

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA – UFU

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CURSO DE ZOOTECNIA

DalleyHaloma Alves Miler de Oliveira

**Determinação da fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido
em alimentos volumosos utilizando tecido não tecido com diferentes
gramaturas**

Uberlândia-MG

2019

DalleyHaloma Alves Miler de Oliveira

**Determinação da fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido
em alimentos volumosos utilizando tecido não tecido com diferentes
gramaturas**

Monografia apresentada ao curso de Zootecnia da Faculdade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Eliane da Silva Morgado

Uberlândia-MG

2019

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, que tem me dado saúde e força para superar as dificuldades, serei eternamente grata a ele por todas as bênçãos sobre a minha família, e minhas desculpas pelas vezes que minha fé foi insuficiente.

Aos meus pais, Jonh e Sara que batalharam para proporcionar a melhor educação para suas filhas, reconheço o amor, o encorajamento e o apoio incondicional.

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a Eliane da Silva Morgado, pelo suporte, pelas suas correções e incentivos.

A todos os amigos que de alguma forma fizeram parte dessa jornada eu agradeço a paciência, a cumplicidade e a ajuda.

E a esta universidade, aos docentes, diretores, coordenadores e administração que proporcionaram o melhor dos ambientes para que esse trabalho fosse realizado.

Muitíssimo obrigada.

Resumo: Com o objetivo de reduzir os custos com as análises de FDN e FDA pela técnica de saquinhos filtrantes, várias pesquisas tem sido feitas com a finalidade de verificar qual o melhor tipo de tecido alternativo pode ser utilizado na determinação da análise da fibra pela técnica dos saquinhos filtrantes. Objetivou-se comparar a análise da fibra em detergente ácido e fibra em detergente neutro pela técnica de saquinhos filtrantes utilizando-se o tecido não tecido com diferentes gramaturas (80 g/m², 100 g/m² e 120 g/m²). Foram avaliados os teores de matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) em amostra de feno de tifton 85, feno de gramínea peletizado, capim mulato II e bagaço de cana, por meio da técnica dos saquinhos filtrantes utilizando-se três diferentes gramaturas de tecido não-tecido (TNT), 80 g/m², 100 g/m² e 120 g/m² utilizando-se o equipamento digestor de fibra, modelo TE-149, marca TECNAL. Para avaliação da possível perda de partículas pelos tecidos, foi utilizado o papel filtro quantitativo como amostra padrão de celulose. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 3, com 4 alimentos volumosos e três gramaturas de TNT, com seis repetições por tratamento. Para avaliação da perda de partícula foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 3 tratamentos (gramatura dos saquinhos) e 3 repetições. Verificou-se que o tecido de 120 g/m² proporcionou maior perda de partícula, seguido pelo tecido de 80 g/m² e a menor perda foi observada para o tecido de 100 g/m². O menor teor de FDN dos alimentos volumosos avaliados foi observado para o TNT de 120 g/m² que diferiu estatisticamente do maior valor obtido no tecido de 100 g/m². Os diferentes tecidos avaliados proporcionaram diferentes valores de FDA, como menor valor obtido para o tecido de 120 g/m² e o maior valor para o de 100 g/m². Concluiu-se que o tecido de TNT com gramatura de 80 g/m² pode ser substituído pelo tecido de 100 g/m² para a análise da FDN, no entanto, recomenda-se cautela nesta substituição devido à maior perda de partícula ocorrida pelo tecido de 80 g/m². Na análise da FDA o tecido de TNT de gramatura de 100 g/m² não pode ser substituído pelos tecidos de 80 g/m² e de 120 g/m².

Palavras-chave: FDA, FDN, parede celular, TNT, volumoso.

Abstract

With the main objective of reducing costs with the analysis of NDF and ADF by the technique of filtering bags made of fabric F57 (Ankom®) Which has a high cost, a lot of research have been made with the purpose of verifying the best type of alternative fabric can be used on the determination of the analysis by the filtering bag technique. The objective was to analyze the fiber in acid detergent and in neutral detergent by the technique of the filtering bags using the non-woven fabric with different weights (80 g/m², 100 g/m² e 120 g/m²). Were evaluated the dry matter contents (DM), fiber in neutral detergent (NDF) and fiber in acid detergent (ADF) in Tifton 85 hay sample, pelleted grass hay, mulatto grass II and sugarcane bagasse, by the technique of the filtering bags using three different weight of non-woven fabric, 80 g/m², 100 g/m² e 120 g/m² using the fiber digester equipment, model TE-149, brand TECNAL. For evaluation of possible loss of particles by the fabric, the quantitative filter paper was used as the standard sample of cellulose. The experimental design used was the entirely randomized, in a 4x3 factorial scheme, with 4 roughage foods and three non-woven fabric weights, with six replicates per treatment. For the particle loss the completely randomized design was used with 3 treatments (weight of the bags) and 3 replicates. It was found that the fabric of 120g/m² had the biggest loss of particles, followed by the fabric of 80g/m² and the lowest loss was observed for the 100g/m² fabric. The lowest NDF content of the voluminous foods evaluated was observed for the non-woven fabric which differed statistically from the highest value obtained in the 100g/m² fabric. The different fabrics evaluated provided different values of ADF, as the lowest value obtained for the fabric of 120g/m² and the highest value for the 100g/m² fabric. It was concluded that non-woven fabric in the weight of 80g/m² can be replaced by the 100g/m² fabric for the analysis of the NFD, however , caution is recommended in this substitution due to the greater loss of particle occurred by the fabric of 80g/m². In the ADF analysis the 100g/m² non-woven fabric cannot be replaced by the 80g/m² and 120g/m² fabrics.

Key words: ADF, NDF, cell wall, non-woven fabric, roughage.

Sumário

1. Introdução	1
2. Referencial Teórico	2
2.1 A parede celular dos vegetais	2
2.2 Principais componentes da parede celular dos vegetais	3
2.3 Classificação dos carboidratos das plantas	4
2.4 Importância da fibra na alimentação de ruminantes	4
2.5 Determinação da fibra dos alimentos	5
2.6 Métodos de determinação da FDN e FDA	7
3. Material e Métodos	10
4. Resultados e Discussões	11
5. Conclusão	14
6. Referências	16

1. Introdução

A análise dos alimentos é de suma importância para a nutrição animal, o conhecimento dos teores de fibra permite aos nutricionistas formularem dietas adequadas para os animais de produção (FARIAS et al., 2015), principalmente os ruminantes que apresentam uma maior eficiência no aproveitamento da energia dos alimentos fibrosos que os demais herbívoros, graças à presença de micro-organismos na câmara de fermentação (retículo-rúmen) que antecede o principal sítio digestivo, e dessa forma, os produtos da fermentação terão mais eficiência de uso (VAN SOEST, 1994).

A análise de fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN) propostas por VAN SOEST em 1963 e VAN SOEST e WINE em 1967, foram desenvolvidas para quantificar com maior precisão tanto os componentes totais da parede celular como os das frações mais indigestíveis desta (SILVA e QUEIROZ, 2002).

Desde então, o método conhecido como convencional proposto por Van Soest vem sofrendo diversas modificações em busca de alternativas para avaliar o valor nutricional dos alimentos e/ou dietas com o objetivo de obter estimativas precisas da disponibilidade de nutrientes e também reduzir os custos e o trabalho em rotinas laboratoriais (LOURENÇO, 2010).

Dentro do contexto da utilização de métodos alternativos, alguns sistemas foram lançados no mercado como, por exemplo, o denominado método da “Filter Bag Technique” da Ankom (FBT) (ANKOM 2010), cujo princípio de funcionamento baseia-se na digestão e filtração das amostras de alimentos contidas em saquinhos filtrantes, utilizando-se em ambiente fechado (BERCHIELLI et al. 2001).

A técnica de saquinhos filtrante primeiramente desenvolvida para uso com o tecido Ankom[®] F57 tem sido modificada na literatura para uso de tecidos alternativos com custo mais baixo (SENGER et al., 2008; CASALI et al., 2009; VALENTE et al., 2011). Dessa forma, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a análise da fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido pela técnica de saquinhos filtrantes utilizando-se o tecido não tecido com diferentes gramaturas (80 g/m², 100 g/m² e 120 g/m²).

O tecido não-tecido é um material com baixo custo, além de se ter grande disponibilidade em todo o Brasil, quanto a utilização de saquinhos com diferentes gramaturas, os mesmos dariam aos pesquisadores maiores possibilidades de compra.

A técnica dos saquinhos filtrantes “Filter Bag Technique” da Ankom (FBT) (ANKOM 2010), utiliza saquinhos com o tecido Ankom[®] F57 e seu custo é elevado, pode ser comprado

por representantes brasileiros, mas, no entanto o preço de importação é repassado no valor do produto (BERCHIELLI et al., 2001), dessa forma, com o intuito de utilizar tecidos com menor custo foram desenvolvidas várias pesquisas com diferentes tipos de tecido como o TNT com gramatura de 100 g/m² e o tecido de náilon com porosidade de 50 µm, com resultados satisfatórios para o tecido de TNT e resultados contrastantes para o tecido de náilon (SENGER et al., 2008; CASALI et al., 2009; VALENTE et al., 2011). Segundo CASALI et al., (2009) e VALENTE et al. (2011), o tecido de TNT com gramatura de 100 g/m² foram eficientes na análise da fibra gerando resultados similares em termos analíticos com o tecido F57 (Ankom®), podendo ser substituído proporcionando estimativas acuradas dos teores de fibra em detergente neutro. No mercado brasileiro existem vários tipos de tecido de TNT com gramaturas diferentes, e objetivou-se com o presente trabalho avaliar tecidos de TNT com gramatura de 80 g/m² e de 120 g/m² nas análises da FDN e FDA e compará-los com os resultados obtidos com o tecido de 100 g/m², recomendado na literatura por Detmann et al. (2012).

2. Referencial Teórico

2.1A parede celular dos vegetais

A parede celular vegetal é um compartimento que se altera de modo contínuo sofrendo modificações ao longo da vida celular (CARPITA; MCCANN, 2000 apud MONZANI, 2013), sendo constituída por um conjunto de estruturas laminares que se divide em três diferentes zonas: lamela média, parede celular primária e parede celular secundária (BOLWELL, 2000 apud MONZANI, 2013).

A lamela média da parede celular vegetal é formada por pectina que promove a união de células contíguas da parede primária, sendo determinante para a firmeza dos vegetais, característica que começa durante seu crescimento (PACIULLO, 2002; PAIVA et al, 2009).

A parede celular primária é quimicamente, uma matriz complexa composta de polissacarídeos, proteínas, compostos fenólicos, água e minerais. Dos polissacarídeos, destacam-se a celulose, a hemicelulose e a pectina (PACIULLO, 2002). A parede celular secundária pode incluir polissacarídeos não celulósicos como hemicelulose e pectina, como também proteínas estruturais e lignina (BIDLACK et al., 1992). Segundo os mesmos autores a distinção da parede celular secundária é a incorporação da lignina, que é um sistema de compostos aromáticos denominados fenilpropanóides.

2.2 Principais componentes da parede celular dos vegetais

A parede celular é integrada de celulose, hemicelulose, pectina, compostos fenólicos como a lignina, proteínas ligadas à parede celular, além de outros componentes como a sílica e a cutina (MERTENS, 1996 apud BERCHIELLI et al., 2011).

A celulose é o polissacarídeo encontrado com maior abundância na natureza e principal componente da parede celular dos vegetais, seu teor varia entre 20 a 40% na matéria seca (MS) de plantas superiores (VAN SOEST, 1994). A celulose é formada por resíduos de D-glicopiranoses unidos por ligações beta 1,4 que formam longas cadeias lineares com alto grau de polimerização e elevado peso molecular (RALPH, 1996 apud BIANCHINI et al, 2007).

A hemicelulose é uma combinação uniforme de polissacarídeos amorfos com grau de polimerização muito abaixo ao da celulose (VAN SOEST, 1994). As espécies vegetais apresentam grandes variações na quantidade de hemicelulose entre 10 a 25% da matéria seca em forragens, farelos e polpas, já em grãos de cereais valores entre 2 a 12% (REIS & RODRIGUES, 1993).

A lignina constitui um polímero fenólico que se associa aos carboidratos estruturais, celulose e hemicelulose, durante o processo de formação da parede celular, alterando significativamente a digestibilidade destes carboidratos das forragens (VAN SOEST e WINE, 1968 apud BIANCHINI et al, 2007). A lignina é a estrutura química que interfere na degradação microbiana dos polissacarídeos da fração fibrosa devido a sua ação física, pois forma uma barreira ao acesso dos microrganismos aos polissacarídeos (MONZANI, 2013).

A pectina é uma substância amorfa parcialmente solúvel em água e completamente solúvel em detergente neutro (BERCHIELLI, 2011). As pectinas encontram-se naturalmente em associação com a celulose e hemicelulose, que auxiliam na adesão entre as células, sendo considerada o principal agente cimentante da parede celular, contribuindo desta forma para firmeza, resistência mecânica e aderência do tecido (PAIVA et al, 2009).

Outros componentes encontrados na parede celular são os compostos fenólicos que são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução (ANGELO e JORGE, 2007). Algumas proteínas que se dividem em três grandes grupos: as extensinas (função estrutural), as ricas em glicinas (associadas à lignificação) e ainda, as proteínas ricas em prolina (atuantes na formação dos nódulos radiculares das leguminosas) (VALADARES et al., 1997 apud BIANCHINI et al., 2007). Além da sílica, das cutinas e dos taninos que estão presentes na parede celular, associados ou não a polissacarídeos estruturais. Mesmo presentes em pequenas quantidades, estes

compostos possuem importantes características físico-químicas que influenciam nos processos de digestão e absorção dos componentes da parede celular e do conteúdo celular (VAN SOEST, 1994).

2.3 Classificação dos carboidratos das plantas

A classificação dos carboidratos das plantas pode ser feita em carboidratos estruturais (CE) e não estruturais (CNE) que dizem respeito exclusivamente à função desempenhada nas plantas e não deve ser trocado com o papel dos carboidratos na nutrição animal (MERTENS, 1996 apud BERCHIELLI et al., 2011). Os CE (carboidratos estruturais) são encontrados na parede celular (PC) dos vegetais e oferecem o suporte físico essencial para crescimento das plantas, e são constituídos basicamente por: pectina, celulose, hemicelulose (MERTENS, 1996 apud BERCHIELLI et al., 2011). Os carboidratos não estruturais estão localizados no conteúdo celular e são encontrados em concentração maior nas sementes, folhas e hastes, e constituem reservas de energia usadas para reprodução, crescimento e sobrevivência durante períodos de estresse (MERTENS, 1992 apud BERCHIELLI et al., 2011).

Em termos nutricionais, os carboidratos podem ser classificação em carboidratos fibrosos e não fibrosos, sendo mais apropriada essa definição porque é criada com base nas características nutritivas ao invés de composição química ou função exercida na planta (MERTENS, 1992 apud BERCHIELLI et al., 2011). Nessa classificação, os carboidratos não fibrosos (CNF) representam as porções degradadas mais rapidamente e compreendem a pectina, amido e açúcares. Os carboidratos fibrosos (CF) ocupam espaço no trato digestivo e demandam mastigação para diminuir o tamanho de partículas e passagem pelo trato digestivo, compreendem a celulose e a hemicelulose (BERCHIELLI et al., 2011).

2.4 Importância da fibra na alimentação de ruminantes

A fibra não é um elemento químico particular, e possui uma constituição geral atribuída de variados compostos de hidrogênio e carbono, essencialmente a celulose, a hemicelulose e a lignina, coordenados para formar a parede celular dos vegetais (BIANCHINI et al., 2007).

Durante a evolução, os animais ruminantes aperfeiçoaram características anatômicas e simbióticas, que permitiram aproveitar eficientemente carboidratos fibrosos como fonte de energia e compostos nitrogenados não proteicos como fonte de proteína. Esse sucesso evolutivo pode ser atribuído principalmente ao desenvolvimento do processo de fermentação

pré-gástrica, tornando-os aptos para sobreviver em todas as condições climáticas terrestres, desde o deserto até o ártico (BERCHIELLE et al., 2011).

Os ruminantes apresentam uma maior eficiência no aproveitamento da energia dos alimentos fibrosos que os demais herbívoros, graças à presença de micro-organismos na câmara de fermentação (retículo-rúmen) que antecede o principal sítio digestivo, e dessa forma, os produtos da fermentação terão mais eficiência de uso (VAN SOEST, 1994). Ruminantes adultos apresentam composição microbiana complexa no rúmen, formada por bactérias, fungos e protozoários divididos entre as fases sólidas e líquidas no conteúdo ruminal, sendo estes responsáveis pela digestão dos componentes da parede celular dos vegetais (BERCHIELLI et al., 2011).

A fibra desempenha um papel indispensável na alimentação de ruminantes, por ser um dos principais constituintes da sua dieta, que conforme suas características físicas e químicas podem afetar de modo direto na fisiologia digestiva do rúmen (ALVES et al., 2016), sendo importante no metabolismo energético desse animais, pois independentemente da fonte de carboidratos, estes são fermentados pelos microrganismos e convertidos em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente o acético, propiônico e butírico, os quais podem corresponder entre 60 a 80% das necessidades energéticas dos ruminantes (ALVES et al., 2016).

Deste modo, torna-se indispensável à quantificação apropriada de sua presença nos alimentos e emprega-las para melhor desempenho animal, na dieta que for implementada, pois além de energia, a fibra necessária nas rações promovem a mastigação, ruminação e a saúde do rúmen (BERCHIELLI et al., 2011; VAN SOEST, 1994; MONZANI, 2013; BIANCHINI et al. 2007).

2.5 Determinação da fibra dos alimentos

A busca de alternativas para avaliar o valor nutricional dos alimentos e/ou dietas com o objetivo de obter estimativas precisas da disponibilidade de nutrientes e também reduzir os custos e o trabalho em rotinas laboratoriais tem sido um constante desafio dos pesquisadores na área de nutrição animal (LOURENÇO, 2010). Existe uma variedade de métodos de análise, porém é preciso observar alguns critérios para a escolha adequada da metodologia a ser usada, como por exemplo, os recursos disponíveis, financeiros e operacionais, a possibilidade da técnica ser implantada e a busca por maior precisão das estimativas (BERCHIELLI et al, 2001).

Outro desafio e atitude de extrema importância é escolher o melhor método de análise entre as diversas possibilidades. Para que essa escolha seja a mais correta, é preciso conhecer os detalhes práticos das diversas técnicas e seus princípios teóricos, além também de estar familiarizado com as condições nas quais cada método é confiável e quais suas possíveis interferências (JEFFREY, 2002).

O método da análise da fibra bruta (FB) é o mais antigo e ainda utilizado, foi descrita pelo sistema de análise proximal ou sistema de Weende, e representa um método oficial de análise de alimentos descrito pela AOAC, além da facilidade de condução (MONZANI, 2013). Em termos gerais, FB é a fração isolada do alimento por meio do uso de soluções de ácido e base fortes. A marcha analítica consiste em duas extrações em sequência, a primeira extração (ácida) remove amidos, açúcares e parte da pectina e da hemicelulose dos alimentos, e a segunda extração (básica) retira proteínas, pectinas e hemicelulose remanescentes e parte da lignina (MERTENS, 2001 apud LOURENÇO, 2010). Assim, a FB é formada principalmente de celulose adicionada de pequenas quantidades de lignina e hemicelulose. Este método é limitado pela falta de precisão dos resultados da solubilização da hemicelulose e lignina (VAN SOEST e WINE, 1968 apud LOURENÇO, 2010).

As técnicas, conhecidas como sistema detergente foram primeiramente desenvolvidas por VAN SOEST (1963) e por VAN SOEST e WINE (1967), foram desenvolvidas para estimar com maior precisão tanto os componentes totais da parede celular como os das frações mais indigestíveis desta. Para isso foi desenvolvido dois detergentes específicos um ácido e outro neutro. O detergente A proposto por VAN SOEST (1963), solubiliza o conteúdo celular, a hemicelulose e os minerais solúveis, obtendo um resíduo insolúvel, denominado fibra em detergente ácido (FDA) que é a porção menos digerível da parede celular constituída em quase totalidade por lignina e celulose (SILVA e QUEIROZ, 2002). A extração da hemicelulose na análise da FDA é a sua principal limitação, não estimando adequadamente o teor de fibra total na amostra, e dessa forma essa análise tem sido mais utilizada na análise sequencial para a quantificação do teor de lignina (UDEN et al., 2005).

Para quantificar de uma forma mais real o teor total de fibra das plantas, VAN SOEST e WINE (1967), proporem um detergente neutro específico capaz de solubilizar a bicamada lipídica da membrana celular dos alimentos, tornando o conteúdo celular solúvel, separando por filtração o resíduo insolúvel constituído pelos constituintes da parede celular como celulose, hemicelulose e lignina, denominado de fibra em detergente neutro (FDN). Atualmente esse é o método mais aceito pelos nutricionistas de ruminantes para determinação de fibra. Contudo, parte da pectina, componente da parede celular, é solubilizada pelo detergente neutro (LOURENÇO, 2010).

2.6 Métodos de determinação da FDN e FDA

A agilidade na obtenção do teor da fibra dos alimentos por meio da metodologia de Van Soest (1963, 1967) levou a uma rápida aceitação desta pelos técnicos e pesquisadores. Entretanto, foi constatado que para algumas categorias de alimentos, principalmente os ricos em amido, pectina, taninos e produtos da reação de Maillard (SHIBAO e BASTOS, 2011), a metodologia de determinação de FDN e FDA, apresentava limitações, o que gerou a necessidade de modificações em uma ou outra etapa analítica de acordo com o tipo de amostra (GERON et al, 2014). Assim, diversos procedimentos analíticos alternativos surgiram para determinação da fração fibrosa dos alimentos (MERTENS et al. 1994 apud LOURENÇO, 2010).

O método original da análise da FDN, descrito por Van Soest e Wine (1967), também denominado de método convencional, utiliza aparelho digestor de fibra, béquer de forma alta e cadinho filtrante de vidro com porosidade grossa, na qual a amostra é digerida em detergente neutro em fervura por 60 minutos (SILVA e QUEROZ, 2002). No entanto, esse método foi desenvolvido para amostras de forragens, e com o uso dessa metodologia para alimentos concentrados, com altos teores de amido, observou-se que os resultados obtidos passaram a não serem mais precisos, devido à contaminação de amido no resíduo obtido pela digestão com o detergente neutro ocasionando uma superestimação do resultado da FDN. Para solucionar esse problema, foram propostos vários métodos com uso de alfa-amilase para remover essa interferência, porém cuidados devem ser tomados com o uso da alfa-amilase, pois podem conter enzimas que degradam componentes da parede celular como a hemicelulose (VAN SOEST, 1991).

Além da contaminação pelo amido, outros contaminantes na análise da FDN e FDA foram identificados, como cinzas e proteínas insolúveis a tais detergentes, o que também possuem influência no resultado final dessas análises superestimando-as (VAN SOEST, 1991).

Grande parte das proteínas dos alimentos são solubilizadas na determinação da fibra, no entanto, parte pode permanecer como constituinte da mesma (VALADARES et al., 1997 apud BIANCHINI et al., 2007). Essa contaminação por proteína nos resíduos das análises da FDN e FDA pode ser dar por proteínas ligadas aos constituintes da parede celular dos vegetais o que os torna insolúveis aos detergentes específicos. Essa contaminação deve-se à formação

do complexo proteína-carboidrato, também formado com lignina, que podem ser formados em forragens mal conservadas ou no preparo da amostra em estufa (VAN SOEST, 1965) e no completo proteína-tanino (VAN SOEST et al., 1987).

Para resolver a contaminação por proteínas insolúveis em detergente neutro foi proposto o uso de sulfito de sódio, porém esse reagente solubiliza a lignina, o que torna o seu uso não recomendado quando se objetiva realizar análises sequenciais para determinação da lignina ou em análises de digestibilidade dos alimentos rações (VAN SOEST, 1991). Segundo Mertens (2002), o uso de alfa amilase termoestável é o mais recomendado para alimentos ricos em amido, pois possuem sua atividade em solução de detergente neutro em fervura, e a temperatura elevada provoca inativação de potenciais enzimas contaminantes que podem estar presentes no extrato da alfa amilase que podem degradar componentes fibrosos.

Para reduzir a contaminação por cinzas é sugerida a correção do resíduo da FDN e FDA para o teor de cinzas que é proveniente da contaminação por solo de amostras de forragens e rações. O detergente neutro dissolve parcialmente a sílica das amostras, dissolvendo a sílica biogênica, mas não a sílica contida nos minerais do solo, e o detergente ácido não as dissolvem, o que pode contribuir para superestimação dos resultados da fibra (VAN SOEST, 1991). Para corrigir essa contaminação recomenda-se fazer a correção do teor de cinzas para a análise de cinzas incinerando o resíduo da FDN e FDA em mufla (VAN SOEST, 1991; MERTENS, 2002).

Segundo Mertens (2002), a solução de detergente neutro solubiliza os lipídios da amostra e a lavagem com acetona após a extração com detergente neutro completa a extração com lipídios e extração os pigmentos dos alimentos. Porém, quantidades excessivas de lipídios nas amostras podem ser complexados com o detergente neutro e reduzir a eficácia da extração, sendo assim, é recomendado que amostras com teor de lipídios acima de 10% devem sofrer uma pré-extração para garantir a sua remoção completa e evitar a contaminação do resultado da FDN. Essa remoção dos lipídios pode ser feita aquecendo-se a amostra com etanol, com posterior filtração em cadinho filtrante antes das análises da FDN e da FDA, bem como podem ser pré-desengorduradas com acetona, diretamente em cadinhos com filtro e acetona, seguindo a mesma metodologia proposta por Mertens (2002), que consiste em quatro lavagens consecutivas com 20-30 ml de acetona, mantendo-se a amostra em solução por cinco minutos, com agitações periódicas da amostra a cada um minuto ou utilizando do método Soxhlet que faz extração por refluxo, usando éter de petróleo como solvente (SILVA e QUEIROZ, 2002; SILVA, 2016; BRUM, 2004).

Além dessas alterações, foram desenvolvidos também alterações com o uso de novos equipamentos, chamados de métodos alternativos na tentativa de superar as dificuldades do

método convencional, como quanto ao uso de mão de obra individual, demora na execução das etapas de análise e diminuição dos resíduos químicos gerados no processo (LOURENÇO, 2010).

Um método alternativo que tem sido sugerido para as análises de FDN e FDA é o uso das autoclaves em substituição ao digestor de fibra convencional. Com o uso da autoclave é possível digerir as amostras de forma coletiva, não necessitando que as amostras sejam controladas individualmente e manualmente. As análises desenvolvidas na autoclave oferecem a possibilidade de pesagem das amostras tanto em cadinhos como em saquinhos filtrantes (LOURENÇO, 2010).

Dentro do contexto da utilização de métodos alternativos, alguns sistemas foram lançados no mercado como, por exemplo, o denominado método da “Filter Bag Technique” da Ankom (FBT) (ANKOM 2010), cujo princípio de funcionamento baseia-se na digestão e filtração das amostras de alimentos contidas em saquinhos filtrantes, utilizando-se em ambiente fechado. Esta técnica garante condição homogênea de digestão e filtração para todas as amostras e possibilita, ainda, a realização de um número bem maior de análises por dia, pois algumas etapas do método de VAN SOEST (1963, 1967), como as lavagens e filtrações sucessivas, que anteriormente eram feitas manualmente e individualmente, passam a ser feitas no próprio sistema de forma coletiva (BERCHIELLI et al. 2001). Porém a FBT, mostrou limitação pelo alto valor dos saquinhos utilizados para conter as amostras enquanto são digeridas, sendo eles obtidos na própria empresa fabricante do equipamento. Na tentativa de minimizar os custos das análises com os saquinhos da ANKOM, diversos trabalhos já foram desenvolvidos utilizando-se saquinhos confeccionados com outros tecidos similares ao da ANKOM como o náilon e o tecido não tecido (TNT) (LOURENÇO, 2010).

O tipo de tecido utilizado para confecção dos saquinhos filtrante como alternativa aos saquinhos da ANKOM é de grande importância para que se tenham resultados satisfatórios, pois o tecido utilizado para confecção dos saquinhos filtrantes deve possuir porosidade que não permita perda de partículas não solubilizadas pelo detergente, e ao mesmo tempo possua abertura suficiente para permitir que a solução entre no interior dos saquinhos e saia com os produtos solubilizados pela solução de detergente (VALENTE, 2010).

Casali et al. (2009) e Valente et al. (2011) avaliaram a análise da FDN em saquinhos filtrantes com diferentes tecidos: náilon (50 μm), F57 (Ankom®) e com tecido não-tecido (TNT) com gramatura de 100 g/m^2 , e verificaram que a utilização de TNT e saquinhos F57 (ANKOM®) proporcionaram estimativas acuradas na análise da FDN, e que o saquinho confeccionado com náilon (50 μm) permite a perda de partículas comprometendo a análise, gerando resultados não exatos. Segundo Casali et al. (2009), a estrutura da malha do tecido

TNT (100 g/m^2), é similar a do F57 (Ankom®), e embora o tecido TNT não possuir poros em sua totalidade devido a parte da superfície desse tecido ser vedado por calor em seu processo de fabricação, este tecido apresentou comportamento similar em termos analíticos com o tecidos F57 (Ankom®).

O tecido não-tecido está disponível no mercado em diferentes gramaturas, e alguns trabalhos mostraram a eficiência do uso do TNT com gramatura de 100 g/m^2 , limitando por sua vez o uso do material. Diante desse contexto, MONZANI (2010) avaliou a análise da FDN em tecido de TNT com diferentes gramaturas, a grossa e a fina e verificaram que a grossa foi eficiente na análise da FDN e a fina permitiu a perda de partícula, não sendo recomendado o seu uso.

3. Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal (LABAN) pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Foram avaliados os teores de matéria seca (MS), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) em amostra de feno de tifton 85, feno de gramínea peletizado, capim mulato II e bagaço de cana, por meio da técnica dos saquinhos filtrantes utilizando-se três diferentes gramaturas de tecido não-tecido (TNT), 80 g/m^2 , 100 g/m^2 e 120 g/m^2 . As amostras dos alimentos volumosos, tiveram seus teores de matéria seca definitiva avaliados conforme o método INCT-CA G-00311.

Os saquinhos foram confeccionados de forma a possuírem 5 cm de comprimento por 5 cm de largura, o que corresponde a uma área de 25 cm^2 , os tecidos foram cortados medindo 5 cm de largura e 10 cm de comprimento e após foram feitas lavagens com solução em detergente neutro comercial e água corrente em fervura por três vezes, com intervalos de 30 minutos entre as lavagens e deixados de molho nessa mesma solução por uma noite, em seguida lavados com água destilada quente e com acetona, para a retirada goma presente no tecido, então foram postos sobre papel pardo nas bancadas para secagem por cerca de 2 horas, depois de secos os tecidos foram selados em seladora BARBI M-300 T nas laterais afim de formar um saquinho medindo 5 x 5 cm, enumerados e levados para estufa a 105°C por 2 horas e em seguida colocados em dessecador para esfriar e pesados em balança analítica SHIMADZU ATX224 onde foi anotado o peso do saquinho vazio. A quantidade de amostra em cada saquinho obedeceu a relação de 20 mg de matéria seca centímetro quadrado de

superfície selada por calor, seguindo as recomendações feitas por Nocek, (1988) e por Detmann et al. (2012) que descreveu a relação no método NCT-CA F-001/1.

O equipamento utilizado nas análises foi o digestor de fibra, modelo TE-149, marca TECNAL, e a metodologia realizada nas análises da FDN e FDA seguiu as descrições feitas por Detmann et al. (2012) (FDN; Método INCT-CA F-001/1 e FDA; Método INCT-CA F-003/1), sendo realizada análise sequencial da FDN e FDA nas amostras.

Para avaliar a possível perda de partículas dos saquinhos de TNT com diferentes gramaturas, utilizou-se da metodologia descrita por Valente (2010) onde o papel de filtro quantitativo é usado como padrão analítico, pois o papel filtro é composto por celulose e o pesquisador pressupôs que o papel apresente 100% de FDN com base na MS, sendo assim, por suposição, admitiu que as diferenças do teor de FDN em relação ao valor paramétrico 100%, constituíram perdas de partículas fibrosas.

Os discos de papel filtro foram moídos em moinho de facas em peneira de 1mm. Para a análise de teor de matéria seca, os cadinhos filtrantes foram lavados e colocados em estufa a 105°C por 2 horas para perda de umidade, em seguida colocado em dissecador para esfriar e pesados em balança analítica, foram pesados entre 1g e 1,5g usando de 3 repetições, os cadinhos pesados retornaram para a estufa a 105°C onde ficaram 18 horas, o teor de MS avaliado foi de 95,36% .

Quando avaliado o teor de perda de partículas em FDN foram pesados 0,5243g nos saquinhos de TNT também respeitando a relação de MS centímetro quadrado de superfície selada por calor segundo o recomendado por Detmann et al. (2012), utilizando 3 repetições para cada gramatura de TNT.

O delineamento experimental utilizado para a avaliação da perda de partícula pelos diferentes tipos de tecido de TNT foi o inteiramente casualizado com três tratamentos, gramatura do tecido de TNT (80 g/m², 100 g/m² e 120 g/m²), e 3 repetições por tratamento. O delineamento experimental utilizado para avaliação da FDN e da FDA das amostras de alimentos volumosos foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 3, com 4 alimentos volumosos e três gramaturas de TNT (80 g/m², 100 g/m² e 120 g/m²T, com seis repetições por tratamento.

Os dados foram submetidos a testes de normalidade e de homogeneidade de variância e as suposições foram atendidas pelos testes de Cramer-von Mises e Levene, respectivamente. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico R 3.4.2.

4. Resultados e Discussão

As diferentes gramaturas do tecido de TNT utilizados proporcionaram diferentes perdas de partículas do papel filtro quantitativo (Tabela 1). Foi utilizado o papel filtro quantitativo como padrão analítico, considerando-se que este contém 100% de FDN, dessa forma, o valor obtido inferior a 100 foi o percentual de perda de partícula ocorrida pelo tecido durante a análise laboratorial. Dessa forma, observou-se que o tecido 100 g/m² foi que proporcionou maior valor de FDN e menor perda de partícula diferindo estatisticamente dos tecidos de 80 g/m² e 120 g/m², indicando que o uso de TNT nas gramaturas de 80 g/m² e 120 g/m², podem gerar resultados não confiáveis subestimando o percentual de FDN das amostras.

Tabela 1. Valores médios dos teores percentuais de FDN e da perda de partícula do papel filtro quantitativo, utilizado como padrão de celulose, com base na matéria seca, para os tecidos de TNT com diferentes gramaturas.

Itens	Gramatura do saquinho de TNT		
	80 g/m ²	100 g/m ²	120 g/m ²
% FDN	97,61 b	99,45 a	96,76 b
Perda de partícula	2,39 a	0,55 b	3,24 a

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem entre si (P>0,05), pelo teste Tukey.

Os resultados das análises da FDN das amostras dos alimentos volumosos avaliados utilizando-se saquinhos de TNT com diferentes gramaturas estão apresentados nas Tabelas. Não houve interação significativa entre os volumosos avaliados e os diferentes tecidos.

Tabela 2. Valores médios do teor de FDN (%) nos diferentes alimentos volumosos obtidos com saquinhos de TNT com diferentes gramaturas.

Volumoso	Gramatura do saquinho de TNT			Geral
	80 g/m ²	100 g/m ²	120 g/m ²	
Bagaço de cana	75,70	76,49	75,16	75,78
Capim mulato II	71,90	73,75	70,72	72,13
Feno peletizado	79,57	79,20	78,41	79,06
Feno de tifton 85	78,60	79,43	79,08	79,04
Geral	76,44 ab	77,22 a	75,84 b	

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem entre si (P>0,05), pelo teste Tukey.

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si (P>0,05), pelo teste Tukey.

O maior valor médio geral do teor de FDN foi observado para os saquinhos de 100 g/m², que não diferiu estatisticamente do saquinho de 80 g/m², embora o tecido de 80 g/m² tenha proporcionado maior perda de partícula que o tecido de 100 g/m² (Tabela 1). Segundo

Casali et al. (2009) e Valente et al. (2011) a utilização de tecido não tecido (TNT) com gramatura de 100 g/m² proporciona estimativas acuradas na análise da FDN quando comparado como os saquinhos do tecido F57 (Ankom[®]).

O menor valor do teor de FDN foi observado para os saquinhos de TNT com gramatura de 120 g/m², o que pode ser explicado pela maior perda de partícula das amostras com o uso desses tecidos como demonstrado na Tabela 1, dessa forma, o TNT de 120 g/m² não é recomendado para análise da FDN. Esperava-se que o tecido de 120 g/m² proporcionasse uma superestimativa do teor de FDN por ser um tecido de gramatura mais grossa, o que nos leva a questionar a forma de confecção do tecido não tecido, que são feitos a partir de um véu ou manta de fibras ou filamentos, orientados direcionalmente ou ao acaso, consolidados por processo mecânico, químico, ou térmico (ABINT, 1999), possivelmente resultando em alterações entre a confecção de um TNT para o outro, dependendo da sua marca ou gramatura.

Diferentes tipos de tecido TNT em análise da FDN foi estudado por Monzani (2013), que avaliou a gramatura grossa e fina em autoclave e verificou que o TNT de gramatura grossa pode ser usado em análise da FDN em substituição ao cadinho filtrantes utilizado no método convencional, e que o TNT de gramatura fina proporcionou perda de partícula e problemas no manuseio do tecido não sendo indicado para a análise.

O valor médio do percentual de FDN do bagaço de cana *in natura* obtido no presente estudo de 75,78% está dentro da variação pesquisada por Pimentel et al. (2015) de 94,3 a 59,2%, que segundo esses autores se deve as diferentes variedades da cana de açúcar, podendo também estar associado ao estágio de maturação da planta, a fertilidade do solo e a condições ambientais, enquanto foi inferior ao valor encontrado na tabela de composição química e bromatológicas de alimentos (CQBAL 4.0) que foi de 85,22% de FDN para o bagaço de cana.

A média do teor da FDN do capim mulato II foi de 72,13%, que está dentro da variação de 68,51 a 75,75% de FDN obtida por Teodoro et al. (2012), que avaliaram o teor de FDN do capim mulato II nas diferentes estações do ano.

Quanto ao feno de tifton 85 o valor da FDN variou de 78,60 a 79,43 estando próximo ao observado por Lourenço (2010) de 79,53%, por Monzani (2013) que obteve valor médio de 78,18%, e também ao valor encontrado na tabela de composição química e bromatológicas de alimentos (CQBAL 4.0) que foi de 80,06% de FDN para o feno de tifton. E quanto ao feno de gramínea peletizado o valor médio de 79,06% está dentro do nível de garantia do rótulo do produto, que segundo a empresa beneficiadora é de mínimo de 65,3% FDN.

Os teores da FDA dos volumosos avaliados com saquinhos de TNT com diferentes gramaturas estão apresentados na Tabela 3. Não houve interação significativa entre os volumosos avaliados e os diferentes tecidos.

Tabela 3. Valores médios do teor de FDA (%) nos diferentes alimentos volumosos obtidos com saquinhos de TNT com diferentes gramaturas.

Volumoso	Gramatura do saquinho de TNT			Geral
	80 g/m ²	100 g/m ²	120 g/m ²	
Bagaço de cana	49,15	50,23	48,80	49,39
Capim mulato II	35,97	37,44	34,90	36,10
Feno peletizado	37,12	37,95	35,22	36,77
Feno de tifton 85	41,19	42,75	40,63	41,52
Geral	40,86 b	42,09 a	39,89 c	

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem entre si ($P>0,05$), pelo teste Tukey.

Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas, não diferem entre si ($P>0,05$), pelo teste Tukey.

O tecido TNT com gramatura de 100 g/m² proporcionou maior valor médio para o teor de FDA dos alimentos volumosos avaliados, diferindo estatisticamente dos tecidos de 80 g/m² e 120 g/m², como menor valor para este último, o que pode ser explicado pela maior perda de partícula proporcionada com esses tecidos em comparação ao tecido de 100 g/m² (Tabela 1).

A análise da FDA foi feita sequencialmente a FDN e o fato do tecido de 80 g/m² não diferir estatisticamente do TNT de 100 g/m² para a análise da FDN esse padrão não se repetiu para a FDA, não sendo, portanto recomendado o uso de TNT de 80 g/m² e 120 g/m² para a análise da FDA.

Quando comparado os resultados obtidos por Monzani (2013) com a amostra de bagaço de cana para o teor de FDA, tanto em TNT de gramatura grossa quanto em TNT de gramatura fina em autoclave, o pesquisador encontrou valor médio superior aos valores dos saquinhos de diferentes gramaturas com valores de 53,44% FDA em TNT gramatura grossa e de 52,53% em TNT de gramatura fina. Também apresentou valores inferiores ao resultado encontrado na tabela de composição química e bromatológicas de alimentos (CQBAL 4.0, 2017), que obteve teor de FDA de 58,02%. No entanto, o percentual médio da FDA do bagaço de cana obtido no presente estudo de 49,39% está dentro da variação obtida pelos resultados na literatura descrito por Pimentel et al. (2015) de 38,34 a 64,4%.

O valor médio de FDA do capim mulato II obtido no presente trabalho de 36,10% foi inferior ao observado por Teodoro et al. (2012), que obtiveram valores para esse capim variando de 39,51% a 41,98% nas diferentes estações do ano, e superior ao obtido por

Nguluve (2014) de 31,85 a 35,80 % de FDA no capim mulato II nas diferentes estações do ano.

O valor da FDA do feno de tifton obtido com o tecido de TNT com gramatura de 100 g/m² de 42,09 % foi o mais próximo dos resultados obtidos na literatura como o observado por Almeida (2018) que obteve teor de FDA de 42,10% utilizando autoclave e saquinhos de TNT com gramatura de 100 g/m², e também foi o valor com maior semelhança ao descrito na tabela de composição química e bromatológicas de alimentos (CQBAL 4.0, 2017) que obteve teor de FDA de 43,11%.

5. Conclusão

O tecido de TNT com gramatura de 80 g/m² pode ser substituído pelo tecido de 100 g/m² para a análise da FDN, no entanto, recomenda-se cautela nesta substituição devido à maior perda de partícula ocorrida pelo tecido de 80 g/m². Na análise da FDA o tecido de TNT de gramatura de 100 g/m² não pode ser substituído pelos tecidos de 80 g/m² e de 120 g/m².

6. Referências

- ABINT. **Classificação, identificação e aplicação de não-tecidos**. 1999. Disponível em:<http://www.abint.org.br/pdf/Manual_ntecidos.pdf>. Acesso em: 02/06/2019
- AERTS, J.V.; DE BRABANDER, D.L.; COTTYN, B.G.; BUYSSE, F.X.; CARLIER, L.A.; MOERMANS, R.J. Some remarks on analytical procedure of VAN SOEST for the prediction of forage digestibility. **Animal Fed Science Technology**, Amsterdam, v. 3, p. 309-322, 1978.
- ALMEIDA, S. N. M. **Determinação da fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido por diferentes métodos analíticos**. p.28. 2018. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado) Universidade Federal do Maranhão (UFMA) – Centro de ciências agrárias e ambientais. Chapadinha. 2018.
- ALVES, R. A.; PASCOAL, F. A. L.; CAMBUÍ, B. A.; TRAJANO, S. J.; SILVA, M. C.; GOIS, C. G. Fibra para ruminantes: Aspecto nutricional, metodológico e funcional. **Revista Medicina Veterinária e Zootecnia**, Maringá, PR, v.10, n.7, p.568-579, Jul., 2016.
- ANGELO, M. P; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.1, p. 1-9, 2007.
- ANKOM. **Frequently asked questions**. 2000. Disponível em: <<http://www.ankom.com/faqs.html>>. Acesso em: 14 de outubro 2018.
- BERCHIELLI, T. T.; PIRES, V. A.; OLIVEIRA, G. S. **Nutrição de ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, p.616, 2011.
- BERCHIELLI, T. T.; SADER, A. P. O.; TONANI, F. L.; PAZIANI, S. F.; ANDRADE, P. Avaliação da determinação da fibra em detergente neutro e da fibra em detergente ácido pelo sistema ANKOM. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 5, p.1572-1578, 2001.
- BIANCHINI, W.; RODRIGUES, E.; MENDES, J.A.; ANDRIGHETO, C. Importância da fibra na nutrição de bovinos. **Revista Electrónica de Veterinária**, v.8, p.1-14, 2007.
- BIDLACK, J.; MALONE, M.; BENSON, R. Molecular structure and component integration of secondary cell wall in plants. **Proceeding: Oklahoma Academy Science**, v.72, p.51-56, 1992.

BOLWELL, G.P. Biosynthesis of plant cell wall polysaccharides. Proceeding: **Trends in Glycoscience and Glycotechnology**, v.12, n.65, p.143-160, 2000.

BRUM, S. A. A. **Métodos de extração e qualidade da fração lipídica**. 2004. 79 p., Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2004.

CARPITA, N.; MACCANN, M. The cell wall. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, L.R. (Ed). **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, p.1318, 2000.

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, J.C.; CUNHA, M.; DETMANN, K.S.C.; PAULINO, M.F. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.130-138, 2009.

CQBAL 4.0. **Tabela de composição química e bromatológicas de alimentos**. 2017-2018. Disponível em: < <http://www.cqbal.com.br>>. Acesso em: 11/07/2019

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. (Eds.) **Métodos para análise de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214p.

FARIAS, S. J; QUEIROZ, O. L; SANTOS, A. R. G; FAGUNDES, L. J; SILVA, A. M. Avaliação de tecidos e equipamentos alternativos na análise de fibra em detergente neutro e de fibra em detergente ácido. **Periódicos Brasileiros em Medicina Veterinária e Zootecnia**. Nova Odessa, v.72, n.3, p.229-233, 2015.

FONSECA, R. S. A.; SILVA, P. R. C. L.; BORGES, M. K; SILVA, V. M. S.; VARGAS, P. D. E. L.; LIMA, R. L.; ABREU, G. J.; GALATI, L; R. **Cinética da digestão dos capins mulato II e marandu em diferentes alturas de dossel**. Goiânia. 2018.

GERON, V. J. L; CABRAL, S. L; TRAUTMANN-MACHADO, J. R; ZEOULA, M. L; OLIVEIRA, B. E; GARCIA, J; GONÇALVES, R. M; AGUIAR, S. P. R. Avaliação do teor de fibra em detergente neutro e ácido por meio de diferentes procedimentos aplicados às plantas forrageiras. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 1533-1542, maio/jun. 2014.

JEFFREY, G. H.; BASSET, J.; MEDHAN, R. C.; DENNEY, R. C.; VOGEL, A. **Análise química quantitativa**. 6. ed. São Paulo: LTC, 2002. p. 2.

LOURENÇO, M. S. N. **Estudo comparativo de metodologias aplicadas em análises de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido com gerenciamento de resíduos químicos**. 2010. 117 p., Tese (Doutorado em Zootecnia), à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (Unesp), Jaboticabal, 2010.

MERTENS, D. Formulating dairy rations: Using fiber and carbohydrate analyses to formulate dairy rations. In: Information conference with dairy and forage industries, 1996, Wisconsin. **Proceedings...** Wisconsin: U.S. Dairy Forage and Research Center, 1996, p. 81-92.

MERTENS, D. Nonstructural and structural carbohydrate. In: Van Horn, H. H.; C. J. WILCOX (Eds.). **Large Dairy Herd Management**. Am. Dairy Sci. Assoc., Champaign, IL. 1992, p. 219-235.

MERTENS, D. R. Physical effective NDF and its use in formulating dairy rations. In: Simpósio internacional em bovinos de leite, 2., Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA-FAEPE, p. 25-36. 2001.

MERTENS, D. R.; BRODERICK, G. A.; SIMONS, R. Efficacy of carbohydrate sources for improving utilization of N in alfalfa silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, suppl. 1, p. 240, 1994. Abstract.

MONZANI, E. E. **Padronização de método analítico de fibra em alimentos volumosos**. 2013. 75p.; Dissertação (Mestrado em Produção Animal), Universidade Camilo Castelo Branco (UNICASTELO), Descalvado, 2013.

NGULUVE, D.W. **Composição química, produção *in vitro* de gases da fermentação entérica e ácidos graxos de cadeia curta de gramíneas forrageiras tropicais**. 2014. 106 p., Tese (Doutorado em Zootecnia), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, 2014.

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

PACIULLO, C. S. D. **Características anatômicas relacionadas ao valor nutritivo de gramíneas forrageiras**. Revista Ciência Rural, Santa Maria, RS, v.32, n.2, p.357-364, 2002.

PAIVA, P. E.; LIMA, S. M.; PAIXÃO, A. J. Pectina: Propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. **Revista Iberoamericana de Polímero**, v.10, n.4, p.196-211, 2009.

RALPH, J. **Cell Wall cross-linking in grasses: the importance of understanding plant chemistry and biochemistry**. In: International conference with dairy and forage industries, U.S Dairy Research Center, 1996.

REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A. **Valor nutritivo de plantas forrageiras**. Jaboticabal, p.26, 1993.

SENGER, C. C. D.; KOZLOSKI, G. V.; SNACHEZ, L. M. B.; MESQUITA, F. R.; ALVES, T. P.; CASTAGNINO, D. S. Evaluation of autoclave procedures for fiber analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 146, 98p. 169-174, 2008.

SHIBAO, J.; BASTOS, D. H. M. Produtos da reação de Maillard em alimentos: implicação para saúde. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 24, n. 6, p. 895-904, 2011.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**.3. ed. Viçosa. MG: UFV, p.235, 2002.

SILVA, T. S. R. **Avaliação da determinação da matéria orgânica fibrosa por meio de diferentes sistemas analíticos e sua comparação ao método oficial AOAC**. 2016. 66 p., Tese (Doutorado em Ciência Animal), à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes, 2016.

SOARES, M.S.; PIRES, A.J.V.; SILVA, L.G.; GUIMARÃES, J.O.; MACHADO, T.C.; FRAZÃO, O.S. Utilização do Bagaço de Cana de açúcar na alimentação de ruminantes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 12, n. 01, p. 3837– 3855, 2015.

TEODORO, M.S.R.; COSTA, K.A.P.; DIAS, F.J.S.; SIMON, G.A.; SAENZ, E.A.;C.; SEVERIANO, E.C.; CRUVINEL, W.S. Composição bromatológica dos capins marandu e mulato II submetidos a diferentes alturas de resíduo. **Global Science and Technology**, v. 05, n. 03, p. 137–146, 2012.

ÚDEN, P.; ROBINSON, P.H.; WISEMAN, J. Use of detergent system terminology and criteria for submission of manuscripts on new, or revised, analytical methods as well as descriptive information on feed analysis and/or variability. **Animal Feed Science and Technology**, v.118, p.181–186, 2005.

VALADARES, R.F.D., GONÇALVES, L.C., SAMPAIO, I.B. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 2. Consumo, digestibilidades e balanços de compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1259-1263, 1997.

VALENTE, P. N. T. **Utilização de tecidos na avaliação de compostos fibrosos e na degradação ruminal in situ de alimentos para ruminantes**. 2010. 103p., Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, 2010.

VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; SAMPAIO, C.B.; GOMES, D.I. Avaliação dos teores de fibra em detergente neutro em forragens, concentrados e fezes bovinas moídas em diferentes tamanhos e em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.5, p.1148-1154, 2011.

VAN SOEST P.J. Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds. I. Preparation of Fiber Residues of Low Nitrogen Content. **Journal of Association of Official Analytical Chemist**. 1963.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Publishing Associates/Cornell University Press, p. 476, 1994.

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**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P.J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. III Study of effects of heating and drying on yield of fiber and lignin in forages. **Journal of Association Official Agriculture Chemistry**, Arlington, v.48, p.758-790, 1965.

VAN SOEST, P.J.; WINE, R.H. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. **Journal of Association of Agricultural Chemistry**, Washington, v.51, p.780-85, 1968.