

2 Metodologias para avaliar o conteúdo de energia dos alimentos

1. Introdução	41
2. Utilização da energia dos alimentos pelos monogástricos	41
3. Sistemas de energia para aves	44
3.1. <i>Relação entre a EMA e EMAn</i>	44
3.2. <i>Relação entre a EMAn e EMVn</i>	44
4. Sistemas de energia para suínos	48
4.1. <i>Comparação dos sistemas de energia para suínos</i>	50
5. Métodos de coleta total para determinar o conteúdo energético dos alimentos	50
5.1. <i>Coleta total de excretas (método tradicional)</i>	51
5.2. <i>Protocolo para determinar EMA e EMAn dos alimentos com aves</i>	54
5.3. <i>Protocolo para determinar a digestibilidade de nutrientes e EM dos alimentos com suínos</i>	57
5.4. <i>Protocolo para determinar ED e EMA dos alimentos com cães</i> ...	61
5.5. <i>Método da alimentação precisa</i>	63
5.6. <i>Protocolo para determinar EMV e EMVn dos alimentos com galos</i> ..	64
6. Utilização de indicadores para determinar o conteúdo energético dos alimentos	67
6.1. <i>Protocolo para determinar a energia dos alimentos com ave - Metodologia com indicadores</i>	71
7. Métodos para determinar digestibilidade com peixes	72
7.1. <i>Protocolo para determinar a digestibilidade de nutrientes com peixes - Metodologia com indicadores</i>	77
8. Ensaio de digestibilidade com cães	79
8.1. <i>Protocolo para determinar EM pelo método do indicador com cães</i>	80
9. Equações de predição da energia dos alimentos	81
10. Sistema NIRS para determinação da energia dos alimentos	85
11. Referências bibliográficas	86

Metodologias para avaliar o conteúdo de energia dos alimentos

Capítulo 2

1. Introdução

O conhecimento do valor energético dos alimentos é de fundamental importância nutricional e econômica, para a formulação de rações que resultem em ótimo desempenho dos animais.

Para avaliar um alimento antes de ser utilizado nas formulações das rações, há um protocolo experimental a ser seguido. Primeiro, o alimento deve ser encaminhado ao laboratório para análises químicas e de controle de qualidade. Posteriormente, deve ser feita a determinação dos valores de energia digestível ou metabolizável para as diferentes espécies de animais.

Nesse contexto, a determinação do valor energético dos alimentos é fundamental para atualização das tabelas de composição de alimentos e formulação das rações, visando otimizar o desempenho dos animais e minimizar o custo de produção.

Vários métodos têm sido desenvolvidos para determinar a composição e o conteúdo energético dos alimentos. Neste capítulo, serão apresentadas as principais metodologias utilizadas para determinar o aproveitamento da energia, assim como serão discutidas as diferenças, vantagens e desvantagens dos métodos e serão propostos protocolos experimentais para a avaliação dos alimentos com animais monogástricos.

2. Utilização da energia dos alimentos pelos monogástricos

Quando as moléculas orgânicas são oxidadas, a energia é produzida como calor e usada nos processos metabólicos dos animais.

A energia liberada da oxidação dos alimentos, assim como a oriunda do metabolismo energético como calor produzido, é expressa em caloria ou joule. Uma caloria é definida como a quantidade de calor necessária para elevar um grama de água de 14,5 °C a 15,5 °C, um joule equivale a 0,239 cal, ou seja, uma caloria é igual a 4,18 joules.

Dentre os constituintes dos alimentos, os carboidratos, os lipídeos, as proteínas

(aminoácidos) e parte da fibra são fornecedores de energia para o organismo animal. No entanto, nem toda energia produzida pela oxidação dos nutrientes pode ser aproveitada pelos animais.

A **Figura 1** demonstra como os monogástricos aproveitam a energia dos alimentos e exemplifica as perdas aproximadas da energia da dieta. A energia é biologicamente dividida em: energia bruta (EB), energia digestível (ED), energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável verdadeira (EMV) e energia líquida (EL).

A energia bruta é produzida pela oxidação total da matéria orgânica dos alimentos e medida em bomba calorimétrica. Os carboidratos fornecem 3,7 kcal/g (glicose) e 4,2 kcal/g (amido); as proteínas 5,6 kcal/g e as gorduras 9,4 kcal/g de EB, respectivamente (NRC, 1998).

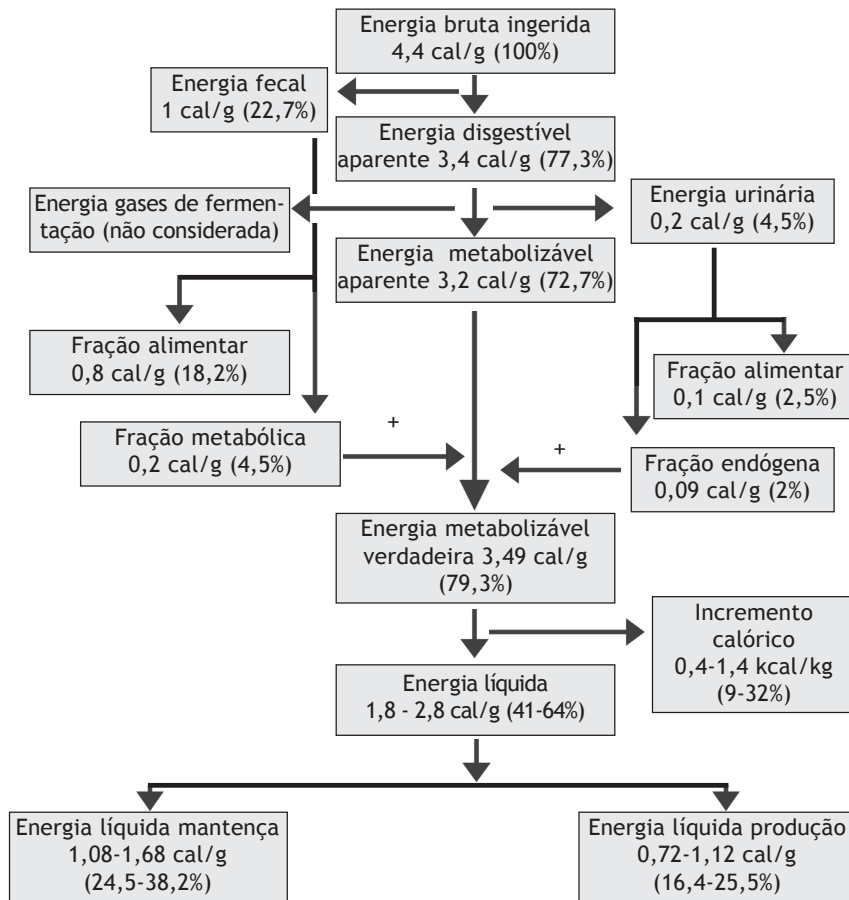


Figura 1 - Esquema da utilização da energia pelos monogástricos e exemplo aproximado das perdas de energia da dieta.

A energia digestível representa a energia do alimento que é absorvida após o processo de digestão nos animais. É determinada pela diferença entre a EB do alimento consumido e a energia bruta das fezes. Para aves, essa forma de energia não é usualmente utilizada em virtude da dificuldade de separar as fezes da urina. A energia metabolizável é a forma normalmente utilizada para aves e suínos no Brasil, sendo obtida pela diferença entre a EB do alimento e a EB das excretas (fezes e urina) e dos gases oriundos da digestão. Considerando que a energia perdida na forma de gases nos monogástricos é muito baixa, tem sido desprezada nos cálculos da EM.

A EM pode ser determinada e expressa como energia metabolizável aparente (EMA) ou energia metabolizável verdadeira (EMV).

A EMV é obtida pela diferença entre a EB do alimento consumido e a energia bruta da excreta (fezes e urina), corrigida pelas perdas de energia fecal metabólica e urinária endógena.

A energia líquida (EL) é obtida da EM menos a energia perdida como incremento calórico (IC). O incremento calórico é um termo prático para juntar várias formas de perda de calor que até hoje não são adequadamente compreendidas e não podem ser individualmente determinadas experimentalmente (Farrel, 1974). O IC, de uma forma geral, representa toda perda de energia durante os processos de digestão, absorção e metabolismo dos nutrientes. A energia do IC não é usada para os processos produtivos, mas pode ser utilizada para manter a temperatura corporal em condições de baixa temperatura ambiente. A EL é a energia que o animal utiliza para a manutenção (ELm) e produção (ELp) de ganho de peso, de ovo ou de leite. A relação entre a EL/ EM ou k é a eficiência de utilização da EM para produzir EL. A eficiência da EM varia de acordo com a finalidade que é depositada; pode ser para ganho de proteína ou para ganho de gordura ou a combinação das duas (proteína e gordura). O k (eficiência da EM) varia com a composição da ração, porque os nutrientes (proteína, carboidratos e gorduras) não são utilizados com a mesma eficiência. De acordo com Noblet (2001), a eficiência de utilização da EM em suínos é de 90% para a gordura, 82% para o amido, 58% para a proteína e 58% para a fibra dietética. Extensos trabalhos realizados com aves por De Groot (1974) concluíram que a eficiência de utilização da EM para aves seria de 60%, 90% e 75% para a proteína, a gordura e os carboidratos, respectivamente. Como existem poucos laboratórios no mundo que permitem a determinação direta da EL dos alimentos, a melhor forma de obter a EL seria a partir dos valores determinados de EM e calcular a EL utilizando a eficiência de utilização dos nutrientes. De Groot (1974) cita valores de EL para aves obtidos a partir do conteúdo de EM, de proteína, de gordura, de amido e açúcar dos alimentos. Similarmente, Sauvant *et al.* (2004) e Rostagno *et al.* (2005) citam valores de EL dos alimentos para suínos, calculados a partir de equações desenvolvidas pelo Dr. Noblet, na França, que levam em consideração a EM e o conteúdo de nutrientes como proteína, gordura, amido e fibra.

3. Sistemas de energia para aves

Para aves, a EM pode ser determinada e expressa como: energia metabolizável aparente (EMA), energia metabolizável aparente corrigida para balanço de nitrogênio (EMAn), energia metabolizável verdadeira (EMV) ou energia metabolizável verdadeira corrigida para balanço de nitrogênio (EMVn).

4. Sistemas de energia para suínos

A energia dos alimentos para suínos, inicialmente, era baseada em estudos feitos com aves ou calculadas com base nos Nutrientes Digestíveis Totais (NDT) (NRC,1971). Posteriormente, os valores de NDT foram transformados para ED, considerando uma unidade de NDT igual a 4,41 kcal de ED. As primeiras determinações diretas de energia dos alimentos com suínos foram realizadas por Diggs et al. (1959 e 1965) e Tollett (1961) e, desde então, o banco de dados vem crescendo e, atualmente, existem tabelas de composição de alimentos para suínos com grande número de alimentos e informações sobre a ED, EM e EL dos alimentos como o NRC (1998), as Tabelas da França (Sauvant et al., 2004) e as Tabelas Brasileiras (Rostagno et al., 2005). Conforme o Agricultural Research Council (1981), a ED descreve adequadamente o conteúdo energético dos alimentos para suínos, porque é mais fácil determinar, os valores são aditivos e estão disponíveis para a maioria dos alimentos.

Contudo, a ED aparente não leva em consideração a energia fecal metabólica. A EM é determinada pela diferença entre a ED e a EB perdida na urina e nos gases de fermentação. A energia perdida como gases no trato digestório dos suínos representa entre 0,1% e 3% da ED (Noblet et al., 1989). Essa quantidade

é geralmente ignorada por ser pequena e pela dificuldade de ser medida (NRC, 1998); entretanto nas Tabelas de Composição de Sauvant *et al.* (2004), as perdas de energia nos gases de fermentação são calculadas a partir da quantidade de parede celular fermentada, sendo estimada em 0,16 kcal/g para suínos em crescimento e em 0,32 kcal/g para porcas adultas. Os autores chamam a atenção para a falta de dados experimentais, sendo os valores de parede celular digestível calculados pela diferença entre a matéria orgânica digestível e a proteína, extrato etéreo, amido e açúcares digestíveis.

A correção da EM para ganhos ou perdas de nitrogênio corporal (balanço de N) também é utilizada com suínos. A correção pelo balanço de N tem por objetivo padronizar e reduzir a variação nos valores de EMA dos alimentos medidos em diferentes condições que podem resultar em maior ou menor ganho de peso ou em perda de peso dos animais. Diggs *et al.* (1965) propuseram a correção dos valores de EMAn para balanço de N = 0, sendo o fator de correção para o teor de N retido ou excretado de 5,45 kcal/g de N. Esse fator foi sugerido levando-se em consideração a diferença entre o valor de EM de um grama de N retido na forma de aminoácido, ou quando o aminoácido é catabolizado para gerar energia, sendo o N excretado na forma de uréia. Nas Tabelas de Composição publicadas por Sauvant *et al.* (2004), é utilizada a correção de 50% do N digestível, pois nos suínos, na maioria das fases de produção, o N da urina representa 50% do N digestível.

A razão para a correção da EM para o balanço de N (EMAn) é que a energia retida como proteína não é totalmente aproveitada pelo animal quando os aminoácidos são degradados para fornecer energia, e o N excretado na urina na forma de uréia. De acordo com Farrel (1979), essa correção pode ser válida para animais adultos, que podem até perder peso, mas não para suínos em crescimento que retêm uma quantidade considerável de N.

A correção pelo balanço de N (EMAn) tem por objetivo padronizar os valores de EMA dos alimentos medidos em diferentes condições. O fator de correção proposto por Diggs *et al.* (1965) de 5,45 kcal/g de N é, na atualidade, o mais utilizado para estimar a EMAn a partir dos valores de EMA dos alimentos. Entretanto, outros autores propuseram fatores de correção por grama de N urinário que variam de 6,77 a 9,17 kcal/g.

A determinação da EL dos alimentos com suínos requer medidas do balanço energético ou da produção de calor. Embora seja difícil de determinar, a EL é a melhor indicação da energia disponível para manutenção e produção (Noblet *et al.*, 1994). A partir de extensos estudos em câmaras metabólicas utilizando grande número de alimentos nas dietas experimentais, o Dr. Noblet publicou várias equações para estimar a EL dos alimentos para suínos, levando em consideração os valores de ED, EM e o conteúdo de proteína, extrato etéreo, amido e fibra bruta. As equações foram usadas para gerar os valores de EL dos alimentos para suínos nas Tabelas de Composição da França (Sauvant *et al.*, 2004) e nas Tabelas Brasileiras (Rostagno *et al.*, 2005). Essas equações levam em conta a eficiência de utilização da EM para a proteína (58%), extrato etéreo (90%), amido (75%) e fibra bruta (58%).

5. Métodos de coleta total para determinar o conteúdo energético dos alimentos

O método usado para determinar a EM dos alimentos foi desenvolvido por Hill e associados, nos anos de 1950, na Universidade de Cornell. Para aves, o sistema baseado na EM foi preconizado para estimar a energia dos alimentos, pelo fato das aves excretarem junto fezes e urina, sendo o método mais fácil e simples para as avaliações. No caso de suínos, como podem ser separadas fezes e urina, além dos valores energéticos, é possível determinar o coeficiente de digestibilidade da proteína do alimento avaliado. O mesmo procedimento pode ser realizado para determinar a digestibilidade de outros nutrientes como gordura, fibra bruta, FDN e FDA.

Hill e Anderson (1958), em ensaios realizados com pintos, concluíram que a EM foi uma medida bastante precisa para determinar a energia dos alimentos para as aves, quando comparada ao sistema de energia produtiva de Fraps (1946).

Os estudos feitos por Hill e Anderson (1958) e Potter e Matterson (1960) contribuíram para o desenvolvimento da metodologia para determinar a EM dos alimentos.

5.1. Coleta total de excretas (método tradicional)

O método de coleta total de fezes e urina ou de excretas, no caso das aves, é um dos métodos mais utilizados para determinar a digestibilidade de nutrientes assim como os valores de energia digestível e metabolizável das rações ou dos ingredientes para aves, suínos e outros monogástricos. Esse método foi descrito por Sibbald e Slinger (1963), baseado nos princípios de Hill e Anderson (1958) e Potter e Matterson (1960).

Conforme descrito anteriormente, a EM representa a energia ingerida que é disponível para os processos metabólicos e, na prática, é determinada pelo balanço energético. Nesse procedimento, o alimento ingerido por um determinado tempo está relacionado com a excreta (fezes e urina) produzida no mesmo período.

O ensaio envolve um período de adaptação dos animais às rações e às instalações o qual deve ser de 4 a 7 dias, e o período de coleta das fezes e urina e controle do consumo das rações deve ser de 4 a 5 dias. Sibbald e Price (1975) constataram aumentos no erro padrão das médias de EM das rações com a redução de seis para um dia de coleta.

Ensaio de digestibilidade com suínos em crescimento foram realizados por Sugimoto e Furuya (1983) com o objetivo de determinar o tempo ótimo dos períodos de adaptação e de coleta de fezes. Os autores concluíram que, para o período de adaptação, após 3 ou 4 dias, as fezes atingiam o *steady state* e sugeriram no mínimo 4 dias de adaptação às dietas experimentais. Para o período de coleta de fezes os pesquisadores concluíram que o coeficiente de variação da digestibilidade aparente dos nutrientes das dietas experimentais foi maior nos primeiros 3 a 4 dias de coleta, diminuindo muito pouco com períodos de coletas maiores.

O método de coleta total baseia-se no princípio de mensurar o total de alimento consumido e o total de excretas produzidas durante um certo período de tempo. A precisão dos valores de EM depende, em grande parte, da quantificação total do consumo do alimento e do total de excretas produzidas durante o período de coleta. Vários critérios têm sido utilizados para definir o início e o término das coletas. O estabelecimento do mesmo horário para iniciar e terminar as coletas baseia-se no fato de que parte das excretas que estavam no trato digestivo, no início, são compensadas pelas perdas no final da coleta. Outra maneira é o uso de marcador, por exemplo 1% de óxido férrico (vermelho) nas rações no primeiro e no último dia de coleta para marcar o início e o final do período de coleta.

Para determinação dos valores energéticos de um alimento, são utilizadas duas dietas, uma dieta referência e a outra teste, obtida pela inclusão de uma porcentagem do ingrediente em estudo em substituição à referência. Dois

métodos têm sido usados para substituir o ingrediente-teste, um proposto por Anderson *et al.* (1958), e outro por Sibbald e Slinger (1963). No método de Anderson *et al.* (1958) o ingrediente-teste é substituído por glicose monoidratada, o valor de energia atribuído à glicose é 3,65 kcal/g, e a dieta contém 50% de glicose. No método proposto por Sibbald e Slinger (1963), o alimento-teste é substituído por uma parte da dieta-referência. Contudo, para evitar deficiências de vitaminas e minerais, a substituição não inclui esta parte da dieta. Segundo os autores, a dieta basal contendo ingredientes usados nas formulações comerciais é mais adequada do que dietas purificadas ou semi-purificadas. Leeson e Summers (2001) criticam o uso da glicose como referência. Segundo os autores, o erro atribuído ao valor de energia da glicose pode refletir no valor de EM do ingrediente. A vantagem do uso da dieta-referência é a determinação da EM desta dieta em todos os ensaios. Para reduzir deficiências ou excesso de proteína, é proposto o uso de dietas basais com diferentes níveis de proteína, ou seja, uma dieta basal com nível relativamente baixo deveria ser utilizada para avaliar ingredientes protéicos; e outra dieta contendo nível alto de proteína para avaliar cereais com baixo conteúdo de proteína. Exemplo de dietas usadas para avaliar alimentos protéicos e cereais com frangos de corte na fase de crescimento e suínos em crescimento é mostrado na **Tabela 8**.

Tabela 8 - Composição das rações-referência para frangos de corte e suínos em crescimento (porcentagem da matéria natural).

Ingredientes	Frangos de Corte ¹		Suínos Crescimento ²	
	25 %Proteína	17 %Proteína	18 %Proteína	14 % Proteína
Milho	49,819	69,707	68,863	65,752
Sorgo Baixo Tanino	—	—	—	15,000
Farelo de Soja	37,968	24,220	26,567	14,312
F. Glúten de Milho	6,500	—	—	—
Óleo Vegetal	1,737	1,500	1,151	1,151
Fosfato Bicálcico	1,533	1,643	1,565	1,442
Calcário	0,923	1,020	1,318	1,174
Sal	0,377	0,390	0,331	0,347
DL-Metionina	0,216	0,255	—	0,102
L-Lisina.HCl	—	0,298	—	0,389
L-Treonina	—	0,040	—	0,101
L-Triptofano	—	—	—	0,025
Vit. + Min.+ Aditivos	0,327	0,327	0,205	0,205
Óxido Crômico (Cr ₂ O ₃)	0,600	0,600	—	—
Total	100,000	100,00	100,00	100,00
Proteína Bruta (%)	25,00	17,00	18,00	14,00
EM (kcal/kg)	2.950	3.055	3.230	3.230
Lisina Digestível (%)	1,120	1,046	0,911	0,811
Cálcio (%)	0,874	0,898	0,880	0,880
Fósforo Disponível (%)	0,406	0,406	0,369	0,360

¹Frangos de corte de 21 dias. Nunes (2003). Tese de DS UFV. ²Suínos em crescimento de 34,5 kg. Ashimoto (2005)- Tese de DS UFV.

A porcentagem de substituição do alimento na dieta-referência também afeta a precisão dos valores de EM determinados (Sibbald e Price 1975). Segundo Leeson

e Summers (2001), o erro de determinação da dieta-teste é multiplicado por um fator dividido pela porcentagem de substituição no cálculo de EM do alimento. Isso indica que, quanto maior a proporção do alimento na dieta-teste, maior a precisão na determinação. Entretanto, o nível de inclusão do alimento depende do tipo de alimento, normalmente a substituição têm sido de 20% a 40%. Para ingredientes que afetam o consumo, por ser de baixa palatabilidade ou pelo alto teor de fibra, e aqueles que se apresentam na forma líquida, os níveis de substituição devem ser inferiores, como os óleos têm substituído entre 7 e 10% da referência.

Em estudo realizado na UNESP-Jaboticabal, Freitas *et al.* (2004) constataram a importância de considerar o nível de substituição de alimentos fibrosos na dieta referência. O ensaio foi conduzido com pintos pelo método de coleta total, os alimentos (semente e farelo de girassol) substituíram em 20% e 40% a dieta-referência (DF). Resultados na **Tabela 9** mostram que a substituição de 40% proporcionou redução nos coeficientes de digestibilidade da gordura e da matéria seca e da EMA em relação ao nível de 20%. O alto teor de fibra do alimento reduziu a digestibilidade dos nutrientes por aumentar a taxa de passagem e/ou por dificultar o acesso das enzimas digestivas aos nutrientes durante a digestão. Dessa forma, para alimentos com alto teor de fibra, recomenda-se substituir 20% da dieta-referência para determinar a EMA pelo método de coleta total.

Tabela 9 - Coeficientes de digestibilidade da MS, EE e EMAn do farelo e semente de girassol em dois níveis de substituição da dieta-referência, determinados com pintos.

Nível do alimento	CDMS(%)	CDEE(%)	EMAn(kcal/kg MS)
Semente de girassol			
20%	61.50 ± 3.40 a	96.35 ± 1.14 a	3.877 ± 186 a
40%	53.43 ± 2.88 b	94.35 ± 0.51 b	3.595 ± 162 b
Farelo de girassol			
20%	48.36 ± 3.05 a	94.93 ± 3.30 a	1.902 ± 142 a
40%	42.27 ± 3.73 b	67.07 ± 8.65 b	1.711 ± 144 b

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo Teste Tukey. (Freitas *et al.*, 2004) UNESP-Jaboticabal.

Por outro lado, alimentos que são usados nas rações comerciais em níveis mais elevados, como milho ou sorgo, que não apresentam problema de consumo, podem substituir totalmente a referência. Alvarenga *et al.* (1979) utilizaram rações experimentais que continham 96% de milho ou de 5 sorgos, com diferentes conteúdos de tanino, para determinar os valores de ED, EM e a digestibilidade da proteína com suínos em crescimento. O experimento apresentou valores relativamente baixos de CV e permitiu detectar a redução linear ($P < 0,01$) do valor nutritivo do sorgo causado pelo tanino (**Tabela 10**).

Para verificar a possibilidade de incluir 40% e 100% de milho na dieta teste para determinar a EM, Freitas *et al.* (2005) realizaram um ensaio de digestibilidade na UNESP-Jaboticabal para comparar dois tipos de milho processado (MP) e não processado (MNP), com dois níveis de substituição, 100% e 40%, da dieta referência (DF). O autores observaram valores pouco superiores de EMAn quando o alimento

substituiu 100% da DF (3638 kcal/kgMS) em relação a 40% de substituição (3.474 kcal/kg). Por outro lado, as diferenças entre os valores de EMA determinados com 100% do alimento (3.695 kcal/kgMS) e 40% (3.614 kcal/kgMS) foram menores. A EMAn do alimento é determinada levando-se em conta a energia do alimento retida como nitrogênio (ERN). Os valores de ERN foram maiores (126 kcal) quando os alimentos foram avaliados com substituição de 40% em relação a 100% (16 kcal) do alimento na referência, justificando o maior valor de EMAn obtido com substituição de 100% do alimento.

Tabela 10 - Avaliação do milho e de sorgos com diferentes níveis de tanino com suínos em crescimento - Inclusão de 96% nas dietas experimentais.

	Milho		Sorgo			CV, %	
Tanino, %	—	0,55	0,72	2,17	2,46	2,90	—
ED, kcal/kg ¹	3.956	3.958	3.841	3.577	3.385	3.441	2,54
EM, kcal/kg ¹	3.875	3.868	3.766	3.509	3.313	3.386	2,51
Coef. Dig. Prot, % ¹	80,9	70,4	69,9	57,5	49,1	47,2	3,73

¹Efeito linear ($P < 0,01$) do tanino sobre a ED, EM e Coef. Dig. Prot. Adaptado de Alvarenga *et al.* (1979).

O método da coleta total, apesar de proporcionar bons resultados, tem apresentado alguns problemas. Um dos principais problemas é obtenção de uma amostra representativa das fezes, urina ou excretas para posteriores análises, principalmente devido à contaminação com a ração, pelas penas, descamação da pele e perda de excreta durante a coleta. Outro cuidado a ser tomado em relação à coleta das excretas é evitar sua fermentação, reduzindo o intervalo entre as coletas. Esses problemas, muitas vezes, são difíceis de serem controlados e interferem nos valores de ED e EM determinados.

6. Utilização de indicadores para determinar o conteúdo energético dos alimentos

Uma alternativa para o método de coleta total de excretas é a determinação da digestibilidade através de uma relação entre substâncias indigestíveis presentes no alimento e nas excretas (Kobt e Luckey, 1972). Essas substâncias indigestíveis, denominadas indicadores, são utilizadas para determinar um fator de indigestibilidade e, com este, estimar a quantidade de fezes ou excreta que corresponde a uma unidade de ração consumida. Posteriormente, calcula-se a quantidade de nutriente presente na dieta que foi digerida e absorvida pelo animal.

Entre as principais vantagens da utilização de indicadores pode-se citar que não é necessária a mensuração do consumo de ração, o total de excretas produzidas e evita-se a contaminação das fezes ou das excretas. Entretanto, para que se obtenha bons resultados com a utilização de indicadores, é necessário que estes estejam uniformemente misturados à ração e sejam padronizadas as análises químicas para determinar a sua concentração nas rações e excreta ou fezes em diferentes laboratórios (Sibbald, 1987).

Um bom indicador é caracterizado por ser uma substância conhecida, não tóxica, inalterada durante a passagem pelo intestino, que não exerça influência sobre os processos fisiológicos no trato digestório, não se associe a outros nutrientes, seja totalmente recuperado nas excretas e que tenha facilidade nas análises laboratoriais (Kobt e Luckey, 1972).

Embora não sejam necessários longos períodos de coleta de amostra quando se utiliza o indicador, é preciso que esse período se estenda pelo menos por 24 horas, para que sejam evitadas variações na composição da excreta entre a noite e o dia (Yoshida e Marimoto, 1957).

Os indicadores são classificados como externos ou internos. Segundo Sales e Jansen (2003), os indicadores externos são definidos como substâncias não digeridas pelo animal que são adicionados à ração com o objetivo de determinar a digestibilidade dos nutrientes ou a disponibilidade da energia de um ingrediente.

Entre os indicadores externos utilizados em ensaios com monogástricos, o óxido crômico ocupa lugar de destaque. Sibbald *et al.* (1960) observaram que a utilização do óxido crômico proporcionou maior precisão dos resultados em relação à coleta total de excretas.

Embora pesquisas apontem para bons resultados da utilização do óxido crômico em relação à coleta total de excretas, alguns autores demonstraram haver variabilidade dos resultados obtidos por esse método (Han *et al.*, 1976). Essa variabilidade é atribuída a fatores, tais como a incompleta recuperação do óxido crômico na excreta e a dificuldade em reproduzir os resultados deste indicador em diferentes laboratórios (Vohra, 1972; Han *et al.*, 1976). Isso ocorre porque, quando se utilizam métodos colorimétricos, é difícil obter uma cor estável e uniforme no momento da leitura. Nesse caso, recomenda-se a utilização de espectrofotometria de absorção atômica, pelo fato de que, nesse método, a cor da solução não exerce efeito sobre os resultados. Um outro problema enfrentado na análise é que, devido as características eletrostáticas do óxido crômico, esse composto é de difícil separação nas excretas ou em dietas ricas em fibra e açúcar, resultando em concentrações subestimadas (Vohra, 1972). Há ainda a possibilidade do óxido crômico ser uma substância potencialmente carcinogênica.

Em pesquisa realizada na UNESP-Jaboticabal por Zanella (1998) com o objetivo de determinar os valores de EMA de dietas formuladas à base de sojas, com e sem adição de enzimas, foram utilizados os métodos de coleta total e de coleta parcial com o óxido crômico usado como indicador. Conforme verificado na **Tabela 17**, a EMA das dietas obtidas com o óxido crômico foram inferiores aos valores obtidos pelo método de coleta total. Esses resultados sugerem que o óxido crômico não foi totalmente recuperado nas excretas. Os maiores desvios-padrão da média para os valores de EMA determinados pela coleta parcial também indicam maior variação com o uso do indicador. Em estudo realizado na UFV (Rodrigues, em andamento), no qual foram determinadas a EMA e EMAn de oito rações experimentais, o método do indicador óxido crômico mostrou valores levemente inferiores de EMA (3.580 vs 3.618 kcal/kg) e EMAn (3.424 vs 3.466 kcal/kg) em comparação ao de coleta total das excretas. Entretanto, os dois métodos apresentaram erro padrão da média e coeficiente de variação similar. Evidentemente

que essa diferença pode ser atribuída à menor recuperação do óxido crômico; por outro lado, pode ser causada pelo maior desperdício de ração do método de coleta total, o que resultaria em valores de EM superestimados.

Tabela 17 - Valores de Energia metabolizável (kcal/kg) de dietas formuladas com sojas integrais suplementadas ou não com enzimas, determinados pelo método de coleta total e coleta parcial de excretas.

	Coleta Total	Coleta Parcial (Cr ₂ O ₃)
Efeito de tipos de soja		
Farelo de Soja	3.210 ± 18	3.105 ± 23
Soja integral tostada	3.197 ± 17	3.167 ± 24
Soja integral extrusada	3.215 ± 16	3.192 ± 23
Efeito de enzima		
Sem enzima	3.190 ± 12	3.102 ± 22
Com enzima	3.225 ± 15	3.188 ± 23

Adaptado de Zanella (1998), Tese de Doutorado UNESP - Jaboticabal.

Resultados de experimentos publicados por Moreira *et al.* (1994) que avaliaram sete alimentos com leitões de 21 dias de idade (5,6kg), utilizando o método de coleta total e do indicador óxido crômico determinado mediante espectrofotometria de absorção atômica, não encontraram diferença ($P>0,05$) entre as duas metodologias para o coeficiente de digestibilidade da energia (87,35% total vs 85,30% óxido crômico).

Diante dos problemas mencionados com a utilização do óxido crômico, pesquisas foram desenvolvidas com o objetivo de encontrar outros compostos para serem utilizados como indicadores.

Indicadores internos são definidos como componentes naturais dos ingredientes da ração, não necessitando serem adicionados à dieta. A cinza ácida insolúvel (CAI), considerada um indicador interno para ruminantes, por fazer parte principalmente das forragens, pode ser utilizada nas rações de monogástricos como um indicador externo. Pelo fato de estar presente em baixas concentrações nos alimentos, fontes exógenas de CAI, como o Celite™, a areia e a sílica têm sido utilizadas com o objetivo de diminuir os erros de análise (Sales e Jansen, 2003).

A CAI, caracterizada como um mineral indigestível, composto em sua maioria por sílica, tem a vantagem de ser determinada por métodos gravimétricos.

No entanto, Cheng e Coon (1990) relatam que a CAI pode proporcionar aumento na digestibilidade dos nutrientes devido à alta ingestão de sílica. Segundo estes autores altos níveis de sílica na dieta, superiores a 2%, podem reduzir a passagem da digesta no intestino, melhorando a digestibilidade dos nutrientes.

Scott e Boldaji (1997), ao comparar a cinza ácida insolúvel e o óxido crômico para determinar a EMA de dietas à base de trigo e cevada, observaram que o óxido crômico foi menos apropriado em dietas com maiores teores de fibra. Os resultados evidenciaram que o uso de 0,5% de óxido crômico subestimou os valores de EMA (2.800 kcal/kg) em relação aos encontrados com os níveis de 0,5

e 1,0% de Celite™ (2.870 e 2.850 kcal/kg, respectivamente), os quais foram mais próximos aos encontrados para a cevada nas tabelas de composição de alimentos. Os autores recomendaram o uso de 0,5% e 1,0% de Celite™ como indicador para determinar digestibilidade em aves.

Experimento com suínos em crescimento de Kavanagh *et al.* (2001), que avaliaram diferentes indicadores, mostraram que, quando o óxido crômico é determinado com o aparelho de espectrofotometria de absorção atômica, o resultado foi similar ao método de coleta total e do indicador CAI (**Tabela 18**). Os pesquisadores não recomendaram o uso de óxido titânio como indicador e recomendaram usar CAI.

Tabela 18 - Comparação de diferentes indicadores com suínos em crescimento

	Total	Cr ₂ O ₃	TiO ₂	CAI
Det. Ração, g/kg	-	0,93	1,02	2,906
Recuperado Fezes, %	—	96,0 ab	92,3 b	99,9 a
Coef. ED, %	85,8 a	84,8 ab	84,4 b	85,5 a

Kavanagh *et al.* (2001)

Foi conduzido um ensaio na UNESP-Jaboticabal (Dourado *et al.*, em andamento), com o objetivo de comparar as metodologias de coleta total e parcial (CAI) de excretas para determinar a energia metabolizável do milho e do farelo de soja. Nas dietas-teste, os alimentos substituíram em 40% a dieta-referência e, em todas dietas, foi adicionado 1% de CAI. O método de coleta parcial superestimou os valores de EMA do milho (3.544 ± 68 kcal/kg MN), quando comparado com a coleta total (3.133 ± 89); entretanto, não houve diferenças para o farelo de soja (1.821 ± 155 vs 1.797 ± 101), para a coleta parcial e total, respectivamente. Na tentativa de encontrar uma explicação para o fato do uso do indicador ter proporcionado maior estimativa da EM em relação à coleta total, foi determinada a taxa de recuperação do indicador (g de indicador na excreta/g de indicador na dieta), e foram encontradas as taxas de 101%, 111% e 96 % para a dieta-referência, dieta teste com milho e dieta-teste com farelo de soja, respectivamente. Foi realizada uma correção do valor do indicador na excreta pela taxa de recuperação obtida (%indicador na excreta/taxa de recuperação). Os valores de EMA obtidos, após a correção, passaram a ser semelhantes para o milho (3.124 ± 67 vs 3.133 ± 89) e para o farelo de soja (1.760 ± 104 vs 1797 ± 101), para a coleta parcial e total, respectivamente. Esses resultados indicam que a taxa de recuperação do indicador nas excretas interfere nos valores de EMA. Dessa forma, é importante escolher um indicador que seja totalmente recuperado e também conhecer os fatores que possam interferir na taxa de recuperação do mesmo, para que se possa obter valores mais precisos de digestibilidade dos nutrientes pela coleta parcial.

Diante do exposto, é possível afirmar que o indicador ideal ainda não foi encontrado.

O óxido crômico, por apresentar bons resultados em relação à coleta total de excretas e ter um protocolo experimental bem definido, tem sido o indicador

mais utilizado em ensaios de digestibilidade. Entretanto, a dificuldade em reproduzir os resultados de análise dessa substância em diferentes laboratórios, tem dificultado a comparação entre dados de diversos pesquisadores, sendo o método de análise recomendado o de espectrofotometria de absorção atômica.

Apesar da cinza ácida insolúvel proporcionar valores superestimados de digestibilidade em relação à coleta total de excretas, esse indicador apresenta um potencial de uso nos ensaios de digestibilidade, tanto pela facilidade como pelo menor custo da análise e maior reprodução dos resultados (Sales e Jansen, 2003).

Um ponto importante para o uso dos indicadores em ensaios de digestibilidade é a padronização de protocolos experimentais, de forma que o pesquisador tenha a liberdade de analisar para cada situação qual indicador utilizar a fim de obter resultados mais precisos.

9. Equações de predição da energia dos alimentos

Normalmente, a composição dos alimentos utilizados na formulação de rações é baseada em dados de Tabelas (NRC, 1994; Rostagno *et al.*, 2005). Entretanto, a composição dos alimentos, principalmente dos subprodutos de origem animal e vegetal, apresentam variações entre as Tabelas de Composição dos Alimentos.

Estas diferenças podem ser atribuídas às variações na composição entre as partidas em conseqüências dos tipos de matérias-primas utilizadas e também das mudanças no processamento destes alimentos. A equação de predição do conteúdo energético com base em parâmetros químicos e físicos dos alimentos é um método indireto para estimar a energia metabolizável. É uma importante ferramenta para formulação de ração, já que os demais métodos necessitam de realizar um ensaio biológico e dependem de metodologias de difícil execução pela indústria, além do maior tempo para obter os resultados. Porém, Sibbald (1980) critica o método, uma vez que é considerada a mesma digestibilidade para proteínas, carboidratos e gorduras dos alimentos.

A concentração de energia do alimento é dependente das proporções de carboidratos, gordura e proteína presentes no alimento. Os carboidratos fornecem 3,7 kcal/g (glicose) e 4,2 kcal/g (amido); as proteínas 5,6 kcal/g e as gorduras 9,4 kcal/g de EB (NRC, 1998). Com base na composição, Ewan (1989) elaborou uma equação para estimar a EB dos alimentos ($EB = 4,143 + (56 \times \%EE) + (15 \times \%PB) - (44 \times \%cinzas)$, $R^2=0,98$).

Em trabalho realizado na UFV, Nunes *et al.* (2001) determinaram a EMAn de 11 alimentos (trigo e subprodutos) e, posteriormente, usaram dados de composição química dos ingredientes para obter equações de regressão linear múltipla. As equações foram calculadas pelo método Stepwise de eliminação indireta (Backward), o qual fornece uma contribuição de cada variável dentro da análise de regressão múltipla. Os autores constataram que as melhores equações de predição dos valores de EMAn para esses ingredientes foram aquelas com proteína bruta (PB) e/ou fibra detergente neutro (FDN). Os valores determinados e estimados com 3 equações estão na **Tabela 24**.

Tabela 24 - Valores de EMAn obtidos no ensaio e estimativa dos valores de EMAn por meio das equações de predição.

	^a EMA _n	^b EMA _n 1	^b EMA _n 2	^b EMA _n 3
Farelo de trigo 1	1.864	1.916	1.799	1.924
Farelo de trigo 2	1.936	2.096	2.356	2.095
Farelo de trigo 3	1.758	1.611	1.510	1.518
Farelo de trigo 4	1.795	1.652	1.680	1.566
Trigo-grão	3.457	3.607	3.545	3.479
Farinha morena	1.903	2.112	2.239	2.230
Farinha de trigo	4.113	4.029	4.131	3.933
Resíduo de biscoito	4.339	—	4.390	—
Resíduo de macarrão	3.943	3.971	3.578	3.884
Triguillo	3.140	3.062	3.035	2.959
Gérmen de trigo	2.813	2.730	2.799	3.480
Média	2.824	2.679	2.824	2.707
^c Σ ⁱⁱⁱ d ²		157.4	523.4	759.9

^aEnergia metabolizável aparente corrigida, observada *in vivo*, em kcal/kg de matéria seca. ^bEnergia metabolizável aparente corrigida estimada pelas equações, em kcal/kg de matéria seca. ^cΣⁱⁱⁱ d² Somatório ao quadrado das diferenças entre os valores estimados e observados.

EMA_n 1 = 4.754,02 - 48,38PB - 45,32FDN ($R^2 = 0,98$)

EMA_n 2 = 4.222,41 + 67,10EE - 473,46MM ($R^2 = 0,94$)

EMA_n 3 = 3.994,87 - 48,82FDN ($R^2 = 0,91$).

Adaptado de Nunes *et al.* (2001).

As análises dos laboratórios de controle de qualidade das indústrias são pouco usadas para corrigir o valor nutritivo dos ingredientes. Para a indústria de rações, o uso de equações é de extrema importância, não somente para determinar o valor energético dos alimentos, mas para realizar os ajustes necessários de acordo com a variação da composição, principalmente de proteína, gordura e fibra dos ingredientes. O uso de equação de predição da energia permite maximizar a utilização dos dados de composição obtidos mediante análises laboratoriais de rotina. Foi com esse intuito que Rostagno *et al.* (2005) publicaram equações

para estimar os valores energéticos dos alimentos para aves e suínos, que podem ser usados para corrigir e ajustar as matrizes de energia pelos nutricionistas da indústria de rações (**Tabelas 25 e 26**). Para facilitar o uso das equações, foi desenvolvido o programa Calculador, em Excel, encontrado no CD que acompanha as Tabelas Brasileiras, bastando introduzir os dados de composição dos alimentos para calcular a EM para aves e EM, ED e EL para suínos.

Tabela 25 - Equações para estimar a energia metabolizável dos alimentos para aves.

Alimentos de origem vegetal
$EM_n = 4,31 \text{ PBd} + 9,29 \text{ Gd} + 4,14 \text{ ENNd}$
Alimentos de origem animal e gorduras
$EM_n = 4,31 \text{ PBd} + 9,29 \text{ Gd}$

EM_n = Energia Metabolizável Aves, kcal/kg. PBd = Proteína Digestível Aves, g/kg. Gd = Gordura Digestível Aves, g/kg. ENNd = Extrato Não Nitrogenado Dig. Aves, g/kg. (Rostagno *et al.*, 2005).

Tabela 26 - Equações para Estimar os Valores Energéticos dos Alimentos para Suínos

Alimentos de Origem Vegetal e Produtos Lácteos
$ED = 5,65 \text{ PBd} + 9,45 \text{ Gd} + 4,14 (\text{M}od - \text{PBd} - \text{Gd})$
Alimentos de Origem Animal e Gorduras
$ED = 5,65 \text{ PBd} + 9,45 \text{ Gd}$
Alimentos de Origem Vegetal e Produtos Lácteos
$EM = 4,952 \text{ PBd} + 9,45 \text{ Gd} + 4,14 (\text{M}od - \text{PBd} - \text{Gd})$
Alimentos de Origem Animal
$EM = 4,952 \text{ PBd} + 9,45 \text{ Gd}$
Gorduras e Carboidratos
$EM = 0,965 \text{ ED}$
Energia Líquida
$EL = 0,73 \text{ EM} + 13,1 \text{ G} + 3,7 \text{ A} - 6,7 \text{ PB} - 9,7 \text{ FB}$

ED = Energia Dig. Suínos, kcal/kg	EL = Energia Líquida Suínos, kcal/kg
EM = Energia Metab. Suínos, kcal/kg	G = Gordura, %
PBd = Proteína Dig. Suínos, g/kg	A = Amido, %
Gd = Gordura Dig. Suínos, g/kg	PB = Proteína Bruta, %
M _{Od} = Mat. Orgânica Dig. Suínos, g/kg	FB = Fibra Bruta, %

(Rostagno *et al.*, 2005).

Exemplos do uso das equações usando o programa Calculador são mostrados na **Tabela 27**, na qual a redução do conteúdo de 1% da proteína e da gordura do milho, comparado aos valores calculados das Tabelas Brasileiras, resultou no decréscimo de 123 e 122 kcal de EM/kg para aves e suínos, respectivamente. Entretanto, o aumento de 2 % da proteína e da gordura da farinha de carne e ossos mostrou valores de 168 e 159 kcal de EM/kg superiores para aves e suínos, respectivamente. Os ajustes dos valores energéticos das rações de aves e suínos, de acordo com a composição dos ingredientes, resultam em desempenhos mais facilmente predizíveis com benefícios econômicos significativos.

Uma equação de extrema importância para corrigir o valor energético do milho, de acordo com a classificação proposta pelo Ministério da Agricultura, foi desenvolvida por Barbarino (2001). O autor utilizou técnicas de análise uni

e multivariadas para avaliar a qualidade nutricional do milho, sendo consideradas as percentagens de grãos quebrados, fragmentados, impurezas, ataques por fungos e insetos e o total de grãos avariados por diversas causas para estimar a Energia Metabolizável Perdida para Aves (**Tabela 28**).

Tabela 27 - Exemplo do uso das equações para estimar e corrigir os valores energéticos dos alimentos para aves e suínos usando o programa Calculador.

Nutriente	Milho		Farinha de Carne e Ossos	
	Tab. Bras.	Novo ¹	Tab. Bras.	Nova ²
Proteína, %	8,26	7,26	41,00	43,00
Gordura, %	3,61	2,61	11,04	13,04
Fibra, %	1,73	2,73	—	—
EM aves, kcal/kg	3.379	3.256	1.941	2.109
EM suínos, kcal/kg	3.390	3.268	2.065	2.224
EL suínos, kcal/kg	2.681	2.587	1.377	1.506

¹Redução de 1% da proteína e gordura e aumento de 1% da fibra. ²Aumento de 2% da proteína e gordura. Os outros nutrientes iguais aos das Tabelas Brasileiras. (Rostagno *et al.*, 2005).

Tabela 28 - Equação para estimar a energia metabolizável perdida (EMp) para aves em função da classificação/tipo do milho.

$$EMp = -0,064 + 1,62 QBR + 6,98 FRIM + 10,06 FUN + 12,28 INS + 5,87 ADC$$

EMp = Energia Metabolizável perdida para aves, kcal/kg.

QBR = Grãos quebrados, %.

FRIM = Fragmentos de grãos e impurezas, %.

FUN = Grãos atacados por fungos, %.

INS = Grãos atacados por insetos, %.

ADC = Grãos atacados por diversas causas, %.

Exemplo:

Classificação/Tipo	"0"	I ¹	II ¹	III ¹
QBR, %	0	0,16	1,32	5,88
FRIM, %	0	0	1,18	1,96
FUN, %	0	2,60	3,64	6,32
INS, %	0	0,24	0,12	0,16
ADC, %%	0	0	0	0
EMp Eq., kcal/kg	0	- 29	- 51	- 89
EM aves, kcal/kg	3.432 ²	3.403	3.381 ²	3.343

¹ Classificação do Ministério da Agricultura. ² Considerando o Milho Tipo II com 3.381 kcal/kg, o Milho com 0% de QRB, FRIM, FUN, INS e ADC tem EMp = 0, então o valor de EM-aves seria 3.381 + 51 = 3.432 kcal/kg.

(Barbarino, 2001 citado em Rostagno *et al.*, 2005).

Nas Tabelas de Composição dos alimentos para suínos, publicadas por Sauvart *et al.* (2004), são relacionadas equações para estimar a energia dos alimentos. As equações para calcular a ED e EL, em MJ/kg foram desenvolvidas pelo Dr Noblet, na França, e são mostradas na **Tabela 29**.

Tabela 29 - Equações para estimar os valores energéticos dos alimentos para suínos.

$$ED = 0,2247 PB + 0,3171 G + 0,1720 A + 0,0318 FDN + 0,1632 \text{ Resíduo}$$

$$EL = 0,705 ED + 0,0066 G + 0,02 A - 0,041 PB - 0,041 FB$$

$$EL = 0,730 EM + 0,0055 G + 0,015 A - 0,028 PB - 0,041 FB$$

ED = Energia Dig. Suínos, MJ/kg; EM = Energia Metab. Suínos, MJ/kg.

EL= Energia Líquida Suínos, MJ/kg; PB = Proteína Bruta, %;

G = Gordura, %;

A= Amido, %;

FB = Fibra Bruta, %.

(Sauvant *et al.*, 2004).

10. Sistema NIRS para determinação da energia dos alimentos

O sistema *near infrared spectroscopy* (NIRS) para determinar os componentes químicos dos alimentos tem sido usado como rotina nos laboratórios nos últimos anos. O princípio do NIRS foi desenvolvido por Karl Norris no início da década de 70. Em 1976, Norris e colaboradores aplicaram a técnica pela primeira vez para avaliar a qualidade das forragens. O sistema tornou-se uma técnica de laboratório ideal por ser rápida, de baixo custo, não necessitar de reagentes químicos e não produzir resíduos. Além disso, não há necessidade de preparar as amostras e vários nutrientes podem ser analisados ao mesmo tempo.

A técnica é uma integração de espectroscopia de luz, estatística e ciência da computação. Modelos matemáticos são construídos para relacionar a composição dos grupos químicos ativos à absorção de energia na região do espectro do infravermelho próximo (700-2500nm). Nessa região, são medidas vibrações de átomos de hidrogênio ligados ao nitrogênio, oxigênio e carbono. A absorção da energia da luz segue a Lei Beer-Lambert, a qual descreve a propriedade de absorção da luz das substâncias em relação à concentração de um constituinte.

Devido às dificuldades e ao alto custo na obtenção da EM através de ensaios metabólicos, alguns pesquisadores têm buscado novas metodologias para estimar os valores de EMA.

O NIRS tem apresentado potencial como um método alternativo e rápido para avaliar a energia metabolizável em ingredientes e rações para aves. Entretanto, a acurácia do método depende do número de amostras empregadas na calibração do aparelho e na padronização adequada da técnica (Valdes e Leeson, 1994).

O método consiste em submeter uma amostra à radiação infravermelha. A amostra, ao receber a radiação, emite uma luz difusa que é capturada pelo detector. O sinal a partir do detector é amplificado, usando uma resposta logarítmica e memorizado como $\log 1/R$, em que R é a refletância (**Figura 15**). Os dados logaritimizados são ajustados para predição dos valores de energia metabolizável. A melhor equação ajustada para predição da EMA pelo NIRS é selecionada, baseando-se no número de variáveis independentes, comprimento de onda, interpretação química do comprimento de onda, teste de F e R^2 (Valdes e Leesson, 1992).

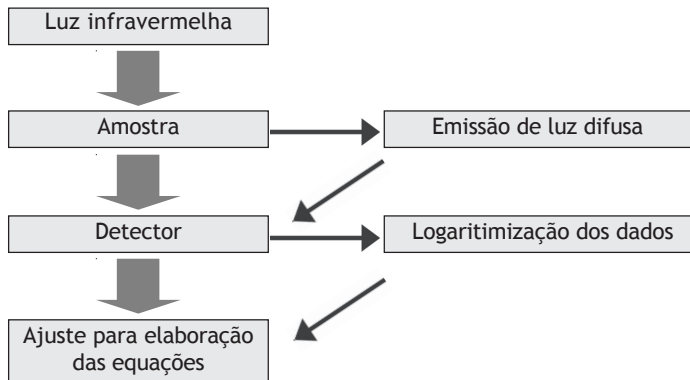


Figura 15 - Esquema da determinação da energia metabolizável pelo sistema NIRS.

Valdes e Leeson (1994) verificaram que a EMAn das rações para aves, determinadas pelo NIRS ($2.964 \pm 0,192$), foram semelhantes às obtidas em ensaios biológicos ($2.996 \pm 0,211$), indicando a eficácia do NIRS para avaliar a EM dos alimentos.