

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

Talita Gomes Santino

**Determinação da fibra em detergente neutro utilizando a autoclave
em diferentes tempos e temperaturas**

**UBERLÂNDIA-MG
2023**

Talita Gomes Santino

**Determinação da fibra em detergente neutro utilizando a autoclave
em diferentes tempos e temperaturas**

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

Orientadora: Profa. Dra. **Eliane da Silva Morgado**

**UBERLÂNDIA-MG
2023**

Talita Gomes Santino

Determinação da fibra em detergente neutro utilizando a autoclave em diferentes tempos e temperaturas

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

Orientadora: Profa. Dra. **Eliane da Silva Morgado**

APROVADA EM 03/02/2023

Prof.^a Dra. Eliane da Silva Morgado
(Universidade Federal de Uberlândia)

Prof.^a Dr. Lucio Vilela Carneiro Girao
(Universidade Federal de Uberlândia)

Me. Jhonatan Gonçalves Dias
(Universidade Federal de Uberlândia)

UBERLÂNDIA-MG
2023

AGRADECIMENTOS

Gostaria de dedicar os meus agradecimentos a todos que me acompanharam nessa caminhada acadêmica. Primeiramente a Deus que segura minha mão em todos os momentos da minha vida, me ensinando a ter perseverança e resiliência, me abençoando em todas as oportunidades que tive para poder chegar até aqui, além de iluminar meus caminhos já percorridos e que ainda irei percorrer.

Em segundo aos meus pais, ao Odival, meu pai, que lá do céu me assiste e me acompanha, tenho certeza de que se orgulha cada vez mais da mulher que estou me tornando, e a Wilta, minha mãe, que me ensina com um exemplo diário, o que é ser uma pessoa determinada, ambiciosa e dedicada.

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a Eliane da Silva Morgado, pela atenção, paciência e todos os conhecimentos passados.

A minha família que me incentiva e colegas que me deram suporte sempre que necessário.

E a esta universidade, aos docentes, diretores, coordenadores e administração que proporcionaram oportunidades, além da realização deste trabalho.

Muitíssimo obrigada.

RESUMO

O método de análise de fibra mais utilizado na alimentação animal e mais preciso em quantificar os componentes da parede celular dos vegetais lentamente e parcialmente fermentáveis é o método de análise da fibra em detergente neutro (FDN). Desde a descrição do método convencional de análise da FDN diversas alterações ocorreram, dentre elas, a substituição de materiais e equipamentos, como o uso da autoclave e saquinhos filtrantes, visando a rentabilização da análise, porém o tempo e temperatura de execução da autoclave não são um consenso entre autores que adotam essa substituição. Objetiva-se com o presente trabalho avaliar a análise da fibra em detergente neutro (FDN) em quatro diferentes alimentos pelo método da autoclave utilizando diferentes tempos e temperaturas de execução pelo método do saquinho filtrante de não tecido (TNT 100 g/m²). O experimento foi realizado no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia. Foram avaliadas a análise da FDN de quatro alimentos: silagem de sorgo, feno de tifton, concentrado e uma ração composta por silagem de sorgo, feno de tifton e concentrado, utilizando a autoclave com diferentes tempos e temperaturas de execução: 105°C por 60 minutos, 121°C por 40 minutos e 121°C por 60 minutos. Foram realizadas cinco repetições de cada alimento para tratamento. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com três tratamentos (temperatura e tempo) e cinco repetições para cada alimento. 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. Os valores médios dos teores de FDN do feno de tifton avaliados utilizando a autoclave nas temperaturas de 105°C por 60 minutos e de 121°C por 40 minutos, não diferiram estatisticamente entre si, para a silagem de sorgo o valor da FDN na temperatura de 105°C por 60 minutos, não diferiu do valor obtido na temperatura de 121°C por 60 minutos, Nas amostras de concentrado e da ração total foi verificado que os resultados obtidos na autoclave a temperatura de 121°C por 40 e 60 minutos não diferiram, mas estes diferiram do resultado obtido na temperatura de 105°C por 60 minutos, que foi superior. Conclui-se que a determinação de fibra em detergente neutro utilizando a técnica dos saquinhos filtrantes e a autoclave em diferentes temperaturas e tempo de execução geram resultados diferentes dependendo do tipo de alimento avaliado.

Palavras-chaves: concentrado, FDN, parede celular, TNT, volumoso.

ABSTRACT

The most used fiber analysis method in animal feed and the most accurate in quantifying the cell wall components of slowly and partially fermentable vegetables is the neutral detergent fiber (NDF) analysis method. Since the description of the conventional method of NDF analysis, several changes have been made, among them, the replacement of materials and equipment, such as the use of an autoclave and filter bags, aiming at making the analysis profitable, but the time and temperature of the autoclave are not a consensus among authors who adopt this substitution. The objective of this study is to evaluate the analysis of neutral detergent fiber (NDF) in four different foods using the autoclave method using different execution times and temperatures using the non-woven filter bag method (TNT 100 g/m²). The experiment was carried out at the Laboratory of Bromatology and Animal Nutrition belonging to the Faculty of Veterinary Medicine of the Federal University of Uberlândia. The NDF analysis of four feeds were evaluated: sorghum silage, tifton hay, concentrate and a ration composed of sorghum silage, tifton hay and concentrate, using the autoclave with different execution times and temperatures: 105°C for 60 minutes, 121°C for 40 minutes and 121°C for 60 minutes. Five repetitions of each food were performed for treatment. The experimental design used was completely randomized (DIC) with three treatments (temperature and time) and five replications for each food. The results were submitted to analysis of variance and means compared using Tukey's test at 5% probability, using the statistical program R 3.6.1. The mean values of NDF content of tifton hay evaluated using the autoclave at temperatures of 105°C for 60 minutes and 121°C for 40 minutes, did not differ statistically among themselves, for sorghum silage the value of NDF at temperature of 105°C for 60 minutes, did not differ from the value obtained at a temperature of 121°C for 60 minutes. In the concentrate and total feed samples, it was verified that the results obtained in the autoclave at a temperature of 121°C for 40 and 60 minutes did not differ, but these differed from the result obtained at a temperature of 105°C for 60 minutes, which was superior. It is concluded that the determination of neutral detergent fiber using the filter bag technique and the autoclave at different temperatures and execution times generate different results depending on the type of food evaluated.

Keywords: concentrate, NDF, cell wall, TNT, roughage.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	2
2.1 A parede celular dos vegetais	2
2.2 A fibra dos alimentos e os principais métodos de sua determinação	3
2.2.1 Alterações do método da fibra em detergente neutro.....	5
3. MATERIAL E METÓDOS	7
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	9
5. CONCLUSÃO.....	11
6. REFERÊNCIAS.....	11

1. INTRODUÇÃO

A fibra possui grande importância na nutrição e alimentação dos animais, principalmente de animais herbívoros como os ruminantes por estimular a mastigação, manter os padrões fermentativos, a estabilidade do ambiente ruminal, contribuindo assim para a saúde desses animais (ALVES, et al., 2016), e para os animais não ruminantes que possuem fermentação no intestino grosso que necessitam da fibra para manter a saúde intestinal, uma vez que este componente dos alimentos mantém os padrões fermentativos adequados e auxiliam na motilidade intestinal e trânsito digestório evitando distúrbios gastrointestinais (BRANDI e FURTADO, 2009; HERRERA et al., 2001). Os animais não ruminantes não herbívoros, possuem limitada capacidade de aproveitamento da fibra, no entanto, esse nutriente também possui benefícios quando adicionada em quantidades adequadas, pois auxilia no trânsito da digesta e no equilíbrio da flora intestinal (GOULART et al., 2016).

A fibra pode ser definida em termos nutricionais como a fração lentamente digestível ou indigestível dos alimentos que ocupa espaço no trato gastrointestinal dos animais (MERTENS, 1997), sendo a fração do alimento que não é digerida pelas enzimas digestivas dos animais somente fermentada por micro-organismos que habitam o trato digestivo destes (VAN SOEST; WINE, 1967), estando também a sua definição atrelada ao método analítico utilizado para sua quantificação, pois dependendo do método utilizado pode-se quantificar diferentes compostos dos alimentos que irão compor a fibra (MERTENS, 1992).

Existem vários métodos para determinação da fibra dos alimentos e o método mais utilizado na alimentação animal é o método descrito por VAN SOEST e WINE (1967), que desenvolveram um detergente neutro específico que isola no resíduo insolúvel em detergente neutro os principais componentes da parede celular dos vegetais que são a celulose, a hemicelulose e a lignina, denominado de fibra em detergente neutro (FDN).

O método convencional da análise da FDN utiliza-se béqueres de Berzelius acoplados ao determinador de fibra com refluxo e filtração em cadinhos filtrantes (Gooch) por um sistema a vácuo (SENGER, et al. 2007). Com o objetivo de melhorar a produtividade das análises, e reduzir o tempo gasto para realizar a análise de grande número de amostras por rodada foram desenvolvidos métodos alternativos com o uso de diferentes materiais e equipamentos (GERON et al., 2014), na qual foram feitas substituições do determinador de fibra com refluxo pelo analisador de fibras da ANKOM ou pela autoclave e substituição do cadinho filtrante pelo saquinho filtrante F57 (Ankom®) ou saquinhos

confeccionados com tecido de TNT com gramatura de 100g/m², conforme o descrito pelos autores Detmann et al. (2021), Barbosa et al. (2015), Detmann et al. (2012), Valente et al. (2011), Casali et al. (2009), Berchielli et al. (2001).

O uso da autoclave em substituição ao determinador de fibras com refluxo resulta em análises mais rápidas e práticas, e pode ser feito a análise utilizando tanto cadinho filtrante como saquinho filtrante (LOURENÇO et al., 2017). No entanto, o tempo e a temperatura de execução da autoclave na análise da fibra não é um consenso entre os autores, pois Detmann et al. (2021), Barbosa et al., (2015), Detmann et al., (2012), e Pell e Schofield (1993), utilizaram e recomendam a temperatura de 105°C pelo tempo de 60 minutos. Deschamps (1999), avaliou a análise da FDN utilizando autoclave a temperatura de 120°C por 40 minutos, utilizando saquinhos de nylon com porosidade média de 45 µm. Senger et al. (2008), compararam as análises da FDN e FDA realizadas pelo método convencional com o uso da autoclave utilizando saquinhos de nylon com porosidade de 50 µm, e verificaram que o uso da autoclave a temperatura de 110°C por 40 minutos não diferiram do método convencional, comprovando a eficiência do método.

Por outro lado, pesquisas mais recentes não recomendam o uso do saquinho de nylon para análise da fibra, pois esse tipo de tecido promove perda de partícula, e subestimando o valor de fibra da amostra (VALENTE et al., 2011). Casali et al. (2009) e Valente et al. (2011), recomendam o tecido de TNT com gramatura de 100g/m² para a confecção do saquinho filtrante para análise da FDN e FDA em substituição ao F57 Ankom® por produzir resultados similares.

Dessa forma, objetiva-se com o presente trabalho avaliar a análise da fibra em detergente neutro (FDN) em quatro diferentes alimentos pelo método da autoclave utilizando saquinhos filtrantes de tecido não tecido (TNT 100 g/m²) e diferentes tempos e temperaturas de extração (105°C por 60 minutos, 121°C por 40 minutos e 121°C por 60 minutos).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A parede celular dos vegetais

A definição estrutural dos vegetais tem como ponto de partida o conceito de parede celular, que é a camada mais externa da célula, constituída principalmente por polímeros de celulose, hemicelulose e lignina, além de outros componentes como pectinas, proteínas e ácidos hidroxicinâmicos menos abundantes (COSTA, 2019).

Os carboidratos representam de 50 a 80% do peso seco das plantas e podem ser agrupados quanto a sua disposição na planta em dois grandes grupos: carboidratos estruturais e carboidratos não estruturais (VAN SOEST 1994).

Os carboidratos estruturais são aqueles que constituem a parede celular dos vegetais que inclui principalmente a celulose, a hemicelulose e a pectina (VAN SOEST 1994). O principal constituinte da parede celular vegetal é a celulose que é um polissacarídeo com alto grau de polimerização e com cadeias lineares que podem chegar a 10.000 unidades, também solúvel em água e substâncias orgânicas e parcialmente hidrolisada em soluções ácidas, já em soluções básicas diluídas é insolúvel (GIGER-REVERDIN, 1995). A hemicelulose, é uma coleção heterogênea de polissacarídeos amorfos com ligações β 1-4, com grau de polimerização mais baixo que o da celulose, é insolúvel em água, mas solúvel em ácidos (VAN SOEST, 1994). E por fim a pectina, que é um polissacarídeo formado por ácido galacturônico em sua maior parte, considerada como o cimento das paredes celulares, é solúvel em soluções neutras e uma importante observação, é que diferente da celulose e da hemicelulose, é rapidamente fermentável pelos micro-organismos que habitam o trato digestivo dos animais (VAN SOEST, 1994).

Os carboidratos não estruturais são aqueles encontrados no conteúdo celular e representados pelos carboidratos de reserva das plantas como o amido, a sacarose e as frutanas (TEIXEIRA e ANDRADE, 2022). O amido é o principal carboidrato de reserva das plantas e é composto por unidades de glicose, organizadas em dois homopolissacarídeos, a amilose e a amilopectina (BALL et al. 1998).

A lignina é um componente, não carboidrato, importante da parede celular vegetal, e é um polímero polifenólico, com ligações não hidrolisáveis, estrutura amorfa e tridimensional. É indigestível pelos animais mamíferos mesmo quando associada com celulose e hemicelulose em plantas. Outra característica é sua rigidez e sua capacidade inflexível, exemplificada por tecidos com alto proporção de lignina, que são mais tendenciosos a quebrar do que dobrar, e por essa característica também é considerada um composto de defesa a fatores externos que venham a provocar a desfolhação (VAN SOEST, 1994).

2.2 A fibra dos alimentos e os principais métodos de sua determinação

A fibra pode ser definida em termos nutricionais como a fração lentamente e parcialmente digestível dos alimentos que ocupa espaço no trato gastrointestinal dos animais (MERTENS, 1997),

sendo a fração do alimento que não é digerida pelas enzimas digestivas dos animais e somente fermentada por micro-organismos que habitam o trato digestivo dos animais(VAN SOEST; WINE, 1967), estando também a sua definição atrelada ao método analítico utilizado para sua quantificação, pois dependendo do método utilizado pode-se quantificar diferentes compostos dos alimentos que irão compor a fibra (MERTENS, 1992).

Vários são os métodos descritos na literatura para quantificar a fibra dos alimentos, e o método mais antigo é o da fibra bruta que retém no resíduo insolúvel a celulose, parte da lignina e da hemicelulose, além de minerais não dissolvidos (SILVA e QUEIROZ, 2002), foi descrito pelo sistema de análise proximal ou sistema de Weende, e representa um método oficial de análise de alimentos descrito pela AOAC, além da facilidade de condução (MONZANI, 2013). Porém o método de fibra bruta, que tem como objetivo principal isolar os componentes fibrosos (menos digestíveis) das plantas resistentes pela degradação em soluções ácidas e alcalinas, apresenta determinação de componentes da parede celular inconsistentes após sua recuperação, uma vez que acarreta superestimação do teor de fibra pela solubilização dos componentes da parede celular (VAN SOEST ,1994).

Os métodos mais utilizados para quantificar a fibra dos alimentos, foram descritos por VAN SOEST (1963), que descreveu a análise da fibra em detergente ácido (FDA), que isola a celulose e a lignina dos alimentos, e não possui valor nutricional para os animais pois possui uma correlação negativa com a digestibilidade, devido a soma de celulose com lignina e insolúvel, resulta em uma menor digestibilidade quanto maior o seu teor na forragem (FARIAS et al.,2015). E foi descrito por VAN SOEST e WINE (1967), a análise da fibra em detergente neutro (FDN), que isola no resíduo insolúvel em detergente neutro os principais componentes da parede celular dos vegetais que são a celulose, a hemicelulose e a lignina, sendo este o método mais preciso em quantificar os componentes da parede celular dos vegetais lentamente e parcialmente fermentáveis. No entanto, não quantifica todos os componentes da parede celular dos vegetais, pois permite a solubilização de pectinas, gomas e β -glucanas, que são substâncias que são rapidamente fermentáveis por micro-organismos que habitam o trato digestivo dos animais, não sendo digeridas pelas enzimas digestivas destes, dessa forma, Hall et al. (1999), descreveram que a fibra dos alimentos pode ser subdividida em duas frações, uma fração insolúvel em detergente neutro, quantificada pela análise da FDN, e uma fração solúvel em detergente neutro, na qual, pode ser quantificada pela análise da fibra solúvel em detergente neutro (FSDN).

Por conta da solubilização de componentes da parede celular dos vegetais pela análise da FDN, tem-se aplicado outros métodos para avaliação do teor de fibra dos alimentos para animais não herbívoros, na qual inclui os métodos de determinação da fibra alimentar total (FAT), que inclui a fibra alimentar solúvel e insolúvel, dessa forma é possível quantificar todos os constituintes estruturais das plantas (PASCOAL e WATANABE, 2014), que inclui os polissacarídeos e lignina resistentes a ação digestiva das enzimas desses animais.

2.2.1 Alterações do método da fibra em detergente neutro

O método descrito por VAN SOEST e WINE (1967) da análise da fibra em detergente neutro (FDN), utiliza um detergente neutro específico que permite a separação da fração solúvel composta pelos componentes presentes no conteúdo celular (proteínas, carboidratos solúveis, gorduras e minerais), e por alguns componentes da parede celular dos vegetais, que são solúveis em detergente neutro que incluem a pectina, e outros oligossacarídeos, como as β -glucanas, galactanas e gomas (HALL, 2003), e a fração insolúvel é composta principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, podendo haver alguma contaminação por proteínas danificadas e cinzas insolúveis em detergente neutro (VAN SOEST 1967).

Para realização do método convencional utiliza-se béqueres de Berzelius acoplados ao determinador de fibra com refluxo e filtração em cadinhos filtrantes (*Gooch*) por um sistema a vácuo (SENGER, et al. 2007), a solução de detergente neutro utiliza detergente aniônicos, soluções tampões para manter pH próximo de 7 para evitar solubilização de componentes (celulose e hemicelulose), sulfato láurico e sulfito de sódio para remover as proteínas, EDTA para quelatar o cálcio, e solubilizar pectinase proteínas, e trietilenoglicol que permite a solubilização do amido (VAN SOEST, 1994).

O método convencional descrito na década de 60 foi desenvolvido para alimentos volumosos (forragens), no entanto, o seu uso para alimentos concentrados que possuem altos teores de amido, faz com que esse contaminante superestime o resultado final, dessa forma, foram propostas alterações do método convencional devido a dificuldades enfrentadas no processo analítico e melhorias que foram recomendadas para uma aplicação geral de alimentos em laboratório e não só forragem como convencionalmente foi feito (MERTENS, 1997). Uma dessas recomendações foi o tratamento com alfa-amilase para corrigir a superestimação devido à contaminação com o amido não dissolvido pela

solução do detergente neutro, este tipo de tratamento foi descrito como método acurado de medir o total da FDN sem a interferência do amido, além de facilitar a filtração (VAN SOEST, 1991).

Além da alteração do método convencional pela inclusão da alfa-amilase outras alterações ocorreram com o intuito de ter maior produtividade das análises, gastando menos tempo para análise de um grande número de amostras e economia no uso das soluções reagentes durante as análises da FDN, para isso foram desenvolvidos outros equipamentos como o da empresa ANKOM que criou o método do “*Filter Bag Technique*” (BERCHIELLI et al., 2001), que baseia-se na digestão e filtragem das amostras de alimentos contidas em saquinhos filtrantes (F57), em ambiente fechado, esse sistema utiliza um equipamento específico o analisador de fibras ANKOM, que permite determinar mais de 20 provas por vez, no lugar do determinador de fibras com refluxo que permite realizar apenas 6 provas por vez. Além disso, o sistema da ANKOM substitui o cadinho filtrante utilizado no método convencional por um saquinho filtrante desenvolvido pela própria empresa (filter bag F57) o que reduz a mão de obra com a lavagem dos cadinhos filtrantes (BERCHIELLI et al., 2001). O método do “*Filter Bag Technique*” foi descrito na literatura como um método que produz resultados equivalentes àqueles obtidos pelo método convencional (BERCHIELLI et al., 2001; CASALI et al., 2009; VALENTE et al., 2010; DETMANN et al., 2012; BARBOSA et al., 2015).

O uso do saquinho filtrante F57 da ANKOM garante uma homogeneização e agilização das amostras no processo da análise, porém requer grandes custos para sua aquisição, pois necessita de importação (GERON, et al., 2014; BERCHIELLI et al., 2001). Dessa forma, várias pesquisas foram feitas com o intuito de se obter um tecido alternativo ao F57 da ANKOM, como o descrito por Berchielli et al (2001), Valente et al. (2011) e Farias (2015), que utilizaram para confecção dos saquinhos filtrantes os tecidos de nylon (50 μm) e TNT (100g/m²). Segundo Valente et al. (2011), o tecido de TNT com gramatura de 100g/ m² produz resultados semelhantes aos saquinhos de F57 da ANKOM, podendo ser uma alternativa de menor custo para análise da fibra, e o tecido de náilon ocasiona perdas de partículas significativas com o que nos traz atenção sobre o requisito que o tecido alternativo precisa cumprir para efetividade na análise, a porosidade adequada, sendo recomendado o tecido de TNT com gramatura de 100g/ m².

O uso da autoclave em substituição ao determinador de fibras com refluxo, também é uma alteração do método convencional que foi descrito na literatura por diversos autores e bastante versátil e permite fazer a análise da fibra utilizando tanto cadinho filtrante, quanto saquinho filtrante (DETMANN et al., 2021; LOURENÇO et al., 2017; BARBOSA et al., 2015; FARIAS et al., 2015; DETMANN et al., 2012; SENGER et al., 2008; DESCHAMPS, 1999; PELL e SCHOFIELD, 1993).

No entanto, o tempo e a temperatura de execução nesse equipamento não são consenso entre eles, pois Detmann et al. (2021), Barbosa et al., (2015), Detmann et al., (2012), e Pell e Schofield (1993), utilizaram e recomendam a temperatura de 105°C pelo tempo de 60 minutos. Lourenço et al. (2017) e Senger et al. (2008) recomendam e utilizaram a temperatura de 110°C por 40 minutos, e Farias et al. (2015) e Deschamps, (1999) utilizaram a temperatura de 120°C por 40 minutos.

Segundo Senger et al. (2007), o uso da autoclave para análise da FDN foi uma alteração desenvolvida para que um equipamento comum aos laboratórios e de baixo custo pudesse ser aplicado na análise, renunciando a equipamentos especializados, caros e nem sempre disponíveis, além disso, permite a análise simultânea de um grande número de amostras, reduzindo o tempo gasto com as análises, otimizando a rotina laboratorial (BAUMGARTEN et al., 2016).

3. MATERIAL E METÓDOS

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 neutro (FDN) em quatro amostras de alimento, pelo método da autoclave utilizando saquinhos filtrantes de tecido não tecido (TNT 100 g/m²), em diferentes tempos e temperaturas de extração: 105°C por 60 minutos, 121°C por 40 minutos e 121°C por 60 minutos. Foi utilizado duas autoclaves diferentes, sendo uma autoclave vertical, com funcionamento analógico por meio de chave seletora e válvula controladora de pressão com sistema de peso e contrapeso regulável, esse equipamento permite o controle da temperatura e pressão manual o que possibilita fazer um ciclo de 105 °C por 60 minutos. A outra autoclave utilizada foi a vertical digital e automática, que permite a seleção do tempo e da temperatura de forma digital e saída de vapor e despressurização automática, com temperatura mínima de execução de 121° C e pressão mínima de 1.1 kg/cm². Nesse equipamento foi realizado a análise da FDN na temperatura de 121 °C por 40 minutos e por 60 minutos.

As amostras de alimento foram coletadas no setor de bovinocultura de leite da fazenda do Glória da Universidade Federal de Uberlândia. As amostras coletadas foram: silagem de sorgo, feno de tifton, concentrado para bovinos em recria, e ração total para bovinos em recria (composta por silagem de sorgo, feno de tifton e concentrado).

As amostras de silagem de sorgo, feno de tifton e ração total coletadas foram pré-secas em estufa ventilada a 60°C por 72 horas. Após a pré-secagem essas três amostras e a amostra de

concentrado foram moídas em moinho de facas com peneira de um milímetro, e acondicionada em potes plásticos devidamente identificados.

Foi realizada a análise da matéria seca em estufa a 105°C, sem circulação de ar, nas quatro amostras de alimento, segundo a metodologia descrita por Detmann et al. (2021). Para a análise da fibra em detergente neutro (FDN), foi preparado a solução do detergente neutro conforme o descrito por Detmann et al. (2021), assim como o preparo dos saquinhos filtrantes confeccionados de tecido não tecido (TNT) com gramatura de 100g/m².

O tecido de TNT (100g/m²) foi cortado em vários retângulos de 5cm de largura e 10 cm de comprimento e então lavados em uma solução fervente de detergente neutro comercial, por 15 minutos, preparada na proporção de 1 litro de água destilada e 20 mL de detergente neutro comercial, conforme o descrito por Detmann et al. (2021). Em seguida, os cortes do tecido foram enxaguados com água até a retirada completa do detergente, e então levados a estufa ventilada a 60°C por 24 horas. Em sequência foram selados nas laterais para formar saquinhos de 5cm de comprimento por 5cm de largura, o que corresponde a uma área útil de 25cm² e então numerados. Após foram colocados em estufa não ventilada a 105°C por 2 horas e, posteriormente, foram colocados em dessecador por cerca de 30 minutos para esfriarem, e em seguida foram pesados para a obtenção do peso dos saquinhos vazios.

A quantidade de amostra a ser colocada 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. (2021), e então selado em seladora manual.

Os saquinhos selados contendo as amostras foram acondicionados em um saco maior de tecido de tule contendo um contrapeso em seu interior para evitar a flutuação dos saquinhos com as amostras no béquer (DESCHAMPS, 1999). Esse conjunto foi acondicionado em um béquer de plástico com capacidade de dois litros, adicionando-se quantidade de solução de detergente neutro suficiente para manter a relação de 50 ml de detergente por 0,5g de amostra e 500 µl de alfa amilase termoestável/grama de amostra (DETMANN et al., 2021).

Foram realizadas cinco repetições de cada alimento para cada tempo e temperatura de extração (105°C por 60 minutos, 121°C por 40 minutos e 121°C por 60 minutos), totalizando em 20 saquinhos por rodada na autoclave. Dessa forma, foi adicionado aproximadamente um litro de solução de detergente neutro no béquer e aproximadamente 5 ml de alfa amilase termoestável, após foi selada boca do béquer com papel alumínio (DESCHAMPS, 1999; SENGER et al., 2008), e em seguida o

béquer selado contendo as amostras foi acondicionado na autoclave para a rodada nos tempos e temperaturas determinados.

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 até a retirada do detergente, e em seguida, lavados com acetona durante 5 minutos, e posteriormente levados para a estufa ventilada a 60°C por 24 horas, e sequencialmente, para a estufa não ventilada a 105°C por 2 horas. Em seguida, foram retirados da estufa e acondicionados em dessecador, por cerca de 30 minutos, para esfriarem, e então pesados e registrado o peso do saquinho mais resíduo insolúvel em detergente neutro, para a realização dos cálculos (DETMANN et al., 2021).

Para a avaliação estatística de cada alimento avaliado (silagem, feno, ração total e concentrado) foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos (tempo e temperatura de execução da autoclave), e cinco repetições para cada alimento. 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 3.6.1.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os valores médios da análise estatística dos teores da FDN dos alimentos: feno de tifton, silagem de sorgo, ração total e concentrado, em diferentes tempos e temperaturas de execução da autoclave estão descritos na tabela 1.

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão, dos teores de fibra em detergente neutro (FDN) utilizando a autoclave com diferentes tempos e temperatura de execução.

Alimentos	Autoclave			P -valor
	105°C por 60 minutos	121°C por 40 minutos	121°C por 60 minutos	
Feno de tifton	78,60 ± 0,78 a	79,27 ± 0,66 a	77,32 ± 0,74 b	<0,01
Silagem de sorgo	50,50 ± 0,68 a	49,50 ± 0,48 b	50,26 ± 0,59 ab	<0,01
Concentrado	14,89 ± 2,15 a	11,71 ± 1,42 b	9,53 ± 0,27 b	<0,001
Ração total	54,64 ± 0,86 a	50,43 ± 0,44 b	50,41 ± 1,01 b	<0,01

*Médias seguidas de mesma letra, na linha, não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os valores médios dos teores de FDN do feno de tifton avaliados utilizando a autoclave nas temperaturas de 105°C por 60 minutos e de 121°C por 40 minutos, não diferiram estatisticamente entre si, dessa forma ambos tratamentos foram os únicos observados com essa relação e podem ser utilizados na análise da FDN, para esse tipo de alimento, sem impacto negativo no resultado final, o que é compatível com o descrito por Deschamps (1999) que avaliou teores de FDN em forragens na autoclave a temperatura de 120°C, com variação de ± 1 °C, e tempo de operação de 40 minutos, e obteve resultados que promoveram a produtividade de análises sem o comprometimento de resultados. E de acordo com Barbosa et al. (2015), que avaliaram a análise da FDN em alimentos volumosos utilizando a autoclave, a temperatura de 105°C com tempo de operação de 60 minutos, e observou que esse método gera resultados similares ao método convencional podendo ser usado em substituição ao equipamento com refluxo. No entanto, para a silagem de sorgo o valor da FDN na temperatura de 105°C por 60 minutos gerou valor estatisticamente superior ao valor obtido a 121°C por 40 minutos, porém não diferiu do valor obtido na temperatura de 121°C por 60 minutos.

Ao avaliar diferentes tempos e temperaturas de execução da autoclave para análise da FDN, utilizando a técnica de saquinhos filtrantes, em diversos alimentos volumosos, Senger et al., (2008), verificaram que a temperatura de 120°C por 40 e por 60 minutos geraram resultados semelhantes aos do método convencional, podendo ser utilizados sem prejuízos ao resultado final. Por outro lado, Farias et al. (2015), avaliaram o teor de FDN do capim elefante (*Pennisetum purpureum schum*), utilizando a autoclave a temperatura de 120°C ± 1 °C, por 40 minutos, e saquinhos filtrantes de TNT, e verificaram que esta técnica subestima o valor da FDN em comparação ao método convencional, por promover solubilização dos polissacarídeos parcialmente indigeríveis da forragem, em função da temperatura, pressão ou volume da solução, exercidos sobre os saquinhos. De uma forma geral, observou-se que os valores de FDN obtidos na autoclave a temperatura de 105°C foram superiores aos obtidos na temperatura mais elevada de 121°C, com exceção do feno de tifton por 40 minutos, possivelmente pela temperatura a 105°C promover menor solubilização dos constituintes dos alimentos.

Nas amostras de concentrado e da ração total foi verificado que os resultados obtidos na autoclave a temperatura de 121°C por 40 e 60 minutos não diferiram, mas estes diferiram do resultado obtido na temperatura de 105°C por 60 minutos que gerou valor superior. Barbosa et al. (2015), verificaram que o uso da autoclave a temperatura de 105°C por 60 minutos para análise da FDN em alimentos concentrados produz resultado superestimado em comparação ao método convencional, que pode ser explicado, possivelmente, pela alta pressão exercida pela autoclave, que promove um

aumento do ponto de ebulição da água, e dessa forma, a temperatura de 105°C pode não ter proporcionado a fervura da solução de detergente neutro, e dessa forma ocorre menor solubilização dos constituintes solúveis em detergente neutro, como o amido, e assim superestima o teor de FDN. No entanto, esses autores não observaram essa diferença para alimentos volumosos que contêm menores teores de componentes a serem solubilizados pela solução de detergente neutro, e menor concentração de amido em relação a alimentos concentrados, e, portanto, o teor de FDN obtido nesses alimentos não foi superestimado. Possivelmente, é o que pode ter acontecido no presente estudo nas amostras de concentrado e de ração total, composta esta última por volumoso e concentrado, onde os teores de FDN na temperatura de 105°C foram significativamente superiores aos obtidos na temperatura de 121°C, sendo a maior diferença numérica, observada para o concentrado que possui mais alto teor de compostos solúveis em detergente neutro.

5. CONCLUSÃO

A determinação de fibra em detergente neutro utilizando a técnica dos saquinhos filtrantes e a autoclave em diferentes temperaturas e tempo de execução geram resultados diferentes dependendo do tipo de alimento avaliado.

6. REFERÊNCIAS

ALVES, R.A.; PASCOAL, L.A.F.; CAMBUÍ, G.B.; TRAJANO, J.S.; SILVA, C.M.; GOIS, G.C. Fibra para ruminantes: Aspecto nutricional, metodológico e funcional. **PUBVET**. V.10, n. 7, p.513-579. 2016.

BALL, S.G., Wal, M.H.B.J., Visser, R.G.F. Progress in understanding the biosynthesis of amylose. **Trends in Plant Science** 3: 462-467, 1998.

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., et al. **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.

BRANDI, R.A.; FURTADO, C.E. Importância nutricional e metabólica da fibra na dieta de equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, p.246-258. 2009.

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.

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.

COSTA, R. Parede Celular Vegetal. **Rev. Ciência Elem.**, V7(1):006, 2019.

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.; COSTA E SILVA, L.F.; ROCHA, G.C.; PALMA, M.N.N.; RODRIGUES, J.P.P. Métodos para análise de alimentos. **Métodos para análise de alimentos-INCT-Ciência Animal**, 2ª ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2021. 350p.

DETMANN, E.; SOUZA, M. A.; FILHO, S. C. V. **Métodos para análise de alimentos-INCT-Ciência Animal**, Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012, 214p.

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.

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 (*Gossypiumhirsutum* L.) e grão de milho moído (*Zeamays* L.). **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 17, n. 4, p. 34-42, 2012.

GERON, V. J. LUIS.; et al. Avaliação do teor de fibra em detergente neutro e ácido por meio de diferentes procedimentos aplicados às plantas forrageiras. **Seminário: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 35, n. 3, p. 1533-1542, maio/jun. 2014.

GIGER-REVERDIN, S. **Review of the main methods of cell wall estimation: interest and limits for ruminants**. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.55, n.4, p.295-334, 1995.

GOULART, F.R.; ADORIAN, T.J.; MOMBACH, P.I.; SILVA, L.P. Importância da fibra alimentar na nutrição de animais não ruminantes. **Revista Ciência e Inovação**, v.1, n.1, p.141-154, 2016.

HALL, M.B. et al. A method for partitioning neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, p. 2079-2086, 1999.

HALL, M.B. Challenges with on fiber carbohydrate methods. **Journal of Animal Science**, v.81, p.3226-3232, 2003.

HERRERA, A.D.P.N.; SANTIAGO, G.S.; MEDEIROS, S.L.S. Importância da fibra na nutrição de coelhos. **Ciência Rural**, v.31, n.3, p.557-561. 2001.

LIMA, M. L. M. **Análise comparativa da efetividade da fibra de volumosos e subprodutos**. 2003. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11139/tde-09052003-153311/publico/milton.pdf>

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.

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.

MERTENS, D.R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulação de rações. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES, 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: SBZ-ESAL, 1992. p.188

MERTENS, D.R. Creating a system for meeting the fiber requirement of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1463, 1997.

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

PASCOAL, L. A. F.; WATANABE, P. H. **Fibra dietética na nutrição de suínos**. In: SAKOMURA, N. K. et al. (Coord.). Nutrição de não ruminantes. Jaboticabal: Funep, 2014, p. 358–374.

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.

P. J. VAN SOEST, R. H. WINE. Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds. IV. Determination of Plant Cell-Wall Constituents. **JOURNAL OF THE A.O.A.C.** (Vol. 50, No. 1, 1967).

SENGER, C. C. D.; KOZLOSKI, G. V.; SNACHEZ, L. M. B.; MESQUITA, F. R.; ALVES, T. P.; CASTAGNINO, D. S. Evolution 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.

SENGER, C. D. CLOVIS.; KOZLOSKI, V. GILBERTO. et al.; Avaliação de procedimentos de autoclave para análise de fibras em rações forrageiras e concentrados. **Journal of Dairy Science**, Vol. 80, nº 7, 1997.

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

TEIXEIRA, J. C.; ANDRADE, G. U. Carboidratos na alimentação de ruminantes. **In: II Simpósio de Forragicultura e Pastagens – NEFOR- UFLA**. Lavras, p. 165-206. 2001.

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

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

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

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminat, 2 nded**. Ithaca, NY: Cornell University, 1994.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B; LEWIS, B. A Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 10, 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.