

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia UNESP Botucatu – Campus Lageado Botucatu/SP, 14 e 15 de setembro de 2012



### Ensaios de digestibilidade in vitro na avaliação dos alimentos para coelhos

<sup>1</sup>Karina Aurora Rodrigues Gomes, <sup>2</sup>Luiz Carlos Machado, <sup>1</sup>Sylmara Silva, <sup>1</sup>Estefânia Ferreira Dias, <sup>1</sup>Bruna Pontara Vilas Boas Ribeiro, <sup>1</sup>Israel Marques da Silva.

<sup>1</sup>Graduandos em Zootecnia pelo IFMG Campus Bambuí <sup>2</sup>Professor do núcleo de Zootecnia do IFMG Bambuí – luiz.machado@ifmg.edu.br

#### **RESUMO**

Os métodos tradicionais para a determinação da digestibilidade dos nutrientes são trabalhosos e onerosos. Os métodos *in vitro* simulam as condições digestivas do animal, apresentando baixo custo, execução rápida, podendo apresentar alta correlação com os métodos *in vivo*. Para coelhos foram testados métodos enzimáticos, métodos com produção de gases além de alterações ao método tradicional de duas etapas. As pesquisas apontam para a utilização eficiente de várias técnicas. Equações matemáticas necessitam ser desenvolvidas, testadas e empregadas de maneira rotineira para coelhos.

Palavras-chave: Método das duas etapas, produção de gases, método enzimático.

#### **ABSTRACT**

The traditional methods for determination of nutrients digestibility are laborious and expensive. The *in vitro* methods simulate the animal's digestive conditions, with low cost, rapid execution and may have high correlation with *in vivo* tests. For rabbits were tested the methods enzymatic, gas production and the traditional method of two steps, with some modifications. The research indicates the efficient use of various techniques. Mathematical equations need to be developed, tested and used routinely for rabbits.

Palavras-chave: Two steps method, gas production, enzymatic method

#### Introdução

A determinação da digestibilidade real dos alimentos é difícil, pois estes métodos utilizam animais vivos (*in vivo*), sendo trabalhosos e onerosos. Dessa forma os estudos *in vitro*, que simulam o processo digestivo no animal, podem ser valiosas ferramentas para avaliação da utilização de alimentos e dietas para animais, de forma rápida e com baixo custo de execução.



Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

UNESP Botucatu – Campus Lageado

Botucatu/SP, 14 e 15 de setembro de 2012



Conforme apontado por Calabró et al. (1999), são poucos os estudos sobre métodos *in vitro* adaptados para avaliação de alimentos para coelhos.

#### Métodos gravimétricos tradicionais

Existem vários métodos para a determinação da digestibilidade *in vitro*, sendo os mais comuns os que apresentam um tempo de fermentação de 24 a 48 horas. Todos visam reproduzir, de forma mais adequada, as condições metabólicas do animal. A técnica padrão foi proposta inicialmente por Tilley e Terry (1963), sendo comumente denominado de método das duas etapas, e modificado para avaliação de alimentos para várias espécies.

Para coelhos há também métodos que utilizam somente enzimas como amilase, celulase, pepsina ou complexos enzimáticos. Ramos et al. (1992) desenvolveram um sistema multienzimático para avaliação da digestibilidade *in vitro*, consistindo de três etapas de incubação sendo a primeira reproduzindo as condições do estômago (uso de pepsina, pH 2,0), a segunda as condições do intestino delgado (uso de pancreatina, pH 6,8) e a terceira simulando as condições do céco (complexo multienzimático composto por carboidrases, pH 4,8). Foi observado que a digestibilidade da matéria seca apresentou boa correlação entre os testes *in vivo* e *in vitro*. Outra observação importante é que o fator fibra bruta (FB) se mostrou uma boa ferramenta de predição, melhorando as equações. Pascual et al. (2000) testaram três diferentes métodos, sendo complexo multienzimático, inóculo cecal e inóculo fecal. A digestibilidade da MS foi bem estimada, principalmente usando os indicadores fibrosos. Os métodos que utilizaram inóculo cecal e complexo multienzimático foram eficientes.

Euler (2009) avaliou a técnica descrita por Tiley e Terry (1963) na avaliação da digestibilidade *in vitro* de cinco rações para coelhos. Foram utilizados dois tempos de fermentação na primeira fase, (24 e 48 horas). Foi observado que o menor tempo proporcionou valores mais próximos aos observados *in vivo*. Também Machado (2010) avaliou diferentes adaptações ao método de Tiley e Terry (1963), testando também um estágio posterior com uso de detergentes, após a digestão fermentativa. A metodologia proposta por Tiley e Terry, modificada para 12 e 24 h de incubação, estimou com grande proximidade os valores de digestibilidade *in vivo* da MS. A utilização do detergente neutro, no segundo estágio, foi eficiente para proporcionar melhores estimativas da digestibilidade.



Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

UNESP Botucatu – Campus Lageado

Botucatu/SP, 14 e 15 de setembro de 2012



### Métodos de digestibilidade in vitro medindo a produção de gás

A técnica da produção de gás mede a evolução dos gases (metano e CO<sub>2</sub>) que são gerados como produtos finais na fermentação, correlacionando-a com a matéria orgânica fermentada. Equações de regressão podem ser utilizadas para converter essa produção de gás em matéria orgânica digerida. Como as medições são realizadas em determinados intervalos de tempo, é possível se estudar a cinética de fermentação.

Souza el at. (1998) avaliaram a qualidade da fibra do rami, em duas diferentes idades (30 e 60 dias), através da degradação *in vitro* e de sua cinética. Inicialmente os autores submeteram a amostra ao detergente neutro e logo após incubaram com inóculo cecal de coelhos. A correlação entre as duas técnicas se mostrou alta (R² = 0,96) indicando ser possível a utilização da produção de gás para estimar a degradabilidade *in vitro*. Calabró et al. (1999) trabalharam com a técnica da produção de gás, com inóculo cecal, para avaliação da digestibilidade de dietas para coelhos a fim de se predizer a digestibilidade *in vivo*. Foram utilizadas dez diferentes dietas sendo medida a produção cumulativa de gás num meio anaeróbico, a 39°C com inóculo retirado do céco dos animais, sendo avaliado tempo de 96 h. Esse modelo proporcionou uma boa descrição das curvas de cada dieta com um alto coeficiente de determinação. Foi observado também que o período onde acontece a máxima degradação está compreendido entre as 4,67 e 9,66 h. Os resultados positivos deste trabalho indicam a possibilidade da utilização da técnica de produção de gás usando inóculo cecal.

Euler (2009) avaliou a técnica semi-automática da produção de gases, utilizando 6, 12 e 24 h de fermentação, utilizando-se inóculo cecal fresco ou congelado. Os dados de produção de gás apresentaram alta correlação com a degradabilidade das dietas após 24 h de fermentação. Também Machado (2011) avaliou a técnica de produção de gases para coelhos e percebeu que a degradabilidade se mostrou como método eficiente para avaliar as dietas experimentais, assim como a produção de gases. O autor percebeu também que esses parâmetros foram influenciados pelo tipo de inóculo utilizado.

#### **Considerações Finais**

As técnicas de digestibilidade *in vitro* constituem uma importante ferramenta na avaliação dos alimentos para animais. Para coelhos, as pesquisas apontam para a utilização eficiente dos métodos enzimático e da produção de gás utilizando inóculo cecal. Equações



Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

UNESP Botucatu – Campus Lageado

Botucatu/SP, 14 e 15 de setembro de 2012



matemáticas necessitam ser desenvolvidas e testadas e empregadas de maneira rotineira para coelhos.

#### Referências bibliográficas

CALABRÓ S.; NIZZA A,; PINNA W., et al. Estimation of digestibility of compound diets for rabbits using the *in vitro* gás production technique. **Word Rabbit Science**, vol. 7, n. 4, p. 197-201, 1999

EULER A. C. C. Utilização digestiva, metodologias "in vitro" de dietas e caracterização da microbiota cecal em coelhos suplementados com Lithothamnium. 2009. 78f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária - UFMG, Belo Horizonte.

MACHADO L. C. Avaliação da parte aérea de cultivares de mandioca, desempenho e digestibilidade em dietas simplificadas e semi-simplificadas com ou sem suplementação enzimática para coelhos em crescimento. 2010. 140 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária - UFMG, Belo Horizonte.

PASCUAL J. J.; CERVERA C.; FERNANDEZ-CARMONA J. Comparison of different in vitro digestibility methods for nutritive evaluation of rabbit diets. **World Rabbit Science**, v. 8, n. 2, p. 93-97, 2000.

RAMOS M. A.; CARABAÑO R.; BOISEN S. An in vitro method for estimating digestibility in rabbits. **Journal of Applied Rabbit Research**. v. 15, p. 938-946, 1992.

SOUZA A. V. C.; LOPES D. C.; MALAFAIA P. A. M.; et al. Avaliação da qualidade da fibra do rami em duas idades diferentes, para coelhos, pelo método da digestibilidade *in vitro*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. v. 4, p. 240-242.

TILLEY J. M. A.; TERRY R. A. A two stage technique for in vitro digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society,** v. 8, n. 2, p. 263-287, 1963.