

## Proteína insolúvel em detergente ácido como estimador da fração protéica não degradável no rúmen de forragens tropicais

### *Acid Detergent Insoluble Protein as Tropical Forages Rumen Undegradable Protein Estimator*

CLIPES, Renata Cogo<sup>1</sup>; SILVA, José Fernando Coelho da<sup>2</sup>; DETMANN, Edenio<sup>3</sup>; VÁSQUEZ, Hernan Maldonado<sup>2</sup>; HENRIQUES, Lara Toledo<sup>3</sup>; DONATELE, Dirlei Molinari<sup>4</sup>; HADDADE, Ismail Ramalho<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Alegre, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Estadual do Norte Fluminense, Departamento de Produção Animal, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Nutrição e Produção Animal, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

<sup>4</sup>Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Medicina Veterinária, Alegre, Espírito Santo, Brasil.

<sup>5</sup>Escola Agrícola de Santa Teresa, Departamento de Zootecnia, Santa Teresa, Espírito Santo, Brasil.

\*Endereço para correspondência: rclipes@hotmail.com

## RESUMO

Objetivou-se avaliar as estimativas da fração proteica não degradável no rúmen, obtidas a partir dos compostos nitrogenados insolúveis em detergente ácido (NIDA). Foram utilizadas amostras de capim-elefante e capim-mombaça obtidas por simulação manual do pastejo e extrusa esofágica, gramíneas fenadas e gramíneas submetidas a diferentes doses de adubação e períodos de corte, totalizando-se 540 amostras. As amostras foram submetidas à quantificação dos teores de matéria seca, de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina em permanganato (LPER), proteína insolúvel em detergente neutro (NIDN) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA). A fração proteica não degradável no rúmen foi obtida por intermédio de incubação ruminal das amostras por 240 horas, seguida de tratamento em detergente neutro, e a quantificação do teor de nitrogênio no resíduo após incubação foi denominada proteína não degradável insolúvel em detergente neutro (PIIDN). A comparação entre valores preditos e observados foi realizada por equação de regressão linear simples de valores preditos (PIDA) sobre valores observados (PIIDN). Os resultados permitiram evidenciar não-equivalência e total falta de associação entre os valores preditos e observados da fração proteica não degradável. Sugere-se que a PIDA não seja adotada como estimador da fração proteica não degradável.

**Palavras-chave:** composto nitrogenado, degradação de proteína, gramíneas tropicais

## SUMMARY

The undegradable rumen protein fraction estimated from neutral detergent insoluble nitrogen (NDIN) was studied. A total of 540 samples were used, obtained from manual grazing simulation and esophageal extrusa in elephant grass and mombaça grass, from hays and from tropical grasses submitted to different fertilizing levels and cutting ages. The samples were analyzed for dry matter, lignin in sulfuric acid (LAS), lignin permanganate (LPER), neutral detergent insoluble protein (NDIP) and acid detergent insoluble protein (ADIP). The rumen undegradable nitrogenous fraction was done by incubating the samples for 240 hours in the rumen, followed by the treatment with neutral detergent, and finally the nitrogen in the residue was quantified to get undegradable protein insoluble in neutral detergent (UPIND). The results allowed to evidence no-equivalence and total absence of association, between predicted and observed values of the undegradable protein fraction. It is suggested that ADIP may not be used as an estimator of undegraded protein fraction. This fraction should be estimated by biological methods like the protocol adopted to get the concentrations of UPIND.

**Keywords:** nitrogenous compound, protein degradation, tropical grass

## INTRODUÇÃO

A fração dos compostos nitrogenados ligados à porção insolúvel em detergente ácido da parede celular (NIDA) tem sido empregada como preditor ou estimador do potencial de aproveitamento proteico por alguns dos principais sistemas nutricionais, como o sistema britânico (AFRC, 1993) e o sistema americano *Cornell Net Carbohydrate and Protein System* - CNCPS (SNIFFEN et al., 1992), no sentido de não apresentar disponibilidade do NIDA aos microrganismos ruminais ou digestibilidade intestinal. Por outro lado, estudos (NRC, 2001; CLIPES et al., 2006) têm apontado controvérsias sobre a disponibilidade do NIDA ao longo do trato gastrintestinal dos ruminantes, o qual tem apresentado estimativas de digestibilidade substancialmente desviadas da nulidade (NRC, 2001), o que aponta para o fato de essa fração poder não constituir estimador verossímil da fração não degradável dos compostos nitrogenados.

Detmann et al. (2004) relataram não haver verossimilhança suficiente que suporte a adoção dos compostos nitrogenados insolúveis em detergente ácido como estimadores da fração proteica não degradável no rúmen, de forma a sugerir que a fração não degradável dos componentes proteicos de um alimento deve ser considerada, em essência, um conceito biológico, em que efeitos químicos, fisiológicos, anatômicos e ambientais interagem de forma a limitar potencialmente o acesso microbiano e impedir o processo de degradação. Nesse contexto, torna-se impossível utilizá-los como preditores simples e diretos de um conceito biológico sujeito a todas as interações descritas anteriormente, as quais deveriam ser consideradas para uma

aproximação maior do conceito de exatidão.

Dessa forma, na ausência de um modelo de predição que possa considerar ao menos os fatores de maior influência sobre a dimensão real da fração proteica não degradável, esses mesmos pesquisadores sugeriram a utilização de métodos biológicos para a estimação da fração não degradável dos compostos nitrogenados. No entanto, tais informações são ainda escassas e carecem de verificações e validações em condições tropicais (DETMANN et al., 2004).

Objetivou-se verificar a validade dos compostos nitrogenados insolúveis em detergente ácido como preditores do potencial de degradação ruminal da proteína bruta.

## MATERIAL E MÉTODOS

O banco de dados foi constituído por amostras de gramíneas tropicais na forma de pastejo simulado, extrusa esofágica, feno e capim inatura, empregadas na alimentação de animais ruminantes, referentes a estudos que foram implantados na região de Campos dos Goytacazes, RJ.

Foram utilizadas amostras originadas de parcelas cultivadas com as gramíneas capim-acroceres (*Acroceras macrum* Stpf.), capim-angola (*Brachiaria purpurascens*), capim-hermathria (*Hemathria altíssima*) e campim-setária (*Setaria anceps*, Stapf. Ex. Massey), sob diferentes níveis de adubação nitrogenada (0; 100; 200; 300 e 400kg/ha) coletadas por intermédio de cortes a 15 cm do solo realizados aos 28, 42, 56 e 70 dias após corte de uniformização das culturas, num total de 240 amostras. Amostras provenientes de forragem verde, do feno sem armazenamento e do feno com 28; 56 e 84 dias de armazenamento das

gramíneas capim-acroceres (*Acroceras macrum*), capim-angola (*Brachiaria purpurascens*), capim-hemartria (*Hemarthria altíssima*) e capim-setaria (*Setaria anceps* cv. Kazungula), com idade de corte aos 35 dias, também foram utilizadas, de modo que totalizaram 60 amostras.

Finalmente, amostras oriundas de experimento conduzido para a avaliação de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) dos cultivares Napier e Cameroon, e clones CNPGL-91-F 27-1 (cv. Pioneiro) e CNPGL-91-F 27-5, manejados em três sistemas de produção: convencional sem o uso da irrigação; irrigado com o uso de adubação em cobertura manual; irrigado, com adubações em cobertura via água de irrigação aos 20; 40; 60 e 80 dias pós-uniformização, cortadas 30cm ao nível do solo, num total de 144 amostras. Além disso, foram utilizadas amostras obtidas de coletas realizadas em sistemas de produção animal em lotação rotacionada com as gramíneas capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier) e capim-mombaça (*Panicum maximum* cv. Mombaça), tomadas em diferentes piquetes e em diferentes dias de ocupação animal por intermédio de amostras de extrusa esofágica e simulação manual de pastejo, com um total de 96 amostras.

Todas as amostras (n=540) foram congeladas (-20°C) e, posteriormente, processadas e analisadas no Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal da Universidade Estadual do Norte Fluminense. Após, foram submetidas à pré-secagem em estufa de ventilação forçada (60°C – 72 horas) e processadas em moinho com peneira de 1mm, acondicionadas e armazenadas em frascos de polietileno à temperatura ambiente.

Além disso, foram submetidas à quantificação dos teores de matéria seca, de fibra em detergente neutro (FDN),

fibra em detergente ácido (FDA), lignina em permanganato (LPER), conforme Mertens (2002). Quantificou-se, também, a proteína bruta (PB), a proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e insolúvel em detergente ácido (PIDA), conforme recomendações de Mertens (2002). Os teores de fibra em detergente neutro não degradável (FDNi) foram obtidos por intermédio de procedimentos de incubação *in situ*, em adaptação aos procedimentos descritos por Detmann et al. (2001) e Clipes et al. (2006). As amostras foram acondicionadas em duplicatas em sacos de nylon com porosidade de 50µm e dimensões 3,5 x 5,0cm na proporção de 25mg/cm<sup>2</sup> de superfície e foram incubadas no rúmen de um bovino alimentado com dieta à base de alimento volumoso (feno de gramínea) e concentrado, na proporção de 70:30, com base na matéria seca. Após 240 horas, os sacos foram retirados, lavados em água corrente até o total clareamento da água, submetidos ao tratamento com detergente neutro (MERTENS, 2002), na proporção de 50mL/saco, secos em estufa de ventilação forçada (65°C – 72 horas) e, em seguida, colocados em estufa a 105° e, depois, em dissecador por 15 minutos, até que atingirem a temperatura ambiente, para depois serem pesados.

Posteriormente, parte do resíduo obtido (FDNi) foi avaliado pelo método de quantificação do teor de nitrogênio, o qual foi considerado como o teor de compostos nitrogenados não degradáveis no rúmen. O teor obtido, multiplicado pelo fator 6,25, foi denominado de proteína não degradável insolúvel em detergente neutro (PIIDN), considerada como a fração proteica não degradável observada ou real. A avaliação da efetividade do teor de nitrogênio insolúvel em detergente ácido como preditor do potencial de degradação

proteico foi conduzida por intermédio do ajustamento de equação de regressão linear simples, a partir dos teores de PIDA como variável dependente e os teores de PIIDN como variável independente. Foram avaliadas as hipóteses (Equação 1):

$$H_0: \beta_0 = 0 \text{ e } \beta_1 = 1 \text{ vs. } H_a: \text{ não } H_0 \quad (1)$$

A não rejeição das hipóteses de nulidade indica similaridade entre valores preditos (PIDA) e observados (PIIDN), ou seja, a fração proteica não degradável no rúmen pode ser predita a partir dos compostos nitrogenados insolúveis em detergente ácido, ao passo que a não aceitação implica dissimilaridade entre tais valores. Foi realizado um teste para a obtenção do tempo crítico ( $t_c$ ), tempo necessário para que as estimativas dos resíduos não degradáveis da PIIDN fossem obtidas. Para isso, foram utilizadas cinco amostras obtidas aleatoriamente a partir do banco de amostras, com o objetivo de descrever o perfil do resíduo não degradado em função dos tempos (horas) de permanência no ambiente ruminal (0; 48; 72; 96; 128; 144; 192; 240). As amostras foram incubadas de acordo com os mesmos procedimentos de incubação e laboratoriais descritos anteriormente para a obtenção do PIIDN, porém com os oito tempos descritos.

O tempo necessário para se obter a estimativa adequada do resíduo não degradável,  $t_c$  foi estimado por intermédio das propriedades dos intervalos de confiança assintóticos para o parâmetro I (Equação 2), e os perfis residuais foram interpretados segundo o modelo:

$$R_t = B \cdot (1 + k \cdot t) \cdot \exp(-k \cdot t) + I \text{ em que: } (2)$$

$R_t$  = resíduo não-digerido de PIIDN (%);  
 $B$  = fração insolúvel potencialmente degradável da PIIDN (%);  $I$  = fração não degradável (%), a qual representa os teores de PIIDN;  $k$  = taxa relativa à dinâmica de degradação ruminal da

fração solúvel potencialmente degradável ( $h^{-1}$ ); e  $t$  = tempo de permanência no ambiente ruminal (h).

A estimação do  $t_c$  foi obtida por procedimentos iterativos e considerada equivalente ao tempo em que a estimativa do resíduo não degradado torna-se numericamente idêntica ao limite superior do intervalo de confiança assintótico ( $1 - \alpha = 95$ ) para o parâmetro I (Equação 2).

As demais análises foram realizadas por intermédio de correlação e regressão linear e regressão não-linear.

Foi utilizado o programa Statistical Analysis System, versão 8.2 (SAS, 2001) para a realização das análises e fixou-se em 0,05 o nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 pode-se observar o perfil ajustado para a descrição do resíduo não-degradado da PIIDN em função do tempo estimado, obtido a partir da equação  $R_t = 72,67(1+0,0173t)\exp(-0,0173t)+27,33$  ( $R^2 = 0,9490$ ), indicando  $t_c$  de 140,05 horas.

Dessa forma, ressalta-se que a utilização de tempos de incubação de 240 horas obtém estimativas próximas das frações não degradáveis, conforme sugestão de Clipes et al. (2006). A utilização de tempo de incubação de 240 horas de acordo com esses autores é baseada no pressuposto de que a fração proteica residual, após esse tempo de submissão à degradação ruminal, aproxima-se com grande intensidade da verdadeira fração não degradável, de forma a constituir um conceito assintótico, e a fração proteica residual é mensurada, em termos teóricos, em uma escala infinita de tempo.

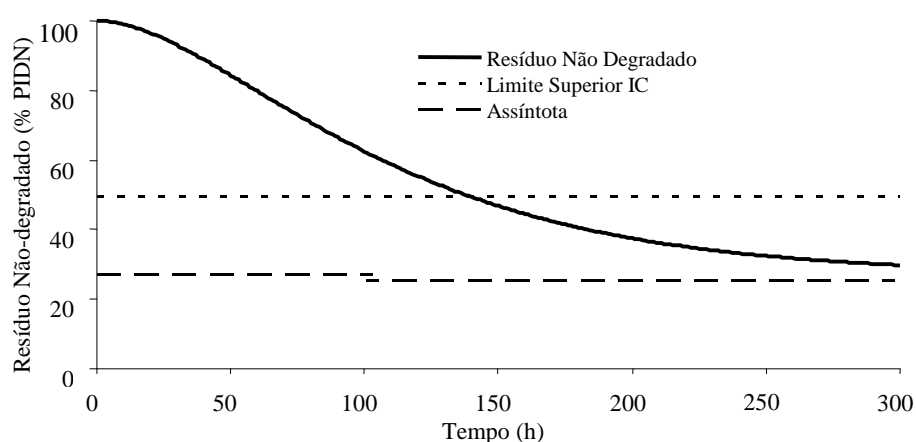


Figura 1. Perfil ajustado para a descrição do resíduo não degradado em função do tempo

Os procedimentos *in situ* são baseados em escalas finitas de tempo, com intervalo temporal relativamente elevado, de forma que as estimativas obtidas (resíduo não digerido) aproximem-se com grande intensidade do conceito assintótico (resíduo indigestível) (CASALI et al., 2008).

Clipes et al. (2006), ao estudarem a fração não degradável dos compostos nitrogenados associados à parede celular em gramíneas tropicais, sugeriram

tempos de incubação *in situ* de 240 horas como medida da maior aproximação da fração não degradada ao seu real valor.

A discrepância entre as médias aritméticas de PIDA e PIIDN (Tabelas 1 e 2) de ambas concentrações permite, já de forma inicial, pressupor possível ausência de similaridade entre valores preditos e observados para os compostos nitrogenados não degradáveis no ambiente ruminal.

Tabela 1. Estatísticas descritivas para os teores (% da matéria seca) de proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN), proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) e proteína não degradável em detergente neutro (PIIDN)

Estatística	Variável		
	PIDN	PIDA	PIIDN
Média	6,08	1,98	1,76
Moda	4,84	---	---
Mediana	5,25	2,03	1,68
Máximo	14,10	4,04	4,29
Mínimo	1,88	0,39	0,29
Desvio-padrão	2,80	0,88	0,67
N	540	540	540

Tabela 2. Estatísticas descritivas para os teores (% da proteína bruta) de proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) e proteína não degradável em detergente neutro (PIIDN)

Estatística	Variável	
	PIDA	PIIDN
Média	15,43	13,92
Moda	---	---
Mediana	15,69	13,41
Máximo	32,31	35,18
Mínimo	3,24	2,74
Desvio-padrão	6,41	5,18
N	540	540

Tal fato pode ser mais concretamente verificado pela elevada dispersão dos pares ordenados nos gráficos que descrevem a relação entre PIDA e

PIIDN (Figuras 2 e 3), o que confirma a prévia avaliação exploratória das estatísticas descritivas (Tabelas 2 e 3).

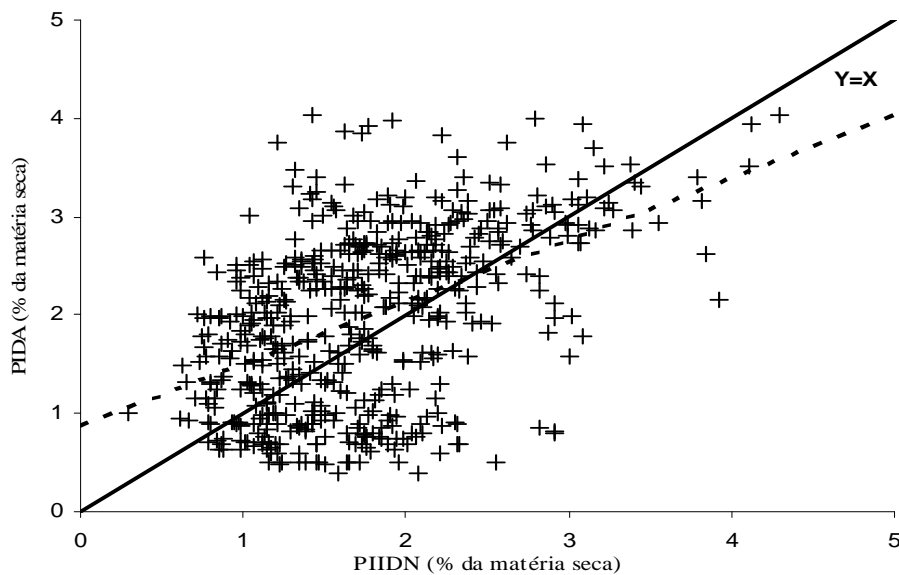


Figura 2. Relação entre teores de proteína não degradável insolúvel em detergente neutro (PIIDN) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA), com base na matéria seca (a linha tracejada corresponde à reta de quadrados mínimos)

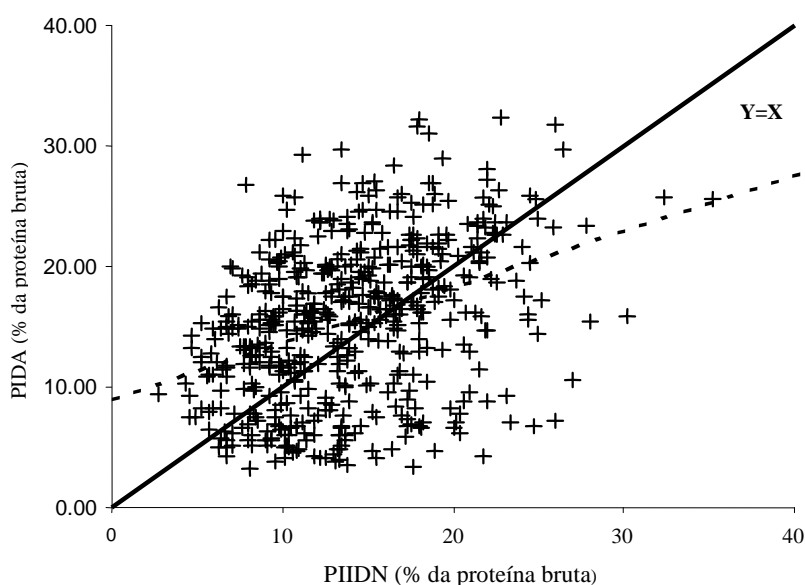


Figura 3. Relação entre teores de proteína não degradável insolúvel em detergente neutro (PIIDN) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA), com base na proteína bruta (a linha tracejada corresponde à reta de quadrados mínimos)

Tabela 3. Correlações parciais entre os teores (% da matéria seca) de lignina (LIG), fibra em detergente neutro não degradável (FDNi), proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) e proteína não degradável insolúvel em detergente neutro (PIIDN)

Variável	Variável <sup>1</sup>			
	LIG	FDNi	PIDA	PIIDN
LIG	1,0000	0,2502	0,0995	-0,0535
	---	<0,0001	0,0208	0,2144
FDNi	---	1,0000	0,0949	0,3991
	---	---	0,0275	<0,0001
PIDA	---	---	1,0000	0,3892
	---	---	---	<0,0001
PIIDN	---	---	---	1,0000

<sup>1</sup>Os valores subscritos correspondem aos níveis críticos de probabilidade para o erro tipo I associados à hipótese de nulidade:  $H_0: \rho = 0$ .

Pelo fato de a PIDA ser componente do resíduo em detergente ácido, sua utilização como estimador da fração proteica não degradável suportar-se-ia somente em evidências observacionais, sem necessariamente estabelecerem-se

relações casuísticas de seus componentes com aqueles inacessíveis aos microrganismos ruminais. Deve-se ressaltar que o resíduo total em detergente ácido deve ser considerado apenas como passo preparatório para a

avaliação de alguns componentes da parede celular e não deve ser considerado como um conceito biologicamente válido de fibra dietética. É importante reiterar que predições de digestibilidade a partir desse não são adequadas.

Dessa forma, à semelhança do resíduo em detergente ácido, a PIDA não representa um conceito biológico, mas apenas uma aproximação química da definição de inacessibilidade microbiana. Nesse contexto, torna-se impossível utilizá-la como preditor simples e direto de um conceito biológico sujeito a todas as relações de interação descritas anteriormente, as quais deveriam ser consideradas para que se aproxime, ao máximo, do conceito de exatidão.

Na ausência de um modelo de predição que possa considerar ao menos os fatores de maior influência sobre a dimensão real da fração proteica não degradável, sugere-se a utilização de métodos biológicos para a estimação da mesma. O método utilizado neste trabalho baseia-se no pressuposto de que a fração proteica residual, após 240 horas de submissão à degradação ruminal, aproxima-se com grande intensidade da verdadeira fração não degradável, a qual constitui um conceito assintótico.

O tratamento realizado com solução em detergente neutro nos sacos após à

incubação ruminal contribuiu somente para a retirada de restos microbianos aderidos aos componentes fibrosos, os quais poderiam levar à superestimação da fração proteica residual.

Dados oriundos de estudos com indicadores permitem evidenciar que as concentrações do resíduo fibroso em alimentos resultantes de tempos longos de incubação ruminal são superiores com o tratamento com detergente neutro em relação ao tratamento com detergente ácido (DETMANN et al., 2007), no entanto, em ambos os tratamentos, os resíduos são ditos não degradáveis. Dessa forma, quando se opta pelo tratamento com detergente ácido sobre o resíduo pós-incubação, é possível que se esteja descartando a parte não degradável dos compostos nitrogenados solúveis em baixo pH, o que pode levar à subestimação da fração não degradável total. Tais possibilidades justificam a utilização do tratamento em detergente neutro nos protocolos pós-incubação sugeridos e adotados neste trabalho para a estimação da fração proteica não degradável em forragens tropicais.

A falta de um padrão definido entre os valores de PIDA e PIIDN pode ser confirmada também pela fraca estimativa da correlação linear de Pearson ( $r=0,3892$ ), embora significativa ( $P<0,05$ ) (Tabela 4).

Tabela 4. Estimativas de parâmetros de regressão e nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I para a relação entre proteína não degradável insolúvel em detergente neutro (PIIDN – variável independente) e proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA - variável dependente) (n= 540)

Base	Estimativas de Parâmetros de Regressão		Valor-P <sup>1</sup>
	Intercepto	Coefficiente de inclinação	
Matéria Seca	0,8765	0,6292	<0,0001
Proteína Bruta	8,9711	0,4642	<0,0001

<sup>1</sup>H<sub>0</sub>:  $\beta_0 = 0$  e  $\beta_1 = 1$ .



Apesar de atingir patamares biologicamente incondizentes para um processo de estimação e acurado, os teores de PIDA apresentam correlação relativamente mais forte com os teores de PIIDN em comparação a outros compostos não degradáveis da parede celular vegetal. A relação entre PIIDN e PIDA confirma essa deficiência de similaridade entre valores preditos e observados podendo ser confirmado pela não aceitação da hipótese de nulidade inicialmente proposta ( $P < 0,05$ ) (Tabela 4).

A equação apresentada na Tabela 4 reforça a falta de associação biológica entre PIDA e PIIDN, pois mesmo se a PIDA for igual a zero, haverá PIIDN. A soma de tais fatos suporta os argumentos apresentados por Detmann et al. (2004), que evidenciaram o fato de não haver verossimilhança suficiente que suporte a adoção dos compostos nitrogenados insolúveis em detergente ácido como estimadores da fração proteica não degradável no rúmen em gramíneas tropicais.

Contudo, se a PIDA não coincide com a verdadeira fração não degradável dos compostos nitrogenados, maiores esforços deveriam ser destinados ao entendimento da real composição do PIIDN e sua relação com os diferentes componentes nitrogenados dispostos na parede celular vegetal, como pode ser observado em estudos

conduzidos por Henriques et al. (2007). Os mesmos sugerem a consideração dos teores de lignina corrigidos para os compostos nitrogenados, uma vez que essa última, caso corrigida, concentraria com maior intensidade os componentes com efeitos deletérios sobre a degradação ruminal dos carboidratos fibrosos e auxiliaria, dessa forma, o incremento das correlações entre FDNi e lignina.

Para que os procedimentos corretos de predição sejam realizados, sugere-se a adoção de métodos biológicos em detrimento da utilização simples de componentes quimicamente avaliados, o que pode ser obtido a partir do conceito de PIIDN (DETMANN et al., 2004). Dessa forma, como nem sempre é possível obter os teores de PIIDN, por intermédio de aproximações não lineares, constituiu-se equação que permite a conversão dos teores de PIDA em teores de PIIDN (com base na matéria seca), a qual assume a forma:

$$\sqrt{PIIDN} = 1,1557 + 0,0255 \times PIDA^{2,3388}$$

Ressalta-se que a transformação raiz quadrada aplicada sobre os teores de PIIDN visou tão somente à estabilização da variação aleatória, a qual comprometeria diretamente o estabelecimento de relações funcionais confiáveis entre essas variáveis (Figura 4).

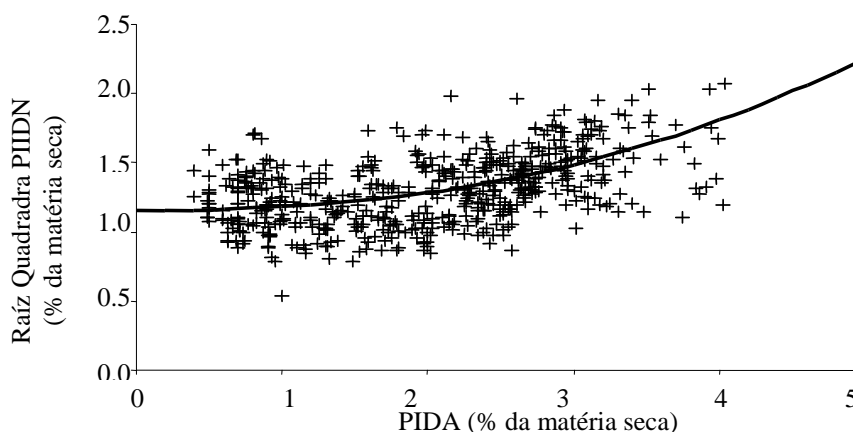


Figura 4. Comportamento descritivo e reta indicadora de valores preditos pela equação (X) para a raiz quadrada dos teores de proteína não degradável insolúvel em detergente neutro (PIIDN) como função dos teores de proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA).

Contudo, a fração proteica não degradável no rúmen não é corretamente predita a partir dos compostos nitrogenados insolúveis em detergente ácido. Sugere-se, portanto, a adoção de métodos biológicos para que procedimentos mais acurados de predição sejam realizados.

## REFERÊNCIAS

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC.

**Energy and protein requirements of ruminants.** Cambridge: CAB International, 1993, 159p. [ [Links](#) ].

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, J.C.; HENRIQUES, L.T.; FREITAS, S.G.; PAULINO, M.F. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos in situ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p.335-342, 2008. [ [Links](#) ].

CLIPES, R.C.; DETMANN E.; COELHO DA SILVA, J.F.; VIEIRA, R.A.M.; NUNES, L.B.M.; LISTA, F.N.; PONCIANO, N.J. Evaluation of acid detergent insoluble protein as estimator of rúmen non-degradable protein in tropical grass forages. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.694-697, 2006. [ [Links](#) ].

DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; VALADARES FILHO, S.C.; EUCLYDES, R.F.; LANA, R.P.; QUEIROZ, D.S. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1600-1609, 2001. [ [Links](#) ].

DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C.; CECON, P.R.; ZERVOUDAKIS, J.T.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; CABRAL, L.C.; LANA, R.P. Consumo de fibra em detergente neutro por bovinos em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1763-1777, 2003. [ [Links](#) ].

DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A. C.; PONCIANO, N.J.; FERNANDES, A.M. Validação de equações preditivas do potencial de degradação da fibra em detergente neutro em gramíneas tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1866-1875, 2004. [ [Links](#) ].

DETMANN, E.; SOUZA, A.L.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S.C.; CABRAL, L.S.; ZERVOUDAKS, J.T. Avaliação do vício de “tempo longo” de indicadores internos em ensaio de digestão em ruminantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.182-188, 2007. [ [Links](#) ].

HENRIQUES, L.T.; DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C.; VASQUES, H.M.; PEREIRA, O. Frações dos compostos nitrogenados associados à parede celular em forragens tropicais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.258-263, 2007. [ [Links](#) ].

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds using refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal AOAC**, v.85, n.6, p.1217-1240, 2002. [ [Links](#) ].

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, DC: National Academic Press, 2001. 381p. [ [Links](#) ].

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. **Journal Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992. [ [Links](#) ].

SAS INSTITUTE. **Statistical Analysis System**: system for Microsoft **Windows**. Release 8.2. Cary: 2001. [ [Links](#) ].

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p. [ [Links](#) ].

Data de recebimento: 24/05/2009

Data de aprovação: 11/05/2010