

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

ARTHUR LOBO PAES

AVALIAÇÃO DA ESTIMATIVA *IN VITRO* PARA PREDIÇÃO DA DIGESTÃO
DE FIBRA EM RUMINANTES

CAMPOS DOS GOYTACAZES

2019

ARTHUR LOBO PAES

AVALIAÇÃO DA ESTIMATIVA *IN VITRO* PARA PREDIÇÃO DA DIGESTÃO
DE FIBRA EM RUMINANTES

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

Prof. Ricardo Augusto Mendonça Vieira

CAMPOS DOS GOYTACAZES

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

P126

Paes, Arthur Lobo.

AVALIAÇÃO DA ESTIMATIVA IN VITRO PARA PREDIÇÃO DA DIGESTÃO DE FIBRA EM RUMINANTES / Arthur Lobo Paes. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

74 f. : il.

Bibliografia: 61 - 73.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2019.
Orientador: Ricardo Augusto Mendonça Vieira.

1. Digestão. 2. fibra. 3. produção de gases in vitro. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 636

ARTHUR LOBO PAES

AVALIAÇÃO DA ESTIMATIVA *IN VITRO* PARA PREDIÇÃO DA
DIGESTÃO DE FIBRA EM RUMINANTES

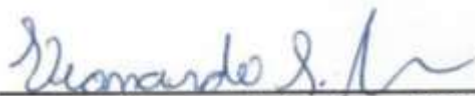
Dissertação apresentada ao Centro de Ciências
e Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
grau de Mestre em Ciência Animal.

Aprovada em, 28 de fevereiro de 2019.

BANCA EXAMINADORA



Elizabeth Fonsêca Processi (Doutora, Ciência Animal) - UFRRJ



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



Matheus Lima Corrêa Abreu (Doutor, Ciência Animal) - UFMT



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

*Em especial, à minha maior importância, ao meu maior tesouro,
ao amor da minha vida; sou feliz por viver com você ao meu
lado. À minha filha, Alice Nunes Lobo, este estudo
dedico.*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), pela oportunidade de realização do mestrado em Ciência Animal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, professor Ricardo Augusto Mendonça Vieira, agradeço pela confiança em mim depositada, por seus valiosos ensinamentos e pelo compartilhamento de suas experiências. Muito obrigado, serei sempre grato!

À Dra. Elizabeth Fonsêca Processi, ao prof. Dr. Leonardo Siqueira Glória e ao Dr. Matheus Lima Corrêa Abreu, por toda a contribuição dada ao trabalho.

Aos demais professores do Laboratório de Zootecnia, pelos ensinamentos e pela agradável convivência.

Ao pessoal da Secretaria da Pós-Graduação em Ciência Animal, Jovana e Conceição, pela eficiência, dedicação e simpatia. Meu muito obrigado.

Aos funcionários da UENF, Robson e Alcir, pela amizade, pelo apoio e pela disposição em ajudar.

À equipe da caprinocultura, Jhone Gleison Oliveira, Isabela Amorim, Débora Evellin, Flavio Henrique, Raphael Gomes, Marcelo Cabral, Daniel Dardengo, Nardele Júnior, José Edmário, Antônio Paulo, Matheus Abreu, Laila Ramos, Davi Simões, Matheus Lourenço, Thiago Aguiar, pelos momentos de descontração e agradável convivência.

Aos amigos que estiveram do meu lado mesmo à distância, André Erthal, Eder Luís, Jonas Motta, Ana Paula Barbosa, Jacyara Lopes, Guilherme Gama, Larissa Gomes, Iago Oliveira, Daniel Larrúbia, Camila Alves, Carol Ribeiro, Sthéfanie Kloppe, Clóvis Silveira, Wanderson Lucas, Rafael Freitas e Ana Kesia. Obrigado pela amizade de longa data!

Aos amigos, Fábio Marques da Cunha e Luís Mário Duarte, por me ajudarem pacientemente nas horas difíceis. Meus agradecimentos com carinho.

À mulher da minha vida, Larissa Nunes Martins, e à minha filha, Alice Nunes Lobo, pelo apoio incondicional em todos os momentos, principalmente nos de incerteza, muito comuns para quem tenta trilhar novos caminhos.

À minha mãe, Candida Fonseca Vilaça Lobo, à minha madrasta, Magali Silva (*in memoriam*), à minha irmã, Juliana Lobo Paes, aos meus irmãos, Marcelo Lobo Paes e Daniel Silva Paes, e ao meu primo, Jairo Barbosa, que dignamente me apresentaram à importância da família e ao caminho da honestidade e persistência.

Aos meus avós, Custódio Vilaça Gomes Pereira Lobo e Elza Fonseca Lobo (*in memoriam*), com quem tudo começou, agradeço todo carinho e dedicação.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho. Obrigado!

“Seu trabalho vai preencher uma parte grande da sua vida, e a única maneira de ficar realmente satisfeito é fazer o que você acredita ser um ótimo trabalho. E a única maneira de fazer um excelente trabalho é amar o que você faz.”

Steve Jobs

RESUMO

PAES, Arthur Lobo. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; fevereiro de 2019; Avaliação da estimativa *in vitro* para predição da digestão de fibra em ruminantes. Orientador: Professor Ricardo Augusto Mendonça Vieira.

Este trabalho tem por objetivo investigar os efeitos inerentes às taxas de digestão estimadas com base em perfis de degradação gerados com as técnicas gravimétrica e de produção cumulativa de gases *in vitro* na obtenção da digestão total de fibra (\overline{TD}_{FDN}). Foram utilizadas as técnicas de degradação gravimétrica e de produção cumulativa de gases *in vitro* na determinação da taxa de digestão (κ_d) e os modelos monocompartimental (GN) e de múltiplos compartimentos (MC) dos perfis de cinética de trânsito de partículas fibrosas marcadas para a estimativa da \overline{TD}_{FDN} com os marcadores cromo (Cr) e európio (Eu). A avaliação do poder preditivo dos modelos foi por meio do software MES. As medidas de adequação empregadas na avaliação empírica dos modelos de \overline{TD}_{FDN} foram o fator de eficiência do modelo (FEM), o coeficiente de correlação de concordância (CCC) (mais próximo de um melhor), o viés médio (VM), o coeficiente de determinação do modelo (CD), o coeficiente de determinação resistente (r^2) e o desvio-padrão médio do erro de predição (DPMP). A melhor solução encontrada (M12) foi com base no modelo de produção de gás e no modelo de múltiplos compartimentos com o marcador európio (Eu). Ainda que seja necessário entender como o vício da digestão se comporta para menores quantidades de fibras digeridas, a técnica de produção cumulativa de gases em incubações anaeróbicas *in vitro* é promissora na estimação da \overline{TD}_{FDN} .

Palavras-chave: Digestão, fibra, produção de gases *in vitro*.

ABSTRACT

PAES, Arthur Lobo. *Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro*; February 2019; Evaluation of *In Vitro* Estimation for Predicting Ruminant Fiber Digestion. Advisor: Professor Ricardo Augusto Mendonça Vieira.

This work intends to investigate the effects inherent to the estimated digestion rates on the basis of degradation profiles obtained using gravimetric and cumulative *in vitro* gas production techniques for obtaining total digestion of fiber (\overline{TD}_{FDN}). The techniques of gravimetric degradation and cumulative production of *in vitro* gases were applied to determine the digestion rate (κ_d) and the monocompartmental (GN) and multi-compartment (MC) models of the kinetic profiles in fibrous particles trajectory for the estimation of the \overline{TD}_{FDN} with chrome (Cr) and europium (Eu) markers. The predictive potential of the models was evaluated by the MES software. The adequacy measures used to empirically evaluate the models of \overline{TD}_{FDN} were the model efficiency factor (MEF); concordance correlation coefficient (CCC) (closer to a better one); average bias (AB); model determination coefficient (MD); resistance determination coefficient (r^2); and mean standard deviation of the prediction error (MSDP). The best solution found (M12) was based on the gas production model and the multi-compartment model with the europium marker (Eu). Despite the need to understand how digestion addition behaves for smaller quantities of digested fibers, the cumulative gas production technique in anaerobic incubations *in vitro* is promising in estimating the \overline{TD}_{FDN} .

Keywords: Digestion, fiber, *in vitro* gas production.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| FIGURA 1. FLUXO E DIGESTÃO DE MATÉRIA SECA DIGESTÍVEL E INDIGESTÍVEL DETERMINADOS PELA κ_d E κ_p , ADAPTADO DE ELLIS (1978)..... | 16 |
| FIGURA 2. FLUXO E DIGESTÃO DE ENTIDADES ALIMENTARES E FLUXO DE MATÉRIA ENDÓGENA, EM QUE κ_i É A TAXA DE INGESTÃO, κ_p É A TAXA DE PASSAGEM PELO TGI E κ_d DEFINE TAXA DE DIGESTÃO, ADAPTADO DE ELLIS (1978) | 17 |
| FIGURA 3. REPRESENTAÇÃO DIAGRAMÁTICA DA DIGESTÃO RUMINAL DE FIBRA POTENCIALMENTE DIGERÍVEL EM DOIS <i>POOLS</i> SEQUENCIAIS DE DIGESTÃO, ADAPTADO DE ELLIS ET AL. (1994)..... | 18 |
| FIGURA 4. CONCEITUAÇÃO DA NATUREZA FUNCIONAL DO <i>POOL</i> DE RUMINAÇÃO DO SOBRENADANTE E DO <i>POOL</i> DE RENOVAÇÃO RUMINAL EM GADO E FORÇAS CAUSAIS DE TAIS <i>POOLS</i> SEPARADOS, ADAPTADO DE ELLIS ET AL. (1994)..... | 22 |
| FIGURA 5. MODELO PROPOSTO POR MATIS (1972) AO FLUXO DE DIGESTA NO RUMINANTE E SUA REPRESENTAÇÃO POR MODELOS FÍSICOS DE COMPARTIMENTO DE MISTURA E FLUXO DE NÃO MISTURA, ADAPTADO DE ELLIS ET AL. (1994)..... | 24 |
| FIGURA 6. MODELO DE DESAPARECIMENTO DE FIBRA POTENCIALMENTE DIGESTÍVEL E INDIGESTÍVEL, ADAPTADO DE ALLEN E MERTENS (1988)..... | 26 |
| FIGURA 7. TAXA DE DIGESTÃO ESTIMADA A PARTIR DE DADOS <i>IN VIVO</i> OU USANDO TÉCNICAS <i>IN VITRO</i> DE PRODUÇÃO DE GÁS E <i>IN SITU</i> , ADAPTADO DE HUHTANEN ET AL. (2006) | 28 |
| FIGURA 8. DISPOSITIVO NÃO AUTOMATIZADO UTILIZADO PARA OBTER PRESSÃO E VOLUME CUMULATIVOS DOS GASES, ADAPTADO DE ÁBREU ET AL. (2014)..... | 38 |
| FIGURA 9. VALORES DE \overline{TD}_{FDN} OBSERVADOS COMPARADOS AOS VALORES PREDITOS. A LINHA SÓLIDA É A LINHA DE UNIDADE ($X=Y$), OS PONTOS SÃO OS PARES COORDENADOS, PREDITO COM O OBSERVADO | 55 |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 12 |
| 2. DESENVOLVIMENTO | 14 |
| 2.1. REVISÃO DE LITERATURA | 14 |
| 2.1.1. Digestão e passagem de fragmentos forrageiros | 14 |
| 2.1.1.1. Dinâmica de digestão ruminal | 18 |
| 2.1.1.2. Fluxo de partículas no rúmen | 20 |
| 2.1.2. Estimativas da taxa de digestão da parede celular no rúmen..... | 25 |
| 2.1.3. Métodos de estimação da taxa digestão de fibra <i>in vitro</i> | 27 |
| 2.1.3.1. Degradação fermentativa por gravimetria <i>in vitro</i> | 29 |
| 2.1.3.2. Produção cumulativa de gases <i>in vitro</i> | 31 |
| 2.2. MATERIAL E MÉTODOS..... | 33 |
| 2.2.1. Origem dos dados e das amostras para avaliação..... | 33 |
| 2.2.1.1. Modelo de digestibilidade..... | 33 |
| 2.2.1.2. Estimativas da cinética de trânsito..... | 34 |
| 2.2.1.3. Degradação gravimétrica <i>in vitro</i> | 35 |
| 2.2.1.4. Produção cumulativa de gases | 37 |
| 2.2.2. Perfis de excreção dos indicadores complexados à fibra..... | 39 |
| 2.2.3. Perfis de degradação gravimétrica da fibra..... | 40 |
| 2.2.4. Perfis de produção de gases | 41 |
| 2.2.5. Estimação dos parâmetros cinéticos de digestão e passagem | 45 |
| 2.2.6. Modelos de estimação da \overline{TD}_{FDN} baseados em aspectos cinéticos de digestão e passagem | 46 |
| 2.2.7. Avaliação do poder preditivo dos modelos..... | 47 |
| 2.3. RESULTADOS..... | 49 |
| 2.4. DISCUSSÃO | 56 |
| 3. CONCLUSÃO | 60 |
| 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 61 |

1. INTRODUÇÃO

A quantificação do processo de degradação dos alimentos é fundamental para o correto manejo alimentar de ruminantes. Como ferramenta da nutrição de ruminantes, esses números auxiliam no atendimento das exigências nutricionais, maximizando a eficiência da população microbiana do rúmen, minimizando a excreção de nutrientes para o ambiente e reduzindo os custos de produção, o que torna o sistema de produção mais eficiente e rentável.

O consumo, pelos ruminantes, de dietas à base de forragem tem estreita associação com a digestibilidade, portanto, além dos efeitos diretos sobre a ingestão de energia digestível, a digestibilidade influencia indiretamente a oferta de nutrientes (HUHTANEN et al., 2006). Forragens e grãos devem ser testados quanto à digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDN) para auxiliar na formulação e alocação de ingredientes nas dietas. A FDN da dieta está positivamente relacionada ao pH ruminal, pois estimula a ruminação e a secreção de tampões salivares; a motilidade e a mistura ruminal; a absorção de ácidos da fermentação; e aumenta a retenção da digesta no rúmen, o que leva ao aumento do tamponamento direto dos ácidos produzidos na fermentação. A concentração de FDN na dieta deve ser balanceada entre seus efeitos sobre o consumo de matéria seca e o pH ruminal (ALLEN, 2011).

Modelos dinâmicos de degradação utilizados na estimação do valor nutritivo dos alimentos fornecem informações sobre os fatores que afetam os processos digestórios (MERTENS, 1993). Efeitos combinados de digestão e passagem de partículas no rúmen são determinantes no consumo de nutrientes digestíveis. Estimativas de taxas de digestão e passagem auxiliam na determinação da digestibilidade dos nutrientes (VAN SOEST, 1994).

O método *in vivo* é de maior importância na determinação do valor energético de um alimento; por isso, técnicas indiretas devem tê-lo como referência, porém, em algumas circunstâncias (animais a pasto ou fêmeas), modelos e indicadores são necessários na geração de dados que se aproximem das medidas diretas. Uma alternativa é o uso de sistemas de incubação anaeróbica *in vitro* como modelo físico do rúmen (TILLEY e TERRY, 1963; GOERING e VAN SOEST, 1970). Uma das

técnicas *in vitro* tem por base a quantificação dos gases da fermentação produzidos a partir do substrato de interesse incubado, na qual os gases oriundos do metabolismo microbiano, isto é, da fermentação do material incubado são medidos diretamente para estimar taxas de digestão das frações solúveis e insolúveis de carboidratos e encontrar a digestibilidade dos nutrientes (HUNGATE, 1966; MENKE et al., 1979; PELL e SCHOFIELD, 1993). Conforme Hall e Mertens (2008), os resultados da produção cumulativa de gases *in vitro* podem ser utilizados em comparações com valores encontrados em outras técnicas, como a gravimetria *in vitro* e *in situ*.

Nos modelos nutricionais, as taxas de digestão e de passagem são estimadas com base em técnicas *in vitro*, *in situ* e *in vivo* (SNIFFEN et al., 1992; FOX et al., 2004; NRC, 2001; 2007; 2016). Apesar das críticas de que as estimativas absolutas dos ensaios de degradação *in vitro* ou *in situ* rendam estimativas enviesadas para as taxas de digestão (FIRKINS et al., 1998; ALLEN, 2011; HUHTANEN et al., 2007), o que se espera é que as estimativas, por exemplo, da digestibilidade da fibra, com base nos atributos cinéticos da mesma, sejam comparáveis particularmente no tocante às comparações entre as estimativas absolutas entre as taxas de digestão *in vitro* gravimétricas e as estimadas com base na técnica *in vitro* da produção de gases.

Este trabalho tem por objetivo investigar os efeitos inerentes às taxas de digestão estimadas com base em perfis de degradação gerados com as técnicas gravimétrica e de produção cumulativa de gases *in vitro* na obtenção da digestão total diária de fibra (\overline{TD}_{FDN}) no trato gastrointestinal (TGI).

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. REVISÃO DE LITERATURA

2.1.1. Digestão e passagem de fragmentos forrageiros

Em sistemas de avaliação de alimentos, o consumo e a digestibilidade são parâmetros essenciais, uma vez que o fator de maior influência sobre a resposta animal é a quantidade total de nutrientes absorvidos da dieta. A digestibilidade é descrita como a taxa de digestão (κ_d) constante dividida pela taxa de desaparecimento constante. Ao expressar a digestibilidade em função das taxas de digestão e passagem, é possível obter maior compreensão do processo digestório em função do tempo e começar a definir com mais clareza os fatores que a afetam. Esses fatores podem ser atribuídos às características cinéticas do alimento ou aos eventos que ocorrem em virtude da possível concorrência existente entre as taxas de passagem e digestão (ALLEN e MERTENS, 1988).

A digestibilidade depende do espaço de tempo que o alimento permanece no trato digestório para hidrólise; conseqüentemente, taxas de degradação e passagem estão relacionadas com o consumo voluntário. As variações no consumo resultam de uma interação complexa, a qual inclui a dieta (composição bromatológica e estruturas anatômicas), os microrganismos do rúmen (condições para um crescimento ótimo), o hospedeiro (idade, tamanho, sexo e estado fisiológico) e, ainda, os mecanismos psicogênicos que integram o hospedeiro ao meio (MERTENS, 1987; 1994).

A FDN é uma medida de fibra comumente utilizada em análises de rotina dos alimentos, pois é o método que separa carboidratos estruturais e não estruturais das plantas e mede a maioria dos componentes estruturais das células vegetais (celulose, hemicelulose e lignina) considerados componentes da fibra. Em relação aos carboidratos estruturais, essa fração do alimento possui lenta fermentação e menor digestão, porém é de extrema importância na promoção da mastigação (ingestiva e

ruminativa) e, conseqüentemente, na produção de saliva com capacidade de tamponamento (NRC, 2001).

Dentro dos tecidos dos fragmentos forrageiros, as entidades (E) químicas (moléculas que podem ser contabilizadas) são altamente variadas no que diz respeito à sua solubilidade, flutuabilidade, acessibilidade aos micróbios colonizadores e potencial para digestão. Enquanto algumas entidades são potencialmente digestíveis (E_d), alguns tecidos, dentro do mesmo fragmento de forragem, podem incluir entidades como a lignina e os carboidratos altamente lignificados, que são incapazes de serem digeridos (E_i) e desaparecem do local digestório, na mesma forma química que foram consumidas, apenas por fuga (ELLIS et al., 1994).

A digestão dos carboidratos estruturais que constituem a parede celular é realizada apenas por enzimas de origem microbiana devido à natureza química e física do substrato. A população microbiana que digere os carboidratos estruturais exige um fluxo de nutrientes da fermentação suficiente para suportar sua taxa de crescimento microbiano acima da taxa que os microrganismos desaparecem do local por lise e escape. Por isso, a taxa de escape do fragmento deve ser suficientemente lenta a ponto de a κ_d exceder a taxa de escape e ocorrer a digestão extensa de carboidratos estruturais (ELLIS et al., 1994).

Estimativas precisas dos parâmetros cinéticos de degradação e passagem são necessárias em sistemas de alimentação, porque descrevem a digestão e caracterizam as propriedades intrínsecas dos alimentos (*lag-time*, taxa e extensão da digestão, por exemplo) que limitam a disponibilidade dos nutrientes aos ruminantes. A cinética digestiva dos componentes dos alimentos deveria ser descrita pela divisão do alimento em compartimentos rapidamente digestível; lentamente digestível; e indigestível (MERTENS, 2005).

A Figura 1 apresenta um processo dinâmico de digestão diária, em que uma porção de matéria seca da forragem (I) é digerida (DDMF) a uma κ_d , e os resíduos não digeridos (UDMF) fluem pelo TGI a uma determinada taxa de passagem (κ_p). A quantidade de forragem digerida é determinada pela sua κ_d e o período de tempo em que os resíduos são submetidos à digestão (tempo de permanência, $1/\kappa_d$). A fração de matéria seca digerida da forragem (digestibilidade definida pela κ_d e κ_p) é igual à proporção que desaparece pela digestão dividida pela proporção que desaparece pela

digestão e passagem, $\kappa_d / (\kappa_d + \kappa_p)$. Conforme o processo de digestão descrito, a redução do tamanho de partículas, ou o aumento de sua ingestão, aumenta a passagem e conseqüentemente reduz a digestibilidade devido à redução do tempo de residência das partículas no local da digestão (ELLIS, 1978).

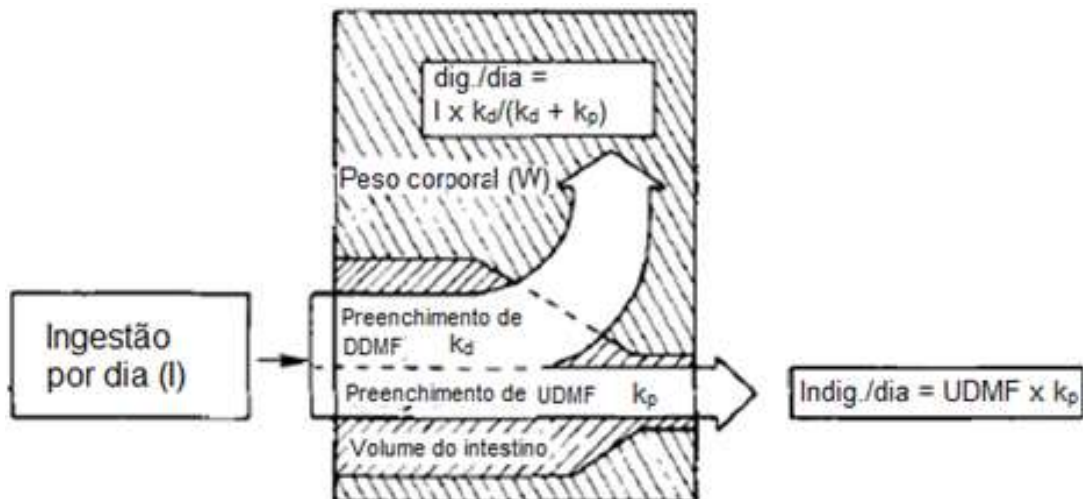


Figura 1. Fluxo e digestão de matéria seca digestível e indigestível determinados pela κ_d e κ_p , adaptado de Ellis (1978)

Os conceitos apresentados acima são funcionais, porém super simplificados, pois a) a matéria seca fecal não é diretamente derivada da dieta; b) as entidades alimentares não possuem as mesmas κ_d e κ_p ; c) a digestão é mostrada como um processo de único compartimento (*pool*/homogêneo); d) o local gastrintestinal onde o preenchimento limita criticamente a ingestão (presumivelmente ruminal) não é indicado; e) as relações fisiológicas volume/massa de preenchimento e degradação de partículas não são consideradas. As super simplificações c, d e e vêm sendo estudadas, mas ainda desafiam a organização lógica; já os pontos relevantes que superam as super simplificações a e b, apresentadas na Figura 1, estão ilustrados na Figura 2 (ELLIS, 1978).

O modelo ilustrado na Figura 2 divide a dieta em conteúdo celular altamente digestível (CC) e em constituintes da parede celular menos digestíveis e de

digestibilidade variável (CWC). O CC é composto principalmente por proteínas, lipídios, minerais e carboidratos metabólicos ou de armazenamento. O CC excretado possui CC forrageiro não digerido e partes endógenas derivadas tanto do mamífero como de microrganismos do TGI. O CWC da dieta é composto de carboidratos estruturais de vários graus de lignificação, que resultam em uma porção de CWC completamente indigestível (CWC_i), excretada quantitativamente nas fezes. O CWC restante é citado como CWC potencialmente digestível (CWC_d), pois pode ser digerido a uma taxa uniforme após o tempo de latência (ELLIS, 1978); porém, uma porção desse CWC_d não é digerida devido à passagem ($\kappa_p / (\kappa_p + \kappa_d)$), compondo, dessa forma, junto com o CWC_i, o CWC fecal total (WALDO e SMITH, 1972).

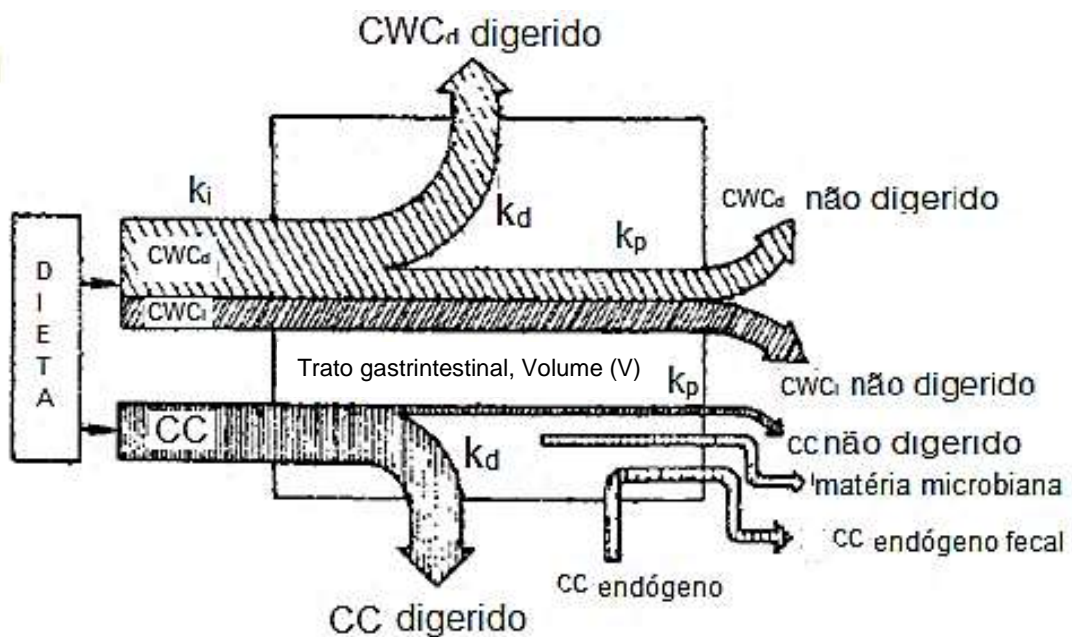


Figura 2. Fluxo e digestão de entidades alimentares e fluxo de matéria endógena, em que κ_i é a taxa de ingestão, κ_p é a taxa de passagem pelo TGI e κ_d define taxa de digestão, adaptado de Ellis (1978)

A digestão de ruminantes em *pool* homogêneo foi apenas para simplificação gráfica. Os CWC_d e CC apresentam uma κ_d global de cada fração no TGI total como resultado da fermentação gástrica, hidrólise intestinal e fermentação pós-ileal (ELLIS, 1978). Em relação à κ_p do CWC, esse parâmetro se aplica às partículas que saem do

pool de partículas grandes do rúmen e passam por segmentos sequenciais sucessivos do TGI inferior (LASCANO, et al., 1977).

2.1.1.1. Dinâmica de digestão ruminal

A proporção de um nutriente que se torna disponível para absorção é determinada pela κ_d em relação à taxa de passagem. A digestão e a passagem em ruminantes podem ser mecanicamente descritas por modelos compartimentais de complexidade variável (HUHTANEN et al., 2006). Em vista da natureza dinâmica da força que molda os *pools* de ruminação do *raft* e de *turnover* da digesta ruminal, vários sistemas diferentes de *pools* poderiam ser concebidos envolvendo número, sequência e intercâmbio entre *pools*. Um sistema simples constituído por dois *pools* sequenciais com fluxo irreversível de mistura e um tempo de atraso estão ilustrados na Figura 3.

O modelo é uma representação diagramática da digestão ruminal de fibra potencialmente digerível (E_d) como resultado de duas κ_d competitivas e da passagem das porções E_d não digerida e fibra indigerível (E_i) por dois *pools* sequenciais de digestão (ELLIS et al., 1994). A extensão da digestão de E_d dentro dos *pools* é igual à proporção de desaparecimento total (digestão mais escape), que desaparece via digestão ($\kappa_d / (\kappa_d + \kappa_e)$).

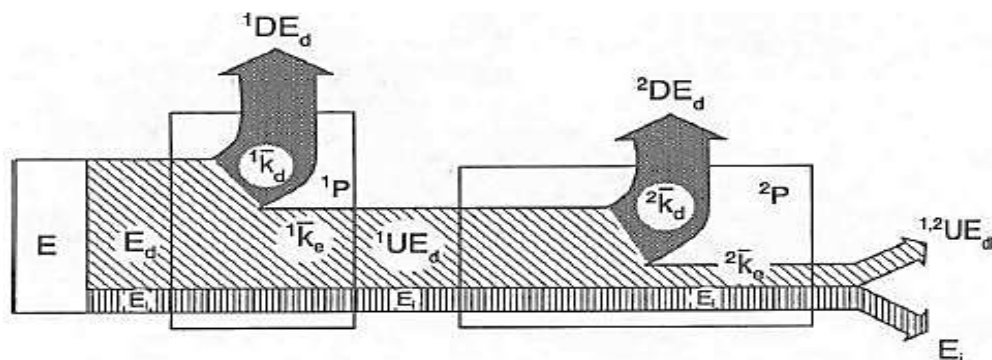


Figura 3. Representação diagramática da digestão ruminal de fibra potencialmente digerível em dois *pools* sequenciais de digestão, adaptado de Ellis et al. (1994)

Quanto ao *pool* de ruminação do *raft* (1P), uma porção da E_d desaparece deste por digestão (1DE_d) e a outra que não é digerida desaparece por escape (1UE_d) ao *pool* de *turnover* da digesta ruminal (2P). A taxa de digestão no 1P foi assumida como o resultado de uma distribuição heterogênea de taxas ($^1\bar{\kappa}_d$); já a taxa de escape foi considerada um processo dependente do tempo expresso pelo parâmetro de taxa independente do tempo ($^1\bar{\kappa}_e$) (ELLIS et al., 1994).

Em relação ao 2P , uma parte da 1UE_d sofre o processo de digestão (2DE_d) e a outra que não é digerida desaparece por escape ($^{1,2}UE_d$). A taxa de digestão do material potencialmente digestível, que é digerido em 2P e que não foi digerido em 1P , foi assumida como a média de uma distribuição heterogênea de taxas ($^2\bar{\kappa}_d$); já a taxa de escape foi considerada independente do tempo ($^2\bar{\kappa}_e$). Portanto, a extensão fracionária da digestão de 1UE_d é considerada no 2P . Como consequência do fluxo irreversível por meio de dois *pools* sequenciais de digestão, a fração de E_d digerida é a soma da extensão fracionária da digestão de 1DE_d com a extensão fracionária da digestão de 2DE_d . O conteúdo de material fibroso que escapa do 2P é constituído por $^{1,2}UE_d$ consequente da $^2\bar{\kappa}_e$ e E_i (ELLIS et al., 1994). O desaparecimento de E_i acontece apenas por escape nos dois *pools*.

As κ_d e κ_e médias necessárias para produzir a digestibilidade da FDN potencialmente digerível ($D_{FDN_{pd}}$), obtidas num único *pool* de digestão, é mais do que duas vezes diferente do comumente observado. Obviamente, é necessário algum mecanismo envolvendo conjuntos de digestão de misturas múltiplas e sequenciais para aumentar o tempo de residência necessário à digestão extensiva de entidades de digestão lenta, como fibra potencialmente digerível. A hipótese de dois *pools* irreversíveis e sequenciais de digestão por mistura fornecem estimativas de $D_{FDN_{pd}}$ (Figura 3) mais condizentes com as medidas diretas. A suposição de fluxo irreversível pode parecer difícil de justificar para *pools* de digesta que são o produto de tais forças dinâmicas; no entanto, os modelos envolvendo fluxo reversível entre os *pools* indicam pouco refluxo ao *pool* de ruminação. Parece que as forças que restringem efetivamente a fuga do grupo de ruminação são igualmente eficazes em restringir a reentrada de fragmentos que escaparam (ELLIS et al., 1994).

A medição da κ_d das frações de ração *in vitro* e *in situ* pode fornecer informações relevantes sobre as diferenças relativas entre os alimentos. No entanto,

os valores absolutos, não relativos, são requeridos pelos modelos para prever a digestibilidade ruminal. Os fatores primários em relação à simulação dos efeitos da mastigação ao longo do tempo de incubação, que limitam as determinações precisas da κ_d *in vitro* ou *in situ* são os seguintes: 1) incapacidade de imitar o aumento da área superficial e a quebra do tamanho das partículas pela ruminação; e 2) variação da atividade enzimática e razão entre enzima e substrato. A moagem é um processo necessário à obtenção de amostras uniformes para análise em laboratório, porém a moagem aumenta a área da superfície acessível aos micróbios, aumentando a κ_d em comparação com a alimentação intacta *in vivo*. Do contrário, não moer todos subestima a taxa de digestão, uma vez que os alimentos são esmagados e moídos pela mastigação ao longo do tempo, antes de passarem pelo rúmen (ALLEN, 2011).

2.1.1.2. Fluxo de partículas no rúmen

O fluxo ruminal inclui fibra indigestível, microrganismos e outras frações não degradadas dos alimentos, sendo a composição e o volume da dieta variáveis externas que influenciam a taxa de passagem e a reciclagem do conteúdo ruminal. Partículas grandes e as que contêm uma alta proporção de material digestível são seletivamente retidas no rúmen, enquanto as partículas que contêm menos material digestível têm maior probabilidade de escapar do rúmen (HUHTANEN et al., 2006).

Conforme Ellis et al. (1994), a taxa de passagem constitui variável crítica que afeta a utilização de nutrientes, visto que modula o tempo disponível para os processos digestórios e absorptivos, nos quais a porção da digesta é exposta aos processos de mistura, digestão e absorção no trato digestório como um todo ou em um único segmento. A passagem ou escape aqui referida representa o processo de transferência progressiva de uma partícula para fora do rumino-retículo (HUNGATE, 1966; ALLEN e MERTENS, 1988; SUTHERLAND, 1989; ELLIS et al., 1991; HUHTANEN et al., 1995; HUHTANEN e KUKKONEN, 1995).

A distribuição das partículas pelo interior da câmara fermentativa pode sofrer alterações que possivelmente afetam a taxa de passagem, devido aos tamanhos e densidades das partículas da fibra (ALLEN e MERTENS, 1988; VAN SOEST et al., 1991); à relação da mastigação inicial durante a ingestão e a ruminação e constituição da malha filtrante ou *raft* (WELCH, 1982; EHLE e STERN, 1986; ALLEN e MERTENS, 1988, SUTHERLAND, 1988; VAN SOEST, 1994); à correlação negativa dos fragmentos de partículas e gravidade específica (HOOPER e WELCH, 1985; WELCH, 1986; LECHNER-DOLL et al., 1991; ALLEN e MERTENS, 1988; HUHTANEN et al., 2006); à química superficial, capacidade de troca catiônica e capacidade de retenção de água de tipos de fibras específicas (WELCH, 1986); ao tamanho do orifício, consistência da ingesta no rúmen, locais que se encontram as partículas, formas das partículas (WELCH, 1982); às propriedades flutuantes obtidas através de gases de fermentação aprisionados e propriedades de sedimentação após terem sido depletadas em substratos fermentáveis (SCHALK e AMADON, 1928; EVANS et al., 1973; WELCH, 1982; SUTHERLAND, 1988).

Como sugerido por Ellis et al. (2002), o tempo de residência em compartimentos de fermentação pré-duodenais pode ser estimado com precisão a partir de dados de concentração de marcadores fecais usando modelos cinéticos apropriados. Poppi et al. (2001) propuseram uma interpretação alternativa da cinética de marcador no rúmen. Seu modelo de fluxo reversível com base em dados cinéticos de marcadores da digesta dorsal e ventral do rúmen teve as seguintes características: transferência relativamente lenta dependente do tempo do *pool* do material sobrenadante para o rúmen ventral; e saída de primeira ordem muito rápida do retículo ventral do rúmen.

A extensão da fermentação de uma entidade nutricional é uma função da própria fermentação e do tempo de permanência no rúmen expressado como tempo de retenção, ou seja, a recíproca da taxa de passagem. Esse último pode ser determinado a partir da redução da concentração do indicador no conteúdo ruminal após pulso dose do marcador (ELLIS et al., 1999). A técnica da excreção fecal do indicador é baseada no fato do padrão de excreção do indicador refletir o efeito cumulativo do tempo de permanência do indicador em vários segmentos do TGI (ABREU, 2016). É possível fazer uma descrição matemática satisfatória do perfil de excreção do indicador nas fezes identificando os diferentes componentes ou, no mínimo, a parte relacionada ao rúmen (DHANOA et al., 1985).

Todos os modelos matemáticos utilizados na estimação dos parâmetros da cinética de trânsito são modelos não lineares classificados como modelos compartimentais de mistura. Os modelos ainda podem ser classificados como modelos compartimentais de mistura tempo-independentes, modelos compartimentais de mistura tempo-dependentes e modelos múltiplos compartimentos. Um compartimento de mistura tempo-independente assume que a probabilidade de escape é igual para todos os fragmentos e independente do tempo de permanência nesse compartimento (ex.: rúmen). Dessa forma, produz uma distribuição exponencial do tempo, tanto para a permanência do marcador no compartimento (coleta de amostras diretamente no rúmen) quanto para a saída desse compartimento (amostragem a partir do abomaso até as fezes) (ELLIS et al., 1994).

Na natureza funcional de compartimentalização em *pools* de ruminação e de *turnover* ou de renovação (Figura 4), os fragmentos de tecidos forrageiros da ingestão inicial posicionam-se no *pool* de ruminação devido aos gases dentro dos tecidos vasculares que lhes proporcionam tal fluutuabilidade (ELLIS et al., 1994).

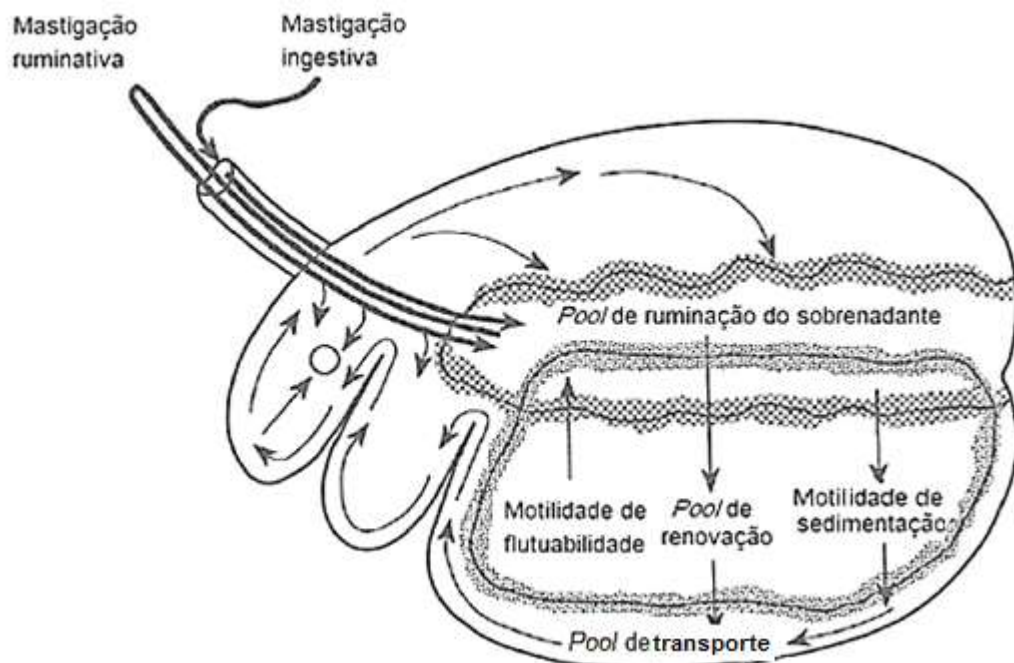


Figura 4. Conceituação da natureza funcional do *pool* de ruminação do sobrenadante e do *pool* de renovação ruminal em gado e forças causais de tais *pools* separados, adaptado de Ellis et al. (1994)

A colonização e fermentação dos tecidos não vasculares mais facilmente digestíveis e a produção e aprisionamento de gases da fermentação dentro da arquitetura do fragmento resultam em uma flutuabilidade baseada na fermentação adquirida. Fragmentos maiores têm mais tecidos facilmente digestíveis, portanto, adquirem maior flutuabilidade baseada na fermentação. Com o aumento do tempo de permanência nesse compartimento, os tecidos facilmente fermentáveis são expelidos e a mastigação ruminativa reduz o tamanho, a complexidade e as propriedades associadas à retenção de gás de forma que o fragmento se torne menos flutuante. Sua submissão às regiões mais ventrais ao *pool* de ruminação devido à perda de flutuabilidade e sedimentos ocorre por meio de processos concomitantes: sobreposição de fragmentos mais flutuantes ingeridos recentemente, ruminação e perda contínua de tecidos fermentáveis. (ELLIS et al., 1994).

Devido às forças de flutuação, ruminação e motilidade da mistura, os dois *pools* são dinâmicos no tamanho. Essas dinâmicas são acentuadas pelos hábitos alimentares e pelas diferenças na composição das forragens. A separação de *pools* com base nas forças da flutuabilidade relacionada à fermentação pode ser independente do tamanho do fragmento se tais fragmentos "grandes" forem desprovidos de substratos rapidamente fermentáveis ou falta de estruturas internas de retenção de gás (ELLIS et al., 1994).

Portanto, o progresso da digestão das partículas enfraquece a matriz da parede celular, e ocorre a quebra física (cominuição) das partículas pela ruminação (POND et al., 1984; POND et al., 1987; ELLIS et al., 1994). Quando as partículas tornam-se mais processadas, a flutuabilidade reduz com o aumento da densidade das partículas; as partículas sofrem cominuição e a gravidade específica aumenta, o que as torna aptas a finalmente saírem do órgão através do orifício retículo-omasal forçadas por correntes de líquidos formadas por contrações ruminoreticulares e omasais para percorrer o resto do trato gastrintestinal em direção às fezes (SCHALK e AMADON, 1928; BALCH, 1950; ELLIS, 1978; POPPI et al., 1980; POPPI et al., 1985; SUTHERLAND, 1989; ELLIS et al., 1994; HUHTANEN et al., 1995; HUHTANEN e KUKKONEN, 1995; POPPI et al., 2001; ELLIS et al., 2002; ELLIS et al., 2005a).

Matis (1972) observou que os fragmentos recém-ingерidos não têm capacidade de escapar do rúmen-retículo prontamente. É necessário tempo para que ocorram todos os processos de cominuição a fim de que um fragmento adquira a capacidade

de escapar. Esses processos dependem do tempo para aumentar a probabilidade de escape, o que resulta em uma distribuição assintótica da probabilidade de escape. Na distribuição tempo-dependente proposta por Matis (1972), a probabilidade de escape para certo fragmento inicialmente é zero, e aumenta com o tempo até alcançar uma taxa assintótica após o tempo infinito (ELLIS et al., 1994). O modelo com compartimentos de mistura sequenciais tempo-dependentes (com o passar do tempo, a probabilidade de escape aumenta) e tempo-independentes (taxa de *turnover* constante, todas as partículas têm a mesma probabilidade de escape), proposto por Matis (1972), foi ilustrado por Ellis (1994) na Figura 5.



Figura 5. Modelo proposto por Matis (1972) ao fluxo de digesta no ruminante e sua representação por modelos físicos de compartimento de mistura e fluxo de não mistura, adaptado de Ellis et al. (1994)

No modelo acima, G_n corresponde aos tempos de residência distribuídos dependentes do tempo; λ_1 é o parâmetro de taxa de rotatividade dependente do tempo para escape do primeiro compartimento; G_1 são os tempos de residência exponencialmente distribuídos; κ_2 é a taxa de renovação independente do tempo do segundo compartimento para um compartimento mais lento; τ é o tempo de atraso para fuga; e O é a saída. Os processos dependentes do tempo, como hidratação, colonização microbiana e fragmentação por ruminação, devem ocorrer no compartimento de entrada inicial, antes do compartimento de *turnover* de diluição de ação das massas (ELLIS, 1994). Conforme Balch, (1950), o tempo necessário para a passagem através do omaso, do abomaso e dos intestinos tem sido representado pelo tempo necessário para a primeira aparição de alimentos nas fezes.

2.1.2. Estimativas da taxa de digestão da parede celular no rúmen

O termo "taxa de digestão" apareceu na década de 1950 em avaliações baseadas na interpretação visual das curvas de digestão. Mais à frente, Wilkins (1969) observou que alguma celulose permaneceu não digerida após a oferta de períodos extensos, e a hipótese de que algum material não é digestível deu base para trabalhos futuros. Com isso, Waldo (1970) sugeriu que as curvas de digestão fossem combinações de material indigestível e digerível. Smith et al. (1972) usaram fermentações *in vitro* de 72 horas para determinar o teor de FDN indigestível (IFDN). O resíduo FDN potencialmente digestível em tempos de fermentação anteriores foi estimado subtraindo o IFDN do resíduo total de FDN. Segundo Ellis et al. (1999), a determinação de IFDN deve ser incluída em toda a análise básica de alimentos, pois tem uma digestibilidade previsível; pode ser usado para estimar a FDN potencialmente digestível (DFDN) com FDN-IFDN; e tem papel importante à carga digestiva no rúmen (HUHTANEN et al., 2006). Conforme Ellis et al. (1994), sem os mecanismos de retenção seletiva no rúmen, seria impossível atingir a digestibilidade de DFDN *in vivo*, observada com valores de parâmetros realistas.

Mertens (1973) concluiu que assumir o rúmen como um único compartimento não é uma representação matemática ou biológica adequada. Um modelo de dois compartimentos que agrupa as frações IFDN e DFDN descreve o desaparecimento tanto pela digestão como pela passagem da fração fibrosa consumida (Figura 6). A utilização deste modelo resulta em valores muito realistas da digestibilidade de DFDN. Por definição, o IFDN só desaparece do primeiro compartimento ou *pool* de *lag*-ruminação por escape para o segundo ou *pool* de partículas pequenas e daí por passagem para o intestino delgado. No *pool* de *lag*-ruminação, a DFDN desaparece por digestão e escape ao *pool* de partículas pequenas, de onde a DFDN desaparece tanto pela digestão como pela passagem (ALLEN e MERTENS, 1988).

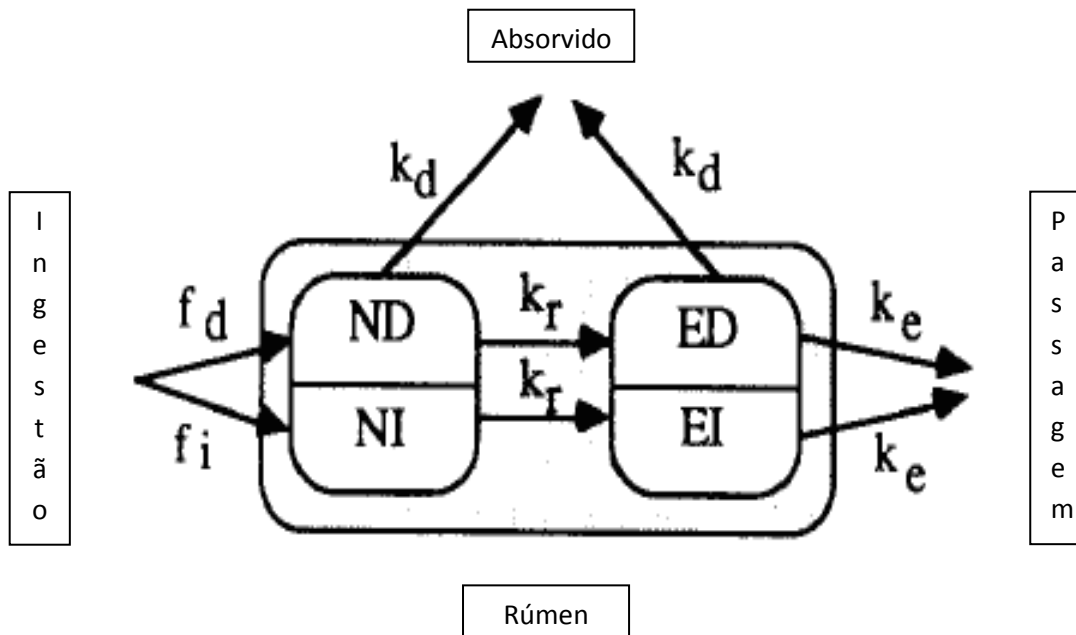


Figura 6. Modelo de desaparecimento de fibra potencialmente digerível e indigerível, adaptado de Allen e Mertens (1988)

O modelo acima utiliza os termos frações não escapáveis (N) e escapáveis (E), bem como fibras potencialmente digeríveis (D) e indigeríveis (I), fibra digerível como uma fração do consumo (f_d), fibra indigerível como uma fração do consumo (f_i), taxa fracionária de digestão (κ_d), de fuga (κ_e) e taxa fracionária de passagem da fração não escapável para a fração escapável (κ_r).

A fração não escapável consiste em todas as partículas que possuem gravidade específica menor do que a do líquido ruminal e tendem a flutuar, e a fração escapável consiste em partículas que são mais densas do que o líquido ruminal e estão abaixo do tamanho limite de retenção, isto é, têm maior probabilidade de entrar na "zona de escape potencial" localizada próximo ao orifício retículo-omasal. Porém, partículas muito densas podem afundar no rúmen ventral e, com isso, diminuir seu contato com essa zona e, conseqüentemente, reduzir sua probabilidade de escape. Dessa forma, a fibra ruminal pode ser separada pela probabilidade de escape do rúmen (N ou E), bem como pela resistência à digestão (D e I). Nesse modelo, a digestibilidade é diretamente relacionada à fração de fibra potencialmente digerível e à κ_d e inversamente à taxa de liberação de partículas do *pool* não escapável ao *pool* de fibras escapáveis e à κ_e . Embora a ingestão de nutrientes e a digestibilidade

estejam relacionadas à κ_d , ambas têm relações opostas com o tempo de retenção ruminal. Portanto, aumentos na ingestão estão associados a um aumento na taxa de passagem (ALLEM e MERTENS 1988).

Os modelos matemáticos que descrevem a digestão de substratos puros podem ser simplistas para lidar com digestão de alimentos naturais. Um fator complicador na descrição matemática da digestão de fibras é que as fibras naturais são, na verdade, uma mistura de componentes (GOERING e VAN SOEST, 1970); por exemplo, a FDN inclui os componentes hemicelulose, celulose e lignina, que digerem em taxas diferentes e que têm as quantidades relativas variáveis na fibra dos alimentos (VAN SOEST, 1982).

A digestão anaeróbica da celulose e de outros tipos de fibra por microrganismos ruminais (por exemplo, *Ruminococcus albus*, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flauofaciens*) produz ácidos graxos voláteis (AGV), gás carbônico (CO₂), metano (CH₄) e vestígios de gás hidrogênio (H₂) (HUNGATE, 1966). Os AGV reagem com o tampão de bicarbonato para liberar CO₂, de modo que a produção de gás ocorra simultaneamente e em conjunto com a digestão da fibra (HUNGATE, 1966; MENKE e STEINGASS, 1988). Para modelar a produção de gás em relação à digestão de fibras e ao crescimento microbiano, assume-se que a massa celular é produzida proporcionalmente ao substrato digerido e que a produção de gás ocorre em proporção à quantidade de substrato digerido (SCHOFIELD, PITT, e PELL, 1994).

2.1.3. Métodos de estimação da taxa digestão de fibra *in vitro*

Tendo em vista a necessidade de determinar a digestibilidade das dietas, foram desenvolvidas técnicas que predissessem com precisão o coeficiente de degradabilidade dos alimentos. Em ensaios de digestão com animais, o método *in vivo* é o procedimento de referência e deve ser utilizado para calibração das demais técnicas. No entanto, é um método oneroso, laborioso e demorado, não permite a avaliação simultânea de vários alimentos (LOPES et al., 2010) e requer grandes quantidades de alimentos e repetições (BERCHIELLI et al., 2006). Uma boa

alternativa para contornar esses problemas são os estudos de degradabilidade da fibra *in vitro*.

Informações sobre a taxa e extensão da digestão da parede celular foram ampliadas pelo uso de técnicas *in situ* e *in vitro*. A cinética da digestão pode ser avaliada *in vitro* a partir do desaparecimento da FDN ou do volume de gás produzido durante a fermentação. Se a taxa de digestão da FDN *in situ* for limitada pela redução da colonização microbiana e/ou pH baixo nos sacos, a cinética de digestão determinada *in vitro* pode descrever a cinética de digestão intrínseca com maior precisão (HUHTANEN et al, 2006).

Huhtanen et al. (2001) estimaram a κ_d da FDN isolada de 15 amostras de silagens de gramíneas colhidas em diferentes estágios de maturação utilizando perfis de produção de gás. Tal estimativa estava fortemente relacionada com a κ_d derivada de medições *in vivo*. Enquanto a κ_d da FDN estimada por incubação ruminal *in situ* para um subconjunto de seis silagens foi claramente subestimada em comparação com as medidas *in vivo*, uma forte relação linear entre as estimativas baseadas na cinética *in situ* e de produção de gás foi notável (Figura 7) (HUHTANEN et al, 2006).

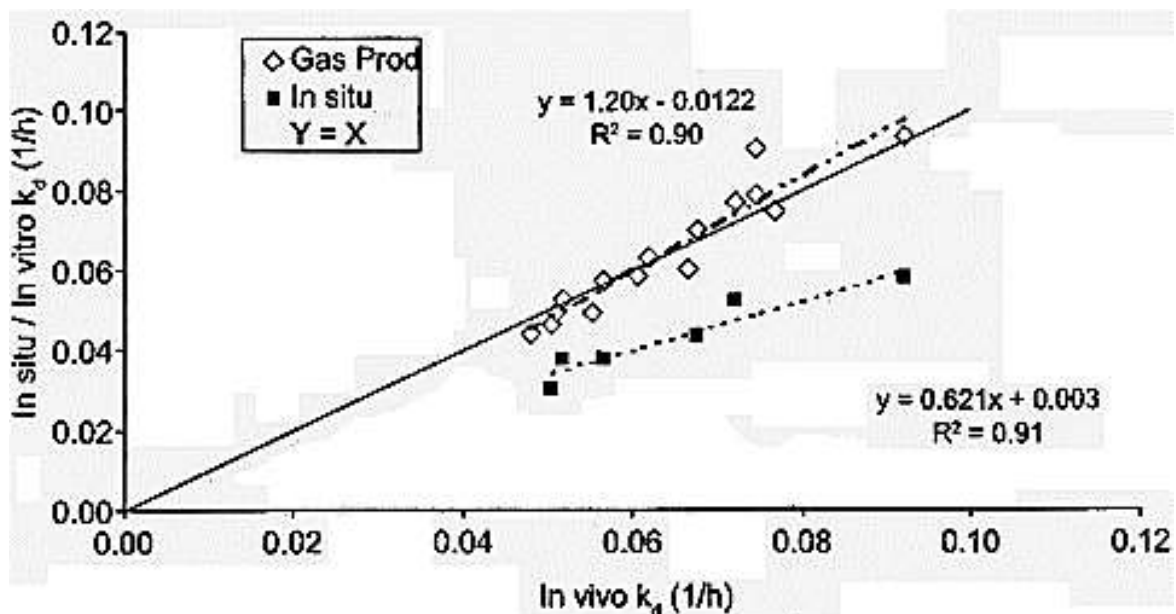


Figura 7. Taxa de digestão estimada a partir de dados *in vivo* ou usando técnicas *in vitro* de produção de gás e *in situ*, adaptado de Huhtanen et al. (2006)

Conforme descrito por Mertens (2005), métodos *in vitro* possibilitam a quantificação das características cinéticas intrínsecas do alimento estudado, como a hidratação do alimento e o tempo de colonização microbiana (tempo de latência), a taxa e a extensão da digestão. O princípio do método *in vitro* é a medição do desaparecimento da massa do material incubado ao longo do período de incubação (PELL et al., 1994). Para que ocorra a fermentação anaeróbica e a realização de medida de ponto final, amostras de alimentos acondicionados em tubos ou frascos vedados permanecem em contato com o conteúdo ruminal tamponado (solução tampão simulando a saliva do ruminante e o conteúdo de rúmen filtrado), onde se tenta reproduzir as condições existentes no rúmen, como presença de microrganismos, anaerobiose, temperatura de 39°C e pH de 6,9 (MOULD et al., 2005).

A confiabilidade das técnicas de degradação *in vitro* depende de alguns fatores, entre eles diluição e manuseio do fluido ruminal, manutenção das condições do rúmen, tipo de tamponante, tamanho da partícula, dieta do animal doador e tempo de fermentação (BERCHIELLI et al., 2006). Em ensaios de digestão *in vitro*, as vantagens do método residem na sua rapidez, uniformidade físico-química do local de fermentação, conveniência de se manter poucos animais fistulados (ALCALDE et al., 2001) e, principalmente, estimação da digestão de uma grande quantidade de amostras simultaneamente com o uso da incubadora artificial (SANTOS et al., 2000), podendo ser de um grande número de alimentos. Porém, podem apresentar falhas pela utilização inadequada do inóculo, nutrientes essenciais, tampões ou equipamentos, que devem garantir as condições de pH, anaerobiose e nutrientes essenciais para biomassa microbiana (VAN SOEST, 1994).

2.1.3.1. Degradação fermentativa por gravimetria *in vitro*

Os métodos gravimétricos, propostos por Tilley e Terry (1963), que utilizam um único tempo de incubação, como a digestibilidade *in vitro*, são importantes ferramentas para a nutrição de ruminantes e, se aplicadas de maneira correta, têm muito a contribuir no entendimento da cinética de digestão. As técnicas *in vitro* podem

ser mais práticas e permitirem 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).

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

Várias metodologias são utilizadas na quantificação da degradação fermentativa *in vitro* por meio de adição de cultura microbiana ruminal com o objetivo de quantificar a \overline{TD}_{FDN} . Entre essas estão compreendidas as que utilizam pressão contínua de CO₂ (GOERING e VAN SOEST, 1970), tubos de centrífuga com válvulas de liberação de gás (MOORE e MOTT, 1976) e frascos lacrados com rolhas de borracha e lacres de alumínio (PELL e SCHOFIELD, 1993). Hall e Mertens (2008) avaliaram diferentes métodos de estimar a digestibilidade da fibra por gravimetria e concluíram que essa variável pode ser alterada pela metodologia de fermentação seguida; por isso os valores de digestibilidade encontrados para os diferentes métodos não serem comparáveis.

Pell e Schofield (1993), analisando a digestibilidade de forragem, concluíram que a gravimetria *in vitro* quantifica o desaparecimento dos componentes do substrato, enquanto que a produção de gases mede o aparecimento dos produtos resultantes da fermentação dos substratos solúveis e insolúveis, considerando o volume derivado do substrato solúvel uma vantagem sobre o método que não o considera.

2.1.3.2. Produção cumulativa de gases *in vitro*

Devido às limitações referidas à gravimetria, a mensuração da produção cumulativa dos gases tem sido utilizada com sucesso para estimativa das κ_d de frações solúveis e insolúveis dos carboidratos. O princípio é que os gases produzidos são indicadores indiretos da cinética de degradação microbiana a partir da fermentação do material incubado (PELL e SCHOFIELD, 1993; MALAFAIA et al., 1998; RYMER et al., 2005).

Theodorou et al. (1994) desenvolveram um sistema com base na incubação anaeróbica *in vitro*, acrescido de líquido de rúmen e meio tamponado, em frascos hermeticamente fechados, nos quais os gases produzidos acumulam-se no espaço superior entre a tampa e o líquido ruminal. As determinações são baseadas no volume e na pressão que os gases exercem à medida que o crescimento microbiano se desenvolve. A avaliação da pressão corrige possíveis distorções de leituras volumétricas, os gases são liberados em tempos pré-determinados e a pressão acumulada, o intervalo entre leituras e o número de vezes que o gás é liberado são registrados; estas informações são utilizadas para calcular o volume da produção cumulativa de gases.

A cinética de produção de gás depende da sequência dos processos a seguir: solubilização rápida dos substratos durante a incubação; rápida fermentação dos componentes solúveis após incubação; e mudança gradual à fermentação das partes insolúveis (fibra), que precisam ser hidratadas e colonizadas por microrganismos do rúmen para depois poderem ser fermentadas (VAN MILGEN et al., 1993; CONE et al., 1997; SCHOFIELD, PITT e PELL, 1994). As taxas com que esses processos podem ocorrer dependem da concentração inicial, da composição da população microbiana e da capacidade desta em colonizar, fermentar e utilizar os produtos de fermentação para o crescimento (HIDAYAT et al., 1993).

A seguir, descrevem-se alguns fatores que podem afetar o perfil de produção de gás de alguns alimentos: efeito da ventilação do gás durante a incubação, da mudança da pressão atmosférica, que pode ser corrigida por meio da utilização do frasco em branco (PELL e SCHOFIELD, 1993); agitação do frasco, que tem correlação

positiva com a produção de gás (WILKINS, 1974); tamanho da amostra e preparação da mesma, relação entre o inóculo, a população microbiana e o animal doador (BUENO et al., 2005); composição média do substrato e relação linear positiva da quantidade do mesmo com o volume de gás total produzido (THEODOROU et al., 1994) e do uso de aparelhos.

Devido à complexidade da digestão anaeróbica dos alimentos, em consequência da maior complexidade do substrato e maior diversidade da população microbiana, Schofield, Pitt e Pell (1994) desenvolveram um modelo que possui duplo compartimento para avaliar a cinética de produção de gás assumindo que os alimentos são constituídos por nutrientes de natureza heterogênea, apresentando frações de rápida e de lenta digestão, as quais são digeridas diferentemente pela microbiota ruminal.

De acordo com Schofield, Pitt e Pell (1994), medidas de acumulação de gases *in vitro* podem fornecer informações valiosas sobre a cinética de digestão de alimentos em ruminantes. No entanto, os dados são mais difíceis de interpretar do que o desaparecimento da FDN, porque o gás é gerado a partir de uma ampla gama de substratos, incluindo componentes solúveis e de fibra (insolúvel). Um modelo baseado no crescimento bacteriano, na forma de uma equação logística modificada, parece útil para interpretar dados de acumulação de gás, dando uma alocação quantitativa satisfatória das frações mais rápidas e mais lentas em um substrato de fibras mistas.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Origem dos dados e das amostras para avaliação

2.2.1.1. Modelo de digestibilidade

Os dados de digestibilidade observada da matéria orgânica fibrosa (aFDNmo) foram obtidos do experimento de Virgínio Júnior (2014), que teve por objetivo quantificar o consumo de matéria seca, nutrientes e energia digestível por bovinos em função de crescentes níveis de inclusão de FDN e escalonados em função da massa corporal dos animais: 3, 6, 9 e 12 g/(kg.dia). As dietas foram calculadas com quatro silagens de milho ofertadas nos quatro períodos experimentais (SM1, SM2, SM3 e SM4), fubá de milho (FM) e farelo de soja (FS) (Tabela 1). A formulação das dietas foi tratada como um problema de programação não linear (JARDIM et al., 2013), e o algoritmo do modelo foi programado usando o programa Solver[®] do Microsoft Excel[®] com o método de resolução de Newton (LASDON et al., 1978).

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

| Alimentos | Entidades nutricionais | | | | |
|------------------|-------------------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|------------------------|
| | MS¹ | Cinzas² | PB² | aFDNmo² | LDA² |
| 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 |

¹ g.kg-1 de matéria natural. ² g.kg-1 de matéria seca. Matéria seca (MS); Proteína bruta (PB); Matéria orgânica fibrosa (aFDNmo); Lignina em detergente ácido (LDA).

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

2.2.1.2. Estimativas da cinética de trânsito

Os perfis de cinética de trânsito de partículas fibrosas dos alimentos foram extraídos de um conjunto de dados obtidos por Abreu (2016). Todos os componentes da dieta (silagem de milho e concentrados) foram rastreados quanto ao seu trânsito pelo trato gastrointestinal de novilhos nos ensaios de determinação da cinética de trânsito da fibra da silagem de milho e da fibra do concentrado desse experimento. Para a fibra ser complexada com o indicador, conforme metodologia proposta por Udén et al. (1980) e Ellis e Beever (1984), cada componente estudado da dieta passou por um processo de extração da fração fibrosa em solução de detergente neutro.

Os metais trivalentes utilizados nos ensaios de digestão como indicadores de fase sólida em diferentes porções de fibra complexadas foram o cromo (Cr) e as terras raras (TR) Itérbio (Yb), Európio (Eu), Lantânio (La) e o Ítrio (Y), e de fase líquida foi o cobalto (Co) (UDÉN et al., 1980). A quantidade de fibra complexada com um indicador foi de 25 g cada, o que totalizou uma porção oferecida a cada animal de 100 g de fibra de silagem de milho complexada com Cr, Yb, Eu e La, além de 25 g de fibra de concentrado complexada com Y. Essa porção foi oferecida individualmente, no período matutino, em uma única dose, sem que houvesse sobras; e, para que fosse mais palatável aos animais, o material foi misturado a uma porção de milho moído.

Após a ingestão do marcador, as amostras de fezes foram coletadas da ampola retal dos novilhos 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. 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). Em seguida, as amostras fecais foram identificadas e secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas e moídas em moinho de facas tipo “Willey” com peneira de 1mm e acondicionadas em sacos plásticos.

Para a taxa de passagem da fase líquida, foi utilizado o indicador NaCo-ETDA, segundo a metodologia descrita por Udén et al. (1980). O indicador foi fornecido em dose única aos animais em cada período na quantidade de 5 g de NaCo-ETDA diluídos em 25 mL de água destilada via sonda para administração oral acoplada a uma seringa dosadora automática. Foram adotados os mesmos tempos de coleta das fezes para a taxa de passagem de partículas e a correção para o tempo real de coleta. A administração do indicador foi realizada imediatamente após cada animal terminar o consumo das partículas complexadas com indicadores. As amostras para quantificação do Co foram as mesmas para os demais indicadores.

2.2.1.3. Degradação gravimétrica *in vitro*

Dados não publicados de degradação gravimétrica de incubação anaeróbica *in vitro* foram originários do trabalho de dissertação de Rohem Júnior (2016). Neste experimento, as amostras dos alimentos oferecidos nos experimentos de Virgínio Júnior (2014) foram incubadas pela técnica *in vitro* com o intuito de obter perfis de degradação da aFDN_{mo}, medida sem o sulfito de sódio (MERTENS, 2002) e obtida pela extração dos resíduos de incubação *in vitro*. No total, foram obtidos nove perfis de degradação para as silagens de milho, um perfil de degradação para o milho moído e um perfil de degradação para o farelo de soja. Cada batelada de incubação em banho-maria continha todos os alimentos e todos os tempos de incubação distribuídos em frascos de vidro. A batelada correspondeu a uma corrida que, repetida no tempo (UDÉN et al., 2012), possibilitou a obtenção de duplicatas válidas.

Nas incubações *in vitro* feitas em banho-maria a 39°C, foram utilizados frascos de 100 mL na cor âmbar, vedados com tampas de borracha e lacres de alumínio. Foi utilizado aproximadamente 0,5 g de amostras pré-secas em estufa ventilada a 55°C

por 72 horas (h), moídas em moinho tipo Wiley, em peneira de 1 mm de diâmetro. As amostras foram incubadas com 40 mL de meio de cultura reduzido e 10 mL de inóculo ruminal como descrito por Van Soest e Robertson (1985). O conteúdo ruminal (partículas e fase líquida) que deu origem ao inóculo foi obtido de três ovinos machos adultos com fístula ruminal.

O inóculo, o meio de cultura e a solução redutora foram preparados de acordo com as recomendações de Hall e Mertens (2008). O líquido e o material fibroso do conteúdo ruminal foram coletados separadamente, duas horas após a alimentação e armazenados em duas garrafas térmicas até o momento de utilização no laboratório. O material fibroso foi batido em liquidificador por 60 segundos junto com o líquido ruminal na proporção de 1:2 (material fibroso: líquido ruminal) e com infusão contínua de CO₂. A mistura foi filtrada através de oito camadas de gaze. Em seguida, o inóculo ruminal filtrado foi adicionado ao meio de cultura previamente reduzido na proporção 4:1, mantida a mistura a 39°C sob infusão constante de CO₂ até que o volume necessário de líquido de incubação fosse transferido para os frascos. Em seguida, os frascos foram vedados e transferidos à incubadora (HALL e MERTENS, 2008).

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). Em cada tempo preestabelecido, os frascos (1 Branco + 1 Amostra de cada alimento) foram retirados do banho-maria, levados para um banho de gelo para redução da temperatura e consequente redução da atividade microbiana, e, assim que possível, os frascos foram centrifugados a 1500 g por 15 minutos a 4°C em centrífuga Hanil modelo Supra 22K (Hanil Science Industrial Co., Ltd., Gyeyang-gu, Incheon, Coreia do Sul).

Após a centrifugação, o material foi filtrado em papel de filtro quantitativo de filtragem rápida evitando-se a transferência de partículas. As partículas do resíduo da incubação contidas no *pellet* e as eventuais partículas retidas no papel de filtro foram transferidas quantitativamente para copos Berzelius com auxílio de, aproximadamente, 50 mL de detergente neutro. O resíduo de cada tempo de incubação foi submetido à extração com detergente neutro para quantificação da

massa de aFDN_{mo} com adição de $0,5 \pm 0,1$ g de Na_2SO_3 (sulfito de sódio) de acordo com o método 2002.04 (MERTENS, 2002) e recomendação de Hall e Mertens (2008).

2.2.1.4. Produção cumulativa de gases

Simultaneamente ao estudo de degradação gravimétrica do trabalho de dissertação de Rohem Júnior (2016), a produção cumulativa de gases foi obtida por meio da mesma incubação anaeróbica *in vitro* em banho-maria a 39°C, baseada nas metodologias descritas por Malafaia et al. (1998), com modificações. No entanto, o número de frascos para leitura do gás foi diminuindo com o progresso do tempo de incubação, sobrando quatro frascos (um para cada alimento) no último tempo. Deste modo, cada batelada ou corrida de incubação *in vitro* foi considerada como bloco.

Utilizando um dispositivo não automatizado (Figura 8) similar ao utilizado por Abreu et al. (2014), a pressão dos gases foi obtida por leituras manométricas (a) e o volume, medido por meio de pipeta graduada (c) (25 mL; incremento 0,1 mL). Para a medição do volume, foi delineado um sistema fixado em moldura feita de madeira, com um manômetro (0 a 8 psi; incremento 0,05) acoplado a uma válvula de plástico de três vias (b). Uma das vias da válvula estava ligada a um tubo de silicone (diâmetro de 5 mm; 1,5 m de comprimento), no qual foi inserida uma agulha descartável de calibre 20 em sua extremidade livre. A segunda via foi anexada ao manômetro por um pequeno pedaço de tubo de silicone (diâmetro de 5 mm; 0,3 m de comprimento) e braçadeiras de plástico. A terceira via foi ligada por outro tubo de silicone (diâmetro de 5 mm, 1,3 m de comprimento) ao topo de uma pipeta graduada de 25 mL (incremento 0,1 mL), tendo a sua extremidade cônica ligada à haste de um funil de decantação (1.000 mL) pelo mesmo tipo de tubo de silicone (5 mm; 0,4 m de comprimento). O funil e a pipeta foram anexados a um suporte de metal em uma posição estática e vertical. O sistema foi preenchido com solução azul de metileno (0,1 g/L) para o marco zero da pipeta, com cautela para evitar a formação de bolhas de ar. O volume da pipeta é calibrado para 20 °C. Portanto, a temperatura do ambiente e da solução de azul de metileno deve ser de 20 °C.

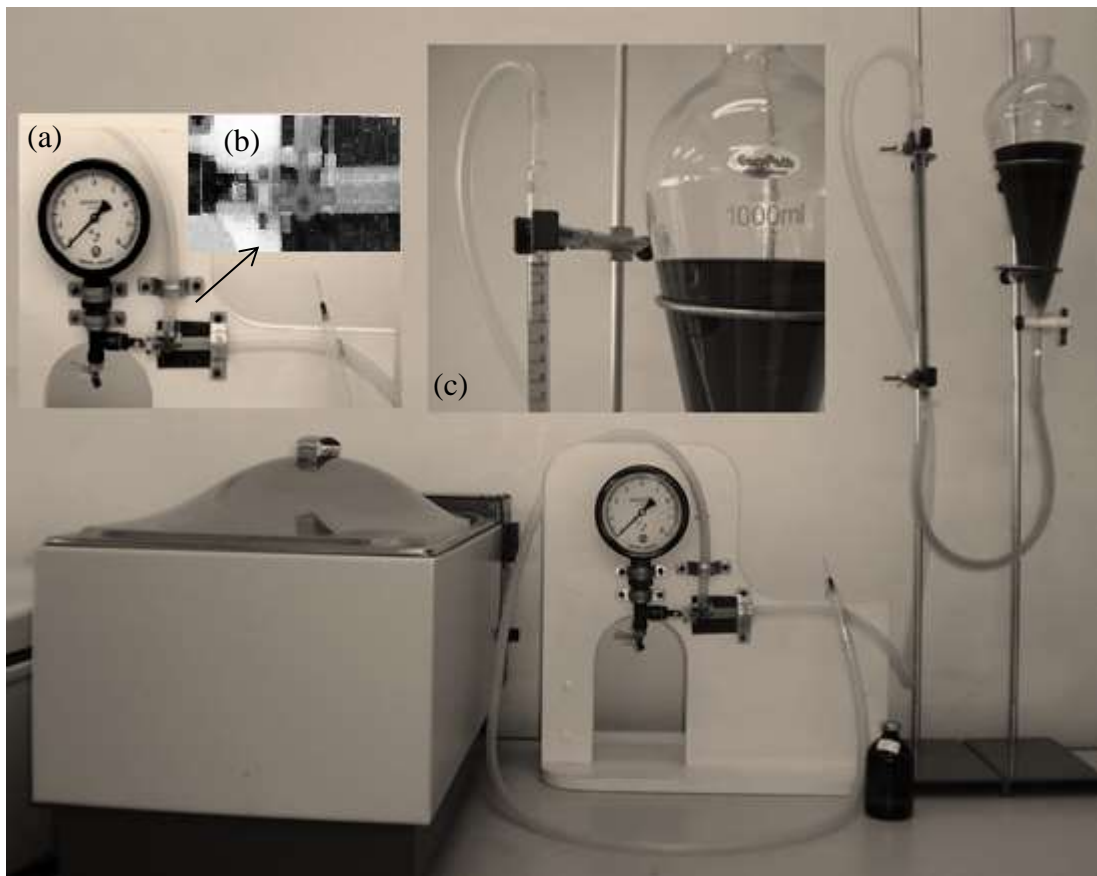


Figura 8. Dispositivo não automatizado utilizado para obter pressão e volume cumulativos dos gases, adaptado de Abreu et al. (2014)

A pressão do gás foi lida no manômetro introduzindo a agulha, ligada à extremidade livre do tubo, nas tampas de borracha do frasco selado. O gás acumulado no espaço entre a tampa e o meio de cultura flui inicialmente para o manômetro. Feita a leitura de pressão, o volume do gás foi obtido mudando a posição da válvula de três vias para permitir o deslocamento do gás de cima para baixo para dentro da pipeta. O objetivo da extremidade solta foi ler a pressão e o volume sem remover o frasco do banho-maria. No entanto, os frascos foram ligeiramente removidos duas vezes ao dia (início da manhã e fim da tarde) durante o período de incubação para serem agitados com o objetivo de homogeneizar o conteúdo do frasco.

As medições de pressão e volume foram realizadas nos tempos 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12; 14; 16; 18; 20; 22; 24; 30; 36; 42; 48; 60; 72; 96 horas do inóculo ruminal. A pressão e o volume cumulativo dos gases da fermentação foram obtidos somando-se as leituras corrigidas para o marco nos tempos subsequentes ao tempo zero. Os volumes lidos foram padronizados para mL/0,1 g de matéria seca.

2.2.2. Perfis de excreção dos indicadores complexados à fibra

A interpretação dos perfis de excreção dos indicadores complexados à fibra foi efetuada por Abreu (2016) empregando-se o modelo compartimentalizado de compartimento simples tempo-dependentes (Eq. (1)) e o modelo de múltiplos compartimentos (Eq. (2)).

Os modelos compartimentalizados de compartimento simples tempo-dependentes para estimar cinética de partículas (POND et al., 1988) são utilizados quando o tempo de permanência da partícula é não exponencial ($N \geq 2$).

$$C_t = \begin{cases} \gamma, & 0 \leq t \leq \tau \\ \gamma + C_0 \lambda^N (t - \tau)^{N-1} \exp(\lambda(t - \tau)) / (N - 1)!, & t \geq \tau \end{cases} \quad \text{Eq. (1)}$$

no qual C_t denota a concentração do marcador no tempo t após a dosagem; γ é a correção para linha de base, *background*; λ é o valor assintótico da taxa de passagem tempo-dependente; N é a ordem de dependência do tempo (representação matemática para o atraso do escape de partícula); τ é a latência discreta, o tempo que o indicador leva do orifício retículo-omasal até a saída nas fezes.

Segundo Ellis et al. (1994), o modelo proposto por Dhanoa et al. (1985) é um modelo com abordagem matemática diferente, mas não deixa de ser um processo

tempo-dependente. Tal modelo também pode ser chamado de múltiplos compartimentos. Esse modelo utiliza a distribuição de múltiplos tempos de atrasos, com uma sequência de compartimentos tempo-independentes (n compartimentos não específicos). Cada compartimento tem uma diferença na magnitude na taxa de “turnover”. O modelo é descrito a seguir: $G1 \mapsto G1 \mapsto (G1 \mapsto G1)_{n-1}$ (ELLIS et al., 1994).

$$C_t = \gamma + S \exp(-\kappa_1 t) \exp(-(n - 2) \exp(-(\kappa_2 - \kappa_1)t)) \quad \text{Eq. (2)}$$

no qual C_t denota a concentração do marcador no tempo t após a dosagem; γ é a correção para linha de base, *background*; k_1 e k_2 são as taxas de passagens nos compartimentos e S é um parâmetro de escala, sem significado biológico, dependente de k_1 , k_2 ; e n é o número de compartimento do modelo.

2.2.3. 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 (Eq. (3); VIEIRA et al., 2012; VIEIRA et al., 2008a):

$$R_t = \tilde{A}_{FDN} \times \left(\delta_a^{N_a} \exp(-k_a t) + \exp(-\lambda_a t) \sum_{i=1}^{N_a-1} \frac{(1-\delta_a^{N_a-i})(\lambda_a t)^i}{i!} \right) + U_{FDN} \quad \text{Eq. (3)}$$

no qual R_t é o resíduo de incubação em um determinado tempo t (h); \tilde{A}_{FDN} é a fração insolúvel potencialmente degradável, não disponível para digestão no tempo zero; Na 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 κ_d (1.h-1), sua taxa de digestão; a constante $\delta_a = \lambda_a / (\lambda_a - \kappa_d)$ simplifica o modelo; e U_{FDN} é a fração indigerível. Neste modelo, quando $\lambda_a \rightarrow \infty$, o modelo reduz-se ao caso exponencial simples (VIEIRA et al., 2008a).

2.2.4. Perfis de produção de gases

A estrutura geral atribuída aos modelos de produção de gases foi a seguinte:

$$V_t = \mu_{V_t} + e_t; \quad \text{Eq. (4)}$$

na qual V_t representa a produção acumulada de gases no tempo t , sendo pressupostos $V_t \sim Normal(\mu_{V_t}, \sigma_{V_t}^2)$. Contudo, para os perfis de produção cumulativa de gases, os modelos foram os que se seguem:

$$\mu_{V_t} = V_f \times \left(1 - \exp(-\kappa_{d_1} t)\right); \quad \text{Eq. (5)}$$

$$\mu_{V_t} = V_f \times \exp[\mu_0 \times \exp(-\kappa t) / \kappa]; \quad \text{Eq. (6)}$$

$$\mu_{V_t} = V_{f_1} \times \left(1 - \exp(-\kappa_{d_1} t)\right) + V_{f_2} \times \exp[\mu_0 \times \exp(-\kappa t) / \kappa]; \quad \text{Eq. (7)}$$

As equações (5), (6), (7) representam, respectivamente, os modelos monomolecular, Gompertz (G) e bicompartimental (MG), composto pela combinação dos modelos monomolecular e Gompertz. A variável V_t representa a produção de gás acumulada (mL) ao longo do tempo (t, h) para as Eq. (5-7). Para as Eq. 5 e 6, V_f é o volume de gás (mL) assintótico alcançado para uma quantidade de substrato; κ_{d_1} é a taxa constante (1/h) de produção de gases inferida como taxa de digestão do substrato; κ é a taxa de redução da taxa de fermentação inicial (mL/h); μ_0 é a taxa de degradação inicial que decresce à medida que o substrato vai sendo consumido; e t é o tempo (h) de incubação *in vitro*.

A Eq. (7) é um modelo de dois *pools* proposto para ajustar formas sigmóides, nas quais existem duas produções assintóticas de volume de gás (V_{f_1} e V_{f_2}). O modelo monomolecular descreve a digestão da quantidade de substrato solúvel, enquanto que o modelo Gompertz é parte do modelo MG, que descreve a digestão da quantidade de substrato insolúvel, a fibra. Portanto, para obter a taxa de digestão da fração insolúvel ($\bar{\kappa}_d$) de cada modelo, é necessário considerar o tempo (t_i) na abscissa e o volume de gás (V_{t_i}) na ordenada do ponto de inflexão (i):

$$t_i = \ln(\mu_0/\kappa) / \kappa \quad \text{Eq. (9)}$$

$$V_{t_i} = V_f \exp\left[-\mu_0 \frac{\kappa}{\mu_0} \frac{1}{\kappa}\right] \quad \text{Eq. (10)}$$

Portanto,

$$V_{t_i} = V_f e^{-1} \quad \text{Eq. (11)}$$

Derivando V_t em função de t :

$$\frac{dV_t}{dt} = \mu_0 e^{-\kappa t} V_t \quad \text{Eq. (12)}$$

$$\frac{dV_t}{dt} = \mu_0 e^{-\kappa t} V_f \exp\left[-\frac{\mu_0 e^{-\kappa t}}{\kappa}\right] \quad \text{Eq. (13)}$$

$$\frac{dV_t}{dt} = V_f \mu_0 \exp\left[-\frac{\mu_0 e^{-\kappa t}}{\kappa - \kappa t}\right] \quad \text{Eq. (14)}$$

$$\left(\frac{dV_t}{dt}\right)_i = V_f \mu_0 \exp\left[-\frac{\mu_0 e^{-\kappa t_i}}{\kappa - \kappa t_i}\right] \quad \text{Eq. (15)}$$

Mas considerando o ângulo da tangente ao ponto de inflexão como a taxa de crescimento máximo (μ_m) e o volume assintótico (V_f):

$$\mu_m = \left(\frac{dV_t}{dt}\right)_i \quad \text{Eq. (16)}$$

$$\mu_m = V_f \mu_0 \exp\left[-\frac{\mu_0 e^{-\kappa t_i}}{\kappa - \kappa t_i}\right] \quad \text{Eq. (17)}$$

$$t_i = \ln(\mu_0/\kappa)/\kappa \quad \text{Eq. (18)}$$

o que permite obter a expressão:

$$\bar{\kappa}_d = \mu_m/V_f, (mL h^{-1}/mL = h^{-1}) \quad \text{Eq. (19)}$$

2.2.4.1. Funções de covariância

A função nlme do pacote nlme do software R (*R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria) foi utilizada para avaliar a homocedasticidade. A variância foi modelada da seguinte forma (PINHEIRO e BATES, 2000):

$$\sigma_{Y_t}^2 = \sigma^2; \quad \text{Eq. (20)}$$

$$\sigma_{Y_t}^2 = \sigma_0^2 (\mu_{Y_t})^{2\psi} \quad \text{Eq. (21)}$$

$$\sigma_{Y_t}^2 = \sigma_i^2 \quad \text{Eq. (22)}$$

nas quais σ^2 é a variância residual homogênea convencional ($\sigma_{Y_t}^2 = \sigma^2$) como mostrado pela Eq. (20). A Eq. (21) é a variância heterogênea escalonada pela potência (ψ) em função da média esperada (μ_{Y_t}), ou seja, as variâncias crescem ou diminuem igualmente. A variância heterogênea Eq. (22) contém a variância residual associada ao $i = \text{ésimo}$ alimento, ou seja, cada um tem um comportamento. No ajuste dos perfis de pressão acumulada de gases, acrescentou-se a correlação geral entre as medidas repetidas no tempo para cada frasco empregando-se a correlação autorregressiva contínua do pacote nlme do R (PINHEIRO e BATES, 2000).

Quanto à abordagem com a média dos melhores modelos (*model average*), esta foi aplicada baseada no seguinte pressuposto: quando se obtém um modelo que apresenta uma w_r igual a 0,9, pode-se afirmar que esse é o melhor modelo; caso contrário, não se tem certeza de qual é o melhor modelo. Por isso, faz-se o *model average* de todos os modelos que se incluam no somatório de suas w_r até totalizar 0,95. Esse procedimento foi realizado no Microsoft Excel. Neste trabalho, existiu uma incerteza substancial na seleção de modelos, que não permitiu definir, com certeza, qual seria o modelo “melhor” (BURNHAM e ANDERSON, 2011).

Portanto, seja \hat{Y}_i o valor previsto do i -ésimo modelo, em que $i = 1, 2, \dots, R$, dados os valores fixos das variáveis preditoras, a média dos modelos pôde ser

calculada como uma média ponderada, em que os pesos foram as probabilidades do modelo (BURNHAM e ANDERSON, 2011):

$$\widehat{Y} = \sum_{i=1}^R w_i \widehat{Y}_i \quad \text{Eq. (23)}$$

O componente de variação para a incerteza de seleção dos modelos foi determinado da seguinte forma (BURNHAM e ANDERSON, 2011):

$$\text{var}(\widehat{Y}) = \sum_{i=1}^R w_i \left\{ \text{var}(\widehat{Y}_i | g_i) + (\widehat{Y}_i - \widehat{Y})^2 \right\} \quad \text{Eq. (24)}$$

2.2.5. Estimação dos parâmetros cinéticos de digestão e passagem

Os modelos de produção de gases, gravimetria e taxa de passagem foram ajustados no R, porém a estimativa por intervalo dos parâmetros de interesse (k_p) foi realizada com o procedimento NLMIXED do programa SAS (SAS System Inc., Cary, NC, USA). O melhor ajuste do modelo ao perfil foi avaliado por meio do cômputo da teoria de informação derivada do critério de Akaike corrigido (AICcr): diferença entre os valores de AICcr (Δr); probabilidade do modelo r th (w_r); razão de evidência de superioridade dos modelos com menores AICcr (ERr); e número de parâmetros do modelo r th (Θ_r) (AKAIKE, 1974; SUGIURA, 1978; BURNHAM e ANDERSON, 2004). O *model average* utilizado para descrever o perfil de produção de gases foi realizado com base nas recomendações descritas por Burnham e Anderson (2011).

2.2.6. Modelos de estimação da \overline{TD}_{FDN} baseados em aspectos cinéticos de digestão e passagem

Nos cálculos dos valores de \overline{TD}_{FDN} , os modelos estimam a digestão de fibra que ocorre no rúmen e no intestino em um dia. As equações aplicadas nesses cálculos utilizaram valores de κ_d gerados com as técnicas gravimétrica e produção cumulativa de gases de incubações anaeróbicas *in vitro* e de taxa de passagem obtidos com os modelos GN e múltiplos compartimentos (MC). As previsões consideradas válidas e apresentadas nos resultados foram obtidas utilizando os modelos GN (Eq. (25)) e MC (Eq. (26)) (SILVA, 2014).

Com o modelo GN, foi calculada a digestão total de FDN no TGI com base nas taxas de passagem de Cr ou Eu para silagem de milho e de Y para farelo de soja e a mistura farelo de soja e fubá, como segue:

$$\overline{TD}_{FDN} = \sum_{j=1}^m f_{a_j} \bar{F}_{NDF_j} \left(\left(k_{d_j} / (\lambda_j + k_{d_j}) \right) \sum_{i=1}^N \left(\lambda_j / (\lambda_j + k_{d_j}) \right)^{i-1} + CD_j \left(\lambda_j / (\lambda_j + k_{d_j}) \right)^N \right) \quad \text{Eq. (25)}$$

na qual f_{a_j} é a fração potencialmente digerível de aFDNom; k_{d_j} é a taxa de digestão fracionária; λ_j é a taxa de passagem assintótica; e \bar{F}_{NDF_j} é a taxa média de ingestão de fibra relacionada ao j -ésimo ingrediente. Foi considerado um coeficiente de digestibilidade, $CD_j = 0,2$, para a fibra potencialmente digerível que escapa da digestão ruminal (SNIFFEN et al., 1992; FOX et al., 2004; TYLUTKI et al., 2008).

Os estimadores anteriores não impedem o uso do modelo MC (Eq. (27)) para calcular a \overline{TD}_{FDN} , assumindo o rumino-retículo como o único segmento estagnado do

TGI. A interpretação biológica dos aspectos cinéticos atribuída a κ_1 e κ_2 da Eq. (26) a passagem de marcadores indigestíveis pelo rúmen (k_1) e pós ruminal (k_2), possivelmente abomaso ou intestino grosso (BLAXTER et al., 1956 ; GROVUM e WILLIAMS, 1973 ; DHANOA et al., 1985 ; FRANCE et al., 1985). Seguindo a derivação sugerida por Ellis et al. (1994), ao ignorar o problema conceitual associado à interpretação biológica de κ_1 e κ_2 , pode-se assumir uma taxa de passagem média (\bar{k}_p) de resíduos fibrosos indigestíveis obtidos como recíproca do tempo médio de retenção:

$$\bar{k}_p = \kappa_1 \kappa_2 / (\kappa_1 + \kappa_2). \quad \text{Eq. (26)}$$

Essa taxa pode ser usada nos modelos deduzidos por Waldo et al. (1972) , Ellis (1978) e Van Soest et al. (1992), que são baseados em um caso particular da derivação apresentada por Vieira et al. (2008b). Para calcular a quantidade total de fibra digestível no trato gastrointestinal, foi utilizada a expressão seguinte derivada do modelo apresentado por Waldo et al. (1972) :

$$\overline{TD}_{FDN} = \sum_{j=1}^m f_{A_j} \bar{F}_{NDF_j} \left(\left(k_{d_j} / (\bar{k}_{p_j} + k_{d_j}) \right) + CD_j \left(\bar{k}_{p_j} / (\bar{k}_{p_j} + k_{d_j}) \right) \right) \quad \text{Eq. (27)}$$

2.2.7. 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 (FEM) (mais próximo de 1 melhor), com intervalo de confiança (0,001 ou 0,1%) 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 1 melhor) e acurácia do modelo (Cb) (mais próximo de 1 melhor) (LIN, 1989); o viés médio (VM) (mais próximo de 0 melhor) (COCHRAN e COX, 1957); o coeficiente de determinação do modelo (CD) (mais próximo de 1 melhor) (LOAGUE e GREEN, 1991); o coeficiente de determinação resistente (r^2) (mais próximo de 1 melhor) (KVALSETH, 1985); e o desvio-padrão médio do erro de predição (DPMP) (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>.

2.3. RESULTADOS

A Tabela 2 apresenta os melhores modelos ajustados entre os modelos M, G e MG. Em relação ao MG e de acordo com a teoria de informação com base no critério de Akaike corrigido, foram três os melhores ajustados aos perfis de produção de gás da dieta total, por terem apresentado menores valores de AICcr e de Δ_r . O arranjo MG trata de modelos que possuem dois *pools* de degradação, em que existe a fração solúvel, composta por carboidratos não fibrosos, e a fração insolúvel, composta pelos carboidratos fibrosos.

Tabela 2. Estimativas do logaritmo negativo da função de verossimilhança e critérios de informação derivados para modelos

| Modelos | $-\hat{l}_r$ | $AICc_r^a$ | Δ_r^a | w_r^a | ER_r^a | θ_r^a |
|--|--------------|------------|--------------|-------------|------------|--------------|
| M-feed, H, Cor., U, (Vf, k) | 809,3 | 1663,3 | 1202,5 | 10^{-262} | 10^{261} | 22 |
| G-feed, H, Cor., (Vf) | 603,3 | 1259,6 | 798,8 | 10^{-174} | 10^{173} | 26 |
| MG-feed, H, Cor., U (Vf1, Vf2) | 191,7 | 465,6 | 4,8 | 0,059 | 11 | 40 |
| MG-feed, H, Cor., U (Vf2, μ_0, k2) | 187,0 | 462,5 | 1,7 | 0,279 | 2 | 43 |
| MG-feed, H, Cor., U (Vf2, μ_0) | 189,3 | 460,8 | 0 | 0,652 | 1 | 40 |

Em relação aos modelos, *feed* significa que o modelo teve efeito de alimento; H significa heterocedasticidade; Cor. significa correlação autorregressiva negativa; U corresponde a matriz irrestrita (pdSymm); e, entre parênteses, estão os parâmetros utilizados como efeitos aleatórios no modelo.

Os critérios utilizados para a escolha dos modelos foram *loglike* ($-\hat{l}_r$); critério de Akaike corrigido do modelo rth ($AICc_r$); diferença entre os valores de $AICc_r$ (Δ_r); probabilidade do modelo rth (w_r); razão de evidência de superioridade dos modelos com menores $AICc_r$ (ER_r); e número de parâmetros do modelo rth (θ_r)

O valor de w_r que maximizou a função de verossimilhança do R foi bem próximo para os três últimos modelos apresentados na Tabela 2 (todos modelos MG com efeito de alimento, com variâncias heterogêneas que gerou um erro comum para cada alimento, com correlação autorregressiva negativa e matriz irrestrita (pdSymm)).

Esses modelos apresentam como característica comum a parte que descreve a digestão do material fibroso e insolúvel indicado pelo parâmetro fixo Vf_2 , que corresponde ao volume de gases produzido e que indica a digestão no compartimento. Diante de uma incerteza que impediu definir qual dos três últimos seria o melhor (diferença de probabilidade de 0,90), foi feita uma média ponderada dos modelos (*model average*), com o peso de cada medida igual ao valor de w_r , de acordo com a metodologia apresentada por Burnham e Anderson (2011). Para a produção de gases *in vitro*, obtiveram-se as médias ponderadas da taxa de digestão de cada alimento e da variância correspondente aos três melhores modelos ajustados (*Average $\bar{\kappa}_d$*).

Após a avaliação da qualidade de ajuste pelo $AICc_r$, foram verificados os valores paramétricos que estavam condizentes com as teorias vigentes sobre a explicação biológica destes parâmetros. A Tabela 3 apresenta as estimativas dos parâmetros fixos (Vf_1 , κ_{d1} , Vf_2 , μ_0 e κ) dos três melhores modelos (MG) de produção de gás geradas no R, as estimativas por intervalo dos parâmetros de interesse ($\bar{\kappa}_d$ de cada modelo) e a média das $\bar{\kappa}_d$ (*Average ($\bar{\kappa}_d$)*) dos três melhores modelos) geradas pelo procedimento NLMIXED do programa SAS para cada alimento da dieta.

Tabela 3. Estimativas dos parâmetros de modelos utilizados para interpretação de perfis de volume de gases produzidos por diferentes categorias de alimentos

| MG-feed, H, Cor., U (Vf1, Vf2) | Vf_1 | κ_{d1} | Vf_2 | μ_0 | κ | $\bar{\kappa}_d$ | <i>Average</i> ($\bar{\kappa}_d$) |
|---|--------------------------|---------------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------------|---|
| FM | 21,1 (0,46) | 0,082 (0,0027) | 6,3 (0,72) | 0,725 (0,2641) | 0,056 (0,0051) | 0,021 (0,0010) | 0,017 (6,275 x 10 ⁻⁶) |
| FS | 16,5 (0,66) | 0,109 (0,0049) | 11,7 (0,92) | 0,183 (0,0337) | 0,040 (0,0025) | 0,015 (0,0004) | 0,017 (2,661 x 10 ⁻⁶) |
| SM1 | 17,1 (0,64) | 0,115 (0,1146) | 10,7 (0,78) | 0,154 (0,0184) | 0,044 (0,0028) | 0,016 (0,0015) | 0,023 (2,973 x 10 ⁻⁵) |
| SM2 | 20,0 (0,37) | 0,092 (0,0028) | 7,0 (0,64) | 1,011 (0,3272) | 0,063 (0,0050) | 0,023 (0,0017) | 0,019 (6,170 x 10 ⁻⁵) |
| SM3 | 6,1 (0,50) | 0,517 (0,0524) | 25,4 (0,76) | 0,468 (0,0360) | 0,126 (0,0032) | 0,046 (0,0008) | 0,046 (8,244 x 10 ⁻⁷) |
| SM4 | 20,2 (0,63) | 0,121 (0,0048) | 7,5 (0,79) | 0,102 (0,0193) | 0,036 (0,0063) | 0,013 (-) | 0,020 (2,566 x 10 ⁻⁵) |

Tabela 3. Cont.

| MG-feed, H, Cor., U (Vf2, μ_0, κ_2) | Vf_1 | κ_{d1} | Vf_2 | μ_0 | κ | $\bar{\kappa}_d$ | Average ($\bar{\kappa}_d$) |
|---|--------------------------|---------------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------------|--|
| FM | 20,9 (0,49) | 0,082 (0,0030) | 6,4 (0,75) | 0,697 (0,2527) | 0,056 (0,0054) | 0,021 (0,0014) | 0,017 (6,275 x 10 ⁻⁶) |
| FS | 16,2 (0,58) | 0,112 (0,0049) | 11,9 (0,82) | 0,184 (0,0299) | 0,042 (0,0031) | 0,015 (0,0012) | 0,017 (2,661 x 10 ⁻⁶) |
| SM1 | 16,8 (0,59) | 0,116 (0,0054) | 11,0 (0,73) | 0,147 (0,0207) | 0,044 (0,0034) | 0,016 (0,0016) | 0,023 (2,973 x 10 ⁻⁵) |
| SM2 | 19,4 (0,47) | 0,097 (0,0038) | 7,7 (0,73) | 0,667 (0,2124) | 0,058 (0,0051) | 0,021 (0,0012) | 0,019 (6,170 x 10 ⁻⁵) |
| SM3 | 5,9 (0,45) | 0,539 (0,0537) | 25,6 (0,74) | 0,465 (0,0375) | 0,126 (0,0038) | 0,046 (0,0009) | 0,046 (8,244 x 10 ⁻⁷) |
| SM4 | 20,3 (0,61) | 0,121 (0,0047) | 7,7 (0,78) | 0,104 (0,0227) | 0,035 (0,0064) | 0,013 (0,0012) | 0,020 (2,566 x 10 ⁻⁵) |
| MG-feed, H, Cor., U (Vf2, μ_0) | Vf_1 | κ_{d1} | Vf_2 | μ_0 | κ | $\bar{\kappa}_d$ | Average ($\bar{\kappa}_d$) |
| FM | 18,7 (0,55) | 0,094 (0,0035) | 9,1 (0,67) | 0,223 (0,0371) | 0,043 (0,0021) | 0,016 (0,0009) | 0,017 (6,275 x 10 ⁻⁶) |
| FS | 18,2 (0,56) | 0,099 (0,0045) | 9,3 (0,75) | 0,411 (0,1072) | 0,050 (0,0033) | 0,018 (0,0004) | 0,017 (2,661 x 10 ⁻⁶) |
| SM1 | 21,2 (0,33) | 0,091 (0,0026) | 5,8 (0,53) | 1,717 (0,6976) | 0,074 (0,0070) | 0,027 (0,0015) | 0,023 (2,973 x 10 ⁻⁵) |
| SM2 | 17,6 (0,51) | 0,109 (0,0041) | 9,9 (0,66) | 0,248 (0,0429) | 0,046 (0,0022) | 0,017 (0,0007) | 0,019 (6,170 x 10 ⁻⁵) |
| SM3 | 7,5 (0,68) | 0,360 (0,0392) | 23,8 (0,86) | 0,493 (0,0476) | 0,123 (0,0033) | 0,045 (0,0007) | 0,046 (8,244 x 10 ⁻⁷) |
| SM4 | 22,3 (0,42) | 0,112 (0,0037) | 4,1 (0,80) | 0,857 (0,6846) | 0,065 (0,0139) | 0,024 (-) | 0,020 (2,566 x 10 ⁻⁵) |

Vf_1 é o volume de gás (mL) assintótico para a quantidade de substrato solúvel; κ_{d1} é a taxa constante (1/h) de produção de gases inferida como taxa de digestão do substrato; Vf_2 é o volume de gás (mL) assintótico para a quantidade de substrato insolúvel; μ_0 é a taxa de degradação inicial que decresce à medida que o substrato vai sendo consumido (1/h); κ é a taxa de redução da taxa de fermentação inicial (mL/h); $\bar{\kappa}_d$ é a taxa de digestão da fração insolúvel (1/h); *Average* ($\bar{\kappa}_d$) é a média ponderada das $\bar{\kappa}_d$ dos três modelos MG citados (1/h). Entre parênteses, está o erro padrão da média de cada medida e, na identificação de cada modelo, estão as variáveis aleatórias utilizadas nos respectivos modelos.

Observou-se na Tabela acima que os valores de $\bar{\kappa}_d$ do modelo MG-feed, H, Cor., U (Vf_2 , μ_0) mais se aproximaram do $\bar{\kappa}_d$ em todos os alimentos. Tal efeito deve-

se à probabilidade utilizada como peso na média ponderada dos três modelos, o que significa que o modelo tem maior probabilidade de descrever o valor verdadeiro ou valor real da digestão por meio do volume de gases produzidos.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4, os três melhores modelos apresentaram heterocedasticidade (H), correlação autorregressiva negativa (Cor.), estrutura de variância e covariância irrestrita (U, pdSymm), alterando os seus efeitos aleatórios entre os modelos.

Tabela 4. Componentes de variância para o efeito aleatório de corrida sobre os parâmetros fixos e desvios-padrão residuais heterogêneos para o fubá de milho (σ_1), farelo de soja (σ_2), silagem de milho 1 (σ_3), silagem de milho 2 (σ_4), silagem de milho 3 (σ_5), silagem de milho 4 (σ_6)

| Modelos | σ_1 | σ_2 | σ_3 | σ_4 | σ_5 | σ_6 | Estrutura de covariância |
|--|------------|------------|------------|------------|------------|------------|--|
| MG-feed, H, Cor., U (Vf1, Vf2) | 0,40 | 0,45 | 0,49 | 0,43 | 0,71 | 0,49 | $\begin{bmatrix} \sigma_{Vf_1}^2 & \sigma_{Vf_1, Vf_2} \\ \sigma_{Vf_2, Vf_1} & \sigma_{Vf_2}^2 \end{bmatrix}$ <p style="text-align: center;">=</p> $\begin{bmatrix} 0,04 & -0,13 \\ -0,13 & 0,42 \end{bmatrix}$ |
| MG-feed, H, Cor., U (Vf2, μ_0, k2) | 0,42 | 0,47 | 0,49 | 0,44 | 0,73 | 0,50 | $\begin{bmatrix} \sigma_{Vf_2}^2 & \sigma_{Vf_2, \mu_0} & \sigma_{Vf_2, \kappa_2} \\ \sigma_{\mu_0, Vf_2} & \sigma_{\mu_0}^2 & \sigma_{\mu_0, \kappa_2} \\ \sigma_{\kappa_2, Vf_2} & \sigma_{\kappa_2, \mu_0} & \sigma_{\kappa_2}^2 \end{bmatrix}$ <p style="text-align: center;">=</p> $\begin{bmatrix} 0,41 & -0,014 & -0,002 \\ -0,014 & 4,5 \cdot 10^{-4} & 6,5 \cdot 10^{-5} \\ -0,002 & 6,5 \cdot 10^{-5} & 9,6 \cdot 10^{-6} \end{bmatrix}$ |
| MG-feed, H, Cor., U (Vf2, μ_0) | 0,40 | 0,45 | 0,46 | 0,42 | 0,71 | 0,48 | $\begin{bmatrix} \sigma_{Vf_2}^2 & \sigma_{Vf_2, \mu_0} \\ \sigma_{\mu_0, Vf_2} & \sigma_{\mu_0}^2 \end{bmatrix}$ <p style="text-align: center;">=</p> $\begin{bmatrix} 0,25 & 0,016 \\ 0,016 & 0,0010 \end{bmatrix}$ |

Foram obtidos desvios-padrão para cada alimento ou desvios-padrão heterogêneos para cada média devido à heterocedasticidade das $\bar{\kappa}_d$ dos alimentos. A correlação autorregressiva negativa de todos os três modelos significa que, com o passar do tempo de leitura do volume de gás (mL/0,1g) em cada frasco, os valores encontrados ficavam mais distantes um do outro. A matriz de variância e covariância irrestrita (U, pdSymm) significa que os valores fora da diagonal das variâncias são os desvios-padrão simétricos e diferentes de zero. Os efeitos aleatórios significam que, de uma corrida a outra, os valores dos parâmetros que estão entre parênteses eram diferentes.

A Tabela 5 mostra os resultados encontrados na avaliação das estimativas dos modelos de \overline{TD}_{FDN} ($M_{n=1,2,3...12}$). Com a análise do poder de predição dos modelos de \overline{TD}_{FDN} , foi possível identificar o melhor modelo, o modelo 12 (M_{12}); por isso, no geral, os valores preditos pelo M_{12} possivelmente encontrar-se-iam próximos às observações reais. Em relação às técnicas de degradação *in vitro*, a produção cumulativa de gases compôs o melhor resultado na predição da digestão total diária de fibra na maioria dos critérios adotados, porém a técnica gravimétrica *in vitro* compôs os modelos que apresentaram maior frequência encontrada entre os melhores resultados, mesmo estando abaixo da predição do M_{12} .

Quanto à análise do poder preditivo dos modelos aplicados ao fluxo de partículas complexadas aos marcadores, é notável que o MC compôs os modelos com as melhores predições da \overline{TD}_{FDN} na maioria dos critérios de avaliação adotados pelo MES. Em relação aos marcadores, os modelos que utilizavam o Eu como indicador apresentaram maiores capacidades de predição da \overline{TD}_{FDN} de acordo com os critérios adotados nessa avaliação.

O gráfico apresentado na Figura 9 corresponde à análise comparativa dos valores observados de \overline{TD}_{FDN} comparados aos valores preditos pelo M_{12} , o qual foi composto pela combinação dos modelos aplicados à técnica de produção cumulativa de gases em incubações anaeróbicas *in vitro* e à passagem de partículas fibrosas complexadas ao marcador Eu.

Tabela 5. Avaliação dos modelos de predição de digestão total diária de fibra (\overline{TD}_{FDN}) com base nas taxas de digestão, estimadas pelas técnicas *in vitro* gravimétrica e produção de gases, e nas taxas de passagem de marcadores

| Modelos de \overline{TD}_{FDN} | Média (g/d) | DP | Mediana | r^2 | DPMP | VM | FEM | CD | Cb | CCC |
|--|----------------|-------|---------|-------|-------|------|--------|-------|-------|-------|
| Observado | 1191 | 598,3 | 1299 | | | | | | | |
| M₁. κ_d Grav. / GN Cr | 1117 | 440,0 | 1175 | 0,951 | 206,2 | 74 | 0,877 | 1,796 | 0,945 | 0,921 |
| M₂. κ_d Grav. / GN Eu | 1082 | 413,8 | 1117 | 0,932 | 247,9 | 109 | 0,823 | 1,950 | 0,915 | 0,883 |
| M₃. κ_d Grav. / MC (K1) Cr | 851 | 293,4 | 897 | 0,910 | 470,1 | 340 | 0,363 | 1,745 | 0,628 | 0,599 |
| M₄. κ_d Grav. / MC (K1) Eu | 800 | 288,9 | 833 | 0,944 | 504,8 | 391 | 0,265 | 1,485 | 0,582 | 0,565 |
| M₅. κ_d Grav. / MC (K1, K2) Cr | 926 | 332,4 | 986 | 0,944 | 386,5 | 265 | 0,569 | 1,958 | 0,739 | 0,718 |
| M₆. κ_d Grav. / MC (K1, K2) Eu | 1313 | 526,0 | 1363 | 0,970 | 170,8 | -122 | 0,916 | 1,225 | 0,969 | 0,954 |
| M₇. κ_d Gás / GN Cr | 928 | 353,8 | 962 | 0,890 | 387,4 | 263 | 0,567 | 1,822 | 0,767 | 0,723 |
| M₈. κ_d Gás / GN Eu | 914 | 350,1 | 945 | 0,931 | 388,0 | 277 | 0,566 | 1,775 | 0,752 | 0,725 |
| M₉. κ_d Gás / MC (K1) Cr | 696 | 231,4 | 747 | 0,837 | 631,1 | 495 | -0,149 | 1,168 | 0,422 | 0,386 |
| M₁₀. κ_d Gás / MC (K1) Eu | 647 | 228,6 | 682 | 0,883 | 666,9 | 544 | -0,283 | 1,000 | 0,387 | 0,364 |
| M₁₁. κ_d Gás / MC (K1, K2) Cr | 768 | 263,1 | 820 | 0,887 | 552,9 | 423 | 0,118 | 1,408 | 0,519 | 0,489 |
| M₁₂. κ_d Gás / MC (K1, K2) Eu | 1274 | 501,9 | 1330 | 0,973 | 154,1 | -83 | 0,932 | 1,382 | 0,974 | 0,961 |
| Melhor modelo | | | | 12 | 12 | 1 | 12 | 10 | 12 | 12 |

$M_{n=1,2,3...12}$. = Modelo de estimativa de \overline{TD}_{FDN} ; κ_d Grav. = Taxa de digestão obtida pela técnica gravimétrica *in vitro*; κ_d Gás = Taxa de digestão obtida pela produção cumulativa de gases *in vitro*; GN = Modelos GN de taxa de passagem; MC = Modelo de múltiplos compartimentos para estimar taxa de passagem; Cr = Marcador cromo complexado à fibra nos ensaios de taxa de passagem; Eu = Marcador európio complexado à fibra nos ensaios de taxa de passagem. Entre parênteses, estão os efeitos aleatórios dos modelos de taxa da passagem

A análise da Figura 9 confirma a aproximação dos pares ordenados em relação à linha de unidade ($X=Y$) para a variável \overline{TD}_{FDN} com a utilização do M12. É notável que, com uma quantidade pequena ingerida, o modelo super estima o valor da digestão total diária de fibra; por exemplo, o mesmo prediz um valor igual a 400 g/d de fibra enquanto que o valor obtido é de 200 g/d FDN; no entanto, com o aumento da ingestão, os dados de dispersão se distribuem melhor com relação à linha de unidade, demonstrando que, ao mesmo tempo que o M₁₂ tem boa capacidade de predição de digestão total de fibra, existe a necessidade de entender os efeitos inerentes aos vícios de estimação quando referentes a menores quantidade ingeridas.

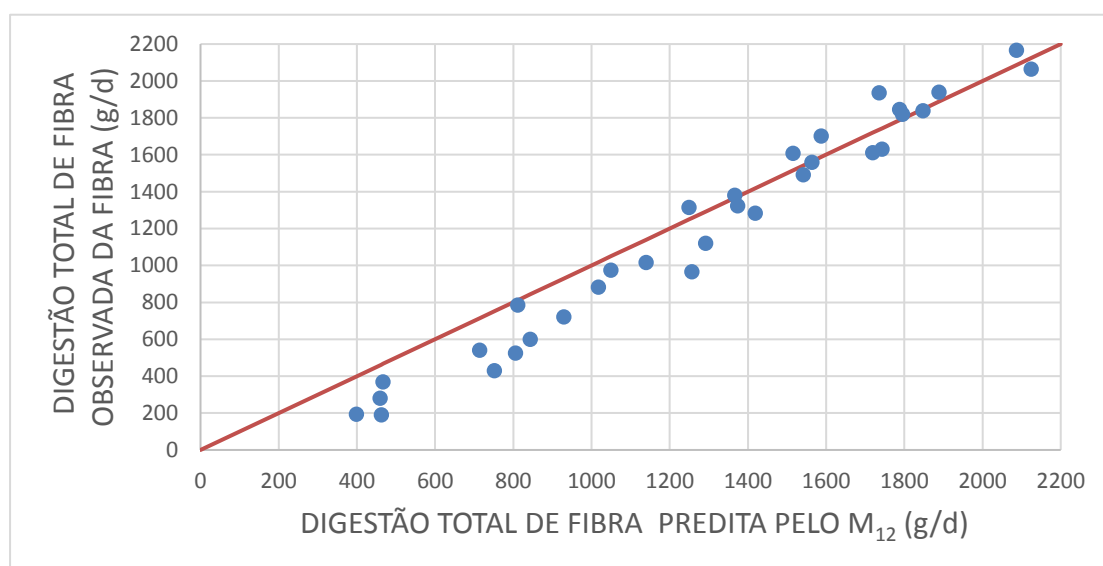


Figura 9. Valores de \overline{TD}_{FDN} observados comparados aos valores preditos. A linha sólida é a linha de unidade ($X=Y$), os pontos são os pares coordenados, predito com o observado

2.4. 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). Conforme Mertens (2005), os aspectos cinéticos da digestão *in vitro* podem revelar algumas propriedades intrínsecas do alimento estudado, como a hidratação do alimento e o tempo de colonização microbiana (tempo de latência), a taxa de digestão e extensão da digestão (produção assintótica de gás).

Ao expressar a digestibilidade em função da taxa de digestão constante (κ_d) dividida pela taxa de desaparecimento constante ($\kappa_d + \kappa_p$), obtém-se maior compreensão do processo digestório, e começam a definir-se, com mais clareza, os fatores que a afetam. Esses fatores podem ser atribuídos às características cinéticas do alimento e dos eventos que ocorrem devido à possível concorrência entre as taxas de passagem e digestão (ALLEN e MERTENS, 1988).

Quando os alimentos ingeridos chegam ao rúmen, as enzimas microbianas não têm acesso instantâneo às fibras potencialmente digestíveis (ALLEN e MERTENS, 1988), a fração do alimento passa por um tempo de preparo antes da digestão (SUTHERLAND, 1988; VAN MILGEN et al., 1991). A hidratação, diluição de substâncias possíveis inibidoras do crescimento microbiano, adesão e efetiva colonização do substrato estão envolvidas nesse processo de preparação (MERTENS, 2005). No entanto, estes eventos proporcionam um atraso no fluxo das partículas, aumentando o tempo médio de retenção no rúmen que promove tempo suficiente para digestão da fração lentamente digestível (ELLIS et al., 1999). Do contrário, a taxa de passagem aumenta e a digestibilidade do alimento diminui (VAN SOEST et al., 1991).

Os processos descritos acima são de extrema importância para a obtenção de dados verdadeiros e corretos da digestão total diária de fibra. Sem esse referencial, as próprias estimativas que são geradas por métodos indiretos,

os quais visão a prescrição dos fenômenos reais, torna-se inexecutável a predição da realidade com acurácia e precisão.

A interpretação cinética dos perfis de degradação gravimétrica descreve que, à medida que o tempo passa, o resíduo de fibra da incubação decresce até atingir a assíntota (ROHEM JÚNIOR, 2016). De acordo com os resultados de digestão total da fibra encontrados neste trabalho, ao analisar os modelos de degradação *in vitro*, embora o modelo de degradação gravimétrica aplicado não tenha sido o melhor modelo de acordo com a teoria de informação dos critérios utilizados pelo MES, pode-se assumir que a gravimetria pode contribuir positivamente nos ensaios de digestão com incubações anaeróbicas *in vitro*. A proximidade dos modelos que obtêm a taxa de digestão utilizando a técnica gravimétrica *in vitro* e do M_{12} confirma essa asserção.

Segundo Mertens (2005), a cinética digestiva dos componentes dos alimentos deveria ser descrita pela divisão do alimento nas seguintes frações: rápida e lentamente digestível e indigestível. O método de produção acumulada de gases é vantajoso se comparado ao método gravimétrico, porque é mais barato, simples e menos laborioso e permite a mensuração da fermentação dos compostos solúveis (PELL e SCHOFIELD, 1993; MALAFAIA et al., 1999). Enquanto o modelo bifásico de degradação gravimétrico abrange as frações rápida e lentamente degradáveis da fibra (VIEIRA et al., 2008a), os modelos bifásicos de produção acumulada de gases abrangem os carboidratos solúveis e insolúveis (PELL e SCHOFIELD, 1993; CONE et al., 1997).

O modelo de monomolecular é um modelo não sigmoidal, sendo este exponencial com dois parâmetros (V_f e κ_d), que pressupõe a taxa específica de produção de gases proporcionalmente à quantidade de substrato e independente da massa microbiana. Já o modelo de Gompertz com três parâmetros (V_f , μ_0 e κ) assume que a taxa de produção de gás é proporcional à atividade microbiana, mas, de acordo com a cinética de primeira ordem, a qual pode ser atribuída a perda de eficiência na taxa de fermentação com o tempo, essa proporcionalidade diminui com o tempo (BEUVINK e KOGUT, 1993).

Os componentes dietéticos que são fermentados no rúmen são uma função da taxa de fermentação e do tempo de permanência no rúmen. Este

último normalmente é expresso como o tempo médio de retenção, isto é, a recíproca da taxa de fluxo fracional.

A alocação das constantes de velocidade para compartimentos específicos no trato digestório não é totalmente clara. Originalmente, Blaxter et al. (1956) sugeriram que a constante de taxa mais lenta representava eventos ocorrendo pós-ruminalmente e que a constante de taxa mais rápida representava eventos que ocorriam no rúmen. No entanto, Grovum e Williams (1973) mostraram que a constante de taxa mais lenta se relacionava com a saída do rúmen e sugeriram que a constante de taxa mais rápida provavelmente representava eventos que ocorriam após o rúmen. Dhanoa et al. (1985) assumiram a constante de taxa mais lenta representando a saída do rúmen e, em alguns casos, foi determinada pela análise da parte pós-pico da curva de excreção como uma única exponencial. Os autores consideram que o modelo MC preenche o requisito de fornecer duas taxas constantes que teoricamente se relacionam com os dois compartimentos que têm o TMR mais longo. Embora ainda não tenha sido demonstrado claramente que eles podem ser identificados como o rúmen e o ceco, os resultados obtidos no estudo são consistentes com κ_2 , representando vazão cecal e κ_1 , representando a taxa de fluxo ruminal.

Entretanto, como recurso para eliminar as diferenças nas constantes de velocidade entre κ_1 e κ_2 , foi feita uma média ($\bar{\kappa}_p$), que foi aplicada no modelo MC de digestão total diária de fibra. Portanto, apesar de ter um maior número de parâmetros, o modelo MC teve melhor capacidade de ajuste conforme revelada pela teoria da informação. Essa capacidade de estimar \overline{TD}_{FDN} pode ser atribuída ao fato de o modelo considerar apenas uma taxa de passagem ($\bar{\kappa}_p$) ao invés de duas taxas de passagem, tornando as estimativas mais próximas à realidade.

Assim como o primeiro modelo criado por Waldo et al. (1972), o modelo GN é limitado pelo mesmo pressuposto ao assumir a homogeneidade de partícula no rúmen e que, independentemente do tamanho ou idade da partícula, existe a probabilidade de escape, embora o fluxo de partículas do rúmen seja um processo seletivo (HUHTANEN et al., 1995). De acordo com Ellis et al. (1994) e Huhtanen et al. (2006), se se desconsiderarem 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 da indigestível.

Deve-se levar em consideração que, no modelo GN, existem duas condições fundamentais para diferentes fenômenos ocorrerem, quais sejam, quando a ordem dependente do tempo é igual a um ($N = 1$), em que todas as partículas têm a mesma probabilidade de escape, e quando $N \geq 2$, quando a probabilidade de escape de partículas é diferente. Apesar dessas restrições matemáticas impostas, o modelo de certa forma imita a realidade, pois considera um tempo de atraso para o escape de partícula do rúmen (MATIS 1989).

O M12 foi o modelo utilizado na montagem da Figura 9; apresenta um potencial de predição da \overline{TD}_{FDN} , porém mostra comportamentos distintos quanto ao nível de ingestão de fibra: com uma pequena quantidade de fibra ingerida, o modelo superestima a \overline{TD}_{FDN} ; no entanto, com o aumento do consumo de fibra, o modelo torna-se mais preciso na estimativa de digestão total diária de fibra. Essa melhoria na predição faz a produção cumulativa de gases com incubações anaeróbicas *in vitro* e a estimativa da taxa de passagem por meio da utilização de fibras complexadas a marcadores serem consideradas ferramentas úteis às estimativas da digestão total diária de fibra em ruminantes.

3. CONCLUSÃO

A técnica de produção cumulativa de gases *in vitro* é promissora na estimação da \overline{TD}_{FDN} .

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M. L. C. **Estudo da cinética de trânsito da fase sólida no trato gastrointestinal de ruminantes quanto à indelebilidade de indicadores.** Campos dos Goytacazes: UENF, 2016.

ABREU, M. L. C.; VIEIRA, R. A. M.; ROCHA, N. S.; ARAUJO, R. P.; GLÓRIA, L. S.; FERNANDES, A. M.; LACERDA, P. D.; GESUALDI JÚNIOR, A. *Clitoriaternatea L.* as a Pontential High Quality Forage Legume. **Asian-Australasian Journal of Animal Science.** Korea, 2014.

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control**, Roma: University of Rome Tor Vergata, 1974.

ALCALDE, C. R.; MACHADO, R. M.; SANTOS, G. T. DOS; PICOLLI, R.; JOBIM, C. C. Digestibilidade *in vitro* de alimentos com inóculos de líquido de rúmen ou de fezes de bovinos, **Acta Scientiarum**, Maringá: UEM, 2001.

ALLEN, M. S. Mind over models. **Tri-State Dairy Nutrition Conference.** West Lafayette: Michigan State University, The Ohio State University, and Purdue University, 2011.

ALLEN, M. S.; MERTENS, D. R. Evaluating constraints on fiber digestion by rumen microbes. Oxford: **The Journal of Nutrition**, 1988.

BALCH, C.C. Factors affecting the utilization of food by dairy cows. 1. The rate of passage of food through the digestive tract. Cambridge: **The British Journal of Nutrition**, 1950.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. de Nutrição de ruminantes, Jaboticabal: **FUNEP**, 2006.

BEUVINK, J. M. W.; KOGUT, J. Modeling gas-production kinetics of grass silages incubated with buffered ruminal fluid. Oxford: **Journal of Animal Science**, 1993.

BIBBY, J.; TOUTENBURG, H. Prediction and Improved Estimation in Linear Models. New Jersey: **John Wiley e Sons**, 1977.

BLAXTER, K. L.; GRAHAM, N. M.; WAINMAN, F. W. Some observations on the digestibility of food by sheep, and on related problems. Cambridge: **The British Journal of Nutrition**, 1956.

BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R. Multimodel Inference: Understanding AIC and BIC in Model Selection. Thousand Oaks: **Sociological Methods & Research**, 2004.

BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R.; HUYVAERT, K. P. AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: some background, observations, and comparisons. Canada: **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 2011.

COCHRAN, W. G.; COX, G. M. Experimental Design. New Jersey: **John Wiley and Sons**, 1957.

CONE, J. W.; VAN GELDER, A. H.; DRIEHUIS, F. Description of gas production profiles with a three-phasic model. Amsterdam: **Animal Feed Science and Technology**, 1997.

CONNER, M.E.; MATIS, J.H.; LASCANO, C; ELLIS, W.C. Associated flow of lanthanides and digesta particulates in cattle. In: **Abstracts of Annual Meeting American Society of Animal Science**. Springfield: American Society of Animal Science, 1977. P. 67.

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

DHANOVA, M. S.; SIDONS, R. C.; FRANCE, J.; GALE, D. L. A multicompartamental model to describe marker excretion patterns in ruminant faeces. Cambridge: **The British Journal of Nutrition**, 1985.

DOS SANTOS, G. T.; ASSIS, M. A.; GONÇALVES, G. D.; MODESTO, E. C.; CECATO, U.; JOBIM, C. C.; DAMASCENO, J. C. Determinação da digestibilidade *in vitro* de gramíneas do gênero *Cynodon* com uso de diferentes metodologias. Maringá: **Acta Scientiarum**, 2000.

EHLE, F. R.; STERN, M. D. Influence of particle size and density on particulate passage through alimentary tract of Holstein heifers. Philadelphia: **Journal of Dairy Science**, 1986.

ELLIS, W. C. Determinants of Grazed Forage Intake and Digestibility. Philadelphia: **Journal of Dairy Science**, 1978.

ELLIS, W. C.; BEEVER, D. E. Methods for binding rare earths to specific feed particles. In: KENNEDY, P.M. **Techniques in Particle Size Analysis of Feed and Digesta in Ruminants**. Edmonton: Canadian Society of Animal Science, 1984. p. 154-165.

ELLIS, W. C.; KENNEDY, P.; MATIS, J. H. Passage and digestion of plant tissues fragments in herbivores. In: HO, Y. W.; WONG, H. K.; ABDULLAH, N.; TAJUDDIN, Z. A. **Recent Advances on the Nutrition of Herbivores**. Kuala Lumpur: Malaysian Society of Animal Production, 1991. P. 227-236.

ELLIS, W. C.; MAHLOOJI, M.; LASCANO, C. E.; MATIS, J. H. Effects of size of ingestively masticated fragments of plant tissues on kinetics of digestion of NDF. Oxford: **Journal of Animal Science**, 2005.

ELLIS, W. C.; MATIS, J. H.; HILL, T. M.; MURPHY, M. R. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forages. In: FAHEY Jr., G. C. **Forage quality, evaluation, and utilization**. Wisconsin: American Society of Agronomy, 1994. p.682-756.

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**. Texas: Nutritional Ecology of Herbivores, 1999.

ELLIS, W.C.; WYLIE, M.J.; MATIS, J.H. Validity of specifically applied rare earth elements and compartmental models for estimating flux of undigested plant tissue residues through the gastrointestinal tract of ruminants. Oxford: **Journal of Animal Science**, 2002.

EVANS, E. W., Changes in Some Physical Characteristics of the Digesta in the Reticulo-rumen of Cows Feed Once Daily. Cambridge: **The British Journal of Nutrition**, 1973.

FIRKINS, J. L.; ALLEN, M. S.; OLDICK, B. S.; ST-PIERRE, N. R. Modeling ruminal digestibility of carbohydrates and microbial protein flow to the duodenum. Philadelphia: **Journal of Dairy Science**, 1998.

FOX D. G.; TEDESCHI, L. O.; TYLUTKI, T. P.; RUSSELL, J. B.; VAN AMBURGH, M. E.; CHASE, L. E.; PELL, A. N.; OVERTON, T. R. The Cornell net carbohydrate and protein system model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. Amsterdam: **Animal Feed Science and Technology**, 2004.

FRANCE, J.; THORNLEY, J. H. M.; DHANOA, M. S.; SIDDON, R. C. On the mathematics of digesta flow kinetics. London: **Journal of Theoretical Biology**, 1985.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. Forage Fiber Analysis (Apparatus Reagents, Procedures and Some Applications). Washington DC: **USDA Agriculture Handbook**, 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. Cambridge: **The British Journal of Nutrition**, 1973.

HALL, M. B.; MERTENS, D. R. *In vitro* fermentation vessel type and method alter fiber digestibility estimates. Philadelphia: **Journal of Dairy Science**, 2008.

HIDAYAT, H., K.; NEWBOLD, C. J.; STEWART, C. S. The contributions of bacteria and protozoa to ruminal forage fermentation *in vitro*, as determined by microbial gas production. Amsterdam: **Animal Feed Science and Technology**, 1993.

HOOPER, A.P.; WELCH, J.G. Effects of particle size and forage composition on functional specific gravity. Philadelphia: **Journal of Dairy Science**, 1985.

HUHTANEN, P.; AHVENJÄRVI, S.; WEISBJERG, M. R.; NORGAARD, P. Digestion and passage of fibre in ruminants. In: SEJRSEN, K.; HVELPUND, T.; NIELSEN, M. O. **Ruminant physiology, digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress**. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2006. p.87-135.

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. Amsterdam: **Animal Feed Science and Technology**, 2007.

HUHTANEN, P.; JAAKKOLA, S.; KUKKONEN, U. Ruminal plant cell wall digestibility estimated from digestion and passage kinetics utilizing mathematical models. Amsterdam: **Animal Feed Science and Technology**, 1995.

HUHTANEN, P.; KUKKONEN, U. Comparison of methods, markers, sampling sites and models for estimating digesta passage kinetics in cattle fed at two levels of intake. Amsterdam: **Animal Feed Science and Technology**, 1995.

HUHTANEN, P.; OTS, M.; AHVENJÄRVI, S.; RINNE, M. Prediction of the *in vivo* digestibility of grass silage from gas production kinetics. Philadelphia: **Journal of Dairy Science**, 2001.

HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. London: Academic Press, 1966.

IVES C. S. BUENO, I. C. S.; CABRAL FILHO, S. L. S.; GOBBO, S. P.; LOUVANDINI, H.; VITTI, D. M. S. S.; ABDALLA, A. L. Influence of inoculum source in a gas production method. Amsterdam: **Animal Feed Science and Technology**, 2005.

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. **Journal of Livestock Science**, 2013.

KVALSETH, T. O. Cautionary note about R². Alexandria: **The American Statistician Association**, 1985.

LASDON, L. S.; WAREN, A. D.; JAIN, A.; RATNER, M. Design and testing of a generalized reduced gradient code for nonlinear programming. New York: **ACM Transactions on Mathematical Software**, 1978.

LIN, L. I. K. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. Arlington: **Biometrics**, 1989.

LOAGUE, K.; GREEN, R. E. Statistical and graphical methods for evaluating solute transport models: Overview and application. Amsterdam: **Journal of Contaminant Hydrology**, 1991.

LOPES, F. C. F.; DORNELAS, R. A. C.; PORTUGAL, J. A. B.; CARNEIRO, J. C.; VERNEQUE, R. S.; SILVA e OLIVEIRA, J.; ARCURI, P. B.; DUQUE, A. C. A. Digestibilidade da matéria seca de silagens de milho e de suplementos

concentrados determinada por procedimentos *in vitro*. Juiz de Fora: **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2010.

MALAFAIA, P. A. M.; FILHO, S. C. V.; VIEIRA, R. A. M. Kinetic parameters of ruminal degradation estimated with a non-automated system to measure gas production. **Livestock Production Science**, 1999.

MALAFAIA; P. A. M., FILHO, S. C. V.; VIEIRA, R. A. M. Cinética ruminal de alguns alimentos investigada por técnicas gravimétricas e metabólicas. Viçosa, **Revista Brasileira de Zootecnia**, 1998.

MATIS, J. H. Gamma time-dependency in Blaxter's compartmental model. Arlington: **Biometrics**, 1972.

MATIS, J. H.; WEHRLY, T. E.; ELLIS, W. C. Some generalized stochastic compartment models for digesta flow. Arlington: **Biometrics**, 1989;

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

MENKE, H.H.; STEINGASS, H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Tübingen: **Animal Research and Development**, 1988.

MENKE, K. H.; RAAB L.; SALEWSKI, A.; STEINGASS, H. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Cambridge: **The Journal of Agricultural Science**, 1979.

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

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**, 2002.

MERTENS, D. R. Kinetics of cell wall digestion and passage in ruminants. In: JUNG, H. G.; BUXTON, D. R.; HATFIELD, R. D.; RALPH, I. **Forage cell wall structure and digestibility**. Wisconsin: Soil Science Society of America, 1993.

MERTENS, D. R. Predicting Intake and Digestibility Using Mathematical Models of Ruminal Function. Oxford: **Journal Animal Science**, 1987.

MERTENS, D. R. Rate and extent of digestion. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J. M.; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Wallingford: CABI Publishing, 2005.

MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR., G. C., **Forage quality, evaluation and utilization**. Lincoln: University of Nebraska, 1994.

MITCHELL, P. L. Misuse of regression for empirical validation of models. Brisbane: **Agricultural Systems**, 1997.

MOORE, J. E.; MOTT, G. O. Fermentation tubes for *in vitro* digestion of forages. Philadelphia: **Journal of Dairy Science**, 1976.

MOULD, F. L.; MORGAN, R.; KLIEM, K. E.; KRYSTALLIDOU, E. A review and simplification of the *in vitro* incubation medium. Amsterdam: **Animal Feed Science and Technology**, 2005.

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

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL, **Nutrient requirements of small ruminants**. Washington, D.C.: The National Academies Press, 2007;

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL, **Nutrients requirements of beef cattle**. Washington, DC: National Academy Press, 2016;

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL, **Nutrient requirements of dairy cattle**. Washington, D.C.: National Academies Press, 2001;

PELL, A. N.; SCHOFIELD, P. Computerized Monitoring of Gas Production to Measure Forage Digestion *In Vitro*. Philadelphia: **Journal of Dairy Science**, 1993.

PELL, A. N.; SCHOFIELD, P.; STONE, W. C. Rates of digestion of feeds measured *in vitro* with computers. Ithaca: **Cornell University**, 1994.

PINHEIRO, J. C.; BATES, D. M. **Mixed-effects models in S and S-PLUS**. New York: Springer, 2000.

POND, K. R.; ELLIS, W. C.; AKIN, D. E. Ingestive mastication and fragmentation of forages. Oxford: **Journal of Animal Science**, 1984.

POND, K. R.; ELLIS, W. C.; LASCANO, C. E.; AKIN, D. E. Fragmentation and flow of grazed coastal Bermuda grass through the digestive tract of cattle. Oxford: **Journal of Animal Science**, 1987.

POND, K. R.; ELLIS, W. C.; MATIS, J. H.; FERRIERO, H. M.; SUTTON, J. D. Compartmental models for estimating attributes of digesta flow in cattle. Cambridge: **British Journal of Nutrition**, 1988.

POPPI D. P.; ELLIS, W. C.; MATIS, J. H.; LASCANO, C. E. Marker concentration patterns of labelled leaf and stem particles in the rumen of cattle grazing bermuda grass (*Cynodon dactylon*) analysed by reference to a raft model. Cambridge: **British Journal of Nutrition**, 2001.

POPPI, D. P.; HENDRICKSEN, R. E.; MINSON D. J. The Relative Resistance to Escape of Leaf and Stem Particles from the Rumen of Cattle and Sheep. Cambridge: **The Journal of Agricultural Science**, 1985.

POPPI, D. P.; NORTON, B. W.; MINSON D. J.; HENDRICKSEN, R. E. The Validity of the Critical Size Theory for Particles Leaving the Rumen. Cambridge: **The Journal of Agricultural Science**, 1980.

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: UENF, 2016.

RYMER, C.; HUNTINGTON, J. A.; WILLIAMS, B. A.; GIVENS, D. I. *In vitro* cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. Amsterdam: **Animal Feed Science and Technology**, 2005.

SCHALK, A. F.; AMADON, R. S. Physiology of the ruminant stomach (bovine): study of the dynamic factors. North Dakota: **Agricultural Experiment Station**, 1928.

SCHOFIELD, P.; PITT, R.E.; PELL, A.N. Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production. Philadelphia: **Journal Dairy Science**. 1994.

SILVA, M. C. **Modelos Não lineares para descrição do trânsito de partículas pelo trato digestório do Ruminante: Avaliação de modelos e implicações teóricas**. Campos dos Goytacazes, Rj: UENF, 2016.

SMITH, L. W.; GOERING, H. K.; GORDON, C. H. Relationships of Forage Compositions with Rates of Cell Wall Digestion and Indigestibility of Cell Walls. Philadelphia: **Journal of Dairy Science**, 1972.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P.J.; FOX, D.G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II Carbohydrate and Protein Availability. Oxford: **Journal Animal Science**, 1992.

SUGIURA, N. **Further analysis of the data by Akaike's Information Criterion and the finite corrections.** New York: Marcel Dekker, 1978.

SUTHERLAND, T. M. Particle separation in the forestomachs of sheep. In: DOBSON, A.; DOBSON, M.H. **Aspects of Digestive Physiology of Ruminants.** Ithaca: Cornell University Press, 1988.

TEDESCHI, L. O. Assessment of the adequacy of mathematical models. Brisbane: **Agricultural Systems**, 2006.

THEODOROU, M. K.; WILLIAMS, B. A.; DHANOA, M. S.; MCALLAN, A. B.; FRANCE, J. A simple gas-production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feed. Amsterdam: **Animal Feed Science and Technology**, 1994.

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**, 1963.

TYLUTKI, T.P. Cornell Net Carbohydrate and Protein System: A model for precision feeding of dairy cattle. Amsterdam: **Animal Feed Science and Technology**, 2008.

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**, 1980.

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*. Amsterdam: **Animal Feed Science and Technology**, 2012.

VAN MILGEN, J.; BERGER, L.L.; MURPHY, M.R. An integrated, dynamic model of feed hydration and digestion, and subsequent bacterial mass accumulation in the rumen. Cambridge: **British Journal of Nutrition**, 1993.

VAN MILGEN, J.; MURPHY, M.R.; BERGER, L.L. A compartmental model to analyze ruminal digestion. Philadelphia: **Journal of Dairy Science**, 1991.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 1982.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 1994.

VAN SOEST, P. J.; FRANCE, J.; SIDDON, R. C. On the steady-state turnover of compartments in the ruminant gastrointestinal tract. London: **Journal of Theoretical Biology**, 1992.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B. **Analysis of forages and fibrous foods**. Ithaca: Cornell University, 1985.

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. Philadelphia: **Journal of Dairy Science**, 1991.

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*. Amsterdam: **Animal Feed Science and Technology**, 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. London: **Journal of Theoretical Biology**, 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. London: **Journal of Theoretical Biology**, 2008b;

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: Universidade Federal de Viçosa, 2014.

WALDO, D. R. Factor influencing the voluntary intake of forages. In: **Proceedings of the First National Conference on Forage, Evaluation, and Utilization**. Lincoln: University of Nebraska, 1970. p. 22.

WALDO, D. R.; SMITH, L. W.; COX, E. L. Model of cellulose disappearance from the rumen. Philadelphia: **Journal of Dairy Science**, 1972.

WELCH, J. G. Physical Parameters of Fiber Affecting Passage from the Rumen. Philadelphia: **Journal of Dairy Science**, 1986.

WELCH, J. G. Rumination, Particle Size and Passage from the Rumen. Oxford: **Journal Animal Science**, 1982.

WILKINS, J.R. Pressure transducer method for measuring gas production by microorganisms. Paris: **Applied Microbiology**, 1974.

WILKINS, R. J. The potential digestibility of cellulose in forage and faeces. Cambridge: **Journal of Agricultural Science**, 1969.