

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**VALIDAÇÃO DE TÉCNICAS INSTRUMENTAIS PARA
QUANTIFICAÇÃO DE AMIDO E DE INDICADORES DE
DIGESTIBILIDADE PARA DIETAS DE SUÍNOS EM
CRESCIMENTO**

Andressa Nathalie Nunes

**Belo Horizonte
2012**

Andressa Nathalie Nunes

**VALIDAÇÃO DE TÉCNICAS INSTRUMENTAIS PARA
QUANTIFICAÇÃO DE AMIDO E DE INDICADORES DE
DIGESTIBILIDADE PARA DIETAS DE SUÍNOS EM
CRESCIMENTO**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Nutrição Animal

Prof^a. Orientador: Eloisa de Oliveira Simões
Saliba

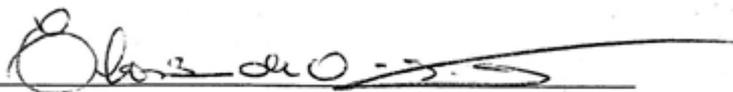
**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2012**

Nunes, Andressa Nathalie, 1983-
N972v Validação de técnicas instrumentais para quantificação de amido e de indicadores de digestibilidade para dietas de suínos em crescimento / Andressa Nathalie Nunes. – 2012. 78 p. : il.
Orientador: Eloísa de Oliveira Simões Saliba
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

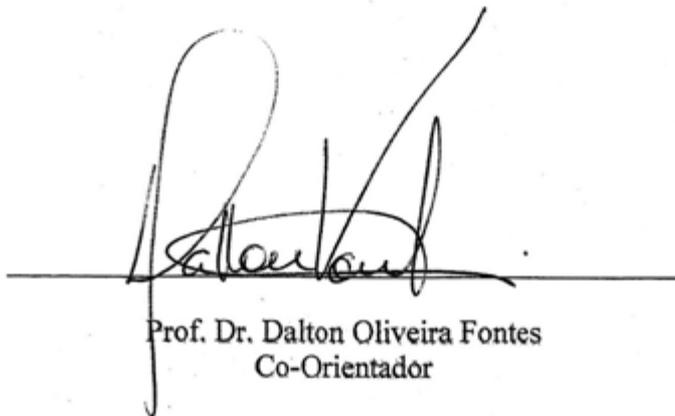
1. Suíno – Alimentação e rações – Teses. 2. Nutrição animal – Teses. 3. Amido – Consumo – Teses. 4. Digestibilidade – Teses. I. Saliba, Eloísa de Oliveira Simões.
II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.408 5

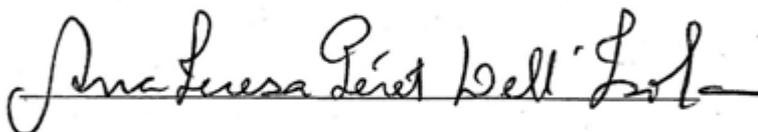
Dissertação defendida e aprovada em 01/03/2012 pela comissão examinadora
composta pelos seguintes membros:



Prof.ª: Dr.ª. Eloisa de Oliveira Simões Saliba
(Orientadora)



Prof. Dr. Dalton Oliveira Fontes
Co-Orientador



Prof. Dr.ª. Ana Teresa Péret Dell'Isola

EPIGRAFE

*Há todos que confiaram e me apoiaram
nesta caminhada com muito carinho,
dedico este trabalho.*

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família, e há todos que sempre acreditaram e confiaram em mim, e em primeiro lugar agradeço a Deus por ter me concedido essa oportunidade .

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por ele sempre ouvir minhas preces, e me ajudar sempre que eu necessito me mostrando o melhor caminho ou a melhor decisão a tomar.

A minha família (pai e mãe), por me darem um apoio sempre dando educação, amizade, conselhos, amor, carinho ao meu irmão e também a minha cunha da Debora.

A empresa Vaccinar e ao aluno e também funcionário desta empresa Gabriel Salum por fornecer os animais para este experimento.

Aos meus amigos de pós-graduação por sempre me apoiarem.

A professora Eloísa Saliba por ter me aceito como orientada e pela confiança em mim depositada.

Aos professores Dalton (UFMG) e Ana Tereza (UFV) pelos ensinamentos.

Não poderia deixar de agradecer minhas companheiras Tatiane, Isabela e Poliana. Que me ajudaram muito nessa caminhada.

Ao Bruno, Gabriel e Esmale que me ajudaram muito no meu experimento.

A meu noivo Dilvan, que mesmo tendo acompanhado apenas o final dessa trajetória, foi muito importante na conclusão dessa conquista, agradeço pela ajuda, carinho, compreensão e amor.

Ao pessoal do laboratório, Toninho, Margô, Carlos, Dorinha, Kelly, Marcos, que me auxiliaram bastante quando precisei.

Aos integrantes do GIL, Guilherme, Nélio, Juliana e Mércia, pelos conselhos e ajuda sempre que precisei.

Aos amigos da UFMG, mas que não são do nosso grupo de estudos Nhayandra, Lygia, Luiza, Marcos Poda, Luiz, Bruno, Dalton “Aluno” e outros que conviveram comigo no decorrer do mestrado.

A Heloísa do colegiado de pós da zootecnia pela amizade e paciência .

Ao Danilo e ao Guilherme que me ajudaram na estatística deste estudo.

Ao seu Nilson do galpão que sempre me auxiliou quando precisei.

Ao pessoal do xerox Tati, Elinho, Marlon e Wagner que sempre me escutaram e me ajudaram quando necessitei.

As minhas madrinhas Vanda e Wilma que sempre me apoiaram e me ajudaram.

Em fim a todos que de alguma forma estiveram presentes, me auxiliando e apoiando nessa conquista.

Agradeço ao CNPq pelo apoio financeiro, em todo o tempo do curso.

SUMÁRIO

VALIDAÇÃO DE TÉCNICAS INSTRUMENTAIS PARA QUANTIFICAÇÃO DE AMIDO E DE INDICADORES DE DIGESTIBILIDADE PARA DIETAS DE SUÍNOS EM CRESCIMENTO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
INTRODUÇÃO GERAL	13
<hr/>	
CAPITULO 1.....	15
<hr/>	
REVISÃO DE LITERATURA.....	15
1 TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE EM ANIMAIS.....	15
1.1 Métodos Diretos.....	15
1.2 Métodos Indiretos.....	15
1.2.1 Indicadores.....	15
1.2.2 Óxido Crômico.....	17
1.2.3 Lignina Purificada e Enriquecida (LIPE).....	18
1.2.4 Dióxido de Titânio (TiO ₂).....	19
2 DIGESTIBILIDADE.....	19
2.1 Digestibilidade Fecal Aparente e Fecal Verdadeira.....	19
2.2 Digestibilidade Ileal Verdadeira e Aparente.....	20
2.3 Metodologia para avaliação da Digestibilidade dos Alimentos.....	21
2.4 Avaliação de Digestibilidade dos Nutrientes em Dietas de Suínos.....	22
2.5 Determinação da Digestibilidade do Alimento Utilizando Indicadores.....	24
3 ALIMENTOS ALTERNATIVOS.....	25
3.1 Plasma Sanguíneo.....	25
3.2 Soja Micronizada.....	26
3.3 O Milho na Alimentação de Suínos	27
3.4 A Importância do Amido para Suínos	28
3.5 Absorção do Amido.....	28
3.6 Efeitos do Amido Resistente Saúde do Suíno.....	31
4 TÉCNICAS DE AVALIAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO AMIDO.....	31
4.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIV).....	31
4.2 Difração a Laser (PARTICA).....	33
4.3 Técnica Enzimática.....	34
5 Referências Bibliográfica.....	34
<hr/>	
CAPÍTULO 2.....	41
<hr/>	
Validação dos indicadores LIPE, óxido crômico e dióxido de titânio comparado com o método referência (coleta total), para determinação da digestibilidade, produção fecal e consumo de suínos em crescimento.....	41
RESUMO.....	41
ABSTRACT.....	42
2.1 Introdução	43
2.2 Material e Métodos	43
3 Resultado e Discursão.....	47
4 Conclusão.....	57
5 Referências Bibliográfica.....	57
<hr/>	
CAPITULO 3.....	60
<hr/>	

Quantificação e determinação da digestibilidade do amido das dietas testadas por diferente metodologias, sendo estas: difração a laser (Partica), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIV) e Análise Enzimática	60
RESUMO	60
ABSTRACT	61
3.1 Introdução	62
3.2 Material e Métodos	62
4 Resultado e Discursão	66
5 Conclusão	67
6 Referências Bibliográficas.....	67
<hr/>	
CAPÍTULO 4.....	69
<hr/>	
(EXPERIMENTO PILOTO) Validação do indicador NANOLIPE para estimativa de produção fecal em suínos	69
RESUMO.....	69
ABSTRACT	70
4.1 Introdução	71
4.2 Material e Métodos	71
5 Resultado e Discursão.....	73
6 Conclusão	73
7 Referencias Bibliográficas.....	73

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2

Tabela 1. Composição percentual da dieta referência.....44

Tabela 2. Composição bromatológica para 100% de MS* da rações experimentais.....45

Tabela 3. Estimativa da produção fecal dos animais pelo método referencia (coleta total) e pelo método de indicadores (g/dia).....48

Tabela 4. Estimativa da digestibilidade das dietas pelo método referencia (coleta total) e pelo método de indicadores em %.....52

Tabela 5. Estimativa de consumo das dietas pelos animais através do método referencia (coleta total) e o método de indicadores.....55

CAPITULO 3

Tabela 1. Composição percentual da dieta referência.....63

Tabela 2. Composição bromatológica para 100% de MS* da rações experimentais.....63

Tabela 3 Comparação de três técnicas sendo estas : Partica, FTIV e Análise Enzimática de quantificação do amido das dietas experimentais comparado com o amido calculado da dieta.....66

Tabela 4. Digestibilidade do amido das dietas em percentagem.....67

CAPITULO 4

Tabela 1 Composição percentual da ração experimental.....72

Tabela 2 Comparação da produção fecal em gramas de matéria seca estimada pela coleta total e NANOLIPE em diferentes dias de coleta.....73

ANEXO B

Tabela 1. Composição bromatológica das fezes por animal/dieta.....77

LISTA DE FIGURAS

ANEXO A

Quadro 1. Quadro de análise de variância experimento 1.....75

Quadro 2. Quadro de análise de variância experimento 2.....75

ANEXO C

Gráfico 1. Gráfico de concentração de titânio nas amostras analisadas de padrão, ração e fezes.....77

Gráfico 2. Gráfico do padrão de amido pelo FTIV.....77

Gráfico 3. Curva de padrão de amido.....77

Gráfico 4. Gráfico da concentração de amido das dietas pelo aparelho Partica LA Horiba® 950.....78

RESUMO

Foi conduzido um experimento para avaliar digestibilidade aparente no Laboratório de Calorimetria Animal/Laboratório de Metabolismo Animal da Escola de Veterinária da UFMG para validação da metodologia do uso de indicadores para determinação da digestibilidade, produção fecal e consumo, e a validação de técnicas instrumentais para determinação e quantificação de amido nas dietas utilizadas. O experimento foi dividido em duas fases, a primeira para a validação da metodologia de indicadores e a segunda para validação de técnicas instrumentais para determinar e quantificar o amido da dieta. Foram utilizados quinze suínos machos castrados na fase de crescimento da linhagem comercial DB-dambred com peso médio 25 kg, com duração de 12 dias. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente ao acaso com arranjo em parcelas subdivididas, onde as parcelas foram as dietas e as subparcelas foram os indicadores, na primeira fase e na segunda fase as parcelas foram as dietas e as subparcelas as técnicas avaliadas. Os indicadores estudados foram LIPE, óxido crômico e dióxido de titânio, comparado com o método referência (coleta total). Os resultados obtidos demonstraram que não houve diferença estatística dos indicadores LIPE e dióxido de titânio comparado com o método referência para ($P>5\%$), entretanto o indicador óxido crômico foi diferente estatisticamente do método referência para todas as variáveis testadas. Na segunda fase a qual o objetivo foi testar técnicas de determinação e quantificação do amido da dieta, através das técnicas instrumentais Partica e FTIV. Não houve diferença estatística da técnica instrumental pelo método Partica comparada com a técnica enzimática para ($P>5\%$), entretanto a técnica instrumental pelo método FTIV mostrou-se diferente do método referência de quantificação do amido, superestimando a quantidade de amido contida na média das amostras. Sendo assim a técnica do Partica pode ser recomendada para quantificar o amido contido na dieta de suínos em crescimento em substituição da técnica enzimática, entretanto a técnica pelo método do FTIV será necessário mais estudos, para uma maior confiabilidade da mesma.

Palavra chave: indicadores, produção fecal, digestibilidade, consumo, técnicas instrumentais, técnica enzimática

ABSTRACT

An experiment to evaluate apparent digestibility was conducted at the Laboratory of Animal Calorimetry/Animal Metabolism at the School of Veterinary Medicine of the Federal University of Minas Gerais (UFMG) to validate the methodology of using indicators to determine digestibility, fecal output and food consumption, and the validation of instrumental techniques for determination and quantification of starch in swine diets. The experiment was divided into two phases, the first one for the validation of the indicators methodology and the second for validation of the instrumental techniques to determine and quantify the starch of the diet. Fifteen growing phase barrows of the commercial breed DB-dambred were used, weighing an average of 25kg each, during 12 days. A completely randomized experimental design with split plots was used, where the plots were diets and the subplots were the indicators, in the first phase, and in the second phase the plots were the diets the subplots were the techniques evaluated. The indicators studied were LIPE, Chromium Oxide and Titanium Dioxide, compared to the reference method (Total Collection). The results showed no statistical difference between indicators LIPE® and Titanium Dioxide compared with the reference method for ($P > 5\%$), however the indicator Chromium Oxide was statistically different from the reference method for all variables tested. In the second phase, the objective was to test techniques to determine and quantify the starch in the diet through the instrumental techniques Partica and FTIR. There was no statistical difference between the instrumental technique by the Partica method when compared to the enzymatic technique ($P > 5\%$), however the instrumental technique by the FTIR method proved to be different from the reference method for the quantification of starch, overestimating the amount of starch contained in the samples's averages. Thus the Partica technique can be recommended to quantify the starch in the diet of growing pigs, replacing the enzymatic technique; however the FTIR method technique will still requires more studies for greater reliability.

Key-word: markers, indicators, fecal output, digestibility, intake, instrumental techniques, enzymatic technique

INTRODUÇÃO GERAL

O mercado, de produção da carne suína está em crescente desenvolvimento por isso pesquisa-se a todo tempo uma estratégia para reduzir gastos com ração. Este é um fator primordial na qualidade final da carcaça, visto que a ração tem um alto custo na produção animal, correspondendo cerca de 65-75% no custo de produção.

O valor nutritivo de um alimento é determinado por dois componentes principais: digestibilidade e consumo alimentar. Uma possível maneira de definir a qualidade da dieta seria o produto da digestibilidade pelo consumo de matéria seca. Assim, as estimativas de digestibilidade têm grande valor prático para a alimentação animal, tendo em vista que a digestão incompleta normalmente representa a maior perda no processo da utilização da dieta consumida (RODRIGUEZ *et al.*, 2006). Dessa forma, na avaliação completa do valor nutritivo dos alimentos, os efeitos dos processos de consumo, digestão, absorção e metabolismo animal devem ser considerados, além da sua composição química.

A busca por métodos de estimativa do valor nutricional tem sido alvo de inúmeras pesquisas nacionais e internacionais na nutrição de não ruminantes, uma vez que os ensaios com animais são caros, laboriosos e relativamente longos.

Por isso um dos grandes desafios dos nutricionistas tem sido a busca da máxima eficiência de utilização dos alimentos para minimizar os custos de produção.

O milho é a matéria prima principal em rações por ser um alimento energético e digestível, com alto teor de amido, caracterizando-se como o principal ingrediente das rações de suínos e aves. Para suprir a necessidade de outros nutrientes como proteína, sais minerais e vitaminas, as rações usam a soja e outras matérias primas ricas nestes nutrientes. Diante disso, estudos revelam que a substituição do milho pode ser incluída em dietas animais com vantagens, principalmente em virtude das oscilações de preço deste cereal, desde que o custo de utilização do alimento que o substitua seja menor ou compatível, mantendo o valor nutricional das dietas (FASUYI, 2005).

Conceitos de nutrição, principalmente quanto á disponibilidade da proteína e dos aminoácidos, estimulam a realização de estudos que visem desenvolver novas metodologias de avaliação nutricional e estimativas de exigência dos animais (MEDEIROS, 2003). Assim, o objetivo deste estudo na primeira fase foi comparar e validar três indicadores externos, estes (óxido crômico, dióxido de titânio e LIPE) para determinação da digestibilidade aparente, produção fecal e consumo de suínos em

crescimento, em relação ao método referência. Na segunda fase, o objetivo do estudo foi determinar e quantificar o amido presente nas dietas (1 referência, 2 referência + inclusão de 30% de soja micronizada, e 3 referência + inclusão de 30% de plasma sanguíneo), através das técnicas instrumentais análise particular por difração a laser (Partica) e espectroscópica no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIV), em relação a técnica referência enzimática para validação dessas.

CAPITULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

1 TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE EM ANIMAIS

1.1 Métodos Diretos

A digestibilidade *in vivo* da dieta é medida tradicionalmente pelo uso da coleta total de fezes (CT), pela utilização de gaiolas metabólicas com dispositivo para separação de urina e fezes, sem contaminação, e com reduzida volatilização de nitrogênio. Apesar de ser um método simples, pode ser considerado oneroso, e trabalhoso (Silva & Leão, 1979).

1.2 Métodos Indiretos

Em muitos casos, devido às dificuldades ou impossibilidade de realização da coleta total de fezes para determinação da digestibilidade, os pesquisadores tem recorrido ao emprego de substâncias inertes conhecidas como indicadores. Esses compostos têm algumas vantagens sobre a coleta total de fezes como a simplicidade e conveniência de utilização e podem proporcionar uma série de informações, incluindo a quantidade ingerida de alimentos ou nutrientes específicos, a taxa de passagem de digesta por todo trato digestivo e a digestibilidade do alimento ou de nutrientes específicos (Silva, 1990).

1.2.1 Indicadores

Indicadores são compostos de referência usados para monitorar aspectos químicos (como a hidrólise e síntese de compostos) e físicos da digestão (como a taxa de passagem) (Owens e Hanson, 1992), promovendo estimativas qualitativas ou quantitativas da fisiologia animal (Saliba, 1998). Comparativamente com processos invasivos, os indicadores minimizam a interferência com os padrões de comportamento

animal e simplificam os procedimentos, tendo em vista a não necessidade de utilização de cânulas reentrantes no trato digestivo, sacolas de coleta de fezes e até mesmo esvaziamento do trato digestivo ou abate dos animais.

Inúmeros compostos já foram estudados e sugeridos como indicadores de digestibilidade. Mas para que um material seja empregado como indicador, o mesmo deve apresentar algumas características básicas. Um indicador ideal deve possuir as seguintes propriedades: Ser inerte e não tóxico, não apresentar função fisiológica, não ser absorvido nem metabolizado, misturar-se bem ao alimento e permanecer uniformemente distribuído na digesta, não influenciar secreções intestinais, absorção ou motilidade, não influenciar a microflora do trato digestivo, possuir método específico e sensível de determinação e ser barato. De acordo Owens e Hanson (1992) nenhum indicador consegue atender a todos estes critérios, mas o grau tolerável de erros difere de acordo com a variável a ser medida. Os mesmos autores salientam que nenhum indicador é ideal, não devendo assim ser utilizado para fins diversos. Um indicador indicado para se estimar a produção fecal pode não ser adequado para se estimar a cinética, por causa de problemas de migração de partículas, separação de fases, inibição da digestão, efeito osmótico no intestino, etc. citado por (RODRIGUES, et al. 2006).

Para que as metodologias que utilizam indicadores possam ser validadas, as mesmas devem sempre ser comparadas com um padrão, no caso da digestibilidade aparente, este padrão é a coleta total de fezes. Além disso, os pesquisadores devem padronizar o uso do indicador para uma situação específica e determinar o grau de erro provável em suas estimativas.

Tradicionalmente, os indicadores são classificados em duas grandes categorias (Kotb e Luckey, 1972; Owens e Hanson, 1992; Moore e Sollenberger, 1997). Os indicadores internos, que são constituintes naturais das dietas, não são digeridos nem absorvidos pelos animais, tais como a Sílica, a Lignina, o Nitrogênio fecal, o Cromogênio, a FDN e FDA Indigestíveis a Cinza Insolúvel em Ácido e os N-alcanos. E os indicadores externos, que consistem numa variedade de compostos inertes como o óxido crômico, os elementos terras raras (Lantano, Samário, Cério, Ytérbio, Disprósium), o Rutênio Fenantrolina, o Cromo mordente, utilizados para fase sólida e o Cobalto-EDTA, Cromo-EDTA e o Polietilenoglicol (PEG), utilizados para fase líquida.

Recentemente, uma nova classe de indicadores foi proposta, os intra-indicadores. De acordo com esta nova denominação, não se designam substâncias únicas, mas sim

grupamentos constituintes de substâncias que podem ser utilizadas como indicadores, tendo em vista que atendem as regras de um indicador característico (Saliba, 2005a).

Em pesquisas utilizando a lignina isolada da palha de milho como indicador, Saliba (1998) e Saliba et al. (1999a) propuseram a utilização de grupamentos químicos, como a metoxila, unidades guaiacílicas, hidroxilas fenólicas e grupamentos da molécula da lignina, determinados por espectroscopia no infravermelho, como intra-indicadores.

De acordo com Rodrigues, et al., (2006) o uso dos indicadores consiste em que seja detectada e quantificada a sua concentração nas fezes. Ao relacionar matematicamente com a concentração ou quantidade ingerida pelo animal, encontram-se resultados de digestibilidade semelhantes e confiáveis, em comparação com o método de coleta total. O princípio que rege a utilização dos indicadores baseia-se no fato de que à medida que o alimento transita pelo trato gastrointestinal, a concentração do indicador aumenta progressivamente pela remoção de constituintes do alimento por digestão e absorção (Astigarraga, 1997). O aumento na concentração é proporcional à digestibilidade e, portanto, esta última pode ser calculada a partir das concentrações do indicador no alimento e nas fezes. Os cálculos de digestibilidade da matéria seca podem ser feitos conhecendo-se a concentração do indicador na dieta e nas fezes.

A maior limitação dos indicadores externos é que eles não se comportam como as partículas do alimento, e quando aderidos a sua porção fibrosa, podem alterar algumas características químicas e físicas, como a gravidade específica (Ehle et al., 1984). Quanto aos indicadores internos, a maior limitação é a sua recuperação variável nas fezes (Fahey e Jung, 1983). Independente do tipo de indicador a sua meta é se distribuir uniformemente, de modo a permitir uma concentração constante e quantificável na digesta, atingindo o chamado estado de equilíbrio “stead state” o mais rapidamente possível.

1.2.2 Óxido Crômico

O óxido crômico (Cr^2O^3) foi inicialmente proposto como indicador em 1918 em estudos com vacas leiteiras e desde então, este composto vem sendo extensivamente utilizado como indicador externo em ensaios de digestibilidade. Ele pode ser utilizado na forma radioativa ou não e apresenta como características ser de coloração verde escura, parcialmente insolúvel em água, álcool e acetona, mais ligeiramente solúvel em ácidos e álcalis (EDIM, (1918); STECKER, (1969); KOTB e LUCKET, (1972) citado

por RODRIGUEZ *et al.*,(2006)). Normalmente, a concentração do óxido crômico nas fezes alcança o equilíbrio em torno 6 a 7 dias após o início do seu fornecimento. O cromo também pode ser empregado de forma ligada á parede celular, complexo denominado Cromo – mordente (ÚDEN *et al.*,1980).

1.2.3 Lignina Purificada e Enriquecida (LIPE)

Nos últimos anos, muitas pesquisas relacionadas ao estudo da composição químico estrutural e das propriedades físico-químicas da lignina foram realizadas, em função, principalmente, do interesse da sua eliminação como contaminante da celulose destinada à indústria de papel (VASCONCELLOS, 2004).

Saliba *et al.*, (1999) utilizaram os resíduos da cultura do milho e da soja para isolamento da lignina por meio de solventes orgânicos. As ligninas isoladas incubadas no rúmen durante 24 horas não sofreram alterações e quando observadas ao microscópio eletrônico de varredura não foram identificadas bactérias ou colônias de bactérias nas ligninas incubadas. Através deste estudo concluiu-se que as ligninas isoladas dos resíduos da cultura do milho e da soja são indigestíveis. Com base nessa informação e nos estudos estruturais e ultra estruturais da lignina (SALIBA, 1998; SALIBA *et al.*, 2000) iniciaram-se os estudos de avaliação da lignina isolada como indicador externo de digestibilidade. Em trabalho conduzido por SALIBA *et al.* (1999) a lignina isolada da palha de milho (LPM) foi testada como indicador externo em ovinos, sendo comparada com o método de coleta total de fezes e outros indicadores utilizados em ensaios de consumo e digestibilidade. A partir de então, novas fontes foram estudadas para isolamento da lignina.

Em 2002, pesquisadores da (Escola de Veterinária) EV-UFMG começaram a trabalhar a molécula da lignina, no sentido de otimizar a sua determinação nas fezes. Saliba *et al.*, (2003) isolaram a lignina e a enriqueceram com grupamentos fenólicos não comumente encontrados na lignina da dieta animal. Esse trabalho deu origem a um hidroxifenilpropano modificado e enriquecido denominado LIPE, um indicador externo de digestibilidade desenvolvido especificamente para pesquisas.

1.2.4 Dióxido de Titânio (TiO₂)

O dióxido de titânio (TiO₂) é insolúvel em água e em ácidos diluídos, não sendo absorvido pelas plantas (Marais, 2000). Segundo Peddie (1982), é um pó de coloração branca, sem odor ou gosto.

Um dos primeiros trabalhos com (TiO₂) foi realizado por Lehmann and Herget (1927). Esses autores relataram que a ingestão de grandes quantidades de TiO₂, em diferentes espécies, não resultou na deposição dessa substância em tecidos animais. Askew (1931) estudou a alimentação de ovinos com TiO₂ e sugeriu que o mesmo poderia ser usado como indicador de digestibilidade em ovinos.

Atualmente o TiO₂ tem sido utilizado como indicador externo por apresentar determinação relativamente fácil e ser aprovado pela Food and Drug Administration (TITGEMEYER et al., 2001). O TiO₂ é utilizado nas pesquisas para estimar a produção fecal, consumo de MS do concentrado e ainda em substituição ao óxido de crômico, um indicador externo muito utilizado por apresentar baixo custo e facilidade de análise. Sendo importante ressaltar que o óxido crômico apresenta alguns problemas, como, recuperação diferente de 100%, variação na excreção diurna e entre animais e apresenta propriedades cancerígenas que não permitem a aprovação deste pela Food and Drug Administration (TITGEMEYER, 1997).

Segundo HAFEZ et al. (1988) o TiO₂ pode ser utilizado na estimativa da digestibilidade em bovinos, pois estes autores relataram a recuperação fecal de 99%. Em estudos comparando as recuperações fecais dos indicadores TiO₂ e cromo, em novilhos, observou-se que as recuperações fecais não diferiram entre si nos três períodos de coleta, quando as dosagens de indicadores iniciaram-se sete dias antes das coletas de fezes (TITGEMEYER et al., 2001). MARCONDES et al. (2008) utilizaram o TiO₂ para marcar o concentrado da dieta, e o indicador demonstrou eficiência na estimativa do consumo de concentrado e produção fecal.

2 DIGESTIBILIDADE

2.1 Digestibilidade Fecal Aparente e Fecal Verdadeira

De acordo com relatos de Henry, (1985) citado por Ferreira, (1996), na digestibilidade fecal verdadeira os valores estimados da digestibilidade dos aminoácidos

são mais altos que os obtidos com a metodologia de digestibilidade fecal aparente. Mas, para as condições práticas de avaliação da proteína, o mesmo pesquisador reconheceu que não existe vantagem em usar a digestibilidade verdadeira, pois os padrões de aminoácidos digeríveis são muito similares nas duas técnicas, sendo que o método existente para a correção do nitrogênio endógeno tem limitações reais e as demais perdas endógenas como parte dos requisitos para manutenção é considerada na digestibilidade aparente. Assim, é importante destacar as sugestões do uso da dieta completa, mas o mais importante é conhecer a quantidade total de aminoácidos fornecidos pelo intestino, independente de serem de origem endógena ou do alimento. No caso dos alimentos individuais, a estratégia sugerida é que seja considerada a possibilidade de estimar a fração endógena e conseqüentemente é impreterível a determinação da digestibilidade verdadeira.

2.2 Digestibilidade Ileal Aparente e Verdadeira

A digestibilidade ileal pode ser mensurada a partir da recuperação do fluxo ileal de suínos com anastomose íleo-retal (AIR) ou da determinação da concentração de um indicador indigestível, geralmente óxido de cromo, em uma amostra de digesta ileal de suínos com cânulas. A comparação das duas técnicas mostrou diferenças em direções opostas KOHLER et al., (1992), ou dados muito similares, foram comparadas técnicas diferentes de AIR. A técnica ante valvular término terminal, envolvendo o isolamento do intestino grosso, foi validada em vários experimentos (LAPLACE et al.,1994). Em comparação, a técnica término-lateral envolve um risco de contaminação da digesta do íleo com conteúdos residuais do cólon e, portanto, de sua microflora. As mesmas comparações foram feitas com ou sem a conservação da válvula ileocecal. Isso geralmente afetava mais a digestibilidade dos polissacarídeos não amiláceos do que dos aminoácidos. A fração endógena originária dos sucos gástricos, da morte de células da borda em escova ou das secreções enzimáticas representa de 10 a 80% do nitrogênio presente nos sucos ileais coletados. A expressão digestibilidade ileal depende do modo como essa fração endógena é considerada nos cálculos (AFZ, 2000).

A digestibilidade aparente ignora a origem endógena ou exógena do nitrogênio (N) ou do AA. Neste sistema, ou N ou AA total não digestível relacionado a um ingrediente específico é tido como sendo proporcional à ingestão de matéria seca deste ingrediente. Se a dieta usada para as mensurações contiver outros ingredientes, a

quantidade de N ou AA indigestível gerado pela matéria seca (MS) destes ingredientes é estimada. O N ou AA indigestível do ingrediente testado é então calculado “pela diferença”, e, descontando esta quantidade. Isso deveria ser aplicado no caso da substituição de uma dieta basal pelo ingrediente testado, independente de o primeiro conter ou não proteína. Nós denominamos “digestibilidade aparente corrigida” a digestibilidade aparente calculada de dietas envolvendo a diluição de ingredientes ricos em proteína com ingredientes isentos de proteínas. É claro que isso é a digestibilidade aparente de uma dieta que seria feita com 100% do ingrediente testado. Sem essa correção, a digestibilidade aparente aumenta o nível de proteína ou AA, e, com o nível de incorporação do ingrediente rico em proteína na dieta, (FAN et al., 1994). Como consequência, os conteúdos de N ou AAs aparentemente digestíveis não corrigidos de rações ricas em proteína serão subestimados.

Além disso, não será aditivo com conteúdos determinados para ingredientes com baixa proteína que não necessitem de diluição para a sua avaliação, É importante estar consciente que a maioria dos valores de digestibilidade aparente de ingredientes ricos em proteína publicados até agora não são corrigidos e, portanto, não aditivos.

A digestibilidade aparente mais baixa de ingredientes com baixa proteína em comparação com ingredientes com alta proteína também pode ser interpretada como sendo o resultado da diluição da proteína com os ingredientes não proteicos das rações. Isso é consistente com a hipótese de uma perda endógena mínima, independente dos componentes dos ingredientes; e não proporcional à ingestão de proteínas, embora possa ser proporcional à ingestão de matéria seca (IMS). Essa perda mínima é uma característica do animal e foi denominada “perda endógena basal”. Quando o conteúdo proteico de um ingrediente diminui, a importância relativa da perda endógena basal aumenta, explicando a diminuição na digestibilidade aparente. Com esta base, foi proposto “padronizar” a digestibilidade aparente e “digestibilidade verdadeira” pela subtração da perda endógena basal da fração aparentemente indigestível. Desta forma, a fração indigestível verdadeira é precisamente proporcional à proteína, e à ingestão da fonte de proteína testada (AFZ, 2000).

2.3 Metodologias para Avaliação da Digestibilidade dos Alimentos

No Brasil, os nutricionistas dispõem de valiosos dados compilados de tabelas de composição de alimentos e exigências nutricionais oriundas de pesquisas (ROSTAGNO

et al.,2000;). Entretanto, reconhecer-se que há necessidade de somar esforços no sentido de realizar estudos de avaliação de alimentos convencionais ou alternativos, produzidos e utilizados na alimentação animal (MEDEIROS, 2003).

Por isso para Bellaver (1994), as novas metodologias avaliação dos alimentos enfrentam forte pressão, pelo fato de só serem úteis à produção de alimentos se as formulas, baseadas em nutrientes disponíveis, promoverem diferenças no desempenho do animal ou na redução do custo das rações. Segundo o autor, a variabilidade existente nos dados sobre a disponibilidade, originada por diferenças de métodos de avaliação e fatores inerentes aos alimentos (inibidores de proteases, fitohemaglutinas, fibra, tanino, tamanho da partícula, processamento), indica a necessidade de padronização de procedimentos. Além disso, é necessário enriquecer as tabelas de composição de alimento e nelas incluir a determinação de exigências de nutrientes.

O ensaio de digestibilidade é um método usado para determinar o grau de utilização digestiva dos nutrientes, denominando digestibilidade fecal ou ileal, ambas aparente ou verdadeiras.

Então por definição "a digestibilidade de um alimento é a porção do alimento ingerido que não é excretado com as fezes e que, portanto, se supõe ter sido absorvido (SOUZA, 1999).

2.4 Avaliação de Digestibilidade dos Nutrientes em Dietas de Suínos

Segundo Ferreira (1996), no contexto do animal, a disponibilidade é interpretada de maneira diferente daquela como é entendida nas metodologias *in vitro*. Nos animais a digestibilidade e a disponibilidade define o valor potencial da proteína dos alimentos, e mesmo que os dois termos estejam relacionados e tenham significados diferentes, é frequente achar estudos onde são utilizados como sinônimo, esse fato é explicado pela crença de que se um nutriente é sempre digerido. Está em forma disponível para ser usado perfeitamente a relação entre os dois termos ao assinalar que a absorção dos nutrientes no trato digestivo é pré-requisito para a sua utilização. Mas não demonstra que tenha que existir disponibilidade: alguns aminoácidos presentes, por exemplo, nas proteínas danificadas pelo calor podem ser absorvidos e excretado na urina, o que, em consequência, indicaria que não se encontram disponíveis para ser utilizados no metabolismo animal.

A digestibilidade, então deve ser entendida como uma medida do desaparecimento da proteína e dos aminoácidos durante sua passagem pelo sistema digestivo e não sob a ideia de absorção, como tem sido adotada por muitos investigadores vistos que estas fontes de nitrogênio podem ser destruídas e modificadas pela ação dos micro-organismos em alguns locais do trato ou metabolizadas pelas paredes do mesmo durante a absorção.

Por sua vez, a absorção refere-se aos intercâmbios que acontecem entre o sangue e o lúmen digestivo os quais são medidos de maneira simultânea pelas diferenças entre as concentrações dos nutrientes no sangue portal e arterial e o fluxo de sangue na veia porta. No entanto, a disponibilidade metabólica deve ser definida como a proporção daquele aminoácido limitante da dieta que foi digerido e absorvido e que é utilizado para a síntese de proteína (FERREIRA,1996).

Os aminoácidos são digeridos e no intestino delgado são absorvidos, nenhuma absorção ocorre no intestino grosso, mas, a microflora metaboliza alguns dos aminoácidos não digeridos para o seu próprio crescimento e desenvolvimento.

Como consequência, a absorção dos aminoácidos pode ser precisamente determinada somente pela mensuração do quanto dos aminoácidos ingeridos permanece no final do intestino delgado. Esta parte do intestino delgado é denominada de íleo e daí vem o termo digestibilidade ileal de aminoácidos. A digestibilidade ileal é expressa como: Digestibilidade aparente ou como, Digestibilidade estandarizada (algumas vezes denominada digestibilidade verdadeira), a diferença entre os dois sistemas se baseia na importância dada às perdas endógenas basais de aminoácidos (células com borda em escova, secreções enzimáticas, etc) produzidas pelo próprio trato digestivo. Esta produção não é ligada à característica da ração, mas sim ao nível de ingestão de ração e ao animal. O **sistema de digestibilidade aparente** ignora esta fração: o que é coletado no final do íleo é considerado como material não digerido. No **sistema de digestibilidade estandarizada**, as perdas endógenas basais são subtraídas do que é coletado no final do íleo para avaliar a digestibilidade. Como consequência, os coeficientes de digestibilidade estandarizada aparecem mais altos do que os coeficientes de digestibilidade aparentes. Do mesmo modo, os requerimentos expressos como digestibilidade aparente são mais baixos do que os expressos como estandarizada, (AFZ, 2000).

2.5 Determinação da Digestibilidade do Alimento Utilizando Indicadores

Atualmente, tem-se realizado um grande número de pesquisas para avaliar os métodos indiretos de digestibilidade aparente dos alimentos em diversas espécies.

Estes métodos baseiam – se no uso de substâncias de referência indicadoras adicionados à dieta, (indicadores externos) ou fazendo parte de seus constituintes (indicador interno) e permitindo calcular o coeficiente de digestibilidade de seus nutrientes a partir da análise de sua concentração nas fezes.

A lignina, segundo Fahey e Jung (1983), a lignina é extensivamente usada em estudos da digestão, e os resultados de pesquisas indicam a existência de problemas tanto relacionados à sua recuperação fecal, como também à sua quantificação na parede celular das Forrageiras. Giser em (1995), fez uma extensa revisão sobre as técnicas de análise de lignina e verificou que o grande problema para a sua utilização era a técnica analítica que não era precisa e levava a erros na quantificação, Saliba (1998), confirma os achados de Giser (1995), quando retrata a grande contaminação da fração da lignina com nitrogênio, estando relacionados com a degradação e modificação de sua estrutura na passagem pelo trato gastrointestinal, além de conter proteínas insolúveis como a pele, pelos e tecidos considerados como lignina bruta, recuperado nas fezes .

O oxido crômico do grupo dos óxidos metálicos, o mais utilizado em estudos de nutrição, é insolúvel em água, álcool ou acetona ligeiramente solúvel em ácido e álcalis. Church (1988), diz que o óxido crômico favorece a completa recuperação nas fezes e permite sua quantificação pelos métodos analíticos.

Maurício (1993), encontraram 90% na taxa de recuperação do óxido crômico durante sete dias de coleta. E ainda encontraram valores dos coeficientes de digestibilidade estimados através do óxido crômico de 95% em relação aos valores obtidos pela CT, quando calculados a partir de amostras de 2% do peso total das fezes recolhidas durante 24 horas, além de mostrar uma pequena variação na concentração no período noturno.

De acordo com Owens & Hanson (1992), quando se conhece a concentração do indicador e a sua recuperação, o consumo total de alimento poderá ser estimado partir de cálculos matemáticos e a estimativa da produção fecal seria usada em conjunto com dados do consumo de alimentos para calcular os valores de digestibilidade, enquanto que as estimativas para o consumo de alimentos seriam obtidas pela combinação dos dados de produção fecal e dos valores de digestibilidade dos alimentos.

A determinação da digestibilidade pelo método de indicadores não requer o manuseio de grandes quantidades de material, pois para o cálculo de produção fecal leva-se em conta a quantidade do indicador fornecido ao animal e a sua concentração nas fezes ($\text{Prod. Fecal g/dia} = \text{g de indicador} / \text{concentração do indicador nas fezes}$), após um período de adaptação prévio. Conhecendo a produção fecal (PF) e a digestibilidade (D), o consumo é facilmente calculado (SOUZA, 1999).

$$\text{Consumo (Kg/dia)} = \text{PF} / (1 - \text{D})$$

Segundo (Smith, 1989), citado por Rodrigues *et al.* (2006), O uso de indicadores em experimentos de digestibilidade representou uma peça chave no avanço do entendimento do processo digestivo, sendo útil no desenvolvimento de conceitos e elucidando os fatores relacionados ao alimento e ao animal, envolvido na limitação do consumo voluntário.

Assim, independente do tipo de indicador a sua meta é se distribuir uniformemente, de modo a permitir uma concentração constante e quantificável na digesta, atingindo o chamado estado de equilíbrio o mais rapidamente (SALIBA, 2005).

3 ALIMENTOS ALTERNATIVOS

Diversos alimentos alternativos têm sido avaliados no intuito de melhorar o desempenho dos animais nas primeiras semanas pós-desmame, por causa desse estresse dos animais, pelo desmame precoce, e ainda para um melhor desempenho desses nas primeiras semanas de vida que é quando eles estão mais vulneráveis.

3.1 Plasma Sanguíneo

O plasma sanguíneo em pó pode ser uma fonte efetiva de proteína animal, por aumentar o consumo de ração e o ganho de peso pós desmame (Touchette et al., 2002; Lawrence et al., 2004), diminuir a incidência de diarreia pós-desmame (Owusu-Asiedu et al., 2002) e possui efeito protetor ao intestino delgado (Torrallardona et al., 2003).

Barbosa et al., (2007), realizaram um experimento para avaliar níveis de inclusão (0, 4, 6 e 8%) de plasma sanguíneo em pó nas dietas para leitões desmamados aos 21 dias de idade, durante 3 períodos subsequentes : 21-28 dias; 29-35 dias; 36-42 dias. Utilizou-se plasma sanguíneo em pó misto de origens (bovina e suína), obtido pela separação das frações plasma e células do sangue, via centrifugação

e posterior secagem pelo processo de *spray-dried*. Isso em função das diferentes densidades e tamanhos das células sanguíneas, o processo de centrifugação possibilita a separação do sangue total em camada, sendo que as hemácias ficam depositadas no fundo. Acima delas forma-se o *buffy-coat* (camada leucoplaquetária), ou seja, uma camada de leucócitos e plaquetas. Acima do *buffy-coat* fica a camada de plasma que contém plaquetas dispersas. Que é constituído basicamente de água, proteínas (albumina, globulinas, fatores de coagulação e outras), carboidratos e lipídios. O ganho de peso dos animais aumentou de forma quadrática até os níveis estimados de 4,3; 2,5 e 1,3 de inclusão de plasma sanguíneo em pó na dieta, nos períodos 1, 2 e 3, respectivamente. Não se observou efeito significativo da inclusão de plasma sanguíneo em pó sobre o consumo de ração diário médio e ganho de peso médio diário no período 4. Dessa forma, os níveis de inclusão do plasma em pó, pelos autores, para leitões desmamados aos 21 dias foram de 4,3% na primeira semana, 2,5% na segunda semana e de 1,3% na terceira semana pós desmame.

O Plasma suíno ultrafiltrado (Plasma) produzido por “*Spray Dried*” é um alimento rico em imunoglobulinas, peptídeos, fatores de crescimento e outros nutrientes que possuem importantes funções biológicas. Tradicionalmente tem sido utilizado na dieta de leitões jovens, para melhora no desempenho dos leitões. A resposta ao desempenho é dependente da taxa de inclusão, idade e peso dos leitões, condições sanitárias e do alojamento dos animais. Além disso, o Plasma apresenta ação protetora contra desafios frente a alguns agentes patogênicos como *Escherichia coli* enteropatogênica, enterotoxinas B do *Staphylococcus aureus* e rotavirus. Anticorpos presentes no Plasma podem prevenir a excessiva estimulação do sistema imune, seja por inativação direta no trato intestinal ou interferência na ação do patógeno na mucosa intestinal.

3.2 Soja Micronizada

Entre outros alimentos que tem sido bastante utilizado, está a soja micronizada. Presente em grande escala no mercado brasileiro e fabricada a partir de grãos submetidos a um tratamento térmico, descascamento, pré- moagem e micronização. É um produto de fina granulometria, variando de 30 (padrão) a 300 microns, daí a origem de seu nome. Segundo (Goldflus 2001), descrito por Kuana (informação pessoal), o processo de produção da soja micronizada é semelhante aquele exposto por EL-DASH *et al* (1994). Ao cozinhar os grãos de soja em água em ebulição por 10 minutos ocorre a

inativação dos fatores antinutricionais termolábeis. Cabe lembrar que a ausência da casca na composição final do produto traz um benefício nutricional caso venha a ser utilizado em alimentos de animais monogástricos. Possivelmente este possa ser o principal fator que explica as diferenças nutricionais existentes entre este produto e outras sojas integrais desativadas, como extrusada e tostada segundo (CAFÉ, 1993 e SAKOMURA 1996).

Trindade neto et al., (2002), testando farelo de soja, soja integral macerada e soja micronizada em leitões no desmame, na fase inicial 1 (21- 42dias de idade), fase inicial 2 (43-56 dias de idade) e no período de creche, o farelo de soja superou as demais sojas nas características de desempenho, e que os leitões alimentados com soja integral macerada tiveram maior ganho de peso do que os animais alimentados com soja micronizada. Os efeitos residuais dos tratamentos na fase total de creche foram avaliados na fase de crescimento e terminação, os animais alimentados com farelo de soja atingiram peso mais rápido que os animais que consumiram soja micronizada, sendo assim o farelo mais indicado na alimentação de leitões pós – desmame.

3.3 O Milho na Alimentação de Suínos

O milho é a principal fonte energética na formulação de rações para suínos no Brasil. De acordo com a companhia nacional de abastecimento (2010/2011), a produção de milho em 2010/2011 foi de aproximadamente, 52.723,3 mil toneladas. Desse total, mais de 80% é destinado à alimentação, sendo que 33% são para a suinocultura. O milho como os demais cereais é constituído basicamente de 3 partes: pericarpo (5%), endosperma (82%) e germe (13%). De acordo com Rostagno et al., (2005), o milho contém em média 87,11% de matéria seca 8,26% de proteína bruta, 3340Kcal EM/Kg, 3,61% de extrato etéreo, 1,73% de fibra bruta, 1,27% de cinzas, 0,03% de cálcio 0,24% de fósforo total, 0,24% de lisina , 0,32% de treonina e 0,07% de triptofano.

As partes principais do grão de milho diferem consideravelmente em sua composição química. O endosperma que contém um nível elevado de amido, aproximadamente 8% de proteína, e um conteúdo de óleo relativamente baixo, e o embrião que se caracteriza por um elevado conteúdo de óleo, e também um nível relativamente elevado de proteína. O amido do milho é constituído de uma mistura de amilose (25%) e amilopectina (75%), sendo que sua digestibilidade está diretamente

relacionada com o teor de amilose presente, ou seja, quanto menor a quantidade de amilose no milho, maior a digestibilidade desse cereal Fialho, et al., (2009).

3.4 A Importância do Amido Para Suínos

O amido presente nos cereais constitui a principal fonte de energia para os animais monogástricos. Normalmente está na forma de grânulos formados por dois polímeros de glicose, a amilose (22% a 28%) e amilopectina (72% a 78%), cujo interior do grânulo é composto de regiões cristalinas e amorfas alternadas, formando um complexo altamente organizado. A região cristalina ou micelar é composta principalmente por amilopectina, sendo resistente à entrada de água e a ação das enzimas (JOY et al., 1997).

O amido, sob o ponto de vista químico, não é um produto puro, já que é constituído de 2 componentes moleculares de estruturas químicas semelhantes mas não idênticas: a amilose - cujos resíduos de glicose são unidos por ligações α -1,4, formando um polímero de cadeia linear – a amilopectina - polímero de estrutura molecular complexa cujas unidades glicosídicas encontram-se unidas por ligações α -1,4 e α -1,6.

A utilização do amido na alimentação e na indústria depende, em grande parte, das suas propriedades coloidais, pois o comportamento do amido frente a água é extremamente complexo. Na célula vegetal, ele é armazenado em grânulos microscópicos que não são afetados de maneira perceptível pela água fria e são resistentes também ao ataque enzimático. No entanto, se a parede externa da célula for rompida por algum método mecânico (por exemplo, moagem) e tratada com água aquecida, os grânulos ainda intactos absorvem água, incham e iniciam um processo de desintegração, assim podendo ficar mais disponível. Nestas condições, a estrutura das cadeias, tanto de amilose e quanto de amilopectina é desenovelada, o que a torna mais susceptível à hidrólise.

3.5 Absorção do Amido

Apresentando somente ligações α -glicosídicas, o amido é potencialmente digerível pelas enzimas amilolíticas secretadas no trato digestivo (ENGLYST & HUDSON, 1996).

Até recentemente, devido à alta produção da α -amilase pancreática, se considerava que o amido era completamente hidrolisado por essa enzima, sendo absorvido no intestino delgado na forma de glicose. Entretanto, certos fatores, tais como relação amilase/amilopectina, forma física do alimento e inibidores enzimáticos, entre outros, podem influenciar a taxa na qual o amido é hidrolisado e absorvido.

Assim, quantidade significativa de amido pode escapar à digestão no intestino delgado e alcançar o cólon, onde é fermentado (WOLF et al., 1999). Para propósitos nutricionais, o amido pode ser classificado como glicêmico ou resistente.

O amido glicêmico é degradado a glicose por enzimas no trato digestivo, podendo ser classificado como amido rapidamente (ARD) ou amido lentamente digerível (ALD) no intestino delgado.

Em testes *in vitro*, o ARD é hidrolisado em glicose dentro de 20 minutos, enquanto o ALD é convertido em glicose entre 20 e 110 minutos (ENGLYST et al., 1992; YUE & WARING, 1998).

Já o amido resistente é aquele que resiste à digestão no intestino delgado, mas é fermentado no intestino grosso pela microflora bacteriana (YUE & WARING, 1998).

O termo amido resistente foi sugerido inicialmente por ENGLYST et al. (1982). Estes pesquisadores constataram que muitos alimentos processados continham maior teor aparente de polissacarídeos não amiláceos do que os produtos crus correspondentes. Análises detalhadas revelaram que este aumento era devido a um composto formado por *n*-glicoses, que podia ser disperso em hidróxido de potássio. Assim, estes pesquisadores definiram amido resistente como sendo aquele que resiste à dispersão em água fervente e hidrólise pela ação da amilase pancreática.

Pode-se dizer, então, que o amido resistente é a fração que não fornecerá glicose ao organismo, mas que será fermentada no intestino grosso para produzir gases e ácidos graxos de cadeia curta, principalmente. Devido a esta característica, considera-se que os efeitos do amido resistente sejam, em alguns casos, comparáveis aos da fibra alimentar e, por este motivo, normalmente é considerado como um componente desta (CHAMP & FAISANT, 1996).

A partir de 1992, a definição para amido resistente assumiu um caráter mais relacionado aos seus efeitos biológicos, representando “a soma do amido e produtos de sua degradação que não são absorvidos no intestino delgado de indivíduos saudáveis” (FAISANT et al., 1993; CHAMP & FAISANT, 1996; GOÑI et al., 1996).

O amido resistente pode ser classificado em amido fisicamente inacessível (AR1), grânulos de amido resistente (AR2) e amido retrogradado (AR3), considerando sua resistência à digestão.

Amido resistente tipo 1 - A forma física do alimento pode impedir o acesso da amilase pancreática e diminuir a digestão do amido, fato que o caracteriza como resistente tipo AR1 (fisicamente inacessível). Isto pode ocorrer se o amido estiver contido em uma estrutura inteira ou parcialmente rompida da planta, como nos grãos; se as paredes celulares rígidas inibirem o seu intumescimento e dispersão, como nos legumes; ou por sua estrutura densamente empacotada, como no macarrão tipo espaguete (ENGLYST et al., 1992; MUIR & O'DEA, 1992; GOÑI et al., 1996).

Amido resistente tipo 2 - Na planta, o amido é armazenado como corpos intracelulares parcialmente cristalinos denominados grânulos. Por meio de difração de raios-x, podem-se distinguir três tipos de grânulos que, dependendo de sua forma e estrutura cristalina, denominam-se A, B e C. As cadeias externas relativamente curtas das moléculas de amilopectina de cereais (menos de 20 unidades de glicose) favorecem a formação de polimorfos cristalinos tipo A.

Já as cadeias externas maiores das moléculas de amilopectina de tubérculos (mais de 22 unidades de glicose) favorecem a formação de polimorfos tipo B, encontrados também na banana, em amidos retrogradados e em amidos ricos em amilose. Embora com estrutura helicoidal essencialmente idêntica, o polimorfo tipo A apresenta empacotamento mais compacto do que o tipo B, o qual apresenta estrutura mais aberta e centro hidratado. Por sua vez, o polimorfo tipo C é considerado um intermediário entre os tipos A e B, sendo característico de amido de leguminosas e sementes (THARANATHAN, 2002; TESTER et al., 2004). A forma do grânulo influencia sua digestão, caracterizando o amido resistente tipo AR2. Embora o grau de resistência dependa da fonte, geralmente grânulos dos tipos B e C tendem a ser mais resistentes à digestão enzimática (ENGLYST et al., 1992; MUIR & O'DEA, 1992).

Amido resistente tipo 3 - A maioria do amido ingerido é submetido a tratamentos com calor e umidade, resultando no rompimento e gelatinização da estrutura do grânulo nativo, o que o torna digerível (BOTHAM et al., 1995). Quando o gel esfria e envelhece, o amido gelatinizado forma novamente uma estrutura parcialmente cristalina, insolúvel e resistente à digestão enzimática, porém diferente da conformação inicial (ENGLYST et al., 1992; MUIR & O'DEA, 1992).

3.6 Efeitos do Amido Resistente na Saúde do Suíno

O principal interesse em relação ao amido resistente é o seu papel fisiológico. Por não ser digerido no intestino delgado, este tipo de amido se torna disponível como substrato para fermentação pelas bactérias anaeróbicas do cólon (JENKINS et al., 1998). Dessa forma, essa fração compartilha muitas das características e benefícios atribuídos à fibra alimentar no trato gastrointestinal (BERRY, 1986; MUIR & O'DEA, 1992).

No entanto, as diferenças nas respostas glicêmicas e insulinêmicas ao amido da dieta estão diretamente relacionadas à taxa de digestão do amido (O'DEA et al., 1981).

4 TÉCNICAS DE AVALIAÇÃO OU QUANTIFICAÇÃO DO AMIDO

Normalmente, o amido dos alimentos é quantificado pelo teor de glicose liberada após sua completa hidrólise enzimática, pelo uso combinado de enzimas amilolíticas (ASP, 1996). A α -amilase promove a fragmentação da molécula de amido por hidrólise das ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$, produzindo açúcares redutores de baixo peso molecular (maltose, maltotriose e maltotetrose). Todavia, esta enzima não hidrolisa as ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow6)$ presentes na amilopectina e, por isso, deve-se utilizar a amiloglicosidase, para completa hidrólise do amido em glicose.

No entanto, técnicas baseadas neste princípio não são eficientes para a determinação do amido resistente. Diante deste problema, a partir da década de 80, os esforços se concentraram no desenvolvimento de técnicas que contemplassem a determinação, conjunta ou separadamente, destas duas frações. Entretanto, a quantificação do amido resistente é problemática, uma vez que este não possui uma estrutura química diferenciada, sendo composto por um conjunto de estados físicos que alteram a taxa de digestão do amido convencional (HARALAMPU, 2000).

4.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIV)

Baseado nesta afirmação de que o amido está disponível ou não dependendo do conjunto de estados físicos a ele atribuídos Saliba e colaboradores (2009), propuseram técnicas instrumentais que avaliam o amido utilizando a técnica enzimática como

técnica referencia. A espectroscopia de infravermelho, é uma técnica universal. Sólidos, líquidos, gases, semissólidos, pós e polímeros são rotineiramente analisados por essa técnica, o espectro infravermelho rico em informações; as posições, intensidades, larguras e formatos dos picos em um espectro fornecem informações sobre as ligações químicas presentes. A espectroscopia de infravermelho é uma técnica relativamente rápida, fácil e sensível. Microgramas das amostras podem ser preparados e medidos em menos de 5 minutos. Outro ponto importante da técnica é que os equipamentos FTIR são relativamente Baratos, (Smith, 1998; Sala, 2000).

Apesar das vantagens da espectroscopia de infravermelho, ela não pode ser usada em certos tipos de amostras. Uma amostra deve conter ligações químicas para gerar um espectro infravermelho. Portanto, átomos ou íons monoatômicos não apresentam espectro. Outra classe de substâncias que não absorvem radiação infravermelha são as moléculas diatômicas homo nucleares, devido à sua simetria. Outra limitação da técnica é a análise de misturas complexas. Se a composição de uma amostra é complexa, seu espectro será uma mistura dos espectros dos diversos componentes da amostra, dificultando a atribuição das bandas às moléculas presentes. A melhor maneira de lidar com misturas complexas é simplificar a composição da amostra, purificando-a antes de fazer as medidas. Soluções aquosas também são difíceis de ser analisadas, pois a água é um forte absorvedor de radiação infravermelha e impede a detecção de traços do material dissolvido nela (Smith, 1998; Sala, 2000).

De acorso com Saliba (2009), a espectroscopia de infravermelho (espectroscopia IV) é uma técnica de absorção a qual usa a região do infravermelho do espectro eletro-magnético. Como as demais técnicas espectroscópicas, ela pode ser usada para identificar um composto ou investigar a composição de uma amostra, quantitativamente.

Esta técnica trabalha quase que exclusivamente em ligações covalentes, e é de largo uso na Química, especialmente na Química orgânica. Gráficos bem resolvidos podem ser produzidos com amostras de uma única substância com elevada pureza. Contudo a técnica costuma ser usada para a identificação de misturas bem complexas (Saliba, 2009).

4.2 Difração a Laser (PARTICA)

A difração a laser baseia-se no princípio (difração Fraunhöffer) de que, quanto menor o tamanho da partícula, maior o ângulo de difração de um feixe luminoso que atravessa uma população de partículas. Essa técnica não mede partículas individuais. Através de transformações matemáticas complexas (transformada de Fourier inversa), calcula-se uma estatística de distribuição de tamanho dessa população de partículas (Saliba, 2009).

Segundo Saliba, (2009), na técnica do aparelho Partica LA 950 Horiba®, analisa o tamanho das partículas por difração a laser, uma nuvem de representação ou «conjunto» de partículas passa através de um feixe de luz laser ampliado, que espalha a luz incidente sobre uma lente de Fourier.

Esta lente focaliza a luz dispersada sobre um conjunto de detectores e, usando um algoritmo de inversão, uma distribuição de tamanho de partícula é inferida a partir da difração de dados coletados de luz. Dimensionamento de partículas usando esta técnica depende do correto, reproduzível, de alta resolução de dispersão de luz para assegurar a plena caracterização da amostra.

Esses instrumentos de difração de laser usam Modem Mie teoria como base dos cálculos de seu tamanho. Como Mie Teoria que abrange toda dispersão de luz por partículas esféricas, os dados de ambos os PIDS (Polarization Intensity Differential Scattering) e dados de difração de raios laser pode ser transformada em uma distribuição de tamanho de partículas, usando um algoritmo contínuo. Abaixo de $5\mu\text{m}$, é necessário considerar o índice de refração e de extinção das partículas e usar-se a equação de Mie para obter-se resultados quantitativos confiáveis (Saliba, 2009).

A técnica de análise de tamanho de partículas por difração de laser é muito utilizada em diversos ramos industriais devido à sua facilidade de operação, rapidez e amplitude de leitura. Por este método, as partículas são dispersas num fluido em movimento causando descontinuidades no fluxo do fluido, que são detectadas por uma luz incidente, e correlacionadas com o tamanho de partícula. Ao atingir uma quantidade de partículas, a luz incidente sofre uma interação segundo quatro diferentes fenômenos (difração, refração, reflexão e absorção) (Hildebrand, 2001) formando um invólucro tridimensional de luz. O formato e o tamanho deste invólucro são afetados pelo índice de refração relativo da partícula no meio dispersante, pelo comprimento de onda da luz, e pelo tamanho e formato da partícula.

Detectores estrategicamente posicionados medem a intensidade e o ângulo da luz espalhada. O sinal dos detectores é então convertido para a distribuição de tamanho de partícula através de algoritmos matemáticos (Allen, 1997).

4.3 Técnica Enzimática

A técnica de análise por degradação do amido pode ser realizada por via química ou enzimática, sendo o processo conhecido como sacarificação.

De acordo com Poore (1989), adaptado Escola de Veterinária UFMG Lab Nutri o procedimento da quantificação do amido é baseado em 1,5g da amostra acrescida de 2ml de CaCl_2 em tubo plástico de 50ml, repouso por uma hora. Autoclavar por uma hora o tubo tampado com papel grafite. Resfriar em gelo. Adicionar 8ml da solução 1. Incubar em banho Maria há 60°C por 2 horas agitação de 30 em 30 minutos, incubar por 14 a 16 horas a 60°C agitação de meia e meia hora. Diluir para um balão de 100 ml, pipetar alíquotas de 5 ml, e colocar em tubo de ensaio. Ajustar o ph 6.0 adicionando 4 gotas de H_2SO_4 0,1N. Centrifugar por 15 minutos a 2000rpm. Ler pelo kit de glicose . fazer um branco e uma análise de amido p.a. pesando também 1,5 g deste. Solução 1: 0,44ml de ácido acético glacial, 0,3046 g de acetato de sódio, 6,3 ml de amilase (quantidade por amostra), acertar o ph usando NAOH para 4,2 e acertar o volume para 100ml. Solução 2 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 25g para 100ml e acertar o ph para 2,0 com HCL concentrado.

5 Referências Bibliográficas

AFZ, Ajinomoto. E.; Nutrition, A.A.; INRA; ITCF. AmiPig, 2000. Conteúdo disponível em <http://www.lisina.com.br/arquivos/Amipbracorrect1.pdf>. Acesso em: novembro de 2008.

ALLEN, M. S. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *J. Dairy Sci*, v.80, p.1447–1462, 1997.

ASTIGARRAGA, L. Técnicas para la medición del consumo de rumiantes en pastoreo. In: Simposio sobre avaliação de pastagens com animais, 1997, Maringá. *Anais...* Maringá: UEM, 1997. p.1-23.

ASKEW, H.O. Note on effect of feeding titanium oxide to sheep. *New Zealand. Journal Science and Technology*, 13: 76, 1931.

BARBOSA, F.F.; FERREIRA, A.S.; GATTÁS, G.; SILVA, F.C.O.; DONZELE, J.L.; BRUSTOLINI, P.C.; LOPES, D.C. Níveis de plasma sanguíneo em pó em dietas para leitões desmamados aos 21 dias de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.36, n.4, (supl.), p.1052-1060, 2007.

BELLAVER, C.; Metodologias para determinação do valor das proteínas utilização de valores disponíveis nas dietas de não ruminantes. Simpósio internacional de produção de não ruminantes. Sociedade brasileira de zootecnia, reunião anual, 1994, Maringá. Anais, Maringá- Universidade Estadual de Maringá, pag.1-23.

BERRY, C.S. Resistant starch: formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre. *J Cereal Sci*, v.4, p.301-314, 1986.

BOTHAM, R.L. et al. A physicochemical characterization of chick pea starch resistant to digestion in the human small intestine. *Carbohydr Polym*, v.26, p.83-90, 1995.

CAFÉ, M.B *et al.* Determinação da disponibilidade biológica dos aminoácidos e da energia metabolizável da soja integral processada para aves. In Conferência Apinco de ciência e tecnologias avícolas, 1993, Santos, SP. Anais. Campinas: FACTA, 1993. p.13.

CHAMP, M.; FAISANT, N. Resistant starch: analytical and physiological aspects. *Bol SBCTA*, v.30, n.1, p.37- 43, 1996.

CHURCH, D. C., POND, W. G. Basic animal nutrition and feeding. 3 ed. New York: John Wiley, 1988, p. 17-64.

EL – DASH, A.; CABRAL, L. C.; GERMANI, R. Tecnologia de farinhas mistas: uso de farinha mista de trigo e soja na produção de pães. EMBRAPA – SPI. Brasília, DF, 1994. p. 14-45.

EDIN, H. Orienterande forsök over anvanbarheten av en pa “ledkroppsprincipen” grundad metod at bestamma en foderblandings smalbarhed. *Medd. Centralanst. Foersöksvaes. Jordbruksomraadet* 165, 28 (In Swedish), 1918.

ENGLYST, H.N. et al. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*, v.107, p.307-318, 1982.

ENGLYST, H.N. et al. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur J Clin Nutr*, v.46, p.S33-S50, 1992.

ENGLYST, H.N.; HUDSON, G.J. The classification and measurement of dietary carbohydrates. *Food Chem*, v.57, n.1, p.15-21, 1996.

EHLE, F.R. Influence of feed particle density on particulate passage from rumen of holstein cow. *J. Dairy Sci.*, v.67, p.693-697, 1984.

FAHEY, G.C.Jr; JUNG, H.G. Lignin as a marker in digestion studies: A review. *J. Anim. Sci.*, v.57, n.1,p.220-225, 1983.

FAN, M.Z. and Sauer, W.C. (1994) Digestibility in pigs: effect of dietary amino acid level. *Journal of Animal Science*, 72, 2851-2859.

FERREIRA, W. M.; MEJÍA, A. M. G; Métodos de avaliação da disponibilidade da proteína e dos aminoácidos nos alimentos para não ruminantes. Palestra do I simpósio internacional de nutrição de monogástrico, pag. 1-24, XII semana de zootecnia 9-13 setembro, 1996.

FAISANT, N. et al. Structural discrepancies in resistant starch obtained *in vivo* in humans and *in vitro*. *Carbohydr Polym*, v.21, p.205-209, 1993.

FIALHO E.T, SILVA H.O., ZANGERONIMO M.G., AMARAL N.O., RODRIGUES P.B. & CANTARELLI V.S. 2009. Alimentos Alternativos para Suínos. Lavras: Editora UFLA/FAEPE. 232p.

GOLDFLUS, F. Ingredientes derivados do processamento da soja aplicados na nutrição animal. Anais do simpósio sobre manejo e nutrição de aves, suínos e tecnologia da produção de rações - Campinas, SP – novembro de 2001. p. 97-187.

GOÑI, I. et al. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food Chem*, v.56, p.445-449, 1996.

HAFEZ, S.; JUNGE, W.; KALM, E. Schätzung der Verdaulichkeit mit einer Indikatormethode bei Milchkuhen im Vergleich zum Hohenheimer-Futterwert-Test. *Archiv Tierernähr*, v.38, p.929-945, 1988.

HARALAMPU, S.G. Resistant starch – a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydr Polym*, v.41, p.285-292, 2000.

HILDEBRAND, H. Refractive Index Considerations in Light Scattering Particle Size Measurements in Advances in Process Control Measurements for the Ceramic Industry, A. Jilavenkatesa and G. Onoda, ed., *American Ceramic Society*, Westerville, OH p. 379, 1999 apud JILLAVENKATESA, A.; DAPKUNAS S. J.; LUM L.H. GOETZEL, G. C. Particle Size Characterization, NIST Recommended Practice guide - Special Publication 960-1, Washington, 2001.

JENKINS, D.J.A. et al. Physiological effects of resistant starches on fecal bulk, short chain fatty acids, blood lipids and glycemic index. *J Am Coll Nutr*, v.17, n.6, p.609-616, 1998.

JOY, M.T.; DePETERS, E.J.; GADEL, J.G.; ZINN, R.A. Effect of corn processing on the site and extent of digestion in lactating cows. *J Dairy Sci*, 80:2087-2097, 1997.

KOHLER, T., MOSENTHIN, R., VERSTEGEM, M.W.A., HUISMAN, J., DEN HARTOG, L.A. and Ahrens, F. (1992) Effect of ileo-rectal anastomosis and post-valve T-caecum cannulation on growing pigs. 1. Growth performance, N-balance and intestinal adaptation. *British Journal of Nutrition*, 68, 293-303.

KOTB, A.R.; LUCKEY, T.D. Markers in nutrition. *Nutr. Abstr. Rev.*, v.42, n.3, p.813-845, 1972.

- LAPALCE, J.P., SOUFFRANT, W.B., HENNIG, U., CHABEAUTI, E. and FÉVRIER, C. (1994) Measurement of precaecal dietary protein and plant cell wall digestion in pigs; comparison of four surgical procedures. *Livestock Production Science*, 40, 313-328.
- LAWRENCE, K.R.; GOODBAND, R.D.; TOKACH, M.D.; DRITZ, S.S.; NELSSSEN, J.L.; DE ROUCHEY, J.M. Comparison of wheat gluten and spraydried animal plasma in diets for nursery pigs. *Journal of Animal Science*, v.82, p.3635-3645, 2004.
- LEHMANN, K.B.; HERGET, L. Studien über die hygienisehen eigenschaften des Titandioxyds und des Titanweiss. *Chemiker Ztg*. Vol 51, n. 793, 1927.
- MARAIS, J. P., 2000: Use of markers. In: J. P. F. D'Mello (ed.) *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. CABI Publ., Wallingford, pp. 255–277.
- MARCONDES, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R. et al. Consumo e desempenho de animais alimentados individualmente ou em grupo, e característica de carcaça de animais Nelore de três classes sexuais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 37, n.12, p. 2243-2250, 2008.
- MAURÍCIO, R.M. Determinação da digestibilidade aparente em eqüideos através do óxido crômico, da lignina e da coleta total das fezes. Belo Horizonte, MG: UFMG, 1993. 62p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, 1993.
- MOORE, J.E.; SOLLENBERGER, L.E. Techniques to predict pasture intake. In: international symposium on animal production under grazing, 1997, Viçosa. *Anais...* Viçosa: UFV, 1997. p.81-96.
- MUIR, J.G.; O'DEA, K. Measurement of resistant starch: factors affecting the amount of starch escaping digestion *in vitro*. *Am J Clin Nutr*, v.56, p.123-127, 1992.
- O'DEA, K. et al. Rate of starch hydrolysis *in vitro* as a predictor of metabolic responses to complex carbohydrate *in vivo*. *Am J Clin Nutr*, v.34, p.1991-1993, 1981.
- OWUSU-ASIEDU, A.; BAIDOO, S.K.; NYACHOTI, C.M. et al. Response of early-weaned pigs to spray-dried porcine or animal plasma-based diets supplemented with egg-yolk antibodies against enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Journal of Animal Science*, v.80, p.2895-2903, 2002
- OWENS, F.N.; HANSON, C.F. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. *J. Dairy Sci.*, v.75, n.9, p.2605-2617, 1992.
- PEDDIE, J.; DEWAR, W.A.; GILBERT, A.B. et al. The use of titanium dioxide for determining apparent digestibility in mature domestic fowls (*Gallus domesticus*). *Journal of Agricultural Science*, v.99, p.233-263, 1982.
- POORE, M.H., ECK, T.P., SWINGLE, R.S., THEURER, C.B. Total starch and relative starch availability of grains. In: *Bienal conference on rumen function*, 1989, Chicago. *Abstracts...* Chicago, 1989. v.20, p.35.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos: tabelas brasileiras. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 141p.

ROSTAGNO, H. S.; et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa –UFV,2005 pags.141.

RODRIGUEZ, N.M.; SALIBA, E.O.S.; GUIMARAES JUNIOR, R. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 43., 2006, Joao Pessoa. Anais... Joao Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006. p.323-352.

SAKOMURA, N. K. Estudo do valor nutricional das sojas integrais processadas e de sua utilização na alimentação de frangos e poedeiras. Jaboticabal, SP, UNESP, 1996. Tese (obtenção do título de livre docente) – Universidade Estadual Paulista, 1996.

SALIBA, E. O. S.; Caracterização química e microscópica das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e de soja expostas a degradação ruminal e seu efeito sobre a digestibilidade dos carboidratos estruturais. Tese apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, belo Horizonte, pag.29-47. 1998.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L. C. et al. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 36, 1999, Porto Alegre, Anais... Porto Alegre – RS:SBZ, 1999a.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C. Estudo comparativo da lignina isolada da palha de milho, com outros indicadores em ensaio de digestibilidade aparente. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 36., 1999, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999. p.293.

SALIBA, E. O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; PILÓ-VELOSO, D. et al. Estudos de caracterização química das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e soja. Reunião anual da sociedade brasileira de Zootecnia, pag.37, 2000- Viçosa. Anais CD-Rom.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; PILO-VELOSO, D. et al. Estudo comparativo da coleta total com a lignina purificada como indicador de digestibilidade para ovinos em experimento com feno de Tifton 85. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 40., 2003, Santa Maria. Anais... Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. (CD-ROM).

SALIBA, E. de O. S.; VASCONCELLOS, C. H. de F.; VELOSO, J. A. de F.; RODRIGUEZ, N. M.; VELOSO, D. P; LIPE®, CR²O³ e coleta total de excreta para determinação da digestibilidade em frangos de corte. Anais, I teleconferência sobre o uso de indicadores em nutrição animal, vol. Único pag. 30-33, (UFMG), Belo Horizonte -MG,Março 2005.

SALIBA, E.O.S.; VASCONCELLOS, C.H.F.; VELOSO, J.A.F. et al. LIPE®, Cr₂O₃ e coleta total de excretas para determinação da digestibilidade em frangos de corte. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 42, 2005. Goiânia, Anais... Goiânia-GO:SBZ, 2005a (CD-ROM).

SALA, O. (2000): *Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho*, Editora da UNESP, São Paulo, Capítulo 1.

SALIBA E. de O. S.; OLIVEIRA M. C. de, FARIA E. P., RODRIGUEZ N. M., RIBEIRO L. G. P, BORGES I., MOREIRA G. R. Avaliação da concentração de amido na raiz de genótipos de mandioca através das técnicas enzimáticas, Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIV) e análise particular por difração a laser (Partica). 46ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, pag.1-3, 2009-Maringá- PR.

SILVA, D.J. *Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. 2.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1990. 166p.

SILVA, J.F.C., LEÃO, M.I. *Fundamentos da Nutrição de Ruminantes*. Piracicaba, SP, Ed. Livro CERES, 1979. 380 p.

SMITH, C.E. Cellular and Chemical events during enamel maturation. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, v.9, n.2, p. 128-161, 1998.

SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. A, SUMI, L. M.; BATISTA, L. A. R. Método alternativo para a determinação de fibra em detergente neutro e detergente ácido. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 1999. 21 p.

TITGEMEYER, E.C.; ARMENDARIZ, C.K.; BINDEL, D.J. et al. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *J. Anim. Sci.*, v.79, p.1059-1063, 2001.

TITGEMEYER, E.C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. *J. Animal Sci*, 75:2235, 1997.

TRINDADE NETO, M.A., BARBOSA, H.P., PETELINCAR, I.M. et al. Dietas para leitões nas fases de creche e diferentes idades ao desmame. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.2, p.672-680, 2002.

TORRALLARDONA, D.; CONDE, M.R.; BADIOLA, I. et al. Effect of fishmeal replacement with spray-dried animal plasma and colistin on intestinal structure, intestinal microbiology, and performance of weanling pigs challenged with *Escherichia coli* K99. *Journal of Animal Science*, v.81, p.1220-1226, 2003.

TOUCHETTE, K.J.; CARROL, J.A.; ALLEE, G.L. et al. Effect of spray-dried plasma and lipopolysaccharide exposure on weaned pigs: I Effects on the immune axis of weaned pigs. *Journal of Animal Science*, v.80, n.494, p.494-501, 2002.

TESTER, R. F. et al. Starch – composition, fine structure and architecture. *J Cereal Sci*, v.39, p.151-165, 2004.

THARANATHAN, R. N. Food-derived carbohydrates – Structural complexity and functional diversity. *Crit Rev Biotechnol*, v.22, p.65-84, 2002.

UDÉN, P.; COLUCCI, P.E.; Van SOEST, P. J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *Journal Science Food Agricultural*, v.31, n.7, p.625-632, 1980.

YUE, P.; WARING, S. Resistant starch in food applications. *Cereal Food World*, v.43, n.9, p.690-695, 1998.

WOLF, B. W. et al. Effects of chemical modification on *in vitro* rate and extent of food starch digestion: an attempt to discover a slowly digested starch. *J Agr Food Chem*, v.47, p.4178-4183, 1999.

VASCONCELLOS, C. H. F.; Lignina purificada e modificada (LIPE®), óxido crômico e coleta total de excretas, como métodos de determinação da digestibilidade em frangos de corte. Belo Horizonte –Escola de Veterinária da UFMG, 2004 pag.46 Dissertação de Mestrado em zootecnia.

CAPITULO 2

Validação dos indicadores LIPE, óxido crômico e dióxido de titânio comparado com o método referência (coleta total), para determinação da digestibilidade, produção fecal e consumo para suínos em crescimento

RESUMO

Foi realizado um experimento de digestibilidade conduzido no laboratório de nutrição animal da Escola de Veterinária da UFMG, com o objetivo de validar o método de indicadores LIPE[®], Cr₂O₃ e TiO₂ em substituição ao método de coleta total (referência), para produção fecal, digestibilidade e consumo, para suínos em crescimento. O experimento teve duração de 12 dias sendo (7 dias de adaptação a gaiola e a dita e 5 dias de coleta total de fezes). Foram utilizados quinze suínos machos castrados, com peso médio \pm 25 kg e 65 dias de idade. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com arranjo em parcelas subdivididas, (as parcelas foram as dietas (referência, referência + inclusão de 30% de soja micronizada, e as subparcelas foram os indicadores e a coleta total, com 5 repetições (animal) por dieta). Os resultados obtidos com os indicadores foram comparados com o método referencia de coleta total. Não houve diferença estatística (P>5%) para os indicadores LIPE e dióxido de titânio quando comparados com o método referencia. Entretanto o indicador óxido crômico foi diferente do método referencia para (P>5%) para todas as variáveis testadas.

Palavras chave: indicador, produção fecal, digestibilidade, consumo

ABSTRACT

A digestibility experiment was conducted in the Animal Nutrition Laboratory of the Veterinary School of the Federal University of Minas Gerais (UFMG), in order to validate the method of the indicators LIPE[®], Cr₂O₃ and TiO₂ as replacements of the reference method, Total Collection, for determination of fecal output, digestibility and consumption for growing pigs. The experiment lasted 12 days and (7 days of adaptation to the cage and diet and 5 days of Total Collection of feces). Fifteen barrows with average weight of ± 25 kg and 65 days old were used. A completely randomized design with split plots was adopted, where the plots were the diets (Reference, Reference + inclusion of 30% micronized soybean) and the subplots were the indicators and the Total Collection, with five repetitions (animals) per diet. The results obtained with the indicators were compared to the reference method of Total Collection. There was no statistical difference (P > 5%) for the LIPE[®] and Titanium Dioxide indicators when compared with the reference method. However, the indicator Chromic Oxide was shown to be different from the reference method for (P > 5%) for all variables tested.

Keywords: marker, fecal output, digestibility, intake

2.1 Introdução

As pesquisas na área de nutrição, vem há muito tempo, buscando alternativas para avaliar o valor nutricional dos alimentos. O processo de coleta total de fezes em ensaios para avaliação do consumo, produção fecal e digestibilidade de nutrientes, é muito laborioso e algumas vezes de difícil mensuração, com isso, substâncias denominadas indicadores, têm possibilitado a mensuração dessas variáveis de forma segura e precisa. Essas substâncias podem estar presentes como componentes indigeríveis da dieta ou substâncias indigestíveis adicionados a dieta ou fornecidos separadamente, por exemplo, na forma de cápsula. Para se conhecer a confiabilidade de um indicador é necessário que sejam feitos ensaios de digestibilidade comparando os resultados obtidos pelo indicador com aqueles obtidos com a coleta total de fezes (método referência). Embora seja extensa a utilização de indicadores para estimação da excreção fecal e da digestibilidade das dietas, poucos estudos têm verificado a acurácia de tais estimativas, o que torna necessário a comparação da coleta total de fezes com as estimativas (Moraes, 2007). Assim o objetivo desse trabalho foi comparar as estimativas de produção fecal, digestibilidade e consumo dos nutrientes através de metodologia direta (coleta total de fezes) com a metodologia indireta, utilizando os indicadores externos óxido crômico, dióxido de titânio e LIPE[®] em suínos na fase de crescimento alimentados com dietas a base de milho e soja, validando assim esses métodos indiretos.

2.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de metabolismo animal do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, no período de abril 2011.

Foi utilizado nesse experimento 15 suínos machos castrados de linhagem comercial DB Dambred com 65 dias de idade e peso inicial de \pm 25 kg. Os animais foram alojados individualmente em gaiolas metabólicas providas de comedouro, bebedouro, coletor de fezes e urina individual, por um período de 7 dias de adaptação e 5 dias de coleta. O ensaio teve duração de 12 dias.

As rações experimentais foram produzidas a partir de uma ração basal (T₁) descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Composição percentual da dieta referência

Ingredientes	T1
Milho grão	69.3
Farelo de soja	24.9
Farinha de Carne	4.4
Premix crescimento*	0.4
Calcário	0.5
Sal comum	0.5
Inclusão do óxido de Cromo	0.8
Inclusão do dióxido de Titânio	0.8

*Premix vitamínico mineral por kg do produto: vit. A, 2.000.000 UI; vit. D₃, 300.000 UI; vit. E, 5.000 mg; vit K₃, 625 mg; vit. B₁, 250 mg; vit. B₂, 1.000 mg; vit. B₆, 500 mg; vit. B₁₂, 5.000 mcg; ácido nicotínico, 625 mg;; selênio, 125 mg; biotina, 12,5 mg; antioxidante, 30.000 mg; e veículo q.s.p., 1.000 g, ác. Pantotenico 2500mg; ac. Fólico 150mg; colina 60.000mg; vit. C 12.500mg; metionina 25.000mg; treonina 10.000mg; trip. 5000mg; selenio 125mg; iodo 200mg; cobalto 125mg; ferro 17.500mg; lisina 100.000mg; cobre 5000mg; manganes 10.000mg; zinco 20.000mg; tilosina 11.000mg; BHT 500mg .

As rações correspondentes aos demais tratamentos experimentais (T₂ e T₃) se caracterizam, na dieta 2 pela substituição de 30% da dieta basal com o alimento soja micronizada e na dieta 3 com substituição de 30% do alimento plasma sanguíneo. As dietas foram formuladas para atender as exigências dos animais, de acordo com as recomendações nutricionais de (Rostagno *et al.*, 2005). As rações foram fornecidas umedecidas em dois tratos diários sendo um pela manhã às 6:00 e o outro pela tarde às 18:00 horas. O consumo de ração estabelecido foi de acordo com o peso metabólico de cada animal. A água foi fornecida à vontade. Os indicadores de digestibilidade foram administrados por via oral. O LIPE[®] foi fornecido em cápsula, sendo uma cápsula de 0,25g por animal por dia, os indicadores óxido crômico e dióxido de titânio foram misturados a ração quando essas foram preparadas sendo 0,8kg dos indicadores (Cr₂O₃ e TiO₂) para cada 100kg da dieta. Cada suíno recebeu em média 0,8% de cada indicador (Cr₂O₃ e TiO₂) diariamente com a ração durante todo o período experimental. A (Tabela 2) descreve a composição bromatológica das dietas para a relação de 100% de MS* das rações experimentais.

Tabela 2. Composição bromatológica para 100% de MS* das rações experimentais

Dietas	MS	EE	FDN	MM	CA	P	PB	EBcal/g
1 Referência	87,29	4,17	13,6	0,10	1,07	0,63	21,14	4657,125
2 30% Soja Micronizada	89,52	9,43	15,4	0,08	0,99	0,64	27,34	5008,388
3 30% Plasma Suíno	87,17	2,36	18,7	0,09	0,67	0,81	35,85	4977,213

*MS- matéria seca

A determinação da digestibilidade aparente das dietas foi realizada por meio do método tradicional de coleta total de fezes e através da utilização do indicador externo de digestibilidade LIPE[®] conforme Saliba et al. 2003, CROMO conforme (EDIM, 1918); e TITÂNIO conforme (Jagger et al., 1992; Short et al., 1996), através de cálculos e análises laboratoriais. O período experimental foi de 12 dias sendo sete de adaptação as gaiolas, as dietas e para determinação do consumo, e cinco dias para coleta. A quantidade de ração fornecida aos animais, sobras e fezes foram pesadas diariamente uma vez ao dia num período de 24 horas. O material recolhido foi pesado, colocado em sacos plásticos e armazenado em congelador, até o período final da coleta, para posterior análise.

As análises laboratoriais das rações, e das fezes do experimento foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária da UFMG.

As fezes foram colocadas em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 72 horas para pré-secagem. Após a pré-secagem, o material foi exposto por duas horas à temperatura ambiente, em seguida, pesado, homogeneizado e moído à 1mm na matéria seca em peneiras de crivos no moinho tipo Willey, e acondicionado em potes plásticos devidamente identificados. Foram realizadas análises Matéria Seca (MS) em estufa a 105°C, segundo Cunniff (1995), Extrato Etéreo (EE) aparelho utilizado para extração da gordura Goldfish, Cálcio (Ca) Espectrofotômetro de absorção atômica, Fósforo (P) em Espectrofotômetro calorimétrico, CINZAS (MM), (Proteína Bruta método de Kjeldhal, segundo (AOAC,1995), fibra detergente neutro (FDN), proteína bruta (PB), energia bruta na bomba calorimétrica (EB), conforme técnicas descritas por (Silva,1981). A análise do LIPE[®] foi realizada por espectrofotometria no infravermelho, análise do CROMO por espectrofotômetro de absorção atômica, análise do TITÂNIO por espectrofotometria no visível colorimétrico.

Formulas Usadas para Realização dos Cálculos

* matéria pré seca : $MPS = (\text{peso das fezes úmidas}) - (\text{peso das fezes pré secas}) \times 100$

* matéria seca : $\text{Umidade} = 100 - MS_{105^\circ C}$

* matéria seca total : $MST = (MS_{105^\circ C} / 100) \times (MPS / 100)$

* Óxido crômico : determinado por espectroscopia de absorção atômica em amostras de 0,5 g de fezes.

> LIPE[®] : determinada por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier em amostras de 0,1 g de fezes pré secas no ICEX- UFMG.

* A produção fecal (PF) estimada pelo LIPE[®] foi obtida pela seguinte equação:

$$PF = I / [I_f]$$

Onde:

PF (g/dia) = produção fecal diária;

I (g/dia) = dose diária de indicador oferecida;

I_f = concentração do indicador na matéria seca fecal (g/g).

Dados da formulas :

*Produção Fecal (PF)

*consumo da matéria seca (CMS)

*digestibilidade da matéria seca (DMS)

$$*PF = CMS \times (1 - DMS)$$

$$*CMS = PF / (1 - DMS)$$

$$*DMS = 1 - (PF / CMS)$$

* Óxido crômico: $PF = \text{cromo administrado (g/dia)} / \text{cromo nas fezes (g/kg de MS)}$ (Pond et al., 1989).

* Dióxido de Titânio:

$$*(\text{Digestibilidade da Matéria Seca}) DMS (\%) = \frac{MS \text{ Ingerida} - MS \text{ Fecal}}{MS \text{ Ingerida}} \times 100$$

$$*PF = \frac{\text{Quantidade LIPE}^{\text{®}} \text{ fornecido (g)}}{\text{concentração LIPE}^{\text{®}} \text{ na fezes}} \times MS_{105^\circ C}$$

Onde PF = Produção Fecal

$$*PFCr. (g MS/dia) = \frac{Cr \text{ ingerido (g/dia)}}{(\%Cr \text{ amostra}/100)/(\%MS105^{\circ}C/100)}$$

Onde PFCr. = a produção fecal estimada pelo óxido de cromo.

$$*PFTit. (g MS/dia) = \frac{Tit. \text{ fornecido (g/dia)}}{(\%Tit. \text{ nas fezes}/MS \ 105^{\circ}C)}$$

Onde PFTit. = produção fecal obtida pelo dióxido de titânio, Tit. Fornecido e Tit. nas fezes, a quantidade de dióxido de titânio fornecido e excretado, % Tit. nas fezes, a porcentagem de titânio nas fezes e MS, a matéria seca 105°C.

- Para os cálculos da Taxa de recuperação fecal do indicador, utilizou-se a fórmula, segundo Vasconcellos *et al.*(2004), descrita a seguir:

$$*Taxa \ de \ recupera\c{c}\tilde{a}o = \frac{Produ\c{c}\tilde{a}o \ Fecal \ pelo \ indicador \times \ 100}{Produ\c{c}\tilde{a}o \ Fecal \ pela \ Coleta \ Total}$$

Para a análise estatística da produção fecal, consumo e digestibilidade, o delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado com arranjo em parcelas subdivididas. As parcelas foram as dietas e as subparcelas foram os indicadores e a coleta total, com 5 repetições (animal), conforme o quadro de análise de variancia descrito no anexo B.

Os dados encontrados foram submetidos a análise de variância, utilizando o pacote estatístico SAEG versão 9.0 (Sistema..., 2000) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% probabilidade do erro.

3 Resultado e Discursão

A estimativa de produção fecal em g/dia de MS pelo método referência/direto (coleta total) e pelo método indireto (indicadores) está descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Estimativa da produção fecal dos animais pelo método referencia (coleta total) e pelo método de indicadores (g/dia)

Dieta	Indicador				X
	Coleta total	LIPE	Cromo	Titânio	
Referência	119,4	122,5	137,9	118,0	124,5a
30% Soja micronizada	95,1	100,7	116,6	115,4	106,9b
30% Plasma sanguíneo	106,0	108,6	156,1	120,4	122,8a
X	106,8B	110,6B	136,9A	117,9B	

Letras distintas maiúscula na linha e minúscula na coluna representam diferença pelo teste Tukey (P<0,05). Coeficiente de variação= 12,88%.

Observa-se na Tabela 3, de estimativa de produção fecal, que não houve interação entre os indicadores e as dietas, assim foram analisadas as médias de cada dieta e as médias de cada indicador/método.

O indicador LIPE e o indicador dióxido de titânio se comportaram de forma similar ao método referência (coleta total), não havendo diferença estatística entre eles. Entretanto o indicador óxido crômico foi estatisticamente diferente do método referência e dos outros indicadores utilizados, superestimando a média da produção fecal para as dietas analisadas, de acordo com os dados descritos pode-se observar que óxido crômico não foi um indicador com bom desempenho para estas dietas nessa categoria animal, nas condições testadas. Esse resultado ainda, pode advir da análise laboratorial exigir uma chama redutora no espectrofotômetro de absorção atômica, o que é difícil de conseguir, tornando então, esta análise demorada, laboriosa e com grandes variações, concordando com alguns trabalhos encontrados na literatura, não só nesta, mas em outras categorias animais.

Curran *et al.*, (1967), em nota sobre a utilização do óxido crômico como indicador na estimativa da produção fecal, afirmaram que uma das causas da baixa recuperação fecal do Cr₂O₃, pode ser o método analítico de dosagem. A técnica de absorção atômica (EAA) descrita por Williams *et al.*, (1962) que ainda é objeto de dúvidas, já que sua determinação costuma apresentar variações. Entretanto alguns trabalhos que foram utilizados esse mesmo indicador e o indicador LIPE não se obteve diferença estatística entre eles e a coleta total.

Glindemann *et al.* (2009), ao avaliarem a produção fecal e a taxa de recuperação fecal do dióxido de titânio em ovelhas a pasto, encontraram resultados satisfatórios para

os parâmetros citados acima e recomendaram a aplicação desse indicador duas vezes ao dia.

Marcondes *et al.* (2007) ao avaliarem o dióxido de titânio e outros indicadores externos e internos para estimar a produção fecal em novilhas mestiças de corte alimentadas com cana-de-açúcar e concentrado, encontraram que esse indicador foi eficiente em estimar a produção de matéria seca fecal, bem como, o consumo de concentrado.

Kozloski *et al.* (2006), avaliaram o efeito dos horários de amostragem sobre as estimativas de excreção fecal, utilizando óxido de cromo como indicador externo em três experimentos com bovinos em pastejo. Em todos os experimentos foram utilizadas 10g de cromo, sendo uma dose diária, por 10 dias, via oral. Desse modo, a excreção fecal de animais em pastejo pode ser precisamente estimada pelo fornecimento do óxido de cromo somente uma vez ao dia, associada a duas amostragens fecais, entre o oitavo e o décimo dia do fornecimento do indicador.

Em estudos com aves, Rodrigues *et al.* (2005), avaliaram o método de coleta total de excretas e o método do óxido crômico como indicador. Determinaram a energia metabolizável aparente corrigida pelo nitrogênio retido (EMAn) e os coeficientes de digestibilidade aparente de matéria seca (CDAMS) de uma ração à base de milho e farelo de soja, contendo 19% de PB e 3.100 kcal de EM/kg. Foram utilizados 60 galos Leghorn, com peso de 2.350 ± 105 g. Cada galo foi avaliado pelos dois métodos simultaneamente, em períodos consecutivos. O uso de três dias de coleta foi suficiente na metodologia de coleta total de excretas para se determinar os valores de CDAMS e de EMAn de rações à base de milho e farelo de soja. Adotando-se três dias de coleta e 0,665% de óxido crômico na ração, é possível determinar os valores de EMAn e de CDAMS semelhantes aos obtidos pelo método tradicional de coleta total de excretas.

Marcondes *et al.*, (2006), utilizaram óxido crômico e LIPE® como indicadores e não observaram diferenças estatísticas significativas para estimativas da produção fecal em novilhas por três ou cinco dias de coleta, tanto para o óxido crômico, quanto para o LIPE®. Foi possível conferir, a partir dos dados de produção fecal por coleta total e por emprego dos indicadores, que esses autores obtiveram recuperação total do LIPE® e do cromo, para três ou cinco dias de coleta.

Pereira *et al.*, (2004) utilizaram o indicador LIPE® para estimar a produção fecal total e a digestibilidade da matéria seca aparente em coelhos em crescimento, avaliando a inclusão crescente de polpa cítrica (0, 8, 16, 24 e 32 %). Foi observada uma interação

entre os tratamentos e método utilizado (LIPE®). Aumentado os níveis de inclusão de Polpa Cítrica, houve aumento na diferença entre os valores de produção fecal e do coeficiente de digestibilidade da matéria seca em relação aos valores obtidos pela coleta total. Estes autores concluíram que o LIPE® foi eficiente como indicador externo, no entanto, quando houve aumento dos níveis de inclusão (16, 24 e 32 %), a produção fecal foi superestimada e a digestibilidade da matéria seca foi subestimada, não sendo recomendado seu uso nestas condições, e com aumento da inclusão da polpa cítrica os animais apresentaram quadro de diarreia.

Saliba *et al.*, (2003), compararam as produções fecais estimadas pelo LIPE®, e obtidas por coletas totais para ovinos, coelhos e suínos. Esses autores obtiveram resultados equivalentes entre os métodos, e taxas de recuperação de 94,6% e 102,6% para suínos e 97,9 e 99,3 % para coelhos, ambos submetidos a duas dietas distintas, e 95,9% para ovinos alimentados com feno de Tifton 85.

Estudos os quais esses indicadores testados nesse experimento não obtiveram resultados satisfatórios para a estimativa da produção fecal.

Sampaio *et al.* (2011), com objetivo de estimar a recuperação total e o vício de tempo longo das estimativas de excreção fecal obtidas com os indicadores externos óxido crômico e dióxido de titânio e com os indicadores internos matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em ensaio de digestão com bovinos alimentados com diferentes dietas, realizaram um trabalho onde foram utilizados 14 novilhos F1 Red Angus × Nelore, não-castrados, com idade e peso médios de 12 meses e 287 kg. Os animais foram alimentados com silagem de capim-elefante, silagem de milho ou feno de capim-braquiária, suplementados ou não com 20% de mistura concentrada. O experimento foi constituído de dois períodos de 13 dias cada, segundo delineamento em quadrado latino 2 × 2, com agrupamento de sete quadrados. Os animais receberam diariamente 10 g de óxido crômico e 10 g de dióxido de titânio através de sonda esofágica. Não foram observados efeitos de forragem, nível de concentrado ou de sua interação sobre as estimativas de recuperação fecal, tanto dos indicadores internos quanto dos indicadores externos. As estimativas de recuperação fecal média para o óxido crômico e para o dióxido de titânio foram de 99,50% e 101, 95%, respectivamente. Para os indicadores internos, observou-se recuperação fecal média de 99,02; 98,87 e 102,07% para MSi, FDNi e FDAi, respectivamente. Em todos os casos, as recuperações fecais foram iguais a 100%. Todos os indicadores avaliados podem ser

considerados isentos de vício de tempo longo. Contudo, maior precisão é verificada para as estimativas de excreção fecal obtidas com indicadores internos.

Morata et al (2006), avaliaram os valores de energia metabolizável aparente e aparente corrigida respectivamente, além dos coeficientes de metabolização da energia bruta e da digestibilidade da MS e MO de alguns alimentos para emas de sete meses de idade, utilizando as técnicas de coleta total de excretas e do óxido de cromo como indicador. Os valores dos CDAMS, CDAMO, EMA, EMAn, CMEB e CMEBn dos alimentos, determinados por meio da técnica da coleta total de excretas, foram, de modo geral, superiores aos determinados pela técnica do óxido de cromo. A técnica de óxido de cromo mostrou-se inadequada para determinar os CDAMS, CDAMO, EMA, EMAn, CMEB e CMEBn dos alimentos para emas em comparação com à técnica de coleta total de excretas. Recomendam-se, assim, mais ensaios similares a este, para o uso ou não, dessa técnica para essa espécie.

Berchielli *et al.* (2005), realizaram três experimentos objetivando avaliar a utilização de dois marcadores internos, FDN e FDA indigestíveis, obtidos por meio da incubação *in vitro* e *in situ*, e de um marcador externo, óxido crômico, para estimativa da produção fecal e do fluxo da digesta duodenal em bovinos. Os teores de FDN e FDA indigestíveis mostraram-se variáveis para cada volumoso, independentemente da metodologia utilizada (*in vitro* ou *in situ*), indicando que possivelmente a incubação por 144 horas não reproduz a fração indigestível total. As estimativas de produção fecal e de fluxo da digesta duodenal, obtidas por intermédio dos marcadores avaliados, apresentaram comportamento bastante diferenciado de acordo com cada volumoso. Os marcadores internos, FDN e FDA indigestíveis, podem ser utilizados como preditores dos parâmetros avaliados, desde que alguns cuidados sejam tomados na sua determinação.

Na (Tabela 4), observa-se a estimativa de digestibilidade pelo método de indicadores óxido crômico, dióxido de titânio e LIPE[®], comparado com o método referência (coleta total) em %. Não houve interação entre os indicadores e as dietas. Assim as médias de cada dieta e de cada indicador/método foram analisadas.

Tabela 4. Estimativa da digestibilidade das dietas pelo método referencia (coleta total) e pelo método de indicadores em %

Dieta	Indicador				X
	Coleta total	LIPE	Cromo	Titânio	
Referência	89,6	89,0	87,7	89,5	88,9b
30% Soja micronizada	91,7	91,2	88,9	89,9	90,5a
30% Plasma sanguíneo	91,0	90,9	86,9	90,6	89,8ab
X	90,8A	90,4A	87,8B	89,8A	

Letras distintas maiúscula na coluna e minúscula na linha representam diferença pelo teste Tukey (P<0,0) coeficiente de variação = 1,45%.

Na tabela 4, as médias dos indicadores LIPE[®] e dióxido de titânio comparado com a coleta total foram semelhantes estatisticamente, entretanto o indicador óxido crômico foi estatisticamente diferente dos outros indicadores e do método referência (coleta total). Permitindo-nos salientar que o indicador óxido crômico subestimou a estimativa de digestibilidade das dietas analisadas nesse experimento. Na análise das médias das dietas pode-se perceber que a dieta 2 com substituição 30% de soja micronizada e a dieta 3 com substituição de 30% de plasma sanguíneo foram melhor estatisticamente do que a dieta referencia que continha apenas milho e soja. Entretanto a dieta 3 com 30% de plasma sanguíneo foi também similar a dieta referencia podendo ser assim inferior nutricionalmente a dieta 2 com 30% de substituição de soja micronizada.

Lanzetta *et al.* (2009) avaliaram a eficiência do LIPE[®] para estimar a digestibilidade dos nutrientes de dietas em equinos em comparação aos métodos de coleta total de fezes e do indicador óxido crômico. Foram utilizadas seis potras Mangalarga Marchador, com média de 2 anos de idade e 345 kg de peso vivo, alimentadas com feno de alfafa e concentrado comercial na proporção de 50:50. A dieta consistiu-se de feno de alfafa (*Medicago sativa*) e ração comercial (15% de PB). A autora concluiu que os resultados obtidos com o Lipe[®] foram similares aos determinados por coleta total, confirmando a eficiência do LIPE[®] para estimar a digestibilidade de nutrientes da dieta em equinos.

Saliba *et al.* (2002), realizaram um estudo objetivando comparar a lignina isolada da palha do milho (LPM-RM) com os indicadores utilizados em ensaios de digestibilidade e consumo. Foram utilizados o LPM-RM, o óxido crômico (Cr₂O₃), o cloreto de itérbio (YbCl₃.6H₂O), a fibra de detergente ácido indigestível (FDA-ind), o teor de metoxila da lignina (OCH₃), a lignina Klason (LK) e a lignina determinada por

espectroscopia no infravermelho (LIG-IV). Os dados de digestibilidade obtidos com LIG-IV, Cr_2O_3 e $\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ foram semelhantes entre si, mas diferentes dos demais indicadores (21% superior no caso de Cr_2O_3 e 24% inferior no caso da LIG-IV e do itérbio), quando comparados com a coleta total.

Em estudo com robalos *Centropomus*, para se determinar a digestibilidade de alguns ingredientes utilizados em rações para peixes, trabalharam com o *Centropomus parallelus*, utilizando o farelo de soja, o farelo de aveia e o farelo de arroz, testados como ingredientes de rações que continham 0,5% de óxido crômico (Cr_2O_3) como marcador externo. Nesse experimento, o tratamento com farelo de soja, utilizando 20% de farelo de soja em substituição à farinha de peixe, resultou em ganho de peso superior até mesmo à ração basal, contendo 65% de farinha de peixe. Pode-se concluir, então, que o óxido crômico foi eficiente para determinar a digestibilidade desses alimentos. (Barroso, 2002).

Titgemeyer *et al.* (2001) utilizaram TiO_2 e Cr_2O_3 como indicadores para determinar a digestibilidade em novilhos. No primeiro ensaio, utilizaram 8 novilhos consumindo feno de pradaria, divididos em quatro tratamentos: 1) controle, sem suplemento; 2) 1,6 kg/d suplementação de milho (com base na MS); 3) 0,43 kg/d melaço cozido em bloco contendo 30% de proteína bruta; 4) 5,0 g/d Smartamine-M (Rhone-Poulenc Animal Nutrition, Atlanta, GA). Todos os animais recebiam 20 g/d de sal branco. Cada novilho recebeu 10 g de TiO_2 , juntamente com o sal branco, durante 14 dias. As coletas de sobra, fezes e dieta ocorreu nos 7 dias subsequentes. A análise de TiO_2 foi realizada de acordo com Short *et al.*, (1996), com a modificação de apenas 10 mL de H_2O_2 30% ao invés de 20 mL. A recuperação de TiO_2 foi de 92,8% e não foi afetado pelos tratamentos. A digestibilidade calculada pelo TiO_2 foi estatisticamente igual a digestibilidade aparente.

Titgemeyer *et al.* (2001), num segundo experimento, os autores utilizaram dois novilhos alimentados com dietas limitantes à base de milho (3,3 kg de milho laminado, 0,7 kg de alfafa picada, 0,50 kg de farelo de soja e 0,10 kg de suplemento vitamínico mineral). Os novilhos foram adaptados à dieta por 7 dias. Foram adicionados à dieta 10 g/d de TiO_2 e Cr_2O_3 , nos 14 dias seguintes, sendo 5 g dos indicadores na dieta da manhã e 5 g na dieta da tarde. Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas para a coleta de fezes entre os dias 2, após a adição do indicador à dieta, e 21 do período experimental. As coletas de fezes foram subdivididas em 5 dias de coleta (2-6, 7-11, 12-16, 17-21 d). O primeiro período de coleta (2-6 d) resultou em baixas recuperações dos

indicadores. A recuperação para os outros períodos foi estatisticamente igual a 100%, variando de 91,2% a 98,3% para TiO_2 e 108,7% a 116,2% para Cr_2O_3 . Após a adaptação dos indicadores, a digestibilidade calculada pelo TiO_2 foi subestimada em 1,1 pontos percentuais em relação à coleta total, enquanto a digestibilidade calculada com base no Cr_2O_3 foi superestimada em 2,2 pontos percentuais.

Titgemeyer *et al.* (2001), num terceiro experimento, 8 novilhos canulados no rúmen foram alimentados com dietas à base de milho laminado que continha 8% de alfafa, 3% de melaço e 0,5% de uréia (base MS). Foram oferecidos aos animais 10 g de TiO_2 e Cr_2O_3 diariamente, divididos em duas porções iguais. Os novilhos foram adaptados à dieta por 9 dias e as coletas totais ocorreram nos 4 dias subsequentes. Quando a técnica dos indicadores foi empregada para o cálculo da digestibilidade, o TiO_2 levou a uma maior estimativa de produção fecal e uma menor digestibilidade da dieta. Os autores concluíram que o dióxido de titânio pode ser usado como indicador de digestibilidade para ruminantes. Nesse trabalho, encontraram recuperações de TiO_2 acima de 90% e 95%, mas digestibilidade subestimada, variando de 1,1 a 5,5 unidades percentuais.

Kavanagh *et al.* (2001) utilizaram Cr_2O_3 , TiO_2 e cinzas insolúvel em ácido (CIA) para determinar a digestibilidade em suínos. Foram utilizados oito suínos machos inteiros, divididos em dois tratamentos. O tratamento A consistia em adicionar à dieta, baseada em cereais, 1 g/kg dos indicadores Cr_2O_3 e TiO_2 . O tratamento B não possuía os indicadores. Os suínos eram alimentados duas vezes ao dia e recebiam de 3,3% a 3,7% do peso vivo. O período de adaptação às dietas com os indicadores foram de 7 dias. A coleta total de fezes ocorreu nos 5 dias subsequentes, com o auxílio do óxido férrico (20 g/kg). As análises de titânio foram feitas segundo Short *et al.* (1996). A recuperação dos indicadores na dieta foram de 0,93 g/kg de Cr_2O_3 , 1,02 g/kg de TiO_2 e 1,336 (sem as frações de TiO_2 e Cr_2O_3) e 2,906 (com as frações dos indicadores) para CIA. A recuperação dos indicadores nas fezes foi de 96,0%, 92,3% e 99,9% respectivamente para Cr_2O_3 , TiO_2 e CIA. A digestibilidade estimada com TiO_2 nesse estudo foi subestimada em relação à coleta total. Os autores justificam o fato pela baixa recuperação do TiO_2 nas fezes.

Jagger *et al.* (1992) avaliaram os indicadores TiO_2 , Cr_2O_3 e lignina no estudo de digestibilidade aparente ileal de aminoácidos em suínos com cânulas reentrantes tipo "T". Foram adicionados 1 e 5 g/kg de Cr_2O_3 e TiO_2 às dietas. Observou-se uma queda inicial no consumo da dieta quando as quantidades de indicadores foram de 5 g, mas tal

fato foi transitório e não mais observado após um período de 7 a 10 dias. A taxa de recuperação foi de 74,6% e 79,7% para as quantidades de 1 e 5 g/kg de Cr₂O₃, 98,3% e 96,9% para as quantidades de 1 e 5 g/kg de TiO₂ e 98,1% para lignina. Houve diferença entre os indicadores na determinação da digestibilidade, com exceção do nitrogênio e da histidina. Os valores de digestibilidade de aminoácidos foram subestimados quando usado o Cr₂O₃. Os autores concluíram que o melhor indicador nesse estudo foi 1 g/kg de TiO₂ para determinar a digestibilidade ileal aparente de aminoácidos.

Na Tabela 5, pode-se observar a estimativa de consumo dos animais pelo método indireto através do uso de indicadores comparado com o método de consumo real em g/dia. A tabela mostra que não houve interação entre os indicadores e as dietas, então foram analisadas as médias de consumo dos animais. As médias de consumo das dietas pelos animais também não foram diferente entre dietas. Entretanto nas médias de consumo pelos métodos avaliados sendo estes métodos de coleta total de fezes (referência) e os métodos dos indicadores, apenas a média do indicador óxido crômico foi diferente para estimativa do consumo comparado método referencia, LIPE e dióxido de titânio. O óxido crômico superestimou a média do consumo dos animais para as dietas testadas, o que aconteceu também nos estudos de produção fecal descrito na Tabela 3.

Tabela 5. Estimativa de consumo das dietas pelos animais através do método referencia (coleta total) e o método de indicadores

Dieta	Indicador				X
	Coleta total	LIPE	Cromo	Titânio	
Referência	1116	1362	1503	1122	1276
30% Soja micronizada	1143	1074	1412	1153	1196
30% Plasma suíno	1208	1249	1752	1238	1361
X	1156B	1228B	1556A	1171B	

Letras distintas maiúscula na linha representam diferença pelo teste Tukey (P<0,05). Coeficiente de variação= 12,9%

Os indicadores dióxido de titânio e LIPE se mostraram eficiente para a determinação do e consumo em todas as dietas não apresentando diferença estatística na estimativa dessas três variáveis em relação a consumo real.

Ferreira et al. (2009), conduziram dois trabalhos para estimativa do consumo individual de vacas em lactação alimentadas em grupo. No primeiro, para validar a metodologia, foram utilizadas oito vacas, alojadas em baias individuais recebendo silagem de milho e 4 kg de concentrado. Dois indicadores externos (óxido crômico e

dióxido de titânio) foram avaliados para estimativa do consumo individual de concentrado. A fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) foi utilizada para estimativa do consumo de silagem. A produção de matéria seca fecal (PMSF) foi determinada pela coleta total de fezes e estimada pelo LIPE[®]. Tanto o óxido crômico quanto o dióxido de titânio permitiram estimar com eficiência o consumo de concentrado, independentemente do método para estimativa da PMSF. A FDAi estimou de forma satisfatória o consumo de silagem de milho. No segundo experimento, foram utilizadas 31 vacas, distribuídas em três grupos de alimentação, alojadas em estábulo tipo *free stall* e alimentadas com silagem de milho e concentrado de acordo com a produção de leite (8,0; 5,5 e 4 kg, para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente). Não houve diferença entre o óxido crômico e o dióxido de titânio no consumo de MS do concentrado, que foi muito próximo da quantidade média fornecida por vaca/dia (6,99 vs 7,12; 4,81 vs 4,96 e 3,49 vs 3,52 kg/vaca/dia). Verificou-se grande variação individual no consumo de concentrado, silagem e matéria seca total, independentemente do grupo de alimentação. Não foi verificada relação entre o consumo de matéria seca, a produção de leite e o peso metabólico dos animais. O óxido crômico e o dióxido de titânio podem ser usados para estimativa do consumo individual de concentrado e a FDAi é adequada para estimativa do consumo de silagem de milho por vacas em lactação alimentadas em grupo.

Lima *et al.* (2008) avaliaram a eficiência do óxido crômico e do LIPE[®], fornecidos uma vez ao dia, para a estimativa do consumo de matéria seca (CMS) em bezerros de corte, de ambos os sexos, com uma média de idade de 210 dias e peso médio de 168kg, pastejando *Brachiaria decumbens*. Esses autores observaram que a aplicação de óxido crômico, uma vez ao dia, subestimou os valores de excreção fecal e, conseqüentemente, do CMS de animais. O valor médio de produção fecal estimado pelo óxido crômico foi 52,5% mais baixo que o estimado pelo LIPE. Assim sendo, em regime de pastejo, o LIPE se coloca como uma opção mais confiável para a determinação do CMS de forma indireta, uma vez que produziu resultados mais condizentes com as exigências e o desempenho dos animais desse estudo.

Soares *et al.* (2004), avaliaram o consumo de matéria seca (CMS) de vacas mestiças Holandês × Zebu, fistuladas no rúmen e em lactação e que foi medido pela diferença de peso do alimento oferecido e das sobras, e estimado com auxílio do óxido crômico (Cr₂O₃) pela produção fecal (PF) e indigestibilidade do alimento. O consumo de MS foi superestimado em 9,25% quando foi utilizada a técnica do óxido crômico, em

comparação aos dados medidos diretamente a partir da pesagem do oferecido e das sobras. Essa superestimativa foi atribuída à recuperação do cromo nas fezes. As estimativas obtidas com o auxílio do óxido crômico podem ser consideradas satisfatórias quando se trabalha com avaliações de digestibilidade, produção fecal e consumo de matéria seca.

4 Conclusão

O indicador LIPE[®] e dióxido de titânio não apresentaram diferença estatística do método de coleta total de fezes (referência), para as variáveis analisadas, sendo essas , produção fecal, consumo das dietas e digestibilidade das dietas, em estudos nutricionais para suínos em crescimento. Entretanto o uso do indicador óxido crômico não é recomendado para estimar produção fecal, digestibilidade e consumo para essa categoria animal na situação testada, pois esse indicador hora superestimou as variáveis testadas hora subestimou, demonstrando-se assim um método bastante variável, em relação aos outros métodos testados. Assim os indicadores LIPE[®] e dióxido de titânio podem ser recomendados e validados para determinação da produção fecal, digestibilidade e consumo nas condições testadas nessa categoria animal.

5- Referências Bibliográficas

BARROSO, M.V.; CASTRO, J.C.; AOKI, P.C.M.; HELMER, J.L. Valor nutritivo de alguns ingredientes para o robalo (*Centropomus parallelus*). Revista Brasileira de Zootecnia. 2002. 31: 6, 2157-2164. 27 ref.

BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S.G.; CARRILHO, E.N.V.M. et al. Comparação de marcadores para estimativas de produção fecal, e de fluxo de digesta em bovinos. Revista Brasileira de Zootecnia, v.34, n.3, p.987-996, 2005.

CUNNIFF, P. (Ed.) *Official methods of analysis of AOAC International*, 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995, v.1.

CURRAN, M.K.; LEADER, J.D.; WESTON, E.W. A note on the use of chromic oxide incorporated in a feed to estimate faecal output in ruminants. Animal Production, v.9, p.561-564, 1967.

EDIN, H. Orienterande forsok over anvanbarheten av en pa "ledkroppsprincipen" grundad metod at bestamma en foderblandings smalbarhed. Medd. Centralanst. Foersoksvaes. Jordbruksomraadet 165, 28 (In Swedish), 1918.

FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I. et al. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. Revista Brasileira de Zootecnia, v.38, p.1568-1573, 2009a.

GLINDEMANN, T.; TAS, B.M.; WANG, C. et al. Evaluation of titanium dioxide as an inert marker for estimating faecal excretion in grazing sheep. Animal Feed Science and Technology, v.152, p.186-197, 2009.

KAVANAGH, S.; LYNCH, P.B.; MARA, F.O. et al. A comparison of total collection and marker technique for the measurement of apparent digestibility of diets for growing pigs. Animal Feed Science and Technology, vol. 89, p.49-58, 2001.

KOZLOSKI, G. V.; PERES NETTO, D. ;OLIVEIRA, L. *et al.* Uso de óxido de cromo como indicador da excreção fecal de bovinos em pastejo: variação das estimativas em função do horário de amostragem. Ciência Rural, v. 36, p. 599-603, 2006.

JAGGER, S.; WISEMAN, J.; COLE, D.J.A. et al. Evaluation of inert markers for the detection of ileal and faecal apparent digestible values in the pig. British Journal Nutrition, vol. 68, p. 729-739, 1992.

LANZETTA, V.A.S.; REZENDE, A.S.C. et al. Validation of Lipe™ as method to evaluate the apparent digestibility of nutrients in equines. Revista Brasileira de Zootecnia, v.38, n.1, p.69-74, 2009.

LIMA, J.B.M. P; GRAÇA, D.S.; BORGES, A.L.C.C. Uso do óxido crômico e do LIPE® na estimativa do consumo de matéria seca por bezerros de corte. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.60, n.5, p.1197-1204, 2008.

MARCONDES, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; BRITO, A.F. et al. Uso de diferentes indicadores para estimar a produção fecal e avaliar o consumo individual de concentrado e volumoso em novilhas. In: reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia 43, 2006, João Pessoa. Anais... João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006 (CD-ROM).

MARCONDES, M.I. Desempenho de bovinos Nelore alimentados individualmente ou em grupo, exigências nutricionais e avaliação protéica de alimentos para ruminantes. 2007. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – UFV, Viçosa, MG, 136 p. 2007.

MORAES, S.A. – Subprodutos da agroindústria e indicadores externos de digestibilidade aparente em caprinos. 2007, 57p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Escola de Veterinária - UFMG, Belo Horizonte – MG.

MORATA, R.L.; MACHADO, T.M.M.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; DETMANN, E.; FERNANDES, L.T.O.; PARENTE, H.N.; ANTUNES, K.V.; ALMEIDA, A.C.; CSEMARK JUNIOR, A.C. Técnicas de avaliação dos valores energéticos e dos coeficientes de digestibilidade de alguns alimentos para emas (Rhea americana) em crescimento. Revista Brasileira de Zootecnia. 35(4). JUL-AUG 2006. 1381-1388.

PEREIRA, R. A. N. ; FERREIRA, Walter Motta ; SALIBA, E. O. S. . Lipe marker for estimating total faecal production and dry matter apparent digestibility in growing rabbits. In: 8º World Rabbits Congress, 2004, Puebla City - Mexico. proceedings 8 Wrc. Puebla : WRC, 2004. v. 1. p. 1-6.

RODRIGUES, PAULO HENRIQUE MAZZA, et al. Efeito da Adição de Níveis Crescentes de Polpa Cítrica sobre a Qualidade Fermentativa e o Valor Nutritivo da Silagem de Capim-Elefante. Revista Brasileira de Zootecnia, v.34, n.4, p.1138-1145, 2005.

ROSTAGNO, H. S.; et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa –UFV,2005 p.141.

SAMPAIO, CLÁUDIA BATISTA et al. Fecal excretion patterns and short term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. *R. Bras. Zootec.*, Mar 2011, vol.40, no.3, p.657-665.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C.; MORAIS, S.A.L.; PILO - VELOSO, D.; Lignina isolada da palha de milho utilizada com indicador em ensaios de digestibilidade. Estudo comparativo. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 54(1). Fevereiro, 2002. 52-56.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; PILO-VELOSO, D. et al. Estudo comparativo da coleta total com a lignina purificada como indicador de digestibilidade para ovinos em experimento com feno de Tifton 85. In: reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 40., 2003, Santa Maria. Anais... Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. (CD-ROM).

SHORT, F.J.; GORTON, P.; WISEMAN, J. et al. Determination of titanium dioxide added as an inert marker in chicken digestibility studies. *Animal Feed Science Technology*, vol. 59, p.215-221, 1996.

SILVA DJ. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária. 1981.166 p.

SOARES, J.P.G.; BERCHIELLI, T.T.; AROEIRA, L.J.M.; DERESZ, F.; VERNEQUE, R.da S. Estimativas de consumo do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum), fornecido picado para vacas lactantes utilizando a técnica do óxido crômico. Revista Brasileira de Zootecnia. 2004. 33: 3, 811-820.

TITGEMEYER, E.C.; ARMENDARIZ, C.K.; BINDEL, D.J. et al. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *J. Anim. Sci.*, v.79, p.1059-1063, 2001.

WILLIAMS, C.H., DAVID, D.J; IISMAA. O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *Journal of Agricultural Science*, v.59, p.381-385, 1962.

UFV/ SAEG. Sistema de análise estatísticas e genéticas. Versão 9.0.Viçosa, MG: 2000.

CAPITULO 3

Quantificação e determinação da digestibilidade do amido das dietas testadas por diferentes metodologias, sendo estas: difração a laser (Partica), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIV) e Análise Enzimática

RESUMO

Foi realizado um experimento de digestibilidade conduzido no laboratório de nutrição animal da Escola de Veterinária da UFMG, com o objetivo de validar as técnicas instrumentais Partica e FTIV em substituição do método referencia técnica enzimática, para quantificação do amido nas dietas (1 referencia, 2 30% de substituição de soja micronizada e 3 30% de substituição de plasma sanguíneo) de suínos em crescimento. O experimento teve duração de 12 dias sendo (7 dias de adaptação a gaiola e a dieta e 5 dias de coleta total de fezes). Foram utilizados quinze suínos machos castrados, com peso médio \pm 25 kg e 65 dias de idade. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com arranjo em parcelas subdivididas, as parcelas foram as dietas (1 referência, 2 referência + inclusão de 30% de soja micronizada, e 3 referência + inclusão de 30% de plasma sanguíneo) e as subparcelas foram as técnicas(Partica , FTIV e Técnica enzimática, com 5 repetições (animal) por dieta). Os resultados obtidos nas técnicas pelo Partica e FTIV foram comparados com o método referencia. Não houve diferença estatística ($P>5\%$) entre as técnicas avaliadas em relação ao método referencia para quantificação do amido. Entretanto observa –se que a técnica pelo FTIV foi diferente do método referencia para ($P>5\%$) superestimando as médias das amostras analisadas.

Palavra chave: técnicas instrumentais, técnica enzimática, quantificação do amido

ABSTRACT

A digestibility experiment was conducted in the Animal Nutrition Laboratory of the Veterinary School of the Federal University of Minas Gerais (UFMG), in order to validate the instrumental techniques Partica and FTIR method, as replacement methods of the reference Enzymatic Technique for quantification of starch in the diets of growing pigs. The experiment lasted 12 days (7 days of adaptation to the cage and diet and 5 days of total collection). Fifteen barrows with average weight of ± 25 kg and 65 days old were used for this study. A completely randomized experimental design was adopted, with split plots and subplots. The plots were the diets (1- Reference, 2- Reference + inclusion of 30% micronized soybean and 3- Reference +30% substitution of plasma) and the subplots were the techniques (Partica, FTIR and Enzymatic Technique, with five repetitions (animals) per diet). The results obtained with the Partica and FTIR techniques were compared to the reference method. There was no statistical difference ($P > 5\%$) between these techniques evaluated in comparison to the reference method to quantify starch. However it was observed that the FTIR technique was different from the reference method for ($P > 5\%$) overestimating the means of evaluated samples.

Keywords: instrumental techniques, enzymatic technique, quantification of starch

3.1 Introdução

O amido dos alimentos é quantificado pelo teor de glicose liberada após sua completa hidrólise enzimática, pelo uso combinado de enzimas amilolíticas (ASP, 1996). A α -amilase promove a fragmentação da molécula de amido por hidrólise, produzindo açúcares redutores de baixo peso molecular (maltose, maltotriose e maltotetose). Todavia, esta enzima não hidrolisa as ligações glicosídicas presentes na amilopectina e, por isso, deve-se utilizar a amiloglicosidase, para completa hidrólise do amido em glicose. Entretanto, técnicas baseadas neste princípio não são eficientes para a determinação do amido resistente. Diante disso, a partir da década de 80, os esforços se concentraram no desenvolvimento de técnicas que contemplassem a determinação, conjunta ou separadamente, destas duas frações, para um melhor resultado e uma maior confiabilidade, essas denominadas técnicas instrumentais, mais rápidas, mais fácil, e mais precisa nos seus resultados.

O estudo da composição química dos alimentos pode ser feito pelas técnicas químicas convencionais ou através de técnicas instrumentais (uso de equipamentos). Para a utilização das técnicas instrumentais, como a espectroscopia no infravermelho ou a análise particular por difração a laser, é necessária a padronização prévia feita a partir da comparação com as técnicas convencionais.

3.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de metabolismo animal do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, no período de abril 2011.

Foi utilizado nesse experimento 15 suínos machos castrados de linhagem comercial DB Dambred com 65 dias de idade e peso inicial de ± 25 kg. Os animais foram alojados individualmente em gaiolas metabólicas providas de comedouros, bebedouros, coletor de fezes e urina individual, por um período de 7 dias de adaptação e 5 dias de coleta. O ensaio teve duração de 12 dias.

As rações experimentais foram produzidas a partir de uma ração basal (T₁) descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Composição percentual da dieta referência

Ingredientes	T1
Milho grão	69.3
Farelo de soja	24.9
Farinha de Carne	4.4
Premix crescimento*	0.4
Calcário	0.5
Sal comum	0.5

*Premix vitamínico mineral por kg do produto: vit. A, 2.000.000 UI; vit. D₃, 300.000 UI; vit. E, 5.000 mg; vit. K₃, 625 mg; vit. B₁, 250 mg; vit. B₂, 1.000 mg; vit. B₆, 500 mg; vit. B₁₂, 5.000 mcg; ácido nicotínico, 625 mg;; selênio, 125 mg; biotina, 12,5 mg; antioxidante, 30.000 mg; e veículo q.s.p., 1.000 g, ác. Pantoténico 2500mg; ac. Fólico 150mg; colina 60.000mg; vit. C 12.500mg; metionina 25.000mg; treonina 10.000mg; trip. 5000mg; selenio 125mg; iodo 200mg; cobalto 125mg; ferro 17.500mg; lisina 100.000mg; cobre 5000mg; manganês 10.000mg; zinco 20.000mg; tilosina 11.000mg; BHT 500mg .

As rações correspondentes aos demais tratamentos experimentais (T₂ e T₃) se caracterizam, na dieta 2 pela substituição de 30% da dieta basal com o alimento soja micronizada e na dieta 3 com substituição de 30% do alimento plasma sanguíneo. As dietas foram formuladas para atender as exigências dos animais, de acordo com as recomendações nutricionais de (Rostagno *et al.*, 2005). As rações foram fornecidas umedecidas em dois tratos diários sendo um pela manhã às 6:00 e o outro pela tarde às 18:00 horas. O consumo de ração estabelecido foi de acordo com o peso metabólico de cada animal. A água foi fornecida à vontade. A (Tabela 2) descreve a composição bromatológica das dietas para a relação de 100% de MS* das rações experimentais.

Tabela 2. Composição bromatológica para 100% de MS* da rações experimentais

Dietas	MS	EE	FDN	MM	CA	P	PB	EBcal/g
1 Referência	87,29	4,17	13,6	0,10	1,07	0,63	21,14	4657,125
2 30% Soja Micronizada	89,52	9,43	15,4	0,08	0,99	0,64	27,34	5008,388
3 30% Plasma Suíno	87,17	2,36	18,7	0,09	0,67	0,81	35,85	4977,213

*MS- matéria seca

A determinação da digestibilidade aparente das dietas foi realizada por meio do método tradicional de coleta total de fezes. O experimento teve duração de 12 dias sendo 7 de adaptação as gaiolas e as dietas e 5 de coleta. A quantidade de ração oferecida e as sobras foram pesadas diariamente e as fezes coletadas uma vez ao dia no período de 24 horas durante o período de coleta, que foi de 5 dias. O material recolhido

foi colocado em sacos plásticos, pesado e armazenado em congelador, até o período final da coleta. Posteriormente as fezes foram pesadas e colocadas em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 72 horas para pré-secagem. Após a pré-secagem, o material foi exposto por duas horas à temperatura ambiente e, em seguida, pesado e homogeneizado e moído 1mm matéria seca para posterior análise. As rações experimentais também armazenadas na matéria seca, para a realização das análises de fibra em detergente neutro (FDN), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca), fósforo (P), energia bruta (EB) e matéria mineral (MM) conforme técnicas descritas por (Silva 1981).

As análises laboratoriais das rações, e das fezes do experimento foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária da UFMG.

As amostras de ração e fezes foram descongeladas e secas em estufa 55°C por 72 horas e moídas a 1mm em peneiras de crivos no moinho tipo Willey, e acondicionadas em potes plásticos devidamente identificados. Foram realizadas as seguintes análises: (Energia Bruta) na bomba calorimétrica, as análises de (Matéria Seca) em estufa a 105°C, segundo Cunniff(1995), (Extrato Etéreo) aparelho utilizado para extração da gordura Goldfish, (Cálcio) Espectrofotômetro de absorção atômica, (Fósforo) em Espectrofotômetro calorimétrico, (CINZAS), (Proteína Bruta) método de Kjeldhal, segundo (Cunniff 1995). As análises de amido foram realizadas pelo aparelho Partica LA 950 Horiba®, FTIV através do software proveniente da Varian Resolutions® 800 e análise enzimática de amido pelo kit de glicose liberada na amostra

Formulas Usadas para Realização dos Cálculos

* matéria pré seca : $MPS = (\text{peso das fezes úmidas}) - (\text{peso das fezes pré secas}) \times 100$

* matéria seca : $\text{Umidade} = 100 - MS_{105^\circ C}$

* matéria seca total : $MST = (MS_{105^\circ C} / 100) \times (MPS / 100)$

Dados da formulas :

*Produção Fecal (PF)
*consumo da matéria seca (CMS)
*digestibilidade da matéria seca (DMS)

$$*PF = CMS \times (1 - DMS)$$

$$*CMS = PF / (1 - DMS)$$

$$*DMS = 1 - (PF / CMS)$$

$$*(\text{Digestibilidade da Matéria Seca}) \text{ DMS (\%)} = \frac{\text{MS Ingerida} - \text{MS Fecal}}{\text{MS Ingerida}} \times 100$$

Os cálculos de concentração do amido foram feitos direto nos aparelhos pelo software, tanto o aparelho Partica quanto o aparelho FTIV.

Para a análise estatística de quantificação do amido pela técnicas instrumentais Partica LA 950 Horiba®, e FTIV através do software proveniente da Varian Resolutions® 800 comparadas com a técnica referência (análise enzimática) num delineamento estatístico não paramétrico pelo método de Dunn ($p < 0,05$) para comparação de grupos no teste de Friedman ($p > 0,05$). Medianas iguais na coluna pelo teste de Kruskal-Wallis ($p > 0,05$).

Para a análise estatística de determinação do amido pela técnicas instrumentais Partica LA 950 Horiba®, e FTIV através do software proveniente da Varian Resolutions® 800 comparadas com a técnica referência (análise enzimática) num delineamento estatístico inteiramente casualizado com arranjo em parcelas subdivididas. As parcelas foram as dietas e as subparcelas foram as técnicas enzimática, Partica e FTIV com 5 repetições (animal) por tratamento.

Os dados encontrados foram submetidos a análise de variância, utilizando o pacote estatístico SAEG versão 9.0 (Sistema..., 2000) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% probabilidade do erro.

4 Resultado e Discursão

Tabela 3. Comparação de três técnicas sendo estas : Partica, FTIV e Análise Enzimática de quantificação do amido das dietas experimentais comparado com o amido calculado da dieta

Dieta \ Técnica	Enzimática	Partica	FTIV	Amido da dieta calculado
Dieta referência	37,5 b (31,2-45,4)	45,0 ab (40,5-50,1)	134,6 a (115,1-218,5)	44,94
Dieta com Substituição de 30% soja micronizada	49,4 ab (39,8-52,2)	49,0 b (36,0-58,3)	118,7 a (100,4-238,8)	34,37
Dieta com Substituição de 30% de plasma sanguíneo	36,5 b (33,7-41,8)	41,4 ab (40,5-56,0)	148,8 a (102,8-238,8)	31,46

Medianas seguidas de letras minúsculas distintas na linha representam diferença pelo método de Dunn ($p < 0,05$) para comparação de grupos no teste de Friedman ($p > 0,05$).

A concentração do amido determinada utilizando a técnica Partica se aproximou mais da calculada para as dietas utilizando dados da literatura.

A técnica de quantificação do amido pelo aparelho Partica foi similar a técnica enzimática estando ainda de acordo com o amido calculado na dieta, entretanto a técnica pelo aparelho FTIV foi diferente da técnica referência superestimando assim os dados de concentração do amido na dieta.

Não houve diferença estatística entre as técnicas avaliadas. Entretanto é visível que o valor da concentração de amido pela técnica do FTIV foi superestimada ou seja superior em relação a técnica pelo aparelho Partica e pelo método referência.

Mas dentro de cada dieta houve diferença estatística para as técnicas avaliadas, na dieta 1 apenas a técnica 2 foi similar a técnica 1, sendo então a técnica 3 diferente da técnica referência mas igual a técnica 2 estatisticamente.

Na dieta 2 todas as duas técnicas testadas 2 e 3 foram estatisticamente igual ao método referência, mas diferentes entre si.

Na dieta 3 a técnica 3 foi diferente estatisticamente do método referência, entretanto igual a técnica 2.

Na tabela 4 pode-se verificar a digestibilidade do amido por cada técnica e em cada dieta. Os resultados mostram que a técnica do Partica pode ser usada para avaliar a digestibilidade do amido na dieta 1 e na dieta 3 em relação a técnica enzimática, não

sendo recomendada neste caso para avaliação da digestibilidade do amido na dieta dois. No entanto a técnica do FTIV pode ser usada para avaliar a digestibilidade do amido na dieta dois e dieta três. Não sendo recomendada para avaliação da digestibilidade do amido na dieta 1 em relação a técnica referencia que é recomendada para analisar neste contexto todas as dietas.

Tabela 4. Digestibilidade do amido das dietas em percentagem

Dietas	Técnicas		
	Enzimática	Partica	FTIV
1	89,5aA	89,1Aa	80,3aB
2	84,0aA	80,4bA	85,5aA
3	85,6aA	83,3abA	85,8aA

CV=4,39%. Letras minúsculas distintas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5 Conclusão

A técnica do aparelho Partica foi similar ao método referência de para quantificação do amido nas dietas, e ainda foi similar a concentração do amido calculado da dieta.

A digestibilidade do amido pela técnica do FTIV foi similar a técnica enzimática, para a dieta 2 e 3 mostrando então que a técnica do FTIV foi melhor que a técnica do Partica podendo ser sugerida a substituir a técnica enzimática de quantificação do amido.

6 Referências Bibliográficas

ASP, N.G. Dietary carbohydrates: classification by chemistry and physiology. Food Chem, v.57, n.1, p.9-14, 1996.

CUNNIFF, P. (Ed.) *Official methods of analysis of AOAC International*, 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995, v.1.

ROSTAGNO, H. S.; et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa –UFV,2005 pags.141.

SILVA DJ. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária. 1981.166 p.

UFV/ SAEG. Sistema de análise estatísticas e genéticas. Versão 9.0.Viçosa, MG: 2000.

CAPITULO 4

(EXPERIMENTO PILOTO)

Validação do indicador NANOLIPE para estimativa de produção fecal em suínos

Resumo:

Avaliou-se a eficiência do NANOLIPE, fornecido uma vez ao dia, para suínos em crescimento com o objetivo de estimar a produção fecal (kg MS/dia). Utilizou-se 20 suínos machos castrados da linhagem comercial Agrocerec com idade inicial de 24 e final 35 dias com peso médio 9,9 kg. A dieta experimental foi a base de (milho, farelo de soja, açúcar, óleo de soja e concentrado comercial pré inicial). Os animais foram alojados em gaiolas suspensas metálicas providas de bebedouros, comedouros e uma tela como coletor de fezes por gaiola. Após um período de 7 dias de adaptação a dieta e 2 dias ao indicador, iniciou o período de coleta de fezes que foi realizado uma vez ao dia pela manhã com duração de 2 dias. O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado num esquema de parcelas subdivididas, sendo as parcelas os métodos (coleta total e NANOLIPE), e as sub parcelas os dias de coleta. Não houve interação entre métodos e dias de coleta, ou seja, os métodos apresentaram o mesmo comportamento ao longo dos dias. Não houve diferença entre os métodos coleta total e NANOLIPE, entretanto houve diferença ($P < 0,05$), quando se comparou um e dois dias de coleta. O indicador NANOLIPE pode ser usado na estimativa da produção fecal em suínos na fase de creche.

Palavras-chave: indicador, produção fecal, recuperação fecal

Validation of NANOLIPE as a marker of fecal output for pigs

ABSTRACT

The efficiency of NANOLIPE was evaluated in this study, when supplied once a day to growing pigs, to estimate fecal output (kg DM/day). 20 barrows of the commercial line Agroceres, from the days 24 to 35 of age, and average weight of 9,9 kg were used. The experimental diet was based on corn, soybean meal, sugar, soybean oil and pre-initial commercial concentrate). The animals were housed in suspended metal cages provided with drinkers, feeders and a mesh that worked as a collector of feces for each cage. After a period of 7 days of adaptation to the diet and 2 days to the indicator, the period of collection started. The collection of feces was performed once a day in the morning for two days. The statistical design was a completely randomized split-plot scheme, where the methods were the plots (Total Collection and NANOLIPE), and the collection days were the split-plots. No interaction between methods and collection days was detected. i.e. the methods have shown the same behavior throughout the days. There was no difference between the Total Collection and NANOLIPE methods, however significant differences ($P < 0,05$) were observed when comparing one and two days of collection. The indicator NANOLIPE can be used to estimate fecal output in nursery phase pigs.

Keywords: fecal output, fecal recovery, marker

4.1 Introdução

A alimentação é o componente de maior participação no custo de produção, exigindo uma atenção especial dos pesquisadores. Por isso o mercado de produção da carne suína pesquisa-se a todo tempo uma estratégia de diminuir gastos com ração desses animais e otimização desses alimentos que é um fator primordial na qualidade final da sua carcaça. A utilização racional dos alimentos evita o uso de nutrientes em excesso e, reduzindo a excreção destes no meio ambiente, melhorando a lucratividade, competitividade e sustentabilidade da atividade.

A técnica de determinação de digestibilidade pelo método de indicadores (internos ou externos) foi desenvolvida em função do inconveniente de se coletar o total de fezes excretada (Saliba, 1999). Por isso também tem-se buscado por novos indicadores, dentre estes os de nanopartículas que são definidos como aqueles que possuem diâmetro variando entre 0,1 nm a 100 nm; ou seja 100 µm a 100000 µm. Estas partículas apresentam propriedades diferentes devido ao tamanho peculiar. Dentre estas propriedades, ressaltamos aquelas relacionadas ao metabolismo e principalmente às ligadas a dispersão e homogeneização. Baseado no princípio de que nanopartículas possuem maior velocidade de dispersão, estas se misturarão mais rapidamente e de forma otimizada à digesta animal. Este trabalho teve como objetivo avaliar as nanopartículas fornecidas em dose única e apenas uma coleta de fezes comparando ao dado real da coleta total.

4.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Viçosa, Campus de Florestal localizada na cidade de Florestal. Utilizou-se 20 suínos machos castrados da linhagem comercial Agroceres com idade inicial de 24 e final 35 dias com peso médio 9,9 kg. A dieta experimental foi a base de (milho, farelo de soja, açúcar, óleo de soja e concentrado comercial pré inicial), formuladas de acordo com as recomendações de (Rostagno et al. 2005), conforme a (Tabela 1).

Tabela 1 Composição percentual da ração experimental.

Ingredientes	% de Inclusão
Milho	32%
Farelo de Soja	21%
Açúcar	5,0%
Óleo de Soja	2,0%
Concentrado Comercial Pré inicial*	40%

*Concentrado pré inicial por kg do produto: vit. A, 2.000.000 UI; vit. D₃, 300.000 UI; vit. E, 5.000 mg; vit K₃, 625 mg; vit. B₁, 250 mg; vit. B₂, 1.000 mg; vit. B₆, 500 mg; vit. B₁₂, 5.000 mcg; ácido nicotínico, 625 mg;; selênio, 125 mg; biotina, 12,5 mg; antioxidante, 30.000 mg; e veículo q.s.p., 1.000 g, ác. Pantotenico 2500mg; ac. Fólico 150mg; colina 60.000mg; vit. C 12.500mg; metionina 25.000mg; treonina 10.000mg; trip. 5000mg; selenio 125mg; iodo 200mg; cobalto 125mg; ferro 17.500mg; lisina 100.000mg; cobre 5000mg; manganés 10.000mg; zinco 20.000mg; tilosina 11.000mg; BHT 500mg .

Os animais foram alojados em gaiolas suspensa metálicas providas de bebedouros, comedouros e uma tela como coletor de fezes por gaiola. Após um período de 7 dias de adaptação a dieta e 2 dias ao indicador, iniciou o período de coleta de fezes que foi realizado uma vez ao dia pela manhã com duração de 2 dias. O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado num esquema de parcela subdividida, sendo as parcelas os métodos (coleta total e NANOLIPE), e nas sub-parcelas os dias de coleta.

A produção fecal (PF) estimada pelo NANOLIPE foi obtida pela seguinte equação:

$$PF = I/[I_f]$$

Onde:

PF (g/dia) = produção fecal diária;

I (g/dia) = dose diária de indicador oferecida;

I_f = concentração do indicador na matéria seca fecal (g/g).

As taxas de recuperação (TR) do indicador administrado aos animais durante todo o período foram obtidas a partir do NANOLIPE excretado total (NANOLIPE nas fezes x PF) dividido pela quantidade de NANOLIPE administrado a partir da relação:

$$TR = \frac{[\text{NANOLIPE excretado (NANOLIPE nas fezes (g/kg)*PF(kg))}]}{\text{NANOLIPE administrado 250 mg}}$$

A análise do NANOLIPE foi realizada no laboratório de química da UFMG pelo método de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (IVTF) segundo (Saliba, 2005a). As amostras dos alimentos e das fezes foram submetidas às

análises de matéria seca (MS), de acordo com metodologia descrita por (Silva, 1981). Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando o software sistema para Análises Estatísticas (SISVAR), segundo (Ferreira, 2007). O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado num esquema de parcelas subdivididas, sendo as parcelas os métodos de estimativa de produção fecal (coleta total e NANOLIPE), e as sub-parcelas os dias de coleta. Para comparação de médias entre tratamentos foi utilizado o teste Tukey a 5% de probabilidade do erro.

5 Resultados e Discussão

Não houve diferença estatística ($P>0,05$) entre produção fecal estimada pelo indicador NANOLIPE e pela coleta total (Tabela 2). Um período de adaptação de apenas um dia foi suficiente para estimar a produção fecal ao se utilizar o referido indicador. Provavelmente o tempo de homogeneização no trato digestivo dos animais foi mais rápido que os indicadores tradicionalmente utilizados devido ao tamanho de suas nano partículas.

Tabela 2 Comparação da produção fecal em gramas de matéria seca estimada pela coleta total e NANOLIPE em diferentes dias de coleta.

Métodos	1º Dia de Coleta	2º Dia de Coleta	Média
Coleta Total	234,52	361,46	302,73
NANOLIPE	227,94	377,52	297,99
Média	231,23 b	369,49 a	

CV=10,74%. Médias seguidas de letras distintas nas colunas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

6 Conclusão

O indicador NANOLIPE pode ser usado para estimar a produção fecal em suínos na fase de creche em aplicação única e coleta 24 horas após sua administração.

7 Referência Bibliográfica

ROSTAGNO, H. S.; et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa –UFV,2005 p.141.

SALIBA, E.O.S.; RODRÍGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C. et al. Estudo comparativo da lignina isolada da palha de milho, com outros indicadores em ensaios de

digestibilidade aparente. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36. 1999, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre: SBZ, 1999.

SALIBA, E.O.S. Mini-curso sobre o uso de indicadores. In: Teleconferência sobre indicadores em nutrição animal, 1., 2005, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Escola de Veterinária/UFMG, 2005a.p.23-35.

SILVA, D.J. Análise de alimentos (Métodos químicos e biológicos). Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1981. 166p.

FERREIRA, D. F. SISVAR 5.0 Sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 2007.

ANEXO A

Tabela 1. Quadro de análise de variância experimento 1

Fontes de Variação	GL
Total nas parcelas	14
Dietas	2
Erro (a)	12
Total nas sub parcelas	49
Sub parcelas	3
(indicadores e coleta total)	
Total nas parcelas	14
Dietas x Sub parcelas	3
Erro (b)	29

Tabela 2. Quadro de análise de variância experimento 2

FONTES DE VARIAÇÃO	GL
Total nas parcelas	14
Dietas	2
Erro (a)	12
Total nas subparcelas	44
Subparcelas (Partica, FTIV técnica enzimática)	2
Total nas parcelas	12
Dietas x Subparcelas	4
Erro (b)	26

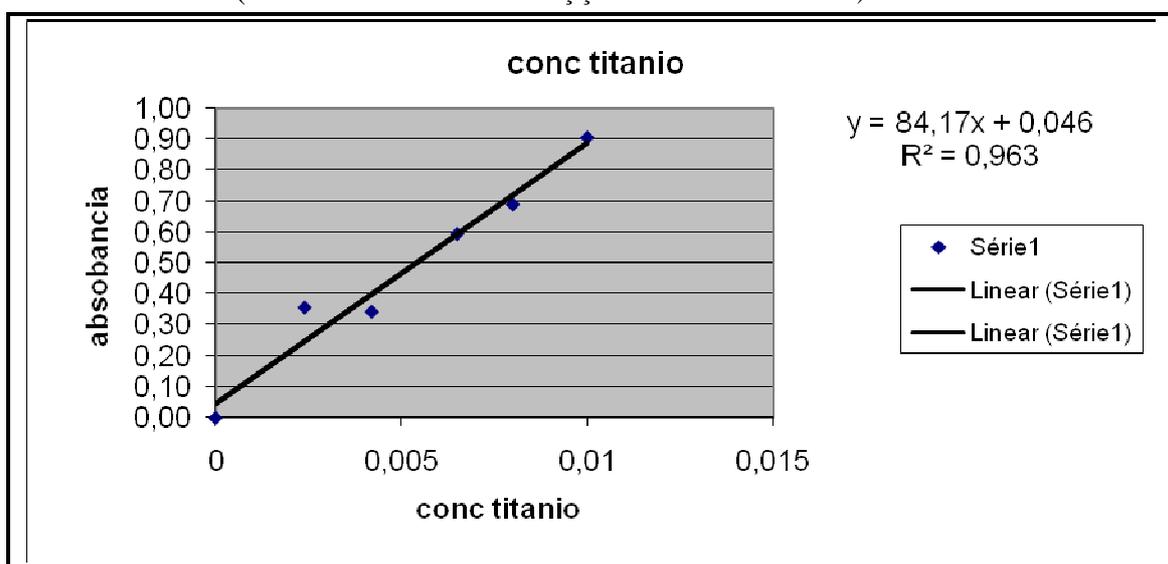
ANEXO B

Tabela 1. Composição bromatológica das fezes por animal/dieta

Animal	Dieta	MS	EE	FDN	MM	PB	EB cal/gr
2	1	93,9817	11,39	30,4	0,25	22,22	3922,7295
3	1	94,0243	10,93	30,7	0,26	19,22	3975,4022
11	1	93,1692	8,03	27,4	0,28	21,33	3952,9226
12	1	94,2319	9,18	17,5	0,77	22,42	4166,5559
13	1	93,5722	4,78	44,5	0,27	18,58	3611,2175
4	2	93,3773	7,83	24,9	0,28	24,78	4205,5018
5	2	92,7292	9,75	25,4	0,29	20,49	4179,2535
6	2	93,1064	10,33	26,7	0,26	21,13	4167,8596
14	2	90,3073	11,48	23,3	0,25	22,86	4136,6592
15	2	89,5511	10,48	25,2	0,28	23,04	4195,2595
1	3	91,0256	12,62	24,0	0,30	23,27	4977,2135
7	3	94,5492	14,09	22,5	0,28	21,12	3923,5874
8	3	92,4686	10,65	23,9	0,30	21,34	4063,2620
10	3	92,0112	13,16	24,6	0,30	22,00	4061,6381
19	3	91,5413	13,93	25,5	0,26	23,69	4472,7238

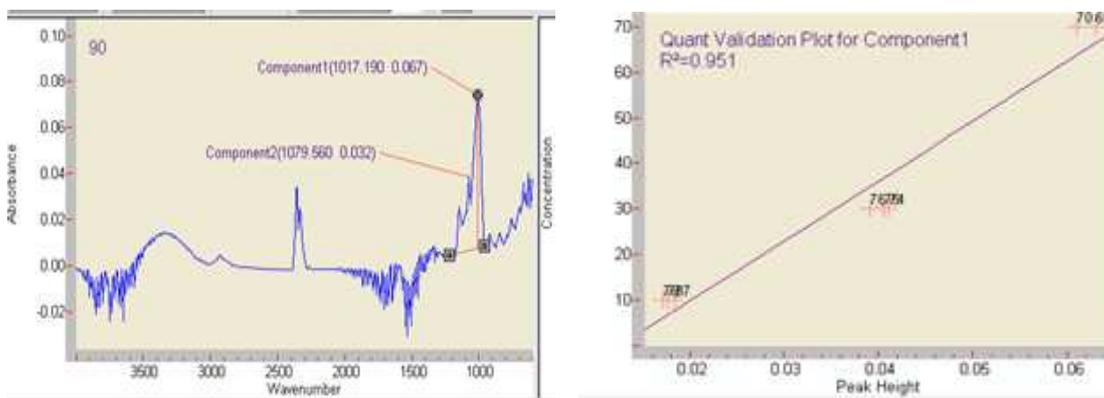
ANEXO C

Gráfico 1. Gráfico de concentração de titânio nas amostras analisadas de padrão, ração e fezes. (APENAS PARA VERIFICAÇÃO DE RESULTADOS)



Fonte: arquivo pessoal 17/02/2012

Gráfico 2. Gráfico do padrão de amido pelo FTIV /Gráfico 3. Curva do padrão de amido



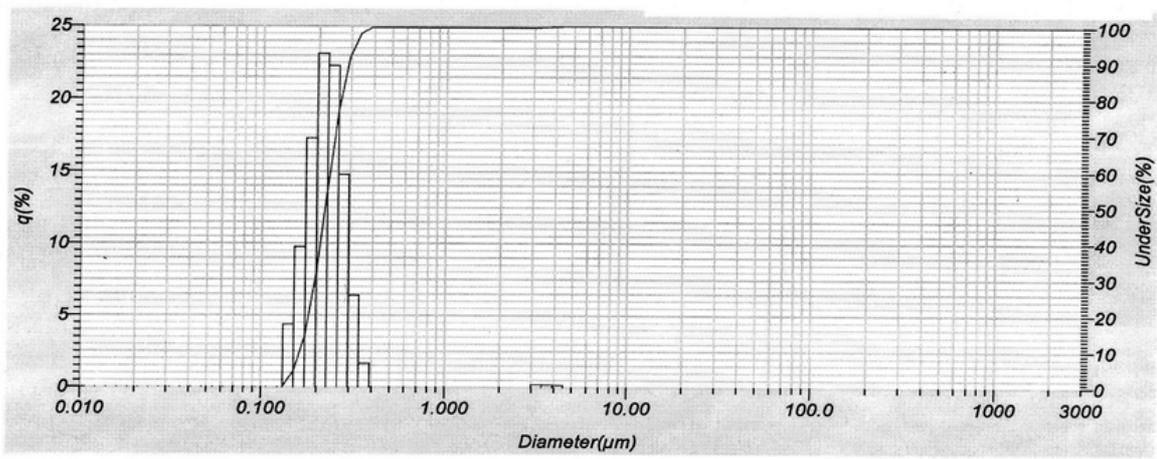
Fonte : arquivo pessoal 17/02/2012

Gráfico 4. Gráfico da concentração de amido das dietas pelo aparelho Partica LA Horiba® 950

HORIBA Laser Scattering Particle Size Distribution Analyzer LA-950

Sample Name : T2
 ID# : 201108301158614
 Data Name : 201108301158614
 Transmittance(R) : 100.3(%)
 Air : 0.3 MPa
 Feeder : Auto
 Form of Distribution : Auto
 Iteration Number : 15
 Distribution Base : Area
 Refractive Index (R) : STD-GLASSBEADS(STD-GLASSBEADS(1
 Material :
 Median Size : 0.21990(μm)
 Mean Size : 0.24162(μm)
 Std.Dev. : 0.2491(μm)
 Geo.Mean Size : 0.2222(μm)
 Geo.Std.Dev. : 1.3420(μm)
 Mode Size : 0.2141(μm)
 Span : OFF
 Diameter on Cumulative % : (2)10.00 (%) - 0.1626(μm)
 : (9)90.00 (%) - 0.2921(μm)

6,61% Amido



No.	Diameter(μm)	q(%)	UnderSize(%)	No.	Diameter(μm)	q(%)	UnderSize(%)	No.	Diameter(μm)	q(%)	UnderSize(%)	No.	Diameter(μm)	q(%)	UnderSize(%)
1	0.011	0.000	0.000	26	0.339	6.365	97.863	51	10.097	0.000	100.000	76	300.518	0.000	100.000
2	0.013	0.000	0.000	27	0.389	1.624	99.487	52	11.565	0.000	100.000	77	344.206	0.000	100.000
3	0.015	0.000	0.000	28	0.445	0.000	99.487	53	13.246	0.000	100.000	78	394.244	0.000	100.000
4	0.017	0.000	0.000	29	0.510	0.000	99.487	54	15.172	0.000	100.000	79	451.556	0.000	100.000
5	0.020	0.000	0.000	30	0.584	0.000	99.487	55	17.377	0.000	100.000	80	517.200	0.000	100.000
6	0.022	0.000	0.000	31	0.669	0.000	99.487	56	19.904	0.000	100.000	81	592.387	0.000	100.000
7	0.026	0.000	0.000	32	0.766	0.000	99.487	57	22.797	0.000	100.000	82	678.504	0.000	100.000
8	0.029	0.000	0.000	33	0.877	0.000	99.487	58	26.111	0.000	100.000	83	777.141	0.000	100.000
9	0.034	0.000	0.000	34	1.005	0.000	99.487	59	29.907	0.000	100.000	84	890.116	0.000	100.000
10	0.039	0.000	0.000	35	1.151	0.000	99.487	60	34.255	0.000	100.000	85	1019.515	0.000	100.000
11	0.044	0.000	0.000	36	1.318	0.000	99.487	61	39.234	0.000	100.000	86	1167.725	0.000	100.000
12	0.051	0.000	0.000	37	1.510	0.000	99.487	62	44.938	0.000	100.000	87	1337.481	0.000	100.000
13	0.058	0.000	0.000	38	1.729	0.000	99.487	63	51.471	0.000	100.000	88	1531.914	0.000	100.000
14	0.067	0.000	0.000	39	1.981	0.000	99.487	64	58.953	0.000	100.000	89	1754.613	0.000	100.000
15	0.076	0.000	0.000	40	2.269	0.000	99.487	65	67.523	0.000	100.000	90	2009.687	0.000	100.000
16	0.087	0.000	0.000	41	2.599	0.000	99.487	66	77.339	0.000	100.000	91	2301.841	0.000	100.000
17	0.100	0.000	0.000	42	2.976	0.000	99.487	67	88.583	0.000	100.000	92	2636.467	0.000	100.000
18	0.115	0.000	0.000	43	3.409	0.193	99.680	68	101.460	0.000	100.000	93	3000.000	0.000	100.000
19	0.131	0.000	0.000	44	3.905	0.176	99.856	69	116.210	0.000	100.000				
20	0.150	4.349	4.349	45	4.472	0.144	100.000	70	133.103	0.000	100.000				
21	0.172	9.739	14.088	46	5.122	0.000	100.000	71	152.453	0.000	100.000				
22	0.197	17.292	31.380	47	5.867	0.000	100.000	72	174.616	0.000	100.000				
23	0.226	23.112	54.492	48	6.720	0.000	100.000	73	200.000	0.000	100.000				
24	0.259	22.245	76.738	49	7.697	0.000	100.000	74	229.075	0.000	100.000				
25	0.296	14.760	91.498	50	8.816	0.000	100.000	75	262.376	0.000	100.000				