

## CONSIDERAÇÕES SOBRE OS PRINCIPAIS INDICADORES UTILIZADOS EM ESTUDOS DE NUTRIÇÃO COM RUMINANTES

Telma Teresinha Berchielli  
Simone Gisele de Oliveira  
Antonio de Vega Garcia

BERCHIELLI<sup>1</sup>, T.T.; OLIVEIRA<sup>2</sup>, S.G.; GARCIA<sup>3</sup>, A.V. Considerações sobre os principais indicadores utilizados em estudos de nutrição com ruminantes. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 8(2): p. 205-211, 2005.

**RESUMO:** Em estudos de metabolismo animal, muitas vezes, não é possível obter de forma direta a informação desejada, sendo necessário o uso de substâncias denominadas indicadores, possibilitando a estimativa de determinados parâmetros fisiológicos e nutricionais. Os indicadores são divididos em internos, representados por substâncias indigestíveis presentes naturalmente na dieta, ou externos, quando adicionados à dieta ou fornecidos via oral ou ruminal aos animais. Para que uma substância possa ser utilizada como indicador, deve atender a determinados critérios, sendo vários os problemas associados ao seu uso, especialmente a incompleta recuperação do indicador no duodeno ou fezes. Cada grupo de indicadores possui suas características próprias, definindo em que situação ele melhor se aplica. O óxido crômico é o indicador externo mais amplamente difundido, apresentando uma grande amplitude de aplicações, associada ainda às vantagens de fácil utilização e baixo custo. Entre os indicadores internos, a utilização da porção da fibra indigestível dos alimentos vem se destacando pela facilidade de uso e bons resultados apresentados pela literatura. A utilização dos n-alcenos, sobretudo em estimativa de consumo de animais em regime de pastejo, tem apresentado resultados bastante satisfatórios. No momento da escolha, devem ser estabelecidos critérios, como facilidade de uso e determinação, que norteiem a decisão pelo indicador que melhor se adapte aos parâmetros a ser avaliados.

**PALAVRAS-CHAVE:** Indicadores, metabolismo animal, metodologia, nutrição

### CONSIDERATIONS ON THE MAIN MARKERS USED IN NUTRITION STUDIES WITH RUMINANTS

BERCHIELLI<sup>1</sup>, T.T.; OLIVEIRA<sup>2</sup>, S.G.; GARCIA<sup>3</sup>, A.V. Considerations on the main markers used in nutrition studies with ruminants. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 8(2): p. 205-211, 2005.

**ABSTRACT:** In animal metabolism studies, sometimes it's not possible to obtain the desired information in a direct way, and therefore it is necessary to make use of substances designated as markers, which allow the estimative of determined physiological and nutritional parameters. The markers are grouped into internal, which are represented by indigestible materials occurring naturally on a diet, and external markers, which are materials that are either added to the diet or administered orally or intraruminally to the animal. However, in order to be used as a marker, a substance must comply with some essential criteria. There are several problems associated to the use of markers, specially their incomplete recovery in the duodenum or faeces. Each group of markers has its own characteristics, which will define its application. Chromium oxide is the most extensively used external marker, presenting a great wide application, especially because it is easy to use and its cost is low. Among the internal markers, the use of the indigestible fibre portion of the foods is recommended for its facility to use and has demonstrated reliable and accurate values in several studies. The use of n-alkanes, especially for the intake estimation in grazing animals, has provided quite satisfactory values. Several criteria, like the facility to use and determination must be established to guide the decision by the marker which better adapts to the parameters that will be assessed.

**KEYWORDS:** Markers, animal metabolism, methodology, nutrition

### CONSIDERACIONES ACERCA DE LOS PRINCIPALES INDICADORES UTILIZADOS EN ESTUDIOS DE NUTRICIÓN CON RUMIANTES

BERCHIELLI<sup>1</sup>, T.T.; OLIVEIRA<sup>2</sup>, S.G.; GARCIA<sup>3</sup>, A.V. Consideraciones acerca de los principales indicadores utilizados en estudios de nutrición con rumiantes. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 8(2): p. 205-211, 2005.

**RESUMEN:** En estudios de metabolismo animal, muchas veces no es posible obtener de forma directa la información deseada, debiéndose entonces, hacer uso de sustancias denominadas indicadores, haciendo posible con eso la estimación de determinados parámetros fisiológicos y nutricionales. Los indicadores son divididos en internos y externos, existiendo una gran variedad de indicadores que deben ser escogidos de acuerdo con la respuesta a ser encontrada. Por tanto, para que una

<sup>1</sup> Professora do Departamento de Zootecnia - FCAV/UNESP - 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. Pesquisadora do CNPq, tberchi@fcav.unesp.br

<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Zootecnia, FCAV/UNESP - Jaboticabal, SP

<sup>3</sup> Professor da Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza - Zaragoza - Espanha

sustancia pueda ser utilizada como indicador, ella debe atender a determinados criterios básicos. Diversos son los problemas asociados al uso de indicadores, especialmente su incompleta recuperación en el duodeno o heces. Cada grupo de indicadores posee sus propias características, definiéndose en que situación se aplica mejor. El óxido de cromo es el indicador externo mas ampliamente difundido, presentando una grande amplitud de aplicaciones, asociado además a las ventajas de fácil uso y bajo costo. Entre los indicadores internos, la utilización de la porción de la fibra indigestible de los alimentos fue destacada por la facilidad de uso y de buenos resultados presentados por la literatura. La utilización de n-alcanos, sobre todo en estimaciones de consumo de alimento de animales en régimen de pastoreo presentó resultados bastante satisfactorios. En el momento de elegir el indicador para ser utilizado, deben ser establecidos criterios que norteen la decisión por el indicador que mejor se adecue a los parámetros evaluados y a sus facilidades de uso y determinación.

**PALABRAS-CLAVE:** Indicadores, metabolismo animal, metodología, nutrición

### Introdução

Indicadores são substâncias indigestíveis, normalmente de fácil determinação, podendo ser administradas com o alimento ou diretamente em algum segmento do aparelho digestório, sendo posteriormente identificados e quantificados nas fezes ou ao final do segmento em estudo (WARNER, 1981). Logo, indicador é o termo utilizado para denominar materiais usados na estimativa qualitativa ou quantitativa de fenômenos fisiológicos ou nutricionais relacionados à digestão. Um indicador, portanto, é um composto usado como monitor químico (hidrólise e síntese) e físico (fluxo) de aspectos de digestão e/ou metabólitos (OWENS & HANSON, 1992). Indicadores possuem grande aplicação nos estudos das taxas de passagem de líquidos e sólidos, consumo voluntário, produção fecal e digestibilidade de alimentos em animais em pastejo ou confinados (CURRAN *et al.*, 1976; OLUBAJO & OYUNUGA, 1970, AROEIRA, 1997, MOORE & SOLLENBERGER, 1997; SALIBA, 1998).

De acordo com GRACE & BODY (1981); MAYES *et al.* (1986); OWENS & HANSON (1992); HUHTANEN *et al.* (1995) e SALIBA (1998), um indicador ideal deve possuir algumas propriedades fundamentais, sendo as principais não ser tóxico, não ter função fisiológica, não ser metabolizado, ser completamente recuperável a partir do aparelho digestório e não ter influência sobre motilidade e secreções intestinais.

Os indicadores podem ser classificados como internos, representados por substâncias indigestíveis presentes naturalmente em algum componente da dieta, ou externos, quando adicionados à dieta ou fornecidos via oral ou ruminal aos animais. Podem ser divididos em indicadores de fase líquida, ao se movimentarem na mesma velocidade que a fase líquida, e indicadores de fase sólida, quando transitam com as partículas sólidas do conteúdo digestivo.

O objetivo desta revisão é traçar algumas considerações sobre os principais indicadores utilizados em estudos com animais, abrangendo suas propriedades e implicações, no intuito de fornecer subsídios para melhor utilização.

### Indicadores de fase sólida

#### Indicadores externos

##### Óxido crômico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ )

O seu emprego é bastante difundido e tem sido o indicador mais amplamente utilizado para a estimativa da produção fecal, principalmente em ensaios de pastejo (ASTIGARRAGA, 1997), pois permite, ainda, a estimativa do consumo de forragem por meio da relação entre a produção

fecal e a indigestibilidade da dieta. O óxido crômico também possibilita estimar fluxo de matéria seca e matéria orgânica no aparelho digestório para posteriores inferências sobre o fluxo de proteína microbiana no duodeno, assim como sobre a partição da digestão dos nutrientes da dieta (VAN VUUREN *et al.*, 1999; BURGER *et al.*, 2000; FREGADOLLI, 2000). Suas vantagens residem no fato de não ser oneroso e na facilidade de incorporação à dieta e análise (LIMA *et al.*, 1980; MERCHEN, 1988), somado à acurácia e precisão da técnica (PRIGGE *et al.*, 1981; PEREIRA *et al.*, 1983).

A metodologia de determinação do óxido crômico, denominada infusão contínua, pressupõe o alcance de um estado de estabilidade de fluxo, denominado estado constante. Essa concepção acaba tornando-se extremamente teórica, uma vez que grandes variações são observadas no modelo diário de excreção fecal do óxido crômico (COELHO SILVA & LEÃO, 1979; HOPPER *et al.*, 1978; PRIGGE *et al.*, 1981). Em condições de pastejo, devido ao comportamento de distribuição temporal irregular de alimentação, o estado constante pode não ser atingido, levando à ampliação do erro na determinação da excreção fecal (OWENS & HANSON, 1992).

Vários problemas têm sido relatados na literatura, com relação ao uso do óxido crômico, como incompleta homogeneização na digesta ruminal (COELHO SILVA & LEÃO, 1979), passagem mais rápida pelo rúmen que o material fibroso, possibilidade de acúmulo em algum segmento do aparelho digestório e variação diurna nas concentrações fecais (VAN SOEST, 1994).

Recentemente, o cromo tem sido utilizado na forma de dicromato ligado à parede celular, complexo determinado de cromo mordente (UDÉN *et al.*, 1980; VAN SOEST, 1994). A técnica de utilização, conhecida como dose pulso, é amplamente empregada em estudos de cinética de trânsito, e consiste na aplicação de uma única dose e subsequente amostragem fecal em tempos definidos. Isso possibilita caracterizar a curva de excreção do indicador nas fezes (BURNS *et al.*, 1994) e, posteriormente, o ajuste por meio de modelos matemáticos não lineares. RUIZ *et al.* (2001), em estudo com avaliação do cromo mordente, relata que o indicador estimou, com 96% de confiabilidade, os resultados referentes à ingestão de matéria seca.

A técnica de WILLIAMS *et al.* (1962), para determinação de cromo nas fezes, envolve diversas etapas de extrações químicas, implicando gasto de tempo e reagentes e aumento no erro analítico, conforme relatado por OLIVEIRA Jr. *et al.* (2004). SAVASTANO (1993), descreve uma marcha analítica para digestão nitroperclórica de cromo, no entanto o fato de o cromo ser oriundo do óxido crômico

ou do dicromato oferece certos problemas analíticos. Por colorimetria, a própria técnica admite a necessidade de manter a mesma concentração molar de ácido sulfúrico para não alterar a absorvância da amostra, aumentando o grau de dificuldade e reduzindo a repetibilidade dos resultados. Segundo SAVASTANO (1993), a técnica de absorção atômica, aparentemente mais confiável, pode dar resultados diferentes conforme o preparo da amostra e a chama utilizada (reduzora ou oxidante).

NASCIMENTO FILHO (1999) descreve a possibilidade da utilização da técnica analítica nuclear de fluorescência de raio X com dispersão de energia (EDXRF), que tem sido utilizada para avaliação qualitativa e quantitativa da composição química em vários tipos de amostras. Dados encontrados por OLIVEIRA Jr. *et al.* (2004) demonstram resultados satisfatórios com o emprego dessa técnica na análise do indicador. Recentemente, CARRILHO *et al.* (2003) realizaram a decomposição de amostras via bomba de oxigênio para a determinação de cromo e relataram que o procedimento é rápido, e emprega pequenas quantidades de reagentes, reduzindo custos e descarte de resíduos indesejáveis.

#### **Lantanídeos (terras raras)**

Esses indicadores são usados principalmente para estimativas de trânsito ou fluxo, marcando a fase sólida, ou a fase líquida. ELLIS (1968) relata inúmeras propriedades das terras raras, e sugere vantagens no seu uso como indicador. Esses elementos têm afinidade pela parede celular das plantas e são empregados no estudo da taxa de passagem da digesta em ruminantes, sendo consideradas adequados indicadores de fluxo de resíduos indigestíveis (ELLIS *et al.*, 2002). O itérbio (Yb) vem sendo um dos mais utilizados (COLEMAN, 1979; SALIBA, 1998). Entretanto, CROOKER *et al.* (1982) observaram solubilização do itérbio sob condições ácidas do abomaso. Segundo OWENS & HANSON (1992), ocorre variação diurna na concentração de indicador, porém a concentração fecal de itérbio tem sido constante durante 24 horas de amostragem, representando uma vantagem na sua utilização.

A disponibilidade do método de análise, freqüentemente, dita se o indicador será utilizado, sendo os resultados dependentes do método de análise empregado (SALIBA, 1998). A Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) é o procedimento tipicamente empregado para determinar baixas concentrações de metais, portanto é a técnica utilizada para dosar Yb nas fezes de animais. Sabe-se que essa técnica é satisfatória, sendo o uso do Yb recomendado por PRIGGE *et al.* (1981) e BERCHIELLI *et al.* (1998).

#### **Indicadores internos**

Os indicadores internos são compostos indigestíveis dos alimentos, representados geralmente por uma fração da parede celular, e não requerem preparação especial (BERCHIELLI *et al.* 1998; SALIBA, 1998). Os indicadores internos apresentam vantagem por já estarem presentes no alimento e, de modo geral, permanecerem distribuídos na digesta durante o processo de digestão e excreção (PIAGGIO *et al.*, 1991).

#### **Cinzas insolúveis em detergente ácido (CIA)**

Resultados positivos para o uso desse indicador foram encontrados por vários autores (SKRIVAN, 1980; BLOCK & KILMEL, 1981; VALDERRABANO, 1981; SEIN & TODD, 1988; BERGERO *et al.*, 2002). No entanto SHERROD *et al.* (1978) citam que o uso da CIA somente será adequado, quando sua participação na matéria seca da ração for superior a 3%, em contraste com THONEY *et al.* (1979), que encontraram semelhança entre o método da coleta total de fezes e seu valor estimado pela CIA, esta última variando de 0,33 a 0,74% da matéria seca da dieta. THONEY *et al.* (1985) concluíram que, se a dieta apresentar 0,75% ou mais da CIA na matéria seca, seu uso é seguro.

SEIN & TODD (1988) compararam os métodos de CIA e de lignina em detergente ácido com o método da coleta total de fezes, na estimativa dos coeficientes de digestibilidade em ovinos alimentados com várias dietas. Esses autores verificaram que, somente em dois dos dezessete ensaios de digestibilidade realizados, os resultados obtidos pelo método da CIA diferiram daqueles obtidos pelo método da coleta total.

A recuperação fecal dos indicadores CIA e óxido crômico em novilhos alimentados com rações contendo 30 ou 50% de concentrado, foi relatada por FONTES *et al.* (1996). Os autores observaram valores médios de recuperação de CIA próximos de 100%, independentemente do teor de concentrado na dieta, com o máximo de 105,1 e o mínimo de 102,4%. Os teores de CIA nas rações foram de 2,7 e 1,1 % para rações com 30 e 50 % de concentrado respectivamente. ZEOULA *et al.* (2002) também encontraram resultados satisfatórios com teores em torno de 1,2 % de CIA na matéria seca. Entretanto alguns autores têm encontrado resultados contraditórios na estimativa dos fluxos de matéria seca fecal, sub ou superestimando os coeficientes de digestibilidade (ZEOULA *et al.*, 1994; ZEOULA *et al.*, 2000).

#### **Lignina**

A lignina é um composto freqüentemente utilizado como indicador. No entanto, resultados contraditórios existem na literatura, com valores de recuperação diferentes de 100% (STREETER, 1969; FAHEY & JUNG, 1983). Entre as razões que explicam a recuperação incompleta da lignina, encontram-se a idade da planta e técnicas laboratoriais (CARVALHO *et al.*, 1992). Por outro lado, trabalhos apresentam a lignina como um indicador eficiente (SHERROD *et al.*, 1978; SEIN & TODD, 1988; PIAGGIO *et al.*, 1991). Em dietas contendo altas quantidades de concentrado, os resultados não parecem satisfatórios (THONEY *et al.*, 1979; GALYEAN *et al.*, 1979), provavelmente em função do baixo teor de lignina existente.

O uso da lignina, em detergente ácido (LDA), apresenta a vantagem ser um método fácil de rápida análise, econômico e rotineiro em laboratórios de análise de alimentos. Recuperações positivas e incompletas foram relatadas por FAHEY & JUNG (1983) e VAN SOEST (1994).

A complexa e variável estrutura da lignina torna difícil a adoção de metodologias específicas que determinem, com alta confiabilidade, sua real concentração. A situação é agravada ao considerar evidências de que a lignina dietética difere da lignina fecal em seus constituintes químicos (ELAN e DAVIS, 1961). A despeito dessas limitações, vários



pesquisadores (STEFANON *et al.*, 1992; HUHTANEN *et al.*, 1995; PURNOMOUDI *et al.*, 1996), por acreditarem não ocorrer alteração no fluxo por meio do rúmen, continuam a usar a lignina como indicador.

#### **Matéria seca (MSi), fibra em detergente neutro (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi)**

Lignina e CIA, normalmente, ocorrem em baixas concentrações na forragem consumida, o que impede sua melhor utilização como indicadores internos. O erro da amostragem poderá ser reduzido, se um componente indigestível de maior porcentagem na matéria seca for encontrado (VAN SOEST, 1994). Nesse sentido, foi sugerido que as frações fibrosas indigestíveis do alimento sejam utilizadas com tal propósito (LIPPKE *et al.*, 1986).

As frações que demonstraram maior potencial como indicadores são as fibras em detergente neutro (FDNi) e ácido (FDAi) indigestível e matéria seca indigestível (MSi) (COCHRAN *et al.*, 1986; NELSON *et al.*, 1990; BERCHIELLI *et al.*, 2000; DETMANN *et al.*, 2001; ÍTAVO *et al.*, 2002 a e b; ZEOULA *et al.*, 2002).

LIPPKE *et al.* (1986), estudando o tempo de incubação para determinar a FDNi, observaram que, a partir de seis dias de incubação *in vitro* (144 h), o resíduo representa a porção indigestível do alimento. Tais resultados foram confirmados por BERCHIELLI *et al.* (2000), que, ao compararem os indicadores internos FDNi e FDAi, concluíram que essas frações representam, de forma adequada, a porção indigestível do alimento. Entretanto DETMANN *et al.* (2001), estudando os indicadores internos FDAi, FDNi e MSi, observaram que FDNi e MSi constituíram as melhores alternativas para a determinação indireta da digestibilidade da dieta e do consumo da matéria seca, enquanto os valores obtidos pela FDAi apresentaram comportamento variável. Porém SALIBA (1998), comparando diversos indicadores internos e externos em relação ao método da coleta total de fezes, encontrou que a média obtida com a FDAi foi a mais próxima da obtida pela coleta total. FERRET *et al.* (1999) e ÍTAVO *et al.* (2002a) citam que a FDAi apresenta grande potencial como indicador para forragens em função do baixo custo e à facilidade metodológica.

FREITAS *et al.* (2002), utilizando vários indicadores internos incubados *in vitro* (iv) e *in situ* (is) e óxido crômico, concluíram que a FDAiv, FDAis e óxido crômico podem ser utilizados na estimativa da produção fecal. Porém, como a técnica utilizada para obtenção da FDAiv é mais simples e econômica, dispensando também a utilização de animais fistulados, recomenda-se sua utilização como indicador em ensaios de digestibilidade.

BERCHIELLI *et al.* (1998) compararam o óxido crômico e o cloreto de itérbio (indicadores externos) com a FDNi e a FDAi (indicadores internos) para estimativa do fluxo de matéria seca e matéria orgânica duodenal, concluindo que os indicadores internos podem ser utilizados para estimativa dos fluxos com alguma confiabilidade, o mesmo não ocorrendo para o óxido crômico e o cloreto de itérbio. ÍTAVO *et al.* (2002b) citam que o FDAi, além de ser um bom indicador fecal, também apresenta eficiência ao ser utilizado como indicador para estimar fluxos de matéria seca no abomaso e íleo.

#### **Cromógeno**

O cromógeno é um pigmento, produto da degradação da clorofila, utilizado como indicador interno em função de sua relativa indigestibilidade (KOBT & LUCKEY, 1972). A utilização de cromógenos propicia resultados muito variáveis e pouco confiáveis. O uso prático de cromógeno como um indicador interno é essencialmente limitado à forragem com alto conteúdo de clorofila, assim como forragens frescas. O método é empírico e requer padrões para análise de ensaio de digestão para a forragem em estudo (VAN SOEST, 1994).

#### **Alcanos**

Os alcanos são hidrocarbonetos alifáticos saturados das ceras da cutícula das plantas. Inicialmente o uso potencial dos n-alcanos como indicadores para determinação do consumo e digestibilidade de forragens foi proposto por MAYES *et al.* (1986). A metodologia proposta é uma variação daquela na qual o consumo é obtido de estimativas da produção diária de fezes e da digestibilidade da forragem ingerida. Em substituição ao óxido crômico, a técnica prevê a administração aos animais de n-alcanos sintéticos de cadeia longa, com número par de carbonos, visando à obtenção de estimativas individuais de produção fecal. Concomitantemente, a digestibilidade da forragem consumida é estimada com o uso de indicadores internos, como n-alcanos com cadeias longas de número ímpar de carbonos, substituindo os valores de digestibilidade *in vitro*.

Recuperações fecais médias incompletas dos n-alcanos, mas, com incrementos relacionados ao aumento do comprimento de sua cadeia carbonada, foram relatadas por MAYES *et al.* (1986). Outra importante consideração feita por esses autores foi que n-alcanos com número próximo de carbonos na cadeia possuíam taxas de recuperação fecal muito semelhantes, provavelmente por se comportarem similarmente no trato digestivo. Tal característica é o pré-requisito fundamental para aplicação e acurácia da técnica, e também possibilita, como sua principal vantagem na estimativa do consumo, considerar a digestibilidade da forragem específica para aquele animal em estudo (REEVES *et al.*, 1996). Dessas breves considerações se depreende que, a despeito dos erros relacionados à incompleta recuperação dos n-alcanos, pode-se considerar que esses se cancelam no numerador e denominador, já que somente a relação entre concentração de n-alcanos natural e sintético nas fezes ( $F_i/F_p$ , sendo  $F_i$  teor de n-alcanos de cadeia ímpar e  $F_p$  de cadeia par nas fezes), é exigida (DOVE & MAYES, 1991).

Segundo BURNS *et al.* (1994), a análise dos n-alcanos com equipamento de cromatografia gasosa é relativamente simples e precisa. No entanto, conforme revisado por LOPES *et al.* (2001), para melhor acurácia e perfeita aplicação da técnica de estimativa de consumo por ruminantes em pasto apenas, usando n-alcanos, alguns aspectos devem ser examinados pela pesquisa. Por exemplo, eventuais diferenças na recuperação fecal de n-alcanos de acordo com a idade, estado fisiológico e espécie animal devem ser consideradas. Outro aspecto abordado se refere às concentrações dos n-alcanos nas forragens e variações advindas entre espécies forrageiras, estágio de crescimento, partes da planta, etc, LOPES *et al.* (2001). Ainda são

necessários estudos a respeito do sítio de desaparecimento dos n-alcanos no trato gastrointestinal de ruminantes, bem como eventual síntese ou secreção desses.

### Indicadores de fase líquida

ISAACSON *et al.* (1975) demonstraram que a quantidade de proteína microbiana sintetizada por unidade de carboidrato fermentado pelos microrganismos ruminantes aumenta com elevações na taxa de remoção da fase líquida. Presumivelmente, a eficiência de síntese de proteína microbiana é aumentada devido à redução dos requisitos da manutenção das bactérias com maiores taxas de reciclagem da fase líquida. Portanto é necessário o conhecimento sobre indicadores utilizados para medir fluxo da fase líquida no rúmen. Em relação aos indicadores de fase sólida, os indicadores de fase líquida apresentam menos problemas quanto à sua determinação.

### Polietilenoglicol (PEG)

O PEG é normalmente utilizado como agente neutralizante do efeito deletério dos taninos sobre a digestibilidade dos nutrientes. No entanto LANDAU *et al.* (2003) têm demonstrado seu uso como indicador de forma satisfatória, em dietas livres de taninos.

O PEG é uma molécula grande, determinada por turbidimetria. No entanto, recuperação adequada ocorre somente com moléculas de peso molecular alto. Muitos autores obtiveram resultados de recuperação não satisfatórios (MARTINI, 1993; SAVASTANO, 1993; BERCHIELLI *et al.*, 1996), dependendo do tipo de dieta. O PEG não apresenta efeitos tóxicos, mas não se distribui de forma homogênea por toda a fração líquida dos compartimentos digestivos.

KOTB & LUCKEY (1972) afirmaram que as técnicas para análise desse indicador são imprecisas. ELLIS *et al.* (1980) indicam que o PEG, além de poder ser adsorvido por certos tipos de ingredientes na dieta, pode ser precipitado pela presença de taninos.

### Quelatos

Apesar dos problemas, os quelatos de Cr (Cr-EDTA) e Co (Co-EDTA) são indicadores de fase líquida que têm sido utilizados em substituição ao PEG. Tanto o Cr-EDTA (ELLIS *et al.*, 1980) como o Co-EDTA (UDÉN *et al.*, 1980) são totalmente solubilizados e têm sido utilizados para estimativa de volume de líquido ruminal e taxa de diluição. Ao contrário do PEG, análises desses indicadores são simples e muito precisas (MERCHEN, 1988).

Parte do Cr-EDTA pode ser absorvido e aparecer na urina, sobretudo em ruminantes, e especialmente, em bovinos. O problema de absorção ocorre em geral com os componentes de cromo, principalmente de forma mais comum com indicadores de fase sólida. Como vantagem, o Cr-EDTA se distribui homogeneamente por toda a fase líquida da digesta. ELLIS *et al.* (1980) têm sugerido a possibilidade de que o EDTA não seja o principal quelante para o cromo.

O cobalto ligado a EDTA (Co-EDTA) possui menor taxa de absorção em relação ao Cr-EDTA, possivelmente devido à formação de complexos, sendo a concentração do cobalto menos constante que a do cromo no Cr-EDTA. O problema parece ser solucionado mantendo o complexo

em refrigeração por 72 horas em lugar das 12 a 18 horas recomendadas pela técnica original (UDÉN *et al.*, 1980).

### Considerações Finais

A variabilidade de indicadores é extensa e atende à demanda para estimativas dos vários parâmetros determinados em ensaios de nutrição. No entanto, vários são os problemas associados com o uso de indicadores, não havendo um indicador que atenda de forma completa a todos os critérios, principalmente no que se refere à sua recuperação nas fezes e no duodeno. O estabelecimento de determinados critérios que forneçam subsídios para escolha do indicador mais adequado é ponto primordial na decisão pelo seu uso, estando entre eles: fácil aplicação, recuperação adequada de acordo com a dieta utilizada, custos e facilidade na análise. Desta forma, aumenta-se a confiabilidade das estimativas desejadas, fornecendo resultados que possibilitem o maior detalhamento em estudos de avaliação de alimentos.

O emprego da digestibilidade *in vitro*, por se constituir em metodologia mais simples e econômica, dispensando também a utilização de animais fistulados, deve ser considerada na obtenção das frações indigestíveis utilizadas como indicadores de fase sólida. A utilização dos n-alcanos, sobretudo em estimativa de consumo de animais em regime de pastejo, tem apresentado resultados bastante satisfatórios.

Os quelatos (Co-EDTA e Cr-EDTA), por apresentar adequada solubilidade em fase líquida e maior facilidade e precisão de sua determinação, em relação ao PEG, vêm sendo indicados como indicadores de fase líquida.

### Referências

- AROEIRA, L. J. M. Estimativas de consumo de gramíneas tropicais. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, 1997, Lavras *Anais...* Lavras: UFLA-FAEPE, 1997. p. 127-163.
- ASTIGARRAGA, L. Técnicas para la medición del consumo de ruminantes en pastoreo. In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS COM ANIMAIS, 1997, Maringá. *Anais...* Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 1997. p. 1-23.
- BERCHIELLI, T. T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C. L. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. *Rev. Bras. Zootec.* v. 29, n. 3, p. 830-833, 2000.
- BERCHIELLI, T. T.; RODRIGUEZ, N. M.; GONÇALVES, L. C. Polietilenoglicol e cobalto-EDTA como marcadores de fase líquida ruminal. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v. 48, n. 4, p. 463-471, 1996.
- BERCHIELLI, T. T. *et al.* Comparação de indicadores de fase sólida para medir fluxo de matéria seca e matéria orgânica no duodeno. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v. 50, n. 2, p. 147-152, 1998.
- BERGERO, D. *et al.* Apparent digestibility mediterranean forages determined by total collection of faeces and acid-insoluble ash as internal marker. *Livest. Prod. Sci.* v. 85, n. 2-3, p. 235-238, 2004.
- BLOCK, E.; KILMEL, M. L. D. 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.* v. 52, n. 4, p. 1164-1169, 1981.

- BURGER, P. J. *et al.* Consumo e digestibilidade aparente total e parcial em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. *Rev. Bras. Zootec.* v. 29, n. 1, p. 206-214, 2000.
- BURNS, J. C.; POND, K. R.; FISHER, D. S. Measurement of forage intake. In: FAHEY JUNIOR, G. C. *Forage quality, evaluation, and utilization*. Winsconsin: American Society of Agronomy, 1994. p. 494-532.
- CARRILHO, E. N. V. M. *et al.* Decomposição de amostras via bomba de oxigênio para a determinação de Cr usado como marcador em estudos de digestibilidade em bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 26. 2003, Poços de Caldas. *Anais...* Poços de Caldas: Sociedade Brasileira de Química, 2003, QA-092.
- CARVALHO, F. F. R. *et al.* Uso de indicadores internos para estimar a digestibilidade dos nutrientes das rações para cabras em lactação alimentadas *ad libitum*. *Rev. Soc. Bras. Zoot.* v. 21, n. 2, p. 270-278, 1992.
- COCHRAN, R. C. *et al.* Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. *J. Anim. Sci.* v. 63, n. 5, p. 1476-1483, 1986.
- COELHO SILVA, J. F.; LEÃO, M. I. *Fundamento de nutrição de ruminantes*. Piracicaba: Livrôceres, 1979. 384 p.
- COLEMAN, S. W. The use of ytterbium as a rumen kinetic marker. *J. Anim. Sci.* v. 49, n.1, p. 38, 1979.
- CROOKER, B. A.; CLARK, J. H.; SHANKS, R. D. Rare earth elements as markers for rate of passage measurements of individual feedstuffs through the digestive tract of ruminants. *J. Nutr.* v. 112, n. 7, p. 1353-1361, 1982.
- 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. *Anim. Prod.* v. 9, p. 561-564, 1976.
- DETMANN, E. *et al.* Estimação de parâmetros da cinética de trânsito de partículas em bovinos sob pastejo por diferentes seqüências amostrais. *Rev. Bras. Zootec.* v. 30, n. 1, p. 222-230, 2001.
- DOVE, H.; MAYES, R. W. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. *Austr. J. Agric. Re.* v. 42, n. 6, p. 913-952, 1991.
- ELAN, C. J. ; DAVIS, R. E. Lignin excretion by cattle fed a mixed ration. *J. Anim. Sci.* v. 20, n. 3, p. 484-486, 1961.
- ELLIS, W. C. Dysprosium as an indigestible marker and its determination by radioactivation analysis. *J. Agric. Food Chemists*, v. 16, n. 2, p. 220-228, 1968.
- \_\_\_\_\_. Solute and particulate flow markers. In: OWENS, F. N. *Protein requirements for cattle: symposium*, 1980, Oklahoma: Symposium Oklahoma: Press, 1980, p. 37-56.
- ELLIS, W. C.; WYLIE, M. J.; MATIS J. H. Validity of specifically applied rare earth elements and compartmental models for estimating flux of undigested plant tissue residues through the gastrointestinal tract of ruminants. *J. Anim. Sci.* v. 80, n. 8, p. 2753-2758, 2002.
- FAHEY, G. C.; JUNG, H. G. Lignin as a marker in digestion studies - a review. *J. Anim. Sci.* v. 57, n. 1, p. 220-225, 1983.
- FERRET, A. *et al.* Using markers to estimate dry matter digestibility, faecal output and dry matter intake in dairy ewes fed italian ryegrass hay or alfalfa hay. *Small Ruminant Res.* v. 33, n. 2, p. 145-152, 1999.
- FONTES, C. A. A.; OLIVEIRA, M. A T.; LANA, R. P. Avaliação de indicadores na determinação da digestibilidade em novilhos. *Rev. Soc. Bras. Zootec.* v. 2, n. 2, p. 529-539, 1996.
- FREGADOLLI, F. L. *Efeito das fontes de amido e nitrogênio de diferentes degradabilidades ruminais sobre o pH e concentração de amônia no líquido ruminal e eficiência de síntese microbiana*. 2000. 69 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2000.
- FREITAS, D.; BERCHIELLI, T. T.; SILVEIRA, R. N. Produção fecal e fluxo duodenal de matéria seca e matéria orgânica estimados por meio de indicadores. *Rev. Bras. Zootec.* v. 31, n. 3, p. 1521-1530, 2002.
- GRACE, N. D.; BODY, D. R. Short note: the possible use of long chain (C<sub>19</sub>-C<sub>32</sub>) fatty acids in herbage as an indigestible faecal marker. *J. Agric. Sci.* v. 97, n. 3, p. 743-745, 1981.
- HOPPER, J. T.; HOLLOWAY, J. W.; BUTTS JUNIOR, W. T. Animal variation in chromium sesquioxide excretion patterns of grazing cows. *J. Anim. Sci.* v. 46, n. 4, p. 1096-1102, 1978.
- HUHTANEN, P.; JAAKKOLA, S.; KUKKINEN, U. Ruminant plant cell wall digestibility estimated from digestion and passage kinetics utilizing mathematical models. *Anim. Feed Sci. Technol.* v. 49, n. 1/2, p. 159-173, 1995.
- ISAACSON, H. R. *et al.* Efficiency of energy utilization by mixed rumen bacteria in continuous culture. *J. Dairy Sci.* v. 58, n. 11, p. 1645-1659, 1975.
- ÍTAVO, L. C. V. *et al.* Comparação de indicadores e metodologia de coleta para estimativas de produção fecal e fluxo de digesta em bovinos. *Rev. Bras. Zootec.* v. 31, n. 4, p. 1833-1839, 2002.
- \_\_\_\_\_. Consumo, degradabilidade ruminal e digestibilidade aparente de feno de gramíneas do gênero *Cynodon* e rações concentradas utilizando indicadores internos. *Rev. Bras. Zootec.* v. 31, n. 2, p. 1024-1032, 2002.
- KOTB, A. R.; LUCKEY, T. D. Markers in nutrition. *Nutr. Abstr. Rev.* v. 42, n. 3, p. 813-845, 1972.
- LANDAU, S. *et al.* Polyethylene glycol, used to alleviate the negative effects of dietary tannins, can also serve as a marker of fecal output in goats. *Anim. Feed Sci. Technol.* v. 48, n. 1, p. 37-43, 2003.
- LIMA, M. A.; VIANA, J. A. C.; RODRIGUES, N. M. O uso do óxido crômico para estimar a produção fecal de novilhos zebu em pastejo. *Rev. Soc. Bras. Zootec.* v. 9, n. 2, p. 188-202, 1980.
- LIPPKE, H.; ELLIS, W. C.; JACOBS, B. F. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. *J. Dairy Sci.* v. 69, n. 2, p. 403-412, 1986.
- LOPES, F. C. F.; RODRIGUEZ, N. M.; AROEIRA, L. J. M. Uso dos n-alcanos em estimativas de consumo de ruminantes sob pastejo. *Veterin. Notícias*, v. 7, n. 2, p.165-175, 2001.
- MARTINI, M. *Efeito do tratamento alcalino do feno de capim elefante e da suplementação com enxofre sobre parâmetros digestivos em ovinos*. 1993. 108 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, 1993.
- MAYES, R. W.; LAMB, C. S.; COLGROVE, P. M. The use of dosed and herbage n-alcanes as markers for the determination of herbage intake. *J. Agric. Sci.* v. 107, n. 1, p. 161-170, 1986.
- MERCHEN, N. R. Digestion, absorption and excretion in ruminants. In: D. C. CHURCH. *The ruminant animal digestive physiology and nutrition*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 1988. p. 172-201.



- MOORE, J. E.; SOLLENBERGER, L. E. Techniques to predict pasture intake. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1997, Viçosa, *Anais...* Viçosa: UFV, 1997, p. 81-96.
- NASCIMENTO FILHO, V. F. Técnicas analíticas nucleares de fluorescência de raios X por dispersão de energia (ED-XRF) e por reflexão total (TXRF), 1999, [http://web.cena.esp.br/apostilas/Virgilio/cen-5723/EDXRF\\_TXRF.doc](http://web.cena.esp.br/apostilas/Virgilio/cen-5723/EDXRF_TXRF.doc), (12/jun./2002).
- NELSON, M. L. *et al.* Ash free indigestible acid detergent fiber as an internal marker to estimate digestibility wither grazing ruminants. *J. Range Manag.* v. 43, n. 3, p. 224-229, 1990.
- OLIVEIRA JUNIOR, R. C. *et al.* Avaliação de indicadores para estimar a digestibilidade dos nutrientes em novilhos nelore alimentados com dietas contendo alto teor de concentrado e fontes nitrogenadas. *R. Bras. Zootec.* v. 33, n. 3, p. 749-758, 2004.
- OLUBAJO, F. O.; OYENUGA, V. A. Digestibility of tropical pasture using the indicator technique. *J. Agric. Sci.* v. 75, n.1, p. 175-181, 1970.
- 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.
- PIAGGIO, L. M. *et al.* Avaliação das cinzas insolúveis em ácido, fibra detergente ácido indigestível e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. *Rev. Soc. Bras. Zootec.* v. 20, n. 3, p. 306-312, 1991.
- PRIGGE, E. C. *et al.* Comparison of ytterbium chloride and chromium sesquioxide as fecal indicators. *J. Anim. Sci.* v. 53, n. 6, p. 1629-1633, 1981.
- PURNOMOUDI, A. *et al.* Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict fecal composition and its use for digestibility estimation. *Anim. Feed Sci. Technol.* v. 50, n.10, p. 851-861, 1996.
- REEVES, M. *et al.* A comparison of three techniques to determine the herbage intake of dairy cows grazing kikuyu *Pennisetum clandestinum* pasture. *Aust. J. Exp. Agric.* v. 36, n. 1, p. 23-30, 1996.
- RUIZ, R. *et al.* Use of chromium mordanted neutral detergent residue as a predictor of fecal output to estimate intake in grazing high producing Holstein cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* v. 89, n. 3/4, p. 155-164, 2001.
- SALIBA, E. O. S. *Caracterização química e microscópica das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e de soja expostos à degradação ruminal e seu efeito sobre a digestibilidade dos carboidratos estruturais.* 1998. 236 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal)- Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, 1998.
- SAVASTANO, S. *Efeito do nível do concentrado sobre parâmetros digestivos do feno de capim-gordura (Melinis minutiflora Pal de Blauv), em bovinos.* 1993. 142 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1993.
- SEIN, T.; TODD, J. R. Investigation into the use of indicator methods of estimating the digestibilities of feeds by ruminant animals. *J. Agric. Sci.* v. 110, n. 2, p. 315-320, 1988.
- SHERROD, L. B. *et al.* ADF Insoluble ash, HCl Insoluble ash, and lignin as indicator for determining ruminant digestibility. *Proceed. West. Sect. Am. Soc. Anim. Sci.* v. 29, n. 5, p. 236-242, 1978.
- SKRIVAN, M. Estimation of digestibility by the indicator method with ash insoluble in HCl. *Nutr. Abstr. Rev.* v. 50, n. 6, p. 223-228, 1980.
- STEFANON, B.; MILLS, C. R.; PIASENTUR, E. Pattern of some internal and external markers along the gastrointestinal tract of cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* v. 37, n.1/2, p. 143-159, 1992.
- STREETER, C. L. A review of techniques used to estimate the “*in vitro*” digestibility of grazed forage. *J. Anim. Sci.* v. 29, n. 5, p.757-768, 1969.
- THONEY, M. L. *et al.* Acid insoluble ash and permanganate lignin as indicators to determine digestibility of cattle rations. *J. Anim. Sci.* v. 49, n. 4, p. 1112-1116, 1979.
- \_\_\_\_\_. Sources of variation of dry matter digestibility measured by the acid insoluble ash marker. *J. Dairy Sci.* v. 64, n. 3, p. 661-668, 1985.
- UDÉN, P.; COLUCCI, P. E.; VAN SOEST, P. J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *J. Sci. Food Agric.* v. 31, n. 7, p. 625-632, 1980.
- VALDERRABANO, J. Evaluation of acid insoluble ash as an internal marker digestibility studies. *Nutr. Abstr. Rev.* v. 52, n. 2, p. 64, 1981.
- VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant.* 2. ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.
- VAN VUUREN, A. M. *et al.* Starch and stage of maturity of grass silage: site of digestion and intestinal nutrient supply in dairy cows. *J. Dairy Sci.* v. 82, n. 1, p. 143-152, 1999.
- WARNER, A. C. I. Rate of passage of digesta through the gut of mammals and birds. *Nutr. Abstr. Rev.* v. 51, p. 789-820, 1981.
- WILLIAMS, C. H.; DAVID, D. J.; ILSMAA, O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agric. Sci.* v. 59, n. 1, p. 381-385, 1962.
- ZEOULA, L. M.; BRANCO, A. F.; SALINA, L. J. Avaliação de indicadores em estudo de digestibilidade de alimentos para ruminantes. *Rev. Unimar*, v. 22, n. 3, p.165-174, 1994.
- ZEOULA, L. M. *et al.* Uso de indicadores na determinação da digestibilidade parcial e total em bovinos. *Acta Scientiarum*, v. 22, n.3, p. 771-777, 2000.
- \_\_\_\_\_. Recuperação fecal de indicadores internos avaliados em ruminantes. *Ver. Bras. Zootec.* v. 31, n. 4, p. 1865-1874, 2002.

Recebido para publicação em 21/09/2004  
 Received for publication on 21 September 2004  
 Recibido para publicación en 21/09/2004  
 Aceito para publicação em 23/02/2005  
 Accepted for publication on 23 February 2005  
 Acepto para publicación en 23/02/2005

UNIVERSIDADE PARANAENSE

# PÓS-GRADUAÇÃO UNIPAR | 2006

## CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Campus Umuarama

- Especialização em Clínica Médica de Animais de Companhia
- Especialização em Reprodução de Bovinos

QUEM PENSA FAZ.



[www.unipar.br](http://www.unipar.br)