. <sup>2</sup> % da matéria natural. <sup>3</sup> % da matéria seca.

Para avaliação dos perfis de degradação da MS e da FDN foram confeccionados sacos de dimensão 4 x 5 cm com os tecidos nylon (50  $\mu$ m) e tecido não-tecido (TNT - 100 g/m<sup>2</sup>). O material moído (2 mm) foi adicionado nos sacos previamente confeccionados e nos sacos F57 (Ankom®). Utilizou-se a relação de 20 mg de MS/cm<sup>2</sup> de superfície (Nocek, 1988). Em todos os procedimentos experimentais, após o

acondicionamento das amostras, os sacos foram selados por calor. Foram avaliados os seguintes tempos de incubação: 0, 3, 6, 12, 18, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240 e 312 horas. Utilizaram-se dois sacos de cada tecido para cada tempo de incubação e para cada alimento, totalizando 768 sacos.

Foram utilizados dois novilhos Holandês x Zebu, fistulados no rúmen e alimentados com dieta mista (relação volumoso:concentrado de 80:20, com base na MS), sendo um saco de cada material para cada tempo e cada alimento incubado no rúmen de cada animal. Os sacos foram dispostos no rúmen em ordem reversa quanto ao tempo de incubação, de modo que sua retirada ocorresse simultaneamente. Após a retirada do rúmen, os sacos foram lavados com água corrente até total clareamento desta e imediatamente transferidos para estufa de ventilação forçada (60°C), onde foram mantidos por 72 horas. Seqüencialmente, os sacos foram secos em estufa não ventilada (105°C/45 minutos), acondicionados em dessecador (20 sacos/dessecador) e pesados (Detmann et al., 2001) para obtenção da MS não degradada.

Os procedimentos de análise dos teores de FDN foram conduzidos em aparelho analisador de fibras (Ankom<sup>220</sup>®). Ao término do tempo de extração com detergente neutro (100°C/1 hora) os sacos foram lavados seqüencialmente com água quente e acetona, secos e pesados conforme o procedimento descrito anteriormente, obtendo-se os teores de FDN não degradada.

Anteriormente aos procedimentos de incubação os sacos foram lavados com detergente neutro em ebulição, água quente e acetona, secos e pesados, como descrito anteriormente, para que se obtivessem as taras.

As frações degradadas da MS em função do tempo de incubação foram interpretadas para cada tecido e cada alimento por intermédio de modelo logístico não linear, adaptando-se as proposições de Van Milgen et al. (1991):

$$D_t = A + B \times [1 - (1 + \lambda \times t) \times \exp(-\lambda \times t)] \quad (1);$$

em que:  $D_t$  = fração degradada da MS no tempo  $t$  (%);  $A$  = fração solúvel (%);  $B$  = fração insolúvel potencialmente degradável (%); e  $\lambda$  = taxa fracional conjunta de latência e degradação ( $h^{-1}$ ).

De forma similar, os resíduos não degradados da FDN foram submetidos ao ajustamento do modelo logístico não linear descrito por Van Milgen et al. (1991):

$$R_t = B \times (1 + \lambda \times t) \times \exp(-\lambda \times t) + I \quad (2);$$

em que:  $R_t$  = resíduo não degradado de FDN no tempo  $t$  (%);  $B$  = fração potencialmente degradável (%);  $I$  = fração indegradável (%); e  $\lambda$  = taxa fracional conjunta de latência e degradação ( $h^{-1}$ ).

A comparação entre tecidos foi realizada independente para cada volumoso por intermédio da distribuição de  $\chi^2$  segundo o teste de identidade de modelos não-lineares proposto por Regazzi (2003). Os testes foram conduzidos individualmente para cada parâmetro dos modelos descritos pelas Equações (1) e (2). Neste caso, duas avaliações distintas foram conduzidas. No primeiro caso, avaliou-se a diferença entre todos os tecidos. No segundo caso, procedeu-se à comparação entre os tecidos F57 e TNT.

Para avaliação da perda de partículas fibrosas, os resíduos não degradados de FDN foram convertidos em frações degradadas, as quais foram avaliadas por intermédio da recíproca do modelo descrito em (2), a qual corresponde à Equação (1). Neste caso, estimaram-se os limites do intervalo de confiança assintótico ( $1-\alpha = 0,95$ ) para a fração  $A$  (Equação 1). A perda de partículas fibrosas foi considerada não significativa ( $P > 0,05$ ) quando o valor paramétrico 0 (zero) encontrava-se contido no intervalo de confiança gerado.

Os tempos críticos para se atingir a assíntota foram estimados por intermédio da proposição de Casali et al. (2008), sendo obtidos iterativamente quando a fração

degradada da MS e o resíduo não degradado da FDN se tornavam equivalente a (Figura 1):

$$Dc = A + LIB \quad (3);$$

$$Rc = LSB \quad (4);$$

em que: Dc = fração degradada da MS equivalente ao ponto de interseção entre o perfil ajustado e o limite inferior do intervalo de confiança assintótico da fração insolúvel potencialmente degradável da MS somado à fração solúvel (%); A = fração solúvel da MS (%); LIB = limite inferior do intervalo de confiança assintótico ( $1-\alpha = 0,95$ ) da fração insolúvel potencialmente degradável da MS (%); Rc = fração não degradada da FDN equivalente ao ponto de interseção entre o perfil ajustado e o limite superior do intervalo de confiança assintótico da fração potencialmente degradável da FDN (%); e LSB = limite superior do intervalo de confiança assintótico ( $1-\alpha = 0,95$ ) da fração potencialmente degradável da FDN (%).

Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos por intermédio do programa SAS (*Statistical Analysis System*) utilizando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade assintótica para o erro tipo I.

### **Resultados e Discussão**

Avaliando-se comparativamente todos os tecidos, verificou-se diferença na fração solúvel da MS ( $P > 0,05$ ) apenas para a silagem e a palha de milho (Tabela 2), com maiores estimativas obtidas com o nylon (Tabela 3). Em adição, diferenças entre tecidos quanto à fração insolúvel potencialmente degradável da MS foram verificadas ( $P < 0,05$ ) para cana-de-açúcar, feno de capim braquiária e alfafa (Tabela 2); obtendo-se menores estimativas com o uso do F57 (Tabela 3). Para as estimativas do parâmetro  $\lambda$ , observou-se diferença para todos os alimentos ( $P < 0,05$ ), com exceção da cana-de-



açúcar ( $P>0,05$ ). De forma geral, maiores estimativas de  $\lambda$  foram obtidas com o nylon (Tabela 3; Figura 2).

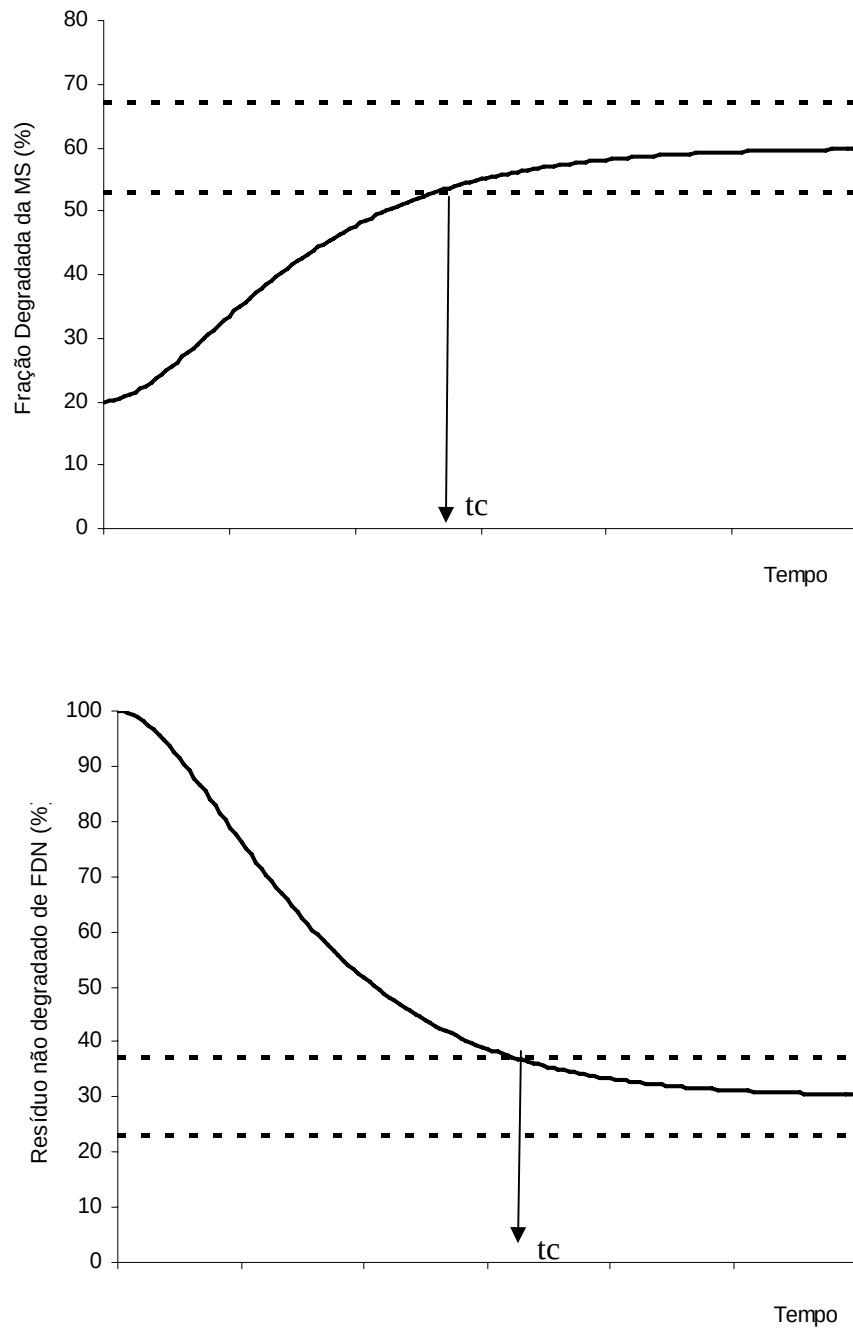


Figura 1 - Exemplo de perfil de degradação ruminal da matéria seca e da fibra em detergente neutro em função do tempo (As linhas tracejadas indicam os limites dos intervalos de confiança assintóticos;  $t_c$  = tempo crítico para se atingir a assíntota com índice de confiança assintótico  $1 - \alpha$ ).

Os tecidos F57 e TNT apresentam estruturas físicas similares, sendo ambos produzidos por processos que não envolvem tecelagem (Casali et al., 2009; Valente et al., 2010a). De forma recente, tem-se proposto o uso do TNT em substituição ao F57 nos processos de análise de fibras em laboratório e na avaliação da concentração de compostos indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos devido ao seu menor custo (Valente et al., 2010a, b). Assim, diante destas perspectivas, processo de comparação envolvendo somente estes dois tecidos foi conduzido.

Tabela 2 - Níveis descritivos de probabilidade para o erro tipo I associado à comparação entre tecidos quanto aos parâmetros da dinâmica de degradação da matéria seca

| Alimento <sup>1</sup>             | Parâmetro Testado <sup>2</sup> |        |           |
|-----------------------------------|--------------------------------|--------|-----------|
|                                   | A                              | B      | $\lambda$ |
| Comparação entre todos os tecidos |                                |        |           |
| CA                                | 0,2377                         | 0,0130 | 0,2526    |
| SM                                | 0,0011                         | 0,4340 | 0,0325    |
| CE50                              | 0,0539                         | 0,0935 | <0,0001   |
| CE250                             | 0,1275                         | 0,1389 | 0,0008    |
| PM                                | 0,0413                         | 0,5772 | 0,0258    |
| FB                                | 0,1209                         | 0,0115 | 0,0019    |
| FC                                | 0,8494                         | 0,3266 | <0,0001   |
| ALF                               | 0,8415                         | 0,0018 | <0,0001   |
| Comparação entre TNT e F57        |                                |        |           |
| CA                                | 0,5174                         | 0,0210 | 0,6969    |
| SM                                | 0,5114                         | 0,2199 | 0,2896    |
| CE50                              | 0,0273                         | 0,5846 | 0,3623    |
| CE250                             | 0,1945                         | 0,0406 | 0,2022    |
| PM                                | 0,5421                         | 0,3218 | 0,2137    |
| FB                                | 0,1346                         | 0,1358 | >0,9999   |
| FC                                | 0,7007                         | 0,3890 | 0,0010    |
| ALF                               | 0,8963                         | 0,0187 | 0,0039    |

<sup>1</sup> CA = cana de açúcar *in natura*; SM = silagem de milho; CE50 = capim elefante *in natura* cortado aos 50 dias de rebrotação; CE250 = capim elefante *in natura* cortado aos 250 dias de rebrotação; PM = palha de milho; FB = feno de capim braquiária; FC = feno de capim coastcross e ALF = alfafa *in natura*. <sup>2</sup> A = fração solúvel (%); B = fração insolúvel potencialmente degradável;  $\lambda$  = taxa comum de latência e degradação ( $h^{-1}$ ).

Diferença entre os tecidos F57 e TNT quanto à fração solúvel da MS foi observada ( $P<0,05$ ) somente para o capim elefante com 50 dias de rebrotação (Tabela 2), com maior estimativa verificada para o TNT (Tabela 3). Maiores estimativas da fração insolúvel potencialmente degradável ( $P<0,05$ ) foram verificadas com o uso do TNT para a cana-de-açúcar, capim elefante com 250 dias de rebrotação e alfafa (Tabela 3). Quanto ao parâmetro  $\lambda$ , menores estimativas ( $P<0,05$ ) foram verificadas com o uso do F57 para o feno de coastcross e para a alfafa, não havendo diferença ( $P>0,05$ ) para os demais alimentos (Tabela 3).

Tabela 3 - Parâmetros de degradação da matéria seca para os diferentes alimentos

| Item <sup>2</sup> | Alimento <sup>1</sup> |        |        |        |        |        |        |        |
|-------------------|-----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                   | CA                    | SM     | CE50   | CE250  | PM     | FB     | FC     | ALF    |
| Nylon             |                       |        |        |        |        |        |        |        |
| A                 | 22,55                 | 33,92  | 16,37  | 13,33  | 13,53  | 14,42  | 11,25  | 26,76  |
| B                 | 41,26                 | 51,68  | 56,95  | 35,54  | 68,23  | 51,70  | 58,22  | 39,17  |
| $\lambda$         | 0,0392                | 0,0284 | 0,0520 | 0,0296 | 0,0223 | 0,0323 | 0,0575 | 0,1187 |
| DPA               | 3,70                  | 4,76   | 4,01   | 3,41   | 8,15   | 3,73   | 2,71   | 1,78   |
| LIB               | 37,90                 | 47,19  | 53,19  | 32,37  | 59,64  | 48,28  | 55,63  | 36,23  |
| tc                | 105,8                 | 143,2  | 84,7   | 136,2  | 161,4  | 136,3  | 84,9   | 35,9   |
| F57               |                       |        |        |        |        |        |        |        |
| A                 | 18,97                 | 24,86  | 13,51  | 10,46  | 6,14   | 10,48  | 10,33  | 25,85  |
| B                 | 34,53                 | 48,14  | 50,33  | 32,16  | 66,28  | 41,39  | 54,40  | 31,47  |
| $\lambda$         | 0,0316                | 0,0173 | 0,0210 | 0,0164 | 0,0134 | 0,0196 | 0,0190 | 0,0581 |
| DPA               | 3,96                  | 5,06   | 4,22   | 2,12   | 5,32   | 3,58   | 3,57   | 3,46   |
| LIB               | 30,89                 | 41,41  | 45,67  | 29,14  | 56,14  | 37,20  | 50,10  | 28,15  |
| tc                | 121,0                 | 200,2  | 189,8  | 242,0  | 249,8  | 197,6  | 220,2  | 65,8   |
| TNT               |                       |        |        |        |        |        |        |        |
| A                 | 20,33                 | 26,49  | 18,63  | 12,13  | 7,64   | 13,62  | 10,99  | 25,56  |
| B                 | 40,55                 | 54,26  | 52,22  | 37,99  | 73,18  | 47,13  | 56,78  | 37,04  |
| $\lambda$         | 0,0291                | 0,0215 | 0,0242 | 0,0200 | 0,0164 | 0,0197 | 0,0277 | 0,0952 |
| DPA               | 4,30                  | 6,07   | 7,69   | 3,55   | 6,44   | 5,50   | 3,96   | 3,39   |
| LIB               | 36,53                 | 47,42  | 46,76  | 33,91  | 64,00  | 40,73  | 53,03  | 33,43  |
| tc                | 134,0                 | 167,3  | 158,4  | 190,0  | 219,7  | 177,7  | 161,2  | 40,9   |

<sup>1</sup> CA = cana de açúcar *in natura*; SM = silagem de milho; CE50 = capim elefante *in natura* cortado aos 50 dias de rebrotação; CE250 = capim elefante *in natura* cortado aos 250 dias de rebrotação; PM = palha de milho; FB = feno de capim braquiária; FC = feno de capim coastcross e ALF = alfafa *in natura*. <sup>2</sup>A = fração solúvel (%); B = fração insolúvel potencialmente degradável;  $\lambda$  = taxa comum de latência e degradação ( $h^{-1}$ ); DPA = desvio-padrão assintótico; LIB = limite inferior do intervalo de confiança assintótico de B ( $1-\alpha = 0,95$ ); tc = tempo crítico para se alcançar a assíntota ( $P>0,05$ ).

Os resíduos não degradados de MS podem apresentar variabilidades inerentes ao processo, mas não associadas à degradação ruminal em si. Estas se manifestam por falhas na padronização no processo de lavagem (Cherney et. al., 1990; Vanzant, et al., 1998) ou pela presença de contaminantes microbianos (Huhtanen et al., 1994; Casali et al., 2009) que podem ocorrer de forma diferenciada entre duplicatas (Sampaio et al., 2010). Assim, a comparação entre perfis de degradação da MS obtidos por diferentes tecidos pode apresentar precisão reduzida em função de fatores externos. Contudo, na avaliação dos perfis de degradação da FDN espera-se que estes fatores sejam eliminados, uma vez que a extração com detergente aniônico é capaz de eliminar os resíduos contaminantes, como debris microbianos (Van Soest, 1994). Logo, melhor entendimento dos efeitos do uso de diferentes tecidos para avaliação da degradação ruminal da MS pode ser obtido avaliando-se concomitantemente os perfis de degradação da FDN.

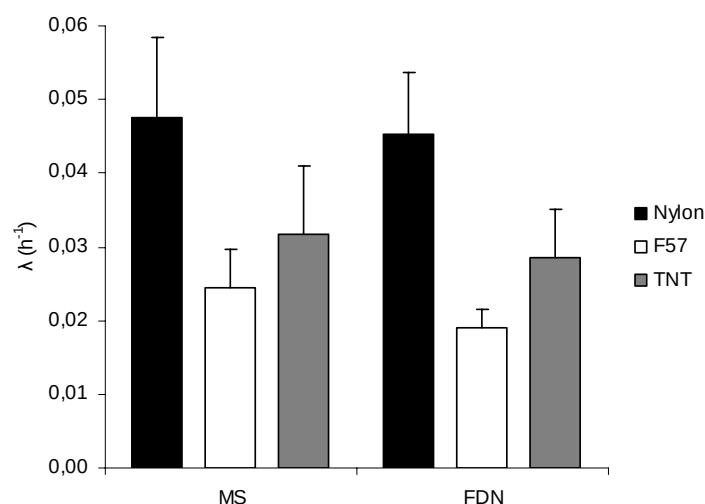


Figura 2 - Estimativas médias da taxa comum de latência e degradação ( $\lambda$ ) da matéria seca (MS) e da fibra em detergente neutro (FDN) em função dos diferentes tecidos.

Considerando-se todos os tecidos, diferenças quanto à fração B da FDN (fração potencialmente degradável) foram observadas ( $P < 0,05$ ) para a cana-de-açúcar, para o capim-elefante cortado aos 50 dias de rebrotação e para a alfafa (Tabela 4), com maiores estimativas obtidas com o nylon (Tabela 5). No tocante à fração I da FDN (fração indegradável), observou-se diferença entre tecidos ( $P < 0,05$ ) para os mesmos alimentos citados anteriormente, acrescentando-se a feno de capim braquiária e o feno de coastcross (Tabela 4). Em todos estes, menores estimativas foram verificadas para o nylon (Tabela 5). Avaliando-se o parâmetro  $\lambda$ , diferenças entre tecidos foram observadas ( $P < 0,05$ ) em todos os alimentos (Tabela 4). Em média, maiores estimativas foram obtidas com o nylon (Tabela 5; Figura 2).

Nenhuma diferença ( $P > 0,05$ ) quanto às frações B e I da FDN foi verificada entre F57 e TNT (Tabela 4). Isto conduz à inferência de que as diferenças entre frações devem ser atribuídas somente a peculiaridades do nylon em relação aos tecidos produzidos por processo de não tecelagem.

Por outro lado, diferenças quanto às estimativas do parâmetro  $\lambda$  foram verificadas ( $P < 0,05$ ) entre TNT e F57 para silagem de milho, capim elefante cortado aos 250 dias de rebrotação, feno de coastcross e alfafa (Tabela 4). Em todos os casos, maiores estimativas foram obtidas com o TNT (Tabela 5; Figura 2).

A avaliação da fração A da FDN apresenta interpretação diferenciada em relação à MS, pois, sendo a FDN insolúvel em meios neutros como o rúmen, não há fração verdadeiramente solúvel (Detmann, 2010). Logo, a verificação desta fração por intermédio da recíproca do modelo usado para interpretação da degradação da FDN (Equação 1) deve ser entendida como perda de partículas fibrosas insolúveis através dos poros do tecido.

Tabela 4 - Níveis descritivos de probabilidade para o erro tipo I associado à comparação entre tecidos quanto aos parâmetros da dinâmica de degradação da fibra em detergente neutro

| Alimento                          | Parâmetro Testado |         |           |
|-----------------------------------|-------------------|---------|-----------|
|                                   | B                 | I       | $\lambda$ |
| Comparação entre todos os tecidos |                   |         |           |
| CA                                | 0,0390            | 0,0012  | 0,0189    |
| SM                                | 0,8504            | 0,8847  | <0,0001   |
| CE50                              | 0,0339            | 0,0223  | <0,0001   |
| CE250                             | 0,4473            | 0,1940  | <0,0001   |
| PM                                | 0,5132            | 0,6791  | <0,0001   |
| FB                                | 0,1349            | 0,0144  | 0,0005    |
| FC                                | 0,2815            | 0,0406  | 0,0001    |
| ALF                               | 0,0116            | <0,0001 | <0,0001   |
| Comparação entre TNT e F57        |                   |         |           |
| CA                                | 0,1316            | 0,0538  | 0,8289    |
| SM                                | 0,9045            | 0,9609  | 0,0214    |
| CE50                              | >0,9999           | 0,1937  | 0,2393    |
| CE250                             | 0,1938            | 0,1292  | 0,0010    |
| PM                                | 0,4591            | 0,3740  | 0,1395    |
| FB                                | 0,3935            | 0,1356  | 0,8018    |
| FC                                | 0,6350            | 0,3405  | 0,0011    |
| ALF                               | >0,9999           | 0,4236  | <0,0001   |

<sup>1</sup> CA = cana de açúcar *in natura*; SM = silagem de milho; CE50 = capim elefante *in natura* cortado aos 50 dias de rebrotação; CE250 = capim elefante *in natura* cortado aos 250 dias de rebrotação; PM = palha de milho; FB = feno de capim braquiária; FC = feno de capim coastcross e ALF = alfafa *in natura*. <sup>2</sup> B = fração potencialmente degradável; I = fração indegradável (%);  $\lambda$  = taxa comum de latência e degradação ( $h^{-1}$ ).

Todos os tecidos apresentaram perda de partículas fibrosas, exceções feitas ao capim elefante colhido aos 50 dias de rebrotação ( $P>0,05$ ) quando utilizado o F57; à silagem de milho ( $P>0,05$ ), quando utilizados os tecidos F57 e TNT; e à alfafa, que não apresentou perda de partículas fibrosas ( $P>0,05$ ) para nenhum dos três tecidos avaliados (Tabela 5).

Uma das principais limitações com o uso de tecidos para análise de resíduos fibrosos insolúveis reside sobre a possibilidade de perda de partículas (Hvelpund & Weisbjerg, 2000; Casali et al., 2009; Valente et al. 2010a). Neste contexto, na preparação das amostras para incubação deve se visar tamanho de partículas que represente ponto de equilíbrio entre o controle de perda de partículas e a garantia de

superfície específica adequada para ação das enzimas microbianas (Valente et al., 2010a).

Tabela 5 - Parâmetros de degradação da fibra em detergente neutro para os diferentes alimentos

| Item <sup>2</sup> | Alimento <sup>1</sup> |        |        |        |        |        |        |        |
|-------------------|-----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                   | CA                    | SM     | CE50   | CE250  | PM     | FB     | FC     | ALF    |
| Nylon             |                       |        |        |        |        |        |        |        |
| B                 | 52,07                 | 76,97  | 70,09  | 41,34  | 73,94  | 59,75  | 66,14  | 41,73  |
| I                 | 39,41                 | 16,62  | 26,58  | 52,94  | 16,73  | 32,09  | 28,66  | 57,00  |
| $\lambda$         | 0,0417                | 0,0258 | 0,0523 | 0,0285 | 0,0287 | 0,0317 | 0,0602 | 0,0941 |
| DPA               | 3,72                  | 6,13   | 3,85   | 3,61   | 6,34   | 3,81   | 2,52   | 2,12   |
| LSI               | 41,68                 | 21,72  | 28,73  | 55,50  | 21,54  | 34,73  | 30,02  | 58,09  |
| A                 | 8,51                  | 6,42   | 3,33   | 5,72   | 9,33   | 8,24   | 5,19   | 1,26   |
| LSA               | 11,38                 | 10,64  | 6,52   | 8,26   | 13,80  | 11,01  | 7,37   | 3,34   |
| LIA               | 5,63                  | 2,20   | 0,14   | 3,18   | 4,87   | 5,48   | 3,01   | -0,82  |
| tc                | 117,7                 | 170,6  | 101,9  | 157,4  | 154,1  | 154,4  | 96,4   | 58,7   |
| F57               |                       |        |        |        |        |        |        |        |
| B                 | 44,11                 | 80,45  | 62,19  | 37,51  | 73,87  | 51,86  | 62,14  | 35,61  |
| I                 | 50,53                 | 19,37  | 35,85  | 59,47  | 22,15  | 44,33  | 33,98  | 63,56  |
| $\lambda$         | 0,0264                | 0,0109 | 0,0191 | 0,0147 | 0,0129 | 0,0181 | 0,0201 | 0,0303 |
| DPA               | 5,20                  | 5,55   | 4,52   | 2,97   | 5,90   | 3,98   | 3,74   | 3,23   |
| LSI               | 54,77                 | 35,49  | 41,09  | 64,53  | 34,65  | 49,31  | 38,06  | 65,92  |
| A                 | 5,36                  | 0,18   | 1,96   | 3,01   | 3,98   | 3,80   | 3,89   | 0,82   |
| LSA               | 8,96                  | 3,55   | 4,91   | 4,88   | 7,64   | 6,38   | 6,35   | 3,12   |
| LIA               | 1,76                  | -3,20  | -1,00  | 1,14   | 0,32   | 1,22   | 1,42   | -1,47  |
| tc                | 149,2                 | 274,5  | 214,9  | 209,2  | 249,3  | 217,7  | 219,5  | 145,2  |
| TNT               |                       |        |        |        |        |        |        |        |
| B                 | 49,33                 | 79,37  | 62,36  | 41,78  | 79,38  | 55,93  | 63,52  | 35,75  |
| I                 | 43,99                 | 18,84  | 30,40  | 54,19  | 15,22  | 36,85  | 31,36  | 62,14  |
| $\lambda$         | 0,0277                | 0,0162 | 0,0227 | 0,0246 | 0,0162 | 0,0189 | 0,0289 | 0,0730 |
| DPA               | 5,34                  | 7,26   | 6,46   | 3,50   | 6,35   | 6,69   | 4,53   | 4,36   |
| LSI               | 48,17                 | 29,49  | 36,50  | 57,24  | 24,53  | 44,70  | 34,78  | 64,36  |
| A                 | 6,68                  | 1,78   | 7,24   | 4,02   | 5,40   | 7,72   | 5,12   | 2,12   |
| LSA               | 10,42                 | 6,41   | 11,59  | 6,42   | 9,45   | 11,59  | 8,32   | 6,05   |
| LIA               | 2,95                  | -2,84  | 2,89   | 1,63   | 1,35   | 2,85   | 1,93   | -1,82  |
| tc                | 147,9                 | 217,1  | 172,6  | 174,0  | 227,7  | 183,0  | 161,0  | 61,4   |

<sup>1</sup> CA = cana de açúcar *in natura*; SM = silagem de milho; CE50 = capim elefante *in natura* cortado aos 50 dias de rebrotação; CE250 = capim elefante *in natura* cortado aos 250 dias de rebrotação; PM = palha de milho; FB = feno de capim braquiária; FC = feno de capim coastcross e ALF = alfafa *in natura*. <sup>2</sup> B = fração potencialmente degradável; I = fração indegradável (%);  $\lambda$  = taxa comum de latência e degradação ( $h^{-1}$ ); DPA = desvio-padrão assintótico; LSI = limite superior do intervalo de confiança assintótico de I ( $1-\alpha = 0,95$ ); A = perda de partículas fibrosas (%); LSA = limite superior do intervalo de confiança assintótico de A ( $1-\alpha = 0,95$ ); LIA = limite inferior do intervalo de confiança assintótico de A ( $1-\alpha = 0,95$ ); tc = tempo crítico para se alcançar a assíntota ( $P>0,05$ ).

Embora o tamanho de partículas utilizado neste trabalho constitua aquele atualmente recomendado para a condução de procedimentos *in situ* de avaliação de alimentos (Vanzant et al., 1998; Nozière & Michaelet-Doreau, 2000; NRC, 2001), a distribuição real do tamanho de partículas após moagem pode ser diferente para cada material avaliado, tanto para forragens como para concentrados (Nozière & Michaelet-Doreau, 2000). Assim, para alguns materiais, a moagem a 2 mm pode gerar partículas de dimensão suficientemente pequena para essas escaparem intactas pelos poros dos tecidos, justificando-se a variabilidade entre alimentos quanto à perda de partículas fibrosas (Tabela 5).

Embora em somente dois alimentos tenha sido observada diferença entre tecidos quanto à fração solúvel da MS (Tabela 2), a avaliação da perda de partículas fibrosas evidenciou que estas são mais proeminentes com o uso do nylon (Figura 3). Este comportamento parece ser a causa, ao menos parcialmente, das menores estimativas da fração potencialmente degradável da FDN com o uso do nylon (Figura 3), podendo ter refletido diretamente sobre as estimativas das frações da MS (Tabelas 2 e 3). A porosidade mais ampla do nylon em relação ao TNT e ao F57 tem sido considerada causa desta maior perda (Casali et al., 2009; Valente et al., 2010a).

Contudo, apesar das diferenças entre as frações, a maior diferença entre os perfis de degradação obtidos pelos diferentes tecidos deve ser atribuída à taxa de degradação (Tabelas 2, 3, 4 e 5; Figura 2).

O tempo crítico para se atingir a assíntota foi proposto por Casali et al (2009) como aproximação probabilística para se obter a concentração das frações indigestíveis por intermédio de um único tempo de incubação, principalmente para serem utilizadas como indicadores internos.



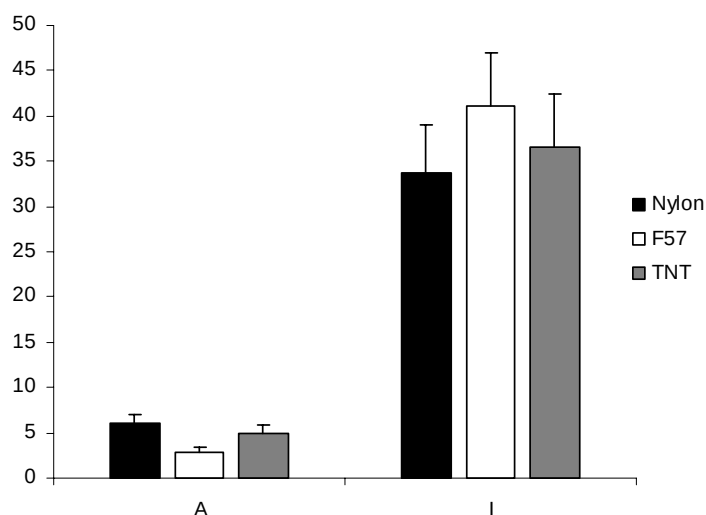


Figura 3 - Estimativas médias da perda de partículas fibrosas (A - % da FDN) e da fração indegradável da FDN (I - % da FDN) em função dos diferentes tecidos.

Em primeira instância, como o nylon não é recomendado para este tipo de procedimento (Casali et al., 2009; Valente et al., 2009a), devido à sua maior perda de partículas fibrosas (Figura 3), comparações diretas visando-se aplicação à quantificação de compostos indigestíveis deve ser feita entre o F57 e o TNT. Os tempos críticos médios para o F57 formam superiores àqueles obtidos com o TNT (Figura 4). Considerando-se os tempos máximos observados, tem-se, para a MS 249,8 e 219,7 horas, e para a FDN 274,5 e 227,7 horas, considerando-se F57 e TNT, respectivamente (Tabelas 3 e 5). Os tempos críticos máximos obtidos para o TNT encontram-se de acordo com proposições de Casali et al. (2008), que recomendaram 240 horas de incubação ruminal para se estimar a fração indigestível da MS e da FDN utilizando-se sacos de TNT. Contudo, pelos resultados aqui obtidos, esta recomendação não parece válida com a utilização do F57. Considerando-se o tempo crítico máximo obtido para a FDN (274,5 horas) e adotando-se múltiplos de 24 horas, seriam necessárias 288 horas

para se obter estimativa confiável da concentração de compostos indigestíveis, notadamente da fração indigestível da FDN, quando utilizados sacos F57.

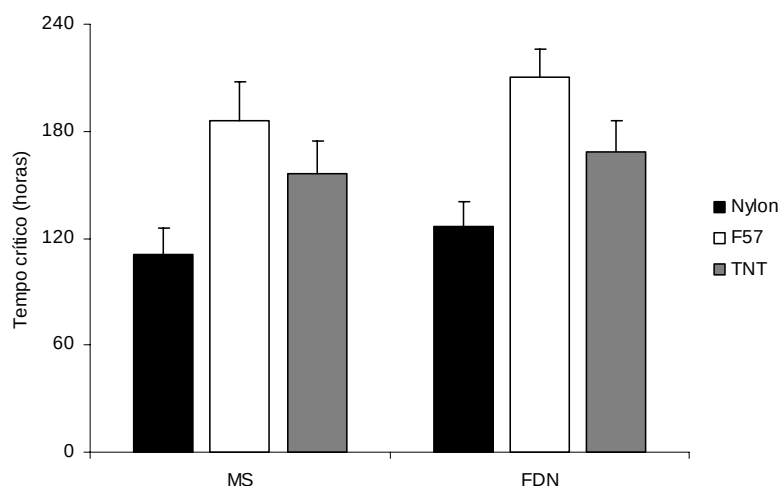


Figura 4 - Estimativas médias do tempo crítico para se atingir a assíntota da matéria seca (MS) e da fibra em detergente neutro (FDN) em função dos diferentes tecidos (para detalhes sobre os parâmetros consultar as Equações 3 e 4).

Em segunda instância, os maiores tempos críticos obtidos para os tecidos F57 e TNT em relação ao nylon (Figura 4) são reflexos diretos das menores taxas de degradação (Figura 2). Inicialmente, as maiores taxas de degradação com o nylon poderiam ser atribuídas à perda de partículas nos tempos iniciais da incubação. Contudo, devido à pequena diferença entre tecidos quanto à perda de partículas fibrosas (Figura 3), torna-se pouco provável que isto possa ser considerada a única ou a principal causa das diferenças na taxa de degradação.

A estrutura de porosidade do TNT e do F57 é não regular, construída pela disposição de fibras em processo que não envolve tecelagem. Isto atribui a estes tecidos porosidades inferiores ao nylon (Casali et al., 2009; Valente et al., 2010a). Tecidos de baixa porosidade podem comprometer a retirada de gases oriundos da fermentação,

limitando a acessibilidade microbiana e, conseqüentemente, reduzindo a degradação, principalmente nos tempos iniciais de incubação (Úden et al., 1974; Udén & Van Soest, 1984), o que, obviamente, incorreria em menores taxa de degradação, como observado neste trabalho (Figura 5).

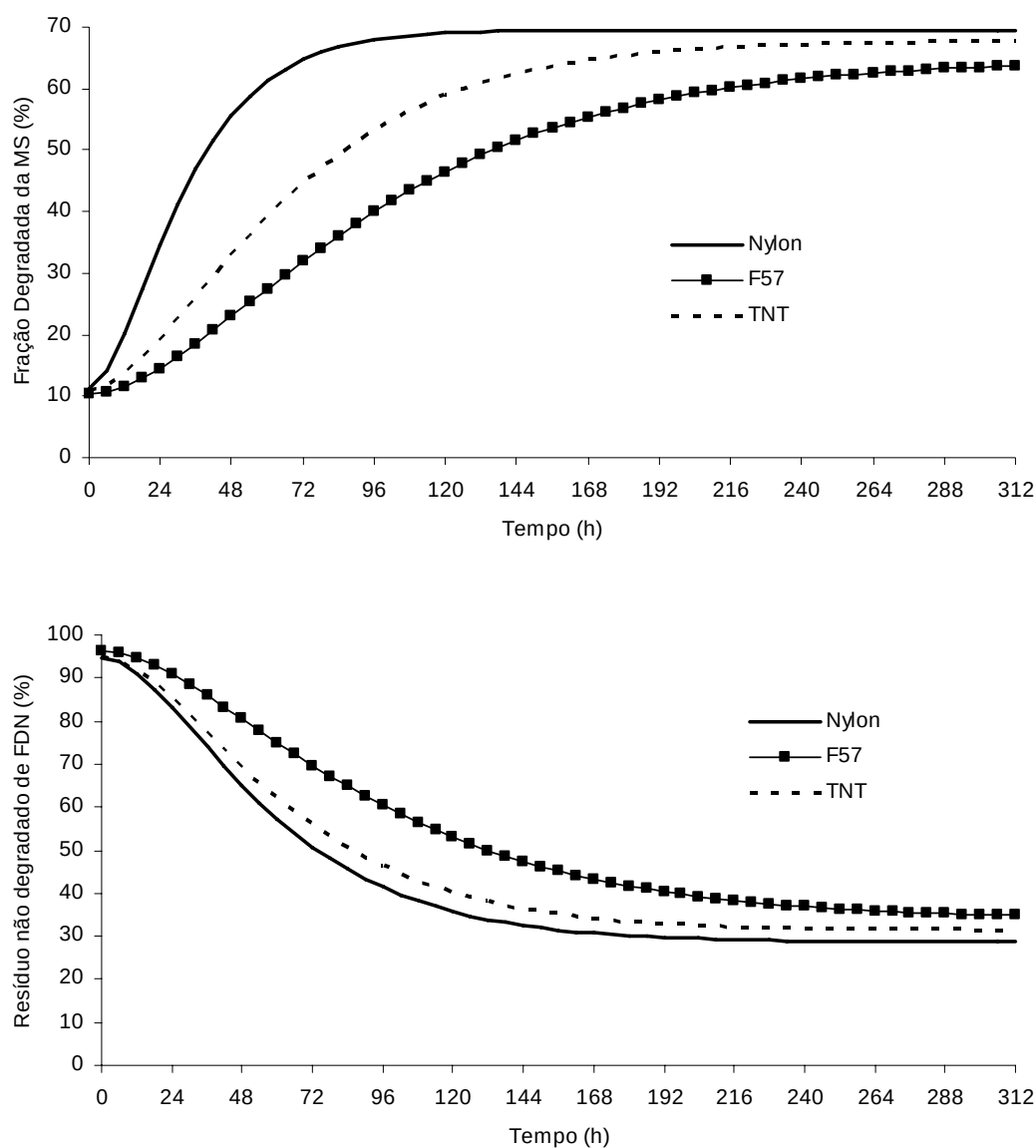


Figura 5 - Perfil de degradação da matéria seca e da fibra em detergente neutro do feno de coastcross em função dos diferentes tecidos (para detalhes sobre os parâmetros consultar as Tabelas 3 e 5).

Uma das características desejadas de um tecido para a avaliação da degradação no ambiente ruminal é de que este permita o influxo de fluido ruminal e microrganismos para dentro dos sacos e propicie o efluxo de material degradado (Varvikko & Vanhatalo, 1990; Nozière & Michalet-Doreau, 2000). Problemas quanto a esta característica podem afetar a inclinação das curvas de degradação (Nocek, 1988), como observado neste estudo (Figura 5). A redução na porosidade dos sacos pode acarretar redução na entrada de microrganismos (Lindberg et al., 1984) e acentuar as diferenças entre as populações do interior e do exterior dos sacos (Nozière & Michalet-Doreau, 2000).

A despeito das diferenças em relação ao nylon, diferenças de menor amplitude foram observadas entre o TNT e o F57 quanto à taxa de degradação (Tabelas 2 e 4), verificando-se, em média, maiores estimativas para o TNT (Figura 2), o que conferiu, indiretamente, menores tempos críticos a este tecido (Figura 4). Quando incubado no ambiente ruminal, o TNT apresenta perda de resistência física, o que não ocorre com o F57 (Valente et al., 2010a). Assim, esta perda de resistência pode tornar o TNT mais susceptível às trocas com o ambiente ruminal em relação ao F57, garantindo maiores taxas de degradação, embora ainda inferiores ao nylon (Figura 5). Por outro lado, os maiores tempos críticos obtidos em relação ao TNT podem indicar que os perfis de degradação obtidos com o F57 podem não estar totalmente estabilizados, mesmo com os altos tempos utilizados neste estudo (Figura 5).

As taxas de degradação (representadas pelo parâmetro  $\lambda$ ) foram, em algumas situações, extremamente baixas com o uso do TNT e do F57 (e.g. capim elefante colhido aos 50 dias de rebrotação), colocando-as em patamares próximos da incoerência biológica (Tabelas 3 e 5). Correções no perfil de degradação quanto a perdas de

partículas são passíveis de serem realizadas (Nozière & Michalet-Doreau, 2000). Contudo, correções quanto à subestimação da taxa de degradação não são possíveis.

Assim, associando-se este comportamento ao fato do nylon representar o tecido padrão para procedimentos de estimação de parâmetros da dinâmica de degradação ruminal (Hvelplund & Weisbjerg, 2000; NRC, 2001), não se recomenda a utilização dos tecidos F57 e TNT com esta finalidade.

Estudos nos quais os parâmetros da dinâmica de degradação da MS e da FDN sejam estimados em conjunto com coeficientes de digestibilidade ruminal são sugeridos para que seja atribuída maior exatidão à comparação entre tecidos.

### Conclusões

Perfis de degradação ruminal da matéria seca e da fibra em detergente neutro não devem ser estimados pela utilização dos tecidos F57 e tecido não-tecido (TNT, 100 g/m<sup>2</sup>), pois existem limitações quanto à troca de material com o ambiente ruminal, o que subestima a taxa de degradação. Para quantificação da fração indigestível, com um único tempo de incubação, a permanência mínima de 240 e 288 horas no ambiente ruminal é sugerida para o TNT e para o F57, respectivamente.

### Literatura Citada

- BRODERICK, G.A.; COCHRAN, R.C. *In vitro* and *in situ* methods for estimating digestibility with reference to protein degradability. In: THEODOROU, M.K.; FRANCE, J. (Eds.). **Feeding systems and feed evaluation models**. Wallingford: CAB International, 2000. p.53-85.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.335-342, 2008.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.130-138, 2009.

- CHERNEY, D.J.R.; PATTERSON, J.A.; LEMENAGER, R.P. Influence of *in situ* bag rising technique on determination of dry matter disappearance. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.391-397, 1990.
- CHERNEY, D.J.R.; SICILIANO-JONES, J.; PELL, A.N. Forage *in vitro* dry matter digestibility as influenced by fiber source in the donor cow diet. **Journal of Animal Science**, v.71, p.1335-1338, 1993.
- DETMANN, E. Fibra na nutrição de novilhas leiteiras. In: PEREIRA, E.S.; PIMENTEL, P.G.; QUEIROZ, A.C. et al. (Eds.) **Novilhas leiteiras**. Fortaleza: IMPRECE, 2010.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1600-1609, 2001.
- FIGROID, W.; HALE, W. H.; THEURER, B. An evaluation of the nylon bag technique for estimating rumen utilization of grains. **Journal of Animal Science**, v.35, p.113-120, 1972.
- HUHTANEN, P.; KAUSTELL, K.; JAAKKOLA, S. The use of internal markers to predict digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.48, p.211-227, 1994.
- HVELPLUND, T.; WEISBJERG, M.R. *In situ* techniques for the estimation of protein degradability and post rumen availability In: GIVENS, D.I.; OWEN, E.; AXFORD, R.F.E. et al. (Eds.) **Forage evaluation in ruminant nutrition**. London: CAB International, 2000. p.233-258.
- LINDBERG, J.E.; KASPERSSON, A.; CISZUK, P. Studies on pH, number of protozoa and microbial ATP concentrations in rumen-incubated nylon bags with different pore sizes. **Journal of Agricultural Science**, v.102, p.501-504, 1984.
- MARINUCCI, M.T.; DEHORITY, B.A.; LOERCH, S.C. *In vitro* and *in vivo* studies of factors affecting digestion of feeds in synthetic fiber bags. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 296-307, 1992.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Washington, DC: Academic Press, 2001. 381p.
- NOCEK, J.E. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2051-2069, 1988.
- NOZIÈRE, P.; MICHALET-DOREAU, B. *In sacco* methods. In: D’MELLO, J.P.F. (Ed.) **Farm animal metabolism and nutrition**. London: CAB International, 2000. p.233-253.
- ØRSKOV, E.R. The *in situ* technique for the estimation of forage degradability in ruminants. In: GIVEN, D.I.; OWENS, E.; AXFORD, R.F.E. et al. (Eds.). **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International, 2000, p.175-188.
- REGAZZI, A.J. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não linear. **Ceres**, v.50, p.9-26, 2003.

- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; LAZZARINI, I. et al. Rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.560-569, 2009.
- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; VALENTE, T.N.P. et al. Recuperação fecal e vício de tempo longo de indicadores internos e externos em ensaio de digestão com bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2010 (no prelo).
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos**. Métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235p.
- UDÉN, P.; Van SOEST, P.J. Investigations of the *in situ* bag technique and a comparison of fermentation in heifers, sheep, ponies and rabbits. **Journal of Animal Science**, v.58, p.213-221, 1984.
- UDÉN, P.; PARRA, R.; Van SOEST, P.J. Factors influencing reliability of the nylon bag technique. **Journal of Dairy Science**, v.57, p.622-622, 1974.
- VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Estimação *in situ* dos teores de componentes indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos com sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2010a (submetido).
- VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Avaliação dos teores de fibra em detergente neutro em forragens, concentrados e fezes bovinas moídas em diferentes tamanhos e em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2010b (submetido).
- Van HELLEN, R.W.; ELLIS, W.C. Samples container porosities for rumen *in situ* studies. **Journal of Animal Science**, v. 44, p.141-146, 1977.
- Van MILGEN, J.; MURPHY, M.R.; BERGER, L.L. et al. A compartmental model to analyze ruminal digestion. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.2515-2529, 1991.
- Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VANZANT, E.S.; COCHRAN, C.; TITGEMEYER, E.C. Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2717-2729, 1998.
- VAREL, V.H.; KREIKEMEIER, K.K. Comparison of *in vitro* and *in situ* digestibility methods. **Journal of Animal Science**, v.73, p.578-582, 1995.
- VARVIKKO, T.; VANHATALO, A. The effect of differing types of cloth and of contamination by non-feed nitrogen on intestinal digestion estimates using porous synthetic-fibre bags in a cow. **British Journal of Nutrition**, v. 63, p. 221-229, 1990.
- VIEIRA, R.A.M.; PEREIRA, J.C.; MALAFAIA, P.A.M. et al. The influence of elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum. Mineiro variety) growth on the nutrient kinetics in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v.66, p.197-210, 1997.
- WEAKLEY, D.C.; STERN, M.D.; SATTER, L.D. Factors affecting disappearance of feedstuffs from bags suspended in the rumen. **Journal of Animal Science**, v.56, p.493-507, 1983.