AVALIAÇÃO DE METODOLOGIAS UTILIZADAS EM EXPERIMENTOS DE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

ICARO DOS SANTOS CABRAL

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO DE METODOLOGIAS UTILIZADAS EM EXPERIMENTOS DE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

Autor: Ícaro dos Santos Cabral
Orientador: Prof. Dr. José Augusto Gomes Azevêdo

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Janeiro de 2016

ÍCARO DOS SANTOS CABRAL

AVALIAÇÃO DE METODOLOGIAS UTILIZADAS EM EXPERIMENTOS DE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. Dr. José Augusto Gomes Azevêdo

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Janeiro de 2016

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Paulo Roberto Barreto Cabral e Geny dos Santos Cabral, por sempre terem me proporcionado educação de ótima qualidade e incentivado o meu desenvolvimento profissional.

À Anne Brito Santos, pelo companheirismo e apoio nestes 4 anos de união.

Ao meu orientador, José Augusto Gomes Azevêdo, pela orientação e amizade desde o final de minha graduação, além do mestrado e doutorado, sempre fazendo jus à fama de "pai" atribuída aos orientadores.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade de cursar o Doutorado.

À Universidade Estadual de Santa Cruz, pela disponibilização de infraestrutura para condução dos experimentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia, pela concessão da bolsa de Doutorado no primeiro ano do Curso.

À Universidade Federal do Amazonas, especialmente aos colegas do Curso de Zootecnia do ICSEZ, pelo apoio indispensável para a conclusão do Doutorado.

À Dona Osana e família, pelo acolhimento e total apoio desde a época de Mestrado.

Aos colegas Flávio, Lígia, Jéssica, Ivan, Abdon, Carlos, Leandro, Gustavo, Diego, Valclei e Laysa pela disponibilização de dados e/ou auxílio na condução dos experimentos.

Aos amigos Ronaldo, Alexandro e toda turma do Poker, pelos momentos de descontração em terras Tupinambarana.

Aos amigos Júnior e Aline, Ailton, Ricardo e Tayana e Dayse e Jonathan, pelo apoio e amizade.

Aos professores e colegas do Doutorado em Zootecnia.

BIOGRAFIA

ÍCARO DOS SANTOS CABRAL, filho de Paulo Roberto Barreto Cabral e Geny dos Santos Cabral, nasceu em Ruy Barbosa, no dia 17 de Junho de 1987.

Em Fevereiro de 2005, ingressou no Curso de Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Santa Cruz, tendo concluído o mesmo em Dezembro de 2009. Ainda cursou a Pós Graduação em Ciência Animal, em nível de Mestrado, na mesma Instituição, no período de Março de 2010 à Março de 2012.

Ingressou na Pós Graduação em Zootecnia, em nível de doutorado, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, tendo defendido tese em 11 de janeiro de 2016.

Foi aprovado, em Fevereiro de 2013, em Concurso Público para professor do Magistério Superior no Curso de Zootecnia da Universidade Federal do Amazonas, aonde atua até esta data.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE FIGURAS VI
LISTA DE TABELAS VII
RESUMO X
ABSTRACT XIII
I – REFERENCIAL TEÓRICO 16
1. INTRODUÇÃO 16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 19
2.1. Utilização de indicadores internos 19
2.2. Métodos de filtragem para análise da fibra em detergente neutro 19
2.3. Dias de coleta de fezes e amostragem de alimento fornecido e sobras 20
2.4. Modelos não-lineares para determinação dos parâmetros da cinética de fermentação ruminal *in vitro* 22
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 26
II – OBJETIVOS 30
III – CAPÍTULO I 31
RESUMO 31
INTRODUÇÃO 32
MATERIAL E MÉTODOS 33
RESULTADOS 35
DISCUSSÃO 38
CONCLUSÕES 41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 41
IV - CAPÍTULO II 43
RESUMO 43
INTRODUÇÃO 44
MATERIAL E MÉTODOS 45
RESULTADOS E DISCUSSÃO 48
CONCLUSÕES 55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 555

V – CAPÍTULO III 58
RESUMO 58
INTRODUÇÃO 59
MATERIAL E MÉTODOS 60
RESULTADOS 62
DISCUSSÃO 666
CONCLUSÕES 68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 68
VI – CAPÍTULO IV 71
RESUMO 71
INTRODUÇÃO 72
MATERIAL E MÉTODOS 72
RESULTADOS 77
DISCUSSÃO 82
CONCLUSÕES 85
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 85
VII – CONSIDERAÇÕES FINAIS 88

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Relação entre fibra em detergente neutro (FDN) obtido pelo sistema de filtragem com cadinho filtrante e tecido não tecido (TNT)..... 54

Figura 2. Curvas de produção cumulativa de gases (ml) ao longo do tempo de incubação para o modelo que melhor se ajustou aos alimentos..... 81

Figura 3. Relação entre assíntota dos CF obtida pelos modelos de menor QMEP com FDNd..... 82

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. Distribuição dos coeficientes nos contrastes ortogonais empregados na decomposição da soma de quadrados..... 35

Tabela 2. Estatística descritiva dos dados de recuperação fecal, excreção fecal de matéria seca e digestibilidade estimados pelos indicadores internos matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) das 82 unidades amostrais avaliadas..... 36

Tabela 3. Médias, parâmetros de regressão e valor P da ANOVA dos valores de consumo e excreção dos indicadores internos matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi)..... 36

Tabela 4. Médias de excreção fecal de matéria seca (EFMS), coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P dos contrastes ortogonais associados aos valores obtidos com a coleta total de fezes e com uso dos indicadores internos matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi)..... 37

Tabela 5. Médias de digestibilidade da MS, coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P dos contrastes ortogonais associados aos valores obtidos com a coleta total de fezes e com uso dos indicadores internos matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi)..... 38

Tabela 6. Subprodutos alimentares utilizados nas determinações de FDN..... 45

Tabela 7. Concentração média e desvio padrão (DP) da fibra em detergente neutro (% MS) de subprodutos com até 20% de fibra em detergente neutro,

obtidos pelos sistemas de filtragem por cadinho e tecido não tecido (TNT)..... 48

Tabela 8. Concentração média e desvio padrão (DP) da fibra em detergente neutro (% MS) de subprodutos superiores a 20 e até 40% de fibra em detergente neutro, obtidos pelos sistemas de filtragem por cadinho e tecido não tecido (TNT)..... 49

Tabela 9. Concentração média e desvio padrão (DP) da fibra em detergente neutro (% MS) de subprodutos superiores a 40 e até 60% de fibra em detergente neutro, obtidos pelos sistemas de filtragem por cadinho e tecido não tecido (TNT)..... 50

Tabela 10. Concentração média e desvio padrão (DP) da fibra em detergente neutro (% MS) de subprodutos superiores 60% de fibra em detergente neutro, obtidos pelos sistemas de filtragem por cadinho e tecido não tecido (TNT)..... 51

Tabela 11. Estatística para regressão entre os teores de fibra em detergente neutro obtidos nos sistemas de filtragem (cadinho e tecido não tecido – TNT)..... 52

Tabela 12. Estatística descritiva para fibra em detergente neutro (FDN), obtido pelo sistema de filtragem com cadinho e tecido não tecido, de subprodutos agrícolas..... 52

Tabela 13. Estatística para regressão entre os valores de desvio padrão (DP) obtidos nos sistemas de filtragem (cadinho e tecido não tecido – TNT)..... 55

Tabela 14. Distribuição dos coeficientes nos contrastes ortogonais empregados na decomposição da soma de quadrados..... 60

Tabela 15. Estatística descritiva dos dados de excreção fecal em diferentes números de dias de coleta e valores de alimento consumido em análises quinzenais ou única..... 62

Tabela 16. Médias de excreção fecal de matéria seca, coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P dos contrastes ortogonais associados aos valores obtidos com a coleta total de fezes realizada em diferentes

números de dias..... 63

Tabela 17. Médias de digestibilidade aparente da matéria seca, coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P dos contrastes ortogonais associados aos valores obtidos com a coleta total de fezes realizada em diferentes números de dias..... 64

Tabela 18. Médias de MS, MO, PB e FDNcp do alimento fornecido, coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P da análise de variância associados aos valores obtidos com análise única ou análises quinzenais..... 64

Tabela 19. Médias de MS, MO, PB e FDNcp das sobras, coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P da análise de variância associados aos valores obtidos com análise única ou análises quinzenais..... 65

Tabela 20. Médias de MS, MO, PB e FDNcp consumida, coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P da análise de variância associados aos valores obtidos com análise única ou análises quinzenais..... 65

Tabela 21. Composição química, digestibilidade da fibra em detergente neutro (DIVFDN) e nutrientes digestíveis totais (NDT) dos alimentos avaliados..... 74

Tabela 22. Modelos não-lineares avaliados..... 75

Tabela 23. Assíntotas (ml) total, dos CNF e dos CF (A, A_{CNF} e A_{CF}), taxas fracionais de degradação (h^{-1}) total, dos CNF e dos CF (μ, μ_{CNF} e μ_{CF}) e tempo de latência (λ, em horas) dos alimentos testados utilizando diferentes modelos matemáticos..... 77

Tabela 24. Parâmetros de regressão, valor de P, viés médio (VM), coeficiente de concordância da correlação (CCC) e quadrado médio do erro de predição (QMEP) dentre os valores observados para volume acumulativo de gases e os estimados pelos diferentes modelos matemáticos em diferentes alimentos..... 79

RESUMO

CABRAL, Ícaro dos Santos. **Avaliação de metodologias utilizadas em experimentos de nutrição de ruminantes**. Itapetinga, BA: UESB, 2015. 90 p. Tese. (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes)*

Objetivou-se avaliar diferentes metodologias experimentais utilizadas em ensaios de nutrição de ruminantes. Para tal, cinco metodologias experimentais foram testadas e apresentadas nesta tese em quatro capítulos distintos. No **primeiro capítulo**, objetivou-se avaliar a recuperação fecal dos indicadores internos matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) e compará-los como estimadores da excreção fecal de matéria seca (EFMS) e digestibilidade da matéria seca (MS) em relação aos valores observados na coleta total de fezes em ensaios com ovinos confinados. Para tal, foram avaliadas 82 unidades amostrais oriundas de dois experimentos. Os indicadores internos foram quantificados nos alimentos fornecidos, nas sobras e nas fezes dos animais. A recuperação do indicador foi determinada pela comparação da quantidade de indicador consumida e excretada. A EFMS e a digestibilidade foram determinadas a partir da quantidade de indicador consumido e da concentração deste nas fezes em coleta pontual diretamente do reto dos animais e os valores foram comparados aos valores observados com a coleta total de fezes a partir de contrastes ortogonais. Avaliou-se também o viés médio, o coeficiente de concordância da correlação e o quadrado médio do erro de predição. Para todos os procedimentos estatísticos, fixou-se em 0,05 o nível crítico de probabilidade para o erro tipo 1. O indicador MSi apresentou recuperação fecal completa (100,03%) e foi eficiente em estimar a EFMS (482,9 g/dia) e a digestibilidade da MS (54,2%) em relação aos valores observados na coleta total de fezes (454,7 g/dia e 56,1% para EFMS e digestibilidade da MS, respectivamente). Os indicadores FDNi e FDAi não apresentaram recuperação total nas fezes e não foram eficazes na estimativa da EFMS e digestibilidade da MS. No **segundo capítulo**, objetivou-se avaliar a eficácia da utilização dos sacos de tecido-não-tecido (TNT) para analisar teor de fibra em detergente neutro (FDN) de subprodutos regionais. Para tal, utilizou-se como padrão o método convencional que utiliza cadinhos filtrantes no processo de filtração do resíduo. Foram analisados 74 subprodutos regionais quanto à concentração de FDN pelo método

convencional (uso de cadinhos filtrantes) e pelo método alternativo (uso de sacos de TNT). As amostras foram colocadas nos sacos ou nos cadinhos e estes foram colocados em frascos plásticos com tampa rosqueada, utilizando-se sempre a proporção de 100 ml de solução de detergente neutro para cada 1 grama de amostra. Os frascos foram levados para autoclave e após solubilização dos componentes não fibrosos foi quantificado o resíduo recuperado em cada um dos métodos. Os procedimentos de avaliação do uso do TNT basearam-se no ajustamento do modelo de regressão linear simples dos valores observados sobre os preditos, sendo as estimativas dos parâmetros de regressão testadas pela hipótese de nulidade conjunta. Avaliou-se também o viés médio, o coeficiente de concordância da correlação e quadrado médio dos erros de predição. Para todos os procedimentos estatísticos, fixou-se em 0,05 o nível crítico de probabilidade para o erro tipo 1. Não foi observada diferença entre as concentrações de FDN determinada pelos diferentes métodos. Ao se avaliar os valores de desvio padrão, observou-se uma menor variabilidade dos dados quando obtidos com a utilização do cadinho. Desta forma, conclui-se que a utilização de sacos de TNT é uma alternativa para reduzir custos e tempo despendido nas análises de FDN, entretanto esta apresenta uma menor precisão quando comparada à técnica original com o uso do cadinho filtrante. No **terceiro capítulo**, objetivou-se avaliar a redução do número de dias de coleta de fezes para determinação da excreção fecal de matéria seca (MS) e parâmetros de digestibilidade, além de avaliar o consumo de matéria seca de ovinos confinados com a realização de análise única ou análises periódicas dos alimentos fornecidos e das sobras do cocho. Para avaliar a redução do número de dias de coleta de fezes utilizou-se 32 unidades experimentais as quais foram coletadas as fezes diariamente e os valores médios de 5, 4, 3, 2 e 1 dia foram comparados, com utilização de contrastes ortogonais, quanto à excreção fecal de MS e digestibilidade da MS. Para avaliação da redução no número de análises para determinação do consumo de nutrientes, utilizou-se 276 amostras de alimento fornecido e sobras oriundas de 3 experimentos de desempenho com ovinos confinados, que foram analisadas de forma individual por período ou em amostra composta dos períodos experimentais. Os métodos de amostragem foram comparados pela análise de variância. Para todos os procedimentos estatísticos, fixou-se em 0,05 o nível crítico de probabilidade para o erro tipo 1. Avaliou-se ainda o Viés Médio, Coeficiente de Concordância da Correlação e o Quadrado Médio do Erro de Predição dos métodos utilizados. A excreção fecal de MS e a digestibilidade da MS

não* apresentaram diferença entre os menores número de dias de coleta em relação à coleta em 5 dias, entretanto com a avaliação dos parâmetros de regressão observou-se que a utilização de maior número de dias proporciona resultados mais confiáveis. A determinação dos valores de consumo de nutrientes não foi afetada pela utilização de apenas uma análise de alimento fornecido e sobras com amostra proporcional de todos os períodos experimentais. Por fim, no **quarto capítulo**, objetivou-se avaliar a adequação de sete modelos não lineares (France, Orskov & McDonald, Gompertz, exponenciais simples e bicompartimental e logísticos simples e bicompartimental) no ajuste da curva e na geração de parâmetros de produção cumulativa de gases de cinco alimentos tropicais (casca de arroz, cana-de-açúcar, raspa de mandioca, resíduo de nabo e resíduo da pupunha) utilizados na nutrição de ruminantes. Para tal, realizou-se a incubação *in vitro*, em triplicata, dos alimentos em seringas de vidro graduadas junto com solução tamponada de inoculante. A leitura da produção de gases foi realizada nos tempos 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 26, 28, 30, 32, 36, 48, 52, 54, 56, 60 e 72 horas. Os dados gerados foram utilizados para estimação dos parâmetros de cada modelo com auxílio do pacote estatístico SAS. Após a geração dos parâmetros foram obtidos valores de volume de gases nos tempos supracitados, para cada modelo, e estes foram comparados aos valores observados na incubação com auxílio do programa Model Evaluation System (MES). Para comparação, testaram-se os parâmetros de regressão pelo teste de Mayer, além da avaliação dos valores de viés médio (VM), coeficiente de concordância da correlação (CCC) e quadrado médio do erro de predição (QMEP). Os modelos de France, Logístico e Gompertz, para casca de arroz, além do modelo de Orskov & McDonald, para raspa de mandioca, foram significativos ($P<0,1$) ao teste de Mayer, indicando falta de ajuste do modelo. Os modelos que apresentaram ajuste segundo o teste de Mayer, além de apresentarem os menores QMEP, foram o Logístico Bicompartimental para a casca de arroz e raspa de mandioca e o Exponencial Bicompartimental para cana-de-açúcar, nabo e pupunha. Sendo assim, os modelos não lineares bicompartimentais são os mais eficientes no ajuste da curva e na estimação de parâmetros de produção cumulativa de gases dos alimentos testados.

Palavras-chave: amostragem, dias de coleta, FDN, indicadores, modelos

---

* Orientador: José Augusto Gomes Azevêdo, Dr. UFV e Co-orientador: Luiz Gustavo Ribeiro Pereira, Dr. UFMG

ABSTRACT

CABRAL, Ícaro dos Santos. **Evaluation methodologies used in ruminant nutrition experiments**. Itapetinga, BA: UESB, 2015. 90 p. (Thesis – Doctorate in Animal Science, Concentration area in Ruminant Production)*

Aimed to evaluate different experimental methodologies used in ruminant nutrition tests. To this end, five experimental methodologies have been tested and presented in this thesis into four distinct chapters. The first chapter aimed to evaluate the fecal recovery of internal markers indigestible dry matter (MSi), fiber indigestible neutral detergent (iNDF) and fiber in neutral detergent (iADF) and compare them as estimators of fecal excretion of dry matter (EFMS) and digestibility of dry matter (DM) to those observed in the total feces collection in trials with feedlot sheep. To this end, we evaluated 82 sample units derived from two experiments. Internal indicators were quantified in the provided food, on the remains and feces of animals. The recovery indicator is determined by comparing the amount of consumed and excreted indicator. The EFMS and digestibility were determined from the amount of consumed indicator and the concentration of feces on points collected directly from the rectum of animals and the values were compared to those observed with the total collection of feces from orthogonal contrasts. It also evaluated the mean bias, the concordance correlation coefficient and the mean square prediction error. For all statistical procedures, stood at 0.05 the critical level of probability for error type 1. The MSi fecal indicator showed full recovery (100.03%) and was effective in estimating the EFMS (482.9 g / day) and DM digestibility (54.2%) compared to those observed in the total collection (454.7 g / day and 56.1% for EFMS and DM, respectively). The iNDF and iADF indicators showed no full recovery in feces and were not effective in estimating the EFMS and digestibility. In the second chapter aimed to evaluate the effectiveness of the use of bags of woven-non-woven (TNT) to analyze fiber in neutral detergent fiber (NDF) of regional products. To this end, it was used as standard conventional method that uses filter crucibles at residue of the filtration process. 74 byproducts as the regional concentration of NDF were analyzed by conventional methodology (use filter crucibles) and the alternative method (TNT bags use). The samples were placed in bags or in crucibles and these were placed in plastic bottles with screw cap, always using up the

proportion of 100 ml of a neutral detergent solution for every 1 gram of sample. The vials were brought into the autoclave and after solubilizing the non-fibrous components the residue recovered was quantitated in each of the methods. The assessment procedures of the TNT used were based on the adjustment of simple linear regression model of the observed values on predicted, and the estimates of the regression parameters tested by the hypothesis of independent nullity. It also evaluated the mean bias, the correlation coefficient and concordance and mean square of the prediction errors. For all statistical procedures, stood at 0.05 the critical level of probability for error type 1. There was no difference between the NDF concentrations determined by different methods. The evaluation standard deviation values, there was less variability in the data obtained when using the crucible. Thus, it is concluded that the use of sachets TNT is an alternative to reduce costs and time spent on NDF analysis, however this presents a lower precision compared to the original technique using the crucible. In the third chapter aimed to evaluate the reduction in the number of days of feces collection for determination of fecal excretion of dry matter (DM) and digestibility parameters and to evaluate the dry matter intake of sheep confined to conducting analysis single or periodic reviews of food provided and the trough of leftovers. To evaluate the reduction in the number of days the fecal collection was used 32 experimental units which were collected stools daily, and the mean values of 5, 4, 3, 2 and 1 day were compared, using orthogonal contrast, the fecal excretion of MS and digestibility. To evaluate the reduction in the number of analyzes to determine the nutrient intake, we used 276 food samples provided and leftovers coming from 3 performance experiments with feedlot sheep, which were analyzed individually by period or sample of the experimental periods. The sampling methods were compared by analysis of variance. For all statistical procedures, stood at 0.05 the critical level of probability for error type 1. It was also evaluated the Middle bias, Concordance Coefficient of Correlation and Prediction Square Error of the Middle of the methodologies used. Fecal excretion of MS and DM digestibility showed no difference between the smallest number of collection days regarding the collection in five days, however with the evaluation of the regression parameters was observed that the use of more days delivers results more reliable. The measurement of nutrient consumption values was unaffected by the use of only one food analysis provided and remains proportional sample of all experimental periods. Finally, in the fourth chapter aimed to assess the adequacy of seven non-linear models

(France, Orskov & McDonald, Gompertz, simple and bicompartimental and simple two-*compartment logistics exponential) in the curve fit and the generation of cumulative production parameters five tropical food gases (rice husks, sugar cane, cassava scrapings, turnip residue and residue of peach palm) used in ruminant nutrition. To this end, held by incubation in vitro in triplicate food in graduated glass syringes with a buffered solution of inoculant. The reading of gas production was performed at times 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 26, 28, 30, 32, 36, 48, 52, 54, 56, 60 and 72 hours. The data generated were used to generate the parameters of each model using the SAS statistical package. After generation of parameters were obtained gas volume values in the above time, for each model, and these were compared to the values observed upon incubation through the program Evaluation System Model (SSM). For comparison, we tested the Mayer test the regression parameters, besides the evaluation of the mean bias values (VM), the correlation concordance coefficient (CCC) and average prediction error square (MSEP). Models of France, Logistic and Gompertz for rice husk, besides the model Orskov & McDonald, for cassava scrapings were significant (P <0.1) to Mayer test, indicating lack of model fit. Models had presented adjustment according to Mayer test, in addition to having the smallest MSEP were the Logistics bicompartimental to the shell of rice and cassava scrapings and the Exponential bicompartimental to cane sugar, turnip and peach palm. Thus, the nonlinear bicompartimental models are most efficient for the curve fitting and generating cumulative gas production parameters of the tested food.

Keywords: collection days, indicators, models, NDF, sampling

---

* Advisor: José Augusto Gomes Azevêdo, Dr. UFV and Co-advisor: Luiz Gustavo Ribeiro Pereira, Dr. UFMG

I – REFERENCIAL TEÓRICO

1. INTRODUÇÃO

Grande parte das linhas de pesquisa na área de nutrição de ruminantes é voltada para a busca de alternativas para avaliar o valor nutricional de alimentos e/ou dietas, visando a obtenção de estimativas exatas e precisas da disponibilidade de nutrientes, associando redução de mão-de-obra e de custos aos procedimentos experimentais.

A digestibilidade é reconhecidamente um dos principais parâmetros do valor nutritivo. A estimação de parâmetros de digestibilidade dietética tem como ponto inicial a obtenção da porção ingerida não aproveitada durante a passagem pelo trato gastrintestinal (Detmann et al., 2004), naturalmente representada pelas fezes excretadas pelo animal.

A obtenção de estimativas de excreção fecal via coleta total de fezes constitui processo dispendioso, requer controle rigoroso da ingestão e excreção diária e pode resultar em contaminação das amostras, quando estas são coletadas do chão ou carecendo, ainda, de adaptação dos animais às gaiolas e às bolsas coletoras, causando desconforto e interferência no comportamento, tornando-se inviável em algumas situações, como por exemplo, em ensaios de pastejo.

Uma maneira de reduzir a mão-de-obra e a interferência humana nos padrões de comportamento animal durante um período de coleta de fezes é a redução do número de dias de coleta. Entretanto, os ruminantes exigem períodos mais longos de coleta devido à variação diária na excreção fecal. Sendo assim, quanto mais longo o período de coleta, mais precisos são os resultados, pois o efeito da variação diária será minimizado, desde que o animal mantenha regularidade e integralidade no consumo (Silva & Leão, 1979).

Contudo, considerando que os custos e o tempo de experimentação devem ser minimizados, busca-se redução do período de coleta de fezes sem a perda da exatidão e precisão experimental. Desta forma, o período de coleta deve ter duração suficiente para reduzir ao máximo os erros resultantes da excreção diária irregular de fezes.

Alternativamente à coleta total das fezes, têm-se proposto métodos indiretos para estimação da excreção fecal e dos parâmetros de digestibilidade, destacando-se entre esses o método dos indicadores, o qual apresenta vantagens sobre a coleta total de fezes, a exemplo da simplicidade e conveniência de utilização (Berchielli et al., 2000).

Um indicador consiste de substância ou composto empregado para monitorar aspectos físicos ou químicos da digestão. Este pode ser de natureza externa (exótico aos componentes da dieta), ou interna (constituinte dos alimentos) (Detmann et al., 2004). Para que um indicador seja considerado ideal, este não deve ser absorvido, ou deve ter digestibilidade constante e conhecida; não deve afetar ou ser afetado pelo trato gastrintestinal ou sua população microbiana; deve fluir paralelamente ou ser fisicamente similar ou se associar intimamente com o material a ser avaliado; e deve possuir um método de quantificação rápido e preciso (Casali, 2006).

De modo geral, os indicadores internos apresentam naturalmente algumas características dos indicadores ideais, destacando-se a não influência negativa sobre a microbiota e sobre o sistema digestório e fluxo paralelo ao material avaliado, uma vez que esses são constituintes naturais dos alimentos. Dessa forma, a verificação das características ideais sobre indicadores dessa natureza deve centrar-se sobre questões relacionadas à recuperação desses após a exposição aos eventos do trato gastrintestinal (Detmann et al., 2007).

Particularmente na nutrição de animais ruminantes, a análise e quantificação dos componentes fibrosos são de grande importância, já que, normalmente representa parte significativa da energia de baixo custo da dieta, fornece suporte para manutenção da função ruminal e crescimento dos microrganismos no rúmen, além de ser o principal componente do alimento a afetar o consumo de matéria seca, por conter as frações indigestível e lentamente digestível dos alimentos, as quais são responsáveis por ocupar espaço no trato gastrintestinal (Mertens, 1994).

Van Soest (1963) desenvolveu o sistema detergente para análises de alimentos, o qual foi aceito pela AOAC em 1980. O princípio do método é a solubilização de constituintes do conteúdo celular através do emprego de uma solução neutra de lauril sulfato de sódio (pH 7,0) e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), seguida por filtragem e recuperação dos componentes insolúveis (basicamente celulose, hemicelulose, lignina, proteína lignificada e sílica).

A filtragem em cadinhos filtrantes, como proposto inicialmente, aumenta o tempo necessário no processo analítico reduzindo assim a velocidade da obtenção de dados experimentais, principalmente quando há grande quantidade de amostras a serem avaliadas.

Além disso, quando se deseja utilizar o resíduo da FDN para realização de outras análises (ex. compostos nitrogenados insolúveis em detergente neutro e cinzas insolúveis em detergente neutro), apenas o uso de cadinho, sem material auxiliar de filtração, dificulta a retirada do resíduo para a análise posterior.

Análises laboratoriais de alimentos e fezes em experimentos de nutrição animal geram grandes custos e mão-de-obra na pesquisa. A redução do número de análises laboratoriais pode reduzir tanto o custo, principalmente pela economia de reagentes químicos utilizados, quanto o tempo gasto pelo pesquisador/técnico na realização das mesmas.

Em experimentos contínuos (não rotacionados) onde a unidade experimental (animal) receba a mesma dieta durante todo o período experimental, uma forma de promover esta redução do número de análises é realizar amostragem do alimento fornecido e das sobras diárias de todo o período experimental, realizando assim análise de uma única amostra para determinação dos índices desejados, por exemplo, consumo dos nutrientes.

Ainda como meio de reduzir mão-de-obra, principalmente quando se busca avaliar grande número de alimentos e/ou dietas, a seleção de uma quantidade menor de tratamentos a serem testados pode ser viável. Uma maneira de proceder esta seleção é através de experimentos *in vitro* com posterior avaliação *in vivo* apenas dos tratamentos de melhor resultado. Dentre as metodologias *in vitro*, a determinação da produção de gases e cinética de fermentação ruminal tem apresentado resultados satisfatórios na avaliação de alimentos e dietas para ruminantes (Maurício et al., 2003).

Para determinação dos parâmetros da cinética de degradação ruminal e da curva de produção de gases *in vitro*, modelos não lineares são utilizados, entretanto encontra-se disponível na literatura uma gama de equações que podem ser utilizadas (France et al., 2005; Melo et al., 2008; Rodrigues et al., 2009; Uckards et al., 2013; Uckards & Efe, 2014), cabendo ao pesquisador identificar a mais adequada às condições experimentais do estudo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Utilização de indicadores internos

Entre os indicadores internos utilizados em ensaios com ruminantes, destacam-se alguns componentes indigestíveis dos alimentos, como as frações químicas matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi). Estes indicadores podem ser utilizados tanto na estimação da produção fecal, como na obtenção de estimativas dos coeficientes de digestibilidade e ingestão de alimentos (Casali, 2006)

Várias são as pesquisas voltadas à avaliação destes indicadores, porém os resultados ainda são divergentes. Cabral et al. (2008), avaliaram os indicadores internos FDNi e FDAi obtidos *in vitro*, na determinação da excreção fecal de matéria seca (EFMS) e digestibilidade e concluíram que o FDNi foi preciso na determinação de ambos, já o FDAi superestimou a EFMS e subestimou a digestibilidade em ensaio com bovinos. Já Sampaio et al. (2011) avaliaram os indicadores MSi, FDNi e FDAi e concluíram que todos os indicadores foram eficazes na determinação da EFMS em bovinos confinados.

Em ensaio com ovinos Detmann et al. (2007) analisaram apenas a recuperação fecal dos indicadores MSi, FDNi e FDAi e observaram recuperação total dos dois primeiros, demostrando assim sua aplicabilidade em experimentos de digestibilidade, porém o FDAi apresentou excreção maior do que o que foi consumido pelo animal, inviabilizando sua utilização. Já Vargas (2011) concluiu que o FDAi foi eficaz e o FDNi, ineficaz para determinar a digestibilidade em ovinos.

Em experimento com caprinos e ovinos, Carvalho et al. (2013a) avaliaram apenas a recuperação fecal dos indicadores e concluíram que o MSi e FDNi, apresentaram recuperação fecal completa enquanto o FDAi apresentou recuperação fecal incompleta.

2.2. Métodos de filtragem para análise da fibra em detergente neutro

O uso de cadinhos filtrantes, como proposto inicialmente por Van Soest (1963) aumenta o tempo necessário no processo de filtragem além de dificultar a análises de resíduos a FDN.

Para proporcionar resultados exatos e precisos, que garantisse sistema de digestão e filtragem homogênea para todas as amostras a Ankom Technology Corp desenvolveu um método alternativo que utiliza sacos de filtragem (*Filter Bag*) e uma câmara pressurizada. Os resultados pelo sistema ANKON mostraram-se eficientes, não diferindo dos valores observados quando se utilizou metodologia convencional (Bortolassi et al., 2000; Berchielli et al. 2001; Ferreira & Mertens, 2007; Geron et al., 2014).

O alto custo do processo, no entanto, tem levado à utilização do tecido não tecido (TNT), como substituto dos sacos de filtragem da Ankon (F57), visando reduzir custo e aumentar a acessividade à análise (Casali et al., 2009; Valente et al., 2011).

Ferreira e Mertens (2007) observaram semelhança entre os sistemas de filtragem com cadinhos e F57 (ankon filter bag) para silagem de milho. O F57 possui uma matriz capaz de reter o máximo de solvente por fluxo de solução, de suportar ácido sulfúrico a 72%, não contêm nitrogênio e cinzas e apresenta porosidade de 25 microns, capaz de evitar perdas por partículas finas (Ankom Technology Corp., Fairport, NY).

Da mesma forma, Geron et al. (2014) avaliaram a técnica convencional (uso de cadinhos) e a técnica com sacos F57 para análise de FDN em diferentes gramíneas e não observaram diferenças em relação á utilização das diferentes técnicas

Casali et al. (2009) observaram, por microfotografias eletrônicas de varredura, que o tecido F57 e TNT apresentam arranjo das malhas bastante semelhantes, sendo que a deposição das fibras sintéticas não permite evidenciar regularidade no arranjo geométrico. Estes autores ao compararem as concentrações de FDNi em alimentos, não verificaram diferenças significativas entre as estimativas obtidas via TNT e F57, demonstrando a eficiência do TNT como material alternativo.

Também neste contexto, Valente et al. (2011) avaliaram a utilização de diferentes tecidos em análises de FDN em alimentos e fezes bovinas e não observaram diferenças entre os resultados obtidos com a utilização do TNT e F57.

2.3. Dias de coleta de fezes e amostragem de alimento fornecido e sobras

A quantificação dos nutrientes não digeridos e absorvidos durante a passagem pelo trato gastrointestinal do animal requer a determinação da excreção fecal, seja ela por coleta total das fezes ou por utilização de indicadores. Mesmo apresentando

inconvenientes como a necessidade de utilização de bolsas coletoras, gaiolas metabólicas ou o risco de contaminação das amostras, a coleta total apresenta dados mais precisos em comparação aos valores de excreção fecal estimados por utilização de indicadores.

A utilização das bolsas coletoras provoca alterações do comportamento animal, inclusive do comportamento ingestivo, durante o período de coleta de dados, período este em que o animal permanece com a bolsa. Uma maneira de minimizar este inconveniente da técnica é reduzir o número de dias de coleta de fezes.

A utilização de 5 dias de coleta de fezes é amplamente utilizada em experimentos de digestibilidade (Lee & Hristov, 2013; Kanani et al., 2014; Oliveira Filho et al., 2015) entretanto alguns experimentos já demonstraram que dois dias de coleta de fezes são suficientes para determinar os parâmetro de excreção fecal, por exemplo Assis et al. (2004) e Pina et al. (2006) com vacas leiteiras e Carvalho et al. (2013b) com ovinos.

Os trabalhos conduzidos no sentido de avaliar o número de dias de coleta de fezes necessário para determinação da excreção fecal compararam um número de dias considerado padrão (4 a 6 dias de coleta) com um número fixo menor (geralmente 2 dias). Mesmo identificando a não de diferença entre as metodologias (número de dias de coleta) os autores não avaliaram precisão e acurácia dos dados obtidos com os diferentes métodos.

Experimento que avaliou uma maior quantidade de dias de coleta de fezes em ovinos foi conduzido por Ezequiel et al. (1995). Foi avaliada a coleta de fezes por 1, 2, 3, 4 e 5 dias e os autores concluíram que o maior número de dias de coleta produziram dados de maior confiabilidade, considerando os parâmetros estatísticos avaliados, todavia, os resultados obtidos em 3 dias de coleta foram adequados devido à semelhança estatística observada com os períodos mais longos. Entretanto, este trabalho apresentou falha metodológica, reconhecida pelos autores na publicação. No início do período de coleta de dados, a alimentação fornecida aos animais foi restrita (85% do consumo ad libitum), desta forma, a coleta de fezes nos primeiros dias foi maior, visto a não restrição alimentar no período de adaptação, tendo normalizado com o decorrer dos dias de coleta.

Assim como os parâmetros de digestibilidade, a quantificação dos nutrientes consumidos pelos animais é de extrema importância nos experimentos de Nutrição

Animal. Em experimentos com animais confinados, obtém-se este valor através da subtração da sobra de alimento no cocho do alimento fornecido. Geralmente, os experimentos são conduzidos em períodos onde tanto o alimento fornecido quanto às sobras diárias são agrupadas gerando uma amostra por período.

Em experimentos de desempenho em confinamento, no qual o animal recebe o mesmo alimento durante todo o experimento, obtêm-se sobras aparentemente homogêneas visto que a seleção é realizada pelo mesmo animal dentro e entre os períodos. Sendo assim, o agrupamento das amostras tanto de alimento fornecido quanto de sobras, pode reduzir mão de obra e gastos no processo analítico.

Sobre esta avaliação, a literatura científica é limitada, podendo ser citado um resumo de Zanetti et al. (2014) que compararam os valores de consumo de nutrientes obtidos a partir da determinação destes nas sobras através de análises semanais ou uma única amostra composta pelas 12 semanas do período experimental. Não foi observada diferença entre os valores obtidos pelos dois métodos e uma redução considerável na mão-de-obra e custos com reagentes pode ser esperada.

Acredita-se que este mesmo resultado possa ser obtido para as análises do alimento fornecido, visto que este provavelmente irá apresentar menor variação do que as sobras. Vale ressaltar que esta alternativa deve ser utilizada apenas em experimentos com animais confinados onde a mesma unidade experimental (animal) receberá o mesmo alimento, nas mesmas condições experimentais, durante todo o período experimental.

2.4. Modelos não-lineares para determinação dos parâmetros da cinética de fermentação ruminal *in vitro*

A técnica que mensura a produção cumulativa dos gases *in vitro* vem sendo utilizado com sucesso para avaliação do comportamento digestivo dos alimentos. O objetivo é mensurar a taxa de produção dos gases, os quais podem ser usados para predizer a taxa de degradação dos alimentos, assumindo que a quantidade de gases produzidos é reflexo da quantidade de substrato degradado (Dijkstra et al., 2005).

Nesta técnica o substrato fica em contato com microrganismos ruminais no interior de frascos, onde se tenta reproduzir as condições predominantes do rúmen-retículo (presença de microrganismos, anaerobiose, temperatura de 39ºC, poder tampão

e pH de 6,9), visando repetir o que ocorre *in vivo* num determinado tempo de incubação. A duração do período de incubação varia de acordo com a estimativa de digestibilidade desejada e da expectativa de retenção do alimento no rúmen.

O princípio da técnica consiste em determinar as variações do volume dos gases produzidos *in vitro* oriundos do metabolismo microbiano. Os gases produzidos durante o processo de fermentação representam a soma dos gases produzidos pela descarboxilação oxidativa do piruvato (CO_2 e CH_4), e os que são produzidos pela reação entre o tampão e os AGV para manutenção do pH do meio (Beuvink & Spoelstra 1992).

Após o término da incubação, ajustam-se os dados aos modelos matemáticos. Diversos modelos não-lineares estão disponíveis para ajuste das curvas de produção de gases para determinação dos parâmetros de degradação ou perfil de fermentação. O principal objetivo destes modelos é descrever as alterações do sistema em função do tempo de incubação.

A produção cumulativa dos gases em função do tempo é representada graficamente por três fases distintas: 1) fase de lenta ou nenhuma produção de gases (fase inicial), 2) a fase de rápida produção de gases (fase exponencial) e, 3) a fase em que a taxa de produção de gases é lenta podendo até cessar (fase assintótica) (Beuvink & Kogut, 1993).

Os parâmetros mais importantes para utilização da cinética de fermentação dos alimentos *in vitro* são: o período de latência, a taxa máxima de crescimento específico e o valor da assíntota. O período de latência ou fase inicial indica o tempo necessário para hidratação, aderência e colonização pelos microrganismos ruminais ao substrato. A taxa de produção dos gases fornece informações relativas à disponibilidade do substrato (France et al., 1990). Esse parâmetro pode estar intimamente relacionado com a taxa de degradação do alimento no rúmen. O total da produção dos gases (assíntota) foi demonstrado ter uma estreita relação com a digestibilidade (Menke et al. 1979).

Várias equações não-lineares já foram propostas e testadas para os diferentes substratos utilizadas (France et al., 2005; Melo et al., 2008; Rodrigues et al., 2009; Uckards et al., 2013; Uckards & Efe, 2014), sendo que cada um apresentam suposições e tratamentos distintos.

Os modelos exponencial, logístico, Orskov & McDonald (1979) e Gompertz consideram que a taxa de produção de gases seja constante em função do tempo, pois nenhum deles está baseado em um sistema compartimental.

O modelo de France, proveniente da generalização da equação de Mitscherlich, apresenta a vantagem de que a taxa específica de produção de gases pode variar ao longo do processo fermentativo (France et al., 1993). Este modelo permite que a taxa de degradação fracional permaneça constante, diminua ou aumente assintoticamente com o tempo, levando em consideração a dinâmica da fração dos componentes do alimento. No entanto, o modelo de France foi criticado por possuir parâmetros (b e c) sem interpretação biológica (Fondevila & Barrios, 2001).

Modelos para avaliar a cinética de digestão com base no acúmulo de gases tendo abordagem para um único pool (France et al., 1993) não possuem total aplicabilidade. Tais modelos podem ter um alto valor preditivo para substratos simples, mas não foram projetados para avaliar a cinética com multi-pool. Um modelo com um único pool tende a não evidenciar a presença de dois componentes em um substrato, diferentemente do ajuste proporcionado para modelos que consideram pool distinto. Além disso, os parâmetros utilizados nestes modelos carecem de uma melhor compreensão biológica.

Os modelos multifásicos consideram que cada substrato (fase) é digerido independente. Isto pode responder as diferenças na acessibilidade do substrato devido à hidratação das partículas, aderência microbiana e ao aumento no número de microrganismos após o tempo de latência. Conforme Doane et al. (1997), o compartimento duplo pode ocorrer pela fermentação de substratos heterogêneos, de duas populações microbianas distintas, ou pela combinação dos fatores.

Quando o alimento não é um substrato homogêneo, o uso de modelos matemáticos mais complexos pode prever, de forma mais adequada, as mudanças na cinética de digestão das frações de carboidratos. De acordo com Schofield et al. (1994), os modelos multicompartimentais apresentam melhor qualidade de ajuste que os modelos baseados em cinética de primeira ordem. Adicionalmente, Fondevila & Barrios (2001) mencionaram que os modelos multicompartimentais são mais adequados quando se utilizam um número muito grande de leituras, tal como ocorre nos sistemas automatizados.

O modelo logístico bicompartimental apresenta características do ponto de vista nutricional mais relevantes que os demais modelos, haja vista que esse possui artifícios matemáticos passíveis de calcular curvas de produção de gases pela degradação dos carboidratos totais e fração B2 do sistema de Cornell (carboidratos fibrosos). Procedendo-se à técnica de subtração, obtém-se uma terceira curva pela degradação das

frações A+B1 do sistema de Cornell, composta por açúcares solúveis, amido e pectina (Schofield & Pell, 1995). Assim, esse modelo divide a produção total de gases em dois compartimentos distinguidos pelas suas taxas de digestão (rápida e lenta).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, A. J.; CAMPOS, J. M. S.; QUEIROZ, A. C.; VALADARES FILHO, S. C.; EUCLYDES, R. F.; LANA, R. P.; MAGALHÃES, AL. L. R.; MENDES NETO, J.; MENDONÇA, S. S. Polpa cítrica em dietas de vacas em lactação. 2. Digestibilidade dos nutrientes em dois períodos de coleta de fezes, pH e nitrogênio amoniacal do líquido ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 251-257, 2004.

BEUVINK, J. M. W.; SPOELSTRA, S. F. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of different carbohydrates by mixed rumen organisms in vitro. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 37, p. 505-509, 1992.

BEUVINK, J. M. W.; KOGUT, J. Modeling gas production kinetics of grass silages incubated with buffered ruminal fluid. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 1041-1046, 1993.

BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C.L. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.830-833, 2000.

BERCHIELLI, T. T.; SADER, O. P. A.; TONANI, F. L.; PAZIANI, S. F.; ANDRADE, P. Avaliação da determinação da fira em detergente neutro e da fibra em detergente ácido pelo sistema ANKOM. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 1572-1578, 2001.

BORTOLASSI, R. J.; SANTOS, T. G.; ALCALDE, C. R.; GONÇALVES, G. D.; ZAMBOM, M. A.; FURLAN, A. C. Comparação dos métodos convencional e Filter Bag Technique da Ankom para determinação de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido. **Acta Scientiarum**, v. 22, p. 807-811, 2000.

CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J. T.; SOUZA, A.L.; VELOSO, R. G. Avaliação de indicadores na estimação da excreção fecal e da digestibilidade em ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, p. 29-34, 2008.

CARVALHO, G. G. P.; GARCIA, R.; PIRES, A. G. V.; SILVA, R. R.; DETMANN, E.; OLIVEIRA, R. L.; RIBEIRO, L. S. O. Long-term bias of internal markers in sheep and goat digestion trials. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 26, p. 65-71, 2013.

CARVALHO, G. G. P.; GARCIA, R.; PIRES, A. G. V.; SILVA, R. R.; DETMANN, E.; EUSTÁQUIO FILHO, A.; RIBEIRO, L. S. O.; CARVALHO, L. M. Diets based on sugar cane treated with calcium oxide for lambs. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 26, p. 218-226, 2013.

CASALI, A. O. **Procedimentos metodológicos *in situ* na avaliação do teor de compostos indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos**. Viçosa, 2006, 47 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, 2006

CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; PEREIRA, J. C.; CUNHA, M.; DETMANN, K. S. C.; PAULINO, M. F. 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.

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J. T.; CABRAL, L. S. Avaliação da técnica dos indicadores na estimação do consumo por ruminantes em pastejo. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, v.45, p.40-57, 2004.

DETMANN, E.; SOUZA, A.L.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S. C.; CABRAL, L. S.; ZERVOUDAKIS, J. T. 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.

DIJKSTRA, J.; KEBREAB, E.; BANNINK, A.; FRANCE, J.; LOPEZ, S. Application of the gas production technique in feed evaluation systems for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 123-124, p. 561-578, 2005.

DOANE, P. H.; PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. The effect of preservation method on the neutral detergent soluble fraction of forages. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 1140-1148, 1997.

EZEQUIEL, J. M. B.; SAMPAIO, A. A. M.; OLIVEIRA, M. D. S. Efeito do período de coleta sobre a digestibilidade de alguns nutrientes, em ensaios com ovinos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 24, p. 261-269, 1995.

FERREIRA, G.; MERTENS, D.R. Measuring detergent fiber and insoluble protein in corn silage using crucibles or filter bags. **Animal Feed Science and Technology**, v. 133, p. 335-340, 2007.

FONDEVILA, M.; BARRIOS, A. The gas production technique and its application to the study of the nutritive value of forages. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 35, p. 187-196, 2001.

FRANCE, J.; DHANOA, M. S.; THEODOROU, M. K.; LISTER, S. J.; DAVIES, D.R.; ISAC, D. A model to interpret gas accumulation profiles associated with in vitro degradation of ruminant feeds. **Journal of Theoretical Biology**, v. 163, p.99-111, 1993.

FRANCE, J.; LÓPEZ, S.; KEBREAB, E.; BANNINK, A.; DHANOA, M. S.; DIJKSTRA, J. A general compartmental model for interpreting gas production profiles. **Animal Feed Science and Technology**, v. 123-124, p. 473-485, 2005.

FRANCE, J.; THORNLEY, J. H. M.; LOPEZ, S.; SIDDONS, R. C.; DHANOA, M. S.; VAN SOEST, P. J.; GILL, M. On the two-compartment model for estimating extent of feed degradation in the rumen. Journal of Theoretical Biology, v. 146, p. 269-287, 1990.

GERON, L. J. V.; CABRAL, L. S.; TRAUTMANN-MACHADO, R. J.; ZEOULA, L. M.; OLIVEIRA, E. B.; GARCIA, J.; GONÇALVES, M. R.; AGUIAR, R. P. S. Avaliação do teor de fira em detergente neutro e ácido por meio de

diferentes procedimentos aplicados às plantas forrageiras. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, p. 1533-1542, 2014

KANANI, L.; PHILIPP, D.; COFFEY, K. P.; KEGLEY, E. B.; WEST, C. P.; GADBERRY, S.;JENNINGS, J.; YOUNG, A. N.; RHEIN, R. T. Comparison of acid-detergent lignin, alkaline-peroxide lignin , and acid-detergent insoluble ash as internal markers for predicting fecal output and digestibility by cattle offered bermudagrass hays of varying nutrient composition. **Journal of Animal Science and Biotechnology,** v. 5, p. 7-14, 2014.

LEE, C.; HRISTOV, A. N. Short communication: evaluation of acid-insoluble ash and indigestible neutral detergent fiber as total-tract digestibility markers in dairy cows fed corn silage-based diets. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 5295–5299, 2013.

MAURÍCIO, R. M.; PEREIRA, L. G. R.; GONÇALVE, L. C.; RODRIGUEZ, N. M. Relação entre pressão e volume para implantação da técnica in vitro semi-automática de produção de gases na avaliação de forrageiras tropicais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, p. 216-219, 2003.

MENKE, K. H.; RAAB, L.; SALEWSKI, A.; STEINGASS, H.; FRITZ, D.; SCHNEIDER, W. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they incubated with liquor in vitro. Journal of Agricultural Science, v. 93, p. 217-222, 1979.

MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR., G. C.; MOSER, L. E.; MERTENS, D.R. (Eds.). **Forage quality, evaluation and utilization**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America, 1994. pp. 450-493.

MELLO, R.; MAGALHÃES, A. L. R.; BREDA, F. C.; REGAZZI, A. J. Modelos para ajuste da produção de gases em silagens de girassol e milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 261-269, 2008.

OLIVEIRA FILHO, C. A. A.; AZEVÊDO, J. A. G.; CARVALHO, G. G. P.; SILVA, C.F.P.G.; SANTOS, J. D. Glicerina bruta associada à silagem de sorgo em dietas para cordeiros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, p. 474-482, 2015.

ORSKOV, E. R.; MCDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Scienc**e, v. 92, p. 499-503, 1979.

PINA, D. S.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; VALADARES, R. F. D.; CAMPOS, J. M. S.; MORAES, K. A. K.; OLIVEIRA, A. S.; PAIXÃO, M. L. Efeitos de indicadores e dias de coleta na digestibilidade dos nutrientes e nas estimativas do valor energético de alimentos para vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 2461-2468, 2006.

RODRIGUES, M. A. M.; CONE, J. W.; FERREIRA, L. M. M.; BLOK, M. C.; GUEDES, C. V. M. Relationship between in situ degradation kinetics and in vitro gas

production fermentation using different mathematical models. **Animal Feed Science and Technology**, v. 151, p. 86-96, 2009.

SAMPAIO, C. B.; DETMANN, E.; VALENTE, T. N. P.; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, M. F. Evaluation of fecal recovering and long term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.174-182, 2011.

SCHOFIELD, P.; PELL, A. N. Measurement and kinetic analysis of the neutral detergent soluble carbohydrate fraction of legumes and grasses. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 3455-3463, 1995.

SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A. N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2980-2991, 1994.

SILVA, J. S. C.; LEÃO, M. I. **Fundamentos de Nutrição de Ruminantes**. Piracicaba: Livroceres, 1979. 379 p.

UCKARDES, F.; KORKMAZ, M.; OCAL, P. Comparison of models and estimation of missing parameters of some mathematical models related to in situ dry matter degradation. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 23, p. 999-1007, 2013.

UCKARDES, F.; EFE, E. Investigation on the usability of some mathematical models in in vitro gas production techniques. **Slovak Journal of Animal Science**, v. 47, p. 172-179, 2014.

VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A. C.; SAMPAIO, C. B.; GOMES, D. I. 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**, v. 40, p. 1148-1154, 2011.

VAN SOEST, P. J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. A rapid method for the determination of fibre and lignin. **Journal of the Association Official Agricultural Chemists**, v. 46, p. 829-835, 1963.

VARGAS, J. H. D. Comparación de los marcadores internos: fibra en detergente neutro (FDNi) y ácido(FDAi) indigestibles y colecta total de heces para estimar la digestibilidad en ovinos de pelo. **Revista Colombiana de Ciencia Animal** , v. 4, p. 53-70, 2011.

ZANETTI, D.; VALADARES FILHO, S. C.; PACHECO, M. V. C.; PRADOS, L.F.; DETMANN, E.; GODOI, L. A.; RODRIGUES, F. C.; RIBEIRO, R. C. O.; SILVA JUNIOR, J. M.; ALVARENGA,S.A. Use of grouped samples of orts does not compromise feed intake data in studies of confined cattle. In: **Joint Annual Meeting of ASAS**, 2014, Kansas City. Joint Annual Meeting of ASAS, 2014. Disponível em: https://asas.confex.com/asas/jam2014/webprogram/Paper7112.html

II – OBJETIVOS

Geral

Avaliar metodologias utilizadas em experimentos de nutrição de ruminantes

Específicos

- Avaliar a recuperação fecal dos indicadores internos MSi, FDNi e FDAi em ovinos confinados;
- Avaliar a eficiência dos indicadores MSi, FDNi e FDAi como estimadores da excreção fecal de matéria seca e digestibilidade em ovinos confinados;
- Avaliar a utilização dos sacos de tecido-não-tecido como material de filtragem em análises de fibra em detergente neutro;
- Determinar o número de dias para coleta total de fezes necessário para quantificar a excreção fecal de matéria seca em ovinos;
- Avaliar a realização de amostragem nas análises de alimento fornecido e sobras para determinação do consumo de nutrientes em ovinos confinados;
- Avaliar a precisão e acurácia de diferentes equações não-lineares utilizadas para estimar os parâmetros da cinética de fermentação ruminal *in vitro* de alimentos tropicais utilizados na nutrição de ruminantes.

III – CAPÍTULO I

Avaliação de indicadores internos como determinantes da excreção fecal de matéria seca e digestibilidade em ovinos confinados

RESUMO – Objetivou-se avaliar a recuperação fecal dos indicadores internos matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) e compará-los como estimadores da excreção fecal de matéria seca (EFMS) e digestibilidade da matéria seca (MS) aos valores observados na coleta total de fezes em ensaios com ovinos confinados. Foram avaliadas 82 unidades amostrais oriundas de dois experimentos. Os indicadores internos foram quantificados nos alimento fornecidos, nas sobras e nas fezes dos animais. A recuperação do indicador foi determinada pela comparação da quantidade de indicador consumida e excretada. A EFMS e a digestibilidade foram determinadas a partir da quantidade de indicador consumido e da concentração deste nas fezes em coleta pontual diretamente do reto dos animais e os valores foram comparados aos valores observados com a coleta total de fezes a partir de contrastes ortogonais. Avaliou-se também o viés médio, o coeficiente de concordância da correlação e o quadrado médio do erro de predição. Para todos os procedimentos estatísticos, fixou-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo 1. O indicador MSi apresentou recuperação fecal completa (100,03%) e foi eficiente em estimar a EFMS (482,9 g/dia) e a digestibilidade da MS (54,2%) em relação aos valores observados na coleta total de fezes (454,7 g/dia e 56,1% para EFMS e digestibilidade da MS, respectivamente). Os indicadores FDNi e FDAi não apresentaram recuperação total nas fezes e não foram eficazes na estimativa da EFMS e digestibilidade da MS.

Palavras chave: componentes indigestíveis, metodologia, recuperação fecal

INTRODUÇÃO

A estimativa de parâmetros de digestibilidade dietética tem como ponto inicial a obtenção da porção ingerida não digerida e absorvida durante a passagem pelo trato gastrintestinal (Detmann et al., 2004), naturalmente representada pelas fezes excretadas.

A obtenção de estimativas de excreção fecal via coleta total de fezes constitui processo dispendioso, requerendo controle rigoroso da ingestão e excreção diária, carecendo, ainda, de adaptação dos animais às gaiolas e às bolsas coletoras, causando desconforto e interferência no comportamento, tornando-se inviável em algumas situações, como por exemplo, em ensaios de pastejo. Alternativamente, têm-se proposto métodos indiretos para estimação de parâmetros de digestibilidade e excreção fecal, destacando-se entre esses o método dos indicadores, o qual apresenta vantagens sobre a coleta total de fezes, a exemplo da simplicidade e conveniência de utilização (Berchielli et al., 2000).

Um indicador consiste de substância ou composto empregado para monitorar aspectos físicos ou químicos da digestão. Este pode ser de natureza externa (exótico aos componentes da dieta), ou interna (constituinte dos alimentos) (Detmann et al., 2004). Para que um indicador seja considerado ideal, este não deve ser absorvido, ou deve ter digestibilidade constante e conhecida; não deve afetar ou ser afetado pelo trato gastrintestinal ou sua população microbiana; deve fluir paralelamente ou ser fisicamente similar ou se associar intimamente com o material a ser avaliado; e deve possuir um método de quantificação rápido e preciso (Casali, 2006).

De modo geral, os indicadores internos apresentam naturalmente algumas características dos indicadores ideais, destacando-se a não influência negativa sobre os sistemas digestivos animal e microbiano e fluxo paralelo ao material avaliado, uma vez que esses são constituintes naturais dos alimentos. Dessa forma, a verificação das características ideais sobre indicadores dessa natureza deve centrar-se sobre questões relacionadas à recuperação desses após a submissão aos eventos do trato gastrintestinal (Detmann et al., 2007).

Várias são as pesquisas voltadas à avaliação destes indicadores, porém os resultados ainda são divergentes. Cabral et al. (2008) avaliaram os indicadores internos fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) obtidos *in vitro*, na determinação da excreção fecal de matéria seca (EFMS) e

digestibilidade e concluíram que o FDNi foi preciso na determinação de ambos, já o FDAi superestimou a EFMS e subestimou a digestibilidade em ensaio com bovinos.

Sampaio et al. (2011) avaliaram os indicadores internos matéria seca indigestível (MSi), FDNi e FDAi e concluíram que todos os indicadores foram eficazes na determinação da EFMS em bovinos confinados.

Em ensaio com ovinos, Detmann et al. (2007) analisaram apenas a recuperação fecal dos indicadores MSi, FDNi e FDAi e observaram recuperação total dos dois primeiros, demostrando assim sua aplicabilidade em experimentos de digestibilidade, porém o FDAi apresentou excreção maior do que o que foi consumido pelo animal, inviabilizando sua utilização. Já Vargas (2011) concluiu que o FDAi foi eficaz e o FDNi, ineficaz para determinar a digestibilidade em ovinos.

Analisando a utilização dos indicadores tanto em ovinos quanto em caprinos, Carvalho et al. (2013) concluíram que o MSi e FDNi, apresentaram recuperação fecal completa enquanto o FDAi apresentou recuperação fecal incompleta.

Desta forma, objetivou-se avaliar a recuperação fecal dos indicadores internos MSi, FDNi e FDAi e comparar os valores de EFMS e digestibilidade da MS calculados a partir dos indicadores aos valores observados na coleta total de fezes em experimentos com ovinos confinados.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia.

Para avaliação da eficácia da utilização dos indicadores internos foram utilizadas amostras de alimento fornecido, sobras e fezes de 18 ovinos Santa Inês, sendo 8 animais provenientes de experimento com inclusão de farelo de cacau na dieta (8 animais x 4 períodos = 32 unidades amostrais) e 10 animais de experimento com inclusão de diferentes níveis de glicerina bruta na dieta dos mesmos (10 animais x 5 períodos = 50 unidades amostrais). Ambos os experimentos foram em duplo quadrado latino (4 x 4 e 5 x 5), onde cada período durou 21 dias, sendo os primeiros 16 para adaptação dos animais e os 5 últimos para coleta total de fezes, além de amostras de alimento e sobras diárias. As amostras foram submetidas à incubação *in situ* segundo método descrito por Casali et al. (2008) para determinação dos teores de MSi, FDNi e FDAi.

A quantidade de indicador consumido (InCons) foi obtida a partir da fórmula:

$$InCons(g) = (Forn\ (g/dia) \times \%\ InForn) - (Sob\ (g/dia) \times \%\ InSob)$$

, onde Forn foi quantidade de alimento fornecido, InForn foi o teor de indicador no alimento fornecido, Sob foi a quantidade de sobras e InSob o teor de indicador nas sobras.

Para determinar a quantidade de indicador excretado (InExc) utilizou-se a seguinte fórmula:

$$InExc\ (g) = Fezes\ (g/dia) \times \%\ InFezes$$

,onde Fezes foi a quantidade de fezes observada na coleta total e InFezes foi o teor de indicador nas fezes

Para determinar a recuperação fecal do indicador utilizou-se a fórmula:

$$RFI\ (\%) = \frac{\mathrm{InExc\ (g/dia}}{\mathrm{InCons\ (g/dia)}}) * 100$$

Foram estimadas a EFMS e a digestibilidade da MS a partir de cada indicador utilizando-se as seguintes fórmulas:

$$EFMS\ (g/dia) = \frac{InCons(g/dia)}{(\%\ InFezes/100)}$$

e

$$DigMS\ (\%) = (\frac{\mathrm{(MSCons\ (g/dia) - EFMS\ (g/dia)}}{\mathrm{MSCons\ (g/dia)}}) * 100$$

As estimativas de excreção fecal e digestibilidade aparente da matéria seca obtidos pela utilização dos indicadores foram comparadas aos dados observados na coleta total de fezes.

Para avaliação da recuperação dos indicadores utilizou-se a análise de variância para comparar as quantidades ingeridas e excretadas de cada um dos indicadores.

A avaliação dos valores de excreção fecal e digestibilidade estimados com a utilização dos indicadores foi realizada pela decomposição da soma de quadrados por meio de contrastes ortogonais (Tabela 1). Os contrastes foram realizados para comparar os valores obtidos com a coleta total de fezes em relação aos indicadores MSi (contraste A), FDNi (contraste B) e FDAi (contraste C). A análise de variância e os contrates ortogonais foram realizados com auxílio do programa SAS (2001), adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

Tabela 1. Distribuição dos coeficientes nos contrastes ortogonais empregados na decomposição da soma de quadrados.

Contraste	CTF	MSi	FDNi	FDAi
A	+1	-1	0	0
B	+1	0	-1	0
C	+1	0	0	-1

CTF – coleta total de fezes; MSi – matéria seca indigestível; FDNi – Fibra em detergente neutro indigestível; FDAi – Fibra em detergente ácido indigestível
Contraste A: CTF vs. MSi; Contraste B: CTF vs. FDNi; Contraste C: CTF vs. FDAi

O viés médio (VM) foi calculado conforme (Cochran e Cox, 1957) com a equação abaixo:

$$VM = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(xi - yi)$$

Em que: x = valores observados; y = valores preditos.

O coeficiente de concordância da correlação (CCC), também conhecido como índice de reprodutibilidade, que considera simultaneamente exatidão e precisão, foi calculado conforme Lin (1989).

A avaliação comparativa da eficiência de predição das equações foi realizada pela avaliação do quadrado médio do erro de predição (QMEP), segundo descrito por Bibby e Toutenburg (1977), conforme a equação abaixo:

$$QMEP = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(xi - yi)^2$$

Em que: x = valores observados; y = valores preditos.

Para avaliação do VM, CCC e QMEP utilizou-se o programa Model Evaluation System (MES), versão 3.0.11. (http://nutritionmodels.tamu.edu/mes.htm, College Station, TX, USA; Tedeschi, 2006).

RESULTADOS

A estatística descritiva dos dados é apresentada na tabela 2. Para todos os parâmetros avaliados os dados obtidos por coleta total de fezes apresentaram menor desvio padrão, o que demonstra menor variabilidade dos dados.

Tabela 2. Estatística descritiva dos dados de recuperação fecal, excreção fecal de matéria seca e digestibilidade estimados pelos indicadores internos matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) das 82 unidades amostrais avaliadas

Item	Mínima	Máxima	Média	Desvio padrão
Recuperação fecal (%)				
MSi	58.53	183,95	100,30	24,50
FDNi	53,53	141,21	90,11	20,23
FDAi	46,01	136,42	84,00	20,35
Excreção fecal de matéria seca (g/dia)				
Coleta total	249,21	789,45	454,37	129,04
MSi	174,07	963,13	482,90	182,30
FDNi	218,55	1071,67	530,69	188,93
FDAi	253,61	1167,93	565,71	179,63
Digestibilidade da MS (%)				
Coleta total	26,79	80,71	56,07	14,70
MSi	13,36	84,02	54,22	19,07
FDNi	4,66	79,79	49,75	19,87
FDAi	0,61	76,46	46,94	17,11

Ao avaliar os resultados para recuperação fecal dos indicadores (Tabela 3) verificou-se que apenas o indicador MSi apresentou excreção igual ao consumo (P>0,05).

Tabela 3. Médias, parâmetros de regressão e valor P da ANOVA dos valores de consumo e excreção dos indicadores internos matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi)

Item	Indicador		
	MSi	FDNi	FDAi
Ingerido (g/dia)	283,24	260,41	202,58
Excretado (g/dia)	268,38	225,69	168,95
Valor de P	0,410	0,020	0,008
r^2	0,746	0,688	0,672

Apenas o indicador MSi não diferiu (P>0,05) na análise de variância, desta forma, os valores de excreção do indicador são semelhantes aos valores de indicador consumido.

O indicador MSi foi o único capaz de estimar com precisão a EFMS observada na coleta total de fezes (Tabela 4).

Tabela 4. Médias de excreção fecal de matéria seca (EFMS), coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P dos contrastes ortogonais associados aos valores obtidos com a coleta total de fezes e com uso dos indicadores internos matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi).

Item		Indicador		
	Coleta total	MSi	FDNi	FDAi
EFMS (g/dia)	453,667	482,897	530,691	565,715
Coeficiente de variação (%)	28,221	37,518	35,376	31,563
Valor de P		0,197[A]	0,002[B]	<0,001[C]
r^2		0,645	0,606	0,420
Viés médio		-25,384	-73,133	-108,154
CCC[a]		0,744	0,655	0,494
QMEP[b]		12952,931	19950,851	30769,192

[A] Contraste A: coleta total vs. MSi; [B] Contraste B: coleta total vs. FDNi; [C] Contraste C: coleta total vs. FDAi
[a] Coeficiente de concordância da correlação
[b] Quadrado médio do erro de predição

Apenas o indicador MSi (contraste A) não apresentou diferença significativa (P>0,05) dos valores estimados de excreção fecal em relação aos valores observados na coleta total de fezes. Este indicador ainda apresentou maiores r^2 (0,645) e CCC (0,744), VM (-25,384) mais próximo de 0 e menor QMEP (12952,931) em relação aos demais indicadores tornando-se assim o mais adequado para estimar a EFMS. Mesmo apresentando diferença (P<0,05) em relação à coleta total de fezes, o indicador FDNi (contraste B), a partir da observação dos valores de r^2, CCC, VM e QMEP, se apresentou mais adequado que o FDAi para a mesma estimativa.

Ao avaliar os valores de digestibilidade da MS, o indicador MSi foi capaz de estimar com precisão os valores observados com a coleta de fezes total (Tabela 5).

Tabela 5. Médias de digestibilidade da MS, coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P dos contrastes ortogonais associados aos valores obtidos com a coleta total de fezes e com uso dos indicadores internos matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi).

Item		Indicador		
	Coleta total	MSi	FDNi	FDAi
Digestibilidade da MS(%)	56,075	54,224	49,751	46,944
Coeficiente de variação(%)	26,059	34,967	39,690	36,245
Valor de P		0,316[A]	0,010[B]	0,001[C]
r^2		0,732	0,692	0,548
Viés médio		1,844	6,321	9,135
CCC		0,823	0,747	0,629
QMEP		102,121	163,268	218,084

[A] Contraste A: coleta total vs. MSi; [B] Contraste B: coleta total vs. FDNi; [C] Contraste C: coleta total vs. FDAi
[a] Coeficiente de concordância da correlação
[b] Quadrado médio do erro de predição

Novamente, apenas o indicador MSi (contraste A) não apresentou diferença significativa (P>0,05) dos valores estimados de digestibilidade com o indicador em relação aos valores calculados com a coleta total de fezes. O MSi apresentou maiores r^2 (0,732) e CCC (0,744), VM (1,844) mais próximo de 0 e menor QMEP (102,121) do que os outros indicadores tornando-se assim o mais adequado para estimar a digestibilidade. Mesmo apresentando diferença (P<0,05) em relação à coleta total de fezes, o indicador FDNi (contraste B), a partir da observação dos valores de r^2, CCC, VM e QMEP, se apresentou mais adequado que o FDAi para a mesma estimativa.

DISCUSSÃO

A partir da análise de variância observou-se que o indicador MSi apresentou recuperação fecal completa, ou seja, a quantidade ingerida não diferiu (P>0,05) da quantidade excretada. O resultado da avaliação para os indicadores FDNi e FDAi foi significativo (P<0,05), indicando a baixa precisão destes indicadores e evidenciando a subestimação da recuperação fecal, ou seja, a quantidade excretada foi inferior à quantidade ingerida, impossibilitando desta forma sua utilização como estimador da EFMS e digestibilidade. O motivo da recuperação incompleta pode ser oriunda do

acúmulo de erros metodológicos visto que o método de determinação do FDNi e FDAi é sequencial e determinado após a determinação do MSi. Ainda é relatado na literatura que devido à menor concentração do FDAi, em relação ao MSi e FDNi, nos alimentos, a confiabilidade das análises se torna prejudicada (Detmann et al., 2004).

Carvalho et al. (2013) observaram recuperação total dos indicadores MSi e FDNi e recuperação incompleta do FDAi, tanto em ovinos quanto em caprinos, diferindo deste experimento em relação ao FDNi.

Outros experimentos têm apresentado resultados parcialmente semelhantes aos encontrados neste estudo. Detmann et al. (2007) observaram recuperação completa da MSi em estudo com ovinos consumindo feno de capim *coast cross* (*Cynodon dactilon*) e concentrado a base de milho e farelo de soja. Estes autores também observaram recuperação completa do FDNi. Já Sampaio et al. (2011) em experimento com bovinos, observaram recuperação completa do indicador MSi, além do FDNi e FDAi, ponto de diferença em relação a esta pesquisa.

Os trabalhos citados acima (Detmann et al., 2007; Sampaio et al., 2011; Carvalho et al., 2013) apresentaram conclusões sobre a eficácia dos indicadores a partir da avaliação da recuperação fecal dos mesmos e do "vício de tempo longo" que é definido como a capacidade do indicador em ser excretado em quantidade similar à consumida, devendo um indicador eficaz apresentar "vício de tempo longo" nulo (Detmann et al., 2007).

Entretanto, nesta pesquisa, além da recuperação fecal do indicador ainda foi avaliada a eficácia dos indicadores na determinação da EFMS e se observou mesmo comportamento, onde os valores calculados com o uso do indicador MSi foram semelhantes ($P>0,05$) e os valores calculados com o uso do FDNi ou FDAi foram diferentes ($P<0,05$) dos valores observados na coleta total de fezes. Como a digestibilidade é estimada a partir da EFMS, foi observado, também, diferença entre a estimativa de digestibilidade obtida através da coleta total de fezes e entre os indicadores FDNi e FDAi. Quando o valor da EFMS é superestimado, o valor da digestibilidade da MS se torna subestimado, visto que, se a excreção fecal for maior, a quantidade retida (digerida e absorvida) pelo trato gastrointestinal será menor.

A literatura é controversa em relação à utilização dos indicadores internos. Por exemplo, Cabral et al. (2008) observaram que a FDNi foi eficaz na determinação da EFMS e digestibilidade da MS em bovinos alimentados com silagem de milho, feno de capim tifton 85 e silagem de capim elefante, já a FDAi foi eficaz na determinação das

variáveis analisadas apenas quando os animais consumiam as silagens de milho ou capim elefante, sendo ineficaz quando se utilizou o feno.

Ferreira et al. (2009) observaram resultados diferentes em dois experimentos. No experimento 1, onde se utilizou novilhas mestiças alimentadas com cana-de-açúcar + uréia a FDNi foi eficaz na determinação da digestibilidade da MS, enquanto a FDAi subestimou esta variável. Já no experimento 2, utilizando vacas em lactação alimentadas com silagem de milho e 4 kg de concentrado/dia, a FDAi apresentou estimativa precisa, enquanto a FDNi superestimou a digestibilidade da MS.

Kozloski et al. (2009) avaliando dados e amostras de 6 experimentos independentes com ovinos alimentados com diferentes alimentos em cada um dos experimentos (fenos de kikuio (*Pennisetum clandestinum*), capim-arroz (*Echinochloa* sp.) e capim-tifton 85 (*Cynodon* sp.), com a presença ou não de diversos suplementos) observaram recuperação mais próxima de 100% do indicador MSi em relação ao indicador FDNi, porém quando se avaliou a digestibilidade da matéria seca estimada com o indicador em comparação ao observado na coleta total de fezes, a MSi subestimou os resultados em 4 dos 6 experimentos, enquanto que a FDNi subestimou a digestibilidade em todos os experimentos analisados.

Vargas et al. (2011) utilizando capim Guiné (Panicum maximun) na alimentação de ovinos, concluíram que a FDAi foi eficaz na determinação da digestibilidade da MS, enquanto a FDNi subestimou esta variável.

Lee & Hristov (2013), fornecendo dois níveis de proteína bruta (PB) para vacas da raça Holandesa em lactação, observaram que o indicador FDNi subestimou a EFMS e consequentemente, superestimou a digestibilidade da MS quando a dieta continha alto teor de PB. Já nas dietas com baixa concentração de PB o comportamento foi inverso, tendo a FDNi apresentado superestimação da EFMS e subestimação da digestibilidade da MS, todos eles em relação aos valores observados na coleta total de fezes.

Aparentemente várias condições estão associadas à eficiência ou não da utilização dos indicadores internos nos ensaios de digestibilidade, por exemplo, tipo da dieta (ingredientes e teor de nutrientes), métodos analíticos (tamanho de partícula, sistema de filtragem, tempo de incubação, condição dos animais utilizados durante a incubação *in situ*) entre outros.

Os resultados desta pesquisa mostraram que apenas o indicador MSi apresentou recuperação fecal completa e foi capaz de estimar com precisão as variáveis de EFMS e digestibilidade da MS.

CONCLUSÕES

Os indicadores internos FDNi e FDAi, apresentam recuperação fecal incompleta, inviabilizando assim sua utilização como estimador da EFMS e digestibilidade da MS em experimento com ovinos confinados.

Os indicador interno MSi apresenta recuperação fecal completa e é capaz de estimar com precisão e exatidão os valores de EFMS e digestibilidade da MS em experimentos com ovinos confinados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C.L. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.830-833, 2000.

BIBBY, J.; TOUTENBURG, H. **Prediction and improved estimation in linear models**. New York: J. Wiley and Sons, 1977.

CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J. T.; SOUZA, A.L.; VELOSO, R. G. Avaliação de indicadores na estimação da excreção fecal e da digestibilidade em ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, p. 29-34, 2008.

CARVALHO, G. G. P.; GARCIA, R.; PIRES, A. G. V.; SILVA, R. R.; DETMANN, E.; OLIVEIRA, R. L.; RIBEIRO, L. S. O. Long-term bias of internal markers in sheep and goat digestion trials. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 26, p. 65-71, 2013.

CASALI, A. O. **Procedimentos metodológicos *in situ* na avaliação do teor de compostos indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos**. Viçosa, 2006, 47 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, 2006.

CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; PEREIRA, J. C.; HENRIQUES, L. T.; FREITAS, S. G.; PAULINO, M. F. 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.

COCHRAN, W. G.; COX, G. M. **Experimental Design**. John Wiley & Sons, New York. 1957.

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J. T.; CABRAL, L. S. Avaliação da técnica dos indicadores na estimação do consumo por ruminantes em pastejo. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, v.45, p.40-57, 2004.

DETMANN, E.; SOUZA, A.L.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S. C.; CABRAL, L. S.; ZERVOUDAKIS, J. T. 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.

FERREIRA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; MARCONDES, M. I.; PAIXÃO, M. L.; PAULINO, M. F.; VALADARES, R. F. D. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 1568-1573, 2009.

KOZLOSKI, G. V.; MESQUITA, F. R.; ALVES, T. P.; CASTAGNINO, D. S.; STEFANELLO, C. M.; SANCHEZ, L. M. B. Avaliação do uso de frações indigestíveis do alimento como indicadores internos de digestibilidade em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 1819-1823, 2009.

LEE, C.; HRISTOV, A. N. Short communication: evaluation of acid-insoluble ash and indigestible neutral detergent fiber as total-tract digestibility markers in dairy cows fed corn silage-based diets. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 5295–5299, 2013.

LIN, L. A. Concordance correlation coefficient to evaluate reprodutibility. **Biometrics**, v. 45, p. 255-268, 1989.

SAMPAIO, C. B.; DETMANN, E.; VALENTE, T. N. P.; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, M. F. Evaluation of fecal recovering and long term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.174-182, 2011.

TEDESCHI, L. O. Assessment of the adequacy of mathematical models. **Agriculture System**, v. 89, p. 225-247, 2006.

VARGAS, J. H. D. Comparación de los marcadores internos: fibra en detergente neutro (FDNi) y ácido(FDAi) indigestibles y colecta total de heces para estimar la digestibilidad en ovinos de pelo. **Revista Colombiana de Ciencia Animal** , v. 4, p. 53-70, 2011.

IV - CAPÍTULO II

Utilização do tecido não tecido para determinação da fibra em detergente neutro

RESUMO – Objetivou-se avaliar a eficácia da utilização dos sacos de tecido-não-tecido (TNT) para analisar teor de fibra em detergente neutro (FDN) de subprodutos regionais. Para tal, utilizou-se como padrão o método convencional que utiliza cadinhos filtrantes no processo de filtração do resíduo. Foram analisados 74 subprodutos regionais quanto à concentração de FDN pelo método convencional (uso de cadinhos filtrantes) e pelo método alternativo (uso de sacos de TNT). As amostras foram colocadas nos sacos ou nos cadinhos e estes foram colocados em frascos plásticos com tampa rosqueada, utilizando-se sempre a proporção de 100 ml de solução de detergente neutro para cada 1 grama de amostra. Os frascos foram levados para autoclave e após solubilização dos componentes não fibrosos foi quantificado o resíduo recuperado em cada uma das metodologias. Os procedimentos de avaliação do uso do TNT basearam-se no ajustamento do modelo de regressão linear simples dos valores observados sobre os preditos, sendo as estimativas dos parâmetros de regressão testadas pela hipótese de nulidade conjunta. Avaliou-se também o viés médio, o coeficiente de concordância da correlação e quadrado médio do erro de predição. Para todos os procedimentos estatísticos, fixou-se em 0,05 o nível crítico de probabilidade para o erro tipo 1. Não foi observada diferença entre as concentrações de FDN determinada pelos diferentes métodos. Ao se avaliar os valores de desvio padrão, observou-se uma menor variabilidade dos dados quando obtidos com a utilização do cadinho. Desta forma, conclui-se que a utilização de sacos de TNT é uma alternativa para reduzir custos e tempo despendido nas análises de FDN, entretanto esta apresenta uma menor precisão quando comparada à técnica original com o uso do cadinho filtrante.

Palavras chave: análise laboratorial, cadinho filtrante, método alternativa

INTRODUÇÃO

A quantificação da fração fibrosa dos alimentos é de grande importância para a nutrição animal, e particularmente para os ruminantes, já que, normalmente representa parte significativa da energia de baixo custo da dieta, fornece suporte para manutenção da função ruminal e crescimento dos microrganismos no rúmen, além de ser o principal componente do alimento a afetar o consumo de matéria seca, por conter as frações indigerível e lentamente digestível dos alimentos, as quais, são responsáveis por ocupar espaço no trato gastrintestinal (Mertens, 1994).

Van Soest (1963) desenvolveu o sistema detergente de análises de alimentos que foi aceito pela AOAC em 1980. O princípio do método é a solubilização de constituintes do conteúdo celular através do emprego de uma solução neutra de lauril sulfato de sódio (pH 7,0) e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), seguida por filtragem e recuperação dos componentes fibrosos (basicamente celulose, hemicelulose, lignina, proteína lignificada e sílica).

A filtragem em cadinhos filtrantes, como proposto inicialmente, aumenta o tempo necessário no processo analítico reduzindo assim a velocidade da obtenção de dados experimentais, principalmente quando há grande quantidade de amostras a serem avaliadas.

Além disso, quando se deseja utilizar o resíduo da FDN para realização de outras análises (ex. compostos nitrogenados insolúveis em detergente neutro e cinzas insolúveis em detergente neutro), apenas o uso de cadinho, sem material auxiliar de filtração, dificulta a retirada do resíduo para a análise posterior.

Para proporcionar resultados exatos e precisos, que garantisse sistema de solubilização e filtragem homogênea para todas as amostras a Ankom Technology Corp desenvolveu um método alternativo que utiliza sacos de filtragem (*Filter Bag*) e uma câmara pressurizada. Os resultados pelo sistema ANKON mostraram-se eficientes, não diferindo dos valores observados quando se utilizou método convencional (Bortolassi et al., 2000; Berchielli et al. 2001; Ferreira & Mertens, 2007; Geron et al., 2014).

O alto custo do material, no entanto, tem levado à utilização do tecido não tecido (TNT), como substituto aos sacos de filtragem da Ankon (F57), visto que o TNT e o tecido F57 apresentam arranjo de malhas semelhantes (Casali et al., 2009), visando, desta forma, reduzir custo e aumentar a acessividade à análise (Casali et al., 2009; Valente et al., 2011).

Para verificar a existência de concordância com o sistema convencional quando se avaliam alimentos alternativos, objetivou-se comparar os resultados de análises de FDN obtidos com filtragem pelo TNT com aqueles realizadas com cadinhos filtrantes.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz, em Ilhéus, Bahia. Foram analisados 72 subprodutos, de diferentes regiões do Brasil (Tabela 6).

Todos os subprodutos avaliados foram submetidos à pré-secagem a 60 ºC durante 72 horas e moídos em moinho de facas com peneira de porosidade de 1mm de diâmetro, para posteriores análises do conteúdo de matéria seca (MS), segundo Detmann et al. (2012).

A solução de detergente neutro foi produzida segundo recomendações de Mertens (2002), sem sulfito de sódio e utilizando-se α-amilase termoestável (Termamyl 2X, Novozymes), na proporção de 50 μL/g de MS.

Tabela 6. Subprodutos alimentares utilizados nas determinações de FDN

Produto	Nome científico	Tipo de subproduto
Abacaxi	*Ananas comosus*	Coroa, casca e subproduto de fábrica de suco
Abóbora	*Cucúrbita moschata*	Subproduto processamento mínimo
Acerola	*Malpighia glabra*	Subproduto de fábrica de suco
Algodão	*Gossypium hirsutum*	Caroço e torta
Arroz	*Oryza sativa*	Casca
Cacau	*Theobroma cacao*	Casquinha da semente; Farelo
Café	*Coffea arábica*	Casca e pergaminho
Cenoura	*Daucus carota*	Subproduto processamento mínimo
Cevada	*Hordeum vulgare*	Subproduto de cervejaria
Couve	*Brassica oleracea*	Subproduto processamento mínimo
Dendê	*Elaeis guineenses*	Torta
Feijão	*Phaseolus vulgaris*	Bandinha
Girassol	*Helianthus annuus*	Subproduto biodiesel
Goiaba	*Psidium guajava*	Subproduto de fábrica de suco
Graviola	*Anona muricata*	Subproduto de fábrica de suco
Jaca	*Artocarpus heterophyllus*	Fruta

Jenipapo	*Genipa americana*	Subproduto de fábrica de suco
Laranja	*Citrus sinensis*	Polpa cítrica peletizada
Mamão	*Carica papaya*	Subproduto de fábrica de suco
Mamona	*Ricinus communis*	Farelo detoxicado e torta gorda
Mandioca	*Manihot esculenta*	Subprodutos folha, casca, haste da mandioca
Manga	*Mangifera indica*	Casca; semente e subproduto de fábrica de suco
Maracujá	*Passiflora ligularis*	Subproduto de fábrica de suco
Milheto	*Pennisetum americanum*	Grão
Milho	*Zea mays*	Farelo proteinoso
Nabo forrageiro	*Raphanus sativus*	Subproduto do biodiesel
Ouricuri	*Syagrus coronata*	Farelo
Pupunha	*Bactris gasipaes*	Entrecasca da extração do palmito
Soja	*Glycine Max*	Casca do grão da soja
Tamarindo	*Tamarindus indica*	Subproduto de fábrica de suco
Trigo	*Triticum vulgare*	Panificação – biscoito
Uva	*Vitis labrusca*	Subproduto de fábrica de vinho

Os sacos de filtragem foram feitos com TNT composto de 100% de poliuretano não texturizado, pesando 100g/m^2, de cor branca, em dimensão de 5 x 5 cm, selados com calor. Antes da análise, os sacos foram identificados com marcador permanente, colocados em solução comercial de detergente neutro (20 ml/L) em ebulição, sendo depois lavados em água destilada, escorridos e imersos por três minutos em acetona. Posteriormente, foram secos em estufa de ventilação forçada de ar a 60ºC, por 24 horas em estufa não-ventilada a 105ºC, por 2 horas para obtenção do peso seco do saquinho (tara) (Detmann et al., 2012). Utilizou-se 500 mg de amostra em cada saquinho, respeitando assim a recomendação de 20 mg de amostra para cada cm² de superfície (Nocek, 1988)

Para análise nos cadinhos, utilizou-se cadinhos filtrantes de vidro borossilicato com placa porosa de vidro sinterizado, de porosidade grossa (cadinho nº 1), previamente pesados (tara) após secagem em estufa não ventilada a 105° por 8 horas. Foi pesada 1 g de amostra e colocada em cada um dos cadinhos (Van Soest, 1963).

Para a fase de solubilização dos componentes não fibrosos, utilizou-se frascos plásticos com tampa de rosca, onde foram colocados os cadinhos filtrantes ou os sacos de TNT, com as amostras. Para ambos os métodos de filtragem se respeitou a proporção de 100 ml de solução de detergente neutro para 1 g de amostra (Van Soest, 1963).

Foram utilizadas duas repetições por amostra. Os frascos foram então levados para autoclave e após atingirem a temperatura de 105ºC, foram mantidos por 60 minutos (Gomes et al., 2011).

Após a fervura na autoclave (Gomes et al., 2011), os frascos com cadinho filtrante ainda quente seguiram para filtração a vácuo, onde o conteúdo residual de cada amostra foi lavado duas vezes com água destilada quente e duas vezes com acetona, para retirada do excesso de detergente. Em seguida, os cadinhos foram conduzidos para estufa de ventilação forçada de ar a 60ºC.

Os sacos de TNT foram retirados dos frascos plásticos e lavados com água destilada quente, e posteriormente imersos em acetona por 3 minutos, para retirada do excesso de detergente, e então, secos em estufa de ventilação forçada de ar a 60ºC, por 48 horas (Detmann et al., 2012).

Por fim, os cadinhos e sacos de TNT, contendo o resíduo do detergente neutro (RDN), foram secos em estufa não-ventilada a 105ºC. Os cadinhos foram secos, por 8 horas (Mertens, 2002) e os sacos por 2 horas (Detmann et al., 2012). Após este período, ambos foram acondicionados em dessecador e pesados para obtenção da FDN.

Os procedimentos para avaliação da técnica foram baseados no ajustamento do modelo de regressão linear simples dos valores observados, obtidos com os cadinhos filtrantes, sobre os valores preditos com os sacos de TNT, sendo as estimativas dos parâmetros de regressão testadas pela hipótese de nulidade conjunta segundo Mayer et al. (1994):

$$Ho : \beta_0 = 0 \text{ e } \beta_1 = 1 \text{ X } Ha : \text{não } Ho.$$

Sob o caso de não rejeição da hipótese de nulidade, concluiu-se pela equivalência entre os valores preditos (TNT) e observados (cadinho filtrante).

O viés médio (VM) foi calculado conforme (Cochran e Cox, 1957) com a equação abaixo:

$$VM = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(xi - yi)$$

Em que: x = valores observados; y = valores preditos.

O coeficiente de concordância da correlação (CCC), também conhecido como índice de reprodutibilidade, que considera simultaneamente exatidão e precisão, foi calculado conforme Lin (1989).

A avaliação comparativa da eficiência de predição das equações foi realizada pela avaliação do quadrado médio do erro de predição (QMEP), segundo Bibby e Toutenburg (1977), conforme a equação abaixo:

$$QMEP = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(xi - yi)^2$$

Em que: x = valores observados; y = valores preditos.

Foi realizada a estatística descritiva dos valores de desvio padrão (DP) encontrados nos dois métodos de análise e as estimativas dos parâmetros de regressão foram testadas pela hipótese de nulidade conjunta segundo Mayer et al. (1994).

Para todos os procedimentos estatísticos, foi utilizado 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados utilizando-se o programa Model Evaluation System (MES), versão 3.0.11. (http://nutritionmodels.tamu.edu/mes.htm, College Station, TX, USA; Tedeschi, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os produtos avaliados foram divididos de acordo com a concentração da FDN, obtidas nos cadinhos filtrantes, em faixas de até 20%; maior de 20 e menor ou igual a 40%; maior que 40 e menor ou igual a 60%; e maior que 60% (Tabelas 7, 8, 9 e 10).

Tabela 7. Concentração média e desvio padrão (DP) da fibra em detergente neutro (% MS) de subprodutos com até 20% de fibra em detergente neutro, obtidos pelos sistemas de filtragem por cadinho e tecido não tecido (TNT)

Amostra	Cadinho		TNT	
	Média	DP	Média	DP
Crueira peneira 1 (mandioca)	5,086	0,071	6,309	0,910
Crueira peneira 2 (mandioca)	5,574	1,072	8,103	0,293
Pó fabrica farinha (mandioca)	5,697	0,027	5,199	0,265
Crueira in natura (mandioca)	5,741	0,072	7,201	0,215
Crueira peneira 3 (mandioca)	8,138	1,050	13,052	5,258
Crueira peneira 0 (mandioca)	8,938	0,385	12,208	1,271
Farelo biscoito	10,216	7,455	10,446	2,130
Casca lavada peneira 1 (mandioca)	10,371	0,687	13,495	0,177
Crueira peneira 4 (mandioca)	10,561	0,124	14,013	2,467

Casca lavada palito (mandioca)	10,614	0,438	16,717	0,441
Casca lavada peneira 4 (mandioca)	11,884	1,183	15,530	0,573
Casca lavada peneira 3 (mandioca)	12,639	3,026	18,203	0,857
Casca lavada peneira 2 (mandioca)	16,761	0,191	22,974	1,658
Cenoura descarte consumo	19,237	1,108	19,321	0,012

Tabela 8. Concentração média e desvio padrão (DP) da fibra em detergente neutro (% MS) de subprodutos superiores a 20 e até 40% de fibra em detergente neutro, obtidos pelos sistemas de filtragem por cadinho e tecido não tecido (TNT)

Amostra	Cadinho		TNT	
	Média	DP	Média	DP
Mamão sem caroço	20,643	0,372	19,358	0,555
Casca lavada 1 (mandioca)	23,328	0,310	26,144	0,004
Cenoura raspa	26,150	0,563	32,611	3,427
Rama peneira 2 (mandioca)	26,250	0,375	33,482	0,657
Girassol	26,319	0,434	25,532	0,712
Raspa de mandioca	27,211	0,909	26,924	0,011
Abóbora	27,403	0,486	32,628	0,486
Polpa cítrica	27,906	6,876	24,480	1,205
Cenoura resíduo grosso	28,917	0,379	29,748	1,262
Nabo	30,194	1,948	31,701	0,551
Casca rosca (mandioca)	31,485	0,364	32,294	0,265
Casca suja (mandioca)	32,168	1,357	36,005	2,543
Manga resíduo do suco	35,091	0,004	34,492	0,282
Milheto	36,171	0,800	31,654	0,897
Cacau farelo	36,391	0,891	33,147	2,433
Rama peneira 1 (mandioca)	37,858	1,600	41,557	1,270
Mamão	38,956	0,785	37,851	1,135

Tabela 9. Concentração média e desvio padrão (DP) da fibra em detergente neutro (% MS) de subprodutos superiores a 40 e até 60% de fibra em detergente neutro, obtidos pelos sistemas de filtragem por cadinho e tecido não tecido (TNT)

Amostra	Cadinho		TNT	
	Média	DP	Média	DP
Feijão	40,153	2,196	42,427	2,803
Couve	40,368	0,654	39,705	3,326
Cenoura resíduo fino	40,567	0,223	53,627	2,515
Mamão caroço	41,271	2,475	44,997	2,871
Manga casca	41,554	1,107	39,308	0,315
Graviola	43,717	1,032	41,435	0,727
Rama peneira 0 (mandioca)	43,792	0,748	46,169	1,252
Mandioca integral	45,919	0,662	47,219	3,557
Algodão caroço	46,110	2,145	50,055	1,659
Cenoura folha convencional	48,556	1,121	45,627	0,395
Mamona	49,482	2,145	56,295	0,865
Cacau (casquinha)	49,492	0,099	45,906	0,726
Rama peneira 4 (mandioca)	49,495	0,749	49,849	0,011
Farelo de glúten de milho	50,837	0,250	37,977	1,576
Jenipapo	51,265	0,333	49,150	0,013
Jaca	53,569	1,086	52,436	1,169
Abacaxi casca	54,950	0,772	52,071	0,115
Abacaxi coroa	55,084	0,133	56,346	1,111
Mamona detoxicado	56,206	1,210	66,549	1,615
Acerola	56,667	0,696	51,983	0,649
Uva	57,520	1,337	54,574	2,024
Rama peneira 3 (mandioca)	57,758	0,215	57,610	0,023
Algodão torta	57,759	0,695	64,505	2,266
Cenoura folha orgânico	58,220	0,228	70,103	13,481
Tamarindo	59,626	3,943	45,578	4,674

Tabela 10. Concentração média e desvio padrão (DP) da fibra em detergente neutro (% MS) de subprodutos superiores 60% de fibra em detergente neutro, obtidos pelos sistemas de filtragem por cadinho e tecido não tecido (TNT)

Amostra	Cadinho		TNT	
	Média	DP	Média	DP
Pupunha	60,441	0,134	60,284	0,439
Rama palito (mandioca)	60,529	0,470	63,615	0,846
Maracujá	61,684	0,033	61,727	0,012
Abacaxi	62,126	0,373	60,638	0,110
Resíduo cervejaria	63,774	1,118	54,085	2,635
Café casca	64,145	2,850	62,126	1,937
Dendê	69,074	0,769	67,830	0,056
Resíduo da fábrica de sabão (palmáceas)	69,416	1,870	70,723	0,966
Manga caroço externo	70,259	2,078	69,524	1,590
Caule (mandioca)	70,792	0,340	73,206	0,004
Farelo de palmiste	74,553	4,237	73,503	0,446
Goiaba	76,109	1,521	76,411	2,742
Casca de soja	76,129	1,246	69,238	0,002
Farelo de Ouricuri	79,845	0,750	75,748	1,016
Casca de arroz	90,125	0,775	91,379	0,690
Café pergaminho	92,410	0,089	92,756	0,739

Não houve ($P > 0,05$) influência do sistema de filtragem do RDN sobre as determinações da FDN nos diferentes subprodutos, independente da faixa de concentração desta (Tabela 11).

A estatística descritiva e o valor da probabilidade (valor P) do teste de nulidade conjunta dos parâmetros da regressão dentro de cada grupo de concentração da FDN nos sistemas de filtragem em cadinho e TNT, encontra-se na Tabela 12.

Tabela 11. Estatística para regressão entre os teores de fibra em detergente neutro obtidos nos sistemas de filtragem (cadinho e tecido não tecido – TNT)

Item	Valores
Intercepto	-0,789
Inclinação	0,997
R^2	0,935
Valor P[1]	0,389
VM	-0,899
CCC	0,966
QMEP	31,759

1H_0: $\beta_0 = 0$ e $\beta_1 = 1$; H_a: $\beta_0 \neq 0$ ou $\beta_1 \neq 1$.
R^2 = coeficiente de determinação,VM = viés médio, CCC = coeficiente de concordância da correlação, QMEP = quadrado médio do erro de predição.

Tabela 12. Estatística descritiva para fibra em detergente neutro (FDN), obtido pelo sistema de filtragem com cadinho e tecido não tecido, de subprodutos agrícolas.

Sistema de filtragem	n	Mínimo[1]	Máximo[1]	Média[1]	CV[2]	Valor P[3]
Subprodutos agrícolas com até 20% de FDN						
Cadinho	14	5,086	19,237	10,104	41,379	0,1120
TNT	14	5,199	22,974	13,055	40,216	
Subprodutos agrícolas com FDN > 20 e ≤ 40%						
Cadinho	17	20,643	38,956	30,144	17,554	0,5048
TNT	17	19,358	41,557	31,153	17,277	
Subprodutos agrícolas com FDN > 40 e ≤ 60%						
Cadinho	25	40,153	59,626	49,998	13,067	0,8281
TNT	25	37,977	70,103	50,460	16,523	
Subprodutos agrícolas com FDN superior a 60%						
Cadinho	16	60,441	92,410	71,338	13,821	0,7500
TNT	16	54,085	92,756	70,175	15,097	

1 em % da MS; 2 em %;3H_0: $\beta_0 = 0$ e : $\beta_1 = 1$; H_a: $\beta_0 \neq 0$ ou $\beta_1 \neq 1$.
CV = coeficiente de variação

Maiores valores de CV na determinação da concentração da FDN foi observada para subprodutos com até 20% FDN. Contudo, mesmo nesta faixa, não houve interferência do sistema de filtragem sobre os resultados.

Com exceção do farelo de biscoito e cenoura descartada para consumo humano, os demais subprodutos do grupo com até 20% de FDN foram originados da mandioca, a qual contém grandes concentrações de amido. O amido dificulta o processo de filtração, devido a sua gelatinização durante o aquecimento da amostra com detergente neutro. Cherney et al. (1989) observaram que a variabilidade entre os resultados da concentração de FDN dentro do laboratório estaria associada à dificuldade de filtração, mesmo com utilização da amilase. Estes autores observaram ainda, lentidão no processo de filtragem quando se utilizou o sistema de cadinhos filtrantes e recomendam o uso de 0,5 g de amostra, pois em quantidades maiores, a filtragem se torna mais demorada produzindo assim resultados com maior variabilidade.

Neste trabalho pesou-se 1 g de amostra (Van Soest, 1963) e utilizou-se a α-amilase termoestável (Mertens, 2002) e foi observada demora demasiada no processo de filtragem em cadinhos de alguns subprodutos, entretanto, não foi observada diferença na quantidade dos resíduos após filtragem com os diferentes sistemas.

Os sistemas de filtragem com cadinhos e F57 (Ankon fiber bag) não apresentaram diferenças quanto à retenção do resíduo em detergente neutro quando se analisou teor de FDN da silagem de milho (Ferreira e Mertens, 2007).

Da mesma forma, Geron et al. (2014) avaliaram a técnica convencional (uso de cadinhos) e a técnica com sacos F57 para análise de FDN em diferentes gramíneas e não observaram diferenças em relação á utilização das diferentes técnicas

Microfotografias eletrônicas de varredura demonstraram que o tecido F57 e TNT apresentam arranjo das malhas bastante semelhantes, sendo que a deposição das fibras sintéticas não permite evidenciar regularidade no arranjo geométrico (Casali et al. (2009). Estes autores ao compararem as concentrações de FDNi em alimentos, não verificaram diferenças significativas entre as estimativas obtidas via TNT e F57, demonstrando a eficiência do TNT como material alternativo.

Mesmo resultado foi observado por Valente et al. (2011) que avaliaram a utilização de diferentes tecidos em análises de FDN em alimentos e fezes bovinas e não observaram diferenças entre os resultados obtidos com a utilização do TNT e F57.

A Figura 1 ilustra a relação entre os resultados da FDN obtidos pelo sistema de filtragem com cadinho e TNT nos diferentes grupos de subprodutos.

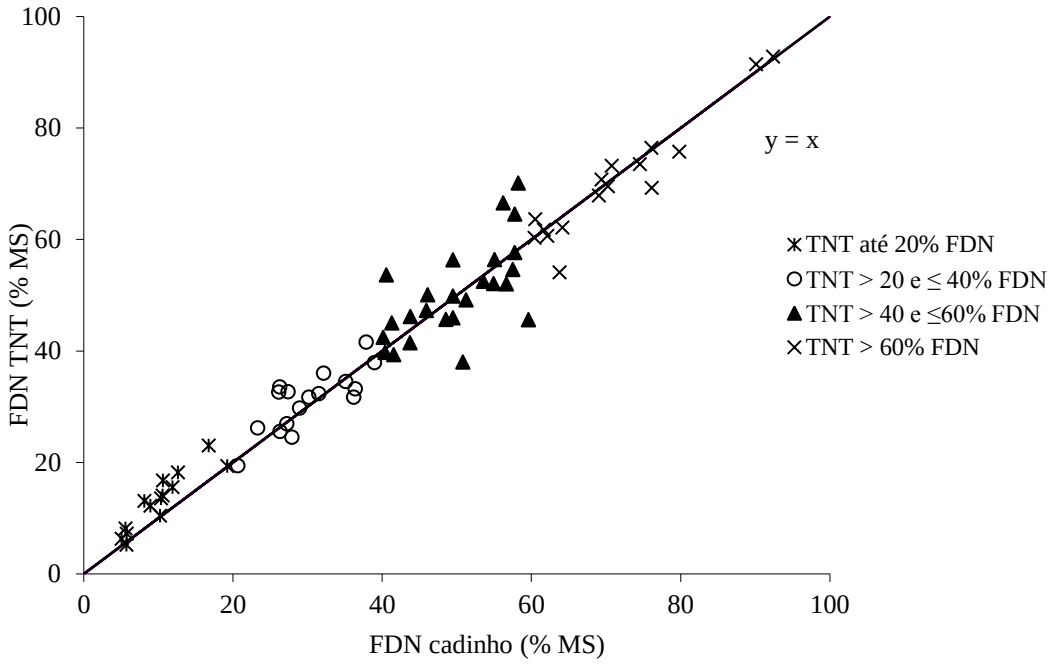

Figura 1. Relação entre fibra em detergente neutro (FDN) obtido pelo sistema de filtragem com cadinho filtrante e tecido não tecido (TNT)

Em ambos os sistemas de filtragem, houve diminuição do CV à medida que se aumentou a concentração de FDN. Golding et al. (1985) sugeriram que entre os critérios para avaliação de resultados de FDN, deve-se incluir variação percentual de FDN nas amostras. Sendo assim, pode-se observar que quanto maior o teor de FDN na amostra, menor a variação entre os resultados.

Mesmo não havendo diferença entre os teores de FDN obtidos com os dois métodos, observou-se diferença ($P<0,05$) quando os valores de DP foram avaliados pelo teste de nulidade conjunta (Mayer et al.,1994), sendo que os valores de DP observados no TNT foram maiores que nos cadinhos (Tabela 13).

A rejeição da hipótese de nulidade ($a \neq 0$ ou $b \neq 1$) demonstra diferenças entre os valores de DP observados nos dois métodos. Os valores encontrados nas análises realizadas em cadinhos foram menores do que os valores observados nas análises realizadas em sacos de TNT, desta forma pode-se afirmar que a primeira apresentou maior precisão.

Tabela 13. Estatística para regressão entre os valores de desvio padrão (DP) obtidos nos sistemas de filtragem (cadinho e tecido não tecido – TNT)

Item	Valores
Média cadinho	1,217
Média TNT	1,496
Intercepto	1,153
Inclinação	0,043
R^2	0,003
Valor P[1]	<0,001
VM	-0,279
CCC	0,054
QMEP	5,275

1H_0: $\beta_0 = 0$ e : $\beta_1 = 1$; H_a: $\beta_0 \neq 0$ ou $\beta_1 \neq 1$.
R^2 = coeficiente de determinação, VM = viés médio, CCC = coeficiente de concordância da correlação, QMEP = quadrado médio do erro de predição.

CONCLUSÕES

Os resultados de FDN obtidos em sacos de TNT são similares aos valores observados quando se utiliza os cadinhos para filtragem. Desta forma indica-se a utilização dos sacos de TNT como meio de redução de custo e tempo despendido nas análises.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERCHIELLI, T. T.; SADER, O. P. A.; TONANI, F. L.; PAZIANI, S. F.; ANDRADE, P. Avaliação da determinação da fibra em detergente neutro e da fibra em detergente ácido pelo sistema ANKOM. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 1572-1578, 2001.

BIBBY, J.; TOUTENBURG, H. **Prediction and improved estimation in linear models**. New York: J. Wiley and Sons, 1977.

BORTOLASSI, R. J.; SANTOS, T. G.; ALCALDE, C. R.; GONÇALVES, G. D.; ZAMBOM, M. A.; FURLAN, A. C. Comparação dos métodos convencional e Filter Bag Technique da Ankom para determinação de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido. **Acta Scientiarum**, v. 22, p. 807-811, 2000.

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, J. C.; CUNHA, M.; DETMANN, K. S. C.; PAULINO, M. F. 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.; CHERNEY, J.H. Use of 2-ethoxy ethanol and amylase in the neutral detergent fibre method of feed analysis. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.3079-3084, 1989.

COCHRAN, W. G.; COX, G. M. **Experimental Design**. John Wiley & Sons, New York. 1957.

DETMANN, E.; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C. **Métodos para Análise de Alimentos**, 2012, 214p.

FERREIRA, G.; MERTENS, D.R. Measuring detergent fiber and insoluble protein in corn silage using crucibles or filter bags. **Animal Feed Science and Technology**, v. 133, p. 335-340, 2007.

GERON, L. J. V.; CABRAL, L. S.; TRAUTMANN-MACHADO, R. J.; ZEOULA, L. M.; OLIVEIRA, E. B.; GARCIA, J.; GONÇALVES, M. R.; AGUIAR, R. P. S. Avaliação do teor de fira em detergente neutro e ácido por meio de diferentes procedimentos aplicados às plantas forrageiras. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, p. 1533-1542, 2014

GOLDING, E. J.; CARTER,M. F; MOORE, J. E. Modification of the neutral detergent fiber procedure for hays. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p. 2732-2736, 1985.

GOMES. D. I.; DETMANN, E.; VALENTE, T. N. P.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A. C. Avaliação laboratorial de compostos fibrosos em alimentos e fezes bovinas sob diferentes ambientes físicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 522-525, 2011.

LIN, L. A. Concordance correlation coefficient to evaluate reprodutibility. **Biometrics**, v. 45, p. 255-268, 1989.

MAYER, D. G.; STUART, M.A.; SWAIN, A.J. Regression of real-world data on model output: An appropriate overall test of validity. **Agriculture System**, v.45, p. 93-104, 1994.

MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR., G. C.; MOSER, L. E.; MERTENS, D.R. (Eds.). **Forage quality, evaluation and utilization**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America, 1994. pp. 450-493.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers 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.

TEDESCHI, L. O. Assessment of the adequacy of mathematical models. **Agriculture System**, v. 89, p. 225–247, 2006.

VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A. C.; SAMPAIO, C. B.; GOMES, D. I. 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**, v. 40, p. 1148-1154, 2011.

VAN SOEST, P. J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. A rapid method for the determination of fibre and lignin. **Journal of the Association Official Agricultural Chemists**, v. 46, p. 829-835, 1963.

V – Capítulo III

Dias de coleta de fezes e amostragem de alimento fornecido e sobras necessários para determinação de consumo de matéria seca em ovinos confinados

RESUMO – Objetivou-se avaliar a redução do número de dias de coleta de fezes para determinação da excreção fecal de matéria seca (MS) e parâmetros de digestibilidade, além de avaliar o consumo de matéria seca de ovinos confinados com a realização de análise única ou análises periódicas dos alimentos fornecidos e das sobras do cocho. Para avaliar a redução do número de dias de coleta de fezes utilizou-se 32 unidades experimentais as quais foram coletadas as fezes diariamente e os valores médios de 5, 4, 3, 2 e 1 dia foram comparados, com utilização de contrastes ortogonais, quanto à excreção fecal de MS e digestibilidade da MS. Para avaliação da redução no número de análises para determinação do consumo de nutrientes, utilizou-se 276 amostras de alimento fornecido e sobras oriundas de 3 experimentos de desempenho com ovinos confinados, que foram analisadas de forma individual por período ou em amostra composta dos períodos experimentais. Os métodos de amostragem foram comparados pela análise de variância. Para todos os procedimentos estatísticos, fixou-se em 0,05 o nível crítico de probabilidade para o erro tipo 1. Avaliou-se ainda o Viés Médio, Coeficiente de Concordância da Correlação e o Quadrado Médio do Erro de Predição dos métodos utilizados. A excreção fecal de MS e a digestibilidade da MS não apresentaram diferença entre os menores número de dias de coleta em relação à coleta em 5 dias, entretanto com a avaliação dos parâmetros de regressão observou-se que a utilização de maior número de dias proporciona resultados mais confiáveis. A determinação dos valores de consumo de nutrientes não foi afetada pela utilização de apenas uma análise de alimento fornecido e sobras com amostra proporcional de todos os períodos experimentais.

Palavras chave: amostragem, excreção fecal, metodologia

INTRODUÇÃO

A determinação do valor nutritivo dos alimentos utilizados na alimentação animal requer avaliação da digestibilidade dos mesmos. Sendo assim, torna-se necessária a coleta das fezes para quantificação dos nutrientes não digeridos e absorvidos durante a passagem pelo trato gastrointestinal do animal. Entretanto a utilização de bolsas coletoras ou gaiolas metabólicas para coleta total de fezes geram incômodo e alteração do comportamento animal, tornando interessante a redução do número de dias de coleta para quantificação da excreção fecal. Além disso, a redução do número de dias de coleta pode reduzir mão de obra e espaço para armazenamento de amostras.

Por outro lado, o período de coleta deve ter duração suficiente para reduzir ao máximo os erros resultantes da excreção diária irregular das fezes. A utilização de 5 dias de coleta de fezes é amplamente utilizada em experimentos de digestibilidade (Lee & Hristov, 2013; Kanani et al., 2014; Oliveira Filho et al., 2015) entretanto alguns experimentos já demonstraram que dois dias de coleta de fezes são suficientes para determinar os parâmetro de excreção fecal, por exemplo Assis et al. (2004) e Pina et al. (2006) com vacas leiteiras e Carvalho et al. (2013) com ovinos.

Assim como os parâmetros de digestibilidade, a quantificação dos nutrientes consumidos pelos animais é de extrema importância nos experimentos de Nutrição Animal. Em experimentos com animais confinados, obtém-se este valor através da subtração da sobra de alimento no cocho do alimento fornecido. Geralmente, os experimentos são conduzidos em períodos onde tanto o alimento fornecido quanto as sobras diárias são agrupadas gerando uma amostra por período.

Em experimentos de desempenho em confinamento, no qual o animal recebe o mesmo alimento durante todo o experimento, obtêm-se sobras aparentemente homogêneas visto que a seleção é realizada pelo mesmo animal dentro e entre os períodos. Sendo assim, o agrupamento das amostras tanto de alimento fornecido quanto de sobras, pode reduzir mão de obra e gastos no processo analítico.

Objetivou-se determinar a quantidade de dias de coleta total de fezes necessária para determinação da excreção fecal diária e avaliar se uma amostra composta de todos os períodos experimentais de alimento fornecido e sobras é suficiente para determinação do consumo em ovinos confinados

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia.

Para determinação do número de dias de coleta de fezes realizou-se a coleta total com auxílio de bolsas coletoras em 8 ovinos Santa Inês, mantidos em gaiolas metabólicas, consumindo dieta composta de 80% de silagem de capim elefante e 20% de casquinha de cacau. As fezes foram coletadas duas vezes ao dia (16:00 e 08:00 horas) e misturadas formando assim o volume diário. As amostras foram coletadas por cinco dias e analisadas quanto ao teor de matéria seca (MS) de forma individual (diária). Foram realizados quatro períodos de coleta com intervalo de 15 dias entre cada um dos períodos totalizando assim 32 unidades experimentais (8 animais X 4 períodos).

A avaliação dos valores de excreção fecal foi realizada pela decomposição da soma de quadrados por meio de contrastes ortogonais (Tabela 14). Os contrastes foram realizados para comparar o valor da média de 5 dias de coleta com a média de 4 dias (contraste A), 3 dias (contraste B), 2 dias (contraste C) e 1 dia (contraste D).

Tabela 14. Distribuição dos coeficientes nos contrastes ortogonais empregados na decomposição da soma de quadrados.

Contraste	5 dias	4 dias	3 dias	2 dias	1 dia
A	+1	-1	0	0	0
B	+1	0	-1	0	0
C	+1	0	0	-1	0
D	+1	0	0	0	-1

5 dias – média de cinco dias de coleta total de fezes; 4 dias – média de quatro dias de coleta total de fezes; 3 dias – média de três dias de coleta total de fezes; 2 dias – média de dois dias de coleta total de fezes; 1 dia – valor de um dia de coleta total de fezes
Contraste A: 5 dias vs. 4 dias; Contraste B: 5 dias vs. 3 dias; Contraste C: 5 dias vs. 2 dias; Contraste D: 5 dias vs. 1 dia

Para determinar o número de análises necessárias para avaliação do consumo foram analisadas 276 amostras de alimento fornecido e sobras oriundas de 3 experimentos de desempenho com ovinos confinados sendo 60 unidades de experimento que testou resíduo da pupunha como volumoso (3 períodos x 20 animais), 72 de experimento com inclusão de glicerina bruta na dieta (3 períodos x 24 animais) e

144 de experimento que testou inclusão de semente da seringueira nas dietas (4 períodos x 36 animais). Cada período foi composto de 15 dias de experimento.

As amostras foram avaliadas quanto aos teores de MS, matéria mineral (MM) e proteína bruta (PB) de acordo com as recomendações da AOAC (1990). O teor de matéria orgânica foi obtido através da fórmula: MO = 100 – MM. A fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp) foi obtida de acordo com Licitra et al. (1996) e Mertens (2002). Todas as análises foram realizadas de forma individual por período ou em única amostra composta de todos os períodos. As compostas foram formadas pelo agrupamento das amostras quinzenais de acordo com a proporção, em base da amostra seca ao ar, de alimento fornecido e de sobras nos cochos de cada quinzena obtendo-se assim duas estimativas de consumo: uma quando as amostras foram consideradas como única composta e outra quando as amostras foram consideradas quinzenalmente.

Os valores de alimento fornecido, sobras e alimento consumido obtidos por análises quinzenais ou única foram comparados por meio da análise de variância.

Os contrates ortogonais e a análise de variância foram realizados com auxílio do programa SAS (2001), adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

Ainda avaliou-se o viés médio (VM), que foi calculado conforme (Cochran e Cox, 1957) com a equação abaixo:

$$VM = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(xi - yi)$$

Em que: x = valores observados; y = valores preditos.

O coeficiente de concordância da correlação (CCC), também conhecido como índice de reprodutibilidade, que considera simultaneamente exatidão e precisão, foi calculado conforme Lin (1989).

A avaliação comparativa da eficiência de predição das equações foi realizada pela avaliação do quadrado médio dos erros de predição (QMEP), segundo descrito por Bibby e Toutenburg (1977), conforme a equação abaixo:

$$QMEP = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(xi - yi)^2$$

Em que: x = valores observados; y = valores preditos.

Para avaliação do VM, CCC e QMEP utilizou-se o programa Model Evaluation System (MES), versão 3.0.11. (http://nutritionmodels.tamu.edu/mes.htm, College Station, TX, USA; Tedeschi, 2006).

RESULTADOS

A estatística descritiva dos dados analisados é apresentada na tabela 15.

Tabela 15. Estatística descritiva dos dados de excreção fecal em diferentes números de dias de coleta e valores de alimento consumido em análises quinzenais ou única

Item	Mínima	Máxima	Média	Desvio padrão
Excreção fecal (g/dia)				
5 dias	343,64	789,45	578,27	91,94
4 dias	336,27	784,98	580,84	93,47
3 dias	328,17	785,09	584,32	95,27
2 dias	325,82	773,22	585,45	97,49
1 dias	339,11	824,37	593,22	109,37
Digestibilidade da MS (%)				
5 dias	22,59	59,50	40,54	8,69
4 dias	22,45	59,46	40,24	9,06
3 dias	20,34	59,94	39,84	9,54
2 dias	20,65	60,57	39,75	9,57
1 dias	19,01	59,75	39,99	10,66
Consumo dos nutrientes com análises quinzenais (g/dia)				
MS	417,66	1.586,89	976,34	239,80
MO	394,55	1.505,07	918,12	224,30
PB	69,34	335,32	196,47	57,40
FDNcp	152,07	524,28	314,84	77,34
Consumo dos nutrientes com análise única (g/dia)				
MS	421,30	1.591,33	976,91	233,70
MO	396,90	1.508,01	918,64	219,13
PB	71,69	341,96	199,87	57,05
FDNcp	141,98	510,65	315,75	70,12

Ao avaliar os resultados de excreção fecal de MS, não se observou diferença (P>0,05) em relação ao número de dias de coleta de fezes (Tabela 16).

Tabela 16. Médias de excreção fecal de matéria seca, coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P dos contrastes ortogonais associados aos valores obtidos com a coleta total de fezes realizada em diferentes números de dias.

Item	Dias de coleta				
	5 dias	4 dias	3 dias	2 dias	1 dia
EFMS (g/dia)	578,27	580,84	584,32	585,45	593,22
Coeficiente de variação (%)	15,90	16,09	16,30	16,65	18,44
Valor de P		0,751[A]	0,716[B]	0,613[C]	0,541[D]
r^2		0,990	0,979	0,949	0,887
Viés médio		-2,579	-6,054	-7,179	-14,956
CCC[a]		0,994	0,987	0,970	0,918
QMEP[b]		94,699	228,948	528,155	1651,943

[A] Contraste A: 5 dias vs. 4 dias; [B] Contraste B: 5 dias vs. 3 dias; [C] 5 dias vs. 2 dias; [D] 5 dias vs. 1 dia
[a] Coeficiente de concordância da correlação
[b] Quadrado médio do erro de predição

Também não foi observado diferença (P>0,05) quando se avaliou a digestibilidade aparente da MS calculada a partir dos valores de excreção fecal obtidos nos diferentes dias de coleta (Tabela 17).

A redução do número de dias de coleta de fezes para avaliação da excreção fecal e da digestibilidade aparente da matéria seca não apresentou diferença significativa (P>0,05) em relação aos dias considerados padrão (5 dias). Desta forma, qualquer que seja o número de dias de quantificação da excreção fecal, é suficiente para utilização em experimentos com ovinos confinados, entretanto, ao se observar os valores de r^2 e CCC (melhor quando mais próximo de 1), VM (melhor quando mais próximo de 0) e QMEP (melhor quando menor) um maior número de dias demonstrou ser mais adequado.

Tabela 17. Médias de digestibilidade aparente da matéria seca, coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P dos contrastes ortogonais associados aos valores obtidos com a coleta total de fezes realizada em diferentes números de dias.

Item	Dias de coleta				
	5 dias	4 dias	3 dias	2 dias	1 dia
Digestibilidade da MS (%)	40,54	40,24	39,84	39,75	39,99
Coeficiente de variação (%)	21,44	22,50	23,95	24,58	27,33
Valor de P		0,787[A]	0,749[B]	0,648[C]	0,580[D]
r^2		0,991	0,981	0,960	0,906
Viés médio		0,277	0,665	0,806	1,576
CCC[a]		0,995	0,988	0,974	0,933
QMEP[b]		1,133	2,923	6,285	17,498

[A] Contraste A: 5 dias vs. 4 dias; [B] Contraste B: 5 dias vs. 3 dias; [C] 5 dias vs. 2 dias; [D] 5 dias vs. 1 dia
[a] Coeficiente de concordância da correlação
[b] Quadrado médio do erro de predição

Ao avaliar os valores de MS, MO, PB e FDNcp do alimento fornecido, das sobras e o alimento consumido (Tabelas 18, 19 e 20, respectivamente) obtidos a partir de análises quinzenais ou análise única após amostragem proporcional, observou-se que não ocorre diferença (P>0,05) dos valores independente do método analítico utilizado.

Tabela 18. Médias de MS, MO, PB e FDNcp do alimento fornecido, coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P da análise de variância associados aos valores obtidos com análise única ou análises quinzenais.

Item	Análises quinzenais				Análise única			
	MS	MO	PB	FDNcp	MS	MO	PB	FDNcp
Fornecido (kg/dia)	1,268	1,190	0,237	0,447	1,268	1,189	0,240	0,448
CV (%)	21,36	21,15	27,18	17,35	21,14	21,04	26,73	16,41
P					0,996	0,999	0,547	0,890
r^2					0,998	0,997	0,957	0,924
VM[a]					0,099	0,005	-3,304	-0,894
CCC[b]					0,999	0,998	0,977	0,960

[a] Viés médio
[b] Coeficiente de concordância da correlação

Tabela 19. Médias de MS, MO, PB e FDNcp das sobras, coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P da análise de variância associados aos valores obtidos com análise única ou análises quinzenais.

Item	Análises quinzenais				Análise única			
	MS	MO	PB	FDNcp	MS	MO	PB	FDNcp
Sobras (kg/dia)	0,292	0,271	0,041	0,132	0,291	0,271	0,041	0,132
CV (%)	35,07	35,69	49,20	31,60	34,69	34,85	45,21	32,16
P					0,938	0,949	0,956	0,996
r^2					0,970	0,983	0,937	0,890
VM[a]					0,670	0,521	0,095	0,027
CCC[b]					0,985	0,976	0,964	0,943

[a] Viés médio
[b] Coeficiente de concordância da correlação

Tabela 20. Médias de MS, MO, PB e FDNcp consumida, coeficientes de variação, estimativas de parâmetros de regressão e valor P da análise de variância associados aos valores obtidos com análise única ou análises quinzenais.

Item	Análises quinzenais				Análise única			
	MS	MO	PB	FDNcp	MS	MO	PB	FDNcp
Consumo (kg/dia)	0,976	0,918	0,197	0,315	0,977	0,919	0,200	0,316
CV (%)	24,56	24,43	29,27	24,57	23,92	23,85	28,54	22,21
P					0,977	0,978	0,486	0,885
r^2					0,993	0,990	0,936	0,875
VM[a]					-0,572	-0,513	-3,396	-0,911
CCC[b]					0,996	0,995	0,966	0,931

[a] Viés médio
[b] Coeficiente de concordância da correlação

Além de não apresentar diferença em relação ao método de amostragem, os resultados de consumo obtidos com análise única apresentaram CCC acima de 0,9 para todos os nutrientes analisados (1 é o valor ideal) e baixos valores de VM, sendo a PB o valor mais dispersante (-3,396) que corresponde a 1,72% do valor obtido com as análises quinzenais.

DISCUSSÃO

O resultado dos contrastes ortogonais montados para comparar um menor número de dias (4, 3, 2 ou 1 dia) em relação à coleta em 5 dias mostraram que não há diferença entre os dias testados, sendo possível a realização da coleta de fezes por apenas um dia.

Vários autores já apresentaram resultados semelhantes, por exemplo, Pina et al. (2006) compararam a coleta de fezes em vacas leiteiras em 2 ou 6 dias e não observaram diferença nas estimativas de excreção fecal de matéria seca e digestibilidade dos nutrientes. Também com bovinos, Ferreira et al. (2009) não observaram diferença entre os coeficientes de digestibilidade da MS obtidos por coleta total de fezes em 3 ou 5 dias de coleta. Já em estudo com ovinos, Carvalho et al. (2013) não observaram diferenças entre os valores de excreção fecal de MS e coeficientes de digestibilidade dos nutrientes quando se realizou a coleta em 2 ou 4 dias. Em estudo com bubalinos, Soares et al. (2011) compararam o valor de excreção fecal de MS e digestibilidade dos nutrientes a partir da coleta total de fezes em 3 ou 5 dias e não observaram diferenças entre os valores. Avaliação semelhante foi conduzida por Goachet et al. (2009) em estudo com equinos. Eles avaliaram a digestibilidade da MS, MO, FDN e FDA e não observaram diferença dos valores quando foi realizada a coleta total de fezes em 3, 4 ou 5 dias.

Nas referências acima o menor número de dias testados foi dois, neste experimento testou-se também apenas um dia de coleta e observou-se que não houve diferença em relação a um maior número de dias. Hatan e Owen (1970) testaram a digestibilidade aparente da MS em vacas leiteiras com coleta em 1, 3 ou 7 dias e não observaram diferença significativa neste parâmetro. Entretanto, ao avaliarem o erro padrão da média dos valores de digestibilidade com os diferentes dias de coleta, a coleta em um dia (14,36%) apresentou valor diferente da coleta em 3 ou 7 dias (7,29 e 5,48%, respectivamente). Os autores ainda calcularam qual o número mínimo de vacas (n) necessárias para permitir a detecção de diferenças de 3% nos valores de digestibilidade das amostras de acordo com o número de dias de coleta, a partir da fórmula $\sqrt{2\sigma}/L$, onde L = 3%, sendo que em 7 dias de coleta forma necessários 3 animais, 4 animais em 3 dias de coleta e 7 animais em um dia de coleta.

Mesmo não havendo diferença entre a quantidade de dias utilizados, a análise dos parâmetros de regressão pode determinar qual seria o melhor número de dias de

coleta. A partir da avaliação destes parâmetros pode-se concluir que mesmo não havendo diferença significativa, quanto maior o número de dias, maior a confiabilidade dos dados.

Em avaliação semelhante, White et al. (1974) avaliaram a digestibilidade dos nutrientes e a excreção fecal de vacas leiteiras consumindo níveis de feno de capim-bermuda ou casca de arroz, ambos peletizados. A coleta total de fezes foi realizada em 7 dias e os valores de 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 7 dias de coleta foram avaliados. Os autores observaram que a medida que um maior número de dias eram utilizados, os valores de erro padrão da média e coeficiente de variação eram reduzidos atingindo estabilidade a partir de 4 dias de coleta.

Com relação à redução do número de análises químico-bromatológicas para determinação do consumo dos nutrientes por animais confinados, a utilização de apenas uma análise, com amostra composta proporcional de todos os períodos por unidade experimental, em experimentos que a mesma unidade receba o mesmo alimento durante todos os períodos é viável em relação à utilização de análises por período tanto para o alimento fornecido quanto para as sobras.

Não se conhece na literatura trabalhos que avaliaram esta amostragem para redução de quantidade de análises sendo geralmente realizadas análises a cada período de 14 dias (Cirne et al., 2014; Souza et al., 2015) ou 21 dias (Bastos et al., 2014; Cabral et al., 2015).

Em avaliação apenas das sobras de alimentos, Zanetti et al. (2014) compararam os valores de consumo de nutrientes obtidos a partir da determinação destes com análises semanais ou uma única amostra composta pelas 12 semanas do período experimental e não observaram diferença entre os valores obtidos pelos dois métodos

O agrupamento das amostras dos períodos de forma proporcional gera uma redução de 66,6% do custo das análises químico-bromatológicas em experimentos que se utilizam três períodos. Já em experimentos com quatro períodos esta redução sobe para 75% e atinge valores mais altos quanto maior o número de períodos.

CONCLUSÕES

A redução do número de dias de coleta de fezes para determinação da excreção fecal de matéria seca e da digestibilidade da matéria seca não resulta em valores diferentes da coleta realizada por cinco dias, entretanto quanto maior o número de dias de coleta, maior a confiabilidade dos resultados obtidos.

A análise única de alimento fornecido e sobras, a partir do agrupamento das amostras de todos os períodos experimentais, de forma proporcional, pode ser realizada em substituição às análises individuais por período, promovendo assim redução dos custos com análises químico-bromatológicas na pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. **Official methods of analysis**. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, 1990.

ASSIS, A. J.; CAMPOS, J. M. S.; QUEIROZ, A. C.; VALADARES FILHO, S. C.; EUCLYDES, R. F.; LANA, R. P.; MAGALHÃES, AL. L. R.; MENDES NETO, J.; MENDONÇA, S. S. Polpa cítrica em dietas de vacas em lactação. 2. Digestibilidade dos nutrientes em dois períodos de coleta de fezes, pH e nitrogênio amoniacal do líquido ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 251-257, 2004.

BASTOS, M. P. V.; CARVALHO, G. G. P.; PIRES, A. J. V.; SILVA, R. R.; EUSTÁQUIO FILHO, A.; SANTOS, E. J.; CHAGAS, D. M. T.; BARROSO, D. S.; ABREU FILHO, G. Ingestive behavior and nitrogen balance of confined Santa Ines lambs fed diets containing soybean hulls. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 27, p. 24-29, 2014.

BIBBY, J.; TOUTENBURG, H. **Prediction and improved estimation in linear models**. New York: J. Wiley and Sons, 1977.

CABRAL, I. S.; AZEVEDO, J. A. G.; ALMEIDA, F. M.; PEREIRA, L. G. R.; ARAUJO, G. G. L.; NOGUEIRA, A. S.; SOUZA, L. L.; OLIVEIRA, G. A.; OLIVEIRA FILHO, C. A. A. Silage or fresh by-product of peach palm as roughage in the feeding of lambs. **Tropical Animal Health and Production**, v. 47, p. 525-531, 2015.

CARVALHO, G. G. P.; GARCIA, R.; PIRES, A. G. V.; SILVA, R. R.; DETMANN, E.; EUSTÁQUIO FILHO, A.; RIBEIRO, L. S. O.; CARVALHO, L. M. Diets based on sugar cane treated with calcium oxide for lambs. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 26, p. 218-226, 2013.

CIRNE, L. G. A.; SILVA SOBRINHO, A. G.; SANTANA, V. T.; SILVA, F. U.; OLIVEIRA, E. A.; ALMEIDA, F. A.; ENDO, F.; TAKAHASHI, R.; CARVALHO, G. G. P.; ZEOLA, N. M. B. L. Digestibilidade e desempenho em cordeiros alimentados

com dietas contendo feno de amoreira. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, p. 1523-1532, 2014.

COCHRAN, W. G.; COX, G. M. **Experimental Design**. John Wiley & Sons, New York. 1957.

FERREIRA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; MARCONDES, M. I.; PAIXÃO, M. L.; PAULINO, M. F.; VALADARES, R. F. D. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 1568-1573, 2009.

GOACHET, A. G.; PHILIPPEAU, C.; VARLOUD, M.; JULLIAND, V. Adaptations to standard approaches for measuring total tract apparent digestibility and gastro-intestinal retention time in horses in training. **Animal Feed Science and Technology,** v. 152, p. 141–151, 2009.

HATTAN, G. L.; OWEN, F. G. Efficiency of total collection and chromic oxide techniques in short-term digestion trials. **Journal of Dairy Science**, v. 53, p. 325-329, 1970.

KANANI, L.; PHILIPP, D.; COFFEY, K. P.; KEGLEY, E. B.; WEST, C. P.; GADBERRY, S.;JENNINGS, J.; YOUNG, A. N.; RHEIN, R. T. Comparison of acid-detergent lignin, alkaline-peroxide lignin , and acid-detergent insoluble ash as internal markers for predicting fecal output and digestibility by cattle offered bermudagrass hays of varying nutrient composition. **Journal of Animal Science and Biotechnology,** v. 5, p. 7-14, 2014.

LEE, C.; HRISTOV, A. N. Short communication: evaluation of acid-insoluble ash and indigestible neutral detergent fiber as total-tract digestibility markers in dairy cows fed corn silage-based diets. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 5295–5299, 2013.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fracionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, p. 347-358, 1996.

LIN, L. A. Concordance correlation coefficient to evaluate reprodutibility. **Biometrics**, v. 45, p. 255-268, 1989.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, p. 1217–1240, 2002.

OLIVEIRA FILHO, C. A. A.; AZEVÊDO, J. A. G.; CARVALHO, G. G. P.; SILVA, C.F.P.G.; SANTOS, J. D. Glicerina bruta associada à silagem de sorgo em dietas para cordeiros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, p. 474-482, 2015.

PINA, D. S.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; VALADARES, R. F. D.; CAMPOS, J. M. S.; MORAES, K. A. K.; OLIVEIRA, A. S.; PAIXÃO, M. L. Efeitos de indicadores e dias de coleta na digestibilidade dos nutrientes e nas estimativas do valor energético de alimentos para vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 2461-2468, 2006.

SAS. **Statistical Analyses Software**. Institute Inc., SAS/STAT. Software, Ver. 9.2, SAS Institute Inc., Cary, 2008

SOARES, L. F. P.; GUIM, A.; FERREIRA, M. A.; MODESTO, E. C.; BATISTA, A. M. V.; MONTEIRO, P. B. S. Assessment of indicators and collection methodology to estimate nutrient digestibility in buffaloes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 2005-2010, 2011.

SOUZA, L. L.; AZEVEDO, J. A. G.; ARAUJO, G. G. L.; SANTOS-CRUZ, C. L.; CABRAL, I. S.; ALMEIDA, F. M.; OLIVEIRA, G. A.; OLIVEIRA, B. S. Crude glycerin for Santa Inês and F1 Dorper × Santa Inês lambs. **Small Ruminant Research**, v. 129, p. 1–5, 2015.

TEDESCHI, L. O. Assessment of the adequacy of mathematical models. **Agriculture System**, v. 89, p. 225-247, 2006.

ZANETTI, D.; VALADARES FILHO, S. C.; PACHECO, M. V. C.; PRADOS, L.F.; DETMANN, E.; GODOI, L. A.; RODRIGUES, F. C.; RIBEIRO, R. C. O.; SILVA JUNIOR, J. M.; ALVARENGA,S.A. Use of grouped samples of orts does not compromise feed intake data in studies of confined cattle. In: **Joint Annual Meeting of ASAS**, 2014, Kansas City. Joint Annual Meeting of ASAS, 2014. Disponível em: https://asas.confex.com/asas/jam2014/webprogram/Paper7112.html

WHITE, T. W.; SCHILLING, P. E.; HEMBRY, F. G.; REYNOLDS, W. L. Comparison of various length collection periods in digestion trials with steers fed various levels of roughage. **Journal of Animal Science**, v. 38, p. 838-843, 1974.

VI – Capítulo IV

Avaliação de modelos matemáticos utilizados na produção de gases *in vitro* de alimentos tropicais

RESUMO – Objetivou-se avaliar o ajuste de sete modelos não lineares (France, Orskov & McDonald, Gompertz, exponenciais simples e bicompartimental e logísticos simples e bicompartimental) aos dados de produção cumulativa de gases de cinco alimentos (casca de arroz, cana-de-açúcar, raspa de mandioca, resíduo de nabo e resíduo da pupunha) utilizados na nutrição de ruminantes. Para tal, realizou-se a incubação *in vitro*, em triplicata, dos alimentos em seringas de vidro graduadas junto com solução tamponada de inoculante. A leitura da produção de gás foi realizada nos tempos 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 26, 28, 30, 32, 36, 48, 52, 54, 56, 60 e 72 horas. Os dados obtidos foram utilizados para estimar os parâmetros de cada modelo com auxílio do pacote estatístico SAS. Após a estimação dos parâmetros foram obtidos valores de volume de gás nos tempos supracitados, para cada modelo, e estes foram comparados aos valores observados na incubação através do programa Model Evaluation System (MES). Para comparação, testou-se os parâmetros de regressão pelo teste de Mayer, além da avaliação dos valores de viés médio (VM), coeficiente de concordância da correlação (CCC) e quadrado médio do erro de predição (QMEP). Os modelos de France, Logístico e Gompertz, para casca de arroz, além do modelo de Orskov & McDonald, para raspa de mandioca, foram significativos ($P<0,1$) ao teste de Mayer, indicando falta de ajuste do modelo. Os modelos que apresentaram ajuste segundo o teste de Mayer, além de apresentarem os menores QMEP, foram o Logístico Bicompartimental para a casca de arroz e raspa de mandioca e o Exponencial Bicompartimental para cana-de-açúcar, nabo e pupunha. Sendo assim, os modelos não lineares bicompartimentais são os mais eficientes no ajuste da curva e na estimação dos parâmetros de produção cumulativa de gases para os alimentos testados.

Palavras chave: avaliação de alimentos, cinética de degradação, modelos não-lineares

INTRODUÇÃO

A técnica *in vitro* de produção de gases tem sido amplamente utilizada para avaliar a cinética dos processos de fermentação microbiana ruminal (Ramin & Huhtanen, 2012; Krizsan et al., 2013; Li et al., 2014). Em relação às técnicas *in vivo*, esta técnica é menos onerosa, exige menor tempo para obtenção dos resultados, permite maior controle das condições experimentais e é facilmente reprodutível (Getachew et al., 1998). A técnica baseia-se no pressuposto de que o gás produzido em meio de cultura inoculado com microrganismos ruminais e em condições semelhantes ao rúmen-retículo (temperatura, pH e anaerobiose), é diretamente proporcional à quantidade de substrato fermentado (López et al., 2007).

Diversos modelos não-lineares (France et al., 2005; Melo et al., 2008; Rodrigues et al., 2009; Uckards et al., 2013; Uckards & Efe, 2014), com pressuposições e tratamentos distintos, estão disponíveis para ajuste das curvas de produção de gases e para determinação dos parâmetros de degradação ou perfil de fermentação. O principal objetivo destes modelos é descrever alterações no sistema em função do tempo de incubação.

Entre os modelos não-lineares utilizados na descrição matemática dos perfis de produção de gases destacam-se os de crescimento exponencial e sigmoide, que pressupõe que a taxa específica de produção de gases pode ser proporcional à quantidade de substrato e independente da massa microbiana, independente da quantidade de substrato e proporcional à massa microbiana ou proporcional à quantidade de substrato e massa microbiana (Schofield et al., 1994). Adicionalmente, os modelos podem assumir um, dois ou mais compartimentos e/ou fases de fermentação.

Objetivou-se avaliar a adequação de diferentes modelos matemáticos para ajustar os perfis da cinética de produção de gases *in vitro* de alimentos tropicais.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia.

Amostras de casca de arroz, cana-de-açúcar, raspa de mandioca, resíduo da pupunha, e resíduo do nabo forrageiro foram submetidos à pré-secagem a 55 ºC durante

72 horas e moídos em moinho de facas com peneira de porosidade de 2 mm de diâmetro, para posteriores análises do conteúdo de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) e fibra em detergente ácido (FDA), conforme os métodos da AOAC (1990).

Nas análises de fibra em detergente neutro (FDN) as amostras foram tratadas com alfa amilase termoestável, sem o uso de sulfito de sódio e corrigido para cinzas residual (Mertens, 1992). A correção da FDN e FDA para os compostos nitrogenados e a estimação dos conteúdos de compostos nitrogenados insolúveis nos detergentes neutro (NIDN) e ácido (NIDA) foi feita conforme Licitra et al. (1996). Os conteúdos de lignina foram obtidos por meio da solubilização da celulose pelo ácido sulfúrico (Van Soest e Robertson, 1985).

O conteúdo de carboidratos não-fibrosos (CNF) foi calculado de acordo com Hall (2000): CNF = 100 - (FDNcp - PB - EE - MM), onde FDNcp é FDN corrigido para cinzas e proteína.

Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados com base na composição química das amostras dos alimentos de acordo com as equações propostas pelo NRC (2001).

A digestibilidade *in vitro* da FDN (DIVFDN) foi realizada de acordo com Schofield et al. (1994), utilizando frascos Wheaton de 50 ml previamente lavados com água destilada e secos em estufa a 105° C.

A solução tampão, descrita por Menke and Steingass (1988), foi preparada e aquecida a 39ºC, sob gaseificação contínua com CO_2. Para inoculação, foi utilizado líquido ruminal retirado de bovino macho castrado, fistulado no rúmen, alimentado com dieta contendo 70% de volumoso e 30% de concentrado.

O líquido ruminal foi coletado manualmente pela manhã, antes do fornecimento da dieta e armazenado em garrafas térmicas previamente aquecidas (39ºC) e imediatamente levado para o laboratório. Em sala aclimatizada do laboratório, com 39 ºC, o líquido ruminal foi filtrado, passando por duas camadas de panos de algodão (gazes). Posteriormente, foi adicionado ao líquido de rúmen a solução tampão (1:1 v/v), sob injeção contínua de CO_2.

Cada frasco recebeu aproximadamente 200 mg de amostra de cada alimento a ser testado, 30 ml do líquido ruminal tamponado e foram vedados imediatamente com rolhas de borracha e mantidos à temperatura de 39 ºC. Foram utilizados três frascos por alimento.

Após 48 horas de incubação, os frascos foram removidos da sala climatizada e levados para geladeira a 4 ºC, para cessar o processo fermentativo. Posteriormente, o conteúdo de cada frasco foi filtrado em cadinho filtrante, submetidos à solução detergente neutro (Mertens, 2002) e, em seguida, levados para autoclavagem, durante 60 minutos, a 105 ºC, segundo técnica proposta por Pell e Schofield (1993). Após autoclavagem, todo o conteúdo foi novamente filtrado no mesmo cadinho filtrante, lavado com água destilada quente e acetona e seco em estufa a 105 ºC por 16 horas.

Os valores da composição químico-bromatológica, DIVFDN e NDT são apresentados na tabela 21.

Tabela 21. Composição química, digestibilidade da fibra em detergente neutro (DIVFDN) e nutrientes digestíveis totais (NDT) dos alimentos avaliados.

Alimento	Arroz casca	Cana-de-açúcar	Mandioca raspa	Nabo	Pupunha
mas	919	235	918	916	865
MO[b]	839	952	949	943	950
PB[b]	21	31	29	276	60
NIDN[c]	917	315	242	199	243
NIDA[c]	599	176	160	187	118
EE[b]	7	10	12	243	13
FDNcp[b]	691	488	175	227	578
CNF[b]	120	425	732	197	299
FDAp[b]	751	296	202	145	389
LIG[b]	199	49	43	75	30
DIVFDN[d]	9,1	60,0	87,5	81,6	71,4
NDT[d]	27,5	68,3	74,4	67,6	64,3

[a] g/kg; [b] g/kg na MS; [c] g/kg na PB; [d] %

Para a produção dos gases foram utilizadas seringas calibradas de acordo com procedimento descrito por Getachew et al. (2004).

Cada seringa recebeu aproximadamente 200 mg de MS de cada alimento a ser testado e 30 ml do líquido ruminal tamponado descrito anteriormente. Foram utilizadas três seringas por alimento.

Com a ponta fechada da seringa, o volume inicial foi anotado e a seringa foi aquecida a 39ºC. Os tempos de leitura utilizados foram: 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 26, 28,

30, 32, 36, 48, 52, 54, 56, 60 e 72 horas. A cada tempo foi feita a leitura, anotado o volume dos gases e a seringa foi suavemente agitada.

Os resultados foram corrigidos para o branco (seringa contendo fluido ruminal tamponado, sem a presença de amostra) e feno de tifton foi utilizada como padrão, às 24h de incubação.

A taxa e extensão da produção de gases foram estimadas para cada alimento por ajustamento dos dados de produção de gases aos modelos unicompartimentais: France et al. (1993), exponencial, logístico, Gompertz, Orskov e McDonald (1979), além dos modelos bicompartimentais: logístico e exponencial descritos na Tabela 22.

Tabela 22. Modelos não-lineares avaliados

Modelos	NP[1]	Restrições	Equações[2]
France et al. (1993)	4	A, b, $\lambda \geq 0$ e $c \geq -2b\sqrt{T}$	$\hat{Y} = A\{1-\exp^{[-b(t-\lambda)-c(\sqrt{t}-\sqrt{\lambda})]}\}$
Exponencial	3	A, μ e $\lambda \geq 0$	$\hat{Y} = A\{1-\exp^{[-\mu(t-\lambda)]}\}$
Logístico	3	A, μ e $\lambda \geq 0$	$\hat{Y} = A/\{1+\exp^{[2-4\mu(t-\lambda)]}\}$
Gompertz	3	A, μ e $\lambda \geq 0$	$\hat{Y} = A\exp^{\{-\exp[1-\mu(t-\lambda)]\}}$
Orskov e McDonald (1979)	2	A e $\mu \geq 0$	$\hat{Y} = A\{1-\exp^{[-\mu t]}\}$
Exponencial bicompartimental	5	ACNF, ACF, μCNF, μCF e $\lambda \geq 0$	$\hat{Y} = ACNF\{1-\exp^{[-\mu CNF(t-\lambda)]}\} + ACF\{1-\exp^{[-\mu CF(t-\lambda)]}\}$
Logístico bicompartimental	5	ACNF, ACF, μCNF, μCF e $\lambda \geq 0$	$\hat{Y} = ACNF/\{1+\exp^{[2-4\mu CNF(t-\lambda)]}\} + ACF/\{1+\exp^{[2-4\mu CF(t-\lambda)]}\}$

[1] NP = número de parâmetros do modelo

[2] A = assíntota (ml), A_{CNF} = assíntota dos carboidratos não fibrosos (ml), A_{CF} = assíntota dos carboidratos fibrosos (ml), μ = taxa fracional de degradação (h^{-1}), μ_{CNF} = taxa fracional de degradação dos carboidratos não fibrosos (h^{-1}), μ_{CF} = taxa fracional de degradação dos carboidratos fibrosos (h^{-1}), t = tempo de incubação (h), λ = tempo de latência (h)

Para obtenção da taxa fracional de degradação (μ) do Modelo de France et al. (1993) utilizou-se a equação:

$$\mu = b + c/2 \quad , t \geq \lambda$$

Os parâmetros dos modelos foram ajustados por regressão não-linear pelo método interativo de Gauss-Newton, inserindo o procedimento PROC NLIN do SAS (SAS Institute, 2008).

A avaliação dos modelos foi realizada pelo ajustamento do modelo de regressão linear simples dos valores observados sobre os valores preditos pelas equações, sendo as estimativas dos parâmetros de regressão testadas pela hipótese de nulidade conjunta segundo Mayer et al. (1994):

$$Ho : \beta 0 = 0 \text{ e } \beta 1 = 1$$

$$Ha : \text{não Ho.}$$

Para o Teste de Mayer et al. (1994) utilizou-se a probabilidade de 10% e sob o caso de não rejeição da hipótese de nulidade, concluiu-se pela equivalência entre os valores preditos e observados.

Ainda avaliou-se o viés médio (VM), que foi calculado conforme (Cochran e Cox, 1957) com a equação abaixo:

$$VM = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(xi - yi)$$

Em que: x = valores observados; y = valores preditos.

O coeficiente de concordância da correlação (CCC), também conhecido como índice de reprodutibilidade, que considera simultaneamente exatidão e precisão, foi calculado conforme Lin (1989).

A avaliação comparativa da eficiência de predição das equações foi realizada pela avaliação do quadrado médio dos erros de predição (QMEP), segundo descrito por Bibby e Toutenburg (1977), conforme a equação abaixo:

$$QMEP = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(xi - yi)^2$$

Em que: x = valores observados; y = valores preditos.

Para avaliação dos parâmetros de regressão, VM, CCC e QMEP utilizou-se o programa Model Evaluation System (MES), versão 3.0.11. (http://nutritionmodels.tamu.edu/mes.htm, College Station, TX, USA; Tedeschi, 2006).

RESULTADOS

Os parâmetros cinéticos de degradação estimados pelos diferentes modelos encontram-se na Tabela 3.

No modelo de France, foram apresentados apenas os valores de A, μ e λ, visto que os valores de b e c, presentes na equação, além de não apresentarem interpretação biológica (Fondevila e Barrios, 2001), apresentaram valores negativos para os alimentos casca de arroz e raspa de mandioca.

Entre os modelos unicompartimentais, o Modelo de Gompertz parece superestimar a taxa de degradação para todos os alimentos avaliados, com valor biologicamente difícil de ocorrer. O modelo logístico unicompartimental foi o que apresentou menor valor de A e μ, parecendo subestimá-los.

Nos modelos bicompartimentais, os valores da assíntota provenientes dos CNF foram maiores em todos os alimentos.

Tabela 23. Assíntotas (ml) total, dos CNF e dos CF (A, A_{CNF} e A_{CF}), taxas fracionais de degradação (h^{-1}) total, dos CNF e dos CF (μ, μ_{CNF} e μ_{CF}) e tempo de latência (λ, em horas) dos alimentos testados utilizando diferentes modelos matemáticos.

Parâmetro	Modelos[a]						
	1	2	3	4	5	6	7
				Casca de arroz			
A	--	4,424	4,431	--	4,151	4,169	4,447
A_{CNF}	2,522	--	--	4,292	--	--	--
A_{CF}	1,916	--	--	1,361	--	--	--
μ	--	0,055	0,054	--	0,035	0,105	0,053
μ_{CNF}	0,058	--	--	0,055	--	--	--
μ_{CF}	0,018	--	--	0,002	--	--	--
Λ	0,523	0,014	0,018	0,018	0,002	0,002	--
				Cana-de-açúcar			
A	--	45,793	42,134	--	41,030	41,140	42,134
A_{CNF}	24,933	--	--	24,732	--	--	--
A_{CF}	20,213	--	--	24,135	--	--	--
μ	--	0,093	0,126	--	0,086	0,248	0,126
μ_{CNF}	0,244	--	--	0,502	--	--	--

μ_{CF}	0,024	--	--	0,030	--	--	--
Λ	1,346	0,788	0,001	1,387	0,001	0,001	--
			Raspa de mandioca				
A	--	69,262	69,264	--	68,034	68,277	70,639
A_{CNF}	43,936	--	--	64,743	--	--	--
A_{CF}	26,111	--	--	14,269	--	--	--
μ	--	0,138	0,139	--	0,090	0,248	0,099
μ_{CNF}	0,176	--	--	0,155	--	--	--
μ_{CF}	0,037	--	--	0,008	--	--	--
Λ	2,781	1,769	1,769	1,843	1,663	1,488	--
			Nabo				
A	--	37,959	36,788	--	36,029	36,141	36,861
A_{CNF}	23,575	--	--	30,042	--	--	--
A_{CF}	13,920	--	--	9,515	--	--	--
μ	--	0,116	0,123	--	0,079	0,226	0,119
μ_{CNF}	0,130	--	--	0,173	--	--	--
μ_{CF}	0,031	--	--	0,027	--	--	--
Λ	0,529	1,099	0,198	0,662	0,001	0,001	--
			Pupunha				
A	--	104,000	96,581	--	94,197	94,427	96,582
A_{CNF}	54,356	--	--	47,915	--	--	--
A_{CF}	45,764	--	--	55,020	--	--	--
μ	--	0,094	0,119	--	0,080	0,229	0,119
μ_{CNF}	0,181	--	--	0,412	--	--	--
μ_{CF}	0,029	--	--	0,051	--	--	--
Λ	0,767	0,891	0,001	1,039	0,001	0,001	--

[a] 1 = Logístico bicompartimental; 2 = France (1993); 3 = Exponencial; 4 = Exponencial bicompartimental; 5 = Logístico; 6 = Gompertz; 7 = Orskov e McDonald (1979)

Para a cana-de-açúcar e pupunha o Modelo de France apresentou maior assíntota, enquanto para os demais alimentos o Modelo de Orskov e McDonald (1979), sem tempo de latência, foi o que teve maior assíntota.

Os parâmetros de regressão, o valor de P para o teste de Mayer et al. (1994), o VM, o CCC e o QMEP dentre os valores observados e os estimados pelos diferentes modelos matemáticos para os alimentos testados são apresentados na tabela 4.

O teste Mayer et al. (1994) indica falta de ajuste (P<0,10) para os modelos France, logístico simples e Gompertz com alimento casca de arroz e Orskov e McDonald (1979) com o alimento raspa de mandioca. A falta de ajuste pelo teste Mayer et al. (1994) indica que o modelo não é adequado para representar a cinética de degradação dos alimentos em questão.

O modelo de Gompertz foi o que apresentou maior VM para os alimentos casca de arroz, nabo e pupunha com valores de 6,0; 0,5 e 0,67%, enquanto que para cana-de-açúcar o maior viés médio foi obtido com o modelo logístico (0,25%) e para o alimento mandioca raspa, o modelo de Orskov e McDonald (1979) foi o que apresentou maior viés médio (2,46%). Yungblut et al. (1981) consideraram que um viés médio inferior a 10% em relação aos valores observados é aceitável.

Quando o CCC foi analisado, todos os modelos apresentaram valores próximos a 1, indicando bom ajuste aos valores observados.

Dentre os índices de avaliação dos modelos, o QMEP foi o que mais contribuiu para demonstrar o ajustamento dos modelos. Dentre estes, os modelos bicompartimentais se destacaram, sendo que para os alimentos casca de arroz e raspa de mandioca o modelo logístico bicompartimental apresentou menor valor, enquanto para os alimentos cana-de-açúcar, nabo e pupunha o modelo exponencial bicompartimental foi o que apresentou menor QMEP.

Tabela 24. Parâmetros de regressão, valor de P, viés médio (VM), coeficiente de concordância da correlação (CCC) e quadrado médio do erro de predição (QMEP) dentre os valores observados para volume acumulativo de gases e os estimados pelos diferentes modelos matemáticos em diferentes alimentos

Parâmetro	Modelos[a]						
	1	2	3	4	5	6	7
				Casca de arroz			
Intercepto	-0,005	0,086	0,017	0,030	0,226	0,220	0,035
Inclinação	1,002	0,976	0,993	0,991	0,937	0,939	0,990
r^2	0,999	0,998	0,998	0,998	0,985	0,991	0,998
P[b]	0,937	0,064	0,784	0,690	0,087	0,028	0,603
VM	0,000	0,001	0,000	0,000	0,002	0,002	0,000

CCC	1,000	0,999	0,999	0,999	0,990	0,993	0,999
QMEP	0,001	0,004	0,003	0,003	0,033	0,022	0,003
			Cana-de-açúcar				
Intercepto	-0,236	0,001	0,952	0,002	2,337	1,980	0,952
Inclinação	1,006	1,000	0,975	1,000	0,939	0,948	0,975
r^2	0,997	0,978	0,938	0,999	0,885	0,902	0,938
P^b	0,902	1,000	0,918	0,997	0,757	0,791	0,918
VM	-0,003	0,007	-0,052	0,000	0,191	0,141	0,059
CCC	0,998	0,989	0,969	0,999	0,940	0,949	0,969
QMEP	0,317	2,137	6,183	0,123	11,853	10,061	6,183
			Raspa de mandioca				
Intercepto	-0,709	0,000	-0,004	0,000	-1,593	-0,840	-5,585
Inclinação	1,011	1,000	1,000	1,000	1,025	1,013	1,089
r^2	0,998	0,995	0,995	0,997	0,983	0,991	0,980
P^b	0,503	1,000	1,000	1,000	0,730	0,848	0,084
VM	-0,007	-0,011	-0,012	-0,004	-0,157	-0,107	-0,392
CCC	0,999	0,998	0,998	0,998	0,991	0,995	0,985
QMEP	0,669	1,903	1,903	0,124	6,926	3,756	10,880
			Nabo				
Intercepto	-0,087	-0,001	0,001	-0,003	1,064	1,088	-0,262
Inclinação	1,003	1,000	1,000	1,000	0,968	0,967	1,008
r^2	0,999	0,998	0,993	0,999	0,973	0,981	0,993
P^b	0,941	1,000	1,000	1,000	0,716	0,608	0,928
VM	-0,009	-0,001	0,000	-0,003	-0,015	-0,021	-0,011
CCC	1,000	0,999	0,997	1,000	0,986	0,990	0,996
QMEP	0,078	0,168	0,549	0,046	2,269	1,623	0,567
			Pupunha				
Intercepto	-0,324	-0,001	2,242	0,000	6,060	5,552	2,234
Inclinação	1,004	1,000	0,974	1,000	0,930	0,936	0,974
r^2	0,999	0,997	0,977	1,000	0,934	0,946	0,977
P^b	0,919	0,999	0,776	1,000	0,517	0,506	0,778
VM	-0,031	0,135	0,006	0,004	-0,129	-0,185	0,171
CCC	0,999	0,999	0,988	1,000	0,965	0,972	0,988

QMEP	0,752	1,407	12,497	0,179	37,832	30,725	12,494

[a] 1 = Logístico bicompartimental; 2 = France (1993); 3 = Exponencial; 4 = Exponencial bicompartimental; 5 = Logístico; 6 = Gompertz; 7 = Orskov e McDonald (1979)
[b] P>0,10 = Ho : β0 = 0 e β1 = 1; P<0,10 = Ha : não Ho.

Na Figura 3 encontram-se as curvas de produção cumulativa de gases ao longo do tempo de incubação para o modelo que melhor se ajustou aos alimentos. Como os melhores modelos foram bicompartimentais (logístico e exponencial) foi feito a separação dos gases provenientes dos carboidratos de rápida fermentação, aqui chamados de CNF e aqueles de lenta fermentação, aqui chamados de CF.

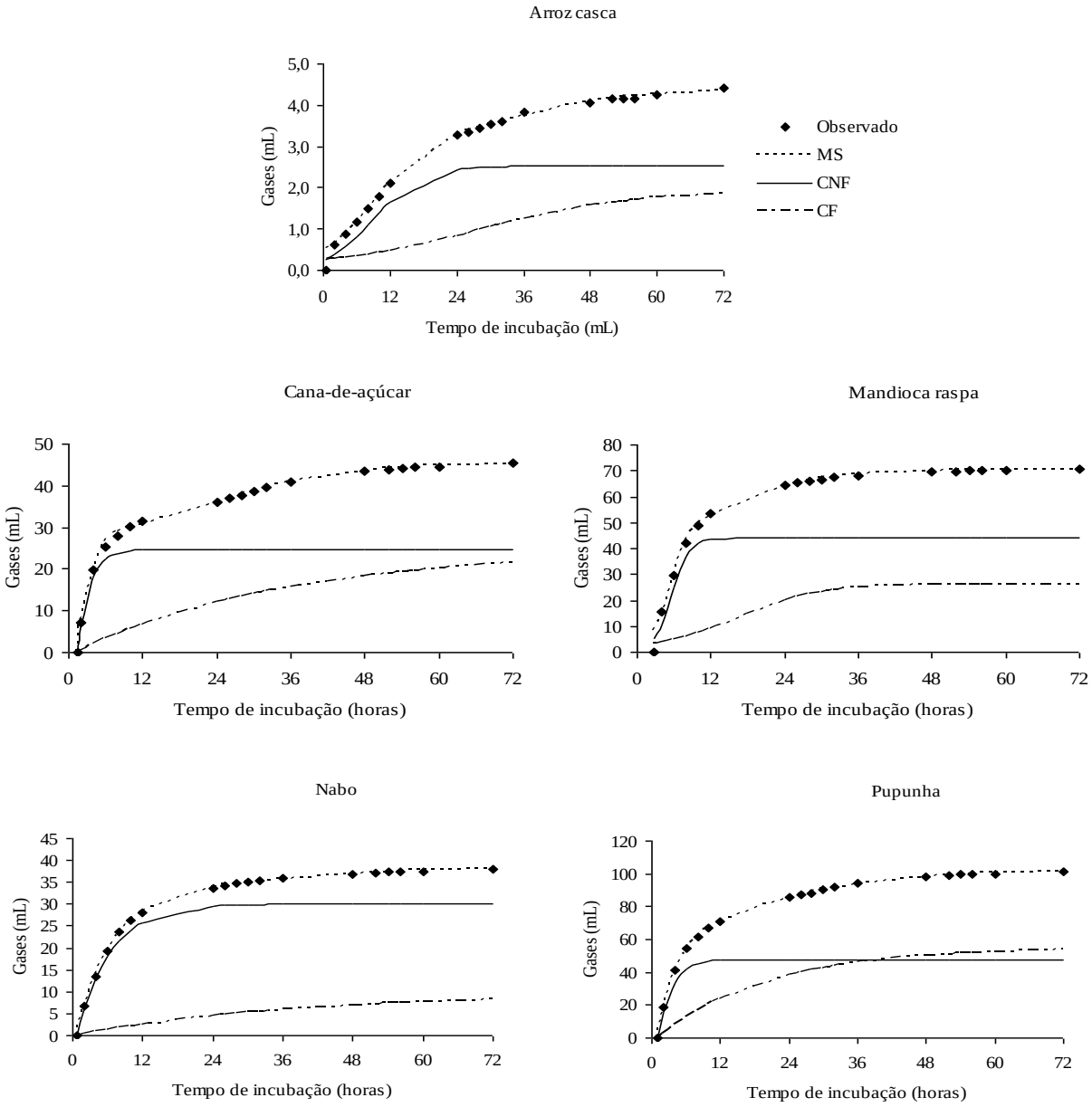

Figura 2. Curvas de produção cumulativa de gases (ml) ao longo do tempo de incubação para o modelo que melhor se ajustou aos alimentos.

Para os alimentos casca de arroz e raspa de mandioca o modelo que melhor se ajustou foi o logístico bicompartimental, o qual gera curvas sigmoides, mesmo que discretas, devido ao período de colonização bacteriana antes do aumento na produção de gases. Para os alimentos cana-de-açúcar, nabo e pupunha o modelo exponencial bicompartimental foi o que mais se adequou e este gera curvas exponenciais.

Por meio do ajuste de um modelo de regressão linear simples entre os valores obtidos da FDNcp digestível (como os dados da DIVFDN) e os valores da assíntota dos CF dos modelos que melhor se ajustaram aos perfis cumulativo de gases nos alimentos, foi possível observar relação biológica deste parâmetro (Figura 4).

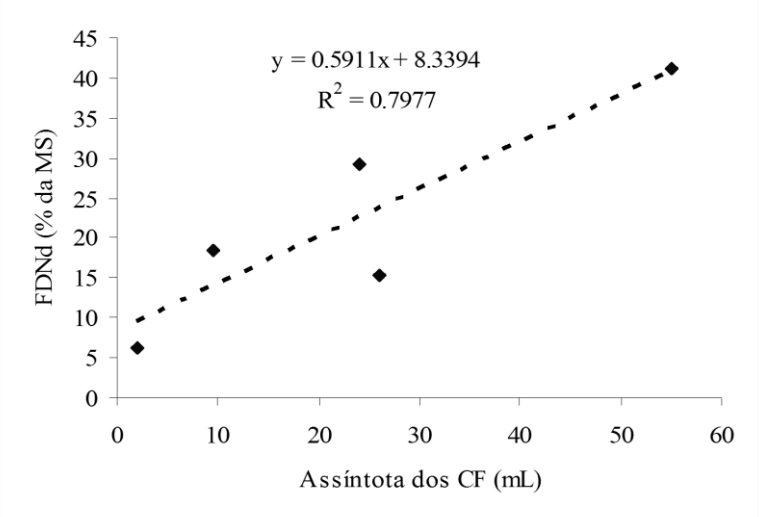

Figura 3. Relação entre assíntota dos CF obtida pelos modelos de menor QMEP com FDNd

DISCUSSÃO

Apesar dos alimentos estudados apresentarem maior concentração de CF em relação ao CNF, com exceção da raspa de mandioca, limitações do uso destes CF parece existir. Esta limitação interferiu nas taxas de degradação do CF de todos os alimentos, a qual não ultrapassou $0{,}051^{h-1}$ ocorrido com o alimento pupunha. Para componentes insolúveis, associados com a fração da parede celular dos alimentos, a taxa fracional de degradação é mais lenta quando substâncias químicas ou barreiras estruturais são encontradas (Groot et al., 1996). A cristalinidade da celulose e a ação tóxica de compostos fenólicos da parede celular podem impor barreiras à digestão (Cornu et al. 1994).

Nem todos os modelos utilizados na cinética de produção de gases relatados na literatura levam em consideração o tempo de latência. Fatores que afetam a presença e a duração do tempo de latência incluem a natureza do alimento incubado, espécies microbianas inoculadas, e a quantidade de inóculo adicionado (López et al., 2007). No ajuste das formas funcionais, parâmetros podem ser incluídos ou retirados dos modelos (Uckardes, 2013), desta forma a fase de latência pode ser simplesmente suprimida da equação se ela não melhorar significativamente o ajuste da curva, exceto no caso do modelo generalizado Mitscherlich (função do crescimento de France), onde o lag, embora pequeno, é necessário para evitar uma descontinuidade matemática no parâmetro μ no tempo zero de incubação.

O coeficiente de determinação como o único critério na avaliação dos modelos não é um bom indicador de ajustamento, uma vez que elevados coeficientes podem ser vistos em modelos preditivos com eficiência limitada (Noguera et al., 2004), por isso utilizou-se também como indicadores, o CCC, que avalia simultaneamente precisão e acurácia dos dados e o QMEP, que foi o mais sensível para detectar as diferenças entre os modelos testados.

Ao compararem quatro modelos unicompartimentais, Uckardes et al. (2013) concluíram que o modelo de Orskov foi o melhor estatisticamente enquanto o de Gompertz não foi apropriado para estimar os dados de produção de gás. Neste trabalho, o modelo de Gompertz não foi adequado ($P<0,10$) para estimar os valores de produção de gás da casca de arroz além de apresentar o segundo maior valor de QMEP para a casca de arroz, cana-de-açúcar, nabo e pupunha. Já o modelo de Orskov foi inadequado ($P<0,10$) para estimar os valores de produção de gás da raspa de mandioca e apresentou valores de QMEP maiores do que os modelos bicompartimentais e que o modelo de France. Vale ressaltar que no modelo de Orskov utilizado por Uckardes et al. (2013) foram incluídos dois parâmetros não incluídos no presente trabalho (gás oriundo de fração solúvel e gás oriundo de fração insolúvel potencialmente degradável), o que pode ter gerado um melhor ajustamento do modelo.

Os menores QMEP foram observados nos modelos logístico bicompartimental (casca de arroz e raspa de mandioca) e exponencial bicompartimental (cana-de-açúcar, nabo e pupunha). Ambos os modelos geram curvas dos carboidratos rapidamente fermentáveis e lentamente fermentáveis. Estas curvas de produção de gases possibilitam análise dos dados e comparação dos alimentos ou características do ambiente de

fermentação e podem fornecer informações úteis relativas à composição do alimento e fermentabilidade das frações solúveis e lentamente fermentáveis dos alimentos.

É possível que curvas exponenciais, como a gerada pelo modelo exponencial bicompartimental, sejam observadas quando se avalia a produção de gases oriunda da MS, devido à presença de carboidratos solúveis nos alimentos testados, entretanto a observação de curvas exponenciais oriundas apenas dos carboidratos fibrosos, de lenta fermentação, não parece ser biologicamente correto, visto que estes necessitam de hidratação, aderência e colonização bacteriana, considerada como lag time, até o crescimento na produção de gás.

Mesmo sendo os modelos bicompartimentais os que mais se adequaram aos valores observados, o logístico foi o mais adequado para dois alimentos enquanto o exponencial foi o mais adequado para os outros três alimentos. Como foi colocado por Uckardes e Efe (2014) a reação do modelo depende do substrato utilizado, podendo o mesmo modelo apresentar diferentes desempenhos quando se utiliza diferentes alimentos. Desta forma, pode ser necessária a seleção de um modelo apropriado para cada situação.

Em estudo com incubação de silagens de girassol e milho, Melo et al. (2008) testaram diferentes modelos não lineares e observaram que o modelo de France gerava volumes negativos nas primeiras três horas de incubação, achado biologicamente impossível, e atribuíram este fato ao valor do parâmetro b, que não apresenta interpretação biológica. Além disso, observaram que os modelos de Gompertz e Logístico simples superestimaram o segundo ponto de inflexão da curva e subestimaram a fase assintótica após 144 horas. Estes autores concluíram que o modelo Logístico Bicompartimental foi o mais eficiente por apresentar curva adequada em todas as fases de incubação e apresentar características mais relevantes do ponto de vista nutricional, por exemplo a geração de parâmetros provenientes de carboidratos fibrosos e não fibroso. Esta observação é corroborada pelo trabalho de Krueger et al. (2010) que observou redução da taxa e do volume gás oriunda dos carboidratos fibrosos quando se fez a inclusão de glicerol em amostras de alfafa incubadas *in vitro*. Esta informação só foi possível devido à utilização de um modelo bicompartimental, neste caso, o Logístico.

CONCLUSÕES

Para os alimentos testados, os modelos bicompartimentais foram os mais adequados, sendo o Logístico Bicompartimental para a casca de arroz e raspa de mandioca e o Exponencial Bicompartimental para cana-de-açúcar, nabo e pupunha. Além disso, este modelos geram parâmetros de fácil interpretação biológica e de grande valor nutricional para a avaliação de alimentos utilizados na Nutrição de Ruminantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. **Official methods of analysis**. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, 1990.

BIBBY, J.; TOUTENBURG, H. **Prediction and improved estimation in linear models**. New York: J. Wiley and Sons, 1977.

COCHRAN, W. G.; COX, G. M. **Experimental Design**. John Wiley & Sons, New York. 1957.

CORNU, A.; BESLE, J. M.; MOSONI, P.; GRENET, E. Lignin-carbohydrate complexes in forages: structure and consequences in the ruminal degradation of cell-wall carbohydrates. **Reproduction Nutrition Development**, v. 34, p. 385-398, 1994.

FONDEVILA, M.; BARRIOS, A. The gas production technique and its application to the study of the nutritive value of forages. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 35, p. 187-196, 2001.

FRANCE, J.; DHANOA, M. S.; THEODOROU, M. K.; LISTER, S. J.; DAVIES, D.R.; ISAC, D. A model to interpret gas accumulation profiles associated with in vitro degradation of ruminant feeds. **Journal of Theoretical Biology**, v. 163, p.99-111, 1993.

FRANCE, J.; LÓPEZ, S.; KEBREAB, E.; BANNINK, A.; DHANOA, M. S.; DIJKSTRA, J. A general compartmental model for interpreting gas production profiles. **Animal Feed Science and Technology**, v. 123-124, p. 473-485, 2005.

GETACHEW, G.; BLÜMMEL, M.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 72, p. 261-281, 1998.

GETACHEW, G.; ROBINSON, P. H.; DEPETERS, E. J.; TAYLOR, S. J. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and in vitro gas production of several ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 111, p. 57-71, 2004.

GROOT, J. C. J.; CONE, J. W.; WILLIAMS, B. A.; DEBERSAQUES, F. M. A.; LANTINGA, E. A. Multiphasic analysis of gas production kinetics for in vitro

fermentation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 64, p. 77-89, 1996.

HALL, M. B. **Neutral Detergent-soluble carbohydrates. Nutritional relevance and analysis**. University of Florida, Gainesville, 2000.

KRIZSAN, S. J.; JANČÍK, F.; RAMIN, M.; HUHTANEN, P. Comparison of some aspects of the in situ and in vitro methods in evaluation of neutral detergent fiber digestion. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 838–847, 2013.

KRUEGER, N. A.; ANDERSON, R. C.; TEDESCHI, L. O.; CALLAWAY, T. R.; EDRINGTON, T. S.; NISBET, D. J. Evaluation of feeding glycerol on free-fatty acid production and fermentation kinetics of mixed ruminal microbes in vitro. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 8469-8472, 2010.

LI, M.; ZI, X.; ZHOU, H.; HOU, G.; CAI, Y. Effects of sucrose, glucose, molasses and cellulase on fermentation quality and in vitro gas production of king grass silage. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197, p. 206-2012, 2014.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fracionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 57, p. 347-358, 1996.

LIN, L. A. Concordance correlation coefficient to evaluate reprodutibility. **Biometrics**, v. 45, p. 255-268, 1989.

LÓPEZ, S.; D. S.; DIJKSTRA, J.; BANNINK, A.; KEBREAB, E.; FRANCE, J. Some methodological and analytical considerations regarding application of the gas production technique. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, p. 139-156, 2007.

MAYER, D. G.; STUART, M. A.; SWAIN, A. J. Regression of real-world data on model output: An appropriate overall test of validity. **Agricultural Systems**, v. 45, p. 93-104, 1994.

MELLO, R.; MAGALHÃES, A. L. R.; BREDA, F. C.; REGAZZI, A. J. Modelos para ajuste da produção de gases em silagens de girassol e milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 261-269, 2008.

MENKE, K. H.; STEINGASS, H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. **Animal Research and Development**, v. 28, p. 7-55, 1988.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, p. 1217–1240, 2002.

NOGUERA R. R.; SALIBA, E. O.; MAURICIO, R. M. Comparación de modelos matemáticos para estimar los parâmetros de degradación obtenidos através de la técnica de producción de gas. **Livestock Research for Rural Development**, v. 16 , 2004. Disponível em: http://www.lrrd.org/lrrd16/11/nogu16086.htm

NRC. **National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington, D.C., 381 p., 2001.

ORSKOV, E. R.; MCDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, v. 92, p. 499-503, 1979.

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.

RAMIN, M.; HUHTANEN, P. Development of an in vitro method for determination of methane production kinetics using a fully automated in vitro gas system - A modelling approach. **Animal Feed Science and Technology**, v. 174, p. 190-200, 2012.

RODRIGUES, M. A. M.; CONE, J. W.; FERREIRA, L. M. M.; BLOK, M. C.; GUEDES, C. V. M. Relationship between in situ degradation kinetics and in vitro gas production fermentation using different mathematical models. **Animal Feed Science and Technology**, v. 151, p. 86-96, 2009.

SAS. **Statistical Analyses Software**. Institute Inc., SAS/STAT. Software, Ver. 9.2, SAS Institute Inc., Cary, 2008

SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A. N. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2980-2991, 1994.

TEDESCHI, L. O. Assessment of the adequacy of mathematical models. **Agricultural Systems**, v. 89, p. 225-247, 2006.

UCKARDES, F. A modified Mitscherlich model and its degradation kinetics equations. **Archiv Tierzucht**, v. 56, p. 1005-1013, 2013.

UCKARDES, F.; KORKMAZ, M.; OCAL, P. Comparison of models and estimation of missing parameters of some mathematical models related to in situ dry matter degradation. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 23, p. 999-1007, 2013.

UCKARDES, F.; EFE, E. Investigation on the usability of some mathematical models in in vitro gas production techniques. **Slovak Journal of Animal Science**, v. 47, p. 172-179, 2014.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B. **Analysis of forages and fibrous foods**. Cornell University, Ithaca, 1985.

YUNGBLUT, D. H.; STONE, J. B.; MACLEOD, G. K.; WILSON, G. F. The testing of several feed intake prediction equations using farm data. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 61, p. 159-164, 1981.

VII – CONCLUSÕES FINAIS

Capítulo 1: Os indicadores internos FDNi e FDAi, apresentam recuperação fecal incompleta, inviabilizando assim sua utilização como estimador da EFMS e digestibilidade da MS em experimento com ovinos confinados.

Os indicador interno MSi apresenta recuperação fecal completa e é capaz de estimar com precisão os valores de EFMS e digestibilidade da MS em experimentos com ovinos confinados.

Capítulo 2: Os resultados de FDN obtidos em sacos de TNT são similares aos valores observados quando se utiliza os cadinhos para filtragem. Desta forma indica-se a utilização dos sacos de TNT como meio de redução de custo e tempo despendido nas análises.

Mesmo apresentando igualdade entre os valores de FDN após a análise, os dados obtidos com utilização dos cadinhos filtrantes são mais precisos do que os valores obtidos com o TNT.

Capítulo 3: A redução do número de dias de coleta de fezes para determinação da excreção fecal de matéria seca e da digestibilidade da matéria seca não resulta em valores diferentes da coleta realizada por cinco dias, entretanto quanto maior o número de dias de coleta, maior a confiabilidade dos resultados obtidos.

A análise única de alimento fornecido e sobras, a partir do agrupamento das amostras de todos os períodos experimentais, de forma proporcional, pode ser realizada em substituição às análises individuais por período, promovendo assim redução dos custos com análises químico-bromatológicas na pesquisa.

Capítulo 4: Para os alimentos testados, os modelos bicompartimentais foram os mais adequados, sendo o Logístico Bicompartimental para a casca de arroz e raspa de mandioca e o Exponencial Bicompartimental para cana-de-açúcar, nabo e pupunha. Além disso, este modelos geram parâmetros de fácil interpretação biológica e de grande valor nutricional para a avaliação de alimentos utilizados na Nutrição de Ruminantes.