



Validação do Lipe® como método para determinar a digestibilidade dos nutrientes em eqüinos¹

Virgínia Aguiar Sorice Lanzetta², Adalgiza Souza Carneiro de Rezende³, Eloisa de Oliveira Simões Saliba³, Ângela Maria Quintão Lana³, Norberto Mario Rodriguez³, Patrícia Carneiro Bernardes Moss⁴

¹ Pesquisa financiada pela FAPEMIG.

² Curso de mestrado da Escola de Veterinária da UFMG.

³ Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG.

⁴ Iniciação Científica do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária/UFMG.

RESUMO - Avaliou-se a eficiência da lignina purificada e enriquecida (Lipe®) como indicador externo para estimar a digestibilidade dos nutrientes de dietas em eqüinos em comparação aos métodos de coleta total de fezes e do indicador óxido crômico. Foram utilizadas seis potras Mangalarga Marchador, com média de 2 anos de idade e 345 kg de peso vivo, alimentadas com feno de alfafa e concentrado comercial na proporção de 50:50, para ingestão de matéria seca de 3,1%PV, e sal mineral. O experimento teve duração de 29 dias, de modo que os 24 dias iniciais foram destinados à adaptação dos animais à dieta e às instalações e os cinco finais para coleta total das fezes. Utilizou-se delineamento em blocos casualizados, no qual cada animal constituiu um bloco e cada método de determinação da digestibilidade, um tratamento. Os cálculos de produção fecal e digestibilidade de cada nutriente foram feitos utilizando-se os indicadores e a taxa de recuperação fecal de cada nutriente. Os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes obtidos utilizando-se o óxido crômico foram superiores aos da coleta total e Lipe®. Os resultados obtidos com Lipe® foram similares aos determinados por coleta total. O método do óxido crômico é inadequado, enquanto o Lipe® é eficiente para estimar a digestibilidade de nutrientes da dieta em eqüinos.

Palavras-chave: cavalo, consumo, dieta, indicadores, matéria seca

Validation of Lipe® as method to evaluate the apparent digestibility of nutrients in equines

ABSTRACT - The objective of this work was to test the efficiency of enriched and purified lignin, Lipe®, as external indicator in order to estimate the apparent digestibility of the nutrients in equine diets, compared with the total feces collection and the chromic oxide methods. Six female Mangalarga Marchador with average of two years of age and average weight of 331 kg were used. The diet was alfalfa hay, commercial grain and mineral salt. The experimental period was of 29 days, the first 24 used for the adaptation of animals to the diet and facilities and the last five days for feed estimation and total feces collection. A random blocks design was used in which each animal constituted one block and each digestibility determination method, one treatment. The digestibility of nutrients using chromic oxide were smaller than those from the total collection and Lipe®, and those estimated by the Lipe® were similar to those from the total collection. Chromic oxide revealed to be inadequate and Lipe® was considered efficient to estimate the apparent digestibility in equine.

Key Words: diet, dry matter, horse, intake, markers

Introdução

Na nutrição animal, o conhecimento do valor nutritivo dos alimentos é importante para formulação de dietas balanceadas. Para avaliar os nutrientes que devem ser aproveitados pelo animal, pode-se determinar a digestibilidade aparente (porção do nutriente consumido passível de ser digerida no trato gastro intestinal). De acordo com Meyer

(1995), a individualidade do animal, a composição química da dieta, o nível de consumo, a atividade física, o tipo de alimento e o tamanho das partículas afetam a permanência do alimento nos diversos segmentos do aparelho digestivo dos eqüinos, alterando sua digestibilidade.

O método mais indicado para determinar da digestibilidade aparente em eqüinos é o da coleta total de fezes, que é trabalhoso, pois os animais devem ficar confina-

dos para a coleta total das fezes por um período mínimo de cinco dias, o que no caso dos equínos, é difícil, pelo grande volume de fezes produzido (Mauricio et al., 1996). As limitações desta metodologia tornam os métodos indiretos ou dos indicadores uma prática comum. Entretanto, estes métodos podem apresentar falhas e fornecer resultados diferentes da coleta total, que é base de referência para validação dos diversos métodos existentes.

Pesquisas têm sido desenvolvidas na busca de um indicador que apresente resultados semelhantes aos obtidos com a coleta total de fezes. De acordo com Kotb & Lukey (1972), para que uma substância seja escolhida como indicador, é necessário que não seja absorvida nem digerida no aparelho digestivo, não modifique o comportamento normal dos demais nutrientes, não provoque efeitos tóxicos para o animal, atravesse o trato digestório de maneira uniforme e seja facilmente analisada, além de permanecer ligada à parte da digesta que será estudada.

Embora o óxido crômico seja aceito e utilizado como indicador externo, possui limitações, pois os resultados podem ser superestimados pelas perdas no seu fornecimento e falhas na taxa de recuperação nas fezes (Saliba, 2005b).

O Lipe® (lignina purificada e enriquecida), produto desenvolvido por pesquisadores do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária e de Química do Instituto de Ciências Exatas da UFMG, mostrou ser eficiente como indicador de digestibilidade em pesquisas realizadas com diversas espécies.

Objetivou-se comparar os métodos indiretos óxido crômico e Lipe® ao método tradicional de coleta total de fezes visando validar o Lipe® como indicador externo de digestibilidade dos nutrientes da dieta em equínos.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no haras Luxor, situado no município de Caeté, Minas Gerais. Foram utilizadas seis potras da raça Mangalarga Marchador, filhas do mesmo garanhão, com aproximadamente 2 anos de idade e peso médio de 345 kg. Os animais foram identificados e

vermifugados uma semana antes do experimento e pesados no início do período experimental e semanalmente, até o final. Durante todo o período, foram mantidos em baias de alvenaria, com área de 16 m² e quatro cochos de cimento para fornecimento de volumoso, concentrado, sal mineral e água, respectivamente. O piso era de cimento com declive de aproximadamente 1% para escoamento da urina e foi mantido sem cama.

A dieta consistiu de feno de alfafa (*Medicago sativa*) e ração comercial (15% de PB). Para fornecimento do concentrado e do feno, estabeleceu-se a ingestão de matéria seca em 3,1% PV, composto por 50% de concentrado e 50% de volumoso. A quantidade de ração concentrada oferecida (Tabela 1) foi de 6 kg por animal, por dia, divididos em três fornecimentos diários (2 kg pela manhã, 2 kg à tarde e 2 kg à noite).

O experimento teve duração de 29 dias, de modo que os 24 iniciais foram de adaptação à dieta e às instalações. A coleta total das fezes foi feita durante os cinco dias finais e foi dividida em dois turnos diários, das 6 às 18 h e das 18 às 6 h. Em cada turno, o material defecado de cada animal foi recolhido diretamente do chão e depositado em sacos de polietileno. Após cada turno, foram retiradas amostras de aproximadamente 400 g após homogeneização e pesagem das fezes. As amostras foram embaladas em sacos plásticos, identificadas e armazenadas em congelador a -5°C.

O óxido crômico (Cr₂O₃) foi misturado previamente ao óleo de soja, na proporção de 900 g para 1.800 mL de óleo de soja. Desta mistura, utilizando-se uma seringa de 50 mL, foram fornecidos diretamente na boca dos animais 20 mL/animal/dia, o que correspondeu a 10 g de Cr₂O₃/animal/dia, administrados uma vez ao dia, às 17 h. O fornecimento do óxido crômico foi iniciado no 10º dia do período pré-experimental, para adaptação dos animais e para equilíbrio de sua concentração nas fezes, e fornecido até o final do período experimental, totalizando 14 dias de fornecimento, conforme procedimento adotado por Lobo Jr. et al. (2001). Foi também oferecida uma cápsula de 0,25 g de Lipe®/animal/dia, misturada no concentrado, às 6 h, durante os cinco dias finais. O fornecimento do Lipe® foi iniciado um

Tabela 1 - Peso vivo das potras e consumos total de feno e de concentrado durante o período experimental

Animal	Peso vivo	Consumo de feno	Consumo de concentrado	Consumo total (kg MS)	Ingestão de matéria seca (%PV)
1	353,4	6,65	5,36	12,01	3,39
2	334,4	4,7	5,36	10,06	3,01
3	362,6	5,54	5,36	10,90	3,01
4	330,4	4,79	5,36	10,15	3,07
5	381,8	6,97	5,36	12,36	3,24
6	308,8	3,18	5,36	8,54	2,77
Média	345,23	5,30	5,36	10,67	3,09

Tabela 2 - Composição química da dieta, em porcentagem da matéria seca¹

Nutriente (% MS)	Feno de alfafa	Concentrado
Matéria seca	83,15	89,38
Proteína bruta	21,05	15,48
Fibra bruta	35,53	16,26
Fibra em detergente neutro	69,74	31,48
Fibra em detergente ácido	49,74	11,63
Celulose	32,80	2,51
Hemicelulose	20,00	9,85
Lignina	17,62	1,28
Extrato etéreo	1,71	4,77

¹ Análise realizada no laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária da UFMG.

dia antes do período de coleta das fezes, pois não requer período de adaptação e sua eliminação uniforme nas fezes ocorre 24 horas após sua administração.

As amostras de fezes foram descongeladas à temperatura ambiente. Após homogeneização, foi retirada uma amostra de aproximadamente 400 g por animal, que foi dividida em duas amostras, pesadas, acondicionadas em bandejas e submetidas a pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 65°C por 72 horas. Em seguida, as amostras foram novamente pesadas e trituradas em moinho tipo Willey em peneira com crivo de 1 mm. Este material foi acondicionado em frascos plásticos hermeticamente fechados, contendo as fezes de cada animal, os quais foram devidamente identificados.

As amostras dos alimentos e das fezes foram submetidas às análises de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), extrato etéreo (EE), de acordo com metodologia descrita por Silva (1981). Os componentes da parede celular, como fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose, hemicelulose, lignina, foram analisados segundo Van Soest (1991). O óxido crômico foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica, também de acordo com metodologia descrita por Silva (1981) e o Lipe® pela espectroscopia no infravermelho, segundo Saliba (2005).

As médias dos coeficientes de digestibilidade foram calculadas a partir dos dados de consumo, medidos durante o período experimental, e dos dados de produção fecal, obtidos pela coleta total das fezes e estimados pelo uso dos indicadores óxido crômico e Lipe®.

A taxa de recuperação fecal dos indicadores foi calculada a partir dos valores de produção fecal obtidos com uso dos indicadores externos óxido crômico (Smith & Deird, 1955) e Lipe® (Saliba, 2005) e da produção fecal obtida pela coleta total das fezes. Os valores encontrados por meio dos indicadores foram comparados ao valor obtido pela coleta total de fezes, o qual foi considerado com 100% de recuperação.

Foram calculados os valores de produção fecal (PF) com os indicadores utilizando-se as fórmulas relacionadas a seguir:

$$\text{PF na MS (mg)} = \frac{\text{Quantidade de Cr fornecido (mg)}}{\% \text{ de Cr excretado nas fezes}}$$

em que: PF = Produção fecal, em mg

$$\text{PF na MS (g)} = \frac{\text{Quantidade de LIPE® fornecido (g)}}{\frac{A_i}{\text{MS total}}} \times 100$$

em que: PF = produção fecal, em gramas; A_i = relação logarítmica das intensidades de absorção das bandas dos comprimentos de onda a 1.050 cm⁻¹/1.650 cm⁻¹; MS total = matéria seca total.

$$A_i \text{ é calculado pela fórmula: } A_i = \frac{A_{1050}}{A_{1650}}$$

em que: $A = \log \frac{I^0}{I}$, de modo que: $I^0 >$ intensidade; $I <$ intensidade.

A partir dos resultados das análises laboratoriais, dos dados de consumo e da produção fecal, foram calculados os coeficientes de digestibilidade aparente segundo Pond et al. (1995):

$$\text{CDA (\%)} = \frac{\text{Nutriente consumido(g)} - \text{Nutriente nas fezes(g)}}{\text{Nutriente consumido(g)}} \times 100$$

no qual o nutriente nas fezes foi calculado pela aplicação da fórmula:

$$\text{Nutrientes nas fezes (g)} = \frac{(\text{PF estimada} \times \% \text{ Nutriente nas fezes})}{100}$$

em que PF estimada = produção fecal obtida utilizando-se o indicador (óxido crômico ou Lipe®).

Foram feitos ainda os cálculos da taxa de recuperação fecal do indicador utilizando-se a fórmula de Vasconcellos (2004), descrita a seguir:

$$\text{Taxa de recuperação (\%)} = \frac{\text{PF est. pelo ind.}}{\text{PF obs. pela CT}} \times 100$$

em que: PF est. pelo ind. = produção fecal estimada utilizando-se o indicador (óxido crômico ou Lipe®).

PF obs. pela CT = produção fecal obtida pelo método da coleta total de fezes.

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, com seis animais por grupo experimental. Os coeficientes de digestibilidade aparente foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Student Newman Keuls ($P < 0,05$), utilizando-se para análise

dos dados o programa SAEG - Sistema de Análises Estatísticas (UFV, 2000).

Resultados e Discussão

Houve diferença ($P < 0,05$) entre os valores encontrados com o indicador óxido crômico e aqueles obtidos com a coleta total. Os valores de produção fecal e recuperação fecal do indicador obtidos com o óxido crômico foram subestimados. Mauricio (1993) também encontrou taxas de recuperação fecal do óxido crômico em equínos, asininos e muaras de 80,00; 75,32 e 80,72%, respectivamente, e atribuiu esses baixos resultados a deficiências no modo de fornecimento do indicador, que levou a perdas durante o fornecimento ou a erros analíticos durante sua quantificação. Neste trabalho, a baixa recuperação fecal do óxido crômico provavelmente ocorreu pelas perdas durante a ingestão, pois o indicador não foi bem aceito pelos animais e houve perdas no fornecimento. Houve também retenção nos lábios e na boca dos animais de resíduos da mistura que continha o óxido crômico, o que levou a ingestão inferior à prevista.

Pereira et al. (1995), em ensaio de digestão com equínos, acharam recuperação fecal do óxido crômico de 82,7%. Oliveira et al. (2003), em estudo com potros, observaram que os coeficientes de digestibilidade da matéria seca avaliados com o óxido crômico foram subestimados em relação ao método da coleta total de fezes. Esses resultados foram relacionados ao percentual de recuperação do indicador nas fezes, de 71,17%, mais baixo que o observado neste trabalho. No entanto, Parkins et al. (1982), trabalhando com cavalos da raça Puro-Sangue Inglês, estudaram a taxa de recuperação fecal do óxido crômico e obtiveram índice de recuperação médio para este indicador de 94,8%.

O Lipe[®], por sua vez, apresentou resultados, tanto da produção fecal quanto da recuperação fecal, semelhantes aos obtidos com a coleta total de fezes ($P > 0,05$), mostrando ser mais eficiente para o cálculo da produção fecal que o óxido crômico. Saliba (2004), em pesquisa realizada com coelhos, também verificou que o valor de produção fecal estimado pelo Lipe[®] não diferiu ($P > 0,05$) do obtido pela coleta total das fezes. Resultados semelhantes foram também encontrados por Pereira (2003) em pesquisa com coelhos utilizando o mesmo indicador para avaliação da digestibilidade de dietas com vários níveis de polpa cítrica.

Saliba et al. (2003) observaram, em experimentos realizados com ovinos e suínos, que a produção fecal calculada

com o Lipe[®] apresentou resultados equivalentes aos obtidos com a coleta total das fezes.

A taxa média de recuperação fecal do Lipe[®], de 95,94% (Tabela 3), foi semelhante à da coleta total de fezes ($P > 0,05$). Saliba et al. (2003) encontraram taxas médias de recuperação fecal do Lipe[®] de 102,6 e 94,6% em suínos, 97,9 e 99,3% em coelhos e 95,9% em ovinos. Vasconcellos (2004), trabalhando com frangos de corte, obteve taxa média de recuperação fecal do Lipe[®] de 102,14%, valor que não diferiu ($P > 0,05$) do obtido pela coleta total das fezes. O fornecimento do Lipe[®] em cápsulas garantiu a ingestão do indicador sem a ocorrência de perdas, além de ter levado a maior precisão na técnica analítica conforme citado por Saliba (2005).

Os resultados dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes dependem diretamente dos resultados de produção fecal estimados pelos indicadores, uma vez que o valor do consumo real e os valores dos nutrientes encontrados nas fezes foram calculados a partir dos resultados de produção fecal estimados. Portanto, a diferença nos resultados de produção fecal implicou diferenças também nos valores encontrados para a digestibilidade dos nutrientes. Resultados semelhantes foram observados por Pereira et al. (1995) e Maurício et al. (1996), que relataram baixa recuperação fecal deste indicador em ensaios de digestão em equínos.

Os valores de digestibilidade calculados pela coleta total das fezes e uso dos indicadores seguiram, então, a mesma tendência para todos os nutrientes e foram superestimados pelo indicador óxido crômico ($P < 0,05$) e quando estimados pelo Lipe[®] apresentaram resultados semelhantes aos obtidos pela coleta total de fezes. Vasconcellos (2004), em trabalho realizado com frangos de corte, encontrou dados de digestibilidade superestimados pelo óxido crômico quando os valores de produção fecal foram subestimados, além de menor taxa de recuperação fecal do indicador. Oliveira et al. (2003) concluíram que o óxido crômico foi inadequado para estimar a digestibilidade dos nutrientes da dieta em equínos e relacionaram esses resultados à baixa recuperação do indicador nas fezes. Ramos (2003) também

Tabela 3 - Produção e recuperação fecal obtidos pelos métodos de coleta total de fezes, óxido crômico e Lipe[®], em kg de matéria seca

Método	Produção fecal	Recuperação fecal
Coleta total	3,92A	100,00A
Óxido crômico	3,30B	83,73B
Lipe [®]	3,76A	95,94A
CV (%)	9,76	9,76

Letras distintas nas colunas indicam médias diferentes ($P < 0,05$) pelo teste SNK.

Tabela 4 - Digestibilidade dos nutrientes da dieta

	Método			CV (%)
	Coleta total	Óxido crômico	Lipe®	
Matéria seca (%)	63,37B	69,28A	64,86B	5,04
Proteína bruta (%)	78,90B	82,25A	79,73B	2,36
Extrato etéreo (%)	97,81B	98,14A	97,90AB	0,20
Fibra bruta	50,11B	58,39A	52,13B	8,45
Fibra em detergente neutro	54,20B	61,72A	56,04B	7,31
Fibra em detergente ácido	52,53B	60,18A	54,35B	7,82
Celulose	45,42B	54,46A	47,56B	10,24
Hemicelulose	56,91B	64,14A	58,70B	6,54

Letras distintas na coluna indicam médias diferentes ($P < 0,05$) pelo teste SNK.

verificou que os resultados dos coeficientes de digestibilidade em equinos obtidos com o óxido crômico diferiram dos encontrados com a coleta total das fezes e atribuiu esses resultados à baixa recuperação fecal do indicador, de 73,22%, que foi menor que a taxa de 83,73% encontrada neste trabalho

Os resultados obtidos com a utilização do Lipe® não foram diferentes ($P > 0,05$) daqueles alcançados com o método de coleta total de fezes, uma vez que os dados de produção fecal estimados pelo indicador foram semelhantes aos da coleta total. Saliba et al. (2005) encontraram valores similares ($P > 0,05$) entre o Lipe® e a coleta total de fezes para estimativa da digestibilidade dos nutrientes de dietas para coelhos em crescimento. Vasconcellos (2004), do mesmo modo, verificou que os dados de produção fecal, recuperação fecal do indicador Lipe® e de digestibilidade aparente dos nutrientes de dietas para aves foram semelhantes ($P > 0,05$) aos obtidos por coleta total de fezes. Saliba et al. (2003), testando o Lipe® em ovinos, encontraram resultados satisfatórios, uma vez que os coeficientes de digestibilidade da matéria seca obtidos com o indicador foram equivalentes aos da coleta total, assim como os dados de produção fecal.

Conclusões

O método Lipe® foi eficiente como indicador de digestibilidade em equinos e pode ser utilizado em substituição ao método de coleta total das fezes. O óxido crômico é inadequado para estimar a digestibilidade dos nutrientes em equinos, pois subestima a produção fecal, em razão da baixa taxa de recuperação fecal, e superestima os dados de digestibilidade dos nutrientes.

Agradecimentos

Ao Professor Ivan Barbosa Machado Sampaio, pelo grande apoio na implantação da etapa experimental do

projeto. Aos proprietários e funcionários do Haras Luxor, por terem possibilitado a condução da etapa experimental do trabalho.

Literatura Citada

- KOTB, A.R.; LUCKEY, T.D. Markers in nutrition. **Nutrition Abstract & Review**, n.42, v.3, p.814-845, 1972.
- LOBO JR., M.F.; REZENDE, A.S.C.; SALIBA, E.O. et al. Coeficientes de digestibilidade aparente pelos métodos de indicadores e coleta total de fezes em cães. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.53, n.6, p.635-637, 2001.
- MAURÍCIO, R.M. **Determinação da digestibilidade aparente em equídeos através do óxido crômico, da lignina e da coleta total das fezes**. 1993. 62f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1993.
- MEYER, H. **Alimentação de cavalos**. 2.ed. São Paulo: Livraria Varela, 1995. 303p.
- OLIVEIRA, C.A.A.; ALMEIDA, F.Q.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Estimativa da digestibilidade aparente de nutrientes em dietas para equinos, com o uso do óxido crômico e indicadores internos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1681-1689, 2003.
- PARKINS, J.J.; SNOW, H.; ADAMS, S. The apparent digestion of "complete diets" cubes given to thoroughbred horses and the use of chromic oxide as an inert fecal marker. **British Veterinary Journal**, v.138, p.350-355, 1982.
- PEREIRA, J.C.; QUEIROZ, A.C.; CARMO, M.B. Avaliação de métodos para determinação da digestibilidade aparente em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.3, p.382-390, 1995.
- PEREIRA, R.A.N. **Lignina isolada do *Eucalyptus grandis* como indicador em experimentos de digestibilidade com coelhos**. 2003. 95f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.
- POND, W.G.; CHURCH, D.C.; POND, K.R. **Basic animal nutrition and feeding**. 4.ed. New York: John Wiley & Sons, 1995. 615p.
- RAMOS, S.C. **Comparação de diferentes indicadores com método da coleta total para determinação da digestibilidade aparente de diferentes dietas para equinos**. 2003. 70f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.
- SALIBA, E.O.S.; RODRIGEZ, N.M.; PILO-VELOSO, D. et al. Estudo comparativo da coleta total com a lignina purificada como indicador de digestibilidade para ovinos em experimento com feno de Tifton 85. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. (CD-ROM).

- SALIBA, E.O.S.; NANJARO, A.; FERREIRA, W.M. et al. Avaliação da lignina de madeira moída do Pinus e da lignina purificada e enriquecida do Eucaliptus Grandis (Lipe®), como indicadores externos em experimentos de digestibilidade aparente para coelhos em crescimento. In: TELECOFERÊNCIA SOBRE INDICADORES EM NUTRIÇÃO ANIMAL, 1., 2005, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Escola de Veterinária/UFMG, 2005. p.23-25.
- SALIBA, E.O.S. Mini-curso sobre o uso de indicadores. In: TELECONFERÊNCIA SOBRE INDICADORES EM NUTRIÇÃO ANIMAL, 1., 2005, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Escola de Veterinária/UFMG, 2005a. p.23-35.
- SMITH, A.M.; REID, J.T. Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the purpose of determining the intake of a pasture herbage by grazing cows. **Journal of Dairy Science**, v.38, n.5, p.515-524, 1955.
- SILVA, D.J. **Análise de alimentos** (Métodos químicos e biológicos). Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1981. 166p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas - SAEG**. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000. 142p
- Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VASCONCELLOS, C.H.F. **Lignina purificada e modificada (Lipe®), óxido crômico e coleta total de excretas, como métodos de determinação da digestibilidade em frangos de corte**. 2004. 46f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.