



Avaliação dos teores de fibra em detergente neutro em forragens, concentrados e fezes bovinas moídas em diferentes tamanhos e em sacos de diferentes tecidos¹

Tiago Neves Pereira Valente², Edenio Detmann³, Sebastião de Campos Valadares Filho³, Augusto César de Queiroz³, Cláudia Batista Sampaio², Daiany Iris Gomes²

¹ Trabalho conduzido com apoio do CNPq, FAPEMIG (PPM) e INCT-Ciência Animal.

² Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Bolsista do CNPq.

³ Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Pesquisador do CNPq e do INCT-Ciência Animal.

RESUMO - Foram realizados dois experimentos objetivando-se avaliar a influência do tamanho das partículas sobre os teores de fibra em detergente neutro (FDN) utilizando-se sacos de náilon, F57 (Ankom[®]) e tecido-não-tecido (TNT – 100 g/m²). No primeiro experimento, com o intuito de aferir os teores de FDN obtidos com cada um dos tecidos, utilizou-se papel-filtro quantitativo (celulose purificada) como padrão analítico. O material foi processado em 1 e 2 mm e acondicionado nos sacos seguindo-se a relação de 20 mg de matéria seca/cm² de superfície. Utilizou-se aparelho analisador de fibras (Ankom²²⁰), empregando-se α -amilase termoestável. Não foram verificados efeitos do tamanho de partículas. Contudo, perdas de partículas significativas foram verificadas com o uso do náilon. No segundo experimento foram utilizadas amostras de forragem (feno de capim-braquiária, cana-de-açúcar, feno de coastcross, palha de milho, silagem de milho e capim-elefante cortado aos 50 dias e 250 dias de rebrotação), alimentos concentrados (sorgo grão, glúten de milho, polpa cítrica, farelo de algodão, farelo de soja, farelo de trigo, milho grão, soja grão e casca de soja) e fezes bovinas oriundas de animais alimentados com dietas contendo 15 e 50% de concentrado. As amostras foram preparadas, acondicionadas e analisadas como descrito no experimento anterior. Os menores teores de FDN foram encontrados com o uso de sacos de náilon, o que indica perda de partículas pela porosidade do saco. Recomenda-se a moagem de amostras em peneiras de porosidade 1 mm, o que propicia a extração eficiente do conteúdo celular pela ação do detergente neutro e maior superfície específica para ação da α -amilase termoestável. O uso de partículas processadas a 2 mm conduz à superestimação dos teores de FDN.

Palavras-chave: celulose purificada, F57, náilon, tecido-não-tecido

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

ABSTRACT - Two experiments were carried out to evaluate the effects of particles sizes on contents of neutral detergent fiber (NDF) by using nylon bags F57 (Ankom[®]) and non-woven textile (NWT – 100 g/m²). In the first experiment, to check contents of NDF obtained with each one of the textiles, quantitative filter paper (purified cellulose) was used as analytical standard. The material was processed in a 1 or 2 mm and put in the bags in a ratio of 20 mg of dry matter/cm² of surface. The analyses were performed in a fiber analyser (Ankom²²⁰) and using a heat-stable α -amylase. No effects of particles sizes were found. In the second experiment, it was used samples of forage (signal grass hay, sugar cane, coastcross hay, corn straw, corn silage, and elephant grass at 50 and 250 days of growing after cutting), concentrate feeds (sorghum grain, gluten meal, citrus pulp, cottonseed meal, soybean meal, wheat bran, corn grain, whole soybean, and soybean hulls), and feces of cattle of animals fed diets containing 15 or 50% of concentrate. The samples were prepared, put in bags, and analyzed as described in the previous experiment. In both experiments, the smallest contents of NDF were found by using nylon bags, indicating loss of particles through the bag porosity. It is suggested grind of samples by using 1-mm screen sieve, which provides efficient extraction of cell content by the action of neutral detergent and a greater specific surface by the action of the heat-stable α -amylase enzyme. The use of particles ground at 2-mm overestimates NDF contents.

Key Words: F57, non-woven textile, nylon, purified cellulose

Introdução

O conhecimento dos teores de fibra em detergente neutro (FDN) dos alimentos permite a formulação de dietas mais adequadas para animais de produção (Knudsen, 2001). Desde que foi desenvolvido na década de 1960, o método para obtenção dos teores de FDN tem sofrido numerosas modificações. A dificuldade para extração e lavagem dos resíduos fibrosos de algumas amostras impede o conhecimento exato do valor de FDN das forragens (Mertens, 2002).

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

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

Por outro lado, vários tecidos têm sido propostos para avaliação de fibras, tanto em termos analíticos diretos como em resíduos obtidos após procedimento de degradação ruminal. Destacam-se o náilon (50 μm), o F57 (Ankom[®]) e o tecido-não-tecido (TNT, 100 g/m^2). Uma das principais limitações do uso de tecidos para análise de resíduos fibrosos insolúveis, como a FDN, é a possibilidade de perda de partículas ocasionada pela estrutura de porosidade (Hvelplund & Weisbjerg, 2000; Casali et al., 2009). Contudo, informações comparativas quanto à eficiência analítica dos tecidos ainda são escassas.

Adicionalmente, o tamanho das partículas dos alimentos pode influenciar nas estimativas de concentrações de compostos fibrosos insolúveis. Amostras finamente moídas favorecem a ação de extração pelo detergente, mas podem dificultar o processo de filtragem. Tem-se sugerido, para avaliações laboratoriais, que as amostras sejam processadas em peneiras com porosidade de 1 mm (Van Soest et al., 1991).

No entanto, quando se utilizam tecidos como recipientes para as amostras em avaliações *in situ*, processamento com peneiras de porosidade 2 mm é sugerido (Vanzant et al., 1998; NRC, 2001) para se evitar perda de partículas através dos poros dos tecidos.

Assim, diante do exposto, definiu-se como o objetivo deste trabalho avaliar a perda de partículas utilizando-se papel-filtro quantitativo como padrão analítico de FDN e estimar o teor de FDN de amostras de alimentos volumosos, concentrados e fezes de bovinos moídas em peneiras de 1 e 2 mm e acondicionadas em sacos confeccionados com os tecidos náilon, F57 e TNT.

Material e Métodos

Foram realizados dois experimentos no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. Para os dois experimentos, foram confeccionados sacos de dimensão 4 \times 5 cm com os tecidos náilon (50 μm) e TNT (100 g/m^2). Os sacos do tecido F57 foram adquiridos confeccionados pelo fabricante (Ankom[®]) e apresentavam dimensões similares aos demais.

No primeiro experimento, utilizaram-se como padrão analítico para aferição dos teores de FDN amostras de papel-filtro quantitativo de filtragem rápida (faixa preta; diâmetro 12,5 cm; cód. 050154, Vetec[®]), composto por celulose purificada e apresentando 0,0086% de cinzas e 96,53% de matéria seca (MS). Os discos de papel foram processados em moinho de facas (peneiras com porosidades 1 e 2 mm).

O material moído foi adicionado em cinco sacos de cada tecido para cada tamanho de partícula, totalizando 30 sacos numa relação de 20 mg MS/cm² de superfície (Nocek, 1988). Após serem selados por calor, os sacos foram acondicionados em aparelho analisador de fibras (Ankom²²⁰[®]).

A solução de detergente neutro foi produzida segundo recomendações de Mertens (2002), omitindo-se o uso de sulfito de sódio e utilizando-se α -amilase termoestável (Termamyl 2X, Novozymes), na proporção de 50 $\mu\text{L}/\text{g}$ de MS. A relação detergente neutro:amostra foi mantida em 100 mL/g de MS, com tempo efetivo de extração de 1 hora em temperatura de 100°C.

Ressalta-se que a α -amilase termoestável foi adicionada em conjunto com o detergente neutro não-aquecido. Isto visou propiciar a ativação da enzima em conjunto com o aquecimento gradativo do detergente neutro. Embora o material adicionado aos sacos não contivesse amido, optou-se pelo uso da α -amilase termoestável com a finalidade

de aplicação do padrão do método em termos de reagentes, conforme sugestão de Mertens (2002).

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

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

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

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

e casca de soja. Foram coletadas fezes de dois bovinos alimentados com dietas contendo 15% e 50% de concentrado, com base na MS, as quais foram denominadas fezes de baixo concentrado (BC) e de alto concentrado (AC), respectivamente.

As amostras de forragens úmidas e fezes foram secas sob ventilação forçada (60°C) e, em conjunto com as demais amostras, processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade 1 e 2 mm. Exceção foi feita ao glúten de milho, que foi adquirido em tamanho de partícula de 1 mm, impedindo a avaliação a 2 mm. Foram utilizados cinco sacos de cada tecido para cada tamanho de partícula, totalizando 525 sacos. Utilizou-se a relação de 20 mg de matéria seca/cm² de superfície (Nocek, 1988).

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

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

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

Resultados e Discussão

Para o primeiro experimento, não houve efeito de tamanho de partículas ou interação entre tecido e tamanho partículas sobre as estimativas dos teores de FDN e sobre os vícios médios de recuperação do padrão analítico de celulose (ou perda de partículas fibrosas) (P>0,01). Dessa forma, os resultados foram apresentados por intermédio da média geral para ambos os tamanhos de partículas (Tabela 1).

A ausência de efeito de tamanho de partículas assemelha-se aos resultados obtidos por Casali et al. (2009), que verificaram, em procedimento de incubação *in situ*,

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

Item	Tecido			CV (%)
	F57	TNT	Náilon	
Fibra em detergente neutro (%) ¹	99,68a	99,55a	98,00b	0,50
Perda de partículas fibrosas (%) ^{1,2}	0,32b	0,45b	2,00*a	49,0
EPM	0,07	0,14	0,22	-

¹ Médias na linha, seguidas por letras diferentes, são diferentes pelo teste Tukey-Kramer (P<0,01).

² (*) estatisticamente diferente de zero (P<0,01).

CV = coeficiente de variação calculado a partir da variação residual; EPM = erro-padrão da média, calculado com base na variação intragrupo (tecido).

que o tamanho das partículas (1, 2 ou 3 mm) não influenciou a dimensão do resíduo indigestível de FDN.

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

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

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

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

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

No segundo experimento, não se observaram efeitos de tamanho de partículas, tecido ou sua interação ($P > 0,01$) para a silagem de milho e capim elefante (50 dias).

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

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

Diferenças nas estimativas médias de FDN entre tecidos foram obtidas para o feno de capim-braquiária e palha de milho. Em ambos os casos o F57 e o TNT não diferiram ($P > 0,01$) e propiciaram valores superiores aos encontrados com o náilon ($P < 0,01$) (Tabela 2).

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

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

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

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

Como anteriormente ressaltado, a recomendação da moagem de amostras em peneiras de porosidade 2 mm tem por principal objetivo reduzir a perda de partículas através dos poros dos tecidos. Contudo, os resultados aqui obtidos (Tabelas 2 e 3) indicam que vícios podem ser introduzidos nos resultados, não havendo assim benefício na exatidão das estimativas.

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

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

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

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

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

¹ Médias na linha, seguidas por letras minúsculas diferentes, e na coluna, seguidas por letras maiúsculas diferentes, dentro de cada material, são diferentes pelo teste Tukey-Kramer (P<0,01). BC = baixo concentrado; AC = alto concentrado.

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

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

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

Essa divergência de comportamento permite evidenciar que a recomendação obtida com padrão de celulose deve ser vista com cautela. Possivelmente, em função da alta complexidade físico-química de alimentos integrais frente ao padrão purificado (isento de conteúdo celular e de ligações químicas e interações físicas da parede celular), haveria demanda de ação mais complexa do detergente para extração do conteúdo celular, a qual seria incrementada com a maior superfície específica obtida com processamento a 1 mm.

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

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

havendo comprometimento sobre as estimativas, ao contrário da avaliação de material não-incubado (Tabelas 2 e 3).

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

Nestas mesmas circunstâncias, os efeitos do tamanho de partículas são menos proeminentes em alimentos volumosos, o que parece refletir uma relação inversa entre o teor de conteúdo celular e amido e a demanda de ação do detergente e da enzima α -amilase. Contudo, considerando-se particularmente os resultados obtidos com palha de milho e capim-elefante (250 dias) (Tabela 2), percebe-se que a ampliação do tamanho de partículas eleva os teores de FDN, mostrando que as inferências construídas sobre concentrados e fezes devem ser também projetadas sobre alimentos volumosos.

De forma geral, resguardando-se pequena variabilidade, observaram-se menores estimativas do teor de FDN utilizando-se o náilon (Tabelas 2 e 3). Esses resultados aparentemente indicam perda de partículas propiciadas por sua estrutura física, fato argumentado por outros autores (Casali et al., 2009; Valente et al., 2011) e corroborado pelos resultados obtidos com o padrão de celulose (Tabela 1), o que levaria à subestimação dos teores de FDN.

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

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

As divergências observadas entre TNT e F57, considerando-se partículas moídas a 1 mm para cana de açúcar e feno de coastcross (Tabela 2) e as médias marginais para o farelo de soja (Tabela 3), talvez possam ser atribuídas às características de resistência física dos tecidos. Segundo resultados demonstrados por Valente et al. (2011), o TNT apresenta menor resistência física em relação ao F57 após algumas etapas de análise de compostos indigestíveis. Desta forma, rompimentos de pequena magnitude, não perceptíveis visualmente, poderiam ter ocasionado perdas de partículas, as quais se concentraram, sem causa evidente, sobre estes materiais. Assim, considerando-se que apenas três entre os dezenove materiais avaliados evidenciaram esta divergência, tais diferenças parecem ser casuais. Contudo, evidencia-se que estudos que em que se contemplem aspectos físicos dos tecidos devem ser conduzidos.

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

Conclusões

O papel-filtro quantitativo composto por celulose purificada pode ser utilizado como padrão na aferição da exatidão de procedimentos analíticos para fibra em detergente neutro. A utilização dos tecidos F57 (Ankom®) e tecido não-tecido (TNT – 100 g/m²) proporciona estimativas acuradas dos teores de fibra em detergente neutro. Por sua vez, a exatidão dos resultados obtidos com náilon (50 µm) é comprometida, em decorrência da perda de partículas. Para a análise laboratorial de fibra em detergente neutro, a moagem deve ser feita utilizando-se peneiras de porosidade 1 mm para que haja correta extração do conteúdo celular pelo detergente neutro e ação eficiente da enzima α -amilase termoestável.

Referências

- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.335-342, 2008.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.130-138, 2009.
- CHERNEY, D.J.R. Characterization of forages by chemical analysis. In: GIVENS, D.I.; OWEN, E.; AXFORD, R.F.E. et al. (Eds.) **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International, 2000. p.281-300.
- FIGROID, W.; HALE, W.H.; THEURER, B. An evaluation of the nylon bag technique for estimating rumen utilization of grains. **Journal of Animal Science**, v.35, p.113-120, 1972.
- HVELPLUND, T.; WEISBJERG, M.R. *In situ* techniques for the estimation of protein degradability and post rumen availability. In: GIVENS, D.I.; OWENS, E.; AXFORD, R.F.E. et al. (Eds.) **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International, 2000. p.233-258.
- KNUDSEN, K.E.B. The nutritional significance of "dietary fibre" analyses. **Animal Feed Science and Technology**, v.90, p.3-20, 2001.
- KOMAREK, A.R. A filter bag procedure for improved efficiency of fiber analysis. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.250, 1993. (suppl.1)
- LITTELL, R.C.; FREUND, R.J.; SPECTOR, P.C. **SAS system for linear models**. Cary: SAS Institute, 1991. 329p.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: Academic Press, 2001. 381p.
- NOCEK, J.E. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2051-2069, 1988.
- NOZIÈRE, P.; MICHALET-DOREAU, B. *In sacco* methods. In: D'MELLO, J.P.F. (Ed.) **Farm animal metabolism and nutrition**. London: CAB International, 2000. p.233-253.
- VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA JR., V.R. et al. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2.ed. Viçosa, MG: DZO-UFV, 2006. 329p.
- VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. *In situ* estimation of indigestible compounds contents in cattle feed and feces using bags made from different textiles. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.666-675, 2011.
- Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A.S. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VANZANT, E.S.; COCHRAN, C.; TITGEMEYER, E.C. Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2717-2729, 1998.
- VOGEL, K.P.; PETERSEN, J.F.; MASTERSON, S.D. et al. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVDMD forage analysis. **Crop Science**, v.39, p.276-279, 1999.