

**EVANETE MOURA DE CARVALHO**

**CARACTERIZAÇÃO DE ALIMENTOS PARA RUMINANTES SEGUNDO O  
CORNELL NET CARBOHYDRATE AND PROTEIN SYSTEM – CNCPS  
COM ADAPTAÇÕES**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2012

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

T

C331c  
2012

Carvalho, Evanete Moura de, 1963-

Caracterização de alimentos para ruminantes segundo o  
Cornell net carbohydrate and protein system - CNCPS com  
adaptações / Evanete Moura de Carvalho. – Viçosa, MG,  
2012.

xvi, 102f. : il. ; (algumas color.) ; 29cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Marcelo Teixeira Rodrigues.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 64-77.

1. Ruminante - Alimentação e rações. 2. Ruminante -  
Nutrição. 3. Proteínas na nutrição animal. 4. Carboidratos  
na nutrição animal. 5. Microorganismos. I. Universidade  
Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia. Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 636.20852

**EVANETE MOURA DE CARVALHO**

**CARACTERIZAÇÃO DE ALIMENTOS PARA RUMINANTES SEGUNDO O  
CORNELL NET CARBOHYDRATE AND PROTEIN SYSTEM – CNCPS  
COM ADAPTAÇÕES**

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

APROVADA: 26/10/2012

---

Prof. José Carlos Pereira

---

Prof<sup>a</sup>. Carla Aparecida F. Rodrigues

---

Prof. Augusto César de Queiroz  
(Coorientador)

---

Prof. Ricardo Augusto M. Vieira

---

Prof. Marcelo Teixeira Rodrigues  
(Orientador)

*Se todas as palavras já foram ditas...  
...nem todas as ideias foram reveladas!!!*

*A Deus pelo dom da vida, pelas oportunidades a mim dispensadas e, principalmente, pelo amor incondicional que aos seus filhos revela.*

*A meus filhos, Roscele e Noelito Filho, pelo amor, incentivo, paciência e compreensão pelas tantas ausências.*

*Aos meus amados pais, Gerson Monteiro de Carvalho e Clementina Moura de Carvalho, pelas lutas incansáveis para criar e educar seus 12 filhos, dos quais, orgulhosamente sou a 12ª “viva” dos 18 gerados.*

*Aos meus 11 irmãos: Celson, Mª Celça, Gildasio, Verilda, Manoel Bomfim, Gildo, Gildelson, Gildaci, Nolita, João e Gerson Filho, pelo apoio, carinho, amizade, orações e sorrisos.*

*A todos os demais parentes e amigos, pela amizade, carinho, confiança e apoio de modo geral.*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

À FAPESB, IF Baiano e UFV, pela parceria resultante no programa DINTER (Doutorado Interinstitucional), que possibilitaram e viabilizaram este projeto.

À professora Daniele Silva de Matos, coordenadora do DINTER, que se disponibilizou em contribuir com os participantes em nome da ciência e da qualificação profissional.

Ao professor, José Assunção Silveira Júnior-Diretor Geral do Instituto Federal Baiano, *Campus* de Itapetinga-Ba, pela compreensão e colaboração ao término deste trabalho.

Ao professor, Marcelo Teixeira Rodrigues, pelas orientações, confiança e apoio no desempenho das atividades.

Aos professores, Mário Fonseca Paulino, Pedro Veiga Rodrigues Paulino, Edenio Detmann, Aloísio Soares Ferreira e Cristina Mattos Veloso, por sair da comodidade do seu ambiente de trabalho na UFV em Viçosa-MG, para se disponibilizar a ministrar aulas no interior da Bahia para a turma do DINTER.

Aos professores, Ricardo Augusto Mendonça Vieira, Augusto César de Queiroz, Carla Aparecida Florentino Rodrigues e José Carlos Pereira, por aceitarem participar e contribuírem com a defesa desta Tese.

À Dra. Márcia M<sup>a</sup> Cândido, pelas contribuições, amizade e carinho muitas vezes expressados.

Aos colaboradores estagiários, Juliana, Vinício Sanches de Oliveira, Tiago Martins de Oliveira Alves, pelas noites mal dormidas e pelo agradável convívio.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal da UFV, pelo convívio fraterno, pelas colaborações e pela disposição com que sempre me atenderam.

Aos amigos conquistados em Viçosa, que em momentos distintos, contribuíram para tornarem os meus dias mais agradáveis.

A todos que, de alguma maneira, contribuíram para minha formação e realização deste trabalho.

## BIOGRAFIA

EVANETE MOURA DE CARVALHO, filha de Gerson Monteiro de Carvalho e Clementina Moura de Carvalho, nasceu em Itarantim-Ba, Brasil, em 02 de maio de 1963.

Em 2001, concluiu o curso de Graduação em Zootecnia, pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga-Ba. Em 2002, Aprovada e selecionada, assume o cargo de professora substituta na Escola Agrotécnica Federal de Senhor do Bonfim-Ba, onde permaneceu por dois anos.

Em 2004, Foi admitida no Curso de Pós Graduação, em nível de mestrado, na área de Nutrição de Ruminantes, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga-Ba, defendendo dissertação em junho de 2006.

Em julho de 2006, aprovada em concurso público, assumiu o cargo de Professora Efetiva de Zootecnia na Escola Agrotécnica Federal de Santa Inês-Ba.

Em 2009, ingressou no programa do DINTER – Doutorado Interinstitucional, cursando o Doutorado na área de Nutrição e Alimentação Animal, em concomitância com as atividades pedagógicas exercidas atualmente no IF Baiano – *Campus* de Itapetinga-Ba, defendendo tese em outubro de 2012.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	ix
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS .....	x
RESUMO .....	x
ABSTRACT .....	xv
INTRODUÇÃO .....	1
REVISÃO DE LITERATURA .....	3
<i>Sistemas de avaliação de alimentos pelo CNCPS</i> .....	3
<i>Proteína na alimentação de ruminantes</i> .....	6
<i>Carboidratos na alimentação de ruminantes</i> .....	8
<i>Carboidratos fibrosos (CF)</i> .....	8
<i>Carboidratos não fibrosos (CNF)</i> .....	9
<i>Degradação das frações dos carboidratos e compostos nitrogenados</i> .....	10
<i>Descrição sucinta dos alimentos estudados neste trabalho</i> .....	13
<i>Farelo de Algodão</i> .....	13
<i>Torta de algodão</i> .....	14
<i>Polpa cítrica</i> .....	15
<i>Farelo de Dendê</i> .....	16
<i>Torta de Dendê</i> .....	17
<i>Torta de Licuri</i> .....	19
<i>Farelo de mamona</i> .....	19
<i>Torta de Pinhão Manso</i> .....	20
<i>Farelo de soja</i> .....	21
<i>Farelo de Trigo</i> .....	22
<i>Fubá de milho</i> .....	23
<i>Bagaço de cana-de-açúcar</i> .....	24
<i>Capim Tifton-85</i> .....	25
MATERIAIS E MÉTODOS .....	27
<i>Composição química dos alimentos</i> .....	27
<i>Fracionamento das proteínas</i> .....	28
<i>Fracionamento dos carboidratos</i> .....	29
<i>Degradação “in vitro” de compostos nitrogenados</i> .....	31
<i>Perfil de degradação da PIDN</i> .....	32
<i>Degradação “in vitro” de Carboidratos não fibrosos (Produção de Gás)</i> .....	35
RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	38
<i>Composição química</i> .....	38
<i>Caracterização das frações nitrogenadas</i> .....	47
<i>Degradação dos compostos nitrogenados</i> .....	51
<i>Caracterização das frações de Carboidratos</i> .....	54
<i>Degradações dos carboidratos</i> .....	57
CONCLUSÕES .....	63
APÊNDICE .....	78

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química de alguns alimentos utilizados na formulação de dietas para ruminantes no Brasil .....	39
Tabela 2. Composição química de alguns alimentos utilizados na formulação de dietas para ruminantes no Brasil .....	42
Tabela 3. Composição química dos CNF de alguns alimentos utilizados na formulação de dietas para ruminantes no Brasil e o percentual de açúcar, amido e pectinas em relação ao CNF. ....	45
Tabela 4. Caracterização das frações nitrogenadas de alguns alimentos utilizados na formulação de dietas para ruminantes no Brasil .....	48
Tabela 5. Taxas de degradação das frações B1 e B2 dos compostos nitrogenados ...	52
Tabela 6. Caracterização das frações de carboidratos de alguns alimentos utilizados na formulação de dietas para ruminantes no Brasil.....	55
Tabela 7. Taxas de degradação das frações de carboidratos e o tempo médio de degradação das frações .....	57
Tabela 8. Medidas de volumes de gás (mL) dos alimentos estudados, após 96 horas de incubação.....	61

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Determinação da Fração A das proteínas. Adição de solução de ácido tricloroacético (A) e filtração para obtenção do N1 (B).....28
- Figura 2. Determinação da Fração A dos carboidratos. Armazenamento em frascos plásticos e pipetagem do filtrado (A e B); Pipetagem da solução de antrona (C).....30
- Figura 3. Degradação in vitro de compostos nitrogenados. A- Mesa de agitação orbital; B-Filtração do incubado; C-Destilação do Nitrogênio.....31
- Figura 4. Degradação de carboidratos fibrosos. A- Resíduos para determinação da CIDN e da PIDN; B- Mesa de agitação orbital.....34
- Figura 5. Aferimento da pressão e volume de gás produzido durante a incubação das amostras. A- Manômetro com seringa de 10 mL; B- Manômetro com seringa de 20 mL.....36

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Abreviaturas/símbolos	Unidade	Descrição
A	g/kg	Fração de nitrogênio não proteico no alimento
A'	g/kg	Fração de carboidratos solúveis em detergente neutro no alimento
AGV	g/d	Teor de ácidos graxos voláteis produzidos a partir do alimento
B1	g/kg	Fração de proteína solúvel em detergente neutro no alimento
B1'	g/kg	Fração de carboidratos não fibrosos, porém, insolúveis em detergente neutro no alimento.
B2	g/kg	Fração de proteína potencialmente degradável, porém, insolúvel em detergente neutro, no alimento.
B2'	g/kg	Fração de carboidratos fibrosos potencialmente degradáveis no alimento
BIN		Bagaço <i>in natura</i>
C	g/kg	Fração de compostos nitrogenados indegradáveis no alimento
C'	g/kg	Fração de carboidratos não degradáveis no alimento
CD		Coefficiente de digestibilidade
CE		Carboidratos estruturais
CIDA	g/d	Teor de cinzas insolúveis em detergente ácido do alimento
CIDN	g/d	Teor de cinzas insolúveis em detergente neutro do alimento
CT	g/kg	Teor de carboidratos totais do alimento
CF	g/d	Teor de carboidratos fibrosos do alimento
CNE		Carboidratos não estruturais
CNF	g/d	Teor de carboidratos não fibrosos do alimento
CNCPS		Cornell Net Carbohydrate and Protein System
EE	g/d	Teor de extrato etéreo fornecida pelo alimento

ENN		Extratos não nitrogenados
FB		Fibra bruta
FDA	g/d	Fibra em detergente ácido do alimento
FDN	g/d	Fibra em detergente neutro do alimento
FDNcp		Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína do alimento
GMD		Ganho médio diário
LDA		Lignina em detergente ácido
MM	g/kg	Teor de matéria mineral no alimento
MS	g/kg	Teor de matéria seca no alimento
N		Teor de nitrogênio do alimento
NDT		Nutrientes digestíveis totais
NIDA	g/d	Teor de nitrogênio insolúvel em detergente ácido do alimento
NIDN	g/d	Teor de nitrogênio insolúvel em detergente neutro do alimento
NNP	g/d	Teor do nitrogênio não proteico no alimento
N (da fórmula)		Corresponde a ordem de dependência do tempo para preparação da partícula alimentar para digestão
N1		Teor de nitrogênio residual após tratamento da amostra com TCA.
NT	g/kg	Teor de nitrogênio total no alimento
O <sub>2</sub>		Oxigênio
P <sub>2</sub>		É a proporção de fração B' no carboidrato fibroso.
PB	g/kg	Teor de proteína bruta no alimento
PDR		Proteína degradável no rúmen
PIDA		Proteína insolúvel em detergente ácido
PIDN		Proteína insolúvel em detergente neutro
PITCA	g/kg	Proteína insolúvel em ácido tricloroacético
PNDR		Proteína não degradável no rúmen

$R_t$	g/kg	Resíduo de incubação no tempo
T	$h^{-1}$	Corresponde ao tempo de incubação
TCA	mL	Ácido tricloroacético
TD		Torta de dendê
TGI		Trato gastrointestinal
TMD		Tempo médio de degradação
$\lambda$ (Lamda)	$h^{-1}$	Equivale à taxa de preparação da fração A para a digestão
K (kappa)	$h^{-1}$	Equivale à taxa de degradação da fração A
$\delta$ (delta)		$\lambda/(\lambda-k)$
U		Corresponde ao resíduo indigestível das frações de fibra ou proteína insolúveis em detergente neutro
E		Representa o erro aleatório
$\hat{R}_t(\text{PIDN})$		Resíduo estimado para proteína insolúvel em detergente neutro após a incubação <i>in vitro</i> com inóculo ruminal no tempo (t) correspondente.
$B1_0$	g/kg de MS	Representa o montante de fração B1 encontrado conforme análise química para um determinado alimento
$K_1$	$h^{-1}$	Corresponde a taxa de degradação de uma respectiva fração
$V_t$		Representa o volume acumulado no tempo ( t )
$V_f$		Representa o volume assintótico da produção de gás a partir da matéria seca fermentescível
$\lambda_s$	$h^{-1}$	Representa a taxa de preparação dos substratos potencialmente fermentescíveis e solúveis em detergente neutro
$K_s$	$h^{-1}$	Representa a taxa de digestão dos substratos potencialmente fermentescíveis e solúveis em detergente neutro

## RESUMO

CARVALHO, Evanete Moura de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2012. **Caracterização de alimentos para ruminantes segundo o Cornell net carbohydrate and protein system – CNCPS com adaptações.** Orientador: Marcelo Teixeira Rodrigues. Coorientadores: Márcia Maria Cândido da Silva e Augusto César de Queiroz.

Objetivou-se com o presente estudo, determinar as frações proteicas e de carboidratos, bem como medir os parâmetros cinéticos de degradação ruminal destas frações em 15 subprodutos com potencial de utilização na alimentação de ruminantes, sendo eles: farelo e torta de algodão (*Gossypium spp.* L.); bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*, L.), farelo e torta de dendê (*Elaeis guineensis*), torta de licuri (*Syagrus coronata*), farelo detoxificado de mamona (*Ricinus comunis* L.), fubá de milho (*Zea mays*), torta detoxificada de pinhão manso (*Jatropha curcas* L), farelo de soja (*Glycine max*), farelo de trigo (*Triticum spp.*), capim Tifton-85 (*Cynodon sp.*) nas idades de 21, 31 e 43 dias de corte e polpa cítrica. Para realização do fracionamento dos compostos nitrogenados (frações A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e C), foram mensurados os teores de proteína bruta (PB), nitrogênio não-protéico (NNP), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e insolúvel em detergente ácido (NIDA), bem como os compostos nitrogenados insolúveis em tampão, de acordo com o Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS). Para determinação das frações A e B<sub>1</sub> dos carboidratos foram analisados os teores de açúcares e amido, enquanto para obtenção das frações B<sub>2</sub>, C e taxa de degradação da fração B<sub>2</sub> foi utilizada a técnica gravimétrica de degradação *in vitro* da fibra por meio de interpretação cinética dos perfis de degradação. Os perfis de degradação das frações proteicas foram obtidos *in vitro* ao incubar os alimentos com proteases oriundas do *Streptomyces griseus*. As taxas de degradação das frações A e B<sub>1</sub> dos carboidratos foram obtidas por meio da combinação entre as técnicas *in vitro* gravimétricas e de produção de gases. Os perfis de degradação foram interpretados cineticamente por meio de modelos matemáticos. As adversidades nutricionais entre os componentes principais dos alimentos foram classificadas por meio de análise de agrupamento por otimização utilizando a distância Euclideana média com variáveis padronizadas pelo método de Tocher. As frações proteicas dos alimentos

apresentaram grandes variações. A fração A foi a de menor representação dentre os alimentos, com exceção da polpa cítrica e do bagaço de cana, que apresentaram fração A com maior representatividade. A fração B1 teve maior representação para o capim-tifton 85 nas idades de 21 e 31 dias, farelo de algodão, farelo de soja, torta detoxificada de pinhão manso, farelo de trigo, torta de algodão e farelo detoxificado de mamona, com ( $\text{g.kg}^{-1}$ ) 80,39; 57,84; 452,54; 444,29; 113,42; 109,27; 234,98; e 230,53 respectivamente, com as seguintes taxas de degradação médias: ( $\text{h}^{-1}$ ) 0,6127; 1,7046; 0,2330; 0,1689; 0,8191; 0,1206; 1,3414 e 1,4330, respectivamente. Dentre os carboidratos a fração A' apresentou grande variação entre os alimentos. Os carboidratos não fibrosos (A'+B1') apresentaram maiores representações para o farelo de algodão, farelo de soja, polpa cítrica e fubá de milho com 58,21%, 69,17%, 66,52%, e 89,81%, respectivamente, com taxas de degradação variadas. A maior representação dentre os demais alimentos estudados foi para a fração B2', que aliada à fração C', contribuem com a redução da disponibilidade de energia para os microrganismos que fermentam CF e CNF.

## ABSTRACT

CARVALHO, Evanete Moura de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October 2012. **Characterization of ruminant feed according to the Cornell net carbohydrate and protein system - CNCPS with adaptations.** Advisor: Marcelo Teixeira Rodrigues. Co-advisors: Márcia Maria Cândido da Silva and Augusto César de Queiroz.

The objective of this study was to determine the fractions of protein and carbohydrates, as well as measuring the kinetic parameters of rumen fractions in 15 of these by-products with potential use in ruminant feed, they are: bran pie and cotton (*Gossypium* spp . L.) bagasse sugarcane (*Saccharum officinarum*, L.), rice bran and palm kernel cake (*Elaeis guineensis*), pie licuri (*Syagrus coronata*), bran detoxificado castor bean (*Ricinus communis* L.), corn Corn (*Zea mays*), pie detoxificada of jatropa (*Jatropha curcas* L.), soybean (*Glycine max*), wheat bran (*Triticum* spp.), Tifton-85 (*Cynodon* sp.) at ages 21, 31 and 43 days cutting and citrus pulp. For realization of nitrogenous compounds fractions (fractions A, B1, B2 and C) were measured crude protein (CP), non-protein nitrogen (NPN), neutral detergent insoluble nitrogen (NDIN) and acid detergent insoluble (NIDA), and the insoluble nitrogen cap, according to the Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS). To determine the fractions A and B1 carbohydrate analyzed the levels of sugars and starch, while for obtaining the fractions B2, C and rate of degradation of fraction B2 gravimetric technique was used for in vitro degradation of the fiber by means of interpretation of kinetic degradation profiles. The degradation profiles of protein fractions were obtained in vitro by incubating foods with protease derived from *Streptomyces griseus*. The degradation rates of fractions A and B1 carbohydrate were obtained by combining the techniques of in vitro gravimetric and gas production. The degradation profiles were interpreted kinetically by means of mathematical models. The nutritional adversity between the main components of foods were classified by cluster analysis for optimization using the Euclidean distance with average standardized variables Tocher method. The food protein fractions showed large variations. Fraction A was the least representation among the foods with the exception of citrus pulp and sugar cane bagasse, which showed the fraction with the largest representation. The B1 fraction had greater representation

for Tifton 85 at ages 21 and 31 days, cottonseed meal, soybean meal, pie detoxificada jatropa, wheat bran, cottonseed meal and castor meal detoxificado with ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 80.39, 57.84, 452.54, 444.29, 113.42, 109.27, 234.98, and 230.53 respectively at the following rates of degradation medium: ( $\text{h}^{-1}$ ) 0.6127, 1.7046, 0.2330, 0.1689, 0.8191, 0.1206, 1.3414 and 1.4330, respectively. Among the carbohydrate fraction A 'showed large variations among foods. The non-fiber carbohydrates (A '+ B1') had greater representation for the cottonseed meal, soybean meal, citrus pulp and corn with 58.21%, 69.17%, 66.52%, and 89.81 %, respectively, with varying degradation rates. The largest representation among the other food was studied for fraction B2 ', which combined with fraction C', contributing to the decreasing availability of energy for microorganisms that ferment CF and CNF.

## INTRODUÇÃO

O Brasil, desempenhando seu grande potencial agrícola vem contribuindo com o crescimento de todo agronegócio brasileiro. Além de ser grande produtor de grãos e outros produtos agrícolas como a cana-de-açúcar e frutas, o país se desenvolve também, na indústria de produtos agrícolas dos mais diversos tipos, desde os óleos, amidos, farinhas, bebidas alcoólicas, adoçantes, e mais recentemente, o combustível. Destas produções, surgem os resíduos (subprodutos) gerados durante as atividades.

A desvalorização dos resíduos, com exceção da soja e do algodão que são bastante utilizados, promovida pelo desconhecimento de suas características nutricionais e econômicas, faz com que as usinas que processam as sementes oleaginosas, bem como as agroindústrias descartem seus resíduos, muitas vezes de forma inadequada, causando sérios problemas ambientais.

Os produtos como o milho e a soja ainda são os mais utilizados na formulação de dietas para os animais. Entretanto, pelos elevados preços no mercado são também os responsáveis pela elevação dos custos de produção animal. Uma solução viável para redução dos custos na produção de ruminantes, portanto, seria a utilização dos diversos subprodutos da agroindústria e das refinarias de bio combustíveis, que são produzidos em grande escala nas diversas regiões do país e comercializados a preços acessíveis, uma vez que, os animais ruminantes possuem capacidade digestiva peculiar, podendo gerar a partir de alimentos não comestíveis para o homem, produtos de alto valor nutricional como carne e leite.

A inclusão de subprodutos da agroindústria em dietas para ruminantes, além de baixar os custos na alimentação, mantendo os níveis de produção, principalmente nos períodos mais secos do ano, pode contribuir também com a redução no teor de amido das dietas, com concomitante aumento nos teores de fibra digestível, contribuindo para melhoria no ambiente ruminal.

Contudo, estes subprodutos apresentam grande diversidade nutricional em função da matéria-prima original, da extração de componentes químicos pela indústria, entre outros.

Para uma correta utilização destes subprodutos na alimentação de ruminantes, faz-se necessário o conhecimento da composição nutricional destes alimentos, sua

caracterização e taxas de degradação, bem como os níveis de utilização dos mesmos, uma vez que, a maioria ainda não foi satisfatoriamente estudado.

Tratando-se de oleaginosas, a composição varia em função da espécie, do cultivar e do tipo de extração do óleo, sendo que as tortas são obtidas após extração mecânica (prensagem) e os farelos são obtidos após a extração com solvente, resultando muitas vezes em resíduos com baixíssimos níveis de gordura, e elevados níveis de nutrientes interessantes para comporem a dieta de ruminantes. Segundo Van Soest et, al (1994), os constituintes químicos e as taxas de degradação dos diversos tipos de resíduos diferem muito possivelmente pela natureza dos resíduos (cascas, sementes e cascas com sementes, frutos refugo).

Os sistemas de avaliação de alimentos para ruminantes vêm ao longo deste século passando por contínuas modificações na busca da determinação dos valores nutricionais dos alimentos e na predição das exigências nutricionais dos animais. Dentre eles, atenção especial tem sido dada ao Cornell Net Carbohydrate and Protein System - CNCPS, que foi desenvolvido a partir de conceitos mecanicistas, principalmente no tocante a dinâmica dos nutrientes no trato gastrointestinal (TGI) dos ruminantes. Nesse sistema torna-se possível com o uso de modelos matemáticos, simular respostas do animal quanto à ingestão de alimentos, fermentação ruminal, digestão, absorção intestinal e conseqüentemente, o desempenho, viabilizando ao produtor maior segurança na tomada de decisões rápidas e corretas além de aperfeiçoar o uso de recursos disponíveis nas propriedades e reduzir o impacto ao meio ambiente promovido pelo excesso de nutrientes no solo, causados pela excreção de nutrientes fornecidos em excesso aos animais.

Desta forma, objetivou-se com este trabalho analisar e avaliar a composição a caracterização das frações de carboidratos e de compostos nitrogenados de alimentos atualmente utilizados e daqueles com potencial para utilização na alimentação de ruminantes, bem como avaliar suas taxas de degradação das frações de proteínas e de carboidratos potencialmente degradáveis através do sistema CNCPS.

## REVISÃO DE LITERATURA

### *Sistemas de avaliação de alimentos pelo CNCPS*

Para que um alimento possa integrar um sistema de cálculo de dietas, é necessário que a composição química bem como o valor nutritivo deste alimento sejam previamente estabelecidos. Para realização destas análises, muitas pesquisas e métodos vêm sendo desenvolvidos ao longo dos anos com o objetivo de predizer de forma mais exata os valores nutricionais dos alimentos, para que atendam as demandas energéticas e proteicas geradas pelas funções produtivas e/ou reprodutivas dos animais.

A Alemanha foi o cenário onde ocorreram os primeiros avanços nas análises de alimentos (Van Soest & Robertson, 1985; Van Soest, 1994). Wilhelm Henneberg e seu sócio Friedrich Stohmann, por volta de 1860, padronizaram e generalizaram o uso de um sistema químico de análise para quantificar o valor nutricional dos alimentos, o qual ficou conhecido por Sistema Weende de análise de alimento (Van Soest, 1994). Antes disso, o que prevalecia era o sistema de alimentos baseado no equivalente-feno, que consistia em avaliar os nutrientes dos alimentos, tendo como referência um feno padrão.

O método Weende, também denominado de análise proximal, classificou os nutrientes dos alimentos em grupos de compostos químicos como: matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra bruta (FB) e extratos não nitrogenados (ENN). O objetivo principal deste método era o de quantificar a fibra do alimento. No entanto, os mentores do método reconheciam as limitações da análise de fibra bruta, uma vez que parte desta não era totalmente digerida pelos animais e nela estavam inclusas apenas a celulose e a lignina solúvel em álcalis. No grupo dos ENN, encontra-se frações de naturezas diversas, como amido, hemicelulose, pectina, lignina solúvel em álcali e os carboidratos solúveis em água (Silva e Queiroz, 2009).

Isto levou os cientistas à conclusão de que o sistema Weende não classificou os carboidratos de forma satisfatória sob o ponto de vista nutricional, uma vez que a hemicelulose, pectina e lignina solúveis em álcali, não apresentam as mesmas

características nutricionais dos carboidratos solúveis em água e do amido.

Tentando solucionar o problema, Van Soest (1967), propõe a divisão dos nutrientes dos alimentos em dois grupos: o grupo que compõe o conteúdo celular (lipídios, compostos nitrogenados, amido, pectina e outros compostos solúveis em água), e parede celular (proteína insolúvel, hemicelulose e lignocelulose). Do ponto de vista nutricional o método proposto por Van Soest separa melhor os diversos componentes da fração fibrosa, entretanto, os dois métodos se complementam para fornecer informações sobre a composição química dos alimentos.

De acordo com Russel et al. (1992), as recomendações apresentadas no NRC 1985 sobre o uso de N pelos ruminantes apresentam uma variedade de limitações: 1) O crescimento microbiano no rúmen é dependente da digestibilidade total ou NDT em vez de por uma estimativa de carboidratos disponíveis no rúmen; 2) A equação para gado leiteiro que relaciona NDT para produção microbiana tem um intercepto negativo, o que pode subestimar a produção de proteína microbiana em baixa ingestão de NDT; 3) A eficiência do crescimento microbiano é constante; 4) A relação entre rendimento microbiano e exigência de energia microbiana de manutenção é ignorada; 5) A população microbiana não está dividida de acordo com as atividades metabólicas e exigências de N; 6) As taxas de fermentação dos carboidratos não estão integradas com as taxas de degradação da proteína e, 7) também as degradações de alimentos são pré-fixadas e, portanto, não é sensível a variação em função da ingestão e passagem do alimento pelo trato gastrointestinal.

Considerando que o sistema Weende não poderia ser usado para prever de forma mecanicista o crescimento microbiano, visto que fibra bruta não representa toda a fibra dietética, o extrato não nitrogenado (ENN) não representa acuradamente os carboidratos não-fibrosos e a proteína precisa ser descrita por frações relacionadas com suas características de degradação ruminal (Fox, 2003), foi criado na Universidade de Cornell, nos EUA, por uma equipe liderada por pesquisadores do departamento de “Ciência Animal” daquela instituição, um sistema denominado CNCPS - Cornell Net Carbohydrate and Protein System (Rodrigues e Vieira, 2006). Nesse sistema é possível avaliar a dieta e, através de modelos matemáticos, simular os efeitos de ingestão do alimento, fermentação ruminal, digestão intestinal, absorção e metabolismo sobre a utilização do nutriente, e subsequente o desempenho animal (Fox et al., 2004). Trata-se de um modelo com base mecanicista, ou seja, baseado em teorias ou princípios biológicos, químicos ou físicos conhecidos, com o objetivo de

melhorar os modelos de predição da resposta animal, bem como otimizar o uso de recursos disponíveis nas propriedades e reduzir o impacto ao meio ambiente, tais como excesso de nutrientes no solo e sobre a qualidade da água. Este modelo também é capaz de prever o consumo de matéria seca para diversas categorias de animais utilizando equações de ajuste para rebanhos consumindo acima do nível de manutenção (Fox et al., 2004).

O CNCPS foi desenvolvido com o propósito de estimar taxas de degradação ruminal de diferentes sub-frações dos alimentos, avaliar as frações proteicas e dos carboidratos para sua adequada caracterização, buscando a maximização da eficiência de crescimento dos microrganismos ruminais, reduzindo as perdas nitrogenadas no rúmen e permitindo, também, estimar o escape de nutrientes para o intestino (Russell et al., 1992; Sniffen et al., 1992).

Segundo Fox et al. (2004), O CNCPS foi publicado pela primeira vez em 1992 e 1993 em uma série de quatro artigos (Fox et al., 1992; Russell et al., 1992; Sniffen et al., 1992; O'Connor et al., 1993), mas o modelo tem sido continuamente aperfeiçoado e melhorado ao longo dos últimos anos (Ainslie et al., 1993; Tylutki et al., 1994; Fox et al., 1995, 1998, 1999, 2002; Klausner et al., 1998; Tedeschi et al., 2000a, b, c, 2001; 2002a, b, c; 2003; 2004;

Os sistemas de avaliação de alimentos para ruminantes fazem parte de um processo em contínua evolução no qual o CNCPS tem ganhado especial atenção por apresentar subsídios para cada um dos fatores acima citados, e fornece uma análise mais quantitativa da fermentação ruminal e disponibilidade de nutrientes (Russell et al., 1992). O CNCPS assume que os alimentos são compostos por proteína, carboidratos, gorduras, minerais e água. No entanto, os carboidratos e proteínas são subdivididos pela composição química, características físicas, taxas de degradação e características de digestibilidade pós-ruminal, de modo a poder prever valores de energia líquida e de proteína metabolizável para cada alimento, baseados nas interações entre essas variáveis.

As frações de carboidratos e proteínas bem como suas taxas de degradação são utilizadas para computar a quantidade de nutrientes disponível para dar suporte à fermentação ruminal para cada um dos grupos de microrganismos, conforme descrito por Russell et al. (1992).

### ***Proteína na alimentação de ruminantes***

A nutrição proteica dos ruminantes é bastante complexa, uma vez que, as exigências em proteína metabolizável destes animais são atendidas pela proteína microbiana sintetizada no rúmen e pela proteína dietética que escapa à fermentação ruminal.

Os ruminantes apresentam uma relativa independência da qualidade dos compostos nitrogenados presentes em sua dieta, uma vez que esta classe animal possui em seu estômago, compartimentos que evoluíram para acomodar uma população complexa de microrganismos sob anaerobiose (Pereira et al., 2005), que é o caso do rúmen-retículo onde ocorre a retenção dos alimentos que ficam submetidos à ação dos diversos microrganismos que existem nestes compartimentos fermentativos.

As bactérias ruminais, por exemplo, podem sintetizar aminoácidos a partir de precursores simples como a amônia que é o mais importante constituinte nitrogenado solúvel do líquido ruminal. No entanto, a deficiência ruminal de compostos nitrogenados (N), sejam na forma de amônia, aminoácidos ou peptídeos, pode influenciar na regulação da ingestão de alimentos.

Quando o suprimento de N, originário do material ingerido ou da reciclagem endógena, não atende aos requerimentos microbianos, ocorre limitação do crescimento microbiano (Sniffen et al., 1992) e depressão da digestão da parede celular (Wilson & Kennedy, 1996), resultando em diminuição do consumo.

Da proteína contida nos alimentos dos ruminantes, uma parte compõe uma fração degradável no rúmen (PDR) e a outra, uma fração que escapa da degradação ruminal (PNDR). A degradação de proteínas no rúmen ocorre por meio da ação de enzimas secretadas pelos microrganismos ruminais (Ørskov & McDonald, 1979).

De acordo com Pereira et al. (2005), a redução das perdas de nitrogênio pelos ruminantes vêm reduzindo consideravelmente, a partir de formulações de dietas balanceadas que consideram as múltiplas inter-relações entre os microrganismos ruminais e o hospedeiro. Daí a necessidade de adequações das dietas dos animais ruminantes que teriam como funções a minimização das perdas nitrogenadas, a maximização do crescimento das bactérias ruminais e a melhoria no desempenho dos animais.

Atualmente os sistemas de avaliação de alimentos para ruminantes que dão

suporte à formulação de rações exigem que os alimentos utilizados pelos animais sejam fracionados no sentido de melhor caracterizá-los. Considerado um modelo de degradação da proteína, o CNCPS, utilizando reagentes químicos, divide a proteína em cinco frações (A, B1, B2, B3, e C), com o objetivo de determinar diferentes taxas de degradação ruminal (PDR e PNDR) dos alimentos (Sniffen et. al., 1992).

A fração A representa os componentes nitrogenados de natureza não proteica (NNP) que é instantaneamente solubilizada e sua taxa de degradação tende ao infinito, sua determinação química é realizada como a proporção da proteína solúvel em solução de tampão borato-fosfato que não precipita em ácido tricloroacético (TCA).

As frações B1, B2, e B3 representam a proteína verdadeira potencialmente degradada no rumem, e suas quantidades neste compartimento estomacal dependem de suas taxas fracionais de degradação e de passagem. A fração B1 (rapidamente degradada no rúmen) representa a fração da proteína solúvel em tampão borato-fosfato, mas que precipita em TCA. A fração B3 é calculada como a diferença entre a fração da proteína bruta recuperada no resíduo insolúvel em detergente neutro FDN (PIDN) e a recuperada no resíduo insolúvel em detergente ácido FDA (PIDA). Essa fração representa a proteína potencialmente degradável existente na parede celular das plantas, sendo lentamente degradada no rúmen. A fração B2 é obtida pela diferença entre o valor total da proteína do alimento e a soma das frações A, B1, B3 e C, representa a fração de proteína insolúvel em tampão-borato presente no conteúdo celular, e apresenta taxa de degradação intermediária (Licitra et al., 1996; NRC, 2001).

A fração C representa a proteína que está ligada a FDA e não é degradada no rúmen, contém proteínas associadas à lignina, taninos e proteínas danificadas com o calor, como os produtos da reação de Maillard, sendo conhecida como proteína insolúvel em detergente ácido, ou PIDA (Sniffen et al., 1992).

Tem sido proposto por alguns autores (Van Soest, 1994; Broderick, 1995; Favoreto et al., 2008), considerar apenas quatro frações proteicas (A, B1, B2 e C) ao invés de cinco (A, B1, B2, B3 e C), justificado pelo fato de que as frações B1 e B2 encontram-se no conteúdo celular e se comportam de forma nutricionalmente uniforme. Além disso, as técnicas laboratoriais utilizadas neste fracionamento são mais simples, tornando tais procedimentos mais acessíveis às análises de rotinas nos laboratórios.

### ***Carboidratos na alimentação de ruminantes***

As forragens compõem a base da alimentação de ruminantes e segundo Rodrigues (1998), os carboidratos contribuem com cerca de 70 a 80% da matéria seca dos alimentos, destacando-se, portanto, como os principais constituintes das plantas forrageiras. Estes carboidratos ao chegarem ao rúmen, são fermentados e produzem ácidos graxos voláteis, que atuam como as principais fontes de energia para os ruminantes. A composição química, características físicas e cinéticas de digestão são características dos carboidratos que influenciam tanto o consumo de matéria seca, digestão e utilização da ração total (Mertens, 1992).

O CNCPS classifica os carboidratos de duas formas: A primeira, estrutural proposta por Sniffen et al. (1992) onde classificando-os em estruturais (CE) quando presentes na parede celular, e não estruturais (CNE) presentes no conteúdo celular. A segunda classificação proposta por Mertens (1992), e atualmente utilizada na nutrição animal, agrupa os carboidratos das plantas em duas grandes categorias conforme a sua menor ou maior degradabilidade em carboidratos fibrosos (CF) e carboidratos não fibrosos (CNF), respectivamente. Estes têm por base as características nutritivas e não a função estrutural exercida na planta.

As características nutritivas dos carboidratos das forrageiras dependem dos açúcares que os compõem, das ligações entre eles estabelecidas e de outros fatores de natureza físico-química (Van Soest, 1994).

#### ***Carboidratos fibrosos (CF)***

Os CF são representados principalmente pela pectina, hemicelulose e celulose, que são normalmente os mais importantes na determinação da qualidade nutritiva das forragens (Van Soest, 1994), entretanto, a pectina apesar de ser um CF, possui taxa de degradação similar ao dos CNF, tais como glicose, frutose, e os carboidratos de reserva das plantas, como amido, a sacarose e as frutanas (Teixeira & Andrade, 2001). A hemicelulose, principal componente da parede celular, não tem digestibilidade constante, e de maneira semelhante à celulose, é parcialmente disponível (Rodrigues, 1998).

Tanto a celulose quanto a hemicelulose, ocupa maior espaço no trato gastrointestinal (TGI) devido à lenta degradabilidade. Na parede celular também podem ser encontrados componentes químicos de natureza diversa, como a lignina. Esta, embora não seja carboidrato, tem a natureza de um polímero fenólico que se

associa aos CF, celulose e hemicelulose, durante o processo de formação da parede celular e está correlacionada à indigestibilidade dos nutrientes (Mertens, 1992).

Os carboidratos constituintes das gramíneas tropicais, em função de sua natureza química, são despolimerizados em uma taxa relativamente lenta pelos microrganismos do rúmen, limitando a ingestão de alimentos por repleção dos compartimentos digestivos, ou limitando o aproveitamento do seu conteúdo energético (Mertens, 1987).

A planta forrageira de clima tropical é caracterizada por baixos teores de CNF e pela elevada proporção de CF em relação àquela de clima temperado. O elevado conteúdo de parede celular das gramíneas tropicais está associado a aspectos de natureza anatômica das espécies em razão da alta proporção de tecido vascular característico das plantas C4 (Van Soest, 1994). Os níveis de CF nos caules em relação às folhas são bem mais elevados em gramíneas que em leguminosas. Com o avançar da maturidade, verificam-se aumentos nos teores de CF e redução nos CNF (Teixeira & Andrade, 2001).

### ***Carboidratos não fibrosos (CNF)***

Os CNF são aqueles carboidratos não incluídos na matriz da parede celular e não são recuperados na fração de fibra em detergente neutro (FDN). Representam as frações degradadas mais rapidamente e incluem os açúcares, amido e a pectina (Teixeira & Andrade, 2001).

Os carboidratos totais (CT) e os CNF são determinados segundo Sniffen et al. (1992), pelas seguintes expressões:

$$CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM) , e$$

$$CNF = 100 - (\%PB + \%EE + \%FDN_{cp} + \%MM) ,$$

em que FDN<sub>cp</sub> equivale à fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas.

O sistema CNCPS classifica os carboidratos totais em quatro frações de acordo com as taxas de degradação no rúmen: fração A (composta por carboidratos solúveis (açúcares), é a fração rapidamente degradável no rúmen, com taxa de degradação de 250 a 500%/h); fração B1 (composta de amido e pectina, possui taxa de degradação superior à taxa de passagem, com fermentação intermediária de 30 a 70%/h); fração B2 (composta pelos carboidratos fibrosos da parede celular (celulose e hemicelulose), é de lenta disponibilidade ruminal, portanto, susceptível aos efeitos da

taxa de passagem, com lenta taxa de degradação de 3 a 20%/h); fração C (parte não degradável dos componentes fibrosos presentes na parede celular, composta principalmente pela lignina) (NRC, 1996; Sniffen et al., 1992).

O Sistema CNCPS considera as frações B2 e C como carboidratos fibrosos, que representam, respectivamente, a fibra potencialmente digestível e a indisponível, ambas presentes na parede celular.

### ***Degradação das frações dos carboidratos e compostos nitrogenados***

A disponibilidade de nutrientes para os ruminantes depende da degradação realizada pelos microrganismos do rúmen. Por sua vez, o crescimento da população microbiana varia com as condições do ambiente ruminal, tais como temperatura, pH, pressão osmótica, produtos da fermentação e baixa concentração de oxigênio (Pereira et al, 2007). As condições ideais para sobrevivência dos microrganismos ruminais são: anaerobiose); pH entre 5,5 a 7,0, sendo mais comum, valores entre 6,8 a 6,9; temperatura entre 39 40°C; fornecimento contínuo de substrato; movimentos contínuos do retículo-rúmen; alta umidade (em torno de 80% até 90% de água) e, a retirada contínua dos produtos finais da fermentação, que podem acumular e se tornar tóxicos.

As taxas de degradação das frações de carboidratos e compostos nitrogenados são utilizadas para computar a quantidade de nutrientes disponíveis aos grupos de microrganismos para dar suporte à fermentação ruminal. Segundo Nocek & Russell (1988), a taxa de degradação dos alimentos no rúmen pode ter grande efeito sobre os produtos finais da fermentação e sobre o desempenho dos animais. Desta forma, se a taxa de degradação da proteína excede a taxa de fermentação de carboidratos, grande quantidade de nitrogênio pode ser perdida como amônia, por outro lado se a taxa de fermentação dos carboidratos excede a taxa de degradação proteica, a produção de proteína microbiana pode diminuir. Se os alimentos forem lentamente degradados, haverá repleção ruminal com redução no consumo e, por fim, se a taxa de degradação é lenta, alguns alimentos vão escapar a fermentação ruminal e passar diretamente para o intestino. (Russell et al., 1992).

O CNCPS não disponibiliza procedimentos laboratoriais de como obter taxas de degradações dos carboidratos. No entanto, este mesmo sistema por meio de trabalhos realizados por Sniffen et al. (1992) e Russell et al. (1992), enfatiza a necessidade da sincronização na degradação de compostos nitrogenados e

carboidratos no rúmen, para que se obtenha a máxima eficiência de síntese de proteína microbiana, bem como redução nas perdas energéticas e nitrogenadas decorrentes da fermentação ruminal. Através de modelos mecanicistas, a partir dos dados relativos às frações de carboidratos e proteínas e suas respectivas taxas de degradação ruminal, é possível estimar a quantidade de proteína microbiana sintetizada e de proteína metabolizável bem como o escape ruminal de nutrientes.

De acordo com Nocek & Russell (1988), alimentos com altas proporções das frações proteicas A e B1, e com as respectivas taxas de degradação elevadas, podem ocasionar grandes perdas de amônia, quando não suplementados com fontes de carboidratos de rápida degradação ruminal. Neste caso, para propiciar eficiente síntese microbiana no rúmen, torna-se necessário o sincronismo na fermentação de proteínas e carboidratos, para que se obtenha melhoria no desempenho animal. A quantidade e a qualidade dos produtos da fermentação são dependentes dos tipos e atividades dos microrganismos, sendo o ecossistema ruminal bastante diverso (Sniffen et al., 1992).

Excessiva produção de amônia aumenta a absorção e excreção de nitrogênio, como também o custo energético da síntese de ureia (Russel et al., 1992). Daí a importância de se buscar o equilíbrio entre maximizar os aspectos benéficos da fermentação ruminal e a minimização das perdas pela fermentação.

As técnicas de avaliação dos parâmetros cinéticos da degradação ruminal dos alimentos compreendem estudos sobre o desaparecimento da massa de amostra incubada ao longo do tempo de incubação, denominada técnica gravimétrica, ou a quantificação da produção cumulativa de gases CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>, oriunda da atividade microbiana ruminal a partir da fermentação de uma amostra em líquido ruminal tamponado, durante o período de incubação, conhecida como técnica metabólica (Menke et al., 1979; Pell & Schofield, 1993; Theodorou et al., 1994).

De acordo com Russell et al. (1992) e Sniffen et al. (1992), o CNCPS classifica os microrganismos do ecossistema ruminal em dois grupos: os microrganismos que fermentam CNF (pectina, amido, açúcares, etc.) e microrganismos que fermentam CF (celulose e hemicelulose). Os microrganismos que fermentam CF utilizam somente amônia como fonte de nitrogênio, e não fermentam peptídeos ou aminoácidos. Isso leva a um crescimento microbiano mais lento e conseqüente redução da proteína microbiana. Ao contrário, os microrganismos que fermentam CNF utilizam amônia ou peptídeos e aminoácidos como fonte de nitrogênio e podem

produzir amônia, resultando em crescimento mais rápido da proteína microbiana (Russell et al., 1992).

Os microrganismos fermentadores de CF e CNF têm diferentes requerimentos de manutença, o CNCPS estima 0,05 e 0,15 gramas de carboidratos por grama de microrganismo por hora, respectivamente, e a eficiência de crescimento das bactérias que digerem CNF é otimizada na presença de 14% de peptídeos como porcentagem de CNF. Assim, a exigência de proteína degradável é para suportar a ótima utilização dos CNF e dos CF de forma a atender aos respectivos requerimentos de crescimento microbiano (Fox, 2003).

A taxa de crescimento microbiano de cada categoria é diretamente proporcional à taxa de digestão de carboidratos, desde que uma adequada fonte de nitrogênio esteja disponível. A deficiência de nitrogênio no rúmen reduz o crescimento microbiano e a digestão da fibra.

As taxas de digestão das frações nitrogenadas têm sido obtidas por intermédio de diferentes métodos, sendo o método *in vitro* com proteases oriundas de *Streptomyces griseus* o mais utilizado (Krishnamoorthy et al., 1983). As vantagens da utilização da técnica *in vitro* para a determinação da digestibilidade dos alimentos estão na sua rapidez, na uniformidade físico-química do local de fermentação e na conveniência de se manter poucos animais fistulados (Alcalde et al., 2001). A ação dessas proteases apresenta atividade máxima em pH 8, daí decorrem as críticas ao uso dessas enzimas para obtenção das taxas de degradação (Broderick, 1995). Entretanto, Cone et al. (1996) compararam o escape de proteína predito pelo método *in vitro*, usando proteases originárias do *S. griseus*, com o escape de proteína predito a partir do método *in situ*, e concluíram que o uso das proteases permitia obter, de forma rápida, o percentual de escape da proteína dietética. Dessa forma, a obtenção de estimativas das taxas de degradação das frações proteicas utilizando proteases oriundas de *Streptomyces griseus* (Krishnamoorthy et al., 1983), são válidas e recomendadas pelo sistema CNCPS. Além disso, sua utilização é menos laboriosa quando comparada ao isolamento das proteases do rúmen. Vale ressaltar que a utilização de enzimas proteolíticas isoladas do rúmen (Kohn & Allen, 1995; Malafaia & Vieira, 1997; Malafaia et al., 1997) seria uma alternativa ao uso de protease comercial devido ao alto custo desta. Contudo, as predições com base neste método devem ser verificadas por meio da comparação com os valores obtidos *in vivo* (Vieira et al., 2000a).

### ***Descrição sucinta dos alimentos estudados neste trabalho***

No Brasil, a utilização de subprodutos na alimentação animal vem sendo praticada há muitos anos, principalmente com resíduos da indústria alimentícia e têxtil, e atualmente, com os subprodutos das refinarias de biocombustíveis.

A América Latina produz mais de 500 mil toneladas por ano de subprodutos e resíduos agroindustriais, sendo o Brasil responsável por mais da metade dessa produção (Souza & Silva, 2002). No entanto, com a política dos biocombustíveis espera-se que, devido ao grande volume disponível, estes subprodutos possam ser usados na alimentação animal, assumindo também importante papel econômico nos sistemas de produção.

Os subprodutos apresentam variações consideráveis em sua composição em função de alguns fatores tais como: a cultura e sua variedade, o processo de extração do óleo e a eficiência na extração. Segundo Bomfim et al. (2009), quando à extração é física, o subproduto contém maior conteúdo de óleo e é classificado como torta, enquanto que, quando o solvente é utilizado, a quantidade de óleo residual é muito baixa e o subproduto é considerado farelo.

Vários são os produtos e subprodutos empregados na alimentação de ruminantes, dentre eles destacam-se Farelo e torta de algodão (*Gossypium spp.* L.); Farelo e torta de dendê (*Elaeis guineensis*), Torta de licuri (*Syagrus coronata*), Farelo detoxificado de mamona (*Ricinus comunis* L.), Torta detoxificada de pinhão manso (*Jatropha curcas* L), Farelo de soja (*Glycine max*), Farelo de trigo, (*Triticum spp.*), Fubá de milho (*Zea mays*), Bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*,L.), Polpa Cítrica e Capim Tifton-85 (*Cynodon sp.*) nas idades de 21, 31 e 43 dias de corte.

#### ***Farelo de Algodão***

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum*), da família das malváceas, é cultivado principalmente para a produção de fibras.

O farelo do algodão é o subproduto resultante da extração do óleo contido no grão, que depois de ser esmagado é submetido à extração com solventes e apresenta concentração de proteína relativamente maior que a torta.

Segundo a CONAB (2012), para a safra brasileira 2011/2012 a área plantada para o cultivo do algodão foi de 1.391,4 mil hectares. A produção do algodão em plumas foi de 1.884 kg/ha e a produção de algodão caroço foi de 3.717 kg/ha. Cada

tonelada de algodão em caroço produzida representa 520 kg de farelo (EMBRAPA, 2006).

O farelo de algodão vem sendo utilizado em rações para ruminantes, substituindo o farelo de soja parcial ou totalmente. Ribeiro et al. (2007) mostraram redução no ganho de peso na terminação de bovinos alimentados com farelo de algodão, entretanto a fonte proteica (farelo de soja ou farelo de algodão) não afetou a qualidade da carcaça.

De acordo com Pina et al. (2006) o farelo de algodão com 38% de PB pode ser utilizado para vacas leiteira de alta produção (25 kg/d) quando utilizada a silagem de milho como volumoso na proporção de 60% da dieta.

Rodriguez et al. (2003) avaliando a digestão ruminal e pós-ruminal de fontes proteicas (farelos de soja, de algodão, de mamona, dentre outros) através da técnica de sacos móveis observaram que o farelo de soja foi a fonte proteica de maior degradabilidade ruminal (73%) e digestibilidade intestinal (98%). Os farelos de algodão e de mamona mostraram características semelhantes com digestibilidade total da proteína de 95% e em torno de 65% de degradabilidade ruminal. As demais fontes proteicas apresentaram resultados inferiores.

### ***Torta de algodão***

A torta de algodão é um subproduto obtido após a extração do óleo de forma mecânica, podendo ser utilizado por diversas formas: fertilizante, na alimentação animal e na fabricação de farinhas alimentícias após desintoxicação. Entretanto, sua principal aplicação reside na elaboração de rações animais, sendo uma das principais fontes proteicas para bovinos e, segundo Neiva Júnior et al. (2007) existem tem relatos de seu uso desde 1915.

A torta de algodão apresenta grande variação na sua composição química e, por ser um subproduto da indústria de biocombustível, esta variação ocorre de acordo com o meio pelo qual foi produzido. Análises bromatológicas indicam que seu conteúdo oscila entre 89,1 a 94,2% de matéria seca; 25,9 a 47,6% de proteína bruta; 1,2 a 11,4% de extrato etéreo; 28,4 a 33,1% de fibra em detergente neutro; 17,7 a 21,6% de fibra em detergente ácido e 4,4 a 15,1% de lignina (Valadares Filho et al., 2006; Brito et al., 2007). Estes resultados demonstram a grande potencialidade que a torta de algodão apresenta para ser utilizada na dieta para ruminantes.

O uso da torta de algodão na alimentação animal também tem sido de forma

indireta. Ribeiro (2010) em experimento utilizando a torta de algodão na ensilagem de capim elefante relata que a torta de algodão foi eficiente em reduzir a perda por gases, efluente e total, proporcionando maior ( $P < 0,05$ ) índice de recuperação da matéria seca da silagem. A inclusão da torta de algodão na dose de 6% permitiu produção de silagem com teor de MS semelhante ( $P > 0,05$ ) ao da silagem de capim emurchecido.

### ***Polpa cítrica***

A polpa cítrica é o principal subproduto da indústria cítrica utilizado na alimentação de ruminantes. Consiste, principalmente, de polpa, casca e semente de laranja e é geralmente utilizada na forma peletizada.

O Brasil deve colher 467 milhões de caixas de laranja na safra 2012/2013, uma queda de 12% em relação à temporada anterior. A estimativa é do Serviço de Agricultura no Exterior do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos-USDA (USDA, 2012). As exportações do país, que é o maior produtor mundial de laranja, devem aumentar 20 mil toneladas sobre o ano anterior, totalizando 1,23 milhão de toneladas no ano-safra que vai de julho a junho.

Se destacando atualmente na produção e exportação da polpa cítrica peletizada, no Brasil, até meados de 1993, o produto era praticamente desconhecido para a pecuária nacional. Isto porque desde o início da década de 70 a produção nacional era exportada quase que integralmente para a Europa (cerca de 95-97%), onde a mesma era utilizada como ingrediente na ração de bovinos. Em meados de 1993, o produto sofreu queda nas cotações internacionais, obrigando as indústrias esmagadoras a direcionarem parte da produção para o mercado interno (Carvalho, 1995).

Os teores de nutrientes na polpa cítrica podem ser influenciados por uma série de fatores, incluindo o fruto, quantidade de sementes e o tipo de processamento. Possui teor muito baixo de amido, porém alto teor de carboidratos solúveis (cerca de 25% da MS) e pectina. De acordo com Van Soest (1994), a inclusão de pectina na dieta em substituição de parte dos carboidratos não estruturais traz muitos benefícios à nutrição dos ruminantes: a degradação ruminal da pectina não contribui para o abaixamento do pH, porque não produz ácido lático; a cadeia ruminal de ácido galacturônico da pectina proporciona efeito tamponante no rúmen, através de troca de cátions e ligação aos íons metálicos e, a fermentação da pectina gera elevada

relação acetato/propionato, favorecendo a produção de gordura do leite e de leite corrigido para gordura. Outro fator que contribui para a estabilidade da fermentação ruminal é que a moagem não é necessária para a fabricação da polpa cítrica em “pellets”, mantendo as propriedades nutricionais deste alimento em relação à efetividade de fibra.

A polpa cítrica geralmente é incluída na dieta de bovinos em substituição aos grãos de cereais, tradicionalmente empregados na alimentação animal.

Nussio et al. (2000) avaliando a adição de polpa cítrica em dietas de vacas leiteiras que continham amido de baixa (milho moído grosso), média (milho moído fino) e alta degradabilidade (milho floculado), observaram aumentos na produção de leite quando a polpa foi adicionada aos tratamentos com média e alta degradabilidade ruminal. Santos (1999) sugeriu que, em dietas que possuem excesso de amido degradável no rúmen, a inclusão de polpa cítrica é bastante interessante.

Moreira et al. (2004) avaliando os efeitos da substituição do milho grão triturado pela polpa cítrica na dieta de vacas leiteiras, não observaram alterações na produção de leite corrigido para 4% de gordura, nem nas porcentagens de lactose, gordura e extrato seco total. Estes autores concluíram que a polpa cítrica pode substituir o milho grão na dieta de vacas leiteiras sem prejuízos para a produção total e qualidade do leite.

### ***Farelo de Dendê***

O dendezeiro (*Elaeis guineensis*) é uma palmeira de origem africana, que apresenta seu melhor desenvolvimento em regiões tropicais, clima quente e úmido, precipitação elevada e bem distribuída ao longo do ano (EMBRAPA, 2005). Em condições ecológicas favoráveis, o dendê produz em média cinco toneladas de óleo/ha/ano, dez vezes mais que a soja (Viégas e Müller, 2000).

O óleo de dendê/palma ocupa hoje o segundo lugar na produção mundial de óleos. Atualmente, o óleo de dendê é o primeiro óleo vegetal, em volume, comercializado no mercado mundial (Mielke et al., 2005) e serve de suporte para dois grandes setores industriais: indústria alimentícia e indústria oleoquímica (EMBRAPA, 2005).

O dendê foi trazido ao Brasil em meados do século XVII, pelos escravos, tendo rapidamente se adaptado ao clima tropical úmido das regiões norte e nordeste. O seu rendimento em grãos (kg/ha), comparado ao da soja, é aproximadamente oito

vezes maior (Carvalho, 2001). As plantações brasileiras situam-se, em sua maioria, nos estados do Amazonas, Amapá, Bahia e, principalmente, Pará, que corresponde, a mais de 80% de todas as plantações, com produtividade média de 3,32 toneladas de óleo por hectare utilizando-se cerca de 69 mil hectares com o dendzeiro (EMBRAPA, 2005).

Com a extração do óleo de dendê através de pressão e solventes orgânicos, obtém-se como subproduto o farelo, amplamente empregado na alimentação animal (Carvalho et al., 2005). Porém, no Brasil a utilização da torta é mais comum, sendo o uso do farelo mais comum na Europa e Ásia (Woods et al., 2003a; Woods et al., 2003b; Wan Zahari & Alimon, 2004).

Segundo Carvalho et al. (2005), o baixo valor energético digestível (11,80 MJ/kg de MS) do farelo de dendê pode limitar sua inclusão em dietas de pequenos ruminantes de alta produção, principalmente em virtude dos níveis extremamente altos de parede celular do farelo de dendê. Devido a este aspecto Hindle et al. (1995) sugerem que deveria ser dada mais atenção à criação de um modelo de degradação adequado para subprodutos do dendê. No entanto, segundo O'Mara et al. (1999) o farelo de dendê ainda pode ser considerado um alimento de qualidade energética média para ruminantes.

O farelo de dendê é extensamente usado como ingrediente principal em rações para bovinos e bubalinos confinados. Na Ásia, mais especificamente na Malásia, grandes ruminantes (bovinos e bubalinos) em confinamento são alimentados frequentemente com dietas que contêm até 80% de farelo de dendê, com ganho médio diário (GMD) de 0,6-0,8 kg/dia e 1,0-1,2 kg/dia para bubalinos nativos (Kedah-Kelantan) e bovinos oriundos de cruzamento industrial, respectivamente (Wan Zahari & Alimon, 2004).

Já em bovinos leiteiros o farelo de dendê é usado como fonte de energia e fibra ao nível de inclusão de 30%. A formulação de concentrados proteicos para gado de leite de baixa a média produção (10-12 litros/dia/vaca) baseadas em farelo de dendê são comuns tanto na Malásia como na Europa (Aspar, 2001; Wan Zahari & Alimon, 2004). Geralmente estas dietas são compostas de relação concentrado:volumoso de 30:70 (Aspar, 2001).

### ***Torta de Dendê***

Um dos subprodutos da extração do óleo é a torta de dendê (TD) produto

resultante da polpa seca do dendê, após moagem e extração do seu óleo, pode ser utilizado como fertilizante ou como componente de ração para animais (EMBRAPA 2005). Segundo Rodrigues Filho et al. (1996), a TD é uma boa alternativa para alimentação animal, sendo disponível permanentemente ao longo do ano.

Em ensaio de avaliação da TD para bezerros (60 e 120 dias) utilizando níveis de 0, 25, 50 e 75% em substituição ao milho, Silva et al. (2000) observaram que os níveis de 25 e 50% de TD apresentaram o menor custo de produção por arroba, mas o nível de 25% propiciou uma produção em arrobas de carne numericamente superior aos tratamentos contendo 50 e 75% de TD. Não observaram ( $P>0,05$ ) diferença no consumo de MS na fase de aleitamento (60 dias). Porém, na fase pós-aleitamento (120 dias), os consumos decresceram linearmente com o aumento da participação da TD nos concentrados da dieta. Segundo os autores, este decréscimo pode estar relacionado à baixa palatabilidade ou ao elevado teor de fibra deste subproduto(70% de FDN).

Silva et al. (2005) avaliaram os efeitos da substituição parcial (0, 15 e 30%) do milho e do farelo de soja por farelo de cacau ou TD na porção concentrada de dietas isoprotéicas de cabras Saanen (produção média diária de 1,5 kg de leite aos 60 dias de lactação), sobre o consumo e a produção de leite das mesmas. Os autores relataram que o consumo de FDA diferiu ( $P<0,05$ ) apenas entre os tratamentos com 30% de TD e 30% de farelo de cacau, sendo 0,94 e 0,59% do peso vivo animal, respectivamente. Os autores relatam ainda que a produção de leite, corrigido para 3,5% de gordura, com as inclusões de 0, 15 e 30% de TD foram respectivamente, 1,320; 1,325 e 1,273 kg/cabra/dia, apresentando comportamento quadrático. Concluíram que a TD apresenta viabilidade de uso como alternativa na dieta de cabras em lactação em até 18,81% da matéria seca. Avaliando a torta de dendê na alimentação de ovinos, Carvalho et al. (2006) concluíram que a inclusão de torta de dendê em substituição ao farelo de soja não afetou parâmetros do comportamento ingestivo.

Dentre os subprodutos aproveitados na alimentação animal, a torta de dendê apresenta grande potencial levando em consideração não só a sua rica composição em nutrientes, como também a sua disponibilidade durante o ano e o seu baixo custo, principalmente em regiões de alta produção como é o caso das regiões Norte e Nordeste do Brasil.

### ***Torta de Licuri***

O licuri (*Syagrus coronata*) pode ser encontrado no território brasileiro desde o Norte de Minas Gerais, ocupando toda porção oriental e central da Bahia, até o sul de Pernambuco, incluindo também os estados de Sergipe e Alagoas (Noblick, 1986). O licurizeiro frutifica durante todo ano, no entanto, o desempenho da produção depende dos índices pluviométricos da caatinga.

O produto principal do licurizeiro é o óleo, o qual pode ser extraído de forma artesanal ou industrial, gerando como resíduo a torta que ainda é utilizada em pequena escala, para alimentação de ruminantes.

A composição química da torta de licuri pode apresentar variações em função do tipo de extração do óleo. A torta do licuri ainda não foi avaliada na nutrição animal. No entanto, Queiroga et al (2010) utilizaram o óleo de licuri na alimentação de cabras leiteiras e identificaram aumento no teor de gordura do leite.

Jesus et al (2010), avaliaram os níveis de óleo de licuri na dieta de cabritos  $\frac{3}{4}$  Boer com inclusão de 0; 1,5; 3,0 e 4,5% de óleo de licuri, e relataram que os coeficientes de digestibilidade da matéria seca e proteína bruta aumentaram com inclusão do óleo, enquanto que o coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo apresentou comportamento quadrático.

### ***Farelo de mamona***

A mamona (*Ricinus comunis* L.) é uma oleaginosa pertencente à família Euforbiácea, que produz sementes ricas em óleo glicídico solúvel em álcool, o qual serve de matéria prima para diversas aplicações, tais como: alimentação, química têxtil, papéis, plásticos e borracha, perfumaria, cosméticos, farmácia, eletroeletrônicos e telecomunicações, tintas e adesivos, lubrificantes, dentre outros.

Atualmente a produção de óleo de mamona vem crescendo em virtude dos estímulos à fabricação de biodiesel, principalmente na região semiárida do nordeste brasileiro, onde segundo Severino et al. (2006), representa a principal região produtora de mamona, sendo responsável por mais de 90% da produção Nacional. No entanto, encontram-se plantios comerciais nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, que apresentam condições climáticas favoráveis, enquanto que ambientes com altas precipitações e muito úmidos, como a Amazônia e o Pantanal, não são adequados para o plantio da mamona.

No Brasil, a produção de mamona ocupa uma área de 129,6 milhões de

hectares, com produtividade média em torno de 199 kg/ha. De acordo com CONAB (2012), a produção da safra 2011/2012 foi em torno de 25,8 milhões de toneladas.

No nordeste, a Bahia se destaca na produção de mamona, especificamente na microrregião de Irecê. Segundo a SEAGRI (2011) A safra de mamona na Bahia em 2011 foi de 95,82 milhões toneladas, 29,38% maior que a safra de 2010, que foi de 74,06 milhões toneladas. A área colhida de 137,29 milhões hectares foi 28,25% maior que os 107,05 milhões hectares colhidos em 2010. O rendimento médio por hectare manteve-se praticamente estável, 698 kg contra 692 kg no ano anterior. A região de Irecê é a mais importante produtora de mamona na Bahia, respondendo por mais de 75% da produção estadual. Em 2011, a região teve um bom desempenho, colhendo 71 milhões toneladas da lavoura.

Com o aumento da produção de óleo, surgem os subprodutos como a casca, os farelos e tortas que poderão ser aproveitados para geração de energia elétrica (Rangel et al., 2004) e na alimentação de ruminantes.

A utilização dos subprodutos de mamona como alimento para animais é feita após sua destoxificação devido à presença de fatores alergênicos dos quais a ricina é a mais significativa. Segundo (Távora, 1982) os animais domésticos apresentam diferentes graus de sensibilidade a ricina. Em geral a dose letal para mamíferos é de 150 a 200 mg/kg de peso vivo. Um aspecto interessante da ricina é sua capacidade de induzir imunidade quando administrada repetidas vezes em doses subletais com algum intervalo de tempo (Brito e Tokarnia, 1996).

Segundo Bose e Wanderley (1988), o farelo de mamona destoxificado em mistura com feno de alfafa em diferentes proporções para alimentação de ovinos traz benefícios, aumentando a digestibilidade das proteínas e da energia, sem qualquer relato a problemas com intoxicação dos animais.

### ***Torta de Pinhão Manso***

O pinhão manso (*Jatropha curcas L.*) é um arbusto da família das euforbiáceas, nativo da América do Sul e tem sido explorado agronomicamente com sucesso na América Central, Índia e África. Esta planta já é conhecida no Brasil desde o período colonial, porém, seu processo de domesticação iniciou-se somente nos últimos 30 anos (Saturnino et al., 2005).

O pinhão manso pode ser cultivado em áreas de solos pouco férteis, sendo bastante resistente à seca e pouco suscetível a pragas e doenças (Vedana, 2006).

A torta de pinhão manso é o principal subproduto da sua cadeia produtiva, sendo utilizado em todo o mundo como adubo orgânico, embora exista possibilidades de ser utilizado na alimentação animal, porém a presença de princípios tóxicos tem tornando inviável essa alternativa.

A toxicidade do pinhão manso é atribuída principalmente à presença de dois componentes nas sementes: uma proteína inativadora de ribossomos (curcina), e outra capaz de inibir a síntese proteica (diterpenos) (Stirpe et al., 1976). Os diterpenos são substâncias capazes de induzir tumores de pele quando administrados em camundongos (Chen et al., 1988). Também há presença de inibidores de tripsina de alta atividade, além da presença de saponinas (Aderibigbe et al., 1997) e de teores significativos de compostos fenólicos. Não há presença de taninos. Dessa forma, somente poderá ser destinada a alimentação animal após ser submetida a um processo de destoxificação, podendo ser utilizada como concentrado proteico, em substituição aos alimentos nobres utilizados.

Em estudo de Aderibigbe et al. (1997) foram avaliados os efeitos de vários tratamentos de calor sobre o valor nutritivo do farelo de pinhão manso. Os autores concluíram que em dietas de ruminantes o aquecimento seco (160°C por 120min) do farelo de pinhão manso pode ser vantajoso, pois aumenta a DRIVN de 43,3% para 51,1%. Outros parâmetros de valor nutritivo mensurados neste estudo foram a digestibilidade “in vitro” da matéria orgânica e a energia metabolizável do farelo de pinhão manso, tratado com umidade e calor, que foram 82,9% e 11,8 MJ/kg, respectivamente, que são cinco unidades percentuais e 2,5 MJ inferiores, respectivamente, aos valores da soja.

### ***Farelo de soja***

Seguido dos Estados Unidos que é o maior produtor mundial de soja, o Brasil ocupando o segundo lugar, produziu na safra 2010/2011 o montante de 75,31 milhões de toneladas de grãos de soja, sendo que destes exportou 29,1 milhões de toneladas de grãos, 13,7 milhões de toneladas de farelo e 1,6 milhões de toneladas de óleo (EMBRAPA/SOJA 2012).

A soja pode ser usada na alimentação animal na forma de semente, casca ou farelo como fontes de proteína. A proteína da soja apresenta perfil aminoacídico que contem todos os aminoácidos essenciais aos ruminantes em proporção adequada para atender boa parte das exigências desses animais (AFRC, 1993).

O farelo de soja é o subproduto obtido após a extração do óleo do grão da soja para consumo humano e animal ou fabricação de biodiesel (Ferrari et al., 2005). Dependendo do processo de extração (solvente ou mecânica) o farelo pode ter de 48% a 52% de proteína. É considerado o melhor alimento proteico e fonte de proteína básica usada no preparo de rações para animais por ter altos níveis de proteína rica em aminoácidos essenciais, energia e boa palatabilidade (Silva et al, 2006).

Comparando técnicas gravimétricas e metabólicas na cinética ruminal de alguns alimentos, Malafaia et al (1998) revelaram que o farelo de soja resultou em menor resíduo indigestível *in vitro* quando comparado ao *in situ*.

### ***Farelo de Trigo***

Diversos subprodutos são resultantes da produção da farinha de trigo para consumo humano, dentre eles o farelo, o gérmen e frações de aleurona do grão. Todos estes subprodutos são adequados para a alimentação animal, porém apenas o farelo de trigo tem importância comercial no Brasil.

De acordo com a CONAB (2012), no Brasil, a produção de trigo ocupa uma área de 1.889,20 milhões de hectares, com produtividade média em torno de 2.818 kg/ha, com produção da safra 2012/2013 em torno de 5.323,6 milhões de toneladas.

De cada tonelada de trigo processado, 70 a 75% são convertidas em farinha e o restante, 25 a 30% é transformada em subproduto com uso potencial na alimentação animal (Martinez, 2008).

Com a retirada do amido no processo da fabricação da farinha, o farelo de trigo é composto basicamente pela fibra, células da aleurona e parte do germe.

Dentre as várias possibilidades, o farelo de trigo é mais uma alternativa interessante para substituir, pelo menos em parte, o milho em grãos das dietas de vacas em lactação. O subproduto contém teores mais elevados de fibra, proteína e minerais do que os grãos integrais, com teores menores de amido e energia (Blasi et al., 1998).

Dhuyvetter et al. (1999) ressaltam que, por conter níveis elevados de fibra e níveis baixos de amido, em relação ao grão integral de trigo, e também a outros cereais, o farelo de trigo pode ser uma alternativa muito interessante em dietas de bovinos, principalmente quando se utiliza altos níveis de concentrado, esperando-se menor incidência de distúrbios digestivos. Os autores afirmam que o subproduto

pode ser um excelente suplemento para vacas sob pastejo, principalmente quando a forragem é de baixo valor nutritivo. A proteína do farelo de trigo é altamente degradável no rúmen, sendo utilizada com eficiência por ruminantes consumindo forragens de baixa qualidade, que via de regra são deficientes em proteína degradável no rúmen

Acedo et al.(1987) formularam concentrados com 0; 20 e 40% e 0; 40 e 60% de farelo de trigo em dois experimentos. A produção de leite das vacas que receberam 20 ou 40% de farelo de trigo foi semelhante à das vacas controle, mas a produção das que receberam 60% do subproduto no concentrado diminuiu, enquanto que o teor de gordura no leite foi semelhante em todos os grupos.

### ***Fubá de milho***

O milho (*Zea mays* L.) pertence à família das gramíneas (Gramineae), originou-se mais provavelmente na América Central, particularmente no México, de onde se estendeu ao norte do Canadá e Sul da Argentina, alcançando posteriormente a Europa (FAO, 1992).

No Brasil, a produção de milho ocupa uma área de 15,1 milhões de hectares, com produtividade média em torno de 4,818 kg/ha. De acordo com CONAB (2012), a produção da safra 2011/2012 foi em torno de 72,77 milhões de toneladas, constituindo o segundo cereal de maior importância no país.

O milho é um dos mais importantes grãos de cereais no mundo, fornecendo nutrientes para seres humanos e animais e servindo como material básico para a produção de amido, óleos, bebidas alcoólicas, adoçantes, e mais recentemente, como combustível. Podendo ser considerado como fonte de energia e de proteínas, nas dietas da população dos países em desenvolvimento, o milho é considerado a principal fonte de energia na alimentação de ruminantes, uma vez que, as suas proteínas apresentam uma qualidade limitada devido à deficiência de alguns aminoácidos essenciais, principalmente lisina.

O milho pode ser utilizado nas dietas dos animais de diversas formas. Dentre elas, as mais utilizadas são na forma de grãos para aves e suínos e na forma de silagens e grão triturados para ruminantes. Assim, alguns autores sugerem moagem grosseira quando seu destino é mistura iniciadora para bezerros novos, enquanto finamente moído teria maior taxa de passagem pelo rúmen, podendo ser mais bem digerido em intestinos de animais adultos (Lucci, 1969 e 1977).

Lucci et al. (2008), comparando dietas contendo milho em grãos processados em diferentes tamanhos de partículas, sendo partícula (a) grosseiramente quebrado, (b) grosseiramente moído (quirera grossa) e (c) finamente moído (fubá), relataram que os resultados mostraram menores taxas de degradabilidade da matéria seca e proteína bruta do milho quando fornecido grosseiramente quebrado e concluíram que, no interior do rúmen, grãos de milho finamente moídos tiveram maior digestibilidade sem provocar alterações na digestão da fibra.

### ***Bagaço de cana-de-açúcar***

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo. Segundo a CONAB (2012), a previsão do total de cana moída na safra 2012/13 é de 596,63 milhões de toneladas, com aumento de 6,5% em relação à safra 2011/12, que foi de 560,36 milhões de toneladas, significando que a quantidade que será moída deve ser 36,3 milhões de toneladas a mais que na safra anterior.

Na alimentação animal, a cana-de-açúcar pode ser utilizada como alimento volumoso, ou disponibilizar subprodutos e resíduos como melaço e o bagaço resultante da moagem da cana. Segundo Cortez et al. (2012), cada tonelada de cana moída rende, cerca de 250 kg de bagaço úmido (com média de 50% de umidade, 48% de fibras e 2% de sólidos solúveis).

O bagaço é composto por celulose que é um composto químico orgânico que existe em maior abundância nas plantas e em toda a superfície terrestre, e é aproveitada pelos ruminantes em diferentes graus (20% a 90%) (Souza & Santos, 2002). O valor nutritivo desse resíduo lignocelulósico é baixo, devido às ligações que ocorrem na parede celular entre a celulose, a hemicelulose e a lignina (Teixeira et al, 2007). As fibras do bagaço da cana contêm como principais componentes, cerca de 40% de celulose, 35% de hemicelulose e 15% de lignina, sendo este último responsável pelo seu baixo aproveitamento na alimentação animal.

O bagaço de cana *in natura* (BIN) pode ser utilizado como fonte de fibra íntegra até o teor de 15%, sem prejudicar o desempenho produtivo dos animais (Rabelo et al., 2008). Para melhor aproveitamento deste subproduto, faz-se necessário a utilização de métodos de tratamento que promovam o rompimento da estrutura de lignina, para torná-lo mais digestível. Segundo Souza e Santos (2002), os tratamentos químicos e físicos que são utilizados para melhorar a qualidade do bagaço de cana- de- açúcar, visam eliminar ou diminuir efeitos prejudiciais da

lignina sobre a degradação de compostos celulósicos pelos microrganismos do rúmen.

Leme et al. (2003), em suas pesquisas com utilização de bagaço de cana-de-açúcar em dieta com elevada proporção de concentrados para novilhos nelore em confinamento, mostra que os resultados deste experimento confirmam a viabilidade do uso de 15 ou 21% de bagaço de cana de açúcar como única fonte de volumoso em dietas com elevada proporção de concentrado, contendo milho, polpa de *citrus* e farelo de soja.

Abdalla et al. (1990) avaliaram o consumo e a eficiência do bagaço de cana tratado com 5% de NaOH em uma dieta isoproteica para ovinos, relataram que a produção de lã e a mudança de peso vivo não diferiram entre as dietas experimentais. De acordo com os autores, os resultados sugerem que o bagaço de cana tratado pode ser usado estrategicamente em uma dieta de manutenção para ovinos durante períodos de baixa disponibilidade de forragem, reduzindo perdas na eficiência.

Cortez et al. (2012) relataram experimento onde em escala piloto desde 1984 se mantém 400 cabeças de gado confinadas com bagaço hidrolisado. No processo, o bagaço da cana sofre elevada temperatura e pressão em autoclave, e dessa forma, a celulose, a hemicelulose e especialmente a lignina se transformam em material digerível pelo animal. Nesse processo a digestibilidade do bagaço passa de 23% a 69%.

O bagaço de cana-de-açúcar pode ser uma alternativa interessante, desde que passe por algum tipo de tratamento para elevar a degradabilidade do produto, já que é um resíduo da agroindústria de grande excedente e baixo custo, produzido na época de confinamento e escassez de forragem.

### ***Capim Tifton-85***

O capim tifton-85 é uma gramínea do gênero (*Cynodon spp.*), que teve sua origem na África. É uma planta perene e pode ser encontrada nas regiões tropicais e subtropicais, com hábito de crescimento rizomatoso e estolonífero. Segundo Botrel et al. (1998), a gramínea Tifton 85 é o resultado de pesquisa de melhoramento genético do gênero *Cynodon*, desenvolvido pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos e Universidade da Geórgia. Surgiu do cruzamento da tifton 68 com *Cynodon dactylon* (p3 290884), proveniente da África do Sul, e considerada, na Universidade da Geórgia, a variedade mais promissora do gênero *Cynodon*.

As forrageiras do gênero *Cynodon* têm se mostrado promissoras, destacando-se a espécie Tifton-85, pelas suas características de elevada produtividade, alta digestibilidade e boa aceitação pelos animais. As gramíneas desse gênero são capazes de produzir elevadas quantidades de forragem de boa qualidade e resistir aos fatores adversos do clima, sendo encontradas em diversas regiões de vários continentes.

O capim Tifton 85 apresenta elevado potencial de produção com características favoráveis para a produção de feno como: facilidade e tolerância a cortes mecânicos frequentes, facilidade de secagem, boa cobertura de solo, boa capacidade de rebrota e persistência.

Vilela & Alvim (1998), avaliaram a produção e qualidade do tifton-68 e tifton-85 em regimes de corte durante um ano, em que os cultivares foram submetidas a doses crescentes de nitrogênio. Demonstraram que as produções de MS dos dois Tiftons são semelhantes, porém, o tifton-85 apresenta uma relação folha: colmo mais elevada, sendo, portanto, de qualidade superior ao tifton-68. Apresenta boa adaptação a solos arenosos, mistos e argilosos (não alagados), mas exige alta fertilidade. Não tolera solos encharcados, sombreamento, ataque de cigarrinhas das pastagens e lagartas. Pode ser fornecido como pasto, capineira, feno, silagem normal ou pré-seca, sendo fornecido para diferentes espécies animais.

Gonçalves et al. (2001) ao avaliar a produção de matéria seca (PMS) e composição química em gramíneas do gênero *Cynodon* (Tifton-85, Tifton- 44 e Coast cross) sob efeito de diferentes idades de corte (42, 63 e 84 dias) com uso de adubação (80 kg/N/ha, 50 kg/K<sub>2</sub>O/ha e 120 kg/P), concluíram que o aumento da idade de corte promoveu incremento na produção de MS de 845,29 kg/corte e aumento nos teores de FDN e FDA, havendo também decréscimo dos teores de proteína bruta de 14,80 para 8,73% nas três gramíneas.

Oliveira et al. (2000) trabalhando com o capim-Tifton 85 (*Cynodon* spp) em várias idades de rebrota, com uso de 75 kg/ha de N e 60 kg/ha de K<sub>2</sub>O, registraram produções de matéria seca variando de 3,1 a 12,3 t/ha e teores de PB de 15,6 e 4,5% dos 14 aos 70 dias de crescimento, respectivamente. Quanto aos teores de FDN e FDA, aumentaram com o avanço da idade da planta, até os 51 dias, alcançando valor máximo de 79,24% de FDN, sendo que aos 21 dias estes valores já superavam 65%.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

Foram analisados quinze alimentos quanto à composição química, fracionamento de carboidratos e proteínas, bem como suas taxas de degradações. Os alimentos objetos deste estudo foram: farelo e torta de algodão (*Gossypium spp.* L.); bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*, L.), farelo e torta de dendê (*Elaeis guineensis*), torta de licuri (*Syagrus coronata*), farelo detoxificado de mamona (*Ricinus comunis* L.), fubá de milho (*Zea mays*), torta detoxificada de pinhão manso (*Jatropha curcas* L), farelo de soja (*Glycine max*), farelo de trigo (*Triticum spp.*), capim Tifton-85 (*Cynodon sp.*) nas idades de 21, 31 e 43 dias de corte e polpa cítrica, totalizando 15 diferentes amostras, alguns já utilizados e outros com potencial de uso na alimentação de ruminantes.

As amostras de alimentos foram obtidas a partir de projetos desenvolvidos ou em desenvolvimento, vinculados ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

### ***Composição química dos alimentos***

As amostras foram secas em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 55°C por 72 horas, posteriormente, foram moídas em moinho de faca tipo Willey e passadas em peneira de malha de 1 mm e submetidas a análise de matéria seca (MS), nitrogênio total (NT), extrato etéreo (EE) e cinzas, utilizando-se as técnicas descritas por Silva & Queiroz (2009), e de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), segundo Van Soest et al. (1991). Determinações dos teores de nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) foram realizados nos alimentos, utilizando os resíduos da FDN e FDA, respectivamente. Os teores de cinzas insolúvel em detergente neutro (CIDN) e cinzas insolúvel em detergente ácido (CIDA) foram analisados seguindo os métodos descritos por Silva & Queiroz (2009), de lignina em ácido sulfúrico (LDA), conforme descrito por Pereira & Rossi Jr. (1995).

Os teores de carboidratos totais (CT) e carboidratos não fibrosos (CNF) foram

estimados após a determinação dos teores em nitrogênio total, extrato etéreo e matéria mineral descritos anteriormente. Para os cálculos, foram empregadas as equações propostas por Sniffen et al. (1992) e Van Soest et al. (1991), respectivamente, e os resultados expressos em  $\text{g.kg}^{-1}$  na base da matéria seca.

$$\text{CT} = 100 - (\% \text{PB} + \% \text{EE} + \% \text{Cinzas})$$

$$\text{CNF} = 100 - (\% \text{PB} + \% \text{EE} + \% \text{Cinzas} + \% \text{FDNcp})$$

O nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e o nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) foram dosados nos resíduos de FDN e FDA, respectivamente e os teores proteicos foram obtidos pela multiplicação dos teores de nitrogênio pelo fator 6,25 (Sniffen et al., 1992).

### ***Fracionamento das proteínas***

A proteína foi fracionada de acordo com o proposto por Sniffen et al. (1992) cujo procedimento é descrito a seguir, em quatro frações (A, B1, B2 e C), expressas como porcentagem do N total, seguindo os procedimentos descritos abaixo.

A fração A, que corresponde ao NNP, foi determinada pela diferença entre o N total e o N insolúvel em ácido tricloroacético. Para tanto, 0,5g de amostra foi umedecida com 50 mL de água por 30 minutos, seguida da adição de 10 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) a 10% por mais 30 minutos (Figura 1A). A amostra solubilizada foi filtrada em e papel filtro tipo Whatman 54 (Figura 1B) quantificando-se o N residual (N1) pelo método Macro Kjeldahl.



Figura 1. Determinação da Fração A das proteínas. Adição de solução de ácido tricloroacético (A) e filtragem para obtenção do N1 (B)

A fração B1 foi determinada por diferença:

$$B1 = 100 - (A + B2 + C)$$

A fração B2 foi determinada considerando as quantidades de nitrogênio insolúveis em detergente neutro e ácido (NIDN e NIDA, respectivamente), conforme equação:

$$B2 = \frac{NIDN - NIDA}{NT} \times 100$$

A fração C foi determinada considerando-se a quantidade de nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), conforme equação:

$$C = \frac{NIDA}{NT} \times 100 \quad (\text{Van Soest et al., 1991})$$

### ***Fracionamento dos carboidratos***

Os carboidratos totais (CT) foram divididos em quatro frações: fração A' (açúcares), fração B1' (amido e pectina), B2' (celulose e hemicelulose) e fração C' (lignina) (NRC, 1996; Sniffen, et al., 1992).

Fração A' – Os carboidratos solúveis em água, utilizados para medir a concentração de açúcares (glicose) nos alimentos, foram determinados por espectrofotometria, mediante o uso do complexo azul-esverdeado formado quando estes compostos foram aquecidos em solução que continha antrona em meio fortemente ácido (Deriaz, 1961).

Para a determinação da fração A, pesou-se 0,25 gramas de amostra dos alimentos em potes plásticos (100mL) com adição de 70mL de solução de oxalato de amônia a 0,5%, sendo em seguida, tampados e autoclavados por duas horas (Figura 2A).

Após a autoclavagem, a mistura foi filtrada em papel filtro e o filtrado coletado em balões de 100 mL, completando a aferição com água destilada. O filtrado foi acondicionado em frascos plásticos e mantido em geladeira até o dia da análise (Figura 2B).

No dia anterior à análise, preparou-se a solução de antrona (Apêndice). No dia da análise, inicialmente foram preparados os padrões de glicose (0,005% e 0,010%), o banho-maria foi ligado para alcançar a temperatura de 90°C, e, enquanto isso, uma alíquota de 2 mL do filtrado das amostras e dos padrões de glicose foram transferidos para tubos de ensaio grandes (19 x 2cm) com adição de 10 mL de

solução de antrona (Figura 2C). Para o teste em branco, procedeu-se do mesmo modo, porém não usando amostra. Os tubos foram agitados (agitador de tubos tipo Vortex) e mantidos em banho de água fria por alguns minutos para que a antrona desenvolvesse a cor. Em seguida, todos os tubos foram levados ao banho-maria (90°C) por 20 minutos para formação da cor azul esverdeado. Após este tempo, os tubos foram resfriados em banho de gelo por tempo suficiente para alcançarem a temperatura ambiente o mais rápido possível, seguido da leitura da absorbância em espectrofotômetro colorimétrico no comprimento de ondas de 625 nm, ajustado para 0% de absorbância (100% de transmitância), utilizando o “branco”. Os detalhes do procedimento para determinação dos carboidratos solúveis podem ser encontrados em Vieira (1998).

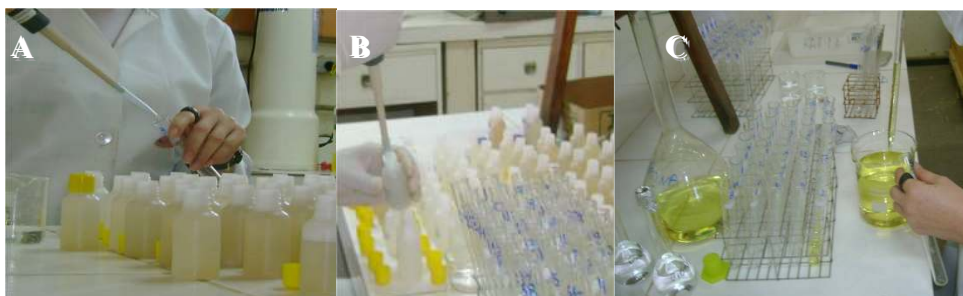


Figura 2. Determinação da Fração A dos carboidratos. Armazenamento em frascos plásticos e pipetagem do filtrado (A e B); Pipetagem da solução de antrona (C).

Fração B1' – A fração B1' foi obtida pela diferença entre os carboidratos não-fibrosos (CNF) e o açúcar. Resultando no amido e nas substâncias fibrosas solúveis, constituídas por polissacarídeos não amiláceos (Van Soest et al., 1991).

As substâncias fibrosas solúveis (pectinas) foram determinadas por diferença como sendo: Pectinas = CNF - (açúcar+amido).

O amido presente nestes alimentos foi determinado através do método, 996.11 AOAC (1990), AACC método 76.13, que faz uso de um kit comercial contendo as enzimas Amiloglicosidade/ $\alpha$ -amilase (Megazyme®) conforme apresentado no apêndice.

Fração B2' – Esta fração foi definida pela diferença entre os carboidratos totais e os carboidratos não-fibrosos.

Fração C' – Resultou da multiplicação da fração de lignina do alimento pelo fator 2,4.

### Degradação “in vitro” de compostos nitrogenados

Para obtenção das taxas de degradação ruminal das frações proteicas B1 e B2, foram pesadas 0,5g de amostras de alimentos em frascos erlenmeyers (125ml), onde adicionou-se 40 ml de solução-tampão pH 8. Os frascos foram dispostos em mesa de agitação orbital (Figura 3A), e incubados dentro da sala incubadora a 39°C, por uma hora, para hidratação e estabilização da temperatura. Enquanto isso procedia-se a preparação da solução enzimática contendo 33 unidades mL<sup>-1</sup>, a partir da protease comercial originária da bactéria *Streptomyces griseus* (Krishnamoorthy et al.,1983; Licitra et al., 1998). Após o tempo de uma hora de incubação, adicionou-se 10mL de solução enzimática nas amostras que permaneceram incubadas por 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 12; 24; 36 e 48 horas. Um frasco contendo a solução sem amostra foi utilizado como branco. Com a adição dos 10 mL da solução, a atividade enzimática passou para 6,6 unidades mL<sup>-1</sup> conforme descrito por Krishnamoorthy et al. (1983). Após cada tempo de incubação, removeu-se o frasco correspondente e adicionou-se aproximadamente 20mL de solução de ácido tricloroacético a 10% (TCA) para cessar a atividade enzimática e precipitar as frações protéicas solúveis. Logo após, transferiu-se quantitativamente o conteúdo do frasco para um funil com papel-filtro quantitativo de filtragem rápida (Figura 3B), utilizando aproximadamente 200mL de ácido tricloroacético a 1% (TCA) como veículo, desprezando-se o filtrado. O papel-filtro com o resíduo foi transferido para um tubo Macro-Kjeldahl onde foram adicionados 30 mL de ácido sulfúrico e aproximadamente 10 g de mistura digestora seguindo os passos para determinação do teor de nitrogênio (Figura 3C). O teor de nitrogênio encontrado, multiplicado por 6,25 resultou na PB do resíduo do incubado, também denominado de N1 (Apêndice item 1).



Figura 3. Degradação in vitro de compostos nitrogenados. A- Mesa de agitação orbital; B-Filtragem do incubado; C-Destilação do Nitrogênio

### **Perfil de degradação da PIDN**

De posse dos valores de PB obtidos no resíduo do alimento incubado, e dos valores de PB, PIDN e PIDA do alimento, foi simulado o perfil de degradação da PIDN do incubado para cada tempo de incubação. Em seguida, foi calculado o resíduo através da diferença entre PB do incubado e o PIDN do incubado, anteriormente simulado.

Com estes resíduos, foram traçados os perfis de degradação das frações potencialmente degradáveis dos alimentos. Em seguida, os perfis foram interpretados cineticamente pelo modelo (01) descrito abaixo. Este mesmo modelo será empregado na interpretação cinética da proteína e da fibra.

$$R_t = A \left\{ \delta^N \exp(-kt) + \exp(-\lambda t) \sum_{i=0}^{N-1} \left[ \left( 1 - \delta^{N-1} \right) (\lambda t)^i / i! \right] \right\} + U + \varepsilon \quad (01)$$

No qual  $R_t$  corresponde ao resíduo de incubação no tempo  $t$  (h), de proteína insolúvel em detergente neutro; o parâmetro  $A$  representa as frações potencialmente degradáveis de proteína;  $N$  corresponde à ordem de dependência do tempo para preparação da partícula alimentar para digestão;  $\lambda$  ( $h^{-1}$ ) é a taxa de preparação da fração  $A$  para digestão;  $k$  ( $h^{-1}$ ) equivale à taxa de degradação da fração  $A$ ;  $\delta = \lambda / (\lambda - k)$ ;  $U$  corresponde ao resíduo indigestível das frações de proteína insolúveis em detergente neutro; e  $\varepsilon$  representa o erro aleatório (Vieira et al., 2008).

Este modelo foi ajustado aos perfis de degradação da proteína insolúveis em detergente neutro por meio do PROC NLIN do SAS (versão 9, SAS SYSTEMS, Cary, NC, EUA). O aumento de ordem dependência do tempo foi aplicado para avaliar a qualidade de ajuste do modelo. A ordem de dependência do tempo foi definida com base no critério Akaike e na probabilidade de verossimilhança das diferentes versões de  $N$  para a equação 01 (Vieira et al., 2012).

Os perfis de degradação da PB gerados a partir da incubação das amostras com a protease do *S. griseus*, foram assim calculados:

$$PITCA_t - \hat{R}_t(PIDN) = BI_t \quad (02)$$

Em que  $PITCA_t$  representa a proteína insolúvel em ácido tricloroacético após incubação com protease por um período de tempo  $t$  (h); e  $\hat{R}_t(PIDN)$  corresponde ao

resíduo estimado para a proteína insolúvel em detergente neutro após a incubação *in vitro* com inóculo ruminal no tempo  $t$  correspondente. Os perfis assim produzidos equivalem aos perfis de degradação da fração B1 ( $BI_t$ ), os quais foram interpretados cineticamente por meio do seguinte modelo (Favoreto et al., 2008):

$$BI_t = BI_o \exp(-k_1 t) + \varepsilon \quad (03)$$

Em que  $BI_o$  representa o montante de fração B1 encontrado conforme análise química para um determinado alimento (g.kg de MS);  $k_1$  corresponde a sua respectiva taxa de degradação ( $h^{-1}$ );  $t$  corresponde ao tempo de incubação (h); e  $\varepsilon$  representa o erro aleatório. Este modelo também foi ajustado por meio do PROC NLIN do SAS (versão 9, SAS SYSTEMS, Cary, NC, EUA).

#### ***Degradação “in vitro” de Carboidratos fibrosos***

Para as incubações gravimétricas, na qual se mediu o resíduo de degradação da fibra corrigida para cinzas e proteína, as amostras dos alimentos foram incubadas *in vitro* em condições anaeróbicas com solução tampão e inóculo ruminal segundo os procedimentos descritos por Goering & Van Soest (1970). As amostras dos alimentos foram incubadas em frascos de vidro (100mL) em quadruplicatas, sendo que dois dos resíduos eram destinados à determinação das cinzas insolúveis em detergente neutro (CIDN) e dois resíduos para determinação da proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) (Figura 4A).

Inicialmente, os frascos contendo amostras eram levados para a sala de incubação, onde recebiam 40 mL de solução de meio e dois mL de solução redutora. Em seguida eram fechados com tampa de borracha e mantidos em mesa de agitação orbital automática (Figura 4B) dentro de uma sala de incubação a 39°C. Enquanto isso era processada a coleta e filtragem de líquido ruminal que era utilizado para acrescentar 10 mL em cada frasco com amostra devidamente hidratada com as soluções mencionadas anteriormente.



Figura 4. Degradação de carboidratos fibrosos. A- Resíduos para determinação da CIDN e da PIDN; B- Mesa de agitação orbital

Os tempos de incubação foram de 3, 6, 9, 12, 24, 36, 72 e 96 horas. Ao final de cada tempo, os frascos correspondentes ao tempo foram retirados da incubação e procedeu-se análise de FDN segundo Van Soest et al.(1991). O conteúdo foi transferido quantitativamente para cadinhos filtrantes (porosidade média entre 40 e 60  $\mu m$ ), de massa previamente conhecida, os quais foram depositados em copo-béquer de 500 mL, ao qual eram adicionados 150 mL de solução detergente neutra. Após 1 hora de fervura, filtrou-se o conteúdo do béquer no mesmo cadinho, utilizando água destilada quente para a lavagem e transferência do resíduo final, com subsequente lavagem com acetona (50 mL).

Ao final, foram realizadas as análises para CIDN e PIDN conforme mencionados acima, para as devidas correções. Vale ressaltar que para análise do CIDN utilizando cadinhos de vidro, o tempo e temperatura da mufla devem mudar para 3h e 500°C, respectivamente, para evitar o derretimento dos cadinhos.

Com estes resíduos, foram traçados os perfis de degradação das frações potencialmente degradáveis dos alimentos. Em seguida, os perfis foram interpretados cineticamente pelo modelo (04) descrito abaixo.

$$R_t = A \left\{ \delta^N \exp(-kt) + \exp(-\lambda t) \sum_{i=0}^{N-1} \left[ \frac{(1 - \delta^{N-1}) (\lambda t)^i}{i!} \right] \right\} + U + \varepsilon \quad (04)$$

No qual  $R_t$  corresponde ao resíduo de incubação no tempo t (h), de fibra insolúveis em detergente neutro; o parâmetro A representa as frações potencialmente degradáveis de fibra; N corresponde à ordem de dependência do tempo para preparação da partícula alimentar para digestão;  $\lambda$  ( $h^{-1}$ ) é a taxa de preparação da fração A para digestão; k ( $h^{-1}$ ) equivale à taxa de degradação da fração A;

$\delta = \lambda / (a - U)$ ; U corresponde ao resíduo indigestível das frações de fibra ou de proteína insolúveis em detergente neutro; e  $\epsilon$  representa o erro aleatório (Vieira et al., 2008).

Os tempos médios de degradação (TMD) das frações potencialmente degradáveis dos carboidratos foram calculados como segue:

$$TMD = \frac{N}{\lambda} + \frac{1}{k} \quad (05)$$

No qual,  $N$  corresponde à ordem de dependência do tempo para preparação da partícula alimentar para digestão;  $\lambda$  ( $h^{-1}$ ) é a taxa de preparação da fração A para digestão;  $k$  ( $h^{-1}$ ) equivale à taxa de degradação da fração A; sendo o tempo de latência calculado pela divisão entre o valor de  $N$  e o valor de  $\lambda$ , e o tempo de degradação efetivo, pela divisão entre 1 e  $K$ .

Este modelo foi ajustado aos perfis de degradação da fibra insolúveis em detergente neutro por meio do PROC NLIN do SAS (versão 9, SAS SYSTEMS, Cary, NC, EUA). O aumento de ordem dependência do tempo foi aplicado para avaliar a qualidade de ajuste do modelo. A ordem de dependência do tempo foi definida com base no critério Akaike e na probabilidade de verossimilhança das diferentes versões de  $N$  para a equação 01 (Vieira et al., 2012).

Os perfis de degradação da fibra em detergente neutro (FDN) obtidos pelo procedimento descrito acima foram interpretados cineticamente, por meio do ajuste da mesma equação utilizada para degradação da proteína aos dados desta análise, conforme Vieira et al. (2012).

### ***Degradação “in vitro” de Carboidratos não fibrosos (Produção de Gás)***

A Produção acumulada dos gases provenientes da fermentação dos CNF foi obtida conforme metodologia descrita por Theodorou et al. (1994) e Pell & Schofield (1993), adaptada por Malafaia et al. (1998).

As incubações das amostras com peso de aproximadamente 500mg foram realizadas segundo Goering & Van Soest (1970), tal qual descrita anteriormente para degradação de Carboidratos fibrosos. Sendo que ao final de cada tempo, eram feitas medições de volume e pressão por meio de um manômetro (0-1 kgf/cm<sup>2</sup>) acoplado a uma seringa de vidro de 10 e 20mL (Figuras 5A e 5B), nos seguintes tempos; 0,25;

0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 18; 24; 30; 36; 40; 48; 56; 68; 72 e 96 horas após a adição do inóculo ruminal.

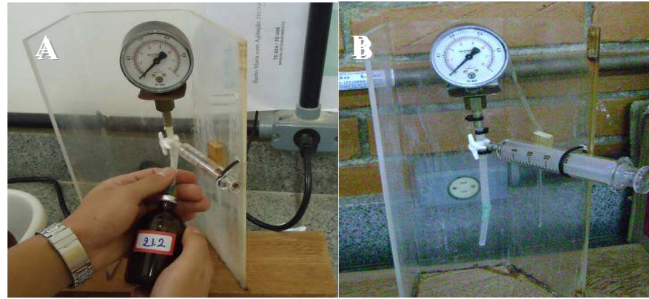


Figura 5. Aferimento da pressão e volume de gás produzido durante a incubação das amostras. A- Manômetro com seringa de 10 mL; B- Manômetro com seringa de 20 mL

A seringa de 10 mL foi utilizada no início da mensuração do volume, para facilitar a leitura da medida de baixa produção de gás, na medida em que esta produção foi aumentando, passou-se a utilizar a seringa de 20 mL.

Estimados os parâmetros de degradação da fibra, o perfil da produção acumulada de gás foi estimado e interpretado cineticamente por meio da equação proposta por Vieira et al., (2008). O modelo modificado fica assim descrito.

$$V_t = V_f \left\{ (1 - p_2) V_f \left\{ 1 \left[ \frac{\delta_s^{N_s} \exp(-k_s t) + \exp(-\lambda_s t) \sum_{i=0}^{N_s-1} (1 - \delta_s^{N_s-i}) (\lambda_s t)^i}{i!} \right] \right\} + p_2 \left\{ 1 \left[ \frac{\delta^N \exp(-\tilde{k} t) + \exp(-\tilde{\lambda} t) \sum_{i=0}^{N-1} [(1 - \delta^{N-1}) (\tilde{\lambda} t)^i]}{i!} \right] \right\} \right\} + \varepsilon \quad (6)$$

No qual  $V_t$  representa o volume acumulado no tempo  $t$ ,  $V_f$  é o parâmetro a ser estimado, que representa o volume assintótico da produção de gás a partir da matéria seca fermentescível cuja pressuposição básica é a de que apenas carboidratos potencialmente digestíveis rendem gás (Schofield & Pell., 1995; Stefanon & Pell, 1996; Hall et al., 1998). Os parâmetros  $\lambda_s$  e  $k_s$  a serem estimados representam, respectivamente, as taxas de preparação e digestão dos substratos potencialmente fermentescíveis e solúveis em detergente neutro, sendo ambas expressas em  $h^{-1}$ . A ordem de dependência do tempo para a preparação dos substratos solúveis em

detergente neutro corresponde a  $N_s$ . A constante  $\delta_s = \lambda_s / (\lambda_s - k_s)$ . A proporção  $p_2$  representa a fração de B no CF:

$$p_2 = \frac{B'_2 CF}{(B'_2 CF + CNF)} \quad 07$$

Sendo

$$B'_2 = \frac{\tilde{A}}{(\tilde{A} + \tilde{U})},$$

Na qual  $\tilde{A}$ ,  $\tilde{U}$ ,  $\tilde{k}$  e  $\tilde{\lambda}$  foram estimados pelo ajuste da equação 01 aos perfis gravimétricos. CF e CNF correspondem aos carboidratos fibrosos e não fibrosos conforme definido anteriormente.

A equação 06 foi ajustada aos perfis de produção acumulada de gás por meio do PROC NLIN do SAS (versão 9, SAS SYSTEMS, Cary, NC, EUA).

O volume final (Vf) de gás foi obtido a partir da Equação 06 pela somatória do volume de gás proveniente dos CNF (Vf<sub>1</sub>), com o volume de gás provenientes dos CF (Vf<sub>2</sub>), sendo que o Vf<sub>2</sub> foi calculado pela multiplicação do p<sub>2</sub> pelo VF e o Vf<sub>1</sub> calculado pela subtração do Vf pelo Vf<sub>2</sub>.

Considerando as adversidades nutricionais entre os componentes principais dos alimentos, estes foram classificados por meio de análise de agrupamento por otimização, utilizando a distância Euclideana média com variáveis padronizadas pelo método de Tocher. Esta análise estatística foi realizada utilizando o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Considerando as diversidades nutricionais entre os componentes principais dos alimentos, estes foram classificados por meio de análise de agrupamento por otimização, visando melhor organização dos dados nas Tabelas, bem como facilitar a discussão, uma vez que, segundo Malafaia et al (1997), a interpretação dos dados deve ser feita comparando-se os alimentos do mesmo grupo.

Com a otimização foram gerados 8 (oito) grupos de alimentos classificados nas seguintes categorias:

Categoria 1 - Alimentos com elevada concentração de FDN e relativamente baixa concentração de proteína;

Categoria 2 – Alimentos com baixa concentração de FDN e relativamente alta concentração de CNF no CT e elevada concentração de proteína;

Categoria 3 – Alimentos com elevadas concentrações de FDN, FDA e FDNcp e baixa concentração de proteína;

Categoria 4 – Alimentos com baixa concentração de FDN, relativamente baixa e alta concentração de proteína e CNF, respectivamente;

Categoria 5 - Alimentos com baixa concentração de FDN e elevada concentração de proteína;

Categoria 6 – Alimentos com elevada concentração de FDN e baixa concentração de proteína;

Categoria 7 – Alimentos com baixa concentração de FDN, relativamente baixa concentração de CNF e elevada concentração de proteína;

Categoria 8 – Alimentos com baixa concentração de FDN e proteína e elevada concentração em CNF;

### *Composição química*

Em função do volume de informações, os resultados referentes à composição química dos alimentos estudados são apresentados nas Tabelas 1 e 2, de forma sequenciada.

Tabela 1. Composição química de alguns alimentos utilizados na formulação de dietas para ruminantes no Brasil.

Grupos	Alimentos	Variáveis (g.kg <sup>-1</sup> MS)				
		MS	MO	MM	EE	PB
1	Tifton-85 <sup>1</sup>	202,60	898,79	101,21	24,00	229,01
	Tifton-85 <sup>2</sup>	205,56	888,98	111,02	23,80	186,78
	Tifton-85 <sup>3</sup>	178,57	887,96	112,04	23,10	154,03
2	Fare. de Algodão	902,62	936,82	63,18	5,96	474,06
	Fare. de Soja	887,84	933,16	66,84	18,10	517,83
3	Torta de Dendê	870,33	955,03	44,97	4,41	174,88
	Fare. de Dendê	865,89	922,58	77,42	1,33	166,13
	TD.Pin.Manso	846,44	915,91	84,09	2,82	290,72
4	Polpa Cítrica	894,95	944,23	55,77	30,23	85,36
	Fare. de Trigo	880,06	945,27	54,73	12,53	216,65
5	Torta de Algodão	930,05	948,31	51,69	48,70	344,27
	Torta de Licuri	931,14	957,03	42,97	38,42	183,91
6	Bagaço de Cana	489,51	979,50	20,50	2,43	18,31
7	FD.de Mamona	900,74	887,71	112,29	3,70	393,79
8	Fubá de Milho	893,87	989,26	10,74	11,10	115,91

MS=matéria seca; MO=matéria orgânica; MM= matéria mineral; EE=extrato etéreo; PB=proteína bruta; FD= farelo detoxificado; TD= torta detoxificada.

<sup>1</sup>Tifton-85 com 21 dias de idade; <sup>2</sup>Tifton-85 com 31 dias de idade e <sup>3</sup>Tifton-85 com 43 dias de idade.

Os teores de MS e MO dos alimentos apresentados na Tabela 1 estão condizentes com resultados apresentados nas literaturas (Malafaia et al., 1997, Alcalde et al., 2001; Santos et al., 2003; Bomfim, 2003; Branco et al., 2010). Com exceção dos alimentos dos grupos 1 e 6, todos apresentaram teor de umidade menor que 15%, podendo ser armazenados por longos períodos uma vez que o menor teor de água diminui a atividade microbiana (Gomes, 2007). Teores de MO similares a este trabalho foram encontrados por Silva et al. (2008b) para as tortas de algodão e dendê com 939,0 e 964,0 g.kg<sup>-1</sup> MS, respectivamente. Arieta et al., (2009) encontraram 923,80 g.kg<sup>-1</sup> MS para farelo de algodão e Gomes (2007) encontrou 886,00 g.kg<sup>-1</sup> MS para o farelo de mamona detoxificado.

Quanto a MM, foi observada elevação na proporção de 9,69% do capim tifton-85 de 21 dias para o de 31 dias, continuando a aumentar em menor proporção (0,92%), de 31 para 43 dias. Isto demonstra que após os 31 dias de idade, o capim Tifton-85 não acumula MM de forma significativa em suas folhas.

Resultados de MM semelhantes aos deste trabalho foram encontrados por Malafaia et al (1997), para farelo de soja, farelo de algodão, fubá de milho e farelo de

trigo, como sendo 60,20 g.kg<sup>-1</sup> MS, 52,30 g.kg<sup>-1</sup> MS, 11,20 g.kg<sup>-1</sup> MS e 55,70 g.kg<sup>-1</sup> MS, respectivamente.

Os teores de EE apresentaram variação muito grande entre os produtos. Esta variação que vai de 1,33 g.kg<sup>-1</sup> MS no farelo de dendê a 48,7 g.kg<sup>-1</sup> MS na torta de algodão, depende de diversos fatores, tais como: a cultura e sua variedade, o processo de extração do óleo e a eficiência nestes processos.

Os lipídios são utilizados nas dietas de ruminantes para aumentar a energia das rações com menores custos. Segundo Berchielli et al. (2006), os efeitos da adição de lipídios na dieta parecem depender da quantidade e da fonte dos mesmos, e que o efeito mais consistente de suplementação lipídica é a diminuição na concentração de amônia ruminal, resultante da redução na proteólise e/ou da reciclagem de bactérias em consequência da diminuição do número de protozoários ciliados. Malafaia (1995) trabalhando com vacas em lactação observou aumento na eficiência microbiana e redução no número de protozoários ciliados, quando utilizou os níveis de 4, 7 ou 10% de sebo bovino no concentrado.

O valor da gordura como combustível fisiológico varia em função da digestibilidade de cada fonte de gordura. O que mais interfere na digestibilidade dos ácidos graxos é o grau de insaturação. Portanto, quanto mais insaturado o ácido graxo, maior sua digestibilidade e, conseqüentemente, seu valor energético. Sendo assim, mesmo considerando uma provável redução na digestibilidade da fibra, recomenda-se o uso de lipídios principalmente para ruminantes em lactação, desde que sejam provenientes de fontes que apresentem alta digestibilidade no intestino delgado, para melhores resultados.

Teores relativamente elevados de PB foram observados, variando de 517,83 g.kg<sup>-1</sup> MS (farelo de soja) a 174,88 g.kg<sup>-1</sup> MS (torta de dendê), sugerindo que subprodutos ainda não usados no arraçamento de animais podem ser vistos como excelente fonte proteica. Vale ressaltar que os teores de PB observados neste estudo foram superiores aos encontrados por Cabral et al. (2000b), para os farelos de algodão, trigo, soja e fubá de milho que foram de 319,0 g.kg<sup>-1</sup> MS, 174,4 g.kg<sup>-1</sup> MS, 508,8 g.kg<sup>-1</sup> MS e 85,4 g.kg<sup>-1</sup> MS, respectivamente. Resultados inferiores também foram observados por Santos et al. (2003) para os alimentos destacados, com exceção do farelo de soja, que foi observado 522 g.kg<sup>-1</sup> MS. Os diferentes valores encontrados nas análises bromatológicas podem ser explicados pelos diferentes processos de extração do óleo e/ou pela utilização de diferentes variedades destes

produtos.

O farelo de soja destaca-se como o primeiro colocado em teor de PB, com 517,83 g.kg<sup>-1</sup> MS, enquanto que o farelo de algodão revela-se como o segundo colocado em nível de PB dentre os alimentos elencados (Tabela 1) com 474,06 g.kg<sup>-1</sup> MS seguido do farelo de mamona detoxificado com 393,79 g.kg<sup>-1</sup> MS. Segundo Abdalla et al. (2008), o farelo de algodão vem sendo utilizado em rações para ruminantes, substituindo o farelo de soja parcial ou totalmente. Quanto ao farelo de mamona, apesar de seu elevado teor de PB, ainda não é utilizado em grande escala na alimentação animal devido à presença do fator antinutricional presente nesta espécie, a proteína ricina que apresenta princípio tóxico, os quais podem passar ao leite em ruminantes alimentados com a torta de mamona (Evangelista et al. 2007). No entanto, pesquisas vêm sendo desenvolvidas no sentido de reduzirem ou até mesmo, eliminarem a ricina da mamona, o que irá favorecer sua utilização na alimentação de ruminantes.

O bagaço da cana-de-açúcar (Grupo 6 – Tabela 1) foi o alimento do que apresentou a menor quantidade de PB.

Foram observadas reduções nos teores de PB no capim tifton-85 em 18,44% e 17,57% de acordo com o avanço das idades de 21 para 31 dias de idade e de 31 para 43 dias de idade, respectivamente. Muito embora, o capim tifton-85 com 43 dias de idade apresentou 154,03 g.kg<sup>-1</sup> MS. Segundo Van Soest (1994), a quantidade mínima de proteína bruta na dieta para proporcionar adequado funcionamento da microbiota do rúmen é de 7% de PB na MS.

Os carboidratos (Tabela 2) representam a principal fonte de energia para a microbiota ruminal, que promovem a sua fermentação e os convertem em ácidos graxos voláteis (AGV) que, por sua vez, são a principal fonte de energia dos ruminantes.

Tabela 2. Composição química de alguns alimentos utilizados na formulação de dietas para ruminantes no Brasil.

Grupos	Alimentos	Variáveis (g.kg <sup>-1</sup> MS)					
		CHOT	CNF	FDN	FDNcp	FDA	LDA
1	Tifton-85 <sup>1</sup>	645,78	134,12	611,24	511,66	293,14	38,92
	Tifton-85 <sup>2</sup>	678,40	111,98	660,04	566,41	353,76	45,99
	Tifton-85 <sup>3</sup>	710,82	91,60	705,77	619,23	365,39	46,15
2	Fare. de Algodão	456,80	265,90	213,51	190,90	151,82	31,19
	Fare. de Soja	397,23	274,75	149,33	122,47	85,28	6,46
3	Torta de Dendê	775,73	148,53	821,35	627,20	588,70	64,73
	Fare. de Dendê	755,12	150,18	819,78	604,95	575,49	106,52
	TD.Pin.Manso	622,37	120,49	595,57	501,87	488,38	82,19
4	Polpa Cítrica	828,64	551,20	302,52	277,44	255,23	25,60
	Fare. de Trigo	716,09	320,09	431,68	396,01	136,98	35,62
5	Torta de Algodão	555,34	169,97	423,66	385,37	313,85	41,85
	Torta de Licuri	734,70	199,93	666,61	534,77	515,99	58,23
6	Bagaço de Cana	958,76	336,70	638,42	622,06	454,54	83,15
7	FD.de Mamona	490,22	115,83	446,71	374,38	392,45	23,00
8	Fubá de Milho	862,24	774,42	94,60	87,82	21,87	3,60

CHOT=carboidratos totais; CNF=carboidratos não fibrosos; FDN=fibra em detergente neutro; FDNcp=FDN corrigida para cinzas e proteína; FDA=fibra em detergente ácido; LDA=lignina em detergente ácido; FD= farelo detoxificado; TD= torta detoxificada

<sup>1</sup>Tifton-85 com 21 dias de idade; <sup>2</sup>Tifton-85 com 31 dias de idade e <sup>3</sup>Tifton-85 com 43 dias de idade.

Os teores de CHOT dos alimentos na Tabela 2 apresentaram grandes variações, que podem ser observadas desde o farelo de soja com 397,23 g.kg<sup>-1</sup> MS, até o bagaço de cana-de-açúcar com 958,76 g.kg<sup>-1</sup> MS. Vale ressaltar que do CHOT do bagaço, 65% está na forma de CF e apenas 35% na forma de CNF, enquanto que no farelo de soja, estes valores se invertem, apresentando 30 e 70% para os CF e CNF, respectivamente. Do CF, apenas parte é digerida pelos microrganismos ruminais, contribuindo na produção dos ácidos graxos voláteis – AGVs, juntamente com os CNF. Malafaia et al. (1997) reportaram valores de CHOT similares aos deste trabalho para o farelo de soja, farelo de algodão e farelo de trigo, sendo 401,4 g.kg<sup>-1</sup> MS, 461,5 g.kg<sup>-1</sup> MS, e 716,2 g.kg<sup>-1</sup> MS, respectivamente, bem como resultado inferior para fubá de milho, 837,5 g.kg<sup>-1</sup> MS. De acordo com Mello & Nornberg (2004), os menores teores de CHOT são em razão dos maiores teores de PB e/ou EE no alimento.

O fubá de milho e a polpa cítrica foram os alimentos que apresentaram os maiores teores de CNF, 774,42 g.kg<sup>-1</sup> MS e 551,20 g.kg<sup>-1</sup> MS dentre os alimentos estudados. Isto se justifica pelos seus elevados teores de amido e pectina,

respectivamente. Os valores de CNF do fubá de milho e da polpa cítrica foram superiores ao máximo recomendado para ruminantes pelo NRC (2001), que é de 38 a 42% MS, sob o risco de causar efeitos deletérios ao ambiente ruminal. Entretanto, os efeitos dos diferentes componentes dos CNF são distintos, conforme veremos a seguir, na discussão da Tabela 3.

Com o avanço da idade, foi possível observar um ligeiro aumento dos CHOT na ordem de 10% entre o capim Tifton-85 com 21 dias e o com 43 dias. No entanto, nota-se decréscimo de 7,9% dos CNF para os mesmos períodos. Esta redução dos teores de CNF do Capim Tifton-85 também foi observado por Cabral et al. (2000a) e pode ser justificado pelo aumento na concentração em torno de 18,6% entre as idades de 21 e 43 dias de corte. Os teores de CNF observados neste trabalho para o Capim Tifton-85 foram de 20,77; 16,51 e 12,89% no CHOT para as idades de 21, 31 e 43 dias, respectivamente. Ressaltando que CNF presentes em gramíneas tropicais, como o Capim Tifton-85, dificilmente ultrapassam a 20% dos CHOT na MS.

Os alimentos do grupo 3, apresentam características de CHOT e CF semelhantes aos do grupo 1, entretanto, os teores de CNF se assemelham mais com as características da forragem mais jovem (21 dias de corte). (Tabela 2).

Quanto à torta do licuri, apresenta características fibrosas semelhantes aos Tifton-85 com 21 dias de idade, com exceção da FDA e da LDA que apresentam superiores na torta do licuri, provavelmente, pela presença da casca.

Para garantir bom funcionamento do rúmen, os ruminantes necessitam ingerir quantidades adequadas de FDN que segundo NRC (1989, 2001), seria de  $1,2 \pm 0,1\%$  do peso vivo. Uma vez que a fibra exerce grande influência no processo de mastigação, ruminação e, conseqüentemente, manutenção do pH ideal para o bom desenvolvimento dos microrganismos. No entanto, estudos revelam que níveis muito elevados de fibra afetam o consumo de MS, bem como consumos de MO, PB, EE, CNF e NDT, principalmente quando os alimentos que compõem a dieta apresentam baixos índices destes nutrientes. O ideal, portanto, seria que os alimentos ricos em fibra, apresentassem elevados teores dos outros nutrientes. Observando a Tabela 2, destacamos alguns alimentos que apresentam tal perfil. É o caso do dendê (farelo e torta) que apresentaram em torno de 80% de FDN na MS e mais de 15% PB na MS, além da torta de licuri com  $666,61 \text{ g.kg}^{-1}$  MS de FDN e  $183,91 \text{ g.kg}^{-1}$  MS de PB; a torta detoxificada de pinhão manso, com  $595,57 \text{ g.kg}^{-1}$  MS de FDN e  $290,72 \text{ g.kg}^{-1}$  MS de PB. O que os tornam semelhantes ao Capim Tifton-85 com 21 dias.

A FDN elevada como nos grupos 1, 3 e 6, pode influenciar diretamente o consumo voluntário e, portanto, seu valor alimentício, como resultado de sua insolubilidade em meios neutros, como o rúmen, e, de forma geral, em função de sua lenta taxa de degradação pelos microrganismos ruminais em comparação aos demais componentes dos alimentos. Entretanto, FDN reduzida como nos alimentos dos grupos 2 e 8, podem contribuir com a redução do pH ruminal, causando sérios danos aos microrganismos ruminais e provocando distúrbios metabólicos a exemplo da acidose. Segundo Rodrigues (1998), o nível ótimo de FDN que irá maximizar o consumo de energia de vacas no início de lactação varia entre 25 a 35% da MS.

De acordo com Branco et al. (2010), a ingestão dos caprinos parece ser diferente daquela dos bovinos, uma vez que essa espécie apresenta diferenças no comportamento ingestivo, na taxa de passagem, na capacidade de digestão dos nutrientes e principalmente, na capacidade de processar a fibra pelo trato digestório. Silva et al. (2005a) relataram que a inclusão de 30% da torta de dendê em substituição parcial ao milho e ao farelo de soja, no concentrado da dieta de cabras em lactação, não afetou a digestibilidade aparente da matéria seca da ração. Enquanto que Carvalho et al. (2006) concluíram que a inclusão de torta de dendê em substituição ao farelo de soja não afetou os parâmetros do comportamento ingestivo.

Os resultados correspondentes aos elementos que compõem os carboidratos não fibrosos (CNF), bem como, o percentual que os representa em seu grupo, estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Composição química dos CNF de alguns alimentos utilizados na formulação de dietas para ruminantes no Brasil e o percentual de açúcar, amido e pectinas em relação ao CNF.

Grupos	Alimentos	CNF	CNF(g.kg <sup>-1</sup> MS)			% CNF		
		% CT	Açúcar	Amido	Pectinas	Açúcar	Amido	Pectinas
1	Tifton-85 <sup>1</sup>	20,77	2,79	11,78	119,55	2,08	8,78	89,14
	Tifton-85 <sup>2</sup>	16,51	2,44	5,34	104,20	2,18	4,77	93,05
	Tifton-85 <sup>3</sup>	12,89	2,29	7,45	81,85	2,50	8,14	89,36
2	Fare. de Algodão	58,21	13,37	3,36	249,16	5,03	1,26	93,71
	Fare. de Soja	69,17	11,47	4,52	258,77	4,17	1,64	94,18
3	Torta de Dendê	19,15	2,50	2,80	143,24	1,68	1,88	96,43
	Fare. de Dendê	19,89	2,22	2,85	145,10	1,48	1,90	96,62
	TD.Pin.Manso	19,36	2,61	43,04	74,84	2,16	35,72	62,11
4	Polpa Cítrica	66,52	11,03	28,41	511,77	2,00	5,15	92,85
	Fare. de Trigo	44,70	14,38	293,16	12,55	4,49	91,59	3,92
5	Torta de Algodão	30,61	5,39	2,92	161,67	3,17	1,72	95,11
	Torta de Licuri	27,21	6,28	8,72	184,93	3,14	4,36	92,49
6	Bagaço de Cana	35,12	11,77	13,32	311,61	3,50	3,96	92,55
7	FD.de Mamona	23,63	10,52	41,03	64,28	9,09	35,42	55,49
8	Fubá de Milho	89,81	3,57	721,17	49,68	0,46	93,12	6,42

FD= farelo detoxificado; TD= torta detoxificada.

Os CNF são constituídos pelos açúcares, amidos e pectinas, e são prontamente disponíveis aos microrganismos ruminais. Dos CNF, os açúcares e amidos estão presentes no conteúdo celular, enquanto que as pectinas são polissacarídeos amorfos que estão contidos na parede celular, mas que é também classificado como carboidrato não fibroso por ser totalmente solúvel em detergente neutro e ser rápida e extensamente degradável pelos microrganismos ruminais (Van Soest, 1994).

Os alimentos avaliados neste estudo apresentaram elevada concentração de CNF em relação aos CHOT, com variação de de 12,89% a 89,81% para o Capim Tifton-85 e fubá de milho respectivamente. Além do milho, os alimentos com maior proporção de CNF em relação aos CHOT foram o farelo de soja, a polpa cítrica e o farelo de algodão com 69,17%, 66,52% e 58,21%, respectivamente.

Segundo Silva (2002), os CNF compõem mais de 80% dos grãos de cereais, dos quais 70 a 80% são constituídos por amido, 10 a 30% são constituídos por

polissacarídeos não amiláceos (PNA), e 1 a 3% são açúcares simples (mono e polissacarídeos). No entanto, vale ressaltar que para determinados alimentos, estes resultados podem variar bastante, principalmente quando se trata de subprodutos, conforme se pode observar na Tabela 3.

Quanto aos açúcares, os teores nos alimentos variaram de 2,22 g.kg<sup>-1</sup> MS do farelo de dendê, para 14,38 g.kg<sup>-1</sup> MS para o farelo de trigo. No entanto, em proporção aos teores de CNF, o farelo detoxificado de mamona apresentou o maior percentual (9,09% de açúcar no CNF), e o menor percentual foi representado pelo fubá de milho (0,46% de açúcar no CNF). Os demais alimentos apresentaram proporções que variaram de 1,48% na torta de dendê, e 5,03% no farelo de algodão. De acordo com Hall (2000), a polpa cítrica pode conter mais de 20% da sua MS composta por açúcares simples, sendo este teor é variável de acordo com a espécie e cultivar de citros que a origina. Neste trabalho, encontramos resultado inferiores (Tabela 3) aos encontrados por Hall (2000) e Lima et al. (2006) que foram de 18,4% e de 17,83% respectivamente de mono e oligossacarídeos para polpa cítrica.

Dentre os alimentos elencados na Tabela 3, o fubá de milho foi o que apresentou o maior teor de amido (721,17 g.kg<sup>-1</sup> MS), o que representou 93,12% dos carboidratos não fibrosos. Similar ao resultado apresentado por Rostagno et al.(2000) (715,20 g.kg<sup>-1</sup> MS), e bem próximo do resultado apresentado por Hall (2000) (640,0 g.kg<sup>-1</sup> MS). Vale lembrar que o método de análise utilizado neste trabalho foi diferente ao método utilizado por Hall, o que pode justificar esta diferença.

O farelo de algodão foi o alimento de menor proporção de amido, revelando grande variação dentre os alimento conforme foi mencionado anteriormente, ressaltando que o amido apresenta elevada capacidade fermentativa, produzindo altos níveis de ácido láctico no rúmen que reduz o pH ruminal, o qual abaixo de 5, pode favorecer o aparecimento de distúrbios metabólicos como a acidose (Kolb & Gürtler, 1987). Estes distúrbios tornam se mais efetivos quanto menores os teores de fibras solúveis (pectinas) na dieta. Isto porque estas fibras solúveis depois de fermentadas, produzem o ácido acético que contribui para manter o pH ruminal elevado, mesmo com altas produções de ácido láctico inicialmente promovidos pelos açúcares simples.

Seguido do fubá de milho, o farelo de trigo foi o alimento que apresentou o a maior concentração de amido dentre os alimentos trabalhados.

A razão entre açúcares mais amido em relação às pectinas com exceção do fubá de milho e do farelo de trigo, variaram de 0,03 do farelo de dendê para 0,80

para o farelo detoxificado de mamona. Bomfim (2003) estudou a natureza dos CSDN (carboidratos solúveis em detergente neutro) em dietas para cabras em lactação e verificou que os valores dessas razões variaram de 0,89 a 2,92. As razões mais altas provocaram efeito negativo sobre a digestibilidade da FDN e CSDN, mas, por outro lado, resultaram em queda na excreção de N urinário e maior retenção de N, possivelmente pelo melhor sincronismo de degradação dos carboidratos e proteína.

Dessa forma, é possível inferir que, pelo fato de os alimentos estudados possuírem baixa razão entre amido e açúcares/FSDN, ocorreria grande perda de N na forma urinária ou fecal e pequeno aproveitamento da proteína rapidamente degradável, principalmente nos alimentos com elevados índices de PB, se os animais forem alimentados exclusivamente por esses alimentos.

Com exceção do fubá de milho e do farelo de trigo, os demais alimentos se destacaram pelos maiores teores de substâncias pécicas no CNF (Tabela 3). Isto se deve provavelmente à natureza destes alimentos. As substâncias pécicas (1→3) (1→4) β-glicanas e frutanas possuem padrão de fermentação diferenciado do amido e dos açúcares, porque não causa redução no pH ruminal, uma vez que não produzem ácido láctico. A cadeia ruminal de ácido galacturônico da pectina proporciona grande potencial tamponante no rúmen, através de troca de cátions e ligação aos íons metálicos e a fermentação da pectina gera elevada relação acetato/propionato, favorecendo a produção de gordura do leite e de leite corrigido para gordura Van Soest (1994). Isto os torna boas fontes de fibras solúveis a serem incorporados nas dietas ricas em energia, com o objetivo de reduzir problemas de acidose para os animais.

### ***Caracterização das frações nitrogenadas***

Sniffen et al. (1992) determinaram que os alimentos utilizados pelos ruminantes deveriam ser fracionados para sua adequada avaliação.

No presente estudo, adotou-se o fracionamento da proteína em quatro frações (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e C) em vez de cinco (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> e C), conforme inicialmente proposto no CNCPS (Sniffen et al 1992). A razão para a divisão em duas frações, B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, no modelo original foi feita para caracterizar proteínas de natureza química distintas. No entanto existem argumentações contrárias a esta divisão (Van Soest, 1994; Broderick, 1995), uma vez que o comportamento cinético do processo de degradação de proteínas existentes no conteúdo celular é muito semelhante, sugerindo um

comportamento nutricionalmente uniforme. Dessa forma, assumiram-se duas frações para a proteína bruta presente no conteúdo celular, fração A (NNP) e fração B<sub>1</sub> (proteína verdadeira solúvel em detergente neutro e disponível no ambiente ruminal). Além disso, outro forte argumento para se adotar somente quatro frações de compostos nitrogenados está ligado ao emprego de técnicas laboratoriais mais simples, tornado tais procedimentos mais acessíveis às análises de rotinas nos laboratórios e com custo reduzido.

É possível observar grandes variações das frações proteicas entre os diversos tipos de alimentos (Tabela 4). De acordo com Mello & Nornberg (2004), as diferenças entre as frações dos alimentos demonstram a diversidade de resultados entre culturas, mostrando a importância de fracionar os mesmos para o adequado balanceamento da dieta.

Tabela 4. Caracterização das frações nitrogenadas de alguns alimentos utilizados na formulação de dietas para ruminantes no Brasil

Grupos	Alimentos	PB (g.kg <sup>-1</sup> MS)	Frações Proteicas			
			A (g.kg <sup>-1</sup> PB)	B1 (g.kg <sup>-1</sup> PB)	B2 (g.kg <sup>-1</sup> PB)	C (g.kg <sup>-1</sup> PB)
1	Tifton-85 <sup>1</sup>	229,01	58,99	80,39	71,90	17,73
	Tifton-85 <sup>2</sup>	186,78	56,51	57,84	55,72	16,71
	Tifton-85 <sup>3</sup>	154,03	50,17	33,42	55,88	14,56
2	Fare. De Algodão	474,06	9,09	452,54	6,10	6,34
	Fare. De Soja	517,83	48,87	444,29	22,40	2,27
3	Torta de Dendê	174,88	14,10	29,47	111,83	10,73
	Fare. De Dendê	166,13	11,06	28,75	121,03	14,04
	TD.Pin.Manso	290,72	103,19	113,42	45,64	28,47
4	Polpa Cítrica	85,36	33,89	28,79	15,57	7,11
	Fare. De Trigo	216,65	77,40	109,27	26,08	3,90
5	Torta de Algodão	344,27	83,31	234,98	18,17	7,81
	Torta de Licuri	183,91	20,96	46,25	106,84	9,86
6	Bagaço de Cana	18,31	6,92	2,55	5,94	2,90
7	FD.de Mamona	393,79	129,64	230,53	28,31	5,32
8	Fubá de Milho	115,91	37,72	71,95	5,69	0,55

<sup>1</sup>Tifton-85 com 21 dias de idade; <sup>2</sup>Tifton-85 com 31 dias de idade e <sup>3</sup>Tifton-85 com 43 dias de idade.  
FD= farelo detoxificado; TD= torta detoxificada

A fração A observada na Tabela 4 está variando de 6,92 g.kg<sup>-1</sup> PB do bagaço da cana-de-açúcar, para 129,64 g.kg<sup>-1</sup> PB do farelo detoxificada de mamona. O farelo

de mamona apresenta em seu conteúdo proteico, 32,9% dos 39% de PB na MS na forma de fração A ou NNP prontamente disponível aos microrganismos, principalmente aos fermentadores de carboidratos estruturais, que se utilizam desta fonte de N para síntese de proteína microbiana. A fração A determinada neste estudo para o farelo de soja (9,44% da PB), foi similar a determinada por Sniffen et al. (1992), que foi de 8,91% da PB. Mas, para o fubá de milho, foi determinado neste estudo, valor superior (32,5% da PB) em relação ao determinado por Sniffen et al. (1992), (12,12% da PB). Ressaltando que estes resultados estão considerando a fração A, em relação ao percentual de PB, portanto, devemos estar atentos aos índices de PB de cada alimento. Valores altos para fração A de alimentos que apresentam elevados índices de PB podem levar a perdas de nitrogênio ruminal, principalmente se não houver adequado suprimento de CNF na dieta (Russel et al., 1992). Diferente do farelo de mamona, observamos a característica do farelo de algodão que apresenta em seu conteúdo, 47% de PB na MS e apenas 1,9% está representada pela fração A. Podemos observar também na Tabela 4 o bagaço da cana-de-açúcar que a fração A está representada por 37,8% da PB, no entanto, o índice de PB deste subproduto é de apenas 1,8% da MS. Característica semelhante ao bagaço de cana-de-açúcar pode ser observada para a polpa cítrica, que apresenta índice de PB na MS relativamente baixo (8,5%), com a fração A representando 39,7% da PB.

A fração B1 neste estudo, representada pela proteína verdadeira com rápida taxa de degradação no rúmen corresponde à soma das frações B1 e B2 do fracionamento proposto por Sniffen et al. (1992) e os valores observados (Tabela 4), variaram de 2,55 g.kg<sup>-1</sup> PB do bagaço da cana-de-açúcar, para 452,54 g.kg<sup>-1</sup> PB do farelo de algodão, o que representa 95% dos 47% da PB na MS do farelo de algodão na forma de fração B1. A proteína representada na fração B1 composta basicamente pelas globulinas e albuminas contribui através do fornecimento de peptídeos para aumentar a biomassa de bactérias ruminais que utilizam carboidratos não fibrosos (Sniffen et al. 1992). Dentre os alimentos estudados, apenas o farelo de soja com 51,8% de PB na MS é comparável com o farelo de algodão, em se tratando de PB na MS e proporção da fração B1 (85,8% na PB), justificando fazerem parte do mesmo grupo.

Foram destacados, numa ordem proporcional crescente, os teores referentes à soma da fração A com a fração B1 (Tabela 4), dos seguintes alimentos: farelo de soja

(493,16 g.kg<sup>-1</sup> PB), farelo de algodão (461,63 g.kg<sup>-1</sup> PB), farelo de mamona detoxificada (360,16 g.kg<sup>-1</sup> PB), torta de algodão (318,29 g.kg<sup>-1</sup> PB) e torta de pinhão manso detoxificado com 216,61 g.kg<sup>-1</sup> PB. Considerando que estas frações (A+B1) apresentam elevadas taxas de degradação, podemos inferir que sua proteína tende a ser rapidamente degradada no rúmen o que pode resultar em perdas significativas de N, se não houver sincronismo com a fermentação de carboidratos de rápida fermentação ruminal. Nocek & Russel (1988) verificaram que, quanto mais elevados os valores das frações A e B1, maior a necessidade de suprimento de carboidratos de rápida degradação, para obtenção de adequado sincronismo na fermentação de carboidratos e proteínas no rúmen, levando ao melhor desempenho animal.

Para o Tifton-85 é possível observar que com o avanço da idade de 21 para 43 dias, houve redução da fração A e B1 das proteínas em 14,95%, e 58,43% respectivamente. Mesmo assim, a soma das proporções das duas frações ficou acima de 50% da PB da forragem (Tabela 4). Esta redução pode ser justificada pelo crescente índice nos níveis de lignina que neste trabalho foi observado 18,6% de aumento entre as idades de 21 e 43 dias de corte. Este crescente índice de lignina ocorre devido à deposição de parede celular lignificada com o avanço da idade e com o crescimento da planta. (Van Soest, 1994).

Os percentuais da fração B1 em relação à PB para o farelo de soja e o fubá de milho deste trabalho foram de 85,8% e 62%, respectivamente, semelhantes aos relatados por Sniffen et al. (1992), que relataram 81% para o farelo de soja e 78,8% para o fubá de milho.

A Fração B2 deste trabalho (Tabela 4), corresponde à fração B3 do fracionamento proposto por Sniffen et al. (1992), e está representada pelas proteínas potencialmente degradáveis, presentes nas fibras. Dentre os alimentos estudados observa-se, que o farelo e torta de dendê bem como o licuri apresentaram teor de proteína lentamente degradável no rúmen (B2) acima de 50% da PB na MS, acredita-se que grande parte desta fração tende a escapar do rúmen e contribuir com o aporte de aminoácidos no intestino delgado. Foram observados valores reduzidos para a fração B2 em relação à PB, nos seguintes alimentos: farelo de algodão, farelo de soja, torta de algodão e farelo detoxificado de mamona (1,3%, 4,8%, 5,2% e 7,2% da fração B2 na PB, respectivamente). A redução desta fração no alimento implica na menor disponibilidade de proteína dietética potencialmente digestível para o intestino delgado, além de reduzir a disponibilidade de aminoácidos e peptídeos no rúmen,

para os microrganismos que fermentam carboidratos não estruturais.

Observou-se na Tabela 4, para os alimentos do grupo 1, que o percentual da fração C em relação à PB do capim Tifton-85 foi crescente com o avanço da idade 7,7%; 8,9% e 9,4% de fração C na PB, para os capins Tifton-85 com 21, 31 e 43 dias respectivamente. Este aumento da fração C é justificado pela crescente proporção de lignina que ocorre com o avanço da idade, período que ocorre conversão do nitrogênio solúvel para as formas menos solúveis (B2) até a forma insolúvel (C). Segundo Van Soest (1994), 5 a 15% do N total das forragens encontram-se ligados à lignina, sendo totalmente indisponível. O alimentos do grupo 2 apresentam características relacionadas a fração C, semelhantes aos do grupo 1.

O bagaço da cana-de-açúcar, além de apresentar o menor teor de PB dentre os alimentos deste estudo (1,8%PB na MS), têm 45,4% desta, representada pelas frações B2 + C, o que vem confirmar a irrelevância deste nutriente para este alimento.

### ***Degradação dos compostos nitrogenados***

As taxas de degradação das frações nitrogenadas são importantes para o atendimento da demanda dos microrganismos ruminais, resultando no crescimento microbiano que influenciam o escape de proteínas aos intestinos.

Os modelos utilizados não permitiram ajustar a curva de degradação da fração B1 e B2 do farelo de dendê e do bagaço da cana-de-açúcar, bem como da fração B1 da torta de dendê, polpa cítrica e da torta de licuri (Tabela 5). As frações A e C não são mencionadas por que a primeira é instantaneamente solubilizada e absorvida pelos microrganismos ruminais, enquanto que a segunda representa a fração indegradável, conforme mencionado anteriormente.

Tabela 5. Taxas de degradação das frações B1 e B2 dos compostos nitrogenados.

Grupos	Alimentos	Taxa de degradação (h <sup>-1</sup> )				
		B1		B2		
		K	N	λ	K	TMD
1	Tifton-85 <sup>1</sup>	0,6127±0,1715	2	1,7079	0,0759±0,0170	14,35
	Tifton-85 <sup>2</sup>	1,7046±0,6039	2	0,2653	0,0583±0,0127	24,69
	Tifton-85 <sup>3</sup>	1,4556±0,4680	2	∞	0,0223±0,0041	44,84
2	Fare. De Algodão	0,2330±0,0986	1	1,3579	0,1122±0,0602	9,65
	Fare. De Soja	0,1689±0,0492	1	20,9	0,0364±0,0143	27,52
3	Fare. De Dendê	-	-	-	-	-
	Torta de Dendê	-	-	-	0,0153±0,0017	65,36
	TD.Pin.Manso	0,8191±0,2323	1	∞	0,0722±0,0254	13,85
4	Polpa Cítrica	-	5	0,2841	0,1057±0,1508	27,06
	Fare. De Trigo	0,1206±0,0335	1	∞	0,1706±0,0320	5,86
5	Torta de Algodão	1,3414±0,5348	1	12,7772	0,0423±0,0115	23,72
	Torta de Licuri	-	-	-	0,0153±0,0018	65,36
6	Bagaço de Cana	-	-	-	-	-
7	FD.de Mamona	1,4330±0,4049	1	∞	0,1588±0,0439	6,30
8	Fubá de Milho	0,1147±0,0228	1	∞	0,0535±0,0156	18,69

FD= farelo detoxificado; TD= torta detoxificada.

K= taxa de degradação; N= ordem de dependência do tempo para preparação da partícula de alimento para degradação; λ (lambda)= taxa de preparação da fração para digestão; TMD (tempo médio de degradação)=somatório do tempo de latência e o tempo de degradação efetiva da fração.

Sniffen et al.(1992), sugerem que para os concentrados as taxas de degradação (h<sup>-1</sup>) das frações B1 estejam entre 1,2 e 2,6 e as taxas de degradação para as frações B2 estejam entre 0,05 e 0,12. Nos resultados deste trabalho, podemos destacar em relação à fração B1, que apenas a torta de algodão e o farelo detoxificado de mamona se enquadram no padrão de degradação sugerido por Sniffen et al (1992), enquanto que os demais alimentos (Tabela 5) apresentam taxas de degradação inferiores para a fração B1. Dessa forma, as frações nitrogenadas presentes na torta de algodão e no farelo detoxificado de mamona apresentam maior taxa de degradação que os demais alimentos, de forma que a proteína presente nos dois alimentos citados possui maior disponibilidade em relação aos demais.

Considerando que a taxa de degradação da fração B1 é sempre mais elevada que para a fração B2, por ser rápida, tende para o infinito e é considerada prontamente disponível para os microrganismos do rúmen (Russell et al., 1992; Vieira et al., 2000a).

Para o capim Tifton-85, a taxa de degradação da fração B1 com idade de 21 dias, foi similar a encontrada por Cabral et al.(2000b) que foi de  $0,6158 \text{ h}^{-1}$ , para Tifton-85 com 30 cm. Assim como em Cabral et al.(2000b), também foi observado neste trabalho, aumento na taxa de degradação da fração B1, quando a forragem passou de 21 para 31 dias, e redução tanto da fração B1 quanto da B2 quando passou para 43 dias. A redução nas taxas de degradação em ambas as frações, já era esperado, uma vez que a tendência dos nutrientes com o avanço da idade da forragem é ficar protegidos na fibra pela deposição de substâncias lignificantes, tornando-os cada vez mais indigerível. Entretanto, Van Soest (1994) salienta que, a maturidade da planta e concomitante deposição de lignina na matriz fibrosa afetam somente os parâmetros cinéticos da digestão dos componentes ligados a ela (polissacarídeos estruturais), mas não dos componentes relacionados ao conteúdo celular, como das frações B1 e B2.

Em relação à fração B2, o farelo de algodão, fubá de milho, torta de pinhão manso, polpa cítrica e os Tifton-85 com 21 e 31 dias, apresentaram taxa de degradação enquadrada nos valores sugeridos por Sniffen et al. (1992), enquanto que os outros alimentos, apresentaram taxas inferiores (torta de algodão, torta de dendê, torta de licuri, farelo de soja e tifton-85 com 43 dias), e superiores (farelo detoxificado de mamona e farelo de trigo) aos resultados sugeridos por Sniffen et al. (1992).

Os resultados encontrados neste trabalho, vem corroborar a ideia de Cabral et al. (2000b), que as diferenças entre os resultados obtidos e os sugeridos, se devem provavelmente às variações entre os alimentos produzidos sob condições temperadas e tropicais e à técnica utilizada para obtenção destas estimativas.

Dentre os alimentos concentrados estudados, o farelo de algodão, a polpa cítrica, o farelo de trigo e o farelo de mamona apresentaram as maiores taxas de degradação da fração B2, já o farelo de soja apesar de maior concentração de PB e da fração B1 (Tabelas 1 e 4, respectivamente), comparado aos alimentos citados, apresenta taxa de degradação da fração B2 inferior (Tabela 5). Sniffen et al (1992) relataram taxa de degradação da fração B2 para farelo de soja de  $0,0400 \text{ h}^{-1}$ ; similar ao resultado encontrado neste trabalho que foi de  $0,0364 \text{ h}^{-1}$ .

A torta de dendê e a torta de licuri apresentaram as menores taxas de degradação da fração B2. Esta fração, por ser de lenta degradação, tende a escapar do rúmen, contribuindo com grande parte da proteína que chega ao intestino delgado in

degradada (PNDR).

De acordo com Cabral et al.(2000b), elevadas proporções de N solúveis (A+B1) com elevadas taxas de degradação de B1 e B2, pode resultar em perdas significantes de N, reduzindo a eficiência de utilização deste nutriente pelo animal. Neste contexto, destacamos o farelo detoxificado de mamona que além de conter elevados teores de N solúvel ( $A+B1 = 360,16 \text{ g.kg}^{-1} \text{ MS}$ ) (Tabela 4), apresenta elevadas taxas de degradação tanto da fração B1 quanto da B2 (Tabela 5).

O pinhão manso apesar de apresentar taxa de degradação para fração B1 inferior a sugerida por Sniffen et al (1992) (Tabela 5), apresenta 35% da PB representada pela fração A, 39% representada pela B1 e apenas 9,7% da PB representada pela fração C. A fração C é conhecida como a proteína insolúvel em detergente ácido, ou PIDA, e considerada como não degradável, portanto, taxa de degradação zero, representada pelas proteínas associadas à lignina e a taninos e as proteínas danificadas pelo calor, como produtos originados da reação de Maillard (Sniffen et al. 1992). Dessa maneira, o resíduo da fração B2 acrescida à fração C, representa a proteína excretada nas fezes. Portanto, alimentos com elevados teores da fração C e elevados teores da fração B2 com baixa taxa de degradação, pode representar fontes de desperdício na dieta animal.

### ***Caracterização das frações de Carboidratos***

As frações de carboidratos dos alimentos (Tabela 6) estão representadas por letra marcada com apóstrofo no lado superior direito, para diferenciá-las das frações de proteínas.

Tabela 6. Caracterização das frações de carboidratos de alguns alimentos utilizados na formulação de dietas para ruminantes no Brasil

Grupos	Alimentos	Frações de Carboidratos							
		%CT	A'	B1'	B2'	C'	% CNF	% CF	%B2'
		*	**	**	**	**	(CT)	(CT)	(CF)
1	Tifton-85 <sup>1</sup>	645,78	2,79	131,34	418,25	93,41	20,77	79,23	81,74
	Tifton-85 <sup>2</sup>	678,40	2,44	109,54	456,03	110,38	16,51	83,49	80,51
	Tifton-85 <sup>3</sup>	710,82	2,29	89,31	508,46	110,76	12,89	87,11	82,11
2	Fare. de Algodão	456,80	13,37	252,52	116,04	74,86	58,21	41,79	60,79
	Fare. de Soja	397,23	11,47	263,28	106,96	15,51	69,17	30,83	87,34
3	Torta de Dendê	775,73	2,50	146,03	471,86	155,34	19,15	80,85	75,23
	Fare. de Dendê	755,12	2,22	147,96	349,31	255,64	19,89	80,11	57,74
	TD.Pin.Manso	622,37	2,61	117,89	304,61	197,26	19,36	80,64	60,69
4	Polpa Cítrica	828,64	11,03	540,18	216,00	61,43	66,52	33,48	77,86
	Fare. de Trigo	716,09	14,38	305,71	310,53	85,48	44,70	55,30	78,41
5	Torta de Algodão	555,34	5,39	164,58	284,94	100,44	30,61	69,39	73,94
	Torta de Licuri	734,70	6,28	193,65	395,01	139,76	27,21	72,79	73,87
6	Bagaço de Cana	958,76	11,77	324,93	422,50	199,56	35,12	64,88	67,92
7	FD.de Mamona	490,22	10,52	105,31	319,19	55,19	23,63	76,37	85,26
8	Fubá de Milho	862,24	3,57	770,85	79,20	8,63	89,81	10,19	90,17

<sup>1</sup>Tifton-85 com 21 dias de idade; <sup>2</sup>Tifton-85 com 31 dias de idade e <sup>3</sup>Tifton-85 com 43 dias de idade; FD= farelo detoxificado; TD= torta detoxificada

\* = (g.kg<sup>-1</sup> MS)

\*\*= (g.kg<sup>-1</sup>CT)

Observa-se na Tabela 6 grande variação dentre os alimentos no tocante à fração A', que variou de 2,22 g.kg<sup>-1</sup> MS no farelo de dendê, a 14,38 g.kg<sup>-1</sup> MS para o farelo de trigo. Esta fração está representada pelos carboidratos não fibrosos (Tabela 3), menos a fração B1' (tabela 6). Os alimentos dos grupos 2, 4, 6 e 7 (tabela 6), se destacaram com os maiores teores de fração A' dos carboidratos, portanto os polissacarídeos não amiláceos (açúcares solúveis) os quais são prontamente fermentados no rúmen, assumindo que a pequena parte que escape à fermentação ruminal, tenha 100% de digestibilidade intestinal.

A polpa cítrica e o fubá de milho se destacaram com os maiores teores de carboidratos não fibrosos de rápida degradação no rúmen, representada pela fração B1' com 66,5% e 89,9% de CNF no CHOT, respectivamente. Esta fração está representada pelos carboidratos não fibrosos menos os açúcares, ou seja, amido e pectinas, que apresentam taxas intermediárias de digestão.

Observa-se na Tabela 6, que a soma das frações A' + B1' para a maioria dos

alimentos, foi inferior à fração B2' (carboidratos fibrosos potencialmente digestíveis, mas com lenta degradação). Segundo Russell et al. (1992) alimentos com elevados teores da fração B2', demandam NNP para atender aos requisitos em N dos microrganismos fermentadores de carboidratos estruturais. Alimentos com maior fração B2', é recomendável para compor a dieta de ruminantes, desde que estas dietas sejam incrementadas com NNP ou fontes de proteínas de lenta degradação no rúmen, que garantirá ação efetiva dos microrganismos fermentadores de carboidratos estruturais durante todo período que a fibra permanece no rúmen. Observando as Tabelas 4 e 6, destacamos alguns alimentos que poderiam ser utilizados uma vez que apresentam elevados índices da fração B2' dos carboidratos combinados com elevados índices da fração A das proteínas, são eles: torta de algodão, farelo de mamona, torta de pinhão manso detoxificado, farelo de trigo e farelo de soja.

O fato de a fração B2' apresentar lenta taxa de degradação ruminal, juntamente com a fração C' (indigestível), que também foram elevadas principalmente para os alimentos dos grupos 1, 3, 5 e 6, tendem a afetar negativamente o consumo pelo efeito de repleção ruminal, e conseqüentemente o desempenho dos animais (Mertens, 1987). A redução dos CNF aliada ao aumento da fração C' segundo Cabral et al. (2000a), podem reduzir a disponibilidade de energia para os microrganismos que fermentam CF e CNF, além de influenciar na eficiência da síntese de proteína microbiana.

Os CNF de gramíneas tropicais como o capim Tifton-85, raramente ultrapassam 20% dos CT. Observa-se também esta característica nos alimentos do grupo3 (Tabela 6).

Dos teores de carboidratos totais da torta de algodão, farelo e torta de dendê, torta de licuri, farelo de mamona e torta de pinhão manso, os quais foram relativamente elevados, mais de 70% foi representado por carboidratos fibrosos. Destes, o farelo de dendê e a torta de pinhão manso, apresentaram 33,8 e 31,6% do CHOT, respectivamente, em fração indigerível (fração C'), justificados pelos elevados teores de LDA. Os demais alimentos destacados apresentaram acima de 60% dos carboidratos fibrosos na forma de fibra potencialmente digestível (fração B2'), assemelhando ao Tifton-85 no que tende aos carboidratos fibrosos.

O bagaço de cana-de-açúcar também apresentou teores de carboidratos fibrosos elevados (65%/CT), no entanto, 67,9% do CF foi representado pela fração B2', e 32,1% do CF ficou representado pela fração lignificada (C'). Contrariamente,

o fubá de milho apresentou o maior teor de CNF (89,81%), combinado com o menor teor da fração C'(8,63 g.kg<sup>-1</sup>CT), seguidos dos farelos de soja, polpa cítrica e farelo de algodão, que apresentaram a mesma característica.

### *Degradações dos carboidratos*

De acordo com Bomfim (2003) é difícil comentar sobre a digestibilidade dos açúcares (fração A') por que as taxas de degradação desta fração são altas o suficiente para não permitir escape ruminal. Segundo o mesmo autor devido à completa conversão dos polissacarídeos em monossacarídeos durante o processo de digestão, estes são quantificados como açúcares solúveis e não refletem o açúcar da dieta. Diante disso, na Tabela 7, as taxas de produção de gás provenientes da fermentação da fração A' está em conjunto com a fração B1'.

Tabela 7. Taxas de degradação das frações de carboidratos e o tempo médio de degradação das frações

Grupos	Alimentos	Taxa de degradação (h <sup>-1</sup> )							
		Taxa de produção de gás (h <sup>-1</sup> )				FDN em g/kg (1/h)			
		A'+B1'				B2'			
		N	λ	K	TMD	N	λ	K	TMD
1	Tifton-85 <sup>1</sup>	1	12,0225	0,1121±0,0482	9,00	6	0,866	0,1933±0,1678	12,10
	Tifton-85 <sup>2</sup>	24	4,2292	3,0087±0,0902	6,00	4	0,677	0,0825±0,0139	18,03
	Tifton-85 <sup>3</sup>	10	2,6585	1,0768±0,0902	4,70	4	0,656	0,0677±0,0074	20,87
2	Fare. de Algodão	1	0,5392	0,1202±0,0167	10,17	2	0,316	0,0389±0,0068	32,03
	Fare. de Soja	1	0,7464	0,1486±0,0212	8,07	2	0,477	0,0817±0,0245	16,44
3	Fare. de Dendê	-	-	-	-	12	0,619	0,1952±0,0117	24,51
	Torta de Dendê	1	1,9000	0,0206±0,0034	49,54	-	-	-	-
	TD.Pin.Manso	1	9,6702	0,0213±0,0029	47,05	6	0,814	0,0456±0,0072	29,30
4	Polpa Cítrica	1	∞	0,0306±0,0031	32,68	10	1,099	0,412±0,3652	11,52
	Fare. de Trigo	6	1,9663	0,2912±0,0489	6,49	2	1,997	0,0931±0,0363	11,74
5	Torta de Algodão	7	2,3522	0,6292±0,4933	4,57	2	0,278	0,0348±0,0085	35,93
	Torta de Licuri	24	0,7933	0,1168±0,0462	38,57	1	0,816	0,0861±0,0245	12,84
6	Baga.de Cana	-	-	-	-	-	-	-	-
7	FD.de Mamona	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Fubá de Milho	2	0,1924	0,0937±0,0096	21,07	1	34162	0,069±0,0174	14,49

TMD= tempo médio de degradação; TD= torta detoxificada.

K= taxa de degradação; N= ordem de dependência do tempo para preparação da partícula de alimento para degradação; λ (lambda)= taxa de preparação da fração para digestão;

Segundo Sniffen et al. (1992) a fração B1' dos carboidratos apresenta

degradabilidade ruminal variável, dependente do nível de consumo, tipo de grãos e tipo de processamento. Na técnica *in vitro*, o grau de hidratação da amostra também pode contribuir para esta variação, isto justifica a grande variação observada nas taxas de degradação dos alimentos (Tabela 7).

Existe correlação entre a produção de gás e a concentração de PB e CNF no alimento. Espera-se que alimentos com maiores concentrações de CNF, apresentem maior produção de gás, uma vez que esta parcela dos carboidratos contribui para elevar a fermentação, enquanto que os que apresentarem maiores concentrações de PB poderão apresentar menor produção de gás, justificado por Cone & Van Gelder (1999) que constataram que, para cada unidade percentual de proteína fermentada, havia redução de 2,48 mL g<sup>-1</sup> MO, principalmente nas horas iniciais de incubação, devido à fermentação das proteínas solúveis, o que poderia afetar o volume final de gás dos CNF.

Observando o grupo 1 (Tabela 7), constatou-se que a menor taxa de produção de gás (A'+B1'), foi exatamente para Tifton-85 com 21 dias de corte, que apresentou a maior quantidade de PB (Tabela 1), elevado índice de proteína solúvel (Tabela 4), além dos maiores teores de amido (Tabela 3). O acesso dos microrganismos ruminais aos grânulos de amido é determinado pela taxa de degradação da parede celular das células endospermáticas e, principalmente, pela matriz protéica (Antunes & Rodriguez, 2006). Para que o amido seja degradado, é necessário a adsorção das enzimas à superfície do grânulo, no entanto, esta adsorção pode ser dificultada pela presença de uma camada proteica, levando à degradação incompleta do amido em glicose. Portanto, a produção de gás foi afetada, tanto pela fermentação das proteínas solúveis quanto pela não fermentação do amido. A maior taxa de produção de gás foi para o Tifton-85 com 31 dias, provavelmente devido aos menores teores de PB e amido (Tabelas 1 e 3), respectivamente.

No grupo 2 (Tabela 7), o farelo de soja apresentou maior taxa de degradação da fração A'+B1'. Isto se explica pelo maior teor de CNF no farelo de soja em relação ao farelo de algodão (Tabela 3). Alimentos ricos em carboidratos não fibrosos contribui para maior fermentação ruminal e, conseqüentemente, maior produção de gás em relação a outros alimentos com menores proporções deste carboidrato. No grupo 3, a similaridade dos teores de CNF dos alimentos, contribui para a similaridade na taxa de degradação. No grupo 4, o farelo de trigo se destaca pela maior taxa de degradação da fração A'+B1' em relação a polpa cítrica,

justificado pela proporção de amido no CNF do farelo de trigo que foi de 91,59%, enquanto que para polpa cítrica foi de 5,15%. O amido propiciou alta fermentabilidade, o que de acordo com Van Soest (1994), estimula a atividade microbiana ruminal. No grupo 5, a Torta de algodão apresentou taxa de degradação da fração A'+B1' inferior ao da torta de licuri. Isto se justifica, provavelmente, pela maior concentração de PB da Torta de algodão, o que pode ter afetado a produção de gás, conforme já discutido anteriormente.

A torta de dendê, torta detoxificada de pinhão manso e a polpa cítrica, foram os alimentos que apresentaram as menores taxas de produção de gás. No entanto cada um destes alimentos apresenta características distintas em relação ao conteúdo de CNF. Para a torta de dendê, por exemplo, pode ser justificado pela reduzida concentração de CNF, enquanto que para a torta detoxificada do pinhão manso, além da reduzida concentração de CNF, este alimento possui uma proteína capaz de inibir a síntese proteica (diterpenos) (Stirpe et al., 1976), o que influencia diretamente na taxa de degradação.

Dentre os concentrados, verificaram-se menores tempos médios de degradação (TMD) da fração A'+B1' para o algodão (farelo e torta) e os farelos de soja e trigo, provavelmente, devido aos elevados níveis de CNF presentes nestes alimentos. No entanto, o fubá de milho apresentou menor taxa de produção de gás, provavelmente, pelos elevados teores de amido, uma vez que o amido do milho não está facilmente disponível para a digestão enzimática, a menos que, a matriz proteica a ele associada também seja digerida.

Esperava-se que o TMD das frações A'+B1' fosse sempre inferior ao TMD das frações B2'. No entanto, foi observado neste trabalho maior TMD das frações A'+B1' para a torta detoxificada de pinhão manso, polpa cítrica e torta de licuri (Tabela 7). Acredita-se que para estes alimentos, haja necessidade de maior tempo de preparação dos substratos, principalmente no que se refere ao tempo de hidratação da fração B1'. Além disso, deve-se considerar também, os fatores que podem afetar a digestão do amido.

A taxa de degradação da fração B2 dos alimentos do grupo 1 foi reduzindo à medida em que foi aumentando a idade de corte da forragem, enquanto que o TMD foi aumentando com o avanço da idade. Isto se justifica pelos crescentes índices de CF indigestível presente na fração B2 e de lignina, representada pela fração C', que é totalmente indigestível. (Tabela 6).

No presente estudo alguns alimentos se destacaram com maiores taxas de degradação da fração B2: farelo de dendê, torta de pinhão manso detoxificado, polpa cítrica e o capim tifton-85 com 21 dias de idade. Estas maiores taxas de degradação da fração B2 podem ser atribuídas ao tipo de parede celular presente nestes materiais, com menor proporção de feixes vasculares e tecidos de sustentação. A polpa cítrica foi o alimento, dentre os estudados, que apresentou maior taxa de degradação da fração B2', e menor tempo de degradação. Isto pode ser justificado, pelo sincronismo entre os teores de proteína e de carboidratos, uma vez que 76% da PB deste alimento foi representada pelas frações A+B1 (Tabela 6), necessárias para que houvesse aumento na produção das bactérias celulolíticas.

As taxas de degradação dos carboidratos fibrosos, bem como o tempo para que ocorra esta degradação, podem influenciar na redução de consumo de matéria seca pelo animal, causada pela repleção que o excesso de fibra pode provocar no rúmen, reduzindo também a ingestão de outros nutrientes como proteínas, gorduras e vitaminas.

Mertens (1994) e NRC (1989, 2001) recomendam  $1,2 \pm 0,1\%$  do peso vivo para ingestão ótima de FDN. Vale ressaltar as diferenças existentes entre as espécies, relacionadas com a capacidade de consumo em virtude da capacidade de digestão de nutrientes e, principalmente na capacidade de processar a fibra no trato gastrintestinal. Segundo Gihad et al. (1980), os caprinos são mais eficientes na digestão da fibra, especialmente quando é permitida a seleção de alimentos, enquanto os ovinos parecem mais capazes de utilizar a proteína.

No capim Tifton-85 observou-se redução das taxas de degradação da fração B2 à medida em que ocorreu o avanço da maturidade. Isto se deve a redução do percentual dos CNF em relação ao carboidrato total.

A maior taxa de degradação da FDN com menor TMD foi observada para a polpa cítrica (Tabela 7). Podemos constatar, portanto, que a fração fibrosa da polpa cítrica é constituída de maior proporção de carboidratos de rápida fermentação.

A indegradabilidade da fração fibrosa da forragem, expressa como o resíduo em fibra detergente neutro, pode ser estimada pela relação de menos 2,4 unidades percentuais de degradabilidade para cada unidade de lignina determinada pelo método de digestão com ácido sulfúrico (Fox et al. 2000). Este fator não é constante para todos os alimentos. Cuidados devem ser tomados, pois este fator pode superestimar a fração C' dos carboidratos de alimentos que possuem pequena

lignificação (Sniffen et al., 1992). A lignina em permanganato pode ser usada, desde que seja ajustada para teores de lignina em ácido sulfúrico por multiplicação pelo fator 0,82 (Sniffen et al., 1992).

Tabela 8. Medidas de volumes de gás (mL) dos alimentos estudados, após 96 horas de incubação.

Grupos	Alimentos	Parâmetros					
		Vf (mL)	Vf <sub>1</sub> (mL)	Vf <sub>2</sub> (mL)	p <sub>2</sub>	Vf <sub>1</sub> (%/VFG)	Vf <sub>2</sub> (%/VFG)
1	Tifton-85 <sup>1</sup>	294,7	74,1	220,6	0,748	25,1	74,9
	Tifton-85 <sup>2</sup>	299,7	59,6	240,1	0,801	19,9	80,1
	Tifton-85 <sup>3</sup>	284,4	40,8	243,6	0,857	14,4	85,7
2	Fare. de Algodão	224	155,1	69,0	0,308	69,2	30,8
	Fare. de Soja	338	178,5	159,8	0,473	52,8	47,2
3	Fare. de Dendê						
	Torta de Dendê	331	175,1	156,1	0,471	52,9	47,1
	TD.Pin.Manso	87,6	45,2	42,4	0,484	51,6	48,4
4	Polpa Cítrica	143	99,2	44,1	0,308	69,2	30,8
	Fare. de Trigo	281	61,4	219,5	0,782	21,9	78,1
5	Torta de Algodão	140	51,1	89,3	0,636	36,4	63,6
	Torta de Licuri	52,2	32,7	19,5	0,375	62,6	37,4
6	Bagaço de Cana						
7	FD.de Mamona						
8	Fubá de Milho	178	167,0	11,0	0,062	93,8	6,2

Vf= volume final de gás; Vf<sub>1</sub>= Volume final do gás referente aos CNF; Vf<sub>2</sub>= Volume final do gás referente aos CF; p<sub>2</sub> = é a proporção de fração B' no carboidrato fibroso.

O Volume final de gases (Vf) revela a capacidade fermentativa dos alimentos, e está representado pela somatória dos gases produzidos pelos CNF (Vf<sub>1</sub>) e pelos gases produzidos pelos CF (Vf<sub>2</sub>). A torta de licuri se destacou como o alimento que apresentou a menor produção de gás, seguida pela torta de pinhão manso. A maior contribuição na produção final dos gases para os dois alimentos citados foi atribuída aos CNF com 62,6% e 51,6%, respectivamente. Isto pode ser justificado pelas elevadas proporções de proteína solúvel em virtude das baixas concentrações de CNF.

No farelo de algodão, farelo de soja, torta de dendê, polpa cítrica e fubá de milho, o volume final do gás referente aos CNF apresentaram as maiores proporções

em relação ao volume final do gás, com 69,2%, 52,8%, 52,9%, 69,2% e 93,8%, respectivamente. Os demais alimentos têm os CF como principal representante na produção final de gás. Isto demonstra que os CNF são responsáveis pela maior degradabilidade na maioria dos alimentos. Vale ressaltar que o volume de produção de gás está relacionado, dentre outros fatores, aos tipos de microrganismos presentes no ambiente ruminal. Se microrganismos amilolíticos ou celulolíticos. Dietas ricas em concentrados leva a maior produção de bactérias amilolíticas, enquanto que dietas ricas em fibras levam a maior produção de bactérias celulolíticas. Portanto, os resultados apresentados na Tabela 8, podem variar bastante, de acordo com a dieta dos animais.

## CONCLUSÕES

Os subprodutos após serem avaliados apresentam características bem distintas, que reafirma a necessidade de uma avaliação completa no que tende a composição química, caracterização e taxa de degradação das frações.

Considerando os valores proteicos dos alimentos estudados, com exceção do bagaço de cana-de-açúcar, todos apresentam potencial para utilização na alimentação de ruminantes.

Os carboidratos fibrosos dos subprodutos dos grupos 1, 3, 5, 6 e 7 são responsáveis pelo aumento no teor de carboidratos totais, e apresentam maiores teores de fração B2' e C', que promovem maior efeito de repleção ruminal por sua indigestibilidade ao longo do trato gastrintestinal com conseqüente diminuição na disponibilidade de energia.

Os alimentos estudados apresentam baixa razão entre amido e açúcares/FSDN, o que pode acarretar em perda de N na forma urinária ou fecal, e pequeno aproveitamento da proteína rapidamente degradável, principalmente nos alimentos com elevados índices de PB, se os animais forem alimentados exclusivamente por esses alimentos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, A.L.; SILVA FILHO, J.C.; GODOI et al. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.37, p.260-268, 2008.
- ABDALLA, A.L.; VITTI, D.M.S.S.; SILVA FILHO, J.C. Treated sugarcane bagasse for sheep. *Trop. Agric.*, v.67, p.93-94, 1990.
- ACEDO, C.; BUSH, L.J; ADAMS, G.D. Responses of dairy cows to different amounts of wheat middlings in the concentrate mixture. **Journal of Dairy Science**, 70:635, 1987.
- ADERIBIGBE, A. O.; JOHNSON, C. O. L. E.; MAKKAR, H. P. S.; et al. Chemical composition and effect of heat on organic matter- and nitrogen-degradability and some antinutritional components of Jatropha meal. **Animal Feed Science and Technology**, v. 67, n. 2-3, p. 223-243, 1997.
- AFRC - Agricultural and Food Research Council. **Energy and protein requirements of ruminants**. Wallingford: CAB International, 1993. 159p.
- AINSLIE, S.J.; FOX, D.G.; PERRY T.C.; et al. Predicting amino acid adequacy of diets fed to Holstein steers **Journal of Animal Science**. v.71,p.1312-1319, 1993.
- ALCALDE, C.R.; MACHADO, R.M.; SANTOS, G.T.;et al. Digestibilidade *in vitro* de alimentos com inóculos de líquido de rúmen ou de fezes de bovinos. **Acta Scientiarum**. v.23, n.4, p.917-921, 2001.
- ARIETA, N.F.; SILVA, J.A.; SHEN, C.G.; et al. Composição bromatológica de farelo e tortas da cadeia do biodiesel. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 17., 2009, Pirassununga, SP. **Anais...** Pirassununga, SP: USP, 2009.
- ANTUNES, R.C. & RODRIGUEZ,N.M. Metabolismo dos carboidratos não estruturais In BERCHIELLI, T.T; GARCIA, A. de V; OLIVEIRA, S.G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. In: Nutrição de ruminantes. Berchielli. T. T.; Pires, A.V.; Oliveira, S. G. Jaboticabal: **Funep**, 2006, 583 p.
- ASPAR, H. M. Malaysian palm kernel cake as animal feed. **PalmOil Developments**, v. 34, s/n, p. 4-6, 2001.
- ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTS- AOAC. **Official methods of analysis**. 12.ed, Washigton, D.C., 1990. 1094p.
- ARIETA, N.F.; SILVA, J.A.; SHEN, C.G. et al. Composição bromatológica de farelo e tortas da cadeia do biodiesel. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 17, 2009, Pirassununga, SP. **Anais...** Pirassununga, SP: USP, 2009.

BERCHIELLI, T.T.; GARCIA, A. de V.; OLIVEIRA, S.G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. **In: Nutrição de ruminantes.** BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Jaboticabal: Funep, 2006, 583 p.

BLASI, D. A.; KUHLE, G. L.; DROUILLARD, J. S. et al. Wheat middlings composition, feeding value and storage guidelines. **Kansas State University Agricultural Experimental Station and Cooperative Extension Service, Bull.** MF-2353, 21 p. 1998.

BOMFIM, M.A.D.; SILVA, M.M.C; SANTOS, S.F. Potencialidades da utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de caprinos e ovinos. *Tecnologia & Ciência Agropecuária.*, v.3, n.4, p.15-26, 2009.

BOMFIM, M.A.D. Carboidratos solúveis em detergente neutro em dietas de Cabras leiteiras. Viçosa-MG.Universidade Federal de Viçosa. p.119, 2003. **Tese (doutorado) Universidade Federal de Viçosa 2003.**

BOSE, M.L.V.; WANDERLEY, R.C. Digestibilidade e balanço metabólico da fração nitrogenada do farelo de mamona desintoxicado e de feno de alfafa em ovinos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.17, n.5, p.456-464, 1988.

BOTREL, M.A; NOVAES,L.P; ALVIM,M.J. Características Forrageiras de Algumas Gramíneas Tropicais – **EMBRAPA**. Juiz de Fora – MG, 1998.

BRANCO, R.H; RODRIGUES, M.T; SILVA, M.M.C. et al. Efeito dos níveis de fibra da forragem sobre o consumo, a produção e a eficiência de utilização de nutrientes em cabras lactantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.11, p.2477-2485, 2010.

BRITO, R.M.; SAMPAIO, A.A.M.; FERNANDES, A.R.M. et al. Degradabilidade *in situ* e parâmetros ruminais em bovinos alimentados com dietas balanceadas para diferentes ganhos de peso e potenciais de fermentação microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, p.1639-1650, 2007).

BRITO, M. F. & TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental pelas sementes trituradas de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 16, n. 4, p. 00-00, 1996.

BRODERICK, G.A. Methodology for the determining ruminal degradability of feed proteins In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, Viçosa, 1995. **Anais...** Viçosa: DZO, , p.139-176, 1995.

CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; MALAFAIA, P.A.M. et al. Frações de carboidratos de alimentos volumosos e suas taxas de degradação estimadas pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.2087-2098, 2000a.

CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; MALAFAIA, P.A.M. et al. Frações

protéicas de alimentos tropicais e suas taxas de digestão estimadas pela incubação com proteases ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.2316- 2324, 2000b.

CARVALHO, G.P.C; FERNANDES, F.E.P; PIRES, A.J.V. Métodos de determinação dos teores de amido e pectina em alimentos para animais. **Revista Electrónica de Veterinaria REDVET**. v. 7, n. 01, 2006.

CARVALHO, A. R. V.; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M. O dendê. Seropédica: **EMBRAPA - Agrobiologia**, 2001. 25p. (Documento 138).

CARVALHO, L. P. F.; MELO, D. S. P.; PEREIRA, C. R. M. et al. Chemical composition, in vivo digestibility, N degradability and enzymatic intestinal digestibility of five protein supplements. **Animal Feed Science and Technology**, v. 119, n. 1-2, p. 171–178, 2005.

CARVALHO, G.G.P.; PIRES, A.J.V.; SILVA, R.R. et al. Comportamento ingestivo de ovinos alimentados com dietas compostas de silagem de capim-elefante amonizada ou não e subprodutos agroindustriais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.-1805-1812, 2006.

CARVALHO, M. P. Citrus. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1995. p.171-214. Piracicaba 1995.

CHEN, M. J., HOU, L. L., ZHANG, G. W. The diterpenoids from *Jatropha curcas* L. **Acta Botanica Sinica**, v. 30, n. 3, p. 308-311, 1988.

CONAB. - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de Safra Brasileira: Grãos, Safra 2011/ 2012, Quarto Levantamento, 2011. Brasília: **CONAB**, 2012a.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de Safra Brasileira: Cana de Açúcar, Safra 2011/2012, Terceiro Levantamento, dezembro 2011. Brasília: **CONAB**, 2012c.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, segundo levantamento, agosto/2012 – Brasília: **CONAB** 2012.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, décimo primeiro levantamento, agosto 2012 – Brasília: **CONAB**, 2012.

CONE, J.W., VAN GELDER, A.H., STEG, A. et al. Prediction of in situ rumen escape protein from in vitro incubation with protease from *Streptomyces griseus*. **Journal of the Science Food and Agriculture**,v.72, p.120-126, 1996.

CONE, J.W. & VAN GELDER, A.H. Influence of protein fermentation on gas production profiles. **Animal Feed Science and Technology**, v.76, n 3-4, p.251-264, 1999.

CORTEZ, L.; MAGALHAES, P.; HAPPI, J. Principais subprodutos da agroindústria canavieira e sua valorização *Disponível em: [www.sbpe.org.br/socios/download.php?id=45](http://www.sbpe.org.br/socios/download.php?id=45). Acessado em 06/11/2012.*

USDA - Departamento de Agricultura dos Estados Unidos. USDA estima queda de 12% na safra de laranja do Brasil. Disponível em: <http://agricultura.ruralbr.com.br/noticia/2012/06/usda-estima-queda-de-12-na-safra-de-laranja-do-brasil-3792075.html>. Acessado em 06/11/2012.

DERIAZ, R.E. Routine analysis of carbohydrate and lignin in herbage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.12, p.150-160, 1961.

DHUYVETTER, J.; HOPPE, K.; ANDERSON, V. Wheat Middlings - A useful feed for cattle. North Dakota State University. Junho, 1999.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Rondônia discute biodiesel com uso de dendê. 2005. Disponível em: [http://www.procitropicos.org.br/UserFiles/File/Release\\_1310biodiesel\\_20\\_2.pdf](http://www.procitropicos.org.br/UserFiles/File/Release_1310biodiesel_20_2.pdf) - Acessado em: <06/11/2012>.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistemas de Produção, 1 - 2a. edição Cultivo do Algodão Herbáceo na Agricultura Familiar. Disponível em [http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoAgriculturaFamiliar\\_2ed/subproduto.html](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoAgriculturaFamiliar_2ed/subproduto.html) Set/2006 – Acessado em 02/11/2012.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Soja em números (safra 2010/2011) Disponível em [http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?cod\\_pai=2&op\\_page=294](http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?cod_pai=2&op_page=294) - Acessado em 03/11/2012.

EVANGELISTA, A.R.; LOPES, J.; ABREU, J.G. et al. Avaliação da composição química de tortas de amendoim e mamona obtidos por extração com etanol. **In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL**, 2., 2007, Brasília. Brasília: ABIPTI, 2007. Disponível em: <http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2007/producao/7.pdf>.

FAO (Food and Agriculture Organization). *Maize in Human Nutrition*. Rome: **FAO**, 1992. 168 p.

FAVORETO, M.G.; DERESZ, F.; FERNANDES, A.M. et al. Avaliação nutricional da grama estrela cv. Africana para vacas leiteiras em condições de pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p. 319-327, 2008.

FERRARI, A. R.; OLIVEIRA, V. S. e SEABIO, A. Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 19-23, 2005.

FOX, D.G.; SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. III. Cattle requirements and diets adequacy. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3578-3596, 1992.

FOX, D.G. et al. Application of the Cornell net carbohydrate and protein model for cattle consuming forages. **Journal of Animal Science**, v.73, p.267-277, 1995.

FOX, D.G., TYLUTKI, T.P. Accounting for the effects of environment on the nutrient requirements of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v.81,p. 3085–3095, 1998.

FOX, D. G., AND TYLUTKI,T. P. Predicting maintenance requirements of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v.81, p.3085–3095. 1999.

FOX, D. G.; TYLUKTI, M. E.; VAN AMBURGH, A. C. The net carbohydrate and protein system for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. **Department of Animal Science**: Cornell University, 235 p .2000.

FOX, D.G., TEDESCHI, L.O, Application of physically effective fiber in diets for feedlot cattle. **In: Proceedings of the Plains Nutrition Conference**. p. 67–81, 2002.

FOX, D.G., Sistema de carboidratos e proteínas 'líquidos' para avaliação da nutrição de rebanhos e excreção de nutrientes (CNCPS Versão 5.0): documentação do Modelo CNCPS/ Danny Gene Fox, et al.; Tradução de Fernando César Ferraz Lopes, et al - **Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite**, 202p. 2003.

FOX, D.G.; TEDESCHI, L.O.; TYLUTKI, T.P. et al. The Cornell net carbohydrate and protein model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 112, n. 1/4, p. 29-78, 2004.

GIHAD, E. A.; EL-BEDAWY, T. M.; MEHREZ, A. Z. Fiber digestibility by goats and sheep. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, n. 10, p. 1701-1706, 1980.

GOERING, G.K. &Van SOEST, P.J. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). Washington, D.C.: US **Department of Agriculture**, (Agricultural Handbook), 1970.

GOMES, F.H.T. *Composição químico-bromatológica e degradação in situ de nutrientes de co-produtos da mamona e do pinhão-manso da cadeia produtiva do biodiesel*. Fortaleza: **Universidade Federal do Ceará**, 2007. 50p. Monografia (Estágio Curricular Obrigatório)- Universidade Federal do Ceará 2007.

GONÇALVES, G.D.; SANTOS, G.T.; CECATO,U. et al. Estimativas de produção e valor nutritivo de gramíneas do gênero *Cynodon* em diferentes idades de corte colhidas no outono. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2001. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001, 1544p. p.61-62.

HALL, M.B., PELL, A.N., CHASE,L.E. Characteristics of neutral detergent-soluble fiber fermentation by mixed ruminal microbes. **Animal Feed Science and Technology**. v. 70, n. 1-2 p. 23-39, 1998.

HALL, M.B. Neutral detergent-soluble carbohydrates nutritional relevance and analysis. **Institute of Food and Agricultural Sciences**: University of Florida, 2000.

HINDLE, V. A.; STEG, A.; VAN VUUREN, A. M. et al. Rumen degradation and postruminal digestion of palm kernel by-products in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 51, n. 1-2, p. 103–112, 1995.

JESUS, I.B; BAGALDO, A.R; BARBOSA, L.P.et al. Níveis de óleo de licuri [*Syagrus coronata* (Martius) Beccari] na dieta de cabritos <sup>3</sup>/<sub>4</sub> Boer. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.11, n.4, p. 1163-1175, 2010.

KLAUSNER, S.D., FOX, D.G., RASMUSSEN, C.N, et al. Improving dairy farm sustainability. I. An approach to animal and crop nutrient management planning. **Journal of Production Agriculture**. V.11, p.225–233, 1998.

KOHN, R.A. & ALLEN, M.S. In vitro protein degradation of feeds using concentrated enzymes extracted from rumen contents. **Animal Feed Science and Technology**, v. 52, n. 1-2, p. 15-28, 1995.

KOLB, & GÜRTLER, H.Fisiologia veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara **Koogan**, 1987.

KRISHNAMOORTHY, U., SNIFFEN, C.J., STERN, M.D. et al. Evaluation of a mathematical model of rumen digestion and an *in vitro* simulation of rumen proteolysis to estimate the rumen-undegraded nitrogen content of feedstuffs. **British Journal of Nutrition**, v.50, n.2, p.555-568, 1983.

LEME, P. R.; SILVA, S.L; PEREIRA, A.S.C. et al. Utilização do bagaço de cana-de-açúcar em dietas com elevada proporção de concentrados para novilhos nelore em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1786-1791, 2003.

LICITRA, G.; HERNANDES, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardizations of procedures for nitrogen fractionation of ruminants feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996.

LICITRA, G.; LAURIA, F.;CARPINO,S. et al., Improvement of the *Streptomyces griseus* method for degradable protein in ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**. V.72, p. 1-10, 1998.

LIMA,R.F; GONÇALVES, M.B.F; SILVA,L. P. et al. Sistema laboratorial de fracionamento de carboidratos de concentrados energéticos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. v. 28, n. 2, p. 215-221, 2006.

LUCCI, C.S., FONTOLAN,V., HAMILTON, T.S. et al. Processamento de grãos de milho para ruminantes: Digestibilidade aparente e "*in situ*". **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.45, n.1 p. 35 - 40. 2008

LUCCI, C. S. **Bovinos leiteiros jovens**. S. Paulo: Nobel, 1969. 371p.

LUCCI, C. S. **Nutrição e manejo de bovinos leiteiros**. S.Paulo: Manole, 1977. 168p.

MALAFAIA, P.A.M. Consumo e digestão dos nutrientes, eficiência microbiana, produção e composição do leite em vacas alimentadas com rações contendo sebo bovino. Viçosa, MG: **Universidade Federal de Viçosa**, 1995. 95p. Dissertação (Mestrado Em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1995.

MALAFAIA, P. A. M.; VALADARES FILHO, S. C.; VIEIRA, R. A. M. et al Determinação e cinética ruminal das frações proteicas de alguns alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 6, p. 1243-1251. 1997.

MALAFAIA, P.A.M., VALADARES FILHO, S.C., VIEIRA, R.A.M. et al. Determinação das frações que constituem os carboidratos totais e da cinética ruminal da fibra em detergente neutro de alguns alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.4, p. 790-796, 1998.

MALAFAIA, P.A.M.; VALADARES FILHO, S.C.; VIEIRA, R.A.M. Kinetic parameters of ruminal degradation estimated with a non-automated system to measure gas production. **Livestock Production Science**, v.58, n.1, p.65-73, 1999.

MALAFAIA, P.A.M. & VIEIRA, R.A.M. Técnicas de determinação e avaliação dos compostos nitrogenados em alimentos para ruminantes In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, Lavras, 1997. **Anais...**Lavras: FAEPE, p.29-54. 1997.

MARTINEZ, J.C. Fontes alternativas de energia para bovinos leiteiros - Parte 6. 2008. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/radar-technico/nutricao/fontes-alternativas-de-energia-para-bovinos-leiteiros-parte-6-43853n.aspx#comentarios>. Acessado em 07/11/2012

MELLO, R & NÖRNBERG, J.L.; Fracionamento dos carboidratos e proteínas de silagens de milho, sorgo e girassol. **Ciência Rural**, v.34, n.5, p.1537-1542, 2004.

MENKE, K.H.; RAAB, L.; SALEWSKI, A.; et al. 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, R.D. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. **Journal of Animal Science**, v.64, n.5, p.1548 - 1558, 1987.

MERTENS, D.R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulações de rações. In: *SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES*, 1992, Lavras. Anais... Lavras: **Sociedade Brasileira de Zootecnia**, p.188-211, 1992.

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

MIELKE, T.; MIELKE, S.; HAAS, S.; et al. **Oil world annual**. 2005. Disponível em: <<http://www.oilworld.biz/app.php>>. MINARDI, I. Estudos sobre a composição

bromatológica e coeficiente de digestibilidade do farelo e da torta de girassol. 1969. 49f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo (USP) - **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ)**, Piracicaba - SP.

MOREIRA, P. C.; REIS, R. B. R.; LANA, A. M. Q.; et al. Produção e composição do leite de vacas alimentadas com polpa cítrica em substituição ao milho grão. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, XXXXI, Campo Grande, 2004. **Anais...** Campo Grande, 2004.CD-Rom.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 6.ed. Washington, D.C.: **National Academic Press**, 157p, 1989.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrients requeriments of beef cattle. 7.ed. Washington, D.C. **National Academic Press**,:244p. 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. Washington, DC, **National Academy of Sciences**. 2001.

NEIVA JÚNIOR, A. P.; VAN CLEEF, E. H. C. B.; PARDO, R. M. P.; et al. Subprodutos Agroindustriais do Biodiesel na Alimentação de Ruminantes In: II CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA E PRODUÇÃO DE BIODIESEL, 2., 2007, Brasília - DF. **Anais**. Brasília – DF: RBTPB, 2007. p. 1-6.

NOBLICK, L.R. Palmeiras da Caatinga da Bahia e suas potencialidades econômicas. Simpósio sobre a Caatinga e sua exploração racional. Brasília-DF. EMBRAPA, p. 99-115, 1986.

NOCEK, J. E. "In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review." **Journal of Dairy Science** . v.71, n.8, p. 2051-2069. 1988.

NOCEK, J.E. & RUSSELL, J.B.. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science.**, v.71, n.8, p.2070-2107, 1988.

NUSSIO, C. M. B; SANTOS, F. A. P.; PIRES, A. V.; et al. Efeito do processamento do milho e sua substituição pela polpa de citrus peletizada sobre consumo de matéria seca, produção e composição do leite de vacas em lactação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, XXXVII, Viçosa, 2000. **Anais...**Viçosa, 2000.CD-Rom.

O'CONNOR, J.D., SNIFFEN, C.J., FOX, D.G. et al.. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: IV. Predicting amino acid adequacy. **Journal of Animal Science**, 71(5):1298-1311, 1993.

OLIVEIRA, M.A.; PEREIRA, O.G.; GARCIA, R.; et al. Rendimento e valor nutritivo do capim-tifton-85 (*Cynodon* spp) em diferentes idades de rebrota. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29 n.6, p.1949-1960, 2000.

O'MARA, F. P.; MULLIGAN, F. J.; CRONIN, E. J.; et al. The nutritive value of palm kernel meal measured in vivo and using rumen fluid and enzymatic techniques.

**Livestock Production Science**, v. 60, n. 2, p. 305–316, 1999.

ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements of feed weighted according to rate 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.

PEREIRA, J.R.A. & ROSSI JR, P. Manual prático de avaliação de alimentos. Piracicaba: **FEALQ**, 1995. 25p.

PEREIRA, E. S; ARRUDA, A. M. V; MIRANDA L. F et al. Importância da inter-relação carboidrato e proteína em dietas de ruminantes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 1, p. 125-134, 2005.

PEREIRA, E.S; ARRUDA, A.M.V; MIZUBUTI, I.Y; et al Frações nitrogenadas e de carboidratos e cinética ruminal da matéria seca e bibra em detergente neutro de silagem de Tifton 85 (*Cynodon* spp.). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, p. 521-528, 2007.

PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes, produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1543-1551, 2006.

QUEIROGA, R.C.R.E.; MAIA, M.O.; MEDEIROS, A.N.; et al Produção e composição química do leite de cabras mestiças Moxotó sob suplementação com óleo de licuri ou de mamona. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.39, n.1, p.204-209, 2010

RABELO, M. M. A. PIRES, A.V.; SUSIN, I.; et al. Avaliação do efeito do bagaço de cana-de-açúcar *in natura* obtido por dois métodos sobre o desempenho e o comportamento ingestivo de bovinos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 3, p. 698-704, 2008.

RANGEL, L. P.; PERES, S.; CASTELLETTI, C. E. M. et al. Estudo da viabilidade técnica para geração de energia elétrica a partir dos resíduos da mamona. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 1, 2004, Campina Grande. **Anais...** Campina Grande: EMBRAPA-Algodão, 2004. (cd-rom).

RIBEIRO, L.S.O. Torta de algodão e de mamona na ensilagem de capim-elefante. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)**. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Itapetinga-Ba. 2010.

RIBEIRO, G.M.; SAMPAIO, A.A.M.; FERNANDES, A.R.M. et al. Efeito da fonte protéica e do processamento físico do concentrado sobre a terminação de bovinos jovens confinados e o impacto ambiental dos dejetos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.2082-2091, 2007.

RODRIGUES FILHO, J. A, CAMARÃO, A. P.; BATISTA, H. A. M. et al. Níveis de torta de dendê em substituição ao farelo de trigo no consumo voluntário e digestibilidade de concentrados. In: 33ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza – CE. **Anais...** Fortaleza – CE: SBZ-UFC, 1996. 1996. p. 292-293.

RODRIGUES, M.T. Uso de fibras em rações de ruminantes – Congresso Nacional dos estudantes de Zootecnia (1998) Viçosa. **Anais**. Viçosa. p.500 1998.

RODRIGUEZ, N. M.; MOREIRA, J. F. C.; FERNANDES, P. C. C.; et al. Concentrados proteicos para bovinos: 2. Digestão pós-ruminal da matéria seca e da proteína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 3, p. 324-333, 2003.

ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., DONZELE, J.L., Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos: **Tabelas Brasileiras**. Viçosa, MG. UFV, 141p. 2000.

RODRIGUES, M.T & VIEIRA, R.A.M., Metodologias aplicadas ao fracionamento de alimento In BERCHIELLI, T.T; GARCIA, A. de V; OLIVEIRA, S.G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. In: Nutrição de ruminantes. Berchielli. T. T.; Pires, A.V.; Oliveira, S. G. Jaboticabal: **Funep**, 2006, 583 p.

RUSSELL, B.J., O'CONNOR, J.D., FOX, D.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluation cattle diets: ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, n.12, p.3551-3581, 1992.

SANTOS, F. A. P. Efeito de fontes protéicas e processamento de grãos no desempenho de vacas de leite e digestibilidade de nutrientes. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiros – Universidade de São Paulo, 1999. **Tese de livre Docência**.

SANTOS, R.A.; TEIXEIRA, J.C.; PÉREZ, J.R.O. et al. Estimativa da degradabilidade ruminal de alimentos utilizando a técnica de produção de gás em bovinos, ovinos e caprinos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.3, p.689-695, 2003.

SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIKA, J.; et al. Cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, v. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.

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

SEAGRI - Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária do Estado da Bahia -. A Bahia bate recorde na safra de grãos em 2011 – Disponível em [http://www.seagri.ba.gov.br/pdf/2\\_agrossintesev9n1.pdf](http://www.seagri.ba.gov.br/pdf/2_agrossintesev9n1.pdf) Acessado em 05/11/2012.

SEVERINO, L. S.; MILANI, M.; BELTRÃO, N. E. M. Mamona: O produtor

pergunta, a Embrapa responde. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Campina Grande: **Embrapa Algodão**, 2006. (Coleção 500 perguntas, 500 respostas).

SILVA, E. A.; RUAS, J. R. M.; SILVA, F. C. O.; et al. Soja na alimentação animal. **Informe Agropecuário**, v. 27, n. 230, p. 65-84, 2006.

SILVA, F. F.; PIRES, A. J. V.; OLIVEIRA, A. R. A.; et al. Torta de dendê em dietas de bezerros leiteiros desmamados precocemente. In: 37ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa – MG. **Anais...** Viçosa – MG: SBZ-UFV, 2000. p. 292-293. CD-ROM.

SILVA, L.P. *Composição química de trigo e de aveia e efeito dos teores e proporções de fibra alimentar sobre a resposta biológica de frangos de corte e ratos*. 2002. Tese (Doutorado em Zootecnia)–Faculdade de Agronomia, **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, 2002.

SILVA, H.G.O.; PIRES, A.J.V.; SILVA, F.F. et al. Digestibilidade aparente de dietas contendo farelo de cacau ou torta de dendê em cabras lactantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.4, p.405-411, 2005a.

SILVA, D. J e QUEIROZ, A. C.; 2009. Análise de Alimentos (métodos químicos e biológicos). 3a Ed – 4ª reimp Vicosa: **UFV**, 2009, 235 p.

SILVA, J.A.; CAMPOS, F.C.; VIEIRA, S.S.; et al. Análise bromatológica de co-produtos do biodiesel. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 16., 2008, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba, SP: USP, 2008b.

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

SOUZA, O. & SILVA, I. E. Resíduos e subprodutos agroindustriais. **Revista veterinária In Foco**, Aracajú – SE, 2002.

SOUZA, O. & SANTOS, I. E. Aproveitamento do bagaço de cana-de-açúcar pelos ruminantes. Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2002.

STEFANON, B. & A. N. PELL. "Effect of maturity on digestion kinetics of water-soluble and water-insoluble fractions of alfalfa and brome hay." **Journal of Animal Science**. v.74, n.5, p. 1104-1115, 1996.

STIRPE, F., PESSION-BRIZZI, A., LORENZONI, E., et al. Studies on the proteins from the seeds of *Croton tiglium* and of *Jatropha curcas*. Toxic properties and inhibition of protein synthesis in vitro. **Biochemical Journal**, v. 156, n. 1, p. 1-6, 1976.

TÁVORA, F. J. A. F. A cultura da mamona. Fortaleza: Empresa de Pesquisa Agropecuária do Ceará (**EPACE**), 1982. 111p.

TEDESCHI, L.O., FOX, D.G., RUSSELL, J.B, Accounting for the effects of a ruminal nitrogen deficiency within the structure of the Cornell net carbohydrate and protein system. **Journal of Animal Science**. 78, 1648–1658, 2000a.

TEDESCHI, L.O., FOX, D.G., RUSSELL, J.B, Accounting for ruminal deficiencies of nitrogen and branched-chain amino acids in the structure of the Cornell net carbohydrate and protein system. In: Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. New York State **College of Agriculture and Life Sciences, Cornell University**, pp. 224–238, 2000b.

TEDESCHI, L.O., FOX, D.G., CHASE, L.E, et al, Whole-herd optimization with the Cornell net carbohydrate and protein system. I. Predicting feed biological values for diet optimization with linear programming. **Journal of Dairy Science**. v.83, p.2139–2148, 2000c.

TEDESCHI, L.O. Development and evaluation of models for the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. 1. Feed libraries. 2. Ruminal nitrogen and branched-chain volatile fatty acid deficiencies. 3. Diet optimization. 4. Energy requirement for maintenance and growth. Ph.D. **Dissertation, Cornell University, Ithaca, NY**(Chapter 2), 2001.

TEDESCHI, L.O., PELL, A.N., FOX, D.G., et al,. The amino acid profiles of the whole plant and of four residues from temperate and tropical forages. **Journal of Animal Science**. v.79, p.525–532, 2001.

TEDESCHI, L.O., BAKER, M.J., KETCHEN, D.J.,et al, Performance of growing and finishing cattle supplemented with a slow-release urea product and urea. **Can. Journal of Animal Science**. v.82, p.567–573, 2002a.

TEDESCHI, L.O., FOX, D.G., PELL, A.N., et al. Development and evaluation of a tropical feed library for the Cornell Net Carbohydrate and Protein System model. **Scientia Agricola**. V.59, p.1–18, 2002b.

TEDESCHI, L.O., BOIN, C., FOX, D.G.,et al. Energy requirement for maintenance and growth of Nellore bulls and steers fed high-forage diets. **Journal of Animal Science**. v.80, p.1671–1682, 2002c.

TEDESCHI, L.O., FOX, D.G., TYLUTKI, T.P, Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal of Environmental Quality**. v.31, p.1591–1602, 2003.

TEDESCHI, L.O., FOX, D.G., GUIROY, P.J., A decision support system to improve individual cattle management. 1. A mechanistic, dynamic model for animal growth. **Agricultural Systems**, in press. 2004.

THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA. et al. J.A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.48, p.185-197, 1994.

TEIXEIRA, F. A.; PIRES, A. V.; NASCIMENTO, P. V. N. Bagaço de cana-de-

açúcar na alimentação de bovinos. **REDVET**, Revista Eletrônica de Veterinária, v.8,n.6,jun. 2007. Disponível em: [www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060607/060708.pdf](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060607/060708.pdf). Acesso em: 06 novembro 2012.

TEIXEIRA, J.C.; ANDRADE, G.A. Carboidrato na alimentação de ruminantes. In: SIMPOSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS, 2, 2001, Lavras. Palestras... Lavras: **Editora UFLA**, v.1, p.165-210, 2001.

TYLUTKI, T. P., FOX, D. G., AND . ANRIQUE, R. G. Predicting net energy and protein requirements for growth of implanted and nonimplanted heifers and steers and nonimplanted bulls varying in body size. **Journal of Animal Science**. v. 72, p.1806–1813, 1994.

WILSON J. R. & KENNEDY P. M. *Plant and animal constraints to voluntary feed intake associated with fibre characteristics and particle breakdown and passage in ruminants*. **Australian Journal of Agricultural Research**. v. 47 p.199–225, 1996.

VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA JÚNIOR, V.R. et al. Tabelas Brasileiras de composição de alimentos para ruminantes. 2. ed. Viçosa – MG. **Universidade Federal de Viçosa – DZO**, 329p. 2006.

VAN SOEST, P. J. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2. Ed. Ithaca, New York. **Cornell: Cornell University Press**, 476p. 1994.

VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feeds analysis and its applications to forages. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.26, p.119-128, 1967.

VAN SOEST, P.J. & ROBERTSON, J.B. Analysis of forages and fibrous foods. A Laboratory Manual for Animal Science. Ithaca: **Cornell University**, 613p, 1985.

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

VEDANA, J. C. S. “Tudo sobre Pinhão Manso – *Jatropha curcas*”. 2006. Disponível em: <http://www.pinhaomanso.com.br/>. Acessado em: <05/11/2012>.

VIÉGAS, I. de J. e MÜLLER, A. A. A cultura do dendezeiro na Amazônia brasileira. Belém – PA: **Embrapa Amazônia Oriental**. 2000.

VIEIRA, R.A.M. *Simulação da dinâmica de nutrientes no trato gastrintestinal: aplicação e validação de um modelo matemático para bovinos a pasto*. Viçosa MG: UFV, 1998. 91p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - **Universidade Federal de Viçosa**, 1998.

VIEIRA, R.A.M.; PEREIRA, J.C.; MALAFAIA, P.A.M. et al. Fracionamento e cinética de degradação *in vitro* dos compostos nitrogenados da extrusa de bovinos a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.880 – 888, 2000a.

VIEIRA, R.A.M. PEREIRA, J.C.; MALAFAIA, P.A.M. et al. Fracionamento dos carboidratos e Cinética de degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro da extrusa de bovinos a Pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.889 – 897, 2000b.

VIEIRA, R.A.M.; TEDESCHI, L.O.; CANNAS, A.A. generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum: 1: Estimating parameters of digestion. **Journal of Theoretical Biology**, v.255, p.345-356. 2008.

VIEIRA, R.A.M.; CAMPOS, P.R de S.S; SILVA, J.F.C daS., et al. Heterogeneity of the digestible insoluble fiber of selected forages in situ. **Animal Feed Science and Technology**, v.171, p. 154– 166. 2012.

VILELA, D.; ALVIM, M. J. Manejo de pastagens do gênero *Cynodon*: introdução, caracterização e evolução do uso no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 15., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ:ESALQ, 1998. p. 23-54.

WAN ZAHARI, M and ALIMON, A. R. Use of palm kernel cake and oil palm by-products in compound feed. **Palm Oil Developments**, v. 40, s/n, p. 5-9, 2004.

WOODS, V. B.; MOLONEY, A. P. and O'MARA, F. P. The nutritive value of concentrate feedstuffs for ruminant animals Part II: In situ ruminal degradability of crude protein. **Animal Feed Science and Technology**, v. 110, n. 1-4, p. 131–143, 2003b.

WOODS, V. B.; O'MARA, F. P. and MOLONEY, A. P. The nutritive value of concentrate feedstuffs for ruminant animals Part I: In situ ruminal degradability of dry matter and organic matter. **Animal Feed Science and Technology**, v. 110, n. 1-4, p. 111–130, 2003a.

## APÊNDICE

### TÉCNICAS LABORATORIAIS

#### FRACIONAMENTO DE PROTEÍNAS

Para o cálculo das frações de proteína, faz-se necessário a obtenção dos seguintes resultados:

- 1 - Teor de nitrogênio total da amostra (NT);
- 2 - Teor de nitrogênio insolúvel após o tratamento com ácido tricloro-acético -TCA (N1);
- 3 - Teores de nitrogênio residual insolúvel no tampão borato-fosfato-TBF (N2);
- 4 – Teor de NIDN e NIDA.

**Fração A** – Esta fração refere-se aos compostos nitrogenados não proteicos, que é calculada a partir do teor de nitrogênio total da amostra (NT) e dos teores de nitrogênio insolúvel após o tratamento com TCA (N1), utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Fração A (\%NT)} = \frac{\text{NT}-\text{N1}}{\text{NT}} \times 100$$

**Tratamento da amostra com ácido tricloroacético (N1)** (Sniffen et al., 1992).

#### *Materials e equipamentos*

- Erlenmeyers 125 ml
- Balança analítica, com precisão de 0,0001 g
- Peagâmetro
- Funil
- Provetas (10 e 50 mL)
- Papel-filtro quantitativo livre de proteína (Whatman # 54 ou 541)
- Tubos de macro
- Aparelhos para digestão, destilação e titulação da proteína

### ***Reagentes***

- Ácido tricloroacético (TCA)

### ***Preparo das soluções***

#### TCA 10%

- Diluir 100g de TCA para 1 litro de água destilada e estocar sob refrigeração

#### TCA 1%

- Diluir 10g de TCA para 1 litro de água destilada e estocar sob refrigeração

### ***Procedimentos***

- Pesar 0,5g de amostra moída (ASA) e colocar em erlenmeyers de 125 mL
- Adicionar 50 mL de água destilada, deixando em descanso por 30 minutos
- Adicionar 10 mL de solução de TCA 10%, deixando descansar por 20 a 30 minutos
- Filtrar em papel de filtro Whatman #54 ou 541, sob vácuo moderado
- Lavar o resíduo com 50 mL da solução de TCA diluída (aproximadamente 1%)
- Determinar o teor de nitrogênio pelo método de Kjeldahl no resíduo + papel filtro, lembrando de determinar o branco para realizar as devidas correções

### ***Recomendações e sugestões***

1 - Recomenda-se, após a filtração, proceder a secagem do papel-filtro com amostra em estufa (55°C) por uma (1) hora. Este procedimento facilitará a digestão da amostra.

2 – A digestão da amostra (com papel-filtro) deve ser realizada em tubos de macro. No entanto, dessa forma apenas seis (6) amostras e dois (2) brancos poderão ser digeridos por vez. Se o número de amostra for muito grande, a digestão poderá ser realizada em tubos de micro que, apesar do maior tempo para digestão, este será recompensado pelo número de amostras digeridas por vez. Vale lembrar que ao dobrar o papel-filtro, é recomendável que se faça “rolinhos” ao invés de “trouxinhas”, com o objetivo de permitir o escapamento do gás liberado no processo de digestão que poderá causar refluxo da amostra, levando à perda da mesma.

3 – Para evitar que amostras sejam perdidas no processo de digestão, é interessante acompanhar a etapa inicial, regulando a temperatura do aparelho digestor. Esta temperatura deverá iniciar de forma moderada e gradativamente ir aumentando até alcançar a temperatura máxima (350°C). Após o clareamento da solução, continuar digerindo por aproximadamente 30 minutos.

**Fração B1** – Considerada a fração de rápida digestão, contendo albuminas e globulinas. Para sua quantificação se faz necessária a determinação do nitrogênio insolúvel total (N2), que em juntamente com a mensuração do NNP (N1), permite estimar a proteína solúvel verdadeira por diferença. A proteína insolúvel total (N2) é obtida no resíduo insolúvel em solução-tampão de borato-fosfato (TBF).

A fração solúvel ou a fração B1 pode ser assim calculada:

$$B1 (\%NT) = \frac{N1 - N2}{NT} \times 100$$

Onde:

N2 = Teor de nitrogênio residual insolúvel no tampão borato-fosfato (TBF), conforme análise a seguir:

#### ***Materiais e equipamentos***

- Erlenmeyers 125 ml
- Balança analítica, com precisão de 0,0001
- Papel-filtro quantitativo livre de proteína (Whatman # 54 ou 541)
- Fonte de vácuo

#### ***Reagentes***

- Fosfato monossódico (Na H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O)
- Tetraborato de sódio decahidratado(Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>.10H<sub>2</sub>O)
- Álcool butílico terciário
- Azida sódica (N<sub>a</sub>N<sub>3</sub>)

### ***Preparo das soluções***

#### **Solução tampão de borato-fosfato (1 litro)**

- Pesar separadamente em béqueres de 100 mL  
8,91 g de tetraborato de sódio decahidratado ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ )  
12,2 g de fosfato monossódico ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )  
100 mL de álcool butílico terciário
- Adicionar água destilada aos reagentes e agitar com agitador magnético para completa diluição
- Transferir para balão volumétrico (1 litro), lavando os béqueres repetidamente e completar com água destilada
- Medir o pH ajustando-o para 6,7 – 6,8 com solução de ácido fosfórico e hidróxido de sódio

#### **Solução de azida sódica a 10%**

- Diluir 100g de azida sódica para 1 litro de água destilada

### ***Procedimentos***

- Pesar 0,5g de amostra moída (ASA) e colocar em erlenmeyers de 125 mL;
- Adicionar 50 mL de solução-tampão de borato-fosfato;
- Adicionar em seguida 1 mL de solução de azida sódica, como inibidor enzimático;
- Após 3 horas de incubação em temperatura ambiente, filtrar a amostra em papel de filtro Whatman #54 ou 541, sob vácuo moderado;
- Lavar o resíduo com 250 mL de água destilada fria;
- Determinar o teor de nitrogênio pelo método de Kjeldahl no resíduo + papel filtro, lembrando de determinar o branco para realizar as devidas correções.

### ***Recomendações e sugestões***

A fração B1 também pode ser determinada por diferença.

$$\text{B1 (\%NT)} = 100 - (\text{A} + \text{B}_2 + \text{C}).$$

**Fração B2** - Frações que contem as proteínas com taxas de degradação intermediária no rúmen (maioria das albuminas e glutelinas).

A fração B<sub>2</sub> é calculada da seguinte maneira:

$$B_2 (\%NT) = \frac{N_2 - NIDN}{NT} \times 100$$

Onde o NIDN é o nitrogênio insolúvel em detergente neutro determinado após análise de fibra em detergente neutro (FDN), pelo método de Kjeldahl.

### **Recomendações e sugestões**

Se optar por encontrar a fração B<sub>1</sub> por diferença, o resultado da fração B<sub>2</sub> passa a ser considerado a partir do cálculo proposto para a fração B<sub>3</sub>. Pois, tem sido sugerido por alguns autores que seja utilizado somente quatro frações protéicas (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e C) ao invés de cinco (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> e C), devido às frações B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> encontrarem-se no conteúdo celular e apresentarem características de degradação semelhantes.

**Fração B<sub>3</sub>** - Associada à parede celular é de lenta degradação (prolaminas, extensinas).

Para o cálculo desta fração utilizam-se os teores de Nitrogênio total e do N insolúvel em detergente neutro e ácido, NIDN e NIDA respectivamente, cujos resultados são aplicados na seguinte expressão:

$$B_3 (\%NT) = \frac{NIDN - NIDA}{NT} \times 100$$

Onde o NIDA é o nitrogênio insolúvel em detergente ácido determinado após análise de fibra em detergente ácido (FDA), pelo método de Kjeldahl.

**Fração C** - Fração indigestível. No sistema CNCPS, esta fração é denominada fração C.

$$C (\% NT) = \frac{NIDA}{NT} \times 100$$

## **DEGRADAÇÃO *IN VITRO* DA PROTEÍNA**

### ***Método***

Incubação *in vitro* do alimento com protease comercial do tipo *Streptomyces griseus* conforme Krishnamoorthy et al. (1983)

### ***Aplicação***

Este procedimento é usado para medir degradação das frações (B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>) de proteína.

### ***Equipamentos***

- Erlenmeyers 125 ml
- pHmetro
- Mesa de agitação orbital
- Sala incubadora a 39°C
- Provetas (10 e 40 mL)
- Pisseta
- Papel-filtro quantitativo livre de proteína (Whatman # 54 ou 541)
- Tubos de macro
- Aparelhos para digestão, destilação e titulação da proteína

### ***Reagentes***

- Tetraborato de sódio decahidratado (Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>.10H<sub>2</sub>O )
- Fosfato de sódio (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O)
- Protease comercial bacteriana de *Streptomyces griseus* (número catalográfico P-5147, Tipo XIV, Sigma Chemical )
- Ácido tricloroacético (TCA)

### ***Preparo das soluções***

#### **TCA 10%**

- Diluir 100g de TCA para 1 litro de água destilada e estocar sob refrigeração.

#### **TCA 1%**

- Diluir 10g de TCA para 1 litro de água destilada e estocar sob refrigeração

### Solução tampão (1 litro)

- Pesar separadamente em béqueres de 100 mL  
13,17g de tetraborato de sódio ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ )  
7,6g de fosfato de sódio monobásico ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )
- Adicionar água destilada aos reagentes e agitar com agitador magnético para completa diluição
- Transferir para balão volumétrico (1 litro), lavando os béqueres repetidamente e completar com água destilada
- Medir o pH ajustando-o para 8,0 com ácido fosfórico e hidróxido de sódio

### Solução enzimática

- A solução enzimática deve ser preparada para conter 33 unidades  $\text{mL}^{-1}$ , pois quando adicionados 10 ml dessa solução a atividade enzimática passará para 6,6 unidades  $\text{mL}^{-1}$  (Krishnamoorthy et al., 1983);
- Diluir o pó enzimático na solução tampão descrita anteriormente.

### **Recomendações e sugestões**

- Ler com atenção antes de efetuar a compra da enzima.

*1º - Calcular quantas unidades enzimáticas irá utilizar por frasco.*

Ex.  $33 \times 10 = \mathbf{330 \text{ unidades por frasco}}$

$$330/50 = 6,6 \text{ und/mL}$$

Onde:

33 unidades/mL = atividade final desejada na solução

10 = total de solução a ser empregado em cada frasco

50 = volume total do frasco (ver procedimento)

6,6 und/mL = atividade enzimática que atuará no frasco

*2º - Calcular quantos frascos serão utilizados (considerando 10 amostras)*

Ex: 10 amostras com 2 réplicas e 10 tempos

$10 \times 2 \times 10 = \mathbf{200 \text{ frascos}}$

*3º - Calcular quantas unidades enzimáticas utilizar?*

Ex:  $330 \times 200 = 66.000$  unidades.

4° - Para calcular a massa de pó enzimático comercial a ser usado, basta tomar a atividade final desejada para a solução (33 unidades/mL), dividi-la pela atividade enzimática do produto (ver rótulo) e multiplicar o quociente pelo volume total de solução enzimática a ser empregado (10 mL) multiplicando pelo número de repetições a serem realizadas.

O exemplo será do cálculo da massa do pó enzimático com PRONASE protease *S.griseus* catálogo 53702 com atividade enzimática de 65868,3 PUK/g (rótulo)

Ex:  $33/65868.3 = 0.0005009 \times 10 = 0.005009 \times 200 = 1.0018g$

Onde:

33 = atividade final desejada

65868.3 = atividade enzimática do produto (retirada do rótulo)

10 = total de solução enzimática a ser empregado em cada frasco

200 = número de frascos

Sendo assim, você usará 1g de pó enzimático (vale lembrar que deve adquirir uma quantidade com margem de segurança, e incluir os brancos para cada bateria)

Obs: O pó não é vendido por grama (g), geralmente utilizam unidades de medida como: KU, onde 1KU que corresponde a mil unidades (Merck).

1 g de pó enzimático deste catálogo é  $\geq$  a 45.000 unidades proteolíticas

Logo, se são necessárias 66.000 unidades, deve-se adquirir acima de 60 KU. (Merck).

Se preferir utilizar protease da SIGMA P-5147 tipo XIV (utilizado na marcha original), esta empresa comercializa por mg. (3,5 unid/mg).

Ex:  $3,5 \times 1000 = 3.500$  unid./g

$66.000/3.500 = 18,86g$  – será necessário para 10 amostras

1g custa R\$ 605,00 (SIGMA)

$605,00 \times 19 = R\$ 11.495,00$

### ***Procedimentos***

- Pesar 0,5 g de amostra em frascos erlenmeyers (125 mL);
- Adicionar 40 mL de solução-tampão com pH 8, manter os frascos em mesa de agitação orbital, dentro de sala incubadora a 39°C, por uma hora, para hidratação

e estabilização da temperatura;

- Um frasco que contenha apenas a solução-tampão e a solução enzimática deve ser usado como branco
- Neste tempo, preparar a solução enzimática e ao final de uma hora, adicionar 10 ml da mesma aos frascos.
- Retirar os frascos nos tempos 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 12; 24; 36 e 48 horas.
- Após remover os frascos adicionar com uma piseta aproximadamente 20 ml de ácido tricloroacético a 10% (TCA) para cessar a atividade enzimática.
- Transferir quantitativamente, o conteúdo de cada frasco para um funil com papel-filtro quantitativo de filtragem rápida, utilizando aproximadamente 200 mL de ácido tricloroacético a 1% (TCA) como veículo.
- Proceder a determinação do nitrogênio pelo método de macro-Kjeldahl no resíduo + papel filtro, lembrando de fazer a determinação do branco para as devidas correções

### **Recomendações e sugestões**

Obs: Vieira et al (1998), ao digerir a amostra residual com papel filtro, adicionou 25 mL de solução digestora líquida (875 mL de H<sub>2</sub>O destilada; 107,2g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro; 20 g CuSO<sub>4</sub>; e 1000 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), preparada em erlenmeyer de 4 L, dentro de uma capela e imerso em banho de água e gelo, para evitar acidentes com a diluição do ácido na água.

## **FRACIONAMENTOS DE CARBOIDATOS**

**Fração A'** – (Açúcares solúveis prontamente degradáveis)

### ***Método***

Extração (oxalato de amônia) dos carboidratos solúveis e determinação colorimétrica com reação de antrona. (Deriaz 1961).

### ***Aplicação***

Este procedimento é usado para medir concentração de açúcares (glicose) nos alimentos.

*Para Análise de açúcares utiliza-se tanto a reação fenol/ácido sulfúrico ou a reação*

*de antrona.*

### ***Equipamentos e utensílio***

- Balança analítica;
- Balão volumétrico de 100 ml;
- Balão volumétrico de 1.000 mL;
- Frasco de erlenmeyer de 1.000 mL;
- Tubos de vidro com capacidade para 15 ml;
- Vórtex;
- Autoclave;
- Papel de filtro quantitativo;
- Pipeta (2 mL);
- Proveta;
- Banho Maria;
- Espectrofotômetro;

### ***Reagentes***

- Oxalato de amônio
- Acido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) [96-98%]. Recomenda-se o da Merck;
- Antrona
- Tiuréia

### ***Preparo das soluções***

#### **Solução de oxalato de amônio 0,5%**

- Pesar 0,5g de oxalato de amônio e dissolver em 100 mL de água destilada (5g/litro)

#### **Solução de antrona (1 litro de solução)**

- Em frasco de erlenmeyer de 1.000 mL, adicionar 330 mL de água destilada e cautelosamente 760 mL de ácido sulfúrico
- Deixar esfriar, transferir para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume, de preferência, no dia seguinte, com a solução fria

*Obs: Ao misturar o ácido sulfúrico com água, ocorre uma redução no volume devido à vaporização em função do aquecimento provocado pela reação química da mistura. Daí a necessidade de completar o volume.*

- Adicionar 1g de tiouréia, agitando até dissolver;
- Adicionar 1g de antrona e proceder de maneira idêntica;

*Recomenda-se dissolver a tiouréia e a antrona, em béquers separados, usando pequenas quantidades da solução anteriormente preparada (água+ácido sulfúrico).*

#### Solução de glicose a 1% (stock) para uso imediato

- Coloque 1 g de glicose em um balão volumétrico de 100 mL e complete o volume com água destilada.

#### Solução-padrão de glicose (0,005% e 0,010%)

- Coloque 0,5 e 1,0 ml da solução de glicose a 1% em balões volumétricos de 100 ml e complete o volume com água destilada.

#### ***Procedimentos:***

*Antes de iniciar o procedimento, deve-se preparar potes plásticos para levar à autoclave e frascos plásticos com tampa (100mL) para armazenar o filtrado.*

- Pesar 0,25g até 1,0g de amostra (ASA), se forragem pesar até 1,0g, em potes plásticos com tampa (Próprios para autoclave).
- Colocar 70 mL de solução de Oxalato de amônia 0,5% tampar e autoclavar o material por 2 horas.
- Filtrar em papel de filtro em balões de 100 mL e completar o restante com água destilada.

*Caso seja necessário, o filtrado poderá ser acondicionado em frascos plásticos e mantido em geladeira por alguns dias antes de proceder com a análise.*

- Ligar o banho-maria para alcançar a temperatura de 90°C.
- Enquanto isso, retirar uma alíquota de 2 mL do filtrado das amostras e dos

padrões de glicose e colocar em tubos de ensaio grandes e adicionar 10 mL de solução antrona. Para o teste em branco, deve-se proceder do mesmo modo, porém não se usa amostra, agite (vortelize) os tubos e deixe-os em banho de água fria por alguns minutos para que a antrona desenvolva a cor.

- Em seguida, levar todos os tubos ao banho-maria (90°C) e deixe ferver por 20 minutos. Após este tempo, esfrie os tubos em banho de água fria.
- Fazer leitura da absorbância em espectrofotômetro colorimétrico no comprimento de ondas de 625 nm, ajustado para 0% de absorvância (100% de transmitância), utilizando o “branco”.

Os teores de carboidratos solúveis em água serão determinados por espectrofotometria, através da coloração azul-esverdeado, formado quando esses compostos forem aquecidos em solução de antrona em meio fortemente ácido (Deriaz, 1961).

***Se preferir, poderá utilizar a reação fenol/ácido sulfúrico***

***Método:***

Extração dos carboidratos solúveis e determinação colorimétrica com reação fenol/ácido sulfúrico (Johnson et al., 1966).

***Equipamentos:***

- Balança analítica;
- Balão volumétrico
- Tubos de vidro com capacidade para 15 ml;
- Espectrofotômetro

***Reagentes:***

- Fenol seco
- Ácido sulfúrico concentrado

***Preparo de solução:***

Solução de fenol (50%).

- Pesar 50mg de fenol seco e dissolver para 1 litro de água destilada.

***Procedimento:***

- Pesar 0,5g de amostra laboratorial em um balão volumétrico de 100 mL;
- Adicionar 80 mL de dH<sub>2</sub>O e manter em agitação (220 oscilações/min) durante 30 minutos.
- Completar o volume com dH<sub>2</sub>O e agitar.
- Deixar as partículas decantarem, retirar uma alíquota de sobre-nadante e diluir novamente, de acordo com a concentração esperada de carboidratos solúveis, de forma que 2 mL da concentração final contenham entre 10 e 100 µg de carboidratos solúveis.
- Transferir a alíquota de 2 mL para um tubo de vidro e adicionar 1 mL de reagente fenol e 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, nesta ordem. Agitar os tubos vagarosamente e deixar descansar durante 20 minutos, agitando-os na metade do tempo.
- Preparar uma curva padrão utilizando de 0 a 100 µg de uma mistura de 50% glicose:50% xilose, adicionando os mesmos reagentes e procedendo da mesma forma.
- Fazer a leitura espectrofotômetro a 490 nm contra um branco preparado com os reagentes, utilizando dH<sub>2</sub>O no lugar da amostra.

***Cálculos:***

Com as leituras referentes a curva padrão, preparar uma regressão, obtendo as concentrações de carboidratos solúveis em cada tubo de amostra.

Aplicar as correções, devido às diluições realizadas.

**Fração B1'** - (Carboidrato não fibroso. É obtido pela soma do amido + pectinas)

**Análise de Amido**

***Método:***

AOAC 996.11 AACC método 76.13 - Determinação de amido total em cereais e produtos alimentícios que contenham amido resistente, mas não D-glicose e/ou maltodextrinas.

***Aplicação:***

Este procedimento é usado para extração dos carboidratos solúveis em etanol 80% e posterior determinação de amido no resíduo.

***Equipamentos:***

- Tubos de vidro (16 x 120mm)
- Tubos de vidro (16 x 100mm)
- Vórtex
- Banho de água fervente
- Banho Maria (50°)
- Frasco volumétrico de 100ml
- pHmetro
- Espectrofotômetro
- Funil
- Balões 100 mL
- Pisseta
- Pipeta (1- 5 mL)
- Pipeta (200 µL)
- Dispensador automático

***Reagentes:***

- Kit para amido total da Megazyme
- Ethanol
- Água destilada
- Dimethyl sulfoxido (DMSO – solução pronta Sigma código?)
- MOPS (sal de sódio, sigma catálogo M-9381)
- Ácido clorídrico (HCl 1M – 10% v/v)
- Cloreto de cálcio dihidratado
- Ázida sódica
- Ácido acético glacial
- Hidróxido de sódio 1M (4g/100mL)

### ***Preparo das soluções:***

#### Ethanol:água 80:20 (ethanol 80%)

- Meça 80 ml de etanol e 20 mL de água destilada.
- Ponha em um frasco e misture vigorosamente. O volume fornece 100 ml de etanol 80%.

#### Tampão MOPS

- Dissolver 11,55g de MOPS (Sal de sódio, Sigma catálogo M-9381) em 900 ml de água destilada e ajustar o pH para 7,0 com adição de HCL 1M (10% v/v), cerca de 17 ml será necessário.
- Adicionar 0,74 g de cloreto de cálcio dihidratado e 0,2 g de ázida sódica e dissolver.
- Ajustar o volume para 1 litro.

*Estável por 6 meses a 4°C.*

#### Tampão acetato de sódio 200 mM

- Adicionar 11,6 mL de ácido acético glacial (1.05g/mL) a 900 mL de água destilada.
- Ajustar o pH para 4.5 pela adição de solução de hidróxido de sódio 1M (4g/100 mL), cerca de 60 mL serão necessários.
- Adicionar 0,2 g de ázida sódica e dissolver.
- Ajustar o volume para 1 litro.

*Estável por 6 meses a 4°C*

#### Reagente GOPOD (utilizando o Kit para amido total da Megazyme)

- Dissolver o conteúdo do frasco 4 (GOPOD enzimas reagentes: glicose oxidase/peroxidase e 4-aminoantipirina) em 20 mL da **solução 3** quantitativamente transferi-la para o frasco contendo o restante da solução 3.
- Cobrir este frasco com papel alumínio para proteger o reagente da luz. Este é o reagente para determinação da glicose (reagente GOPOD)

*Estável por aproximadamente 3 meses a 2-5°C ou mai meses a -20°C.*

### Solução 3

- Diluir o conteúdo do frasco 3 (Reagente tampão GOPOD) para 1 litro de água destilada.

*Usar imediatamente.*

#### ***Procedimentos:***

1. Moer amostra que passe em peneira de 0,5 mm
2. Pesar amostras em tubos de vidro (16x120 mm), Bater o tubo na mesa para garantir que todas as partículas migrem para o fundo do tubo;  
*Pesar 3 réplicas por amostra para obtenção de uma média final.*
3. Adicionar 0,2 mL de etanol aquoso (80% v/v) para umedecer a amostra e dispersar o ar. Agitar o tubo em vórtex;
4. Imediatamente, adicionar 2 mL de dimetil sulfoxido (DMSO – solução pronta da Sigma) e agitar o tubo no vórtex. Colocar o tubo em um banho de água fervente e remover após 5 minutos.
5. Imediatamente, adicionar 3 mL de  $\alpha$ -amilase (conteúdo do frasco 1 diluído 1:30 no reagente 4; 50 mM tampão MOPS, pH 4,5). Incubar o tubo em um banho de água fervente por 6 minutos. (Agitar o tubo vigorosamente após 2, 4 e 6 minutos);
6. Colocar o tubo em um banho a 50°C, adicionar tampão acetato de sódio (4mL, 200mM, pH 4,5), seguido pela adição de amiloglicosidase (0.1 mL, 20U). Agitar o tubo em um vórtex e incubar a 50°C por 30 minutos.
7. Transferir o conteúdo do tubo para um frasco volumétrico de 100 mL (com um funil para auxiliar a transferência). Usar uma pisseta para lavar o conteúdo do tubo minuciosamente. Ajustar o volume com água destilada. Misturar completamente. Centrifugar uma alíquota desta solução a 3.000 rpm por 10 minutos. Usar o produto filtrado não diluído para a análise.

*Alternativamente, na etapa 7, ajustar o volume para 10 mL com água destilada e então centrifugar os tubos a 3.000 rpm por 10 minutos. Para amostras contendo 1-10% de amido, esta solução é usada diretamente na etapa 7. Para amostras contendo 10-100% de amido, uma alíquota (1.0mL) é diluída para 10 mL de água*

destilada antes de proceder ao passo 7.

8. Transferir alíquota (0,1 mL) em duplicatas da solução diluída para tubos testes de vidro de fundo redondo (16 x 100 mm);
9. Adicionar 3.0 mL do reagente GOPOD em cada tubo (incluindo o controle D-glicose e os brancos) e incubar os tubos a 50°C por 20 minutos.
10. O controle D-glicose consiste de 0.1 mL de solução padrão de D-glicose (1mg/mL) e 3.0 mL de reagentes GOPOD. O reagente branco consiste de 1.0 mL de água e 3.0 mL de reagente GOPOD.
11. Ler a absorbância para cada amostra e o controle D-glicose a 510 nm contra o reagente branco.

**Cálculos:**

$$\text{Amido} = \Delta A \times F \times \frac{FV}{0.1} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180}$$

$$\text{Amido} = \Delta A \times \frac{F}{W} \times FV \times 0,9$$

Onde:

$\Delta A$  = Absorbância (reação) lida contra o reagente branco;

$F = \frac{100 \text{ (MG de D-glicose)}}{\text{Absorbância p/100 mg de glicose}}$

(conversão de absorbância p/mg)

$FV$  = Volume final ( ex. igual a 100 mL ou 10 mL em exemplo (a) e (b); 100 ou 10,4 mL em exemplo (c); 100 ou 10.0 mL em exemplo (d); e 100 ou 10 mL em exemplo (e).

0-1 = volume da amostra analisada

$\frac{1}{1000}$  = conversão de  $\mu\text{g}$  para mg

$\frac{100}{W}$  = Fator para expressar amido como % do peso da amostra

$W$  = O peso em mg/(ASA) da amostra analisada

$\frac{162}{180}$  = Ajuste de D-glicose livre para D-glicose anidro

180

Amido % p/p (base MS)

$$= \% \text{ amido ASA} \times \frac{100}{100 - \text{conteúdo de umidade (\% p/p)}}$$

**Análise de pectinas** (Fibra solúvel em detergente neutro - FSDN)

***Método:***

Extração por solvente (Etanol 80%) Hall et al (1999)

***Aplicação:***

Este procedimento é usado para extração dos carboidratos solúveis em etanol 80% e posterior determinação de FSDN no resíduo

***Equipamentos:***

- Mesa de agitação orbital
- Bomba de vácuo
- Cadinho de vidro poroso (porosidade grosseira)
- Papel de filtro Whatman 54 ou 541
- Mufla, para análise de cinzas e matéria orgânica
- Equipamento de digestão, destilação e titulação para análise de proteína

***Reagentes:***

- Ethanol 95%
- Água destilada
- Acetona
- Reagentes necessários para análise de proteína (ácido sulfúrico; hidróxido de sódio; ácido clorídrico)

***Preparo das soluções:***

Ethanol: água 80:20 (ethanol 80%)

- Se o ethanol for 99,8% (no rótulo), meça 801,6 mL de etanol e complete para 1

litro com água destilada. Se for 95% (no rótulo), meça 840 mL e complete com 160 mL de água destilada.

- Ponha em um frasco e misture vigorosamente. O volume fornece cerca de 990 ml de etanol 80%

***Procedimentos:***

- Pesar amostras em erlenmeyers de 250 ml para extração (0,6 g para forragem)
- Adicionar 120 mL etanol 80% - (200ml/1g de amostra)
- Extrair sob agitação durante 4h – mesa de agitação orbital
- Filtre sob vácuo
- - Em cadinho poroso para determinação de Matéria Orgânica (MO)
- - Em filtro de papel Whatman 54 ou 541 para determinação de Proteína bruta (PB)
- Enxaguar com 2X com etanol 80% e 2X com acetona
- Processe as amostras para as análises subseqüentes de MO, PB
- - Para MO, leve os cadinhos para estufa 105° por uma noite, pesar o cadinho + resíduo. Queime a amostra de acordo com AOAC e proceda a determinação do peso do cadinho + cinzas
- - Para PB, levar o papel + resíduo para digestão (tubos de macro), destilação e titulação. Permitir que o resíduo coletado em papel de filtro seque totalmente antes da determinação do N- Kjeldahl. A acetona pode gerar artificialmente altos valores de nitrogênio.

***Cálculos:***

A FSDN é calculada como:

$$\text{FSDN} = (\text{RIEMO} - \text{RIEPB}) - (\text{FDNcp}) - \text{AMIDO},$$

onde

1. RIEMO: resíduo de matéria orgânica insolúvel em etanol;

RIEMO % da MS da amostra original:

$$[\frac{((\text{peso do cadinho seco} + \text{resíduo}) - (\text{peso do cadinho seco} + \text{cinzas}))}{(\text{ASA (g)} \times \text{MS\%})}] \times 100$$

2. RIEPB: resíduo de proteína insolúvel em etanol.

RIE PB % da matéria seca da amostra:

$$[(\text{Nitrogênio no RIE, g}) \times 6,25] / (\text{ASA (g)} \times \text{MS\%})] \times 100$$

1. FDNcp: Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para os teor de cinzas e proteína;

### **Fração B2'** - (Carboidrato fibroso – celulose e hemicelulose)

A fração B2 pode ser calculada pela diferença entre FDNcp – Fração C

### **Fração C'** (lignina)

A fração C' é estimada pela multiplicação da concentração de lignina pelo fator 2,4.

## **DEGRADAÇÃO *IN VITRO* DE CARBOIDRATOS**

### **PRODUÇÃO DE GASES (Frações A e B1)**

#### ***Método:***

Incubação *in vitro* do alimento e medição dos gases oriundos da fermentação. Goering & Van Soest (1970) e Malafaia et al.(1999)

#### ***Aplicação:***

Medir taxa de degradação das frações A e B<sub>1</sub> dos carboidratos

#### ***Equipamentos:***

- Aparelho com medidor de pressão (manômetro 14psi) acoplado a seringa de vidro (20 mL) para medição de pressão e volume
- Frascos de penicilina (100 mL) com tampa de borracha
- Lacs de alumínio
- Mesa de agitação orbital
- Sala de incubação (39°C). (pode ser substituído por Banho Maria)
- Fonte de Gás CO<sub>2</sub>
- Provetas (10 e 40 mL)
- Pipeta (2 mL)
- Vidrarias para preparo das soluções: Enlermeyers (2 – 4 litros/ depender da quantidade de solução); Béquers (50 – 100 mL)
- Agitador magnético

***Reagentes:***

- Trypticase
- Sulfeto de sódio nonahidratado ( $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ )
- Cisteína – HCl
- Resazurina (0,1% p/v)
- Bicarbonato de Amônio ( $\text{NH}_4\text{CO}_3$ )
- Bicarbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{HCO}_3$ )
- Fosfato de sódio dibásico anidro ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )
- Dihidrogenofosfato de potássio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
- Sulfato de Magnésio heptahidratado ( $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )

***Preparação de soluções:***

Solução tampão (1 litro)

- Pesar 4g de Bicarbonato de Amônio ( $\text{NH}_4\text{CO}_3$ ) em béquer de 100 mL
- Pesar 35 g de Bicarbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{HCO}_3$ ) em béquer de 100 mL
- Adicionar água destilada aos reagentes e agitar com agitador magnético para completa diluição
- Transferir para balão volumétrico (1 litro), lavando os béquers repetidamente e completar com água destilada

Solução macromineral (1 litro)

- Pesar separadamente em béquers de 100 mL:
  - 5,7g de Fosfato de sódio dibásico anidro ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )
  - 6,2 g de Dihidrogenofosfato de potássio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
  - 0,6 g de Sulfato de Magnésio heptahidratado ( $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )
- Adicionar água destilada aos reagentes e agitar com agitador magnético para completa diluição
- Transferir para balão volumétrico (1 litro), lavando os béquers repetidamente e completar com água destilada

Solução micromineral (100 ml)

- Pesar separadamente em béquers de 100 mL:

13,2 g de Cloreto de Cálcio dihidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )

10 g de Cloreto de Manganês tetrahidratado ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )

1 g de Cloreto de Cobalto hexahidratado ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )

8 g de Cloreto Férrico ( $\text{FeCl}_3$ )

- Adicionar água destilada aos reagentes e agitar com agitador magnético para completa diluição
- Transferir para balão volumétrico (100 mL), lavando os béquers repetidamente e completar com água destilada

#### Resazurina 0,1%

- Pesar 0,1 g de resazurina e diluir em 100 mL de água destilada

#### Hidróxido de sódio (1N)

- Pesar 0,4 g de hidróxido de sódio e diluir em 100 mL de água

#### Solução de meio (1 litro)

*\* Preparar a solução no dia anterior à incubação*

- Pesar 2,5g de Trypticase em béquer de 100 mL (diluir em água destilada e agitar com agitador magnético para completa diluição)
- Adicionar em béquer de 1 litro:
  - 0,125 mL (125 $\mu$ l) solução micromineral;
  - 250 mL de solução macromineral
  - 250 mL de solução tampão
  - 1,25 mL de resazurina (0,1%)
  - 500 mL de água destilada
- Agitar todos reagentes com agitador magnético, verificar a coloração lilás da solução
- Manter a solução pronta em sala de incubação a 39°C aspergindo  $\text{CO}_2$  por uma noite, para mudança da coloração lilás para incolor, indicando que a solução se encontra reduzida

#### Solução redutora (100 ml)

- Pesar separadamente em béquers de 100 mL:
  - 625 mg de Cisteína hidrocloreídica (HCl)
  - 625 mg de Sulfeto de sódio nonahidratado (Na<sub>2</sub>S.9H<sub>2</sub>O)
- Agitar os reagentes com agitador magnético para completa diluição
- Adicionar 4 mL de hidróxido de sódio (1N) e 95 mL de água destilada em balão volumétrico de 100 mL

### ***Procedimentos***

1. Pesar 0,5 g de amostra seca ao ar (ASA) em frascos de penicilina de 100 mL (Fazer 4 repetições em cada amostra)
2. Na sala de incubação a 39°C adicionar 40 mL de solução de meio e 2 mL de solução redutora nos frascos
3. Aspergir CO<sub>2</sub> nas paredes do frasco, tampar com a rolha de borracha
4. Coletar líquido de rúmen do animal com garrafa térmica e filtrar em tripla camada de gaze
5. No laboratório, aspergir CO<sub>2</sub> na garrafa térmica e se necessário filtrar novamente o líquido em camada de gaze
6. Verificar a mudança de coloração rósea para incolor da solução de meio + solução redutora nos frascos
7. Adicionar 10 mL de líquido de rúmen aos frascos
8. Aspergir CO<sub>2</sub> nas paredes do frasco, tampar com a rolha de borracha e vedar com lacre de alumínio
9. Levar para mesa de agitação orbital
10. Fazer leitura dos gases (pressão e volume) nos tempos 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 18; 24; 30; 36; 40; 48; 56; 68; 72 e 96 horas

### **DEGRADAÇÃO *IN VITRO* DA FDN**

#### ***Método:***

Incubação *in vitro* do alimento (Goering e Van Soest, 1975)

#### ***Aplicação:***

Este procedimento é usado para medir degradação da Fibra Solúvel em Detergente Neutro (FDN)

Os equipamentos (com exceção do primeiro item), reagentes e soluções para esta análise são iguais aos utilizados na incubação para produção de gases.

### ***Procedimentos***

- Pesar 0,5 g de amostra seca ao ar (ASA) em frascos de penicilina de 100 mL (Fazer 4 repetições em cada tempo)
- Na sala de incubação a 39°C adicionar 40 mL de solução de meio e 2 mL de solução redutora nos frascos
- Aspergir CO<sub>2</sub> nas paredes do frasco, tampar com a rolha de borracha
- Coletar líquido de rúmen do animal com garrafa térmica e filtrar em tripla camada de gaze
- No laboratório, aspergir CO<sub>2</sub> na garrafa térmica e se necessário filtrar novamente o líquido em camada de gaze
- Verificar a mudança de coloração rósea para incolor da solução de meio + solução redutora nos frascos
- Adicionar 10 mL de líquido de rúmen aos frascos
- Aspergir CO<sub>2</sub> nas paredes do frasco, tampar com a rolha de borracha e vedar com lacre de alumínio
- Levar para mesa de agitação orbital
- Retirar os frascos nos tempos 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 72 e 96 horas
- Após cada retirada, filtrar em cadinhos filtrantes porosidade 0-1, previamente secos em estufa 105°C e pesados
- Proceder a análise de FDN e posterior correções para cinzas e proteína.

### **Recomendações e sugestões**

1 – Durante o período de incubação recomenda-se agitar o frasco. Motivo: O CO<sub>2</sub> pode supersaturar a solução. Esta supersaturação pode ser minimizada na presença de suspensões sólidas finamente divididas. Tendo o cuidado de não deixar partículas de forragem aderidas na parede superior dos frascos.

2 – Depois de algumas horas de incubado recomenda-se, com o uso de uma agulha, retirar o gás produzido durante o processo de digestão, para evitar saturação do meio, e no momento da filtração, para evitar que o líquido derrame no momento de abrir o

frasco.

3 - Até que seja realizada a filtração, recomenda-se colocar os vidros tão logo sejam retirados em seu tempo, no congelador por 10 minutos para cessar a atividade degradativa. Se não tiver condições de realizar a filtração após este tempo, recomenda-se retirar do congelador e manter sob-refrigeração (geladeira), até que seja possível a filtração.