UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

DAVI LEAL BARBOSA

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MARCADORES E ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS: INTERPRETAÇÃO DE PERFIS CINÉTICOS DE PASSAGEM DE PARTÍCULAS E O IMPACTO DESSAS ESTIMATIVAS SOBRE A DIGESTIBILIDADE DA FIBRA EM NOVILHOS

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

MARÇO DE 2018

DAVI LEAL BARBOSA

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MARCADORES E ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS: INTERPRETAÇÃO DE PERFIS CINÉTICOS DE PASSAGEM DE PARTÍCULAS E O IMPACTO DESSAS ESTIMATIVAS SOBRE A DIGESTIBILIDADE DA FIBRA EM NOVILHOS

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

ORIENTADOR: PROF. RICARDO AUGUSTO MENDONÇA VIEIRA

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

MARÇO DE 2018

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MARCADORES E ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS: INTERPRETAÇÃO DE PERFIS CINÉTICOS DE PASSAGEM DE PARTÍCULAS E O IMPACTO DESSAS ESTIMATIVAS SOBRE A DIGESTIBILIDADE DA FIBRA EM NOVILHOS

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Aprovada em 23 de fevereiro de 2018.

Comissão Examinadora:

_____

Dr. Raphael dos Santos Gomes (D. Sc., Zootecnia) – UENF
(Coorientador)

_____

Dr. Matheus Lima Corrêa Abreu (D. Sc., Ciência Animal) - UFMT
(Coorientador)

_____

Prof. Leonardo Siqueira Glória (D. Sc., Genética e Melhoramento) - UENF

_____

Prof. Ricardo Augusto Mendonça Vieira (D. Sc., Zootecnia) - UENF
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus pela família maravilhosa que me deu, aos meus amados pais, Genecy Barbosa de Oliveira e Ione dos Reis Leal Barbosa pelos ensinamentos essenciais em minha vida, e minha irmã Débora Leal Barbosa Gomes e seu marido Marcelo Carvalho Gomes pelo carinho e apoio, a minha namorada Pamella Inácio Moreira pelo incentivo e ânimo, carinho e compressão;

A minha avó Eulina dos Reis e bisavó Neusa Furtado por sempre estarem ao meu lado se preocupando e procurando sempre fazer o melhor por mim;

Ao orientador Ricardo Augusto Mendonça Vieira, agradeço a confiança em mim depositada, a dedicação e ensinamentos transmitidos;

A equipe da caprinocultura: Jhone Gleison Oliveira, Nardele Júnior, Débora Evellin, Raphael Gomes, Arthur Lobo, Marcelo Cabral, , Laila Ramos, Daniel Dardengo pela grande ajuda na realização dos trabalhos, pelos momentos de descontração e agradável convivência;

Aos amigos que estiveram do meu lado mesmo a distância, Flavio Henrique, Karla Rodrigues, Carlos Henrique, Antônio Paulo, Matheus Lima, André Erthal e Julia Wronski**;**

Aos amigos, que considero irmãos, Jefferson Thadeu, Rafael Freitas, Matheus Lourenço, Thiago Aguiar, Davi Simões, Jhone Gleison e Daniel Dardengo, pelas grandes ajudas e, principalmente, pela excelente convivência e bons momentos compartilhados que tornaram meus dias aqui mais agradáveis;

Aos professores Alberto Magno Fernandes, Rita Trindade, por terem me passado todo conhecimento técnico e científico para minha formação profissional, e mais que professores foram amigos e conselheiros;

Ao grande amigo Jhone Gleison de Oliveira, pelos seus muitos ensinamentos, ótima amizade e a ajuda sempre concedida;

Aos meus amigos de longa data Joice Hellen, Edilane Fraga e Ailson e ao meu Primo Dan Barboza por estarem sempre presentes em minha vida;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela oportunidade de realização do curso, crescimento pessoal e profissional. A Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo;

A todos aqueles que mesmo não tendo sido nominados tive a oportunidade de conviver nesses últimos cinco anos e que muito contribuíram para que eu pudesse chegar até aqui.

Muito obrigado!!!

"Persista em seus sonhos, pois o primeiro passo para vitória é desejar vencer. Sem lutas não haverá vitória, sem incentivo não haverá vontade".

John Wesley

RESUMO

BARBOSA, Davi Leal. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Fevereiro de 2018. Avaliação de diferentes marcadores e estratégias analíticas: interpretação de perfis cinéticos de passagem de partículas e o impacto dessas estimativas sobre a digestibilidade da fibra em novilhos. Orientador: Professor Ricardo Augusto Mendonça Vieira.

O presente trabalho teve como finalidade avaliar diferentes marcadores e técnicas analíticas de recuperação dos marcadores nas fezes sobre as estimativas dos parâmetros do trânsito de partículas e sua influência sobre a precisão e a acurácia na estimação da digestibilidade e da massa ruminal de fibra em novilhos. Foi ajustado o modelo monocompartimental (GN) aos perfis de cinética de trânsito de partículas fibrosas marcadas para estimativa da quantidade diária de fibra digerida ($\bar{\boldsymbol{D}}_{\boldsymbol{FDN}}$) e da massa ruminal de fibra ($\boldsymbol{Q}_{\boldsymbol{FDN}}$) com os marcadores cromo (Cr), europio (Eu), lantânio (La) e itérbio (Yb). As amostras de fezes foram tratadas antes da leitura dos marcadores. Os tratamentos foram realizados nas amostras secas e moídas das fezes e consistiram em: tratamento padrão (sem lavagem), tratamento com água deionizada e tratamento com ácido acético 0,1 Mol L^{-1}. A avaliação empírica do poder preditivo do modelo foi realizada por meio da combinação de métodos estatísticos sobre as predições do modelo. As medidas de adequação empregadas na avaliação empírica dos modelos foram o fator de eficiência do modelo (FEM), intervalos de confiança para os parâmetros e o teste de hipótese conjunta para o intercepto igual a zero e a inclinação igual a um. Também foram utilizadas técnicas adicionais que permitiram avaliar a precisão, como o coeficiente de correlação de concordância (CCC) e a acurácia do modelo (Cb), o viés médio (MB), o coeficiente de determinação do modelo (CD) e o quadrado médio do erro de predição (MSEP). As estimativas dessas medidas foram obtidas por meio do software MES. A partir do modelo GN foi possível predizer com acurácia e precisão a variável $\boldsymbol{Q}_{\boldsymbol{FDN}}$ utilizando apenas os marcadores Cr, Eu e La. Nesta avaliação o Cr galgou os melhores valores para os índices r^2 (coeficiente resistente de determinação), CD, MSEP, MEF, MB, CCC e Cb. Para a variável $\bar{\boldsymbol{D}}_{\boldsymbol{FDN}}$ o poder preditivo do modelo GN não foi capaz de estimar para nenhum dos marcadores, entretanto, o Cr novamente, independente do tratamento fecal, teve as melhores avaliações dos índices MSEP, MEF, MB, CCC e Cb. Os tratamentos fecais não afetaram o Cr, no entanto melhoraram as estimativas dos metais terras raras de forma geral, porém com o Yb, não foi possível estimar com acurácia a $\boldsymbol{Q}_{\boldsymbol{FDN}}$. O Eu e La se tratados obtêm resultados semelhantes ao Cr.

Palavras-chave: Cinética de trânsito, digestibilidade da fibra, marcadores externos.

ABSTRACT

BARBOSA, Davi Leal. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. February, 2018; Evaluation of different markers and analytical strategies: Reading kinetic passage rate models of particles and the impact on fiber digestibility in bullocks. Advisor: Professor Ricardo Augusto Mendonça Vieira.

The goal of this study was to evaluate different markers and analytical techniques of markers' recovery in feces on parameters estimates of particles transit and its influence on precision and accuracy for estimating the digestibility and ruminal fiber mass in steers. The monocompartimental model (GN) was set up to kinetic profiles of fiber particles transit to estimate the daily amount of digested fiber and ruminal fiber mass using Chrome (Cr), Europium (Eu), Lanthanum (La) and Ytterbium as markers. Fecal samples were treated before the markers reading. The following treatments were done on dried and ground fecal samples: control treatment (without wash), deionized water and acetic acid 0.1 Mol L^{-1}. Empirical evaluation of predictive models was done through the combination of statistical models upon model predictions. Measurements of adequacy applied on model's empirical evaluations were: coefficient of model efficiency (FEM); reliability intervals for parameters; and hypothesis test for intercept equal to zero and tendency equal to one. Also, additional techniques applied allowed evaluating the accuracy, such as coefficient of concordance correlation (CCC) and model accuracy (Cb), median bias (MB), coefficient of model determination (CD) and mean squared error of prediction (MSEP). The measures estimates were obtained by MES software. With GN model, it was possible to predict the variable with accuracy and precision using the markers Cr, Eu and La. For this study, Cr obtained greater results to r^2 index (coefficient of resistant determination), CD, MSEP, MEF, MB, CCC and Cb. To the variable, predictive power of GN model was not capable of estimating for none of the markers, although Cr again presented greater results for MSEP, MED, MB, CCC and Cb indexes independently of fecal treatment. Fecal treatments did not affect Cr, however they improved the estimates of Rare-earth metals, but it was not possible to estimate accurate parameters for Yb. If Eu and La are treated, they presented similar results to Cr.

Keywords: transit kinetics, fiber digestibility, external markers.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 8

2. OBJETIVO 11

3. REVISÃO DE LITERATURA 12

3.1. FIBRA NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES 12

3.2. ESTIMATIVA DA DEGRADAÇÃO RUMINAL 14

3.2.1. Técnicas de degradação *in vitro* 16

3.3. PARÂMETROS CINÉTICOS DE PASSAGEM DE PARTÍCULA 17

3.4. INDICADORES EXTERNOS PARA ESTUDOS DE CINÉTICA DE TRÂNSITO DE PARTÍCULAS EM RUMINANTES 18

3.4.1. Materiais complexados com cromo (Cr) 19

3.4.2. Metais terras raras 19

3.4.3. Características de um bom marcador 21

3.5. VALOR PREDITIVO DE MODELOS 21

3.6. DINÂMICA DE *POOL* ÚNICO DO CONTEÚDO FIBROSO NO RÚMEN 23

4. MATERIAL E MÉTODOS 25

4.1. ORIGEM DOS DADOS 25

4.1.1. Dados para avaliação do modelo de digestibilidade e para as estimativas da cinética de trânsito 25

4.1.2. Dados para avaliação do modelo de predição da massa ruminal de fibra (Q_{FDN}) 26

4.1.3. Degradação *in vitro* dos carboidratos fibrosos 27

4.2. INTERPRETAÇÃO CINÉTICA DOS PERFIS DE DEGRADAÇÃO GRAVIMÉTRICA DA FIBRA 27

4.3. INTERPRETAÇÃO CINÉTICA DOS PERFIS DE EXCREÇÃO DOS INDICADORES COMPLEXADOS À FIBRA 29

4.4. CÁLCULO DA MASSA RUMINAL DE FIBRA (Q_{FDN}) 30

4.5. CÁLCULO DA QUANTIDADE DIÁRIA DE FIBRA DIGERIDA (D_{FDN}) 30

4.6. AVALIAÇÃO DO PODER PREDITIVO DOS MODELOS 32

5. RESULTADOS 33

6. DISCUSSÃO 41

7. CONCLUSÃO 46

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 47

1. INTRODUÇÃO

Ruminantes, em condições naturais, têm como principal alimento a forragem. Entretanto, devido a sazonalidade e características fisiológicas das plantas, elas podem apresentar concentrações variáveis em seus componentes ao longo do ano**.** (VAN SOEST, 1994). Como consequência, a forragem consumida se comporta de maneira desuniforme no trato gastrintestinal (TGI), podendo maximizar ou reduzir o desempenho dos ruminantes de interesse zootécnico.

O rúmen-retículo se comporta como uma câmara de fermentação complexa. Em geral, seu conteúdo é heterogêneo e estratificado, apresentando fases líquida, sólida e gasosa. O conteúdo fibroso e a fase líquida estão sujeitos à constante movimentação, onde o líquido se mistura à fibra pela contração dos pilares ruminais e reticulares. A população microbiana é mantida ativa pelo suprimento regular de substrato e os mecanismos que adicionalmente tornam o rúmen um ecossistema singular são a ruminação, a eructação, o suprimento de saliva (tampão químico), a motilidade e a remoção de produtos finais por assimilação ou passagem**.** (CZERKAWSKI, 1986).

A extensão da digestão microbiana dos carboidratos no rúmen é modulada pela degradabilidade e o tempo de permanência do alimento no órgão (BLAXTER et al., 1956; WALDO et al., 1972), dessa forma a interação entre o desaparecimento por absorção ou passagem atrelado a mecanismos fisiológicos do animal e condições do ambiente alimentar (MERTENS, 1987) implicam variações no consumo alimentar. Mertens (1997) propôs um modelo para explicar o desaparecimento da fibra da câmara de fermentação em ruminantes. O modelo sugere que o consumo máximo de matéria seca potencialmente digestível sofre maior influência da qualidade da fibra ingerida e taxa de passagem do que pela taxa de digestão. Entretanto, estudos citados por Mertens (1997) demonstram ainda que a ingestão de matéria seca (IMS) por vacas leiteiras tem relação direta com a degradabilidade da FDN (fibra insolúvel em detergente neutro). O autor ainda relata que o conteúdo de FDN é o melhor componente do alimento para estimar a IMS em ruminantes.

Os experimentos de digestão *in vivo* constituem a forma mais exata para se obter o valor nutritivo dos alimentos. No entanto, apresentam limitações de tempo,

mão de obra e grande quantidade de material a ser avaliado, além disso, as variações entre animais são fatores limitantes para a acurácia da técnica. Uma boa alternativa para contornar esses problemas são os estudos de degradabilidade da fibra *in vitro*. Essas técnicas compreendem estudos sobre o desaparecimento da massa do material incubado ao longo do período de incubação (PELL et al., 1994).

As técnicas *in vitro* merecem destaque por apresentarem como vantagens a rapidez e uniformidade físico-química do microambiente de fermentação**.** (MALAFAIA et al., 1998). Quando o objetivo do ensaio é determinar as propriedades intrínsecas do alimento, as condições *in vitro* têm elevada confiabilidade, pois, permitem maior controle do ambiente possibilitando isolar as características de interesse do alimento. Mas, apesar de serem muito utilizadas, podem apresentar falhas quando extrapoladas para uma condição de rúmen, isso pode ocorrer por má conservação do inóculo ruminal, do acréscimo de nutrientes essenciais para preparação do meio de cultura, dos tampões e equipamentos que podem não garantir as condições de pH e anaerobiose necessárias**.** (VAN SOEST, 1994).

A técnica da fibra marcada demonstra-se eficiente em estimar os parâmetros de passagem das partículas alimentares pelo TGI dos ruminantes. Contudo, os marcadores externos devem ser usados com cautela, devido a variações em técnicas de marcação que proporcionam mudanças na densidade e na degradabilidade das partículas marcadas, assim como também é possível a ocorrência de migração do marcador originalmente complexado à fibra que se intencionou marcar para outras partículas do alimento ou da própria digesta. (UDÉN et al, 1980; EHLE, 1984; COMBS et al., 1992).

Assim, as estimativas de digestibilidade e cinética de trânsito obtidas a partir das técnicas de incubação *in vitro* e por fibra marcada podem gerar dados confiáveis e úteis à nutrição de ruminantes, tais como: quantidade de massa de fibra no rúmen e quantidade de fibra digerida no TGI.

Porém, a técnica da fibra marcada ainda possui limitações, pois mesmo depois dos metais complexados à fibra, pode acontecer de se desligarem e migrarem para outras partículas ou ainda ficar na fase líquida do rúmen, o que condenaria os resultados obtidos na coleta das amostras e consequentemente na leitura e interpretação dos dados. Por este problema citado, pode-se lançar mão de técnicas analíticas de lavagem das amostras de digesta ou de fezes para a retirada dos metais fracamente ligados, que se desligaram da fibra inicialmente marcada e ligaram-se a

outra, bem como a retirada de metais que saíram juntos com a amostra sem estarem complexados a nenhuma fibra. A lavagem possibilitará a análise somente dos marcadores inicialmente complexados à fibra. (ELLIS e BEEVER, 1984).

Os modelos de dinâmica da digestão não só permitem a previsão do valor nutritivo para forragens como também preveem mudanças de características intrínsecas na dieta, e uma melhor compreensão dos fatores que podem limitar os processos digestivos. As críticas em relação às predições de modelos, via de regra são mais possíveis de ocorrerem em virtude de estimativas errôneas de parâmetros da digestão e cinética de passagem em vez de problemas na concepção da estrutura do modelo**.** (ILLIUS e GORDON, 1991).

A modelagem é, sobretudo, uma forma de integrar diferentes fenômenos que, de outra forma é limitada pelos recursos humanos e materiais disponíveis. Portanto, é necessário avaliar o poder preditivo dos diferentes modelos existentes para que possam ser usados, com menor chance de cometer erros, nas estimativas referentes à nutrição e recomendações zootécnicas.

2. OBJETIVO

Avaliar diferentes marcadores e técnicas analíticas de recuperação dos marcadores nas fezes sobre as estimativas dos parâmetros do trânsito de partículas e sua influência sobre a precisão e acurácia na estimação da digestibilidade e da massa ruminal de fibra em novilhos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. FIBRA NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

Devido à facilidade de acesso e adequação nos mais variados ambientes, as forrageiras são o principal componente de dietas voltadas para os ruminantes, fazendo uso dos alimentos concentrados apenas para suplementar as deficiências nutricionais das forragens. As forragens são importantes fontes de nutrientes, além de fornecer proteína e energia, proporcionam fibras essenciais à ruminação e manutenção da saúde do ambiente ruminal. Na formulação de dietas para os ruminantes, a qualidade e a quantidade de forragem são fatores a serem considerados para o atendimento das exigências nutricionais incluindo a necessidade de fibra desses animais**.** (MERTENS, 1997). Desta forma, as fibras estruturais das plantas têm sido melhor estudadas para o entendimento do seu comportamento na câmara de fermentação dos animais herbívoros.

Ao longo do desenvolvimento vegetativo das plantas, elas passam por alterações estruturais que modificam a concentração dos seus componentes assim como também alteram seu valor nutricional. A disponibilidade dos carboidratos das forrageiras como nutriente para o animal depende dos açúcares que os compõem, das ligações estabelecidas entre eles e de outros fatores de caráter físico-químico**.** (VAN SOEST, 1994).

No conteúdo celular vegetal foram encontrados os carboidratos não estruturais (CNE) como glicose e frutose, e carboidratos de reserva como o amido. Na parede da célula vegetal destacam os carboidratos estruturais (CE), representados principalmente pela pectina, hemicelulose e celulose. São estes os elementos mais importantes na determinação da qualidade dos alimentos volumosos a serem inseridos em dietas de ruminantes. (VAN SOEST, 1994). Os CE têm função estrutural para os vegetais**,** fornecendo o suporte físico necessário para crescimento e resistência das plantas. Os CNE compõem o conteúdo celular e exercem funções fisiológicas e de reserva de energia para reprodução, crescimento e sobrevivência durante períodos de estresse. (VAN SOEST, 1994). A separação dos carboidratos em CE e CNE refere-se unicamente à função destes desempenhada nas plantas, não

devendo ser confundido com sua finalidade na nutrição de ruminantes. (MERTENS, 1987).

Devido a essa função estrutural, dos carboidratos que compõem a parede celular, é comum a confusão entre os termos parede celular e carboidratos fibrosos. O conceito de fibra, aplicado à nutrição animal, tem como definição: fração do alimento, indigestível ou de lenta digestão, que ocupa espaço no trato gastrintestinal**.** (MERTENS, 1997). Sendo assim, não pode confundir os termos parede celular com fibra alimentar, pois, a pectina compõe a parede celular e no trato gastrintestinal dos animais é rapidamente absorvida não se comportando como fibra.

A primeira terminologia empregada nas análises quantitativas de fibra foi estabelecida por volta de 1860 e englobava todo material fibroso do alimento como um único componente dietético, definido então como fibra bruta (FB), porém esse termo ainda permitia subdivisões, pois frações distintas da FB se comportavam com diferentes eficiências de digestão. Este fato prejudicava o entendimento acerca da disponibilidade de energia metabolizável para os animais. Então, com a contribuição de Van Soest e Wine (1968) o termo e a própria entidade FB caiu em desuso. Os autores propuseram o método detergente no qual se dividiu a FB em dois componentes: a fibra insolúvel em detergente ácido (FDA), que foi desenvolvida inicialmente apenas como um tratamento prévio na determinação da lignina com ácido sulfúrico a 72% e a fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fração da fibra do alimento que melhor representa a causa de repleção ou enchimento no TGI. A metodologia proposta pode explicar de maneira mais acurada a disponibilidade de energia nos processos de digestão em ruminantes.

A fração FDA dos alimentos é composta pelos componentes celulose e lignina como principais constituintes, além de cinza e alguns compostos nitrogenados**.** (VAN SOEST, 1994). A fração FDN inclui celulose, hemicelulose e lignina. A primeira proposta de metodologia para definir a FDN, descrita por Van Soest e Wine (1968), contemplava a utilização de sulfito de sódio para remover bases nitrogenadas contidas nos carboidratos estruturais que compunham a FDN (MERTENS, 2002). Devido ao excesso de amido, nas amostras de determinados alimentos, o método original era ineficaz em retirar esse polissacarídeo, então Van Soest et al. (1991) ajustaram a metodologia com a inclusão de amilase estável a quente no procedimento e retiraram do procedimento o sulfito de sódio, pois temiam sua influência na perda de composto

fenólico e lignina, a técnica ficou conhecida como método do resíduo de detergente neutro (RDN). Todavia, a técnica ainda apresentava limitações (MERTENS, 2002).

A técnica ainda passou por outras alterações, acrescentando novamente o sulfito de sódio e o uso da amilase com objetivo de eliminar possíveis contaminantes como proteínas aderidas à parede celular e o amido excedente, respectivamente, o que permitiu quantificar com precisão e acurácia a fibra do alimento (MERTENS, 2002). Dessa forma, cabe salientar que a ocorrência de divergência entre resultados dos teores de FDN entre laboratórios muitas vezes está associada à escolha da técnica que foi usada**.** (MERTENS, 2002). Atualmente o método de referência para quantificar a fibra é feito por meio de tratamento em solução detergente neutro com sulfito de sódio e adição de amilase termoestável padronizada, no que se refere à sua quantidade mínima com atividade enzimática suficiente durante o processo de digestão, sendo o resíduo final queimado para correção das cinzas insolúveis, obtendo o produto final denominado aFDNmo ou matéria orgânica fibrosa. (MERTENS, 2002).

Com relação à fração indigestível da fibra não tem como deixar de falar da lignina, polímero fenólico altamente ramificado com estrutura complexa. Para a planta ela exerce função estrutural sendo muito importante no desenvolvimento fisiológico da mesma, à medida que a planta se desenvolve ocorre maior acúmulo de lignina**,** fato que viabiliza o crescimento da mesma. No entanto, a estrutura da lignina se associa com alguns carboidratos estruturais (celulose e hemicelulose) e também se complexa com determinadas proteínas da parede celular, tornando esses nutrientes indisponíveis aos processos de digestão, fato que implica diretamente com a digestibilidade da fibra para a nutrição de ruminantes (VAN SOEST e WINE, 1968). As características das plantas tais como composição, estrutura e concentrações variam de acordo com a origem botânica, tecido que compõe a estrutura, idade e também fatores ambientais aos quais a planta foi submetida.

3.2. ESTIMATIVA DA DEGRADAÇÃO RUMINAL

Os carboidratos são compostos orgânicos que compõem a maior parte dos sistemas biológicos, além disso, são fundamentais para nutrição dos primeiros níveis tróficos da teia alimentar. (NELSON e COX, 2008). A parede celular vegetal representa a principal fonte de energia para os herbívoros, e entre eles o que melhor faz uso da energia química contida nessas estruturas são os ruminantes, que por sua

vez, têm a capacidade de aproveitar alimentos fibrosos de baixa qualidade e transformá-los em produtos úteis à satisfação das necessidades nutricionais humanas (HOFMANN, 1988; e VAN SOEST, 1994). A retenção dos alimentos no rúmen-retículo permite uma relação simbiótica entre o animal e os microrganismos ruminais capazes de utilizar os alimentos ingeridos como substratos para o seu crescimento e, como consequência, disponibilizar nutrientes para o hospedeiro**.** (HUNGATE, 1988).

A capacidade da dieta em suprir os nutrientes exigidos pelos ruminantes e proporcionar um desempenho ideal é diretamente influenciada pelo consumo de alimentos, e pela degradabilidade do mesmo. Sabendo da interação simbiótica dos microrganismos com os ruminantes muito tem se feito para desenvolver novas técnicas para estabelecer as quantidades e os teores de nutrientes necessários para melhor resposta dos microrganismos e, consequentemente, dos animais. (NOCEK, 1998; VIEIRA, 1995).

Dentre os componentes que caracterizam o valor nutritivo de um alimento (consumo, digestibilidade e eficiência energética), a digestibilidade é a medida mais precisa quando comparada às demais. Isto está relacionado ao fato de a digestibilidade oferecer menor variação entre animais ao estabelecer o valor alimentar, além do quê, o consumo em ensaios de pastejo é obtido por meio de estimativas indiretas que não são tão confiáveis. (VAN SOEST, 1994). O processo de digestão da fibra consiste na hidrólise dos polissacarídeos e a conversão dos monossacarídeos resultantes em ácidos graxos voláteis, gases da fermentação e em calor**.** (VARGA et al., 1998). Dessa forma, digestibilidade da fibra pode ser definida como a proporção da fibra ingerida que não é excretada nas fezes.

As técnicas de análise para estimar a degradabilidade da matéria orgânica dos alimentos, utilizadas na alimentação de ruminantes, consistem na quantificação do desaparecimento do substrato durante a incubação (TILLEY e TERRY, 1963; GOERING e VAN SOEST, 1970). Com exceção do caso da produção cumulativa de gases, onde a digestão é estimada de forma indireta pela quantificação da produção de gases.

Os sistemas de digestão química são rápidos e oferecem resultados reprodutíveis, no entanto, não refletem o processo biológico digestivo que ocorre no ambiente ruminal. Dentre as técnicas de degradabilidade do alimento, na nutrição de ruminantes, destacam-se os ensaios de digestão *in vitro* com inócuo de conteúdo ruminal. A realização de ensaios biológicos para quantificação da degradação do

alimento tem como vantagens a rapidez e a uniformidade físico-química do microambiente de fermentação. (VAN SOEST, 1994).

3.2.1. Técnicas de degradação in vitro

Os ensaios de digestão *in vitro* possibilitam estimativas confiáveis sobre a degradação dos alimentos no rúmen. Já existem várias técnicas propostas com o objetivo de estimar a digestibilidade dos alimentos utilizados na nutrição de ruminantes, dentre elas os métodos gravimétricos que utilizam um único tempo de incubação, como a digestibilidade *in vitro* proposta por Tilley e Terry (1963). As técnicas *in vitro* são uma importante ferramenta na nutrição de ruminantes e se aplicadas de maneira correta têm muito a contribuir no entendimento na cinética de digestão.

A digestibilidade, principalmente de carboidratos, muitas vezes é estimada por sistemas *in vitro* que simulam o processo digestivo no rúmen. Os sistemas *in vitro* podem ser mais práticos e permitem a quantificação das características cinéticas intrínsecas do alimento, pois no sistema *in vivo* os microrganismos e as enzimas são sensíveis a fatores dietéticos que influenciam a taxa e a extensão da digestão**.** (MERTENS, 2005). Os sistemas químicos são rápidos e oferecem resultados reprodutíveis, no entanto, não refletem o processo biológico digestivo que ocorre no ambiente ruminal, e por isso há a necessidade de realização de ensaios biológicos para quantificação da degradação do alimento (VAN SOEST, 1994).

A eficiência da técnica de degradação *in vitro,* dos complexos polímeros encontrados nos vegetais, apenas pode ocorrer de maneira correta caso os microrganismos ruminais sejam cultivados da mesma forma como são encontrados no ambiente ruminal, pois, as exigências nutricionais de alguns microrganismos são atendidas pelos produtos finais de outros e em casos específicos pela função metanogênica e reoxidação dos equivalentes redutores. (RUSSELL e STROBEL, 1993). A diversidade no metabolismo das espécies microbianas do rúmen pode ser diferenciada quanto à utilização de carboidratos estruturais e não-estruturais (RUSSELL et al., 1992), assim como também pela ação fermentadora de ácidos orgânicos, proteolítica e metanogênica (BROCK et al., 1994; VAN SOEST, 1994).

O método de análise de fermentação *in vitro* (TILLEY e TERRY, 1963; GOERING e VAN SOEST, 1970) é amplamente utilizado e apresenta como limitações:

1) a análise da fibra destrói a amostra e são necessárias diferentes amostras para cada ponto de avaliação, de forma que estes estudos de cinética são trabalhosos, cansativos e com poucas repetições em cada tempo de incubação; 2) estágios iniciais da digestão são de difícil estudo devido à perda de massa correspondente ser baixa; 3) a taxa de degradação dos componentes solúveis da forragem pode não ser determinada. Tais desvantagens não inviabilizam a utilização do método, apenas devem ser conhecidas para execução da técnica de maneira que não prejudique os resultados.

As grandes vantagens da utilização das técnicas *in vitro* são: a não manutenção de vários animais fistulados, o que torna esta técnica menos trabalhosa e mais barata; possibilidade de utilização de números maiores de amostras devido à rapidez e facilidade da técnica (CONE et al., 1996).

3.3. PARÂMETROS CINÉTICOS DE PASSAGEM DE PARTÍCULA

A lenta taxa de passagem da digesta pelo rúmen-retículo de animais alimentados com forragem de baixa qualidade tem sido atribuída às partículas grandes, com pequena probabilidade de escape do rúmen-retículo. (HUNGATE, 1966; KENNEDY e MURPHY, 1988). Assim, a quebra das partículas da fibra deve ocorrer até que atinjam tamanhos e densidades que lhes possibilitem passar pelo orifício retículo-omasal. A degradação física das forragens ingeridas pelos ruminantes, em fragmentos cada vez menores, dá-se pela combinação dos seguintes eventos: mastigação inicial durante a ingestão; mastigação durante a ruminação; fricção devido à movimentação da digesta e digestão microbiana. (FAICHNEY, 2005). A redução do tamanho de partículas é devido, principalmente, à ruminação, mas a fermentação enfraquece os tecidos e aumenta sua fragilidade, o que contribui com a diminuição das partículas alimentares nas transferências entre os compartimentos do rúmen**.** (ALLEN e MERTENS, 1988).

Aumentos na taxa de passagem podem ser obtidos pela redução dessas partículas para tamanhos menores que 3,6 mm em bovinos. (SHAVER et al., 1986). No entanto, em estudos com ovinos, Poppi et al. (1980) constataram que, para ocorrer a saída das partículas do rúmen, é necessário que elas sejam reduzidas a um tamanho crítico, que seria cerca de 1,18 mm. Caso todas as partículas menores que o tamanho crítico, escapassem do rúmen com a mesma facilidade, a proporção dos

diversos tamanhos de partículas seria a mesma no conteúdo dos compartimentos rúmen-retículo e abomaso. Pereira et al. (2002) verificaram, em novilhas, aumento contínuo na resistência ao escape das partículas do rúmen com o aumento de seu tamanho, devendo ser ressaltado que as maiores que 1,19 mm escaparam, apesar de enfrentarem alta resistência, e as menores que este tamanho enfrentaram diferentes graus de resistência ao escape.

Além do tamanho da partícula a densidade também é importante para entender o fluxo da digestão, pois é alterada ao longo do trato digestivo por ações como hidratação, redução de partículas devido a ruminação e ataque microbiano, além da adsorção de gás (EHLE, 1984).

O que é observado há algum tempo são as características físicas de um alimento como fator importante que contribui para determinar a sua taxa de passagem e, assim, sua digestibilidade. (BLAXTER et al., 1956). Nesse sentido, para descrever exatamente o comportamento de diferentes componentes da digesta no trato digestivo, diferentes modelos matemáticos são necessários. Modelos com ordem dependente do tempo em geral, que descrevem o movimento de partículas grandes têm maior ordem de dependência do tempo que os modelos que descrevem a passagem de líquido ou de pequenas partículas (ELLIS et al., 1994, 1999; QUIROZ et al., 1988).

3.4. INDICADORES EXTERNOS PARA ESTUDOS DE CINÉTICA DE TRÂNSITO DE PARTÍCULAS EM RUMINANTES

Os indicadores foram muito estudados nas décadas de 70 e 80 para verificar a cinética da parte sólida da digesta no TGI. Esses indicadores têm problemas para satisfazer os critérios estabelecidos para um indicador ideal (FAHEY e JUNG, 1983).

Nos últimos trinta anos nenhum tipo de marcador foi proposto e muito menos um marcador que atendesse todos os critérios de um bom marcador. Ademais, os marcadores disponíveis para estudos de taxa de passagem são os mesmos que foram exaustivamente estudados no terço final do século passado, como é o caso dos metais terras raras (HARTNELL e SATTER, 1979; TEETER et al., 1984) e o cromo (UDÉN et al., 1980; EHLE, 1984). Metodologias que envolvem uso de isótopos também são adotadas em alguns centros de pesquisa (GROVUM e WILLIAM, 1973), porém o fato de necessitar de reator nuclear, o alto custo para que possam ser produzidos e os

aspectos legais para produção e utilização de isótopos restringem bastante seu uso em muitos países, inclusive no Brasil.

3.4.1. Materiais complexados com cromo (Cr)

Os metais mordentes foram inicialmente criados como um meio de aumentar a resistência dos corantes (VAN SOEST, 1994). A fibra marcada tem como objetivo formar um marcador permanentemente ligado a essa fração do alimento. Complexo trivalente entre Cr e a fibra é formado por redução de complexos hexavalentes de Cr por ácido ascórbico e, assim, o Cr faz ligações covalentes com a matéria orgânica (Figura 2) (VAN SOEST et al., 1986; VAN SOEST, 1994).

Em função de o Cr poder formar complexos estáveis com praticamente qualquer composto que contenha grupos álcoois livres (Hidroxila), a fibra deve estar livre de compostos potencialmente solúveis (amido, açúcar e outras substâncias) que possam reagir com o Cr, e, dessa forma, evitar a produção de complexos solúveis. Os complexos de Cr com parede celular de plantas e proteínas são altamente insolúveis e totalmente estáveis no rúmen**.** (UDÉN et al., 1980).

Devido à força da ligação, o Cr reduz a digestibilidade da porção do alimento a ele ligado (digestibilidade zero)**.** (VAN SOEST et al., 1986). Alta concentração de Cr ≥ 8% na fibra, conforme a recomendação de Udén et al. (1980), também aumenta a densidade das partículas, de modo que a fibra marcada não se comporte no rúmen de forma compatível à mesma porção do alimento não marcada (EHLE, 1984; OFFER e DIXON, 2000). Devido a essa característica, o Cr restringe sua utilização apenas para baixas concentrações (~2% na fibra marcada ou menos). Em níveis mais baixos o Cr influencia em menor grau a digestibilidade (UDÉN et al.,1980) e a gravidade específica da partícula. Contudo, o Cr mordente, entre os marcadores externos mais consagrados como as terras raras, é o único que se mantém aderido à partícula de forma irreversível**.** (VAN SOEST et al., 1986). Ou seja, o Cr ligado à fibra permanece ligado à mesma em todo processo digestório até o seu surgimento nas fezes.

3.4.2. Metais terras raras

Os complexos de elementos de terras raras são os indicadores mais populares e, durante algum tempo, tinham como premissa que todos esses elementos eram

biologicamente inertes e se comportavam de forma semelhante (VAN SOEST, et al., 1986). Há 17 elementos que podem ser chamados de terras raras, incluindo os 14 lantanídeos, o ítrio e o escândio. Todas as terras raras são trivalentes com a valência dominante, embora algumas possam apresentar outras valências (2 ou 4). (BERNARD e DOREAU, 2000). As terras raras têm maior raio iônico do que os outros elementos trivalentes, são bases mais fortes e têm menor capacidade de se ligar do que o Cr, embora sejam mais fortes do que qualquer íon bivalente ou monovalente (VAN SOEST et al., 1986). Essa família de metais, em pequenas concentrações (abaixo de 10-11 Mol L^{-1}) tem fortes propriedades adsortivas (MacRAE, 1974) e faz ligações com a matéria orgânica fibrosa por troca de cátion (ALLEN et al., 1985; BERNARD e DOREAU, 2000). Esses autores ainda salientaram que a capacidade de troca de cátion tem grande variação entre os alimentos, contudo, em forrageiras, essa variação é pequena e, além do mais, a capacidade de troca de cátion dos alimentos no rúmen é dependente da FDN desses alimentos. Portanto, a capacidade de troca de cátion varia de baixa a alta para o bagaço de cana, silagem de milho, palha de aveia, palha de trigo, farelo de trigo, fubá, fenos de gramíneas temperadas e feno de leguminosas**.** (ALLEN et al., 1985).

A atividade biológica entre as terras raras é maior para elementos mais leves, mas pode variar de forma irregular, com número atômico. A afinidade à parede celular da planta é menor nas terras raras mais leves (La e Ce), aumenta para o máximo com samário, diminui para valor mínimo com disprósio e hólmio, e aumenta novamente em direção ao final da série lantanídeos (VAN SOEST et al., 1986; BERNARD e DOREAU, 2000).

Um problema clássico das terras raras é a migração a partir das partículas complexas para outras partículas da digesta (HARTNELL e SATTER, 1979; TEETER et al, 1984), principalmente as de menor tamanho e que estão em processo digestório mais avançado no rúmen (ERDMAN e SMITH, 1995). Essa migração vicia as estimativas dos parâmetros cinéticos de partículas no rúmen com o uso de terras raras. Uma alternativa para tentar reparar esse problema foi proposta por Ellis e Beever (1984), quando propuseram um tratamento com diferentes ácidos para que os metais terras raras compitam com o H^+ por sítios de ligação da fibra. Os resultados apresentados por esses autores demonstraram que as ligações entre o Yb e a fibra podem ser fortes o suficiente para resistir à dissociação em pH 1.5.

3.4.3. Características de um bom marcador

Para que um indicador seja considerado ideal, deve possuir algumas propriedades fundamentais, dentre elas, ser inerte, não tóxico, não ter função fisiológica, não deve ser absorvido ou metabolizado, não deve afetar a população microbiana do trato gastrintestinal, deve misturar-se bem ao alimento e permanecer uniformemente distribuído na digesta, deve fluir paralelamente ou ser fisicamente similar ou se associar intimamente com o material a ser avaliado, além de ser completamente recuperável e possuir um método de quantificação sensível, prático e preciso (HUHTANEN et al., 1995).

Estimativas de taxa de passagem para partículas e líquidos exigem que os marcadores sejam recuperáveis e que não se separem da fração marcada. Dos marcadores disponíveis, individualmente, nenhum deles satisfaz totalmente essas condições. Os marcadores de partículas são menos satisfatórios que os marcadores da fase líquida, principalmente, pelo fato de apresentarem problemas com a migração do marcador para partículas originalmente não marcadas (HARTNELL e SATTER, 1979; UDÉN et al., 1980; OWENS e HANSON, 1992).

Os átomos de cromo, principal metal mordente, devem ser recuperados com a matriz indigestível da fibra no qual eles foram ligados. O cromo (III) é o principal metal que forma ligações estáveis com a fração do alimento (UDÉN et al., 1980).

Um dos metais mais utilizados em cinética de trânsito são os elementos terras raras ou lantanídeos, que mesmo com algumas limitações, como a migração no ambiente ruminal, são usados amplamente por serem indigestíveis, quantitativamente excretados e facilmente analisados por vários métodos (HARTNELL e SATTER, 1979; MOORE et al, 1992; POND, et al., 1989).

3.5. VALOR PREDITIVO DE MODELOS

Inicialmente é necessário verificar se o modelo tem capacidade de predição, para isso, Dent e Blackie (1979) sugeriram uma hipótese nula mais relevante, que testa se os coeficientes de interceptação e inclinação simultaneamente não são diferentes de zero e da linha de unidade, respectivamente, e Mayer et al. (1994) mostraram a derivação com um termo a menos.

O viés médio (MB) provavelmente é a estatística mais antiga e mais utilizada para avaliar a precisão do modelo. Seu cálculo é baseado na diferença média entre os valores observados e os valores previstos pelo modelo (Cochran e Cox, 1957). Um modelo matemático pode ter uma estimativa de MB mais baixa se os pontos de dados estiverem espalhados uniformemente em torno da linha Y = X.

Outro método de avaliação seria o coeficiente de determinação resistente (r^2) proposto por Kvalseth (1985). Este método usa as medianas ao invés das médias, resultando em um coeficiente que é mais resistente a outliers ou pontos de dados extremos.

A estatística de eficiência de modelagem (MEF) é interpretada a proporção de variação explicada pela linha Y = f (X1, ..., Xp) . Esta estatística tem sido amplamente utilizada em modelos de hidrologia (Byers et al., 1989; Loague e Green, 1991; Zacharias et al., 1996), mas certamente podem ser usados em modelos biológicos.

O coeficiente de determinação do modelo (CD) é a proporção da variância total dos dados observados para o quadrado da diferença entre o modelo predito e a média dos dados observados. Portanto, a estatística do CD explica a proporção da variância total dos valores observados explicada pelos dados previstos (Loague e Green, 1991). Quanto mais perto da linha de unidade, melhor as previsões do modelo.

O erro quadrático médio de predição (MSEP) é provavelmente a estimativa mais comum e confiável para medir a precisão preditiva de um modelo, consiste na diferença entre os valores observados (Yi) e os valores previstos pelo modelo (f(X1, ..., Xp)i) em vez do valor previsto de regressão.

Ainda outra questão importante a ser abordada na avaliação da validade do modelo é se os valores previstos pelo modelo forem precisos e acurados, ao mesmo tempo, em um intervalo e estiverem bem justapostos ao longo da linha de unidade, desde a origem. O coeficiente de correlação de concordância (CCC; Lin, 1989), também conhecido como índice de reprodutibilidade, foi sugerido simultaneamente para a precisão e contido nele, Cb para a verificação da acurácia, fazendo uma correção de polarização que indica até que ponto a linha de regressão se desvia da inclinação da linha de unidade.

3.6. DINÂMICA DE *POOL* ÚNICO DO CONTEÚDO FIBROSO NO RÚMEN

A digestão do alimento fibroso por ruminantes é dependente da permanência do alimento no órgão de fermentação rúmen-retículo (RR), dessa forma, são afetados pela passagem e consumo de alimento pelo animal. O consumo de matéria seca (CMS), de forma geral, é o fato mais relevante que afeta o desempenho animal, pois ele que coordena a entrada, em quantidade suficiente ou não, de nutrientes para atender a demanda produtiva dos animais (MERTENS, 1987; VAN SOEST, 1994), outro fator que deve ser levado em conta é a influência que o CMS exerce sobre a taxa de degradação e de passagem (Figura 1).

O esquema (Figura 1) representa o modelo de *pool* único da fibra, onde A_{FDN} e U_{FDN} correspondem respectivamente às frações digestíveis e indigestível da fibra insolúvel em detergente neutro, obtida a partir do consumo representado pelo F_{FDN}. A absorção é obtida a partir da competição entre a digestão da fração potencialmente degradável (A_{FDN}) e seu escape do compartimento RR. A fração U_{FDN} permanece inalterada e seu desaparecimento se dá unicamente pelo escape. As variáveis k_d e k denotam as taxas específicas de degradação e escape e são expressas em unidades recíprocas do tempo.

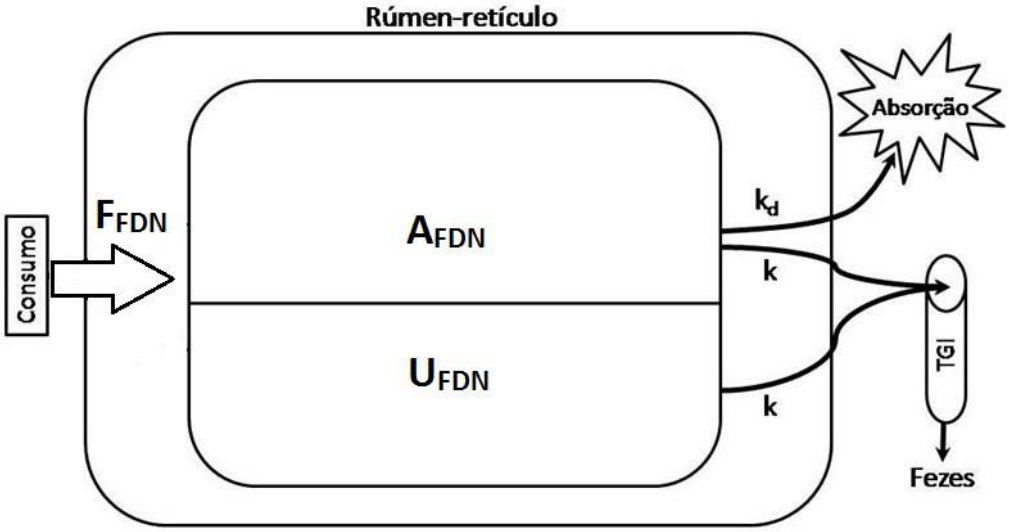

Figura 1: Compartimentalização da massa ruminal de fibra no rúmen e as forças que atuam sobre a saída das partículas do referido compartimento**.** (Adaptado de Allen e Mertens, 1988).

O marco de conhecimento que proporciona embasamento teórico para o entendimento do modelo proposto na Figura 1 é o mesmo que rege a *Lei de Ação das*

Massas, caracterizado como processo cinético de primeira ordem, no qual a reação é limitada apenas pela disponibilidade de substrato.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. ORIGEM DOS DADOS

4.1.1. Dados para avaliação do modelo de digestibilidade e para as estimativas da cinética de trânsito

Os dados de digestibilidade observados da matéria orgânica fibrosa (D_{FDN}) foram obtidos do experimento de Virgínio Júnior (2014). O referido trabalho foi conduzido em dois quadrados Latinos balanceados para quatro tratamentos e simultaneamente conduzidos (LUCAS, 1957.). Foram utilizados quatro níveis de oferta diária de fibra insolúvel em detergente neutro escalonada para a massa corporal dos animais: 3, 6, 9 e 12 g.(kg.dia^{-1})$^{-1}$. As dietas foram calculadas de modo a atingir os níveis de oferta de matéria orgânica fibrosa (aFDNmo[1]), utilizando dietas compostas por silagem de milho, farelo de soja e fubá de milho. A formulação de dietas com planos nutricionais crescentes para o nível de oferta de fibra foi tratada como um problema de programação não linear, conforme o procedimento descrito por Jardim et al. (2013; 2015). As exigências em energia e proteína metabolizáveis foram computadas com base no AFRC (1993). O algoritmo do modelo foi programado usando o programa Solver® do Microsoft Excel® com o método de resolução de Newton**.** (LASDON et al., 1978).

Os períodos experimentais duraram 21 dias, sendo 14 dias para adaptação e 7 dias de coleta. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia e as sobras coletadas antes da oferta matinal de alimento. Registros do montante oferecido, das sobras e das fezes, bem como amostragens do material oferecido, sobras e fezes foram efetuados diariamente durante o período de coleta**.** (VIRGÍNIO JÚNIOR, 2014).

Os perfis de cinética de trânsito de partículas fibrosas dos alimentos empregados no estudo de digestibilidade descrito por Virgínio Júnior (2014) foram extraídos de um conjunto de dados obtidos por Abreu (2016) (trabalhos conduzidos simultaneamente), que realizou ensaios para determinação da cinética de trânsito da

---

[1] aFDNmo: Metodologia da extração da fibra em detergente neutro com adição de sulfito, solução padronizada de α-amilase termoestável (termamyl 2X), incineração do resíduo para correção das cinzas e correção para o branco (MERTENS, 2002).

fibra de silagem de milho e de concentrados. Resumidamente, os alimentos (silagem de milho e concentrados) foram lavados em solução detergente neutra para extração do excesso de conteúdo celular (UDÉN et al., 1980; ELLIS e BEEVER, 1984). Diferentes porções dessa fibra foram complexadas com metais trivalentes comumente empregados em ensaios de digestão como indicadores de fase sólida. Os metais utilizados foram o Cromo (Cr-1%), Lantânio (La), Itérbio (Yb) e Európio (Eu) para a silagem de milho e o Ítrio (Y) para a fibra do farelo de soja e do milho moído que formaram o concentrado. As amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal de novilhos em cada período comum aos dois quadrados latinos nos seguintes tempos pretendidos: 0; 4; 8; 12; 16; 20; 24; 28; 32; 36; 40; 44; 48; 56; 64; 72; 80; 88; 96; 108; 120; 132; 144 e 192 horas após a ingestão do marcador. Entretanto, esses tempos foram corrigidos para os tempos de coleta efetivamente realizados para evitar o viés sobre as estimativas dos parâmetros da excreção fecal do indicador**.** (MATIS et al. 1989). Dessa forma, todos os componentes da dieta foram rastreados quanto ao seu trânsito pelo trato gastrintestinal dos novilhos. As amostras de fezes foram tratadas antes da leitura dos marcadores. Os tratamentos foram realizados nas amostras secas e moídas das fezes e consistiram em: tratamento padrão (sem lavagem), tratamento com água deionizada e tratamento com ácido acético 0,1 Mol L^{-1} (ABREU, 2016). Essas soluções foram as que proporcionaram maior competição entre o H+ e o metal pelos sítios de ligação das partículas fibrosas. A finalidade desses tratamentos foi manter apenas os metais que permaneceram fortemente ligados às partículas, supondo-se que seriam recuperados nas fezes junto a essa mesma partícula (ELLIS e BEEVER, 1984).

4.1.2. Dados para avaliação do modelo de predição da massa ruminal de fibra (Q_{FDN})

Valores de Q_{FDN} foram obtidos do trabalho de Tamy (2015). No referido experimento, foram utilizados 32 bovinos machos, mestiços, oriundos de cruzamentos das raças Gir Leiteiro e Holandês e mantidos em regime de confinamento recebendo dieta contendo silagem de milho acrescida de farelo de soja para corrigir a proteína da ração. As dietas foram formuladas com a utilização das equações propostas pelo AFRC (1993), para proporcionar ganho de 0,600 kg dia^{-1}.

Os animais foram periodicamente abatidos em intervalos de massa corporal de 50 kg, os primeiros com 100 kg e os últimos com 450 kg de massa corporal. O abate foi realizado com um intervalo de aproximadamente 3 horas após a oferta de alimento matinal, com intuito de garantir o máximo preenchimento do rúmen no momento da quantificação do conteúdo do órgão. Após a etapa de evisceração, as extremidades do rúmen foram amarradas para evitar perda de conteúdo e o órgão foi separado e encaminhado para o laboratório onde foi pesado cheio e vazio, possibilitando extrapolar a massa de conteúdo do órgão e amostragem do conteúdo para posteriores análises**,** visando a quantificação da matéria orgânica fibrosa (aFDNmo) segundo Mertens, (2002) presente no rúmen ou massa ruminal de fibra (Q_{FDN}, g).

As análises de composição bromatológica dos alimentos foram realizadas para caracterização dos alimentos utilizados nos ensaios de digestão (Tabela 1).

4.1.3. Degradação *in vitro* dos carboidratos fibrosos

As amostras dos alimentos oferecidos nos experimentos de Virgínio Júnior (2014) e Tamy (2015) foram incubadas por Rohem Júnior (1016), pela técnica *in vitro* com intuito de obter perfis de degradação da aFDNmo, medida sem o sulfito de sódio (MERTENS, 2002), obtida pela extração dos resíduos de incubação *in vitro*. Cabe ressaltar que cada batelada de incubação em banho-maria continha todos os alimentos e todos os tempos de incubação distribuídos em frascos de vidro; esta batelada correspondeu a uma corrida que, repetida no tempo (UDÉN et al., 2012), possibilitou a obtenção de duplicatas válidas. Os tempos de incubação empregados para as amostras de silagem de milho foram 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 72 e 96 horas e para os alimentos concentrados, 0, 2, 4, 8, 12, 20, 32, 48 e 64 horas. Foi incluído para cada tempo de incubação um branco (40 mL meio de cultura reduzido e 10 mL de inóculo) conforme metodologia detalhada por Rohem Júnior (2016).

4.2. INTERPRETAÇÃO CINÉTICA DOS PERFIS DE DEGRADAÇÃO GRAVIMÉTRICA DA FIBRA

A interpretação cinética dos perfis de degradação da fibra foi efetuada por Rohem Júnior (2016), empregando-se o modelo logístico decrescente (VIEIRA et al., 2012; VIEIRA et al., 2008a):

Tabela 1. Composição bromatológica dos componentes das diferentes dietas empregadas nos experimentos avaliados.

Alimento	Entidades nutricionais				
	MS[1]	Cinzas[2]	PB[2]	aFDNmo[2]	LDA[2]
FM†	903,7	14,1	93,0	106,5	5,4
FS†	905,2	66,3	500,0	139,7	11,6
SM1†	352,5	55,5	84,7	529,4	35,7
SM2†	329,6	55,2	83,9	571,2	47,2
SM3†	297,2	54,0	92,6	553,5	37,5
SM4†	284,6	53,4	87,9	606,0	44,9
SM-G1:G2#	355,9	67,9	76,7	530,7	37,8
SM-G3#	340,3	80,5	78,4	528,7	33,7
SM-G4#	277,3	67,2	81,6	475,9	28,9
SM-G5#	341,4	63,2	81,5	583,8	35,7
SM-G6#	278,6	56,9	86,3	481,9	30,1

[1] $g.kg^{-1}$ de matéria natural. [2] $g.kg^{-1}$ de matéria seca. † Estudo de digestibilidade *in vivo* (VIRGÍNIO JUNIOR, 2014): Fubá de milho (FM); Farelo de soja (FS); silagens de milho ofertadas nos quatro períodos experimentais (SM1, SM2, SM3 e SM4). # Estudo da quantidade de fibra ruminal (TAMY, 2015): silagens de milho utilizadas nos diferentes períodos de avaliação de consumo de cada grupo de animais abatidos (SM-G, G2, SM-G3, SM-G4, SM-G5 e SM-G6). Matéria seca (MS); Proteína bruta (PB); Matéria orgânica fibrosa (aFDNmo); Lignina em detergente ácido (LDA). Tabela obtida do trabalho de Rohem Júnior (2016).

$$R_t = \tilde{A}_{FDN} \times \left(\delta_a^{N_a} \exp(-k_d t) + \exp(-\lambda_a t) \sum_{i=1}^{N_a-1} \frac{\left(1-\delta_a^{N_a-i}\right)(\lambda_a t)^i}{i!} \right) + U_{FDN} \qquad \text{Eq. 1}$$

Em que R(t) é o resíduo de incubação em um determinado tempo t (h); $\tilde{A}_{FDN}$ representa a fração insolúvel potencialmente degradável, não disponível para digestão no tempo zero; N_a é um inteiro positivo que representa a ordem de

dependência do tempo para o preparo do substrato para a digestão, λ_a (1.h^{-1}) é a assíntota da taxa de preparação da fração potencialmente digerível e com sua respectiva taxa de digestão, k_d (1.h^{-1}); a constante $\delta_a = \lambda_a/(\lambda_a - k_d)$ simplifica o modelo e U_{NDF} representa a fração indigerível da aFDNom. Neste modelo, quando $\lambda_a \to \infty$, o modelo reduz-se ao caso exponencial simples**.** (VIEIRA et al., 2008a).

4.3. INTERPRETAÇÃO CINÉTICA DOS PERFIS DE EXCREÇÃO DOS INDICADORES COMPLEXADOS À FIBRA

O modelo descrito na Eq. (2) foi utilizado para interpretar os perfis de excreção de marcadores de fibra, sendo geralmente referidos como uma classe de modelos GN, em que, a sigla GN representa a distribuição gama e N a ordem de dependência do tempo**.** (ELLIS et al., 2002; MATIS et al., 1989; POND et al., 1988).

$$\dot{p}_o(t) = (\lambda t)^{N-1}\lambda \exp(-\lambda t)\,/(N-1)! \qquad \text{Eq. 2}$$

Em que λ (1/h) é o valor assintótico tempo-dependente da taxa fracionária de passagem $\forall N \in \mathbb{Z}^+ \wedge N \geq 2$. A função $\dot{p}_o(t)$ corresponde à função densidade de probabilidade de que uma dada partícula estará no exterior do TGI em um dado momento t. Para imitar os perfis temporais, sempre que $t < \tau$, $\dot{p}_o(t)$; caso contrário a Eq. (2) opera.

A fim de obter estimativas válidas para os parâmetros de trânsito de partículas com elementos estocásticos, pode-se ajustar o seguinte modelo segmentado depois de substituir o $\dot{p}_0(t^*)$ pela Eq.(2) ou Eq. (4) de acordo com MATIS et al. (1989):

$$C_t = \begin{cases} \gamma + e_t & , t < \tau(t^* < 0); \\ \gamma + C_0\dot{p}_o(t^*) + e_t & , t \geq \tau(t^* \geq 0). \end{cases} \qquad \text{Eq. 3}$$

Na Eq. (5), C_t e o e_t têm os mesmos significados que os descritos para a equação proposta por Dhanoa et al. (1985); em que $t^* = t - \tau$ e C_0 e τ, após a derivação sugerida por Vieira et al. (2008b), são a concentração do marcador no primeiro compartimento no tempo zero e o tempo de trânsito (h) para uma dada partícula marcada que passou através do orifício retículo-omasal recuperado na matéria fecal, respectivamente

4.4. CÁLCULO DA MASSA RUMINAL DE FIBRA ($\boldsymbol{Q_{FDN}}$)

A massa ruminal de fibra foi calculada a partir das estimativas dos parâmetros de degradação e passagem, sendo F_{FDN} o consumo de fibra do animal, A_{FDN} a fibra potencialmente digestível, N a ordem de dependência do tempo, k_d taxa de digestão, λ taxa de passagem e U_{FDN} a fração indigestível da fibra, obtidos após o ajuste do modelo GN aos perfis de excreção dos indicadores Cr, La, Eu e Yb (marcadores usados para fibra da silagem de milho) e Y (marcador usado para a fibra do farelo de soja e concentrado). Assim, para cada um dos j ingredientes da dieta será obtido um respectivo montante de fibra ruminal e assim somados, com base no modelo GN obtido segundo a dedução descrita por Silva (2014):

$$Q_{FDN} = \sum_j \left\{ \frac{F_{FDN_j} A_{FDN_j}}{\left(\lambda_j + k_{d_j}\right)} \sum_{i=1}^{N_j} \left[\frac{\lambda_j}{\left(\lambda_j + k_{d_j}\right)} \right]^{i-1} + \frac{F_{FDN_j} U_{FDN_j} N_j}{\lambda_j} \right\} \qquad \text{Eq. 4}$$

4.5. CÁLCULO DA QUANTIDADE DIÁRIA DE FIBRA DIGERIDA $\left(\boldsymbol{\bar{D}_{FDN_f}}\right)$

A quantidade diária de fibra digerida foi calculada com base na cinética de degradação e passagem dos alimentos empregados na confecção das dietas. Como será analisado o modelo GN para descrição dos perfis de excreção dos indicadores, para o cálculo da quantidade ruminal de fibra digerida a partir do modelo GN segundo a dedução descrita por Silva (2014) a seguir:

$$\bar{D}_{FDN_f} = \sum_j \left\{ \frac{F_{FDN_j} A_{FDN_j} k_{d_j}}{\left(\lambda_j + k_{d_j}\right)} \sum_{i=1}^{N_j} \left[\frac{\lambda_j}{\left(\lambda_j + k_{d_j}\right)} \right]^{i-1} \right\} \qquad \text{Eq. 5}$$

Convém ressaltar que os *J*-ésimos componentes dietéticos silagem de milho (marcada com Cr, Eu e Yb), farelo de soja (marcado com Y) e o fubá de milho (marcado com Y) foram aplicados às duas equações conforme o caso. Depois de calculada a digestão ruminal de fibra, será aplicado o coeficiente de digestibilidade intestinal sobre os carboidratos fibrosos que escaparam da digestão no rúmen (SNIFFEN et al., 1992), sendo a quantidade diária digerida no trato gastrintestinal equivalente, para o caso (GN), a:

$$\overline{D}_T = \overline{D}_{FDN_f} + 0{,}2\left(\sum_j F_{FDN_j} A_{FDN_j} - \overline{D}_{FDN_f}\right) \quad \text{Eq. 6}$$

Os consumos médios de fibra dos alimentos, bem como as massas corporais dos animais foram preditos a partir de modelos lineares mistos para os dados de Virgínio Júnior (2014), por meio do ajuste da Eq. 6 aos dados de consumo e massa corporal registrados nos quadrados latinos simultâneos:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + a_j + \tau_k + \alpha\tau_{ik} + e_{ijk} \quad \text{Eq. 7}$$

Em que y_{ijk} corresponde ao consumo de fibra do j-ésimo animal (a_j) observado durante o k-ésimo período (τ_k), quando lhe foi ofertado o i-ésimo nível de fibra (α_i) na dieta. A interação $\alpha\tau_{ik}$ é fixa, conforme o produto de seus fatores fixos, μ é uma constante inerente ao modelo e a_je e_{ijk} são efeitos aleatórios com valores esperados igual a zero e variância σ_a^2 e σ^2, respectivamente. A unidade experimental (SUBJECT) na Eq. 7 corresponde ao a_j e foi assim especificado e os pesos preditos foram dados pelo melhor preditor não viciado a seguir:

$$E\left[y_{ij}\middle|a_j\right] = \mu + \alpha_i + a_j + \tau_k + \alpha\tau_{ik}, \forall a\tau_{jk} \quad \text{Eq. 8}$$

O mesmo procedimento foi adotado para estimação do consumo de fibra do experimento de Tamy (2015), conforme a equação a seguir:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + a_j + e_{ij} \quad \text{Eq.9}$$

Em que y_{ij} corresponde ao consumo do j-ésimo animal registrado para cada um dos i= 1, 2, 3 a até 8 dias (τ_i) consecutivos usados para estimação do consumo voluntário de fibra. Com isso, o consumo médio será dado pelo melhor preditor linear não viciado a seguir:

$$E\left[y_{ij}\middle|a_j\right] = \sum_i n_{ij}\,(\mu + \tau_i + a_j)/n_{.j}, \forall j \quad \text{Eq.10}$$

As massas corporais para o experimento de Tamy (2015) não foram tomadas com repetição, sendo apenas registrada uma única massa para cada animal em cada período de coleta pré-abate, o que não permitiu predição e os cálculos não foram efetuados sobre os valores observados de massa corporal.

4.6. AVALIAÇÃO DO PODER PREDITIVO DOS MODELOS

A avaliação do poder preditivo dos modelos foi realizada por meio da combinação de métodos estatísticos empíricos sobre as predições do modelo**.** (TEDESCHI, 2006). As medidas de adequação empregadas na avaliação empírica dos modelos foram o fator de eficiência do modelo (MEF) (mais próximo de um melhor), com intervalos de confiança (0,001) para os parâmetros (MITCHELL, 1997) e o teste de hipótese conjunta para o intercepto igual a zero e a inclinação igual a um (NETER et al., 1996; DENT e BLACKIE, 1979; MAYER et al, 1994). Também foram utilizadas técnicas adicionais que permitiram avaliar a precisão, como o coeficiente de correlação de concordância (CCC) (mais próximo de um melhor) e acurácia do modelo (Cb) (mais próximo de um melhor) (LIN, 1989), o viés médio (MB) (mais próximo de zero melhor) (COCHRAN e COX, 1957), o coeficiente de determinação do modelo (CD) (mais próximo de um melhor) (LOAGUE e GREEN, 1991), coeficiente de determinação resistente (r^2) (mais próximo de um melhor) (KVALSETH, 1985) e o quadrado médio do erro de predição (MSEP) (quanto menor melhor) (BIBBY e TOUTENBURG, 1977). As estimativas dessas medidas foram obtidas por meio do software MES obtido em http://nutritionmodels.com/mes.html.

5. RESULTADOS

A análise do poder preditivo do modelo GN possibilitou identificar que o mesmo não foi capaz de predizer com precisão e acurácia a $\overline{D}_{FDN}$ para nenhum dos marcadores (Tabela 2), ou seja, os valores preditos não imitaram as observações reais.

Apesar da incapacidade de predição do modelo GN para $\overline{D}_{FDN}$, as combinações (marcador x tratamento fecal) foram avaliadas pelos índices de adequação de modelo. Numericamente, o Cr, independente do tratamento fecal, teve as melhores avaliações dos índices MSEP, MEF, MB, CCC e Cb, bem como as piores para r^2 e CD (Tabela 2), no entanto ao realizar uma análise dos gráficos, é notável a maior aproximação dos pares ordenados com a linha de unidade (X=Y) para a variável $\overline{D}_{FDN}$ quando utilizou o Cr (Figura 2.a, 2.b e 2.c). Os resultados obtidos para o todos os marcadores foram melhores para as fezes tratadas quando comparados às fezes não tratadas (Tabela 2 e Figuras 2 e 3).

Os marcadores Eu e La apresentaram valores numericamente semelhantes aos do Cr, com destaque para o Eu, que apresentou maior r^2, e o La apresentou CD mais próximo a um. (Tabela 2). Graficamente, porém, observa-se que houve maior distanciamento dos pares ordenados da linha de unidade. Os tratamentos feitos nas fezes trouxeram benefícios na retirada do La fracamente ligado às partículas recuperadas nas fezes (Tabela 2 e Figura 3.g, 3.h e 3.i).

Em relação ao marcador Yb foram observados os piores índices MSEP, MEF, MB, CCC e Cb (Tabela 2). Tal fato pode ser confirmado ao se efetuar uma inspeção gráfica, com a qual é possível observar nítido distanciamento dos pares ordenados à linha de unidade (Figura 3.j, 3.k e 3.l). Foi para o Yb que os tratamentos fecais se mostraram mais eficazes em eliminar o metal que não estava fortemente ligado à fibra, o que resultou em melhor avaliação segundo os índices de adequação de modelos para os tratamentos fecais (Tabela 2), melhorando a aderência dos pares ordenados à linha de unidade (Figura 3.j, 3.k e 3.l).

Tabela 2: Índices de adequação de modelo para quantidade diária de fibra digerida ($\overline{D}_{FDN}$).

Modelo#	Média	SD	Mediana	r^2	MSEP	MB	MEF	CD	Cb	CCC	$H_o(1)$*	$H_o(2)$*
Observações	1191	598	1299									
Cr-T1	1072	400	1133	0,927	69479	118,7	0,800	2,051	0,900	0,866	<0,001	<0,001
Cr-T2	1085	414	1153	0,937	59462	106,3	0,828	1,955	0,916	0,887	<0,001	<0,001
Cr-T3	1080	418	1150	0,940	58820	111,3	0,830	1,912	0,917	0,889	<0,001	<0,001
Eu-T1	1016	406	1068	0,950	78310	175,0	0,774	1,822	0,878	0,856	<0,001	<0,001
Eu-T2	1016	406	1065	0,953	77470	174,9	0,777	1,818	0,878	0,857	<0,001	<0,001
Eu-T3	1017	398	1093	0,945	81693	173,6	0,764	1,885	0,872	0,848	<0,001	<0,001
La-T1	1018	400	1072	0,952	79186	173,3	0,772	1,871	0,874	0,853	<0,001	<0,001
La-T2	1037	411	1082	0,945	70657	153,4	0,796	1,850	0,894	0,869	<0,001	<0,001
La-T3	1025	416	1090	0,952	71247	165,6	0,794	1,776	0,892	0,870	<0,001	<0,001
Yb-T1	913	345	965	0,942	150855	277,4	0,565	1,803	0,745	0,723	<0,001	<0,001
Yb-T2	951	355	1019	0,941	127270	240,0	0,633	1,928	0,785	0,761	<0,001	<0,001
Yb-T3	983	380	1033	0,944	101730	207,9	0,707	1,892	0,834	0,810	<0,001	<0,001

Em que: Desvio padrão (SD), estimativa de regressão do coeficiente de determinação (r^2), erro quadrático médio da predição (MSEP), viés médio (MB), fator de eficiência de modelagem (MEF), coeficiente de determinação do modelo (CD), precisão do modelo (Cb), coeficiente de correlação de concordância (CCC), *hipótese de Dent e Blackie, 1979 ($H_o(1)$) e hipótese de Mayer et al., 1994 ($H_o(2)$).

#marcador com seus respectivos tratamentos, Cromo (Cr), Európio (Eu), Lantânio (La), Itérbio (Yb), sem tratamento fecal (T1), fezes tratadas com água deionizada (T2), Fezes tratadas com ácido acético (T3).

Ao estimar Q_{FDN} o modelo foi capaz de realizar as predições de forma verossímil para três (Cr, Eu e La) dos quatro marcadores avaliados (Tabela 3). O Cr foi o marcador que melhor demonstrou estar firmemente ligado a fibra, e o modelo GN pode predizer a Q_{FDN} com precisão e acurácia, pois nesta avaliação obteve os melhores valores para os índices r^2, MSEP, MEF, MB, CCC e Cb**.** (Tabela 2). A diferença numérica entre os tratamentos fecais parece ser mínima, não se mostrando muito eficaz (Tabela 3 e Figura 4.a, 4.b e 4c). Apesar de o modelo imitar a realidade, ele gerou um vício, causando maior distanciamento dos pares coordenados da linha de unidade quando o consumo de FDN era aumentado (Figura 4.a, 4.b e 4c).

Os marcadores La e Eu novamente tiveram um comportamento de forma semelhante de acordo com os índices alcançados na avaliação empírica do modelo escolhido, assim como é possível após inspecionar os gráficos gerados**.** (Tabela 3 e Figuras 4.d, 4.e, 4.f, 5.g, 5.h e 5.i). O Eu teve o pior r^2 e La o pior CD para a variável Q_{FDN} (Tabela 3). Os valores preditos gerados a partir do modelo GN para as partículas marcadas com La e Eu se igualaram aos valores observados, independente de as fezes serem tratadas ou não. Contudo, foram observadas melhoras ainda maiores nos índices de avaliação quando as fezes foram tratadas com água deionizada ou com ácido acético**.** (Tabela 3). Assim como ocorreu com o Cr, o vício causado pelo modelo persistiu com o emprego dos marcadores Eu e La, havendo maior dispersão dos pares ordenados da linha de unidade à medida que o consumo de FDN aumentou**.** (Figuras 4.d, 4.e, 4.f, 5.g, 5.h e 5.i).

O modelo GN com base no Yb como marcador de partículas só foi capaz de igualar o predito como observado, tratando as fezes com ácido acético e aplicando as hipóteses conjuntas $H_0(1)$ e $H_0(2)$, isto é, para a=0 e b=1. As demais combinações não foram capazes de imitar a realidade**.** (Tabela 3). O marcador Yb teve o melhor valor no índice CD, porém, de forma geral, apresentou os piores valores nos índices de adequação de modelo**.** (Tabela 3).

O Yb também gerou o mesmo vício ocorrido nos demais marcadores já comentados, porém subestimou os pares ordenados desde o consumo mínimo de FDN**.** (Figura 5.j, 5.k e 5.l). No entanto, estes erros foram visivelmente minimizados quando as fezes foram tratadas tanto com água deionizada como com ácido acético. Em especial, este último tratamento foi mais eficiente em trazer melhorias nos resultados, conforme os índices alcançados**.** (Tabela 3 e figura 5.j, 5.l e 5.k).

Tabela 3: Índices de Adequação do Modelo para massa ruminal de fibra (Q_{FDN}).

Modelo[#]	Média	SD	Mediana	r^2	MSEP	MB	MEF	CD	Cb	CCC	$H_o(1)$	$H_o(2)$
Observações	2.742	1.113	2.556									
Cr-T1	2.602	858	2.416	0,369	808.374	139,6	0,327	1,640	0,957	0,582	0,476	0,455
Cr-T2	2.776	934	2.675	0,376	811.762	-34,3	0,324	1,419	0,984	0,603	0,393	0,371
Cr-T3	2.771	943	2.684	0,371	823.736	-29,3	0,314	1,393	0,986	0,601	0,362	0,340
Eu-T1	2.311	684	2.229	0,324	1.000.328	431,4	0,167	1,879	0,804	0,458	0,054	0,046
Eu-T2	2.307	672	2.251	0,305	1.026.490	434,5	0,145	1,916	0,796	0,440	0,056	0,048
Eu-T3	2.348	788	2.263	0,357	942.382	394,4	0,215	1,586	0,870	0,520	0,070	0,060
La-T1	2.324	728	2.204	0,323	996.651	418,4	0,170	1,743	0,834	0,474	0,063	0,053
La-T2	2.420	698	2.370	0,317	928.567	322,4	0,226	2,086	0,849	0,478	0,184	0,166
La-T3	2.418	751	2.293	0,328	924.079	323,8	0,230	1,842	0,877	0,502	0,167	0,150
Yb-T1	1.717	528	1.642	0,350	1.847.073	1.024,6	-0,539	0,910	0,458	0,271	<0,001	<0,001
Yb-T2	1.919	651	1.868	0,362	1.443.702	823,3	-0,203	1,103	0,619	0,373	<0,001	<0,001
Yb-T3	2.076	623	2.000	0,340	1.236.427	666,0	-0,030	1,465	0,670	0,390	0,002	0,001

Em que: Desvio padrão (SD), coeficiente de determinação de uma regressão linear de Y em X (r^2), erro quadrático médio da predição (MSEP), viés médio (MB), fator de eficiência de modelagem (MEF), coeficiente de determinação do modelo (CD), precisão do modelo (Cb), coeficiente de correlação de concordância (CCC), hipótese $H_o(1)$ de Dent e Blackie (1979) e hipótese $H_o(2)$ de Mayer et al. (1994).

[#]marcador com seus respectivos tratamentos, Cromo (Cr), Európio (Eu), Lantânio (La), Itérbio (Yb), sem tratamento fecal (T1), fezes tratadas com água deionizada (T2), Fezes tratadas com ácido acético (T3).

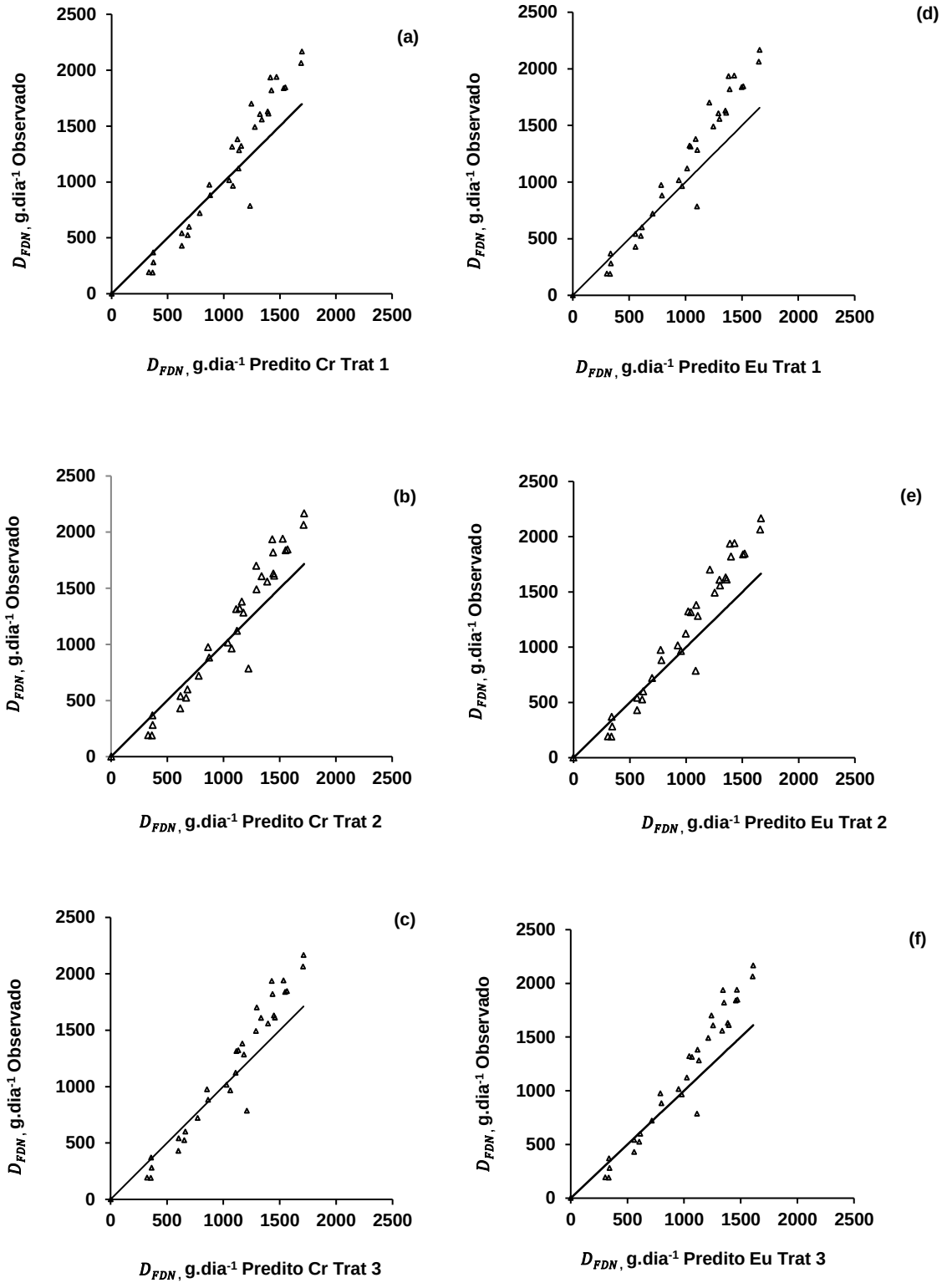

Figura 2. Gráficos de valores de $\overline{D}_{FDN}$ observados comparados aos valores preditos obtidos a partir dos ajustes proporcionados pela combinação dos diferentes modelos com os marcadores de fibras, escalonados para massa corporal. Painéis: Cromo quantificado sem tratamento fecal (a), cromo quantificado, a partir de fezes tratadas com água deionizada (b), cromo quantificado, a partir de fezes tratadas com ácido acético (c) európio quantificado sem tratamento fecal (d), európio quantificado, a partir de fezes tratadas com água deionizada (e), európio quantificado, a partir de fezes tratadas com ácido acético (f).
Linha sólida é a linha de unidade (X=Y), Δ são os pares coordenados, predito com o observado.

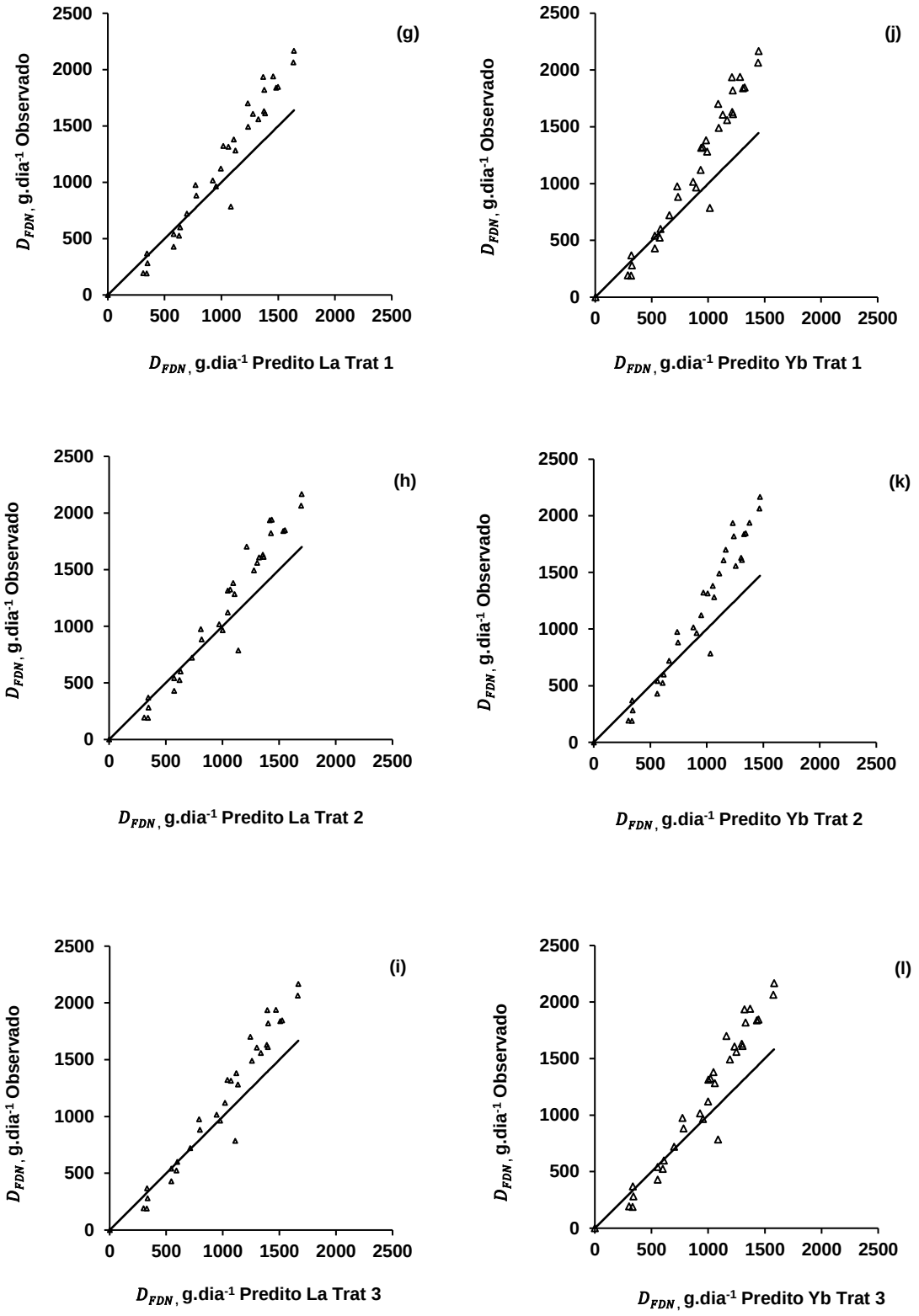

Figura 3. Gráficos de valores de $\overline{D}_{FDN}$ observados comparados aos valores preditos obtidos a partir dos ajustes proporcionados pela combinação dos diferentes modelos com os marcadores de fibras, escalonados para massa corporal. Painéis: Lantânio quantificado sem tratamento fecal (g), Lantânio quantificado, a partir de fezes tratadas com água deionizada (h), Lantânio quantificado, a partir de fezes tratadas com ácido acético (i) Itérbio quantificado sem tratamento fecal (j), Itérbio quantificado, a partir de fezes tratadas com água deionizada (k), Itérbio quantificado, a partir de fezes tratadas com ácido acético (l).
Linha sólida é a linha de unidade (X=Y), Δ são os pares coordenados, predito com o observado.

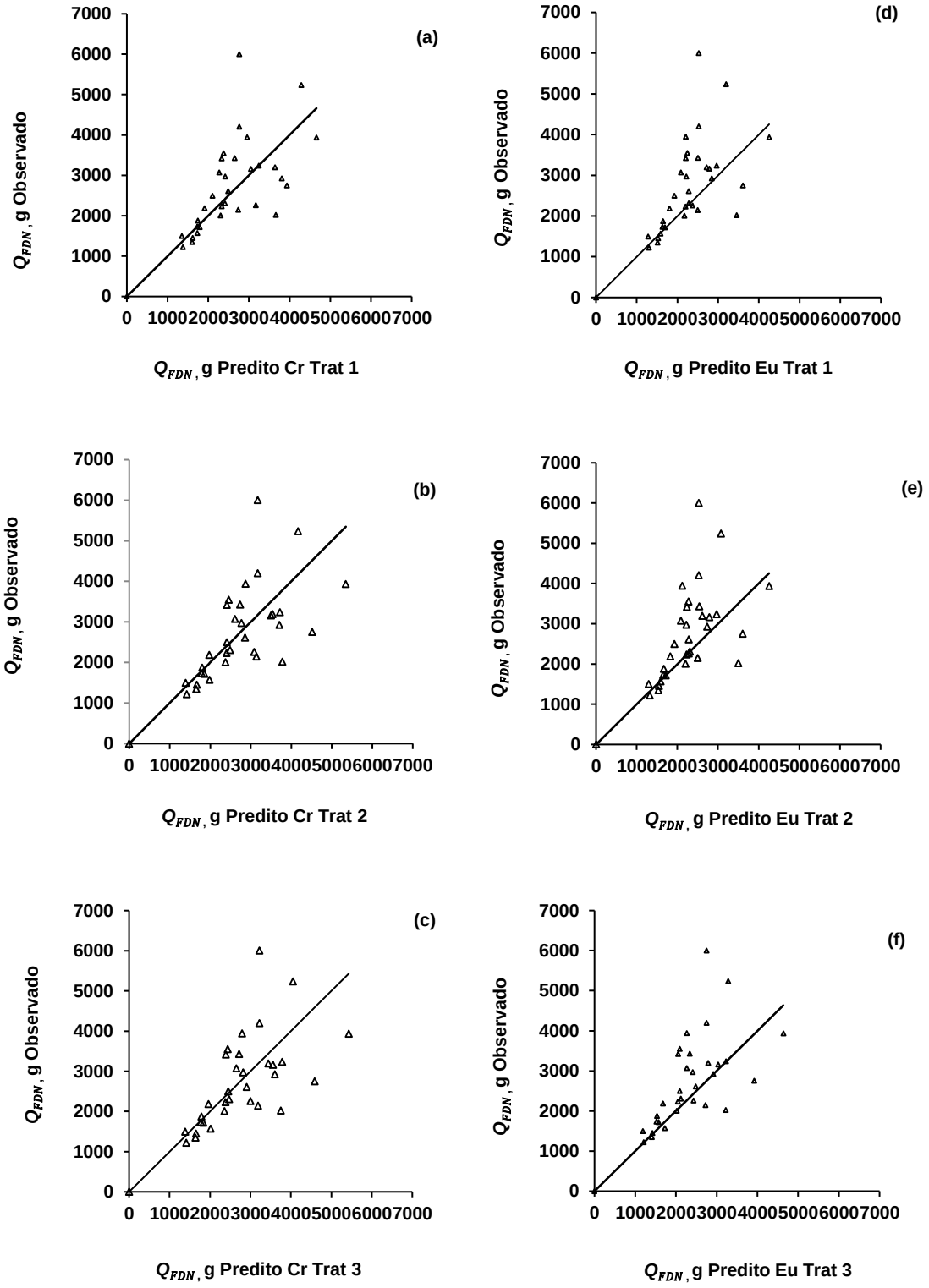

Figura 4. Gráficos de valores de Q_{FDN} observados comparados aos valores preditos obtidos a partir dos ajustes proporcionados pela combinação dos diferentes modelos com os marcadores de fibras, escalonados para massa corporal. Painéis: Cromo quantificado sem tratamento fecal (a), cromo quantificado, a partir de fezes tratadas com água deionizada (b), cromo quantificado, a partir de fezes tratadas com ácido acético (c) európio quantificado sem tratamento fecal (d), európio quantificado, a partir de fezes tratadas com água deionizada (e), európio quantificado, a partir de fezes tratadas com ácido acético (f).
Linha sólida é a linha de unidade (X=Y), ∆ são os pares coordenados, predito com o observado.

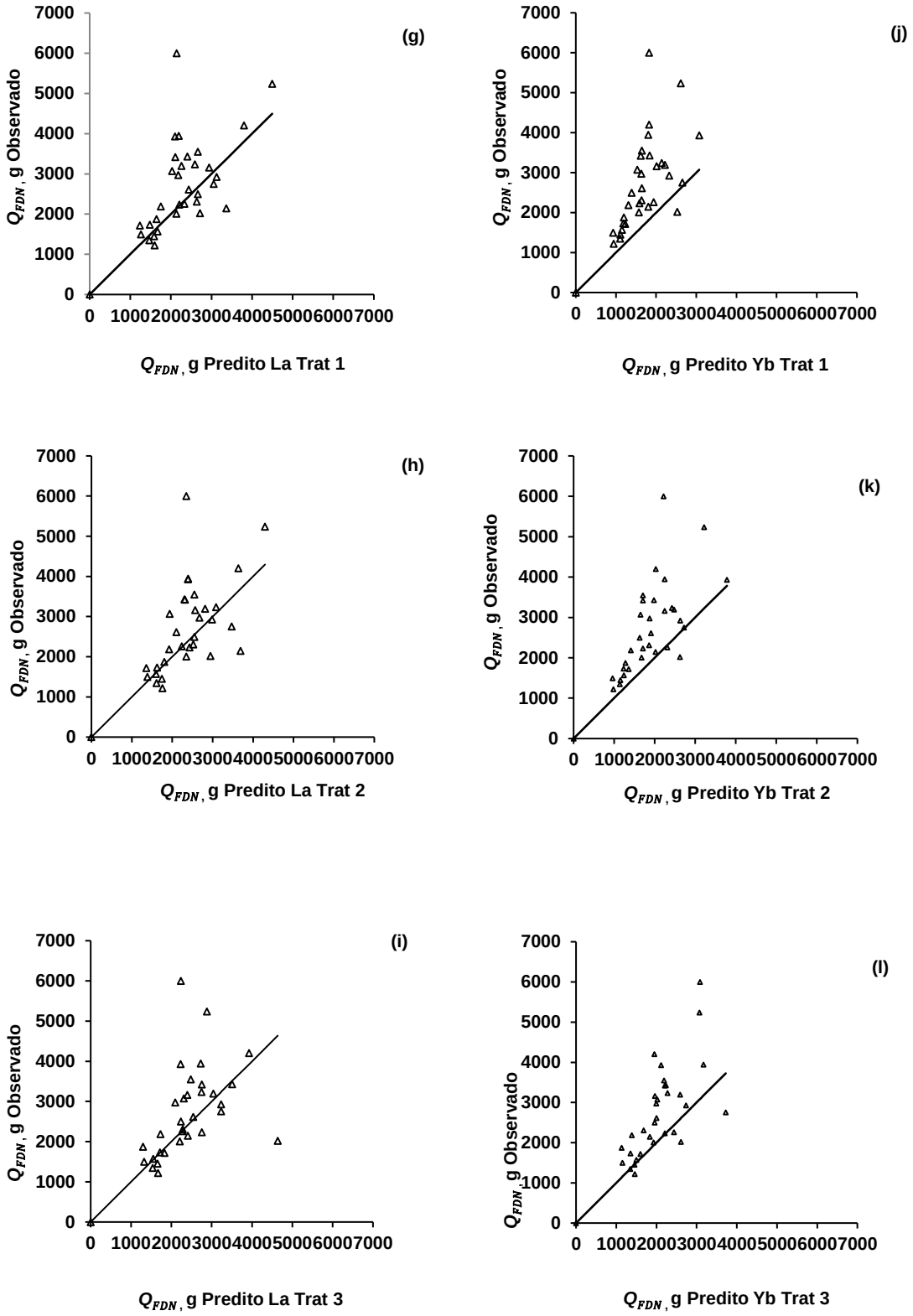

Figura 5. Gráficos de valores de Q_{FDN} observados comparados aos valores preditos obtidos a partir dos ajustes proporcionados pela combinação dos diferentes modelos com os marcadores de fibras, escalonados para massa corporal. Painéis: Lantânio quantificado sem tratamento fecal (g), Lantânio quantificado, a partir de fezes tratadas com água deionizada (h), Lantânio quantificado, a partir de fezes tratadas com ácido acético (i) Itérbio quantificado sem tratamento fecal (j), Itérbio quantificado, a partir de fezes tratadas com água deionizada (k), Itérbio quantificado, a partir de fezes tratadas com ácido acético (l).
Linha sólida é a linha de unidade (X=Y), Δ são os pares coordenados, predito com o observado.

6. DISCUSSÃO

O balanço de matéria perdida na passagem através do trato digestório é o que melhor mensura o aproveitamento de um alimento (VAN SOEST, 1994). A medida mais importante do valor de energia de um alimento para animais é a sua digestibilidade determinada *in vivo*, ou *in vitro* por meio de incubação com líquido ruminal**.** (TILLEY e TERRY, 1963). A digestibilidade é descrita como a taxa de digestão constante (k_d), dividida pela taxa de desaparecimento constante $(k_d + k_p)$, pois ao expressar a digestibilidade em função da constante de taxa de digestão e passagem, obtém maior compreensão do processo digestivo e começa a definir com mais clareza os fatores que afetam a digestibilidade. Esses fatores podem ser atribuídos às características cinéticas do alimento além dos eventos que ocorrem em virtude da possível concorrência existente entre as taxas de passagem e digestão**.** (ALLEN e MERTENS, 1988). Tais aspectos citados caracterizam o trato gastrintestinal (TGI) dos ruminantes como um sistema físico-químico complexo e heterogêneo (VAN SOEST, 1994). Portanto, quando os alimentos ingeridos chegam ao rúmen, as enzimas microbianas não têm acesso instantâneo às fibras potencialmente digestíveis (ALLEN e MERTENS, 1988), ou seja, a fração do alimento ao chegar ao ambiente ruminal passa por um tempo de preparo para iniciar a digestão (SUTHERLAND, 1988; VAN MILGEN et al., 1991). Estão envolvidas nesse processo de preparação, a hidratação, a diluição de substâncias possíveis inibidoras do crescimento microbiano, a adesão e a efetiva colonização do substrato (MERTENS, 2005). No entanto, estes eventos proporcionam um atraso no fluxo das partículas, gerando um aumento do tempo médio de retenção no rúmen, que por si promove tempo suficiente para digestão da fração lentamente digestível (ELLIS et al., 1999), do contrário, a taxa de passagem é aumentada e a digestibilidade do alimento diminuída (VAN SOEST et al., 1991).

Considerando que os processos descritos acima são fundamentais para que as estimativas de digestibilidade sejam mais próximas do real, é possível assumir que a falta de capacidade do modelo GN em estimar $\overline{D}_{FDN}$ pode ser atribuída ao fato de o modelo desconsiderar a existência do *raft* no rúmen, e assim ter causado erros

sistemáticos nas estimativas de taxa de passagem $(\bar{k}_p = \lambda/N)$. Todavia**,** o uso deste parâmetro viciado pode subestimar a digestibilidade da fibra ruminal, principalmente à medida que o consumo aumenta, vide as figuras 2 e 3. Isto mostra a importância da retenção seletiva de partículas para maximizar a digestão das fibras (HUHTANEN et al., 1995).

Assim como o primeiro modelo criado por Waldo et al. (1972), que assume a homogeneidade de partícula no rúmen, o modelo GN é limitado pelo mesmo pressuposto, ou seja, independente do tamanho ou idade da partícula, existe a probabilidade de escape, mas o fluxo de partículas do rúmen é um processo seletivo**.** (HUHTANEN et al., 1995). Entretanto, a pressuposição para o modelo GN estabelece que as etapas envolvidas na preparação das partículas para início da digestão sigam distribuição gama (VIEIRA et al., 2008a). De acordo com Ellis et al. (1994) e Huhtanen et al. (2006), se desconsiderar os mecanismos de retenção seletiva do fluxo de partículas no rúmen, é impossível atingir a digestibilidade observada *in vivo* relativa à FDN potencialmente digerível com valores de parâmetros cinéticos realistas; esta retenção seletiva é explicada pela taxa de passagem mais lenta da fibra digestível do que a indigestível**.** (TAMMINGA et al., 1989).

A técnica de fibra marcada para estimativas de parâmetros cinéticos de trânsito foi utilizada por Huhtanen et al. (2007), para comparar as estimativas de digestibilidade de FDN, entretanto estes autores fizeram avaliações a partir de excreções duodenais de fibra marcada com Yb, e aplicaram tais estimativas no modelo de digestão de dois compartimentos (ALLEN e MERTENS, 1988), o que resultou em estimativas bem próximas aos valores observados. Ainda com uso da técnica de marcador de fibra, mas realizando coletas fecais para a quantificação do marcador, Rohem Júnior (2016) utilizou o modelo GNG1 (MATIS et al., 1989), que assume a seletividade de partículas pelo *raft* e foi eficiente em estimar a $\bar{D}_{FDN}$ independente dos marcadores empregados para explicar a cinética de trânsito.

Ao avaliar os resultados obtidos a partir da variável Q_{FDN}, pode verificar a notória capacidade do modelo GN gerar predições próximas do real a partir da técnica de fibra marcada, utilizando Cr, Eu e La. Estes resultados fortalecem o emprego da técnica de fibra marcada para quantificar a quantidade de massa de fibra ruminal, já que as técnicas citadas pela literatura possuem algumas limitações, e em alguns casos as tornam inviáveis, como é o caso das técnicas que utilizam medidas diretas com o uso da fração indigestível obtida por meios de métodos de esvaziamento

ruminal por cânulas, ou por medidas realizadas após o abate dos animais**.** (ELLIS et al., 1994; CANNAS et al., 2003; HUHTANEN et al., 2007). Esta última foi utilizada em 1950 por Paloheimo e Makela (1959) no intuito de estimar o tempo de retardo da lignina em diferentes segmentos do trato digestivo de vacas. No entanto, a partir do trabalho de Robinson et al. (1987), a técnica de esvaziamento ruminal em animais fistulados tem sido preferida em relação à técnica de abate, por não ser necessário eliminar os animais, o que a torna menos onerosa. Mesmo assim, independente da literatura citar um grande volume de trabalhos que utilizaram essa técnica, essa também possui alguns aspectos negativos, que estão basicamente relacionados à ausência de padrão da amostragem realizada diariamente, pois segundo Cannas et al. (2003), existe uma lacuna a ser preenchida para identificar o momento ideal a ser realizada quantificação da massa ruminal, levando em conta o horário e a frequência de alimentação dos animais. As estimativas de taxas de digestão e passagem em bovinos alimentados duas vezes ao dia foram superestimadas quando a quantificação da massa ruminal foi realizada antes da alimentação da manhã, e subestimadas quando obtidas de avaliações feitas 4 horas após a alimentação. Os autores recomendam que se os animais forem alimentados duas vezes ao dia, com intervalo de 12 horas para cada alimentação, o intervalo de tempo entre as quantificações de massa de fibra ruminal seja dividido por três, de maneira que os intervalos sejam equidistantes, desta forma as avaliações coincidiriam com o mínimo e o máximo conteúdo de fibra no rúmen**.** (HUHTANEN et al., 2007).

Diante das inconveniências expostas, ressalta a importância de utilizar a técnica de fibra marcada como alternativa em fornecer estimativas verossímeis para quantificação de massa ruminal de fibra e contornando limitações relacionadas ao abate de animais e obrigatoriedade de implantação de cânulas por meio de cirurgia. Rohem Júnior (2016) utilizou essa mesma técnica para a quantificação da massa ruminal de fibra, porém além do modelo monocompartimental foi também utilizado um modelo bicompartimental, em ambos os casos foram geradas predições que imitaram a realidade.

Um marcador para ser considerado confiável nos estudos de cinética de trânsito deve satisfazer a alguns critérios estabelecidos (FAHEY e JUNG, 1983; OFFER e DIXON, 2000) e uma das principais premissas é a permanência da ligação entre o indicador e as partículas do alimento de interesse, às quais o indicador foi inicialmente ligado (ELLIS e BEEVER, 1984). O Cr é comumente utilizado como marcador de fibra

para estudos em cinética de trânsito, pois proporciona ligações fortes e estáveis com a fibra das forragens, mas atribui à partícula fibrosa densidade exacerbada, que promove maior atraso no trânsito da partícula marcada e reduz drasticamente sua digestibilidade. Problemas assim têm ocorrido com doses de 80 a 100 mg/g, frequentemente encontradas na literatura (EHLE, 1984; EHLE et al., 1984; OFFER e DIXON, 2000). Entretanto, os efeitos negativos citados a respeito do Cr, foram contornados neste trabalho, devido à utilização de uma menor concentração de Cr (ABREU, 2016), o que em níveis mais baixos, afeta em menor grau a digestibilidade e o trânsito da partícula marcada (UDÉN et al.,1980).

Tanto para a variável $\overline{D}_{FDN}$ quanto para Q_{FDN}, o Cr se comportou de forma semelhante, mostrando ser o melhor marcador dentre os utilizados, pois obteve os melhores valores dos índices de adequação, se mostrando um marcador estável, mantendo suas ligações covalentes (VAN SOEST et al., 1986) do início ao fim do TGI dos novilhos, graças aos complexos com a parede celular das plantas que são altamente insolúveis e totalmente estáveis no rúmen (UDÉN et al.,1980). Nas predições de $\overline{D}_{FDN}$, os índices de adequação do modelo não foram unânimes, pois o r^2 gerou interpretações opostas às dos demais índices, indicando o Cr como o pior marcador.

Os metais terras raras têm menor capacidade de se ligar à fibra do que o Cr, embora sejam mais fortes do que qualquer íon bivalente ou monovalente (VAN SOEST et al., 1986), fazendo ligações com a matéria orgânica fibrosa por troca de cátions (BERNARD e DOREAU, 2000). Esses metais, quando fortemente ligados às partículas fibrosas ou entidades do tecido da planta, podem ter um efeito maior sobre a redução da digestibilidade de partículas complexadas (ELLIS et al.,1999), uma vez que esses metais podem ocupar locais de ligação do microrganismo na fibra e assim, interferir na taxa de digestão (McBURNEY et al., 1983). Teeter et al. (1984) relataram que a formação de complexos entre Yb e compostos orgânicos solúveis afetou a migração do marcador em alimentos, o que reduziu a digestibilidade *in vitro* e *in situ* da matéria seca. Como as ligações entre o Yb e a fibra são reversíveis, foi relatada a migração do marcador para a fase líquida do rúmen, ou ainda para partículas não marcadas inicialmente**.** (TEETER et al., 1984). Consequentemente, o Yb ligado à fibra pode mostrar características de passagem um pouco mais rápidas do que a fibra ligada ao Cr (ROBINSON e SNIFFEN, 1983), o que é evidenciado pelos resultados desse trabalho, pois o Yb apresentou os piores valores dos índices de adequação

para as duas variáveis; além disso, o marcador foi capaz de predizer a Q_{FDN} somente quando as fezes foram tratadas com ácido acético, mostrando que o tratamento fecal para eliminar o Yb não complexado foi eficiente.

Já o Eu e o La tiveram resultados semelhantes entre si nas duas variáveis estimadas neste trabalho, fornecendo avaliações inferiores em relação ao Cr, porém bem melhores do que as do Yb. Em contrapartida, no trabalho de Rohem Júnior (2016), o Eu teve as melhores predições, independente do modelo utilizado, mas o autor não avaliou o La. Contrariando as nossas considerações em relação ao uso do La, Bernard e Doreau (2000) relataram que dentro da família dos lantanídeos, o La tem menor afinidade com a fibra, por se tratar de um lantanídeo leve. Embora a afinidade à parede celular das plantas pelas terras raras seja alta, as ligações não são irreversíveis, pois a forma de ligação com os componentes da parede celular, em sua grande maioria, é realizada por meio de trocas catiônicas (VAN SOEST et al., 1986).

7. CONCLUSÃO

Nenhum marcador, isto é, Cr, Eu, La e Yb mordentes, combinado com seus respectivos tratamentos fecais (sem tratamento, água deionizada e ácido acético) permite a realização de predições com precisão e acurácia globais para a quantidade de fibra digerida ($\overline{D}_{FDN}$) por novilhos. No entanto, o Cr mordente, na concentração administrada, permite obter estimativas com baixo viés médio para a massa ruminal de fibra (Q_{FDN}), muito embora a variância das predições apresente-se de forma heterogênea, independente do marcador empregado. O Eu e La recuperados por meio de tratamento fecal com água deionizada ou com ácido acético, apresentam comportamento semelhante ao Cr tanto para a massa de fibra digerida como para a massa ruminal de fibra. O tratamento fecal melhora as estimativas da digestão e da massa ruminal da fibra com base no marcador Yb, porém, ainda assim, as estimativas de ambas as variáveis são fortemente viciadas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M. L. C. **Estudo da cinética de trânsito da fase sólida no trato gastrintestinal de ruminantes quanto à indelebilidade de indicadores**. Campos dos Goytacazes, RJ: UENF, 2016. 144p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2016.

ALLEN, M. S.; MCBURNEY, M. I.; VAN SOEST, P. J. Cation exchange capacity of plant cell walls at neutral pH. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.36, p.1065-1072, 1985.

ALLEN, M. S.; MERTENS, D. R. Evaluating Constraints on Fiber Digestion by Rumen Microbes. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.118, n. 2, p. 261-270, 1988.

AFRC, **Energy and protein requirements of ruminants**. CAB International, Wallingford, UK, 159 p. 1993.

ARAUJO, R. P.; VIEIRA, R. A. M.; ROCHA, N. S.; ABREU, M. L. C.; GLÓRIA, L. S.; ROHEM JÚNIOR, N. M.; FERNANDES, A. M. Long-term growth of body, body parts and composition of gain of dairy goat wethers. **Journal of Agricultural Science**, v. 153, p. 1321-1340, 2015.

BALCH, C. C. Factors affecting the utilization of food by dairy cows. I. The rate of passage of food through the digestive tract. **British Journal of Nutrition**, v. 4, p. 361-388, 1950.

BERNARD, L.; DOREAU, M. Use of rare earth elements as external markers for mean retention time measurements in ruminants. **Reproduction Nutrition Development**, v. 40, p. 89-101, 2000.

BIBBY, J.; TOUTENBURG, H. **Prediction and Improved Estimation in Linear Models**. Wiley, Berlin, 1977.

BLAXTER, K. L.; GRAHAM, McC.; WAINMAN, F. W. Some observations on the digestibility of food by sheep, and on related problems. **British Journal of Nutrition**, Cambrigde, v. 10, n.2, p.69-91, 1956.

BROCK, T. D.; MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Biology of microorganisms**. 7th Edition, Prentice-Hall International, Englewood Cliffs, New Jersey, 909p. 1994.

CANNAS, A.; VAN SOEST, P. J.; PELL, A. N. Use of animal and dietary information to predict rumen turnover. **Animal Feed Science and Technology**, v. 106, p. 95-117, 2003.

COCHRAN, W. G.; COX, G. M. **Experimental Design**. Wiley, New York, 1957.

COMBS, D. K.; SHAVER, R. D.; SATTER, L. D. Retention of rare earths by hay particles following incubation in fresh or autoclaved rumen fluid. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 1, p. 132-139, 1992.

CONE, J. W.; GELDER, A. H. V.; STEG, A.; VUUREN, A. M. V. Prediction of in situ rumen escape protein from *in vitro* incubation with protease from Streptomyces griseus. **Jounal of the Science of Food and Agriculture**, v. 72, p.120-126. 1996.

CZERKAWSKI, J. W. **Degradation of solid feeds in the rumen: spatial distribution of microbial activity and its consequences**. In: MILLIGAN, L.P.; GROVUM, W.L.; DOBSON, A. (Ed.) Control of digestion and metabolism in ruminants. New Jersey:Prentice Hall, p.173-195, 1986.

DENT, J.B., BLACKIE, M.J., 1979. **Systems Simulation in Agriculture**. Applied Science, London.

DHANOA, M. S.; SIDDONS, R. C.; FRANCE, J.; GALE, D. L. A multicompartimental model to describe marker excretion patterns in ruminant faeces. **British Journal of Nutrition**, v.53, p.663-671, 1985.

EHLE, F. R. Influence of feed particle density on particulate passage from rumen of Holstein cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 3, p. 693-697, 1984.

EHLE, F. R.; BAS, F.; BARND, B.; MARTIN, R. Particulate Rumen Turnover Rate Measurement as Influenced by Density of Passage Marker. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 12, p. 2910-2913, 1984.

ELLIS, W. C.; POPPI, D. P.; MATIS, J. H.; LIPPKE, H.; HILL, T. M.; ROUQUETTE JR, F. M.. Dietary digestive metabolic interactions determining the nutritive potential of ruminant diets. In: Jung, H. G.; Fahey, G. C., **Nutritional Ecology of Herbivores-**

Proceedings of the Vth International Symposium on the Nutrition of Herbivores. Nutritional Ecology of Herbivores, San Antonio, Texas, USA, p.423-481,11-17 April 1999.

ELLIS, W. C.; MATIS, J. H.; HILL, T. M.; MURPHY, M. R. **Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forages**. In Forage Quality, Evaluation, and Utilization (Eds G. C. Jr. Fahey, M. Collins, D. R. Mertens e L. E. Moser), pp. 682-756. Madison, WI: American Society of Agronomy, 1994.

ELLIS, W. C.; BEEVER, D. E. Methods for binding rare earths to specific feed particles. In: KENNEDY P. M. (Ed.) Techniques in Particle size analysis of feed and digesta in ruminants. **Canadian Society of Animal Science**, p.154-165, 1984.

ERDMAN, R. A.; SMITH, L. W. Ytterbium binding among particle size fractions of forage cell walls. **Journal of Dairy Science**, v.68, p.3071-3075, 1985.

FAHEY Jr. G. C.; JUNG, H. G. Lignin as a marker in digestion studies: a review. **Journal of Animal Science**, v. 57, p. 220-225, 1983.

FAICHNEY, G. J. Digesta flow. In: DIJKSTRA. J.; FORBES, J. M.; FRANCE, J. (Eds) **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. CAB publishing, 2. ed. Londres, Washington. p. 49-86. 2005.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. Forage fiber analysis. **Agricultural handbook No. 379**. Washington, D.C.: U.S.D.A., 1970.

GROVUM, W. L.; WILLIAMS, V. J. Rate of passage of digesta in sheep. 4. Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. **British Journal of Nutrition**, v.30, p.313-329, 1973.

HARTNELL, G. F.; SATTER, L. D. Extent of Particulate Marker (Samarium, Lanthanum and Cerium) movement from one digesta particle to another. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 48, n. 2, p. 375-380, 1979.

HOFMANN, R. R. Anatomy of the gastro-intestinal tract. In: CHURCH, D.C. **The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, p.14-43. 1988.

HUHTANEN P.; ASIKAINEN U.; ARKKILA M.; JAAKKOLA S. Cell wall digestion and passage kinetics estimated by marker and in situ methods or by rumen evacuations in cattle fed hay 2 or 18 times daily. **Animal Feed Science and Technology**, v. 133, p. 206-227, 2007.

HUHTANEN, P.; AHVENJARVI, S.; WEISBJERG, M.R.; NØRGAARD, P. **Digestion and passage of carbohydrates**. In: Sejrsen, K., Hvelplund, T., Nielsen, M.O. (Eds.), Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition in Gene Impression, Immunology and Stress. Wageningen Academic Publishers, p. 87–135, 2006.

HUHTANEN, P.; JAAKKOLA, S.; KUKKONEN, U. Ruminal plant cell wall digestibility and passage kinetics utilizing mathematical models. **Animal Feed Science and Technology**, v. 52, p. 159-173, 1995.

HUNGATE, R. E. Introduction: the ruminant and the rumen. In: HOBSON, P.N. **The rumen microbial ecosystem**. London. p.1-19. 1988.

HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. New York, Academic Press, 533p. 1966.

ILLIUS, A. W., GORDON, I. J. Prediction of intake and digestion in ruminants by a model of rumen kinetics integrating animal size and plant characteristics. **Journal of Agricultural Science**, v. 116, p. 145-157, 1991.

JARDIM J. G.; VIEIRA R. A. M.; FERNANDES A. M.; ARAUJO R. P.; GLÓRIA L. S.; ROHEM JÚNIOR N. M.; ROCHA N. S.; ABREU M. L. C. Application of a nonlinear optimization tool to balance diets with constant metabolizability. **Livestock Science**, 158(1–3): 106-117, 2013.

KENNEDY, P. M.; MURPHY, M. R. The nutritional implications of differential passage of particles through the ruminant alimentary tract. **Nutrition Research Reviews**, Cambrigde, v.1, n.1, p.189-208, 1988.

KVALSETH, T. O. Cautionary note about R^2. **The American Statistician**, v. 39, p. 279-285, 1985.

LASDON, L.; WARREN, A.; JAIN, A.; RATNER, M. Design and testing of a generalized reduced gradient code for nonlinear programming. **ACM Transactions on Mathematical Software**, v.4, p.34-50, 1978.

LIN, L. I. K. Aconcordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. **Biometrics**, v. 45, p. 255–268, 1989.

LOAGUE, K.; GREEN, R. E. Statistical and graphical methods for evaluating solute transport models: Overview and application. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 7, p. 51-73, 1991.

LUCAS, H. L. Extra-period Latin-square change-over designs. **Journal of Dairy Science**. v. 40, 225 p. 1957.

MALAFAIA; P. A. M.; FILHO, S. C. V.; VIEIRA, R. A. M. Cinética ruminal de alguns alimentos investigada por técnicas gravimétricas e metabólicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.2, p.370-380, 1998.

MATIS, J. H.; WEHRLY, T. E.; ELLIS, W. C. Some generalized stochastic compartment models for digesta flow. **Biometrics**, v. 45, p. 703-720, 1989.

MAYER, D. G., STUART, M. A., SWAIN, A. J. Regression of real-world data on model output: an appropriate overall test of validity. **Agricultural Systems**, v. 45, p. 93-104, 1994.

MacRAE, J. C. The use of intestinal markers to measure digestive function in ruminants. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.33, p.147-154, 1974.

McBURNEY, M. I.; ALLEN, M. S.; VAN SOEST, P. J. Praseodymium and copper cation-exchange capacities of neutral-detergent fibers relative to composition and fermentation kinetics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 37, p. 666-672, 1986.

MERTENS, D. R. Rate and extent of digestion. In: Dijkstra, J., Forbes, J.M., France, J., (Eds). Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. 2.ed. Wallingford: **CABI Publishing**, p.13-47. 2005.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International,** v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.

MERTENS, D. R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Jornal of Dairy Science**, v. 80, p. 1463-1481, 1997.

MERTENS, D. R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. **Jounal Animal Science**, v.64, p.1548-1558, 1987.

MERTENS, D. R. Dietary fiber components: relationship to the rate and extent of ruminal digestion. **Fed. Proc**. v.36, p. 187-192, 1977.

MERTENS, D. R. Principles of modeling and simulation in teaching and research. **Journal of Dairy Science**, v. 60, n. 7, p. 1176-1186, 1976.

MERTENS, D. R. **Application of theoretical mathematical models to cell wall digestion and forage intake in ruminants**. Ph.D. Dissertation, Cornell University, Ithaca, USA, 217p. 1973.

MITCHELL, P. L. Misuse of regression for empirical validation of models. **Agricultural Systems**, v. 54, p. 313-326, 1997.

MOORE, J. A.; POND, K. R.; POORE, M. H.; GOODWIN, T. G. Influence of model and marker on digesta kinetic estimates for sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n.11, p. 3528-3540, 1992.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry.** 5th ed. W. H. Freeman: New York, 1100p. 2008.

NETER, J., KUTNER, M.H., NACHTSHEIM, C.J., WASSERMAN, W. **Applied Linear Statistical Models**, fifth ed. McGraw-Hill, Boston, 1996.

NOCEK, J. E. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.8, p.2051-2069, 1998.

OFFER, N. W.; DIXON, J. Factors affecting outflow rate from the reticulorumen. **Nutrition Abstracts and Reviews** (Series B), v. 70, p. 833-844, 2000.

OWENS, F. N.; HANSON C. F. External and Internal Markers for Appraising Site and Extent of Digestion in Ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 9, p. 2605-2617, 1992.

PALOHEIMO, L.; MÄKELA, A. Further studies on the retention time of food in the digestive tract of cows. **Acta Agralia Fennica** v. 94, p. 15-39, 1959.

PELL, A. N.; SCHOFIELD, P.; STONE, W. C. **Rates of digestion of feeds measured in vitro with computers**. Cornell Nutrition Conference. Proceedings. Cornell University, p.74-81, 1994.

PEREIRA, J. C.; ALMEIDA, M. S.; CECON, P. R.; QUEIROZ, A. C. Dinâmica da degradação ruminal por novilhos mantidos em pastagem natural em diferentes épocas do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 740-748, 2002.

POND, K. R.; ELLIS, W. D.; MATIS, J. H.; DESWYSEN, A.G. Passage of chromium-mordanted and rare earth-labeled fiber: time of dosing kinetics. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 67, p. 1020-1028, 1989.

POND, K. R.; ELLIS, W. C.; J. H. MATIS, J. H.; FERRIERO, H. M.; J. D. SUTTON, J. D. Compartmental models for estimating attributes of digesta flow in cattle. **British Journal of Nutrition**, v. 60, p. 571-595, 1988.

POPPI, D. P.; NORTON, B. W.; MINSON, D. J. The validity of the critical size theory for particles leaving the rumen. **Journal of Agricultural Science**, Champaign, v. 94, n. 2, p. 275-280, 1980.

QUIROZ, R. A.; POND, K. R.; TOLLEY, E. A.; JOHNSON, W. L. Selection among nonlinear models for rate of passage studies in ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 11, p. 2977-2986, 1988.

ROBINSON, P. J.; TAMMINGA, S.; VAN VUUREN, A. M. Influence of declining level of feed intake and varying proportion of starch in the concentrate on rumen ingesta quantity, composition and kinetics of ingesta turnover in dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 17, p. 37-62, 1987.

ROBINSON, P. H.; SNIFFEN, C. J. Comparison of rumen, duodenal and faecal sampling sites to estimate rumen turnover rate of markers in cows. **Journal of Dairy Science**, v. 66 (Suppl. 1) 187 p. 1983.

ROHEM JÚNIOR, N. M. **Avaliação de modelos matemáticos e de marcadores para predição da massa ruminal de fibra e da digestão da fibra em bovinos**. Campos dos Goytacazes, Rj: UENF, 88p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2016.

RUSSELL, J. B.; STROBEL, H. J. Microbial Energetics. In: FORBES, J.M., FRANCE, J. (Ed.) **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Cambridge: Cambridge University Press. p.165-186. 1993.

RUSSELL, J. B. Minimizing ruminant nitrogen losses. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia / Simpósio Internacional de Nutrição de Ruminantes, 29, 1992, Lavras. **Anais**... Lavras: UFLA, p.47-64. 1992.

SHAVER, R. D.; NYTES, A. J.; SATTER, L. D.; JORGENSEN, N. A. Influence of amount of feed intake and forage physical form on digestion and passage of prebloom alfalfa hay dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 6, p. 1545-1559, 1986.

SNIFFEN, C. J.; J. D. O'CONNOR, VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSEL, J. B. A net carboydrate and protein system for evaluing cattle diets: II Carbohydrate and Protein Availability. **Jounal Animal Science**, v. 70, p. 3562-3577, 1992.

SUTHERLAND, T. M. Particle separation in the forestomachs of sheep. In: Dobson, A., Dobson, M.H. (Eds.), **Aspects of Digestive Physiology of Ruminants**. Cornell University Press, Ithaca, pp. 43–73, 1988.

TAMMINGA, S.; ROBINSON, P. H.; VOGT, M.; BOER, H. Rumen ingesta kinetics of cell wall components in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 25, p. 89-98, 1989.

TAMY, W. P. **Predição de conteúdo ruminorreticular e do consumo alimentar em ruminantes domésticos**. Campos dos Goytacazes, Rj: UENF, 2015. 65p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2015.

TEDESCHI, L. O. Assessment of the adequacy of mathematical models. **Agricultural Systems** v. 89, p. 225-247, 2006.

TEETER, R. G.; OWENS, F. N.; MADER, T. L. Ytterbium chloride as a marker for particulate matter in the rumen. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 465-473, 1984.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society,** v. 18, p. 104-111, 1963.

UDÉN, P.; ROBINSON, P. H.; MATEOS, G. G.; BLANK, R. Use of replicates in statistical analyses in papers submitted for publication in Animal Feed Science and Technology. **Animal Feed Science and Technology**, v. 171, p. 1-5, 2012.

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.

VAN MILGEN, J.; MURPHY, M. R.; BERGER, L. L. A Compartmental Model to Analyze Ruminal Digestion. **Journal Dairy Science**, v. 74, p. 2515-2529, 1991.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Cornell University Press, Ithaca, New York. 476p. 1994.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J.; ALLEN, M. S. Rumen Dynamics. In: Dobson, A.; Dobson, M. (Eds) **Proceeding of a Satellite Symposium of the 30th International Congress of the International Union of Physiological Sciences**. H. Cornell Univ., p. 21- 42, Ithaca, NY, 1986.

VAN SOEST P. J. and WINE R. H. Determination of lignin and cellulose in acid-detergent fiber with permanganate. Journal of the Association Analitical Chemistis v. 51. p. 780-785, 1968.

VARGA, G. A.; DANN, H. M.; ISHLER, V. A. The use of fiber concentrations for ration formulation. **Journal of Dairy Science**, EUA, v. 81, n., p.3063-3074, 1998.

VIEIRA, R. A. M.; CAMPOS, P. R. S.; SILVA, J. F. C.; TEDESCHI, L. O.; TAWY, W. P. Heterogeneity of the digestible insoluble fiber of selected forages in situ. **Animal Feed Science and Technology**, v. 171, n. 2-4, p. 154-166, 2012.

VIEIRA, R. A. M.; TEDESCHI, L. O.; CANNAS, A. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum: 1. Estimating parameters of digestion. **Journal of Theoretical Biology,** v. 255, p. 345-356, 2008a.

VIEIRA, R. A. M.; TEDESCHI, L. O.; CANNAS, A. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum: 2. Integrating digestion and passage. **Journal of Theoretical Biology,** v. 255, p. 357-368, 2008b.

VIEIRA, R. A. M.; MALAFAIA, P. A. M.; SILVA, J. F. C. et al. Suplementação na criação de caprinos de corte em pastejo. In: ZOOTEC – VII Congresso Nacional de Zootecnia, 7, **Anais**... Campo Grande, v.1. 2005.

VIEIRA, R. A. M. **Modelos matemáticos para estimativa de parâmetros da cinética de degradação do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum., cv. mineiro) em diferentes idades de corte**. Viçosa, MG: UFV, 1995. 88p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, 1995.

VIRGÍNIO JÚNIOR, G. F. **Observações sobre o consumo e a digestibilidade de nutrientes e de energia por bovinos arraçoados com níveis crescentes de fibra.** Viçosa, MG: UFV, 2014. 54p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, 2014.