

Avaliação de Indicadores Internos em Ensaio de Digestibilidade

Telma Teresinha Berchielli¹, Pedro de Andrade², Claudia Lopes Furlan³

RESUMO - Foram determinadas as digestibilidades de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), energia bruta (EB) e nutrientes digestíveis totais (NDT), utilizando-se quatro indicadores internos (FDN - fibra detergente neutro, FDA - fibra detergente ácido, lignina e CIA - cinza insolúvel em ácido). Os três primeiros indicadores foram submetidos à digestibilidade *in vitro* por três e seis dias, e os resultados foram comparados com dados determinados por intermédio da coleta total de fezes. Verificou-se que a digestibilidade dos nutrientes, quando estimada por intermédio dos teores de FDN, FDA e lignina incubados durante seis dias, não diferiu significativamente da digestibilidade dos nutrientes determinada pela coleta total, enquanto os indicadores incubados durante três dias e a CIA subestimaram a digestibilidade, devido à baixa recuperação destes.

Palavras-chave: CIA, coleta total de fezes, FDA, FDN, lignina

Evaluation of Internal Markers in Digestibility Assay

ABSTRACT - The digestibilities of dry matter (DM), crude protein (CP), ether extract (EE), neutral detergent fiber (NDF), gross energy (GE) and total digestible nutrients (TDN) were determined by using four internal markers (acid detergent fiber - ADF and lignin and acid insoluble ash - AIA). The three first markers were submitted to *in vitro* disappearance for three and six days and the results were compared with data determined by total feces collection. The nutrient digestibility estimated by NDF, ADF and lignin incubated during six days did not differ from that using total feces collection, while the markers incubated during three days and AIA subestimated the digestibility of nutrients, due to their lower recovery.

Key Words: AIA, ADF, lignin, NDF, total collection of feces

Introdução

A avaliação do valor nutritivo dos alimentos consumidos pelos animais, em condições de pastejo ou confinados, tem sido um desafio para os nutricionistas. A digestibilidade é um dos parâmetros importantes para essa avaliação; entretanto, a determinação desta por intermédio do método tradicional de coleta total de fezes requer controle rigoroso da ingestão e excreção, o que o torna trabalhoso e oneroso. Isto levou à idealização de outros métodos nomeados de métodos indiretos dos indicadores ou dos marcadores (SILVA, 1990), os quais apresentam certas vantagens sobre o da coleta total de fezes, a exemplo da simplicidade e conveniência de utilização, e podem proporcionar uma série de informações, incluindo-se a quantidade ingerida de alimentos ou nutrientes específicos, a taxa de passagem da digesta por todo o trato digestivo e a digestibilidade de todo alimento ou nutrientes específicos.

A digestibilidade *in vivo* é influenciada por efei-

tos associativos, nível de consumo, taxa de passagem e interações destes fatores; por isso, freqüentemente é difícil imitar essas condições *in vitro* (COCHRAN et al., 1986). Nessas condições, a estimativa da digestibilidade por intermédio de indicadores pode ser desejável (VAN SOEST, 1994). Constituintes naturais da dieta que apresentam baixa digestibilidade têm sido utilizados como indicadores. Os indicadores internos apresentam a vantagem de já estarem presentes no alimento e, de modo geral, permanecerem uniformemente distribuídos na digesta durante o processo de digestão e excreção (PIAGGIO et al., 1991).

Substâncias que estão sendo avaliadas como indicadores internos são os componentes da parede celular, como fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) indigestíveis (PENNING e JOHNSON, 1983b; SIDONS et al., 1985; COCHRAN et al., 1986; LIPPKE et al., 1986; KRYSL et al., 1988; NELSON et al., 1990; e RESENDE et al., 1996), ressaltando-se, porém, a necessidade de maiores informações. Quanto ao uso da lignina em detergente

¹ Professor do Departamento de Zootecnia - FCAV - UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane - Km 5 - Jaboticabal, SP. Pesquisador do CNPq. E-mail: ttberchi@fcav.unesp.br

² Professor da FCAV - UNESP, Jaboticabal.

³ Bolsista de Aperfeiçoamento da FAPESP.

ácido (LDA), recuperações positivas e incompletas foram reportadas por MUNTIFERING (1982) e FAHEY e JUNG (1983).

Foram encontrados resultados satisfatórios de CIA (cinza insolúvel em ácido) por SKRIVAN (1980), BLOCK e KIMEL (1981), VALDERRABANO (1982), TANIGUCHI et al. (1986) e FONTES et al. (1996). Entretanto, OLIVEIRA et al. (1991), PIAGGIO et al. (1991) e RESENDE et al. (1996) não obtiveram bons resultados com o emprego do CIA e, por conseguinte, não apresentaram comportamento aceitável como indicador de digestibilidade.

Em virtude das razões supracitadas, a procura de indicadores ideais constitui-se em um dos assuntos de grande interesse na pesquisa de técnicas que facilitem os estudos de nutrição animal. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar indicadores internos (FDN, FDA e lignina), incubados *in vitro* durante três e seis dias, e também a CIA (ácido clorídrico 2N), para estimar a digestibilidade de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e energia bruta (EB).

Material e Métodos

Foram utilizados oito bovinos machos, cruzados (Zebu x Holandês), com peso vivo médio de 228 kg, alojados em baias individuais durante 21 dias, sendo 14 dias de adaptação e sete dias de coleta total de fezes.

As rações concentradas foram compostas de 29% de milho e 16% de farelo de soja, totalizando 45% da dieta. O restante (55%) era composto de silagem de milho ou de híbrido de milho-FO-capineira. A composição média das dietas incubadas *in vitro*, quando se utilizou a silagem de milho, foi de 91,89; 17,09; 3,20; 3,57%; e 4,41 Mcal para MS, PB, EE, MM e EB, respectivamente, e quando utilizada a FO-capineira, 92,03; 16,02; 2,26; 3,74%; e 4,45 Mcal, para os mesmos nutrientes analisados para silagem de milho, respectivamente.

Durante a fase de coleta, foi retirada diariamente uma amostra do alimento do volume total oferecido e de 5% das fezes excretadas no período de 24 horas. As amostras foram congeladas até o término do período experimental e, em seguida, submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar a 60°C, durante 48 horas, sendo, posteriormente, moídas em peneiras de 2 mm, retirando-se uma subamostra para análise dos nutrientes (MS, PB, EE, MM e EB), conforme ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS - AOAC (1975), e da

CIA, segundo VAN KEULEN e YOUNG, 1977, e para incubações *in vitro*, para determinação da FDN, FDA e lignina indigestível, segundo COCHRAN et al. (1986), variando-se o tempo de incubação (três e seis dias).

O delineamento estatístico utilizado foi o de blocos ao acaso com parcelas subdivididas. Os tratamentos da parcela principal foram os sistemas de formulação de rações, AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC (1993) e CNCPS (FOX et al., 1990), e silagens (FO-capineira e milho), e os das subparcelas, os indicadores internos (FDN, FDA, e lignina), determinados três e seis dias após incubação *in vitro* e CIA. A partir destes resultados, estimou-se a digestibilidade da MS, PB, EE, FDN, EB e NDT. Os resultados foram comparados com os obtidos por meio da coleta total de fezes e analisados pela análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey, por intermédio do programa ANOVA do Statistical Analysis Systems (SAS, 1990).

Resultados e Discussão

A porcentagem dos indicadores na matéria seca das dietas incubadas encontra-se na Tabela 1.

Quanto aos tratamentos da parcela principal, e silagens (FO-capineira e milho), os sistemas AFRC (1993) e CNCPS (FOX et al., 1990) não apresentaram diferença significativa para a digestibilidade dos

Tabela 1 - Porcentagem dos indicadores na MS das dietas
Table 1 - Percentage of markers in the DM of the diet

Indicadores Markers	Dietas (% total) Diets (% total)	
	Silagem de milho Corn silage	FO - capineira FO - cutting
FDN (3 dias) NDF (3 days)	17,77	24,61
FDA (3 dias) ADF (3 days)	14,26	18,76
Lignina (3 dias) Lignin (3 days)	5,09	7,02
FDN (6 dias) NDF (6 days)	15,31	17,88
FDA (6 dias) ADF (6 days)	12,24	13,93
Lignina (6 dias) Lignin (6 days)	4,67	4,74
CIA AIA	1,16	1,15

nutrientes. Portanto, os resultados obtidos de digestibilidade dos nutrientes estimados pela coleta total de fezes, assim como por intermédio dos indicadores internos utilizados, são as médias obtidas dos quatro tratamentos e encontram-se na Tabela 2.

Os indicadores apresentaram diferenças significativas a 1% na análise de variância. Observou-se que não houve diferença significativa pelo teste Tukey ($P>0,05$), quando comparada à digestibilidade de MS, PB, EE, FDN, EB e NDT entre as coletas totais de fezes, FDN, FDA e lignina incubadas *in vitro* por seis dias. Estes indicadores diferenciaram-se da lignina, quando incubados durante três dias. Isto demonstra a ocorrência de grande diferença nas digestibilidades dos nutrientes, quando incubados durante tempo menor, principalmente para a MS, não reproduzindo realmente a fração indigestível do indicador, pois, com tempo maior de incubação, há reprodução real da digestibilidade no trato digestivo inferior, o que concorda com VAN SOEST (1994), o qual relata que indicadores internos necessitam de maiores tempos de incubação.

Os piores resultados foram obtidos para FDA e

lignina, quando incubados durante três dias, assim como os valores de digestibilidade calculados a partir da CIA.

Os resultados obtidos neste trabalho são semelhantes aos relatados por PENNING e JOHNSON (1983a) e COCHRAN et al. (1986), quanto à FDN, FDA e lignina incubados *in vitro* durante seis dias. A baixa porcentagem de CIA na MS do alimento, de no máximo 1,16%, possivelmente foi a responsável pelos resultados indesejáveis obtidos, os quais demonstraram sua ineficiência como indicador, subestimando a digestibilidade, pois, segundo SHERROD et al. (1988), a CIA é um indicador adequado, quando sua participação na MS da ração é superior a 3%, fato também relatado por SEIN e TODD (1988). Outros autores (PENNING e JOHNSON, 1983b; PIAGGIO et al., 1991) também apresentaram alta variabilidade dos resultados, talvez em função de contaminação com areia como relatado por PIAGGIO et al. (1991), embora existem autores que obtiveram bons resultados, como VAN KEULEN e YOUNG (1977) e TANIGUCHI et al. (1986).

Tabela 2 - Digestibilidade da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN), energia bruta (EB), extrativos não-nitrogenados (ENN) e nutrientes digestíveis totais

Table 2 - Dry matter (DM) digestibility, crude protein (CP), ether extract (EE), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), crude energy (CE), nitrogen free extract (NFE) and total digestible nutrients (TDN)

Indicadores Markers	Digestibilidade (%) Digestibility					
	MS DM	PB CP	EE EE	FDN NDF	EB GE	NDT TDN
Coleta total de fezes <i>Total feces collection</i>	62,7 ^a	72,3 ^{ab}	82,6 ^{ab}	46,9 ^{abc}	62,3 ^{ab}	64,6 ^{ab}
FDN (3 dias) <i>NDF (3 days)</i>	58,6 ^{bc}	70,3 ^{bc}	81,0 ^{bc}	43,5 ^{bc}	59,4 ^{bc}	61,6 ^{bc}
FDA (3 dias) <i>ADF (3 days)</i>	57,4 ^c	69,4 ^c	80,4 ^c	41,2 ^c	57,9 ^c	60,5 ^c
Lignina (3 dias) <i>Lignin (3 days)</i>	50,4 ^d	64,5 ^d	77,3 ^d	31,2 ^d	51,0 ^d	54,1 ^d
FDN (6 dias) <i>NDF (6 days)</i>	65,0 ^a	74,7 ^a	83,9 ^a	51,1 ^a	65,4 ^a	67,5 ^a
FDA (6 dias) <i>ADF (6 days)</i>	62,3 ^{ab}	72,4 ^{ab}	82,7 ^{ab}	47,0 ^{abc}	62,7 ^{ab}	65,0 ^{ab}
Lignina (6 dias) <i>Lignin (6 days)</i>	62,8 ^a	72,7 ^{ab}	82,9 ^{ab}	47,5 ^{ab}	63,2 ^{ab}	65,1 ^{ab}
CIA <i>AIA</i>	50,3 ^d	63,9 ^d	77,3 ^d	30,2 ^d	50,9 ^d	54,0 ^d
CV (%)	6,1	3,8	2,2	12,6	6,0	5,3

Médias, na coluna, seguidas de letras diferentes diferem ($P<0,05$) pelo teste Tukey.
Means, within a column, followed by different letters differ ($P<0,05$) by test Tukey.

Conclusões

Os indicadores internos (FDN, FDA e lignina) apresentaram resultados semelhantes, na estimativa da digestibilidade, aos da coleta total de fezes, quando incubados durante seis dias (144 horas), podendo-se concluir que estes reproduzem realmente a fração indigestível de um indicador.

Referências Bibliográficas

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. 1993. Energy and protein requirements of ruminants. Wallingford: Commonwealth Agricultural Bureaux International. 159p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. 1975. Official methods of analysis. 12.ed. Washington, D.C.: Association of Analytical Chemistry. 1094p.
- BLOCK, E., KILMEL, M.L.D. 1981. Acid insoluble ash as a marker of digestibility for sheep fed corn plants or hay and for lactating dairy cattle fed hay "ad libitum". *J. Anim. Sci.*, 52(4):1164-1169.
- COCHRAN, R.C., ADAMS, D.C., WALLACE, J.D. et al. 1986. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. *J. Anim. Sci.*, 63(5):1476-1483.
- FAHEY, G.C., JUNG, H.G. 1983. Lignin as a marker in digestion studies - a review. *J. Anim. Sci.*, 57(1):220-225.
- FONTES, C.A.A., OLIVEIRA, M.A.T., LANA, R.P. 1996. Avaliação de indicadores na determinação da digestibilidade em novilhos. *R. Soc. Bras. Zootec.*, 25(3):529-539.
- FOX, D.G., SNIFFEN, C.J., O'CONNOR, J.D. et al. 1990. *The Cornell net Carbohydrate and Protein System for Evaluating Diets. Part I - A system for predicting cattle requirements and feedstuff utilization*. Search: Agriculture. Ithaca, NY: Cornell Univ. Agric. Exp. Sta. n.34. 128p.
- KRYSL, L.J., GALYEAN, M.L., ESTELL, R.E. et al. 1988. Estimating digestibility and faecal output in lambs using internal and external markers. *J. Agric. Sci.*, 111(1):19-25.
- LIPPKE, H., ELLIS, W.C., JACOBS, B.F. 1986. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. *J. Dairy Sci.*, 69(2):403-412.
- MUNTIFERING, R.B. 1982. Evaluation of various lignin assays for determining ruminal digestion of roughages by lambs. *J. Anim. Sci.*, 55(2):432-438.
- NELSON, M.L., MOTJOPE, L., FINLEY, J.W. et al. 1990. Ash free indigestible acid detergent fiber as an internal marker to estimate digestibility wither grazing ruminants. *J. Range Manag.*, 43(3):224-229.
- OLIVEIRA, R.F.M., FONTES, C.A.A., SILVA, J.F.C. 1991. Estudo da recuperação fecal do Cr₂O₃ e dos indicadores internos CIA, CIDA e lignina em períodos de coleta de dois a sete dias, em bovinos. *R. Soc. Bras. Zootec.*, 20(5):522-531.
- PENNING, P.D., JOHNSON, R.H. 1983a. The use of internal markers to estimate herbage digestibility and intake. 1. Potentially indigestible cellulose and acid insoluble ash. *J. Agric. Sci.*, 100(1):127-131.
- PENNING, P.D., JOHNSON, R.H. 1983b. The use of internal markers to estimate herbage digestibility and intake. 2. Indigestible acid insoluble fibre. *J. Agric. Sci.*, 100(1):133-138.
- PIAGGIO, L.M., PRATES, E.R., PIRES, F.F. et al. 1991. Avaliação de cinzas insolúveis em ácidos indigestíveis e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. *R. Soc. Bras. Zootec.*, 20(3):306-312.
- RESENDE, K.T., FURLAN, C.L., COSTA, R.G. et al. 1996. Utilização do colágeno cromatado como indicador em estudos de digestão com caprinos. *R. Soc. Bras. Zootec.*, 25(4):806-813.
- SEIN, T., TODD, J.R. 1988. Investigation into the use of indicator methods of estimating the digestibilities of feeds by ruminant animals. *J. Agric. Sci.*, 110(2):315-320.
- SHERROD, L.B., SUMMERS, C.B., ALBIN, R.C. et al. 1988. ADF Insoluble ash, HCl Insoluble ash, and lignin as indicator for determining ruminant digestibility. Texas: Beef Research report, (Teach. Univ. Publication, T-5-135).
- SIDDONS, R.C., PARADINE, J., BEEVER, D.E. et al. 1985. Ytterbium acetate as a particulate-phase digesta - Flow Marker. *Br. J. Nutr.*, 54(2):509-519.
- SILVA, D.J. 1990. *Análise de alimentos (Métodos químicos e biológicos)*. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, Imprensa Universitária. 165p.
- SKRIVAN, M. 1980. Estimation of digestibility by the indicator method with ash insoluble in HCl. *Nutr. Abstr. Rev. Série B.*, 50(6):233.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS INSTITUTE, Inc. 1990. SAS user's guide: Statistics Version, 1990. SAS, Cary, N.C.
- TANIGUCHI, K., YAMATANI, Y., OTANI, I. 1986. Acid insoluble ash as indicator for determining the feed consumption and the digestibility in the lactating dairy cow. *Jap. J. Zootec. Sci.*, 57(5):438-441.
- VALDERRABANO, J. 1982. Evaluation of acid insoluble ash as an internal marker in digestibility studies. *Nutr. Abstr. Rev., Série B.*, 52(2):64. (Abstract, 535).
- VAN KEULEN, J., YOUNG, BA. 1977. Evaluation of Acid insoluble ash as a natural markers in ruminant digestibility studies. *J. Anim. Sci.*, 44(2):282-287.
- VAN SOEST, P.J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminants*. Corvallis, Oregon, O&B. Books. 476p.

Recebido em: 12/11/98

Aceito em: 13/10/99