

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA – UFU
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE ZOOTECNIA

Rafael de Carvalho Serutti

**Determinação de alimentos volumosos em detergente ácido em
autoclave e digestor de fibras**

Uberlândia

2019

Rafael de Carvalho Serutti

Determinação de alimentos volumosos em detergente ácido em autoclave e digestor de fibras

Projeto de pesquisa apresentado 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

2019

Determinação de alimentos volumosos em detergente ácido em autoclave e digestor de fibras

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

Uberlândia, 10 de julho de 2019

Prof.^a Dr.^a Eliane da Silva Morgado (FAMEV)

Prof.^a Dr.^a Simone Pedro da Silva (FAMEV)

Prof. Dr. Leandro Galzerano (IFTM)

Uberlândia
2019

Resumo

A fibra é um dos compostos presentes em plantas forrageiras e que tem grande importância na alimentação de herbívoros e a determinação de qualidade e quantidade da fibra dos alimentos pode ser feita por vários métodos analíticos. Objetivou-se avaliar a determinação da fibra em detergente ácido (FDA) em três diferentes alimentos volumosos: Capim Tifton 85, *Urochloa brizantha* cv. Xaraés (Capim Xaraés) e *Urochloa brizantha* cv. Marandú (Capim Marandú), utilizando-se autoclave e o digestor de fibra (TECNAL[®], modelo TL-149) e a técnica dos saquinhos filtrantes de tecido não tecido (TNT) com gramatura de 100g/m². O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2 com três alimentos volumosos e dois métodos (autoclave e digestor de fibras), com cinco repetições cada. As análises obtidas com a autoclave proporcionaram valores superiores ao equipamento digestor de fibra. Os diferentes equipamentos (autoclave e digestor de fibras) utilizados na determinação do teor de FDA dos alimentos volumosos proporcionaram resultados diferentes.

Palavra chave: FDA, métodos de análise, parede celular, TNT.

Abstract

Fiber is one of the compounds present in fodder plants and has great importance in feeding herbivores and the determination of quality and quantity of fiber of food can be done by various analytical methods. The objective of this study was to evaluate the determination of acid detergent fiber (FAD) in three different roughage foods: Tifton 85 Grass, *Urochloa brizantha* cv. *Xaraés* (Xaraés Grass) and *Urochloa brizantha* cv. *Marandu* (Marandu Grass), using an autoclave and the fiber digester (TECNAL[®], model TL-149) and the technique of non-woven fabric filter bags (TNT) weighing 100g / m². The experimental design was completely randomized, in a 3 x 2 factorial scheme with three roughage foods and two methods (autoclave and fiber digester), with five replicates each. The analyzes obtained with the autoclave provide values higher than the fiber digester equipment. The different equipment (autoclave and fiber digester) used in determining the FDA content of roughage foods provided different results.

Key-words: DAF, analysis methods, plant cell wall, TNT.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. Introdução..... | 1 |
| 2. Referencial Teórico..... | 2 |
| 2.1 A parede celular dos vegetais..... | 2 |
| 2.2 Métodos de determinação da fibra dos alimentos..... | 4 |
| 2.2.1 Determinação da fibra bruta..... | 4 |
| 2.2.2 Análise da fibra dos alimentos pelo método dos detergentes (Van Soest) | 5 |
| 2.2.2.1 Determinação da fibra em detergente neutro..... | 6 |
| 2.3 Diferentes métodos utilizados nas análises da fibra em detergente neutro e da fibra em detergente ácido..... | 7 |
| 3. Material e Métodos..... | 10 |
| 4. Resultado e Discussão..... | 13 |
| 5. Conclusão..... | 16 |
| 6. Referência Bibliográfica..... | 17 |

1. Introdução

A importância da determinação de fibra em alimentos para animais, principalmente para os ruminantes, é essencial no momento da formulação de uma ração, pois, com uma dieta adequada o gerenciamento da produtividade dos animais é refinado, minimizando perdas e maximizando ganhos, havendo uma direta relação com os elementos fibrosos dos alimentos ofertados (MACEDO JÚNIOR et al., 2007).

Métodos analíticos para determinação de fibras em alimentos vem sendo criados e aprimorados desde a década de 60. Um dos métodos mais importantes para determinação da qualidade de forrageiras foi proposto Van Soest (1963) que se baseia na separação dos compostos solúveis e insolúveis da parede celular de forrageiras em soluções de detergentes específicos, utilizando um sistema digestor de fibras, cadinhos filtrantes e um sistema a vácuo.

Várias adaptações da metodologia original têm sido estudadas, sendo chamadas de métodos alternativos para determinação de fibra, que vão desde o uso de diferentes equipamentos a diferentes tecidos para confecção de saquinhos filtrantes.

O uso da autoclave como forma de substituição do digestor convencional, também tem sido estudado na literatura (PELL e SCHOFIELD, 1993; DESCHAMPS, 1999; SENGER et al., 2008; FARIAS, 2015). Segundo Lourenço (2010), o uso de autoclave para determinação da fibra dos alimentos pode ser feito utilizando-se tanto cadinhos filtrantes e sistema a vácuo como no método convencional, como saquinhos filtrantes como no método Filter Bag Technique da ANKOM®, com o intuito de ser uma alternativa de análise e minimizando os custos e aumentar a quantidade de amostras analisadas em laboratórios.

O método Filter Bag Technique da ANKOM® recorre a uma automatização dos processos de digestão com equipamentos e saquinhos filtrantes desenvolvido pela própria empresa ANKOM® (F57), no entanto, o alto custo dos saquinhos levou ao desenvolvimento de pesquisas com tecidos alternativos como os desenvolvidos por Berchielli et al (2001), Valente et al. (2010) e por Farias (2015), que utilizaram saquinhos de nylon (50 μm), F57 (ANKOM®) e TNT (100g/m²). Valente et al. (2010), verificaram que o tecido de TNT apresentam resultados semelhantes aos saquinhos de F57 da ANKOM®, podendo ser dessa forma ser uma alternativa de menor custo para os laboratórios e pesquisadores.

Apesar dessas inovações tecnológicas ocorrerem nos métodos para determinação de fibra, poucos estudos foram feitos para verificar a acurácia dos métodos alternativos, ocasionando uma insegurança no uso dessas metodologias.

O objetivo foi comparar os resultados da análise da fibra em detergente ácido (FDA) de alimentos volumosos obtidos através da utilização de saquinhos filtrantes entre dois equipamentos, autoclave vertical (Phoenix®) e do digestor de fibra (TECNAL®, modelo TL-149).

2. Referencial Teórico

2.1 A parede celular dos vegetais

A célula vegetal é constituída por duas principais estruturas, pela parede celular que é um componente externo e que delimita toda a célula, e por uma estrutura interna, que é denominado como protoplasto, ou seja, tudo o que está contido pela membrana plasmática. Então dentro do protoplasto se encontra todo o restante das organelas das plantas como citoplasma, núcleo, mitocôndrias entre outras ligninas (RAVEN et al., 2001).

A parede celular vegetal é constituída por uma matriz complexa composta por polissacarídeos como a celulose, a hemicelulose e a pectina, por compostos fenólicos como a lignina, por proteínas e por minerais (CARVALHO e PIRES, 2008). Sendo formada por dois tipos de paredes que se sobrepõe, uma parede primária que está presente enquanto a célula está pouco diferenciada, sendo está caracterizada por serem delgadas e presentes em células jovens e em crescimento. E uma parede secundária mais espessa e resistente, onde haverá uma lignificação da célula dando mais rigidez, pois, após a conclusão do desenvolvimento celular, a gênese da parede secundaria é iniciada pelo processo de diferenciação celular da parede primária, com o decréscimo da produção de pectina e uma ascendência na produção de celulose, hemicelulose e lignina (RAVEN et al., 2001).

A celulose é a molécula que está presente em grandes quantidades nas paredes das células vegetais (FLY, 1988 apud BRAGATTO, 2007), ela é formada por polímeros composto por monômeros de glicose, que estão ligados entre si pelas suas extremidades e unidas por microfibrilas, que por sua vez se entrelaçam

assumindo um formato semelhante a um filamento de um cabo, atribuindo para a planta uma importante resistência estrutural (RAVEN et al., 2001).

De certa forma a celulose apresenta semelhanças com o amido que possui monômeros de glicose formando polissacarídeos, entretanto a diferença entre o polissacarídeo do amido (armazenamento) e o polissacarídeo da celulose (estrutural) está relacionada a ligação entre os átomos de carbono dos mesmos, sendo que o amido possui subunidades moleculares de alfa-glicose e a celulose possui subunidades de beta-glicose. Essa simples diferença limita tanto a planta como os animais de utilizar a celulose como forma de energia, todavia existem micro-organismos presentes no rúmen e no intestino grosso de animais herbívoros que conseguem hidrolisar a celulose e disponibiliza-la para o animal como forma de energia (VAN SOEST, 1994).

As hemiceluloses são heteropolissacarídeos e ramificados com ligações do tipo Beta 1-4 (VAN SOEST, 1994), que possuem interação intensa entre as microfibrilas da celulose, e essa interação confere para a planta uma grande estabilidade na parede celular através das pontes de hidrogênio com as microfibrilas (RAVEN et al., 2011). As hemiceluloses possuem funções diversas no vegetal como reserva de carbono, defesa contra agentes, transporte de água e nutrientes e sustentação (BUCKERIDGE et al., 2008, BUCKERIDGE et al., 2000).

A lignina é a segunda substância orgânica com maior quantidade na terra, ficando atrás apenas da celulose, na qual a lignina é um polímero fenólico complexo constituído por subunidades de três estruturas fenilpropanoide: alcóois p-cumárico, coniferílico e sinapílico, e podendo variar suas concentrações dependendo da espécie do vegetal oriundo (RAVEN et al, 2001). A lignina está distribuída de maneira variada em cada região da célula, contudo a parte onde há a maior concentração de lignina é na região da lamela média, diferentemente da parede secundária que apresenta concentrações baixas de lignina (FLY, 1988; TERASHIMA et al., 1993; REVEN et al., 2001).

A pectina, também chamada de substâncias pécticas, é um componente da parede celular dos vegetais que está presente principalmente na lamela média, mas pode ser encontrada em outras camadas da parede celular, atuando na união de células vizinhas (MOORE et al., 1986), sendo formada por polissacarídeo complexo, de alto peso molecular, rica em polímeros de ácido galacturônico (CAMPBELL; PENFIELD; GRISWOLD, 1979).

2.2 Métodos de determinação da fibra dos alimentos

O conhecimento das características alimentares é possível pela análise dos alimentos, e seus resultados têm muita relevância na nutrição animal. O foco principal da análise de alimentos é conhecer com profundidade características físicas e químicas dos alimentos de qualquer origem, sendo eles oriundos de compostos orgânicos como carboidratos, lipídios, proteína e vitaminas ou inorgânicos como os minerais (SILVA, 2002).

Em termos nutricionais os carboidratos dos alimentos podem ser divididos em carboidratos fibrosos, que ocupam espaço no trato digestivo dos animais e em carboidratos não fibrosos, que representa a fração mais facilmente e rapidamente degradada dos alimentos (NUSSIO et al., 2011). Mertens (2002) definiu fibra nutricionalmente como a fração orgânica do alimento, presente na parede celular das plantas, que é de difícil digestão.

Existem várias metodologias para a determinação da fração fibrosa dos alimentos, e na escolha do método a ser utilizado deve-se avaliar as suas limitações, acurácia, repetibilidade e custo (BIANCHINI et al., 2007). As principais análises de fibra dos alimentos para animais de produção incluem a fibra bruta, a fibra em detergente neutro e a fibra em detergente ácido (SILVA e QUEIROZ, 2002).

2.2.1 Determinação da fibra bruta

O sistema de Weende é o mais antigo dos métodos para definir componentes alimentares, criado por Henneberg e Stohmann (1864). Segundo esse sistema os alimentos são constituídos por água e matéria seca. A matéria seca é composta pela matéria inorgânica, também chamada de cinzas ou matéria mineral, e pela matéria orgânica que é constituída por compostos nitrogenados, representado pela proteína bruta, e por compostos não nitrogenados que engloba a gordura bruta e os carboidratos, que por sua vez, são divididos em: fibra bruta e extrativo não nitrogenado (WILLIAMS; OLMSTED, 1934).

A fibra bruta é a parte dos carboidratos da amostra não solubilizada após digestão sequencial em soluções ácida e alcalina. O resíduo resultante dessa análise é constituído em sua maior parte por celulose (SILVA e QUEIROZ, 2002), e parte da lignina e hemicelulose que não foram solubilizadas nessas soluções, sendo

este a grande limitação desse método (BIANCHINI et al., 2007), e o extrativo não nitrogenado é determinado por diferença, que agrega erros da análise de fibra bruta, deixando de representar de maneira real a fração de carboidratos solúveis e mais digestíveis (WILLIAMS; OLMSTED, 1934).

2.2.2 Análise da fibra dos alimentos pelo método dos detergentes (Van Soest)

Apesar da análise da fibra bruta ser bem difundida, sua eficácia para mensuração da fibra total é contestável por conta dos erros analíticos do processo, sendo assim, Van Soest (1963) propôs uma análise com detergente ácido específico capaz de solubilizar o conteúdo celular, os minerais solúveis e também a hemicelulose, isolando um resíduo composto basicamente pela celulose e a lignina chamado de fibra em detergente ácido (FDA).

No resíduo oriundo da análise de FDA, é possível determinar sequencialmente os teores de lignina, cutina, celulose, nitrogênio indigestível e sílica insolúvel em detergente ácido. Além dessa característica o método de FDA é muitas vezes utilizado no lugar do método de fibra bruta para quantificar fibra alimentar, devido as vantagens da análise da FDA em relação ao método de fibra bruta, como a facilidade no processo e na não dissolução da lignina (VAN SOEST, 1994).

Devido a solubilização da hemicelulose, um componente da parede celular dos vegetais, na análise da FDA. Van Soest e Wine (1967), desenvolveram um método mais preciso para estimar o teor de fibra total dos alimentos, pelo uso de um detergente neutro específico capaz de separar o conteúdo celular dos constituintes da parede celular dos vegetais, isolando um resíduo constituído mais especificamente por celulose, hemicelulose e lignina, chamado de fibra em detergente neutro (FDN). Mesmo fazendo parte da parede celular, no processo de análise de FDN, a pectina é dissolvida e não recuperada, no entanto, ela é considerada rapidamente e completamente fermentável por micro-organismos ruminais, portanto deve ser contabilizada como carboidrato não fibroso (HALL, 2003).

2.2.2.1 Determinação da fibra em detergente neutro

A metodologia de determinação de fibra em detergente neutro descrita por VAN SOEST e WINE (1967) consiste na utilização de detergente aniônico que formam sais de sódio solúveis em solução básica. Para que o método de FDN não sofra interferência com metais pesados, adiciona-se ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) com o intuito de se ligarem aos íons dos metais. Solução de lauril sulfato de sódio e ácido etilenodiaminotetraacético é possível produzir um resíduo rico em fibras de gramíneas forrageiras, na qual possibilita a recuperação componentes da parede celular como celulose, hemicelulose e lignina (VAN SOEST, 1994).

A análise da FDN foi desenvolvida para forragens contudo com o uso da metodologia para alimentos com altos teores de amido, o método passou a apresentar resultados não tão precisos, além do amido outros contaminantes como cinzas e proteínas insolúveis em detergente neutro, interferiram no resultado final superestimando o valor da FDN, dessa forma houve a necessidade de algumas adequações ao método original para estimar melhor os resultados da análise da FDN (VAN SOEST et al.1991).

A contaminação da FDN com amido, proteínas de origem animal e o solo pode ocorrer, todavia, a minimização da contaminação por amido se dá pela adição de alfa-amilase, enzima que hidrolisa o amido em oligossacarídeos. Para reduzir a contaminação com proteínas insolúveis no detergente neutro, foi preconizado o uso de sulfito de sódio que deteriora queratinas oriundas de pelos, no entanto, se o foco da análise for a parede celular do vegetal recomenda-se que não utilize o sulfito de sódio, pois esse composto dissolve a lignina inviabilizando a análise. Compostos inorgânicos são pouco recuperáveis no método de FDN por conta da ação do EDTA que se fixam nos íons dos metais, contudo, na solução de detergente neutro a sílica é pouco hidrolisada e seus traços caso forem detectados, dará indicativos de contaminação de solo, e irá causar a superestimação do valor da FDN. Todos esses procedimentos de adição de substâncias na solução de detergente neutro atenuam a possibilidade de um erro analítico (VAN SOEST, 1994).

2.3 Diferentes métodos utilizados nas análises da fibra em detergente neutro e da fibra em detergente ácido.

Além da alteração do método original pela inclusão de alfa-amilase e sulfato de sódio, outras alterações foram feitas pelo uso de novos equipamentos para a determinação da FDN, como o uso de autoclave e do sistema ANKOM®.

O método convencional da FDN utiliza equipamento digestor de fibra, béquer de forma alta e cadinho filtrante de vidro com porosidade grossa. A amostra é digerida por 60 minutos na solução de detergente neutro e após é filtrado sob vácuo (SILVA e QUEIROZ, 2002). Contudo, a mão de obra individual para cada amostra foi o fator limitante da eficiência do processo e estimulou modificações e aperfeiçoamentos, dando origem a outros equipamentos e procedimentos para determinação de FDN e da FDA (BERCHIELLI et al. 2001).



Figura 1 - Equipamento digestor de fibra.

Fonte: Google imagens.



Figura 2 - Cadinho filtrante de vidro com porosidade grossa.

Fonte: <http://www.quimis.com.br/produtos/detalhes/digestor-de-fibras>.



Figura 3 – Béquer de forma alta.

Fonte: <https://www.globaltradebr.com.br/produtos/bequer-forma-alta-berzelius.html>.

Komarek (1993) desenvolveram um procedimento de análise de fibra com o uso de saquinhos filtrantes, excluindo a necessidade de béquer, cadinho filtrante e sistema a vácuo. O uso dessa técnica possibilitou aumento significativo no número de amostras simultaneamente analisada por dia, além de eliminar a necessidade de filtração individual das amostras em cadinho filtrante e dependendo da amostra poderia ser dificultado (SENGER et al., 2008). No entanto esse método necessita de um equipamento específico denominado de sistema Ankon®, e baseia-se no uso de um sistema fechado que possibilita a digestão e filtração de um grande número de amostra por dia (BERCHIELLI et al. 2001). Esse sistema possui como vantagem minimizar a mão de obra nas análises da fibra, a homogeneidade na digestão e aumentando do volume de amostras analisadas (BERCHIELLI et al. 2001).

Apesar do sistema ANKOM® se destacar com relação ao método convencional, em questão do processo da análise, alguns pontos limitantes são evidentes como a poucas pesquisas com relação a esse método, e o alto valor dos saquinhos e do equipamento para fazer as análises (BERCHIELLI et al. 2001).

Em pesquisas feitas por Valente et al. (2010) onde objetivou-se avaliar a eficiência da utilização dos tecidos nylon, F57(ANKOM®) e o TNT (tecido não tecido) na avaliação de FDN, os resultados obtidos foram subestimados para os saquinhos de nylon do que para os saquinhos da F57(ANKOM®) e confeccionados com TNT. Essa subestimação das fibras insolúveis deve-se pela possível deterioração na malha dos saquinhos de nylon durante o processo das análises de FDN, propiciando uma vazão das partículas alimentares e fecais analisadas, pelos poros da malha danificada. Com esse problema relatado no experimento, pode-se inferir que a

utilização dos saquinhos de nylon como forma alternativa, não é recomendada para estimação FDN em alimentos e/ou em fezes. Entretanto, a confecção de saquinhos com o uso de TNT se mostrou viável, pois apresentou resultados semelhantes estatisticamente aos saquinhos de F57(ANKOM®), podendo ser dessa forma uma alternativa de menor custo para os laboratórios e pesquisadores, com relação ao o uso dos saquinhos produzidos pela ANKOM®, pois resulta também em análises confiáveis.

Pesquisa realizada por Berchielli et al (2001) com o intuito de determinar a FDN e FDA de alimentos e fezes, utilizando o equipamento da ANKOM® com quatro tipos saquinhos versus o método convencional proposto por Van Soest, demonstraram que os valores médios de FDN encontrados pela utilização do equipamento da ANKOM® mesmo com diferentes tipos de saquinhos na análise, foram semelhantes aos valores médios do método convencional, entretanto, os valores observados de FDN na análise de fezes, tiveram uma diferença nos resultados entre o método convencional e o aparelho da ANKOM®, e também houve diferença significativa entre os próprios saquinhos utilizados. Para FDA de quase todos os alimentos, os resultados obtidos pelo equipamento da ANKOM® utilizando vários tipos de saquinhos e o mesmo alimento a ser analisado, os valores foram bem semelhantes aos alcançados pelo método convencional, exceto uma das análises composta de polpa cítrica, que resultou em valores bem menores de FDA pelo aparelho ANKOM® do que os constatados pelo método convencional. Com relação aos valores de FDA para as fezes, os resultados foram diferentes entre os próprios saquinhos e entre o equipamento da ANKOM® e o método convencional.

A determinação de FDN e FDA também podem ser quantificadas através do método de autoclave, sendo uma alternativa ao método ANKOM® que é caro e o método convencional que demanda tempo e maior mão-de-obra. Apresentando vantagens frente à os dois métodos citados acima, a autoclave é uma técnica que promete vantagens como agilidade pois tem capacidade de processar grande número de amostras com um custo bem reduzido, entretanto, faltam mais pesquisas sobre o processo de determinação de FDN e FDA pela autoclave com o intuito de verificar o tempo, temperatura e a pressão adequada para execução da análise, assim como a acurácia e precisão do método (SENGER et al., 2008; BAUMGARTEN et al., 2016).

Como forma de avaliar o tempo ideal para utilização da autoclave na determinação de FDN e FDA de alimentos concentrados e forrageiras Senger et al. (2008), desenvolveu uma pesquisa testando vários tempos e temperaturas no equipamento autoclave e comparou-os com resultados obtidos pelo método convencional. Na solução de FDN foi adicionado alfa-amilase e os tempos e temperatura testados foram 40 min a 110°C, 60 min a 110°C, 40 min a 120°C e 60 min a 120°C. Com os resultados obtidos pelo experimento, pode-se concluir que tanto a autoclave quanto o método convencional pode ser utilizado para determinação de FDN e FDA, pois, apresentam resultados fidedignos, utilizando sacos filtrantes e temperatura de 110 °C por 40 minutos.

No trabalho realizado por Farias et al. (2015) onde objetivou-se comparar os valores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) entre o método convencional (VAN SOEST, 1967) com equipamentos de autoclave e digestor de fibra (métodos alternativos), utilizando saquinhos de tecido não tecido (TNT) e nylon. Os resultados obtidos de FDN através da utilização dos equipamentos com o TNT, foram diferentes com relação ao método convencional. Contudo, os resultados utilizando o nylon nos mesmos equipamentos foram semelhantes aos encontrados no método convencional. Para a análise da FDN, entre os dois métodos alternativos, os resultados obtidos não foram diferentes, já para a determinação de FDA os resultados obtidos não apresentaram igualdades com o uso dos equipamentos e dos tecidos dos saquinhos, exceto no digestor de fibra com o saquinho de nylon, foi o único a apresentar igualdade com o método convencional.

3. Material e Métodos

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

Foram avaliados os teores da fibra em detergente ácido (FDA) em amostra de três alimentos volumosos: *Urochloa brizantha* cv. Marandu (Capim Marandu), Capim Tifton 85 e *Urochloa brizantha* cv. Xaraés (Capim Xaraés), onde foram coletados no campo agrostológico da fazenda Capim Branco em Uberlândia-MG, no dia 13 de

maio de 2019, após a coleta todas as amostras foram alocadas em uma estufa ventilada a 65°C por 72 horas para perder umidade, posteriormente as amostras foram moídas em moinho de facas com peneira de 1mm, sendo possível desta forma determinar a matéria seca (MS) de cada volumoso. Análise de FDA foi feita por meio das técnicas dos saquinhos filtrantes utilizando-se o equipamento digestor de fibra da marca TECNAL[®], modelo TL-149 e a autoclave.

Os saquinhos filtrantes utilizados foram confeccionados com o tecido não tecido (TNT) com gramatura de 100g/m², de forma a possuírem 5 cm de comprimento por 5 cm de largura, o que corresponde a uma área de 25 cm². Os TNTs cortados para confecção dos saquinhos foram lavados com uma solução de detergente neutro comercial e água quente por 15 minutos, repetindo o processo por três vezes com um intervalo de 30 minutos para cada lavagem, sendo que na última lavagem foi deixado de molho por uma noite e, em seguida lavados com água destilada quente e com acetona, para a retirada goma presente no tecido, então foram postos sobre papel pardo em bancadas para evaporar a acetona e secar os tecidos por cerca de 3 horas.

Após os tecidos terem sido secos, os mesmos foram selados em seladora BARBI M-300 T nas bordas com o intuito de formar saquinho com dimensões 5 x 5 cm, posteriormente foram identificados e levados para estufa a 105°C por 2 horas e colocados em dessecador para esfriar por 30 minutos e pesados em balança analítica SHIMADZU ATX224 na qual foi registrado os pesos dos saquinhos sem amostras.

A quantidade de amostra em cada saquinho obedeceu a relação de 20 mg de matéria seca por centímetro quadrado de superfície selada por calor. Para cada amostra foi necessário adicionar nos saquinhos uma quantidade de matéria natural (MN) estabelecida, sendo elas: 0,5394g de *Urochloa brizantha* cv. Marandu (Capim Marandu), 0,5375g de capim tifton 85 e 0,5403g de *Urochloa brizantha* cv. Xaraés (Capim Xaraés), com cinco repetições para cada capim, seguindo as recomendações feitas por Detmann et al. (2012).

Na técnica utilizando o equipamento digestor de fibra (TECNAL[®], modelo TL-149), os saquinhos foram acondicionados nos pratos do equipamento e adicionados a solução detergente ácido, formado por água destilada, ácido sulfúrico e brometo de cetil trimetilamônio – CTAB P.A., permanecendo no equipamento por 60 minutos com a temperatura de $\geq 95^{\circ}\text{C}$. Após o processo de determinação, os saquinhos

foram lavados com água destilada fervente para retirada do detergente e, em sequência com acetona, posteriormente colocados na estufa ventilada a 65°C por 24 horas e após colocados em estufa a 105° C por duas horas, em seguida colocado no dessecador por 30 minutos para esfriar, seguidamente pesados em balança analítica SHIMADZU ATX224 e anotado os pesos do saquinhos mais resíduo e realizado os cálculos.

Na técnica da autoclave, os saquinhos foram acondicionados em um saco maior de TNT contendo um contrapeso de aproximadamente 200g em seu interior para evitar a flutuação das amostras no béquer (DESCHAMPS, 1999). Esse conjunto foi acondicionado em um béquer adicionando-se quantidade de solução de detergente ácido, suficiente para manter a relação de 50 ml de detergente por 0,5 grama de amostra (DETMANN, 2012).

Dessa forma, em um béquer de plástico com capacidade de 4.000 mL foram adicionados no máximo 15 saquinhos contendo amostras e aproximadamente 800 mL de solução de detergente ácido, selando-se a boca do béquer com papel alumínio, papel pardo e plástico para evitar a entrada de vapor no béquer (DESCHAMPS, 1999; SENGER et al., 2008). Em seguida o béquer com as amostras foi acondicionado em uma autoclave por 60 minutos a temperatura de $\leq 105^{\circ}\text{C}$ com pressão de aproximadamente 0,32 Kgf/cm² (DETMANN, 2012). Após, os saquinhos foram lavados com água destilada quente para retirada do detergente, e em sequência com acetona, e colocados na estufa ventilada a 65°C por 24 horas em seguida colocados em estufa a 105° C por duas horas e após em dessecador para esfriar por aproximadamente 30 minutos e pesados em balança analítica SHIMADZU ATX224 e anotado o peso do saquinho mais resíduo e realizado os cálculos.



Figura 4 – Autoclave.

Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 5 – Medidor de temperatura e pressão. Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 6 – Béquer com Amostras digeridas.

Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 7 – Béquer com amostras digeridas.

Fonte: Arquivo pessoal.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2 com três alimentos volumosos e dois métodos (autoclave e digestor de fibras), com cinco repetições cada. Os valores obtidos foram avaliados quanto aos testes de normalidade e de homogeneidade de variância e as pressuposições 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

Os resultados das análises da FDA das amostras dos alimentos volumosos avaliados utilizando-se diferentes equipamentos estão apresentados na Tabelas 1. Não foi observada interação significativa entre os volumosos avaliados e os diferentes equipamentos.

Tabela 1. Valores médios dos percentuais de fibra em detergente ácido (FDA) dos alimentos volumosos obtidos utilizando-se a autoclave e o digestor de fibras.

| Volumoso | Equipamento | | Geral |
|-----------------|-------------|--------------------|-------|
| | Autoclave | Digestor de Fibras | |
| Capim Marandu | 44,08 | 42,76 | 43,42 |
| Capim Tifton 85 | 45,22 | 41,97 | 43,60 |
| Capim Xaraés | 42,81 | 41,15 | 41,98 |
| Geral | 44,04 a | 41,96 b | |

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

Os diferentes equipamentos (autoclave e digestor de fibras) utilizados na avaliação do teor de FDA dos alimentos volumosos proporcionaram resultados estatisticamente diferentes, com valor maior obtido para a autoclave. Considerando que a autoclave é um ambiente pressurizado esperava-se que os resultados obtidos com este equipamento fossem inferiores aos obtidos pelo digestor de fibras (TECNAL[®], modelo TL-149), ambiente não pressurizado. De acordo com Gomes et al. (2011), o ambiente não pressurizado gera resultados superestimados do teor de fibras dos alimentos, pois neste tipo de ambiente pode ocorrer a formação de bolhas de ar no interior dos saquinhos, no momento da fervura do detergente, o que compromete o contato deste com a amostra reduzindo a eficiência de extração dos componentes não fibrosos dos alimentos.

O maior valor de FDA proporcionado pela autoclave pode ser explicado pela alta pressão de execução deste equipamento, pois a temperatura de 105°C em um ambiente pressurizado o ponto de ebulição da água aumenta o que pode não ter proporcionado fervura ou refluxo da solução de detergente ácido, não extraíndo assim os componentes não fibrosos das amostras, como o descrito por Barbosa et al. (2015), avaliou a análise da fibra utilizando a autoclave a temperatura de 105°C a pressão de (4.4 – 5.7 psi) por 60 minutos, em amostras de alimentos concentrados e volumosos e verificaram que o uso da autoclave em amostras de alimentos concentrado gerou resultados superestimados do teor de fibra em detergente neutro ocasionado pelo aumento do ponto de ebulição da água o que pode não ter proporcionado fervura ou o refluxo da solução de detergente neutro. Por outro lado, esses autores não observaram superestimativa do teor de FDN dos alimentos volumosos utilizando a autoclave, sendo recomendada a substituição do equipamento com refluxo utilizado no método convencional pela autoclave na análise da fibra de alimentos volumosos.

Segundo Baumgarten et al. (2016), o uso de autoclave (método alternativo) como uma técnica para determinação da FDA e FDN é promissora pela facilidade, rapidez, quantidade de amostras que podem ser processadas ao mesmo tempo e o baixo custo do equipamento, contudo, existe incógnita em relação ao tempo e temperatura adequada que as amostras devem ser submetidas.

A avaliação dos métodos da autoclave e do digestor de fibra (Marconi MA444/CI®) utilizando a técnica dos saquinhos móveis de TNT (100g/m²), também foi verificado por Farias et al. (2015), esses autores observaram que a técnica da autoclave utilizando a temperatura de 120°C e pressão de 0,5 bar por 40 minutos proporcionou valor médio do teor da FDA do capim elefante de 62,68%, que foi superior ao obtido pela técnica do digestor de fibras de 46,61%, ambos os valores foram superiores ao obtido pelo método convencional com refluxo de 41,83%.

A avaliação das técnicas de determinação da FDA em alimentos volumosos foi testado por Geron et al. (2014) que testaram o método convencional, o método do filter bag technique da Ankon® usando digestor de fibras TECNAL® TL-149 e o método adaptado pela EMBRAPA que no qual esse método consiste em utilizar o tubo digestor com amostra e solução, que pode ser de FDN ou FDA e posteriormente levado para o bloco digestor para fazer simular a digestão. Os resultados apresentaram que não houve diferença estatística entre as técnicas analisadas. Esses autores obtiveram valor médio de 48,62% de FDA para o Capim Marandu utilizando a técnica dos saquinhos filtrantes F57 (Ankon®), valor superior ao obtido no presente estudo, em ambas os métodos utilizados.

Almeida (2018) avaliou o teor de FDN e FDA em amostras de alimentos concentrados e volumoso e fezes de caprinos por diferentes metodologias e verificaram que o percentual da FDA no feno de Capim Tifton 85 utilizando a autoclave a 0,5 atm por 60 minutos e saquinhos de TNT foi de 42,10%, inferior ao obtido pelo equipamento digestor de fibras, similar equipamento Ankon®, de 51,52%. O valor obtido por esses autores para o feno de Capim Tifton 85 foi inferior ao obtido no presente estudo.

A avaliação da composição bromatológica de diferentes cultivares de gramíneas forrageiras foram avaliados por Mendes et al. (2010), esses autores verificaram teores de FDA em Capim Marandu, Capim Tifton 85 e Capim Xaraés de 35,52%, 40,96% e 34,37%, respectivamente, utilizando a técnica dos saquinhos filtrante de TNT e equipamento digestor de fibras ANKOM®, valores inferiores aos

obtidos no presente trabalho, o que pode ser influenciado pela época de colheita da planta, pela fertilidade do solo e pelo clima.

5. Conclusão

A determinação da fibra em detergente ácido obtida no equipamento digestor de fibra e na autoclave nos alimentos volumosos avaliados, ambos utilizando saquinhos de TNT (100 g/m²), produziram resultados distintos.

6. Referência Bibliográfica

- 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.
- BAUMGARTEN, V. G.; CASTAGNARA, D. D.; MALAGUEZ, E. G.; HOCH, G. C.; GAYER, T. O. Substituição do aparelho determinador por autoclave na determinação de fibras em alimentos para ruminantes. In: **8º Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão (SIEPE)**, 2016.
- 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.
- BRAGATTO, Juliano. **Avaliação da composição química da parede celular de plantas de tabaco (*Nicotina tabacum*) que superexpressam o gene *ugdhd* de soja, que codifica a enzima UDP-glicose desidrogenase (EC 1.1.1.22).** 73 p. Juliano Bragatto. - - Piracicaba, 2007. Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.
- BUCKERIDGE, M. S.; SANTOS, H.P.; TINÉ, M.A.S. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology & Biochemistry**. v.38, p.141-156. 2000.
- BUCKERIDGE, M. S.; CAVALARI, A. A.; SILVA, G. B. DA. 2008. **Parede celular.** In: Gilberto Barbante Kerbauy. (Org.). Fisiologia Vegetal. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pg 165-181.
- DESCHAMPS, F. C. Implicações do Período de Crescimento na Composição Química e Digestão dos Tecidos de Cultivares de Capim-Elefante (*Pennisetumpurpureum* Schumach.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 28, n.6, p. 1358-1369, 1999.
- FARIAS, S.F.; QUEIROZ, L.O.; SANTOS, G.R.A.; FAGUNDES, J.L.; SILVA, M.A. **avaliação de tecidos e equipamentos alternativos na análise de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido.** 2015. 5p., Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, 2015.
- GERON, L. J. V. *et al.* **Avaliação do teor de fibra em detergente neutro e ácido por meio de diferentes procedimentos aplicados às plantas forrageiras.** Ciências Agrárias, v. 35, n. 3, p. 1533-1542, Londrina, 2014.
- GOMES, D *et al.* Avaliação laboratorial de compostos fibrosos em alimentos e fezes bovinas sob diferentes ambientes físicos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.63, n.2, Campos dos Goytacazes, RJ, 2011.

KOMAREK, A.R.; ROBERTSON, J.B.; VAN SOEST, P.J. 1994. **Comparison of the filter bag technique to conventional filtration in the Van Soest NDF analysis of 21 feeds**. National Conference on Forage Quality. Evaluation and Utilization Proceedings. Nebraska. Univ.

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.

MACEDO JÚNIOR, G.L.; ZANINE, A.M.; BORGES, I.; PÉREZ, J.R.O. Qualidade da fibra para a dieta de ruminantes. **Revista Ciência Animal**, v.17, p.7-17, 2007.

MENDES, R.S.; SANTOS, A.C.; PAIVA, J.A.; OLIVEIRA, L.B.T.; ARAÚJO, A.S. Bromatologia de Espécies Forrageiras no Norte Tocantinense. **Enciclopédia Biosfera**, vol.6, n.10, 2010.

MERTENS, D. R. Physical effective NDF and its use in formulating dairy rations. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM BOVINOS DE LEITE, 2., 2001, Lavras. **Anais**.Lavras: UFLA-FAEPE, 2001.

NUSSIO, L. G.; CAMPOS, F. P.; LIMA, M. L. M. **Metabolismo de carboidratos estruturais**. In: Editores: BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, A. V. P.; GISELE, S de. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: Funep, 2010.

PELL, A., SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. **Journal of Dairy Science**.v.76, p.1063–1073. 1993.

RAVEN, Peter H. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, ed 7. 2007. 830 p.

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 fibre analysis in forage and concentrate feed stuffs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 146, 98 p. 169-174, 2008.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2002. 235 p.

TERASHIMA, N.; FUKUSHIMA, K. HE. L.F.; TAKABE, K. in: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D.; RALPH, J.(Ed.). **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 1993. p.247-270.

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.

VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, New York, v. 51, 1968.

VAN SOEST, P. J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II –a rapid method for determination fiber and lignin. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, New York, v. 46, 1963.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. Comstock Publ. Assoc. Ithaca, 1994. p. 161 - 476

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, 1991.

WILLIAMS, R. D.; OLMSTED, W. H.A. **Biochemical method for determining indigestible residue (crude fiber) in feces: lignin, cellulose, and non-water soluble hemicelluloses**. 1934.653-666 p.