

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

LEIDILAINE MARTINS HENRIQUE

**DETERMINAÇÃO DA FIBRA EM DETERGENTE ÁCIDO EM ALIMENTOS
VOLUÇOSOS UTILIZANDO A AUTOCLAVE COM DIFERENTES TEMPOS E
TEMPERATURAS DE EXTRAÇÃO**

UBERLÂNDIA – MG

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

LEIDILAINÉ MARTINS HENRIQUE

Monografia apresentada a coordenação do curso graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial a obtenção do título de Zootecnista.

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

UBERLÂNDIA – MG

2019

**DETERMINAÇÃO DA FIBRA EM DETERGENTE ÁCIDO EM ALIMENTOS
VOLUOSOS UTILIZANDO A AUTOCLAVE COM DIFERENTES TEMPOS E
TEMPERATURAS DE EXTRAÇÃO**

Monografia apresentada a coordenação do curso graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial a obtenção do título de Zootecnista.

Uberlândia, 25 de novembro 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 – MG

2019

*Aos meus queridos pais Solange Martins de
Oliveira e Antônio Henrique Filipe, pela
paciência, compreensão, apoio
incondicional e incentivo durante a minha
jornada acadêmica,*

DEDICO.

Confia no Senhor e Ele satisfará os desejos do teu coração. Entrega teu caminho ao Senhor, confia nEle e o mais Ele fará.

(Salmos 37:4 e 5)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus por me dar sabedoria, saúde, paciência e forças para seguir frente às dificuldades e por me iluminar em toda a minha caminhada acadêmica, e agradeço também por todas as bênçãos sobre a minha vida e sobre a minha família.

Agradeço aos meus pais Solange e Antônio por estarem sempre ao meu lado me dando todo apoio, amor e incentivo, pela dedicação e esforço para que eu chegasse até aqui, sem eles nada disso seria possível.

Agradeço ao meu namorado Luan por me apoiar e incentivar todas as vezes em que pensei em desistir, por todo amor, carinho, cuidado e paciência e por estar comigo em todos os momentos.

Agradeço às minhas queridas amigas Ana Carolina e Larissa por serem luz na minha vida, torcendo por mim, me ajudando e apoiando sempre.

Agradeço à minha orientadora Prof.^a Dr.^a Eliane da Silva Morgado pela paciência, atenção, dedicação e tempo disponibilizado para me ajudar sempre que precisei. A admiro muito!

Agradeço à Prof.^a Dr.^a Simone Pedro da Silva por disponibilizar o Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal (UFU) para que este trabalho fosse realizado com sucesso, e pela ajuda nas dúvidas que tive.

Agradeço aos colegas estagiários do Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal (UFU) pela paciência e pelo tempo disponibilizado para me ajudarem sempre que precisei.

Agradeço à todas as pessoas que participaram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Minha eterna gratidão...

RESUMO

A análise do teor de fibra na nutrição animal é de grande importância, e vários métodos alternativos ao método convencional surgiram com a finalidade de reduzir a mão de obra, aumentar o número de amostra analisadas e reduzir o tempo de execução da análise, dentre os quais o uso da autoclave. Objetivou-se com o presente estudo avaliar o teor de fibra em detergente ácido em amostras de três alimentos volumosos: Capim Tifton 85 (*Cynodon* spp.), Capim Marandu (*Urochloa brizantha* cv. Marandu) e Capim Xaraés (*Urochloa brizantha* cv. Xaraés), por meio da técnica da autoclave em diferentes temperaturas e tempos de operação: 105°C por 60 minutos, 110°C por 40 minutos e 120°C por 40 minutos, utilizando-se a técnica dos saquinhos filtrantes. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3, com três diferentes temperaturas e tempo de execução da autoclave e três alimentos volumosos, com cinco repetições cada. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico R 3.6.1. Foi observada diferença estatística ($P < 0,05$) entre os diferentes tempos e temperaturas de execução para os três alimentos volumosos, pois conforme ocorreu o aumento da temperatura de execução da autoclave, menor foi o valor obtido para a fibra em detergente ácido. Concluiu-se que o uso de diferentes tempos e temperaturas de execução da autoclave utilizando saquinhos filtrantes de TNT (100g/m^2) gera diferentes resultados da fibra em detergente ácido em alimentos volumosos.

Palavras-chave: análise bromatológica, FDA, saquinhos filtrantes, volumosos.

ABSTRACT

The analysis of the fiber content in animal nutrition is of great importance, and several alternative methods to the conventional method arose with the purpose of reducing the labor force, increasing the number of samples analyzed and reducing the execution time of the analysis, among which the use of the autoclave. The objective of the present study was to evaluate the acid detergent fiber content in a sample of three roughage foods: Tifton 85 Grass (*Cynodon* spp.), Marandu Grass (*Urochloa brizantha* cv. Marandu) and Xaraés Grass (*Urochloa brizantha* cv. Xaraés), using the autoclave technique at different temperatures and operating times: 105°C for 60 minutes, 110°C for 40 minutes and 120°C for 40 minutes, using the filtering bag technique. The experimental design was entirely randomized in a 3x3 factorial scheme, with three different temperatures and autoclave execution time and three different roughage foods, with five replicates each. The results were submitted to analysis of variance and the averages compared using the Tukey test at 5% probability, using the statistical program R 3.6.1. Statistical difference ($P < 0,05$) was observed between the different execution times and temperatures for the three roughage foods, because as the autoclave execution temperature increased, the lower was the value obtained for the acid detergent fiber. It was concluded that the use of different times and temperatures of autoclave execution using TNT filter bags ($100\text{g}/\text{m}^2$) generates different results of acid detergent fiber in roughage foods.

Keywords: ADF, bromatological analysis, filter bags, roughage.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	2
2.1.Constituintes da parede celular dos vegetais	2
2.2.Importância da fibra na alimentação de ruminantes.....	4
2.3.Métodos de análise da fibra dos alimentos.....	6
2.3.1. Fibra bruta	7
2.3.2. Método de Van Soest	7
2.4.Alterações do método de Van Soest	8
3. MATERIAIS E MÉTODOS	10
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
5. CONCLUSÃO	15
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16

1. INTRODUÇÃO

A análise de alimentos é extremamente importante para o conhecimento de sua composição química e bromatológica, com o objetivo de fazer com que os nutricionistas elaborem dietas adequadas para os animais (LOURENÇO et al., 2017). O método mais utilizado na avaliação da composição química dos alimentos é o método de Weende que compõe as análises da matéria seca, matéria mineral, proteína bruta, extrato etéreo e fibra bruta (SILVA e QUEIROZ, 2006).

O método mais antigo de determinação da fibra dos alimentos é a análise da fibra bruta, e por ser considerada imprecisa por solubilizar parte da hemicelulose e da lignina da parede celular dos vegetais (SILVA e QUEIROZ, 2006), Van Soest (1963) e Van Soest e Wine (1967) desenvolveram o sistema de detergentes capazes de separar a fração solúvel da fração insolúvel e dessa forma quantificar com maior precisão o teor total dos componentes da parede celular dos vegetais (LOURENÇO et al., 2017).

A fibra em detergente neutro (FDN) quantifica os principais componentes da parede celular dos vegetais: celulose, hemicelulose e lignina (MERTENS, 1997), e por esse motivo constitui o parâmetro mais utilizado para o balanceamento de dietas para animais herbívoros. Enquanto que a análise da fibra em detergente ácido (FDA) isola a celulose e a lignina, e foi desenvolvida como um passo preparatório para a determinação da lignina (VAN SOEST e WINE, 1967), que é considerada indigestível pelos animais (CRAMPTON e MAYNARD, 1983), e o processo de lignificação da parede celular exerce efeito limitante na digestão de seus polissacarídeos (JUNG e DEETZ, 1993), sendo importante a sua quantificação em alimentos volumosos.

Várias alterações dos métodos originais, também chamados de convencionais, descritos por Van Soest (1963) e Van Soest e Wine (1967) para a determinação da fibra em detergente ácido (FDA) e da fibra em detergente neutro (FDN), respectivamente, foram descritos na literatura, como o uso de equipamentos e materiais diferentes, com a finalidade de tornar as análises mais rápidas e práticas, reduzindo a mão de obra e o custo, surgindo então os métodos alternativos ao método convencional (FARIAS et al., 2015), que utilizam saquinhos filtrantes ao invés de cadinhos filtrantes, e analisador de fibras em sistema fechado ao invés de digestor de fibras com refluxo (BERCHIELLI et al., 2001; CASALI et al., 2009; VALENTE et al., 2011; DETMANN et al., 2012; BARBOSA et al., 2015) e de autoclaves, que resultam em análises mais rápidas e práticas (PELL e SCHOFIELD, 1993; DESCHAMPS, 1999; DETMANN et al., 2012; BARBOSA et al., 2015).

O uso da autoclave em substituição ao analisador de fibras com refluxo utilizado no método convencional foi descrito na literatura por diversos autores como Pell e Schofield (1993), Deschamps (1999), Cordeiro et al. (2007), Senger et al. (2008), Detmann et al. (2012), Barbosa et al. (2015), Farias et al. (2015) e Lourenço et al. (2017). Segundo Baumgarten et al. (2016), o uso da autoclave na análise da fibra dos alimentos é uma alternativa bastante eficaz para substituir os métodos convencionais de Van Soest, pois permite a análise simultânea de um maior número de amostras em relação ao digestor de fibras convencional, gerando maior agilidade à rotina laboratorial por reduzir o tempo da análise, e pelo baixo custo do equipamento.

No entanto, diferentes temperaturas e tempo de execução da autoclave na análise da fibra têm sido descritos na literatura como: 105°C por 60 minutos (PELL e SCHOFIELD, 1993; DETMANN et al., 2012; BARBOSA et al., 2015), 110°C por 40 minutos (SENGER et al., 2008; FARIAS et al., 2015; LOURENÇO et al., 2017) e 120°C por 40 minutos (DESCHAMPS, 1999; SENGGER et al., 2008), no entanto, estudos devem ser feitos para testar se esses tempos e temperaturas na autoclave geram resultados semelhantes quanto ao teor de fibra dos alimentos.

Diante disso, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a análise da FDA em três diferentes alimentos volumosos pelo método da autoclave utilizando-se diferentes tempos e temperaturas de extração (105°C por 60 minutos, 110°C por 40 minutos e 120°C por 40 minutos) em saquinhos de tecido não tecido (TNT) com gramatura de 100g/m².

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Constituintes da parede celular dos vegetais

A parede celular está presente em toda célula vegetal, sendo composta por polissacarídeos, proteínas, compostos fenólicos, água e sais minerais, e esses elementos são dispostos e conectados de uma forma muito bem organizada através de ligações covalentes e não-covalentes (TAIZ e ZIEGER, 2002). A maior parte da parede celular é composta pelos polissacarídeos, representando aproximadamente 90% de seu peso seco, e consistem em celulose, que compõe de 20 a 40% da parede celular, hemicelulose (15-25%) e pectina (~30%) (BUCKERIDGE; SANTOS e SOUZA, 2014). Além dos polissacarídeos, a parede celular também é composta pela lignina, um polímero aromático que fornece rigidez a planta

(FARINAS, 2011), e é associada com a celulose e com a hemicelulose através da interação física e também através de ligações covalentes (PHILIPP e D'ALMEIDA, 1988), tornando-as indisponíveis à solubilização (VAN SOEST, 1994).

Existem dois tipos de parede celular vegetal: a parede celular primária, formada durante o crescimento celular, devendo ser estável e flexível para permitir a expansão das células e evitar sua ruptura, sendo composta principalmente de celulose, hemicelulose e pectina; e a secundária, formada após o término do crescimento celular, conferindo estabilidade mecânica a planta, e apresenta compostos de celulose e hemicelulose, que são muitas vezes impregnados de lignina. A diminuição da síntese de pectina e o aumento da síntese de celulose, hemicelulose e lignina caracteriza o início da formação da parede secundária (TAIZ e ZIEGER, 2002).

Segundo Van Soest (1994), a celulose é o polissacarídeo mais abundante da natureza e o principal constituinte da maioria das paredes celulares dos vegetais. É um homopolissacarídeo não-ramificado constituído unicamente por moléculas de glicose (PENEDO, 1980), unidas entre si por ligações glicosídicas do tipo β -1,4 (BUCKERIDGE; SANTOS e SOUZA, 2014). A estrutura da celulose apresenta regiões cristalinas altamente ordenadas e estabilizadas por ligações de hidrogênio intra e intermoleculares e regiões menos ordenadas ou amorfas onde as cadeias apresentam uma orientação aleatória. As ligações de hidrogênio intra e intermoleculares formadas entre as longas cadeias de celulose dão origem as microfibrilas de celulose, que formam um conjunto de agregados insolúveis em água (FENGEL e WEGENER, 1989) que podem variar em comprimento, largura e grau de ordenação (TAIZ e ZIEGER, 2002).

A hemicelulose é um heteropolissacarídeo formado por vários resíduos de açúcares pentoses (xilose e arabinose) e hexoses (glicose, manose e galactose), ácidos urônicos e grupos acetila, e esses açúcares estão ligados entre si, principalmente por ligações glicosídicas do tipo β -1,4, formando uma estrutura principal composta por um tipo específico de resíduo, a partir da qual surgem ramificações laterais de cadeias curtas de outros compostos (PENEDO, 1980). A classificação da hemicelulose se dá de acordo com o açúcar predominante na cadeia principal e na ramificação lateral, sendo que as principais hemiceluloses encontradas em plantas são os xiloglucanos (XyG), que são os mais abundantes, encontrados na maioria das eudicotiledôneas; os glucuronoarabinosilanos (GAX), que ocorrem em maior proporção em paredes celulares de gramíneas (família Poaceae) e os mananos (MN), que são de ampla ocorrência, mas geralmente aparecem em baixa proporção (BUCKERIDGE; SANTOS e SOUZA, 2014).

A pectina é um polissacarídeo ramificado encontrado na parede celular primária das células vegetais e nas camadas intercelulares (lamela média), composto por ácido galacturônico, xilose, arabinose, ramnose, manose, galactose e glicose (TAIZ e ZIEGER, 2006). Naturalmente, a pectina está associada à celulose e à hemicelulose através de ligações covalentes, sendo designada enquanto nesta forma de protopectina, e auxilia na adesão entre as células, sendo considerada o principal agente cimentante da parede celular, contribuindo para a firmeza, resistência mecânica e coesividade do tecido (PAIVA; LIMA e PAIXÃO, 2009).

Segundo Santos (2008), a lignina é o segundo material mais abundante do reino vegetal, que representa um conjunto de polímeros amorfos de natureza química bem distinta dos polissacarídeos, sendo caracterizada por uma estrutura aromática de natureza fenólica e de alto peso molecular, que pode atingir até 40% do seu peso seco dos resíduos vegetais. As unidades monoméricas precursoras da lignina são hidroxilas fenólicas dos álcoois trans-coniferílico (predominante em espécies arbóreas), trans-p-cumarílico e trans-sinapílico (predominantes em gramíneas e leguminosas) (FENGEL e WEGENER, 1989).

2.2 Importância da fibra na alimentação de ruminantes

A fibra é um termo meramente nutricional e sua definição está relacionada ao método analítico utilizado para sua determinação laboratorial, sendo que quimicamente, a fibra é um conjunto de componentes da parede celular dos vegetais, que são a celulose, hemicelulose e lignina (ALVES et al., 2016), que possuem uma menor degradação pelos microrganismos ruminais e também promovem uma saúde geral do rúmen (CALSAMIGLIA, 1997). A composição química da fibra depende da sua fonte e do método utilizado na sua determinação (MERTENS, 1997).

O entendimento dos processos fisiológicos responsáveis pela transformação dos nutrientes até a formação de produtos de origem animal, principalmente em função da disponibilidade de energia e de outros nutrientes, se inicia a partir do estudo da composição química e bromatológica dos alimentos (LIMA, 2004), e assim, o conhecimento dos teores de fibra dos alimentos fornece informações aos nutricionistas de ruminantes quanto ao comportamento da fibra no trato digestivo dos animais, velocidades e extensão da degradação e produtos finais de sua degradação (MACEDO JÚNIOR et al., 2007). Devido a qualidade das forragens causar impactos na produtividade dos animais, a partir da década de 70, os

nutricionistas passaram a dedicar-se em avaliar a qualidade desse alimento (CARVALHO, 1995).

Os carboidratos são os principais constituintes das forragens, correspondendo de 50 a 80% da sua MS, e suas características nutritivas dependem dos açúcares que os compõem e das ligações entre eles estabelecidas, e eles podem ser agrupados em duas grandes categorias conforme a sua menor ou maior degradabilidade: em fibrosos e não fibrosos, respectivamente (VAN SOEST, 1994), sendo que os carboidratos não fibrosos incluem os carboidratos encontrados no conteúdo celular (glicose, frutose, amido, sacarose e as frutanas) e a pectina (VITTORI et al., 2000), e os carboidratos fibrosos incluem os constituintes da parede celular dos vegetais, representados pela hemicelulose e celulose (VAN SOEST; ROBERTSON e LEWIS, 1991), assim, a natureza e a concentração desses carboidratos fibrosos são os principais determinantes da qualidade das forragens. A lignina não é considerada carboidrato, mas faz parte dos constituintes fibrosos da parede celular (VAN SOEST, 1994).

Por ser uma medida total do conteúdo de fibra insolúvel do alimento, a fibra em detergente neutro (FDN) constitui o parâmetro mais utilizado para o balanceamento de dietas, pois interfere na qualidade da mesma e tem muitos estudos que relacionam a quantidade de FDN nos alimentos e o respectivo consumo deste em ruminantes, e como a fibra em detergente ácido (FDA) não contém hemicelulose, não é uma boa estimativa da fibra como é definida nutricionalmente, pois não contém todos os polissacarídeos parcialmente digeríveis do alimento (MACEDO JÚNIOR et al., 2007). O método da FDA foi desenvolvido como um passo preparatório para a determinação da lignina (VAN SOEST e WINE, 1967) e não é utilizado para medir fibra nos alimentos (MACEDO JÚNIOR et al., 2007).

Na alimentação de ruminantes, a fibra é uma importante fonte de carboidrato, pois serve de energia para os microrganismos ruminais e estabelece limites máximos de ingredientes nas rações (VAN SOEST, 1994). Além disso, a fibra é essencial para estimular a mastigação, salivação, ruminação, fermentação, motilidade e a saúde geral do ambiente ruminal, evitando a ocorrência de distúrbios metabólicos (BIANCHINI et al., 2007; MACEDO JÚNIOR et al., 2007) e propiciando um ambiente favorável para o crescimento da população microbiana, que garante a degradação da fibra e de outros nutrientes, produzindo ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que são importantes fontes de energia, bem como a síntese de proteína microbiana, que serão aproveitados pelo animal (MERTENS, 2001). Considerando estes fatores, as plantas forrageiras são importantes fontes de nutrientes na nutrição de ruminantes, pois além da proteína e energia, provêm a fibra necessária para promover a função ruminal, e devido a isso, para formular dietas para animais ruminantes,

deve-se considerar a qualidade e a quantidade de forragens para atender as exigências nutricionais e de fibra desses animais, e os alimentos concentrados são usados para complementar as contribuições nutricionais das plantas forrageiras (TEIXEIRA e ANDRADE, 2001), uma vez que representam uma forma mais rápida em relação a disponibilidade de energia (RODRIGUES, 1998).

Segundo Mertens (2001), a fibra efetiva (Fe) tem sido definida como a capacidade da fonte de fibra da dieta em manter a saúde geral do rúmen e do animal. Entretanto, quando os ruminantes são alimentados com dietas contendo uma quantidade insuficiente de fibra ou com uma qualidade de fibra ruim, pode-se haver pouca Fe para promover ótima fermentação, prejudicando a produção do animal (MACEDO JÚNIOR et al., 2007), a motilidade ruminal, a salivação, o pH do rúmen e toda a fisiologia digestiva do rúmen (VARGA, 1997).

A digestibilidade da fibra tem sido definida como a proporção ingerida que não é excretada nas fezes, assim, a digestibilidade da fibra de forragens não é constante para todos os animais ou para todas as condições de alimentação, mas a principal fonte de variação decorre das diferenças na sua estrutura, composição química e estágio de maturidade (ZANINE e MACEDO JÚNIOR, 2006), sendo que a diminuição da sua digestibilidade pode reduzir o consumo da fibra pelo animal devido ao enchimento ruminal (MACEDO JÚNIOR et al., 2007) e, segundo Jung e Deetz (1993), a lignificação da parede celular pode limitar a digestão dos polissacarídeos, reduzindo o consumo de MS devido também ao enchimento ruminal. A concentração de fibra na dieta está negativamente correlacionada com o consumo de matéria seca (MS) em razão da fermentação mais lenta e de maior tempo de permanência no rúmen, porém, fibra mais digestível pode estimular o consumo de MS, pelo aumento da taxa de passagem, criando espaço para uma outra refeição (ROBINSON e McQUEEN, 1997).

De maneira geral, tanto a qualidade como a quantidade da fibra alimentar das forragens são parâmetros indispensáveis que podem influenciar na ingestão de MS pelos animais, seja ela ocasionada pela densidade energética ou pelo efeito físico de enchimento ruminal que a fibra alimentar pode causar nos animais ruminantes (MACEDO JÚNIOR et al., 2007; GERON et al., 2012).

2.3 Métodos de análise da fibra dos alimentos

Existem vários métodos de determinação do teor de fibra dos alimentos, como fibra bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) (LIMA,

2003). Para a escolha adequada da metodologia a ser empregada, deve-se observar alguns critérios, como o custo da análise, a mão-de-obra disponível, a possibilidade de implantação da técnica, o tempo de análise, a busca por maior precisão das estimativas e também deve-se considerar o impacto ambiental causado pelo método escolhido (BERCHIELLI et al. 2001). Segundo Jeffery et al. (2002), os métodos com maior exatidão em sua determinação podem ser muito lentos ou exigir reagentes com elevados custos e, levando em conta a economia, pode ser necessário escolher um método que, embora menos exato, dê resultados acurados em tempo razoável.

2.3.1 Fibra bruta

O método de determinação da fibra bruta (FB) dos alimentos foi desenvolvido há mais de um século pela estação experimental de Weende na Alemanha (BORTOLASSI et al., 2000), porém, vem sendo substituído pela análise da fibra em detergente neutro (FDN) e da fibra em detergente ácido (FDA) há cerca de 40 anos (NEUMANN, 2002), pois a análise da FB não tem sido considerada precisa devido a solubilização de frações de hemicelulose e lignina (SILVA e QUEIROZ, 2006). A análise da FB consiste na utilização de soluções de ácido e base fortes em duas extrações em sequência, na qual a primeira extração, que é ácida, remove amidos, açúcares, parte da pectina e da hemicelulose e a segunda extração, que é básica, extrai proteínas, pectinas, hemicelulose remanescente e parte da lignina. Dessa forma, a FB é formada principalmente de celulose adicionada de pequenas quantidades de lignina e hemicelulose (MERTENS, 2001).

2.3.2 Método de Van Soest

Van Soest (1963) e Van Soest e Wine (1967) desenvolveram detergentes específicos capazes de separar a fração solúvel da fração insolúvel em detergentes com o objetivo de quantificar com maior precisão o teor total dos componentes da parede celular dos vegetais. Van Soest (1963) desenvolveu um detergente ácido específico capaz de solubilizar a hemicelulose e o conteúdo celular que contém proteínas, lipídios, carboidratos e minerais solúveis, isolando um resíduo, composto basicamente pela celulose e lignina, podendo conter alguma contaminação por proteínas e minerais insolúveis, chamado de fibra em detergente ácido (FDA) (BIANCHINI et al., 2007). Van Soest e Wine (1967) desenvolveram um

detergente neutro específico capaz de solubilizar o conteúdo celular e assim isolar os constituintes da parede celular dos vegetais, obtendo-se um resíduo composto mais especificamente por celulose, hemicelulose e lignina, podendo conter alguma contaminação por proteínas e minerais insolúveis (BIANCHINI et al., 2007), denominado de fibra em detergente neutro (FDN), sendo este método utilizado com mais precisão em substituição ao método da FB em pesquisa e na nutrição de ruminantes (BIANCHINI et al., 2007; MACEDO JÚNIOR et al., 2007).

2.4 Alterações do método de Van Soest

O método convencional de Van Soest vem sofrendo modificações e aprimoramento com a finalidade de tornar as análises mais rápidas e práticas e assim reduzir a mão de obra e o custo (FARIAS et al., 2015). Dessa forma, vários métodos alternativos foram descritos com o uso de diferentes materiais e equipamentos, como o uso de saquinhos filtrantes ao invés de cadinhos filtrantes, e o uso de equipamentos como analisador de fibras (Ankom®) (DETMANN et al., 2012; BARBOSA et al., 2015) e de autoclaves (PELL e SCHOFIELD, 1993; DESCHAMPS, 1999; CORDEIRO et al., 2007; SENGER et al., 2008; DETMANN et al., 2012; BARBOSA et al., 2015; FARIAS et al., 2015; LOURENÇO et al., 2017), em substituição ao equipamento digestor de fibras com refluxo utilizado no método convencional (SILVA e QUEIROZ, 2002).

Segundo Senger et al. (2008), a principal vantagem do uso de saquinhos filtrantes ao invés de cadinhos filtrantes é a redução no tempo da análise, principalmente pela retirada da etapa da filtração e pela lavagem das amostras acondicionadas nos saquinhos ser feita de forma coletiva. Estes autores não recomendam a utilização de saquinhos de nylon na análise da FDA, pois o tecido não é resistente ao detergente ácido da solução.

Um dos métodos alternativos ao sistema convencional é o sistema Ankom®, que utiliza o analisador de fibras, cujo princípio de funcionamento baseia-se na digestão e filtração das amostras de alimentos contidas em saquinhos filtrantes, chamados de F57 e são obtidos na própria empresa fabricante do equipamento, em ambiente fechado, garantindo condição homogênea de digestão e filtração para todas as amostras e possibilitando a realização de um número bem maior de análises por dia, e as lavagens e filtrações sucessivas do método convencional de Van Soest, que anteriormente eram feitas manualmente, passam a ser feitas no próprio sistema, diminuindo a mão-de-obra. Embora a aplicação do F57 para avaliação do teor de fibra em alimentos apresente resultados favoráveis, o custo associado a

esse material pode inviabilizar sua aplicação rotineira em análise de alimentos (BERCHIELLI et al., 2001).

Com o intuito de avaliar diferentes tecidos na análise da FDN pela técnica dos saquinhos filtrantes utilizando o sistema Ankom®, Valente et al. (2011) avaliaram os teores de FDN utilizando-se saquinhos confeccionados de tecido de nylon (50 μm), saquinhos F57 da Ankom® e saquinhos confeccionados com tecido não tecido (TNT) com gramatura de 100g/m², e verificaram que a utilização dos tecidos F57 da Ankom® e do TNT proporciona estimativas acuradas dos teores de FDN e que o tecido de nylon (50 μm) promove a perda de partículas, comprometendo a exatidão e a confiabilidade dos resultados, concordando com os resultados obtidos por Piaggio et al. (1991) e Casali et al. (2009).

O estudo sobre diferentes tipos de tecidos e equipamentos na análise da FDN e FDA foi realizado por Farias et al. (2015), que compararam a técnica dos saquinhos filtrantes utilizando saquinhos feitos de tecido de nylon (50 μm) e de TNT (100g/m²), e dois diferentes equipamentos (digestor de fibra e autoclave) com o método convencional. Esses autores verificaram que o teor de FDN independente do equipamento utilizado, e o teor de FDA obtido no equipamento digestor de fibra, ambos com o tecido nylon, são semelhantes ao método convencional, podendo ser indicando como uma possível alternativa ao método convencional.

Segundo Baumgarten et al. (2016), o uso da autoclave na determinação de fibras dos alimentos é uma técnica promissora, pois permite a análise simultânea de um maior número de amostras em relação ao digestor de fibras convencional, conferindo maior agilidade à rotina laboratorial por reduzir o tempo da análise, e pelo baixo custo do equipamento. E de acordo com Casali et al. (2009), as análises desenvolvidas na autoclave oferecem a possibilidade de pesagem das amostras tanto em cadinhos filtrantes como em saquinhos filtrantes, e, na maioria das vezes, saquinhos de TNT, confeccionados no próprio laboratório de análises, têm sido preferencialmente utilizados ao invés do F57, visando a redução do custo da análise.

Cordeiro et al. (2007) analisaram os teores de FDN e FDA em cana-de-açúcar, farelo de algodão e fubá de milho e utilizaram a autoclave por ser mais prática, tendo validado seus resultados comparando com análises desenvolvidas pelo método convencional. Os resultados obtidos indicaram que não houve diferença entre os métodos analisados, o que comprovou a eficácia do uso da autoclave.

Segundo Lourenço et al. (2017), a autoclave é um sistema hermeticamente fechado cuja vantagem se dá pelo aumento da pressão e consequente aumento da temperatura em

menor tempo, facilitando a solubilização dos componentes da parede celular, diminuindo o tempo da análise. Deschamps (1999) avaliou a determinação do teor de FDN com o uso de saquinhos de nylon (45 μm) e autoclave com temperatura de 120°C e tempo de operação de 40 minutos, e inferiram que a adoção da autoclave permitiu a economia de reagentes, a redução do tempo de análise e a execução da análise de 120 amostras por operação. Senger et al. (2008) testaram quatro diferentes tempos e temperaturas de operação da autoclave: 40 minutos a 110°C, 60 minutos a 110°C, 40 minutos a 120°C e 60 minutos a 120°C, nas análises da FDN e FDA com o objetivo de encontrar um procedimento alternativo que não fosse diferente do método convencional, utilizando-se saquinhos de nylon (50 μm), e verificaram que as análises da FDN e FDA em autoclave a temperatura de 110°C durante 40 minutos não diferiu do método convencional, comprovando a eficiência do método.

Lourenço et al. (2017) compararam os teores de FDN e FDA obtido pelo método convencional com os resultados dos três métodos alternativos que utilizam a autoclave como sistema digestor (autoclave + saquinhos Ankom®, autoclave + saquinhos TNT e autoclave + cadinhos filtrantes), e verificaram que as metodologias alternativas permitiram ganhos consideráveis pela redução dos custos operacionais e do tempo da análise e que a precisão do método alternativo depende do alimento a ser analisado, assim, as determinações dos teores de FDN pelos métodos alternativos foram recomendadas no feno de Tifton 85, farelo de babaçu e cana-de-açúcar enquanto que as determinações dos teores de FDA pelos métodos alternativos não foram indicadas nos alimentos estudados com exceção das análises no farelo de babaçu, pelo método alternativo que utiliza a autoclave e saquinhos da Ankom®.

3. MATERIAIS 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, sendo eles: Capim Tifton 85 (*Cynodon* spp.), Capim Marandu (*Urochloa brizantha* cv. Marandu) e Capim Xaraés (*Urochloa brizantha* cv. Xaraés). Os capins foram coletados no campo agrostológico da fazenda Capim Branco da Universidade Federal de Uberlândia, no dia 13 de maio de 2019. As amostras coletadas foram secas em estufa ventilada a 65°C por 72 horas, e em seguida moídas em moinho de facas com peneira

de um milímetro, para determinação da matéria seca definitiva e dos teores de fibra em detergente ácido (FDA).

As análises da FDA foram realizadas por meio da técnica da autoclave utilizando-se três diferentes temperaturas e tempos de operação, sendo eles: 105°C por 60 minutos, conforme o preconizado por Pell e Schofield (1993), Detmann et al. (2012) e por Barbosa et al. (2015); 110°C por 40 minutos, conforme o descrito por Senger et al. (2008), Farias et al. (2015) e Lourenço et al. (2017) e 120°C por 40 minutos, conforme o realizado por Deschamps (1999) e Senger et al. (2008), utilizando-se a técnica dos saquinhos filtrantes.

Os saquinhos filtrantes foram confeccionados utilizando tecido não tecido (TNT) com gramatura de 100g/m², de forma a possuírem 5cm de comprimento por 5cm de largura após serem selados, o que corresponde a uma área útil de 25cm². Os tecidos cortados para a confecção dos saquinhos foram lavados quatro vezes com água quente e detergente neutro comercial por 5 minutos cada vez, sendo que na última, os tecidos foram deixados de molho nesta solução de um dia para o outro, e, no dia seguinte, os tecidos foram lavados com acetona para a retirada da goma presente no tecido e colocados na bancada sobre um pedaço de papel pardo para secarem por cerca de 1 hora e 30 minutos. Após, os tecidos foram selados somente nas laterais utilizando a seladora BARBI M-300 T, enumerados, colocados em estufa não ventilada a 105°C por 2 horas e, posteriormente, foram retirados da estufa e colocados em dessecador por cerca de 30 minutos para esfriarem. Em seguida, pesou-se os saquinhos na balança analítica MARTE AY220 para obter o peso dos saquinhos vazios.

Para determinar a quantidade de amostra a ser colocada nos saquinhos, quantificou-se a matéria seca dos três alimentos volumosos, em duplicata. Para isso, enumerou-se seis cadinhos de porcelana, que foram colocados em estufa não ventilada a 105°C por 2 horas e, posteriormente, foram retirados da estufa e colocados em dessecador por cerca de 30 minutos para esfriarem e após, foram pesados na balança analítica MARTE AY220. Em seguida, pesou-se 1g de cada amostra nos cadinhos, na mesma balança analítica, e colocou-os em estufa não ventilada a 105°C por 24 horas. No dia seguinte, os cadinhos foram retirados da estufa e colocados em dessecador por cerca de 30 minutos para esfriarem. Por fim, pesou-se os cadinhos e realizou-se os cálculos.

A quantidade de amostra em cada saquinho obedeceu a relação de 20mg de matéria seca/cm² de superfície selada por calor, seguindo as recomendações feitas por Detmann et al. (2012). Para cada amostra, foi pesado nos saquinhos, em balança analítica MARTE AY220, a quantidade estabelecida de matéria natural com cinco repetições para cada capim, sendo elas: aproximadamente 0,5275g de Capim Tifton 85, 0,5357g de Capim Marandu e 0,5353g de

Capim Xaraés. Após, os saquinhos com as amostras foram selados utilizando a seladora BARBI M-300 T, fechando-os completamente.

A solução de detergente ácido foi preparada conforme recomendação feita por Detmann et al. (2012), utilizando-se 83,1ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), 60g de brometo de cetiltrimetilamônio – CTAB P. A. [$C_{16}H_{33}N(CH_3)_3Br$] e água destilada, totalizando em três litros de solução.

Os saquinhos contendo as amostras foram acondicionados em um saco maior do mesmo tecido contendo um contrapeso em seu interior para evitar a flutuação das amostras no béquer (DESCHAMPS, 1999). Esse conjunto foi acondicionado em um béquer de plástico maior com capacidade de dois litros, adicionando-se quantidade de solução de detergente ácido suficiente para manter a relação de 50ml de detergente por 0,5g de amostra (DETMANN et al., 2012). Foram separados cinco saquinhos de cada capim para cada tempo e temperatura de extração, totalizando em 15 saquinhos por rodada na autoclave vertical da marca PHOENIX. Dessa forma, adicionou-se aproximadamente um litro de solução de detergente ácido, selando-se a boca do béquer com papel alumínio (DESCHAMPS, 1999; SENGER et al., 2008), e em seguida o béquer foi acondicionado na autoclave para a rodada nos tempos e temperaturas determinados, excluindo o tempo de aquecimento prévio da água e de resfriamento após a execução da análise.

Para a temperatura na autoclave não reduzir ou ultrapassar a temperatura determinada da rodada, foi feito seu controle através da chave de liga e desliga, onde se a temperatura aumentasse, a autoclave era desligada até voltar para a temperatura da rodada, e ligada novamente no mínimo para se manter nela, e se diminuísse, a autoclave era colocada no máximo para aumentar até a temperatura da rodada e colocada novamente no mínimo para se manter nela.

Após transcorrido o tempo de análise, a autoclave foi desligada e aguardado a saída da pressão para permitir a sua abertura e retirada das amostras. Em sequência, os saquinhos foram lavados com água destilada quente para a retirada do detergente, por três vezes, e em seguida lavados com acetona durante 5 minutos, levados para a estufa ventilada a $60^\circ C$ por 24 horas e sequencialmente, por 2 horas para a estufa não ventilada a $105^\circ C$ e, posteriormente, foram acondicionados em dessecador por cerca de 30 minutos para esfriarem. Em seguida, os saquinhos foram pesados na balança analítica MARTE AY220, e os pesos anotados para a realização dos cálculos (DETMANN et al., 2012).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3×3 , com três diferentes temperaturas e tempo de execução da autoclave e três

diferentes alimentos volumosos, com cinco repetições cada. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico R 3.6.1.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise da FDA das amostras dos diferentes alimentos volumosos avaliados neste presente estudo utilizando-se a autoclave em diferentes tempos e temperaturas de extração estão descritos na Tabela 1. Houve interação significativa entre os volumosos avaliados e as temperaturas e tempo de execução da análise.

Tabela 1. Valores médios dos percentuais da fibra em detergente ácido (FDA) dos alimentos volumosos utilizando a autoclave em diferentes tempos e temperaturas de execução.

Volumoso	Autoclave (temperatura/tempo)			Geral
	105°C/60 min	110°C/40 min	120°C/40 min	
Marandu	41,95 Ba	39,70 Ab	35,84 Ac	39,16
Tifton 85	42,96 Aa	39,44 Ab	35,94 Ac	39,44
Xaraés	40,45 Ca	39,50 Ab	35,91 Ac	38,62
Geral	41,78	39,55	35,90	

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

Foi observada diferença estatística ($P<0,05$) entre os diferentes tempos e temperaturas de execução para os três alimentos volumosos, pois conforme ocorreu o aumento da temperatura de execução da autoclave, menor foi o valor obtido para a FDA. Na temperatura de 105°C por 60 minutos também observou-se diferença estatística ($P<0,05$) entre os três capins, pois o teor de FDA para o Capim Tifton 85 foi maior, seguido do Capim Marandu e depois pelo Capim Xaraés. No entanto, com o aumento da temperatura, os valores de FDA diminuíram e se igualaram ($P>0,05$) nas temperaturas de 110°C e 120°C por 40 minutos para os três capins, esse fato pode ter ocorrido possivelmente pela solubilização de algum constituinte, ocasionando menores valores de FDA em relação à temperatura de 105°C por 60 minutos.

O uso da autoclave para análise da fibra em substituição ao digestor de fibras utilizado no método convencional vem sendo utilizado na literatura com diferentes temperaturas e tempos de execução. Barbosa et al. (2015), avaliaram a análise da FDN de amostras de

ferragem e de fezes pelo método convencional e pelo método da autoclave utilizando a temperatura de 105°C por 60 minutos e verificaram que os resultados foram similares. Por outro lado, esses autores observaram que em amostras de alimentos concentrados o uso da autoclave não gerou resultados semelhantes ao método convencional, e que este comportamento pode ter ocorrido devido à alta pressão dentro da autoclave, que pode ter elevado o ponto de ebulição da água não levando a solução de detergente à fervura, ocasionando uma superestimativa do valor da FDN.

No presente estudo, as inferências feitas pelo autor acima podem ter acontecido, pois a solução de detergente ácido pode não ter ido à fervura na autoclave a temperatura de 105°C, que é um ambiente pressurizado, não extraindo todos os componentes solúveis neste detergente, ocasionando maiores teores de FDA das amostras das ferragens avaliadas. Por outro lado, a temperatura de 105°C proporcionou menor solubilização do resíduo insolúvel em detergente ácido, gerando resultados próximos aos obtidos por Serutti (2019), que avaliou o teor de FDA das mesmas ferrageiras utilizadas no presente estudo em digestor de fibra (TECNAL, modelo TL-149), ambiente não pressurizado, e obteve valores de FDA de 42,76% para o Capim Marandu, 41,97% para o Capim Tifton 85 e 41,15% para o Capim Xarás.

A observação da redução dos valores de FDA com o aumento da temperatura de execução da autoclave obtida neste estudo também foi verificada por Senger et al. (2008), que avaliaram o teor de FDA em alimentos volumosos e concentrados utilizando a técnica da autoclave e saquinhos filtrantes de nylon (50 µm), em diferentes tempos e temperaturas de execução: 40 minutos a 110°C, 60 minutos a 110°C, 40 minutos a 120°C e 60 minutos a 120°C, e verificaram que o aumento da temperatura e do tempo de execução da análise subestimaram os resultados de FDA em amostras de ferragem, e esses autores atribuíram esse fato ao tecido de nylon utilizado não ser resistente ao detergente ácido quente, pois com o aumento da temperatura, ocorreu a abertura dos poros do tecido, promovendo a perda de partículas, e concluíram que a análise da FDA em autoclave a temperatura de 110°C durante 40 minutos não diferiu do método convencional.

No presente trabalho, o tecido utilizado para confecção dos saquinhos filtrantes foi o TNT (100g/m²), e pelos resultados obtidos, possivelmente esse tecido também não resiste a solução de detergente ácido com a elevação da temperatura da autoclave, o que pode ter causado ruptura da malha dos saquinhos permitindo a perda de partículas e dessa forma subestimando o valor da FDA das amostras, no entanto, não foi observado visualmente alterações na estrutura do tecido ao retirar os saquinhos da autoclave. Outra hipótese que pode ter acontecido para a diminuição do teor da FDA com o aumento da temperatura na autoclave

é a provável solubilização dos componentes da parede celular dos capins pelo detergente ácido.

Por outro lado, resultados contraditórios aos obtidos neste presente estudo de subestimativa dos teores da FDA com o aumento da temperatura da autoclave foram observados na literatura por Farias et al. (2015), que comparam o método convencional com equipamentos (autoclave e digestor de fibras) e tecidos alternativos (TNT – 100g/m² e nylon – 50 µm) na determinação da FDN e FDA do Capim Elefante, e verificaram que a técnica da autoclave a temperatura de 120°C por 40 minutos utilizando o tecido TNT ou o nylon superestimaram o valor da FDA em comparação ao método convencional.

Lourenço et al. (2017) compararam os teores da FDA obtidos pelo método convencional com os resultados dos três métodos alternativos que utilizam a autoclave como sistema digestor (autoclave + saquinhos Ankom®, autoclave + saquinhos TNT e autoclave + cadinhos filtrantes) a temperatura de 110°C por 40 minutos, e verificaram que o método autoclave + saquinhos TNT superestimou o valor da FDA em comparação ao método convencional dos alimentos avaliados, obtendo teores médios da FDA de 65,11% para o feno de Tifton 85, de 57,65% para o Capim Xaraés e de 60,97% para o Capim Marandu, sendo superiores aos valores médios obtidos pelo método convencional, que foram de 40,06% para o feno de Tifton 85, de 36,93% para o Capim Xaraés e de 39,06% para o Capim Marandu.

Dessa forma, cuidados devem ser tomados ao se comparar valores de FDA na literatura, pois diferentes métodos de análise podem gerar resultados diferentes, ou até mesmo contraditórios, havendo a necessidade de se padronizar o método de análise da fibra para os diferentes tipos de alimentos.

5. CONCLUSÃO

O uso de diferentes tempos e temperaturas de execução da autoclave utilizando saquinhos filtrantes de TNT (100g/m²) gera diferentes resultados da fibra em detergente ácido em alimentos volumosos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A. R.; PASCOAL, L. A. F.; CAMBUÍ, G. B.; TRAJANO, J. S.; SILVA, C. M.; GOIS, G. C. Fibra para ruminantes: aspecto nutricional, metodológico e funcional. **Revista Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 10, n. 7, p. 568-579, 2016.

BARBOSA, M. M.; DETMANN, E.; ROCHA, G. C.; FRANCO, M. O.; FILHO, S. C. V. Evaluation of Laboratory Procedures to Quantify the Neutral Detergent Fiber Content in Forage, Concentrate, and Ruminant Feces. **Journal of AOAC International**, v. 98, n. 4, 2015.

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: SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, Rio Grande do Sul. **Anais...** Rio Grande do Sul: v. 8, n. 2, 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.; JORGE, A. M.; ANDRIGHETO, C. Importância da fibra na nutrição de bovinos. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 8, n. 2, 2007.

BORTOLASSI, J. R.; SANTOS, G. T.; ALCALDE, C. R.; GONÇALVES, G. D.; ZAMBOM, M. A.; FURLAN, A. C. Comparação dos métodos convencional e Filter Bag Technique da Ankom® (FBT) para determinação de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, n. 3, p. 807-811, 2000.

BUCKERIDGE, M. S.; SANTOS, W. D. dos; SOUZA, A. P. **Routes for cellulosic ethanol in Brazil**. In: CORTEZ, L. A. B. (Coord.). Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade. São Paulo: Editora Blucher, p. 365-380, 2014.

CALSAMIGLIA, S. Nuevas bases para la utilizacion de la fibra en dietas de rumiantes. In: XIII CURSO DE ESPECIALIZACION FEDNA. **Anais...** Madrid, 1997.

CARVALHO, M. P. Citros. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 6., Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, p. 171-241, 1995.

CASALI, A. O.; DETMANN, E.; FILHO, S. C. V.; 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, n. 1, p. 130-138, 2009.

CORDEIRO, C. F. A.; PEREIRA, M. L. A.; MENDONÇA, S. S.; ALMEIDA, P. J. P.; AGUIAR, L. V.; FIGUEIREDO, M. P. Consumo e digestibilidade total dos nutrientes e produção e composição do leite de vacas alimentadas com teores crescentes de proteína bruta na dieta contendo cana-de-açúcar e concentrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 2118-2126, 2007. Suplemento.

CRAMPTON, E. W.; MAYNARD, L. A. The relation of cellulose and lignin content to nutritive value of animal feeds. **Journal of Nutrition**, v. 15, p. 383-395, 1983.

DESCHAMPS, F. C. Implicações do período de crescimento na composição química e digestão dos tecidos de cultivares de capim elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, p. 1358-1369, 1999.

DETMANN, E.; SOUZA, M. A.; FILHO, S. C. V. **Métodos para análise de alimentos-INCT-Ciência Animal**, Visconde do Rio Branco, Minas Gerais, Brasil, 2012.

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

FARINAS, C. A **parede celular vegetal e as enzimas envolvidas na sua degradação**. Embrapa. São Carlos, v. 1, p. 7-9, 2011.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions**. Berlin: Walter de Gruyter, 1989.

GERON, L. J. V.; MEXIA, A. A.; GARCIA, J.; ZEOULA, L. M.; GARCIA, R. R. F.; MOURA, D. C. Desempenho de cordeiros em terminação suplementados com caroço de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) e grão de milho moído (*Zea mays* L.). **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 17, n. 4, p. 34-42, 2012.

GONÇALVES, G. D.; SANTOS, G. T. dos; JOBIM, C. C.; DAMASCENO, J. C.; CECATO, U.; BRANCO, A. F. Determinação do consumo, digestibilidade e frações proteicas e de carboidratos do feno de Tifton 85 em diferentes idades de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 4, p. 804-813, 2003.

JEFFERY, G. H.; BASSET, J.; MENDHAM, J.; DENNEY, R. C. **Análise química quantitativa**. 6. ed. São Paulo: LTC, p. 2, 2002.

JUNG, H. G.; DEETZ, D. A. **Cell wall lignification and degradability**. In: JUNG, H. G.; et al. (Ed) Forage cell wall structure and digestibility. Madison: American Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Science Society of America, 1993.

LIMA, M. L. M. **Análise comparativa da efetividade da fibra de volumosos e subprodutos**. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2003.

LIMA, R. F. **Fracionamento de carboidratos de concentrados energéticos utilizados na alimentação animal**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

LOURENÇO, M. S. N.; MESSANA, J. D.; SADER, A. P. O.; CANESIN, R. C.; MALHEIROS, E. B.; CASTAGNINO, P. S.; BERCHIELLI, T. T. Comparison of laboratory methods to assess fiber contents in feedstuffs. **Revista Colombiana de Ciências Pecuárias**, v. 30, n. 1, 2017.

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, n. 1, 2007.

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,

NEUMANN, M. **Avaliação, composição, digestibilidade e aspectos metabólicos da fibra**. In: SEMINÁRIO APRESENTADO NA DISCIPLINA BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL (VET00036) DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS DA UFRGS. Porto Alegre: UFRGS, 122 p., 2002.

PAIVA, E. P.; LIMA, M. S.; PAIXÃO, J. A. 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, 211 p., 2009.

PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 4, p. 1063-1073, 1993.

PENEDO, W. R. **Uso da madeira para fins energéticos**. Belo Horizonte. Fundação CETEC, 1980.

PEREIRA, R. C.; RIBEIRO, K. G.; PEREIRA, O. G.; RIGUEIRA, J. P. S.; SILVA, J. L.; SANTOS, J. M. Composição químico-bromatológica em cultivares de *Brachiaria*. **Anais...** In: SIMPÓSIO NACIONAL CERRADO, 9.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE SAVANAS TROPICAIS, Brasília, 2008.

PHILIPP, P.; D'ALMEIDA, M. L. O. **Celulose e Papel**. Volume 1. Tecnologia de Fabricação da Pasta Celulósica. Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo – Centro Técnico em celulose e papel. São Paulo, 2ª edição, 1988.

PIAGGIO, L. M.; PRATES, E. R.; PIRES, F. F.; OSPINA, H. Avaliação das cinzas insolúveis em ácido, fibra detergente ácido indigestível e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 20, p. 306-312, 1991.

ROBINSON, P. H.; McQUEEN, R. E. Influence of supplemental protein source and feeding frequency on rumen fermentation and performance on dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 1340-1353, 1997.

RODRIGUES, M. T. **Uso de fibras em rações de ruminantes**. In: CONGRESSO NACIONAL DOS ESTUDANTES DE ZOOTECNIA, Viçosa, MG, 1998.

SANTOS, I. D. **Influência dos teores de lignina, holocelulose e extrativos na densidade básica e contração da madeira e nos rendimentos e densidade do carvão vegetal de cinco espécies lenhosas do cerrado**. f. 57, p. 13-15. Dissertação (Engenharia Florestal) - Universidade de Brasília, 2008.

SANTOS, L. C.; BONOMO, P.; SILVA, C. C. F.; PIRES, A. J. V.; VELOSO, C. M.; PATÊS, N. M. S. Produção e composição química da *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens* submetidas a diferentes adubações. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 4, p. 856-866, 2008.

SENGER, C. C. D.; KOZLOSKI, V.; SANCHEZ, 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**, p. 169–174, 2008.

SERUTTI, R. C. **Determinação de alimentos volumosos em detergente ácido em autoclave e digestor de fibras**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal de Uberlândia – Uberlândia, 2019.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. Ed. Editora UFV, 235 p., 2006.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 2. Ed. Viçosa, MG: UFV, 178 p., 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiología Vegetal**. Sunderland: Book Print Digital, 3ª edición, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3rd ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2002.

TEIXEIRA, J. C.; ANDRADE, G. A. Carboidratos na alimentação de ruminantes. In: IISIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA-NEFOR, 2001.

VALENTE, T. N. P.; DETMANN, E.; FILHO, S. C. V.; 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. Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. **Journal of Animal Science**, v. 26, p. 119-128, 1967.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. Comstock Publ. Assoc. Ithaca, 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**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds II. A rapid method of determination of fiber and lignina. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 46, p. 829-35, 1963.

VAN SOEST, P. J; WINE, R. H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds: Determination of plant cell-wall constituents. **Journal of Association Official Analytical Chemists International**, v. 50, n. 50, 1967.

VARGA, G. A. **Fiber in the ration: How effective should it be?** In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, Ithaca. Proceedings... Ithaca, NY: Cornell University, p. 117, 1997.

VITTORI, A.; SILVA, J. F. C.; VASQUEZ, H. M.; MORENZ, M. J. F. Frações de carboidratos de gramíneas tropicais em diferentes idades de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., Viçosa. **Anais...** Viçosa:SBZ, p. 569-571, 2000.

WEST, J. W.; MANDEBVU, P.; HILL, G. M.; GATES, R. N. Intake, Milk yield, and digestion by dairy cows fed diets with increasing fiber content from bermudagrass hay of silage. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 6, p. 1599-1607, 1998.

ZANINE, A. M.; MACEDO JÚNIOR, G. L. Importância do consumo da fibra para nutrição de ruminantes. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 6, n. 8, p. 1-10, 2006.