



Determinação de fibra em alimentos para alimentação animal

Prof. Carla Bittar





Introdução

Concentração de fibra

- Descrever alimento: composição
- Estimar valor nutritivo

Hipsley (1953): fibra dietética

Fibra dietética diferente de outros constituintes

- Definida em termos de efeitos digestivos e nutricionais
- Deve ser determinada quimicamente



Carboidratos



Principal fornecedor de energia

Frações de interesse na nutrição

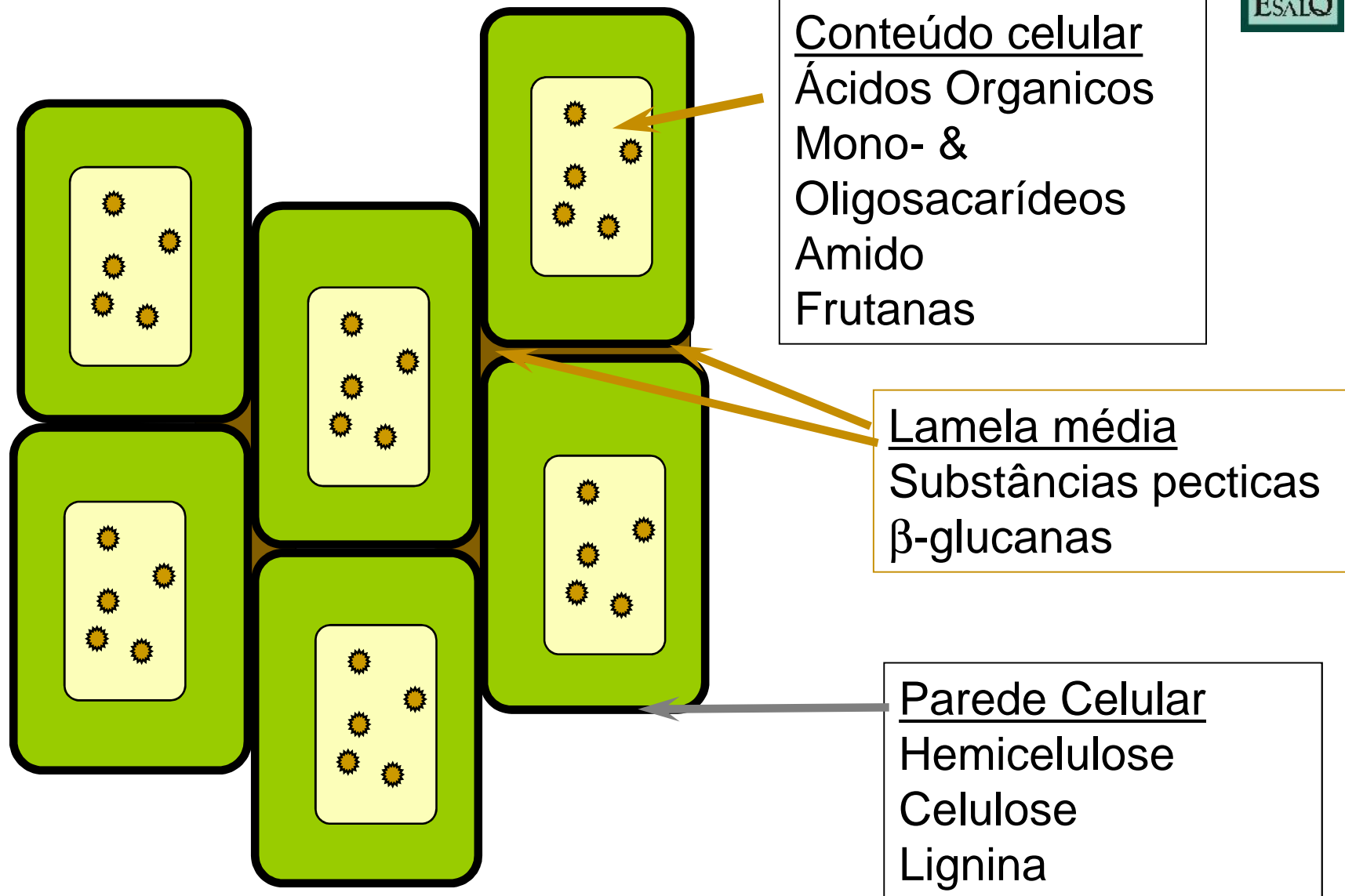
Classificação de acordo com função na planta

- Carboidratos Não Estruturais (CNE)
- Carboidratos Estruturais (CE)

Parede celular x fibra



Estrutura celular das plantas



Carboidratos



Classificação do ponto de vista nutricional

- Carboidratos fibrosos: ocupam espaço, exigem mastigação (celulose e hemicelulose)
- Carboidratos não-fibrosos: mais rapidamente degradados (amido, pectina, açúcares)





Carboidratos estruturais

- Aproveitamento depende de fermentação
 - Fermentação até AGCC
 - >90% da degradação ocorre no rúmen
- Exigência de carboidratos estruturais
 - ruminação, salivação e motilidade ruminal
 - acidose, timpanismo e laminite
- Indegradabilidade da fibra x consumo voluntário
 - limite físico do rúmen





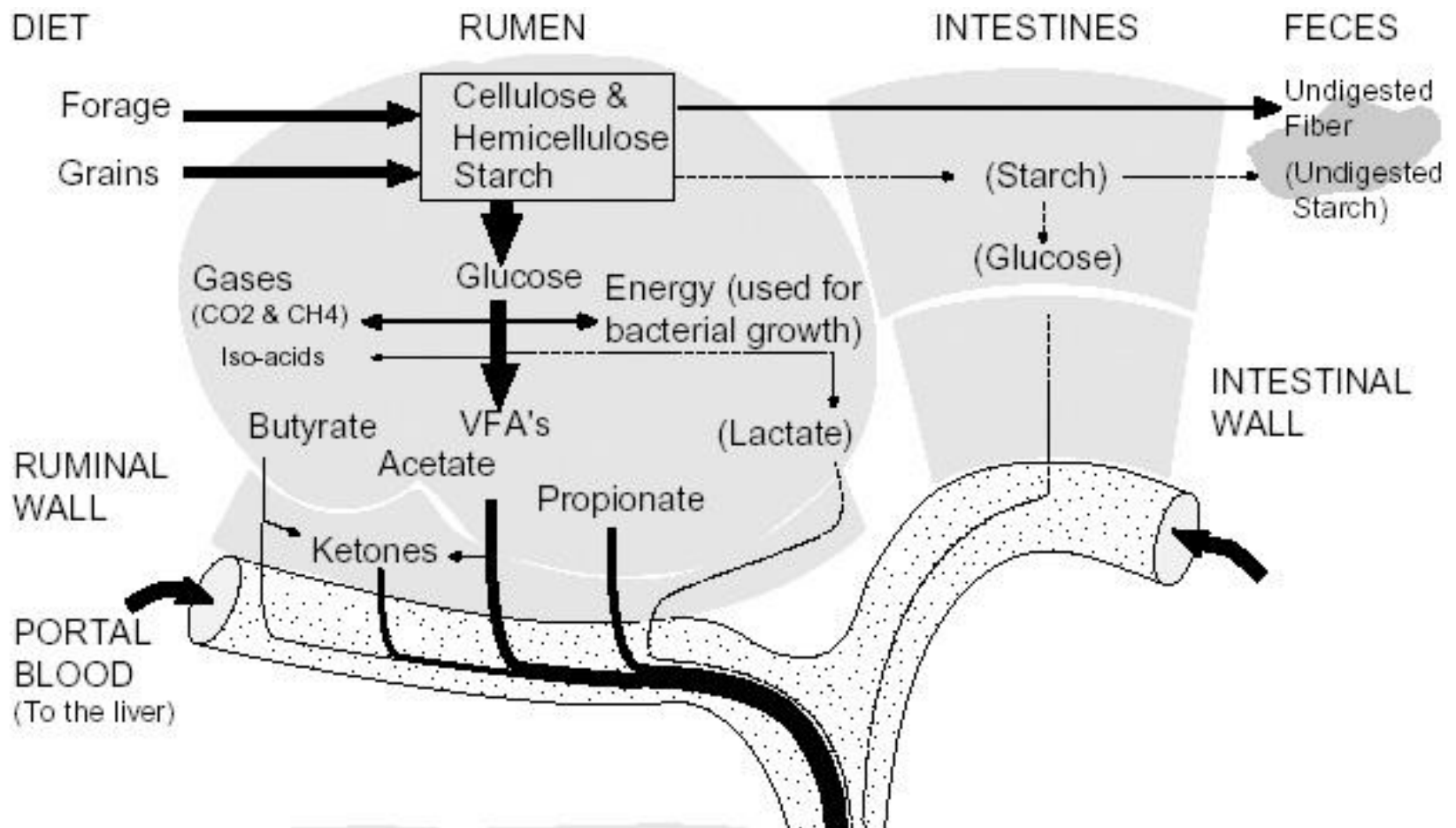
Carboidratos não estruturais

Alta taxa de fermentação

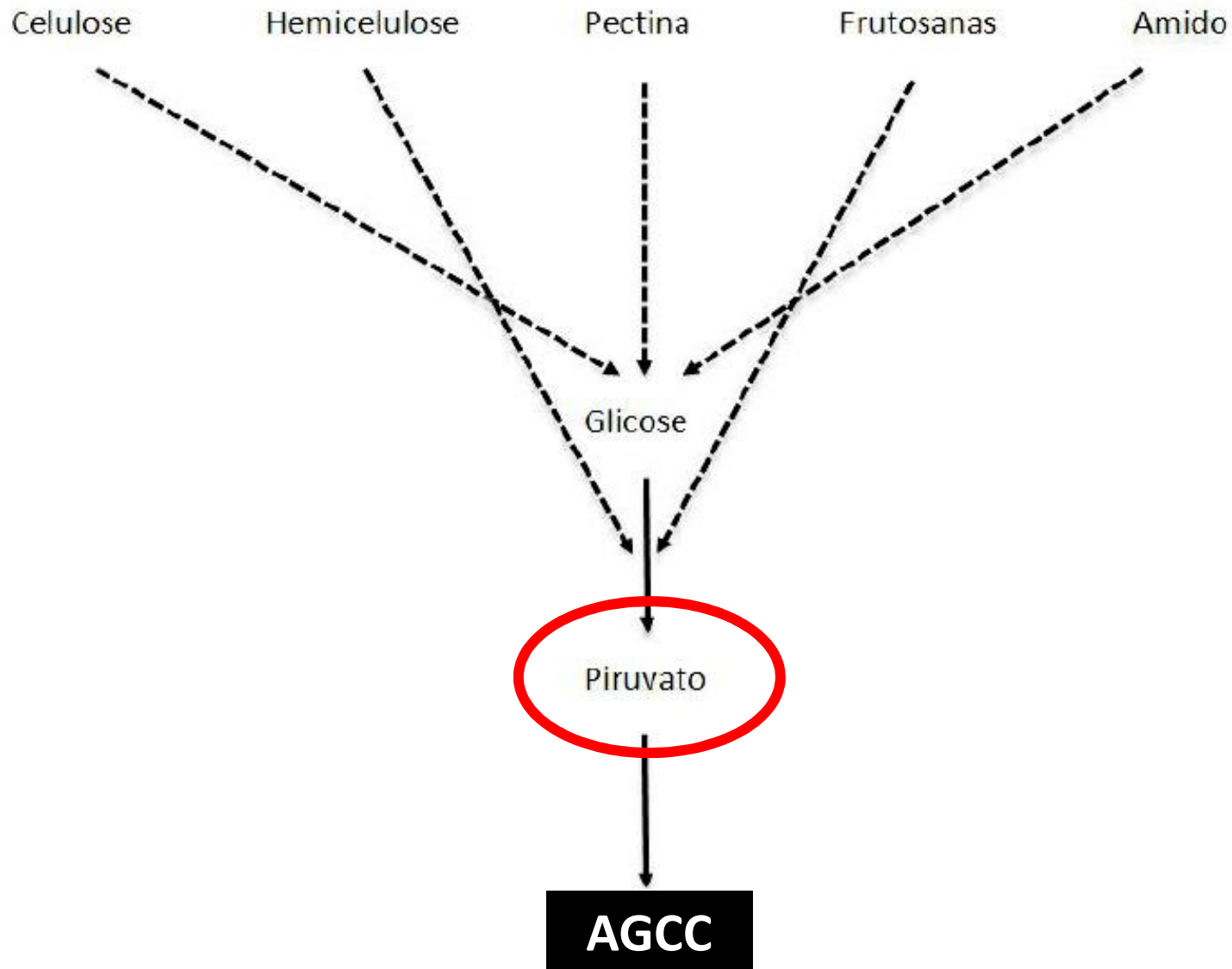
Produção de ácido lático: redução de pH ruminal pode reduzir degradação da fibra



Digestão de Carboidratos



Produção de AGCC



Proporção de ácidos graxos de cadeia longa de acordo com a dieta

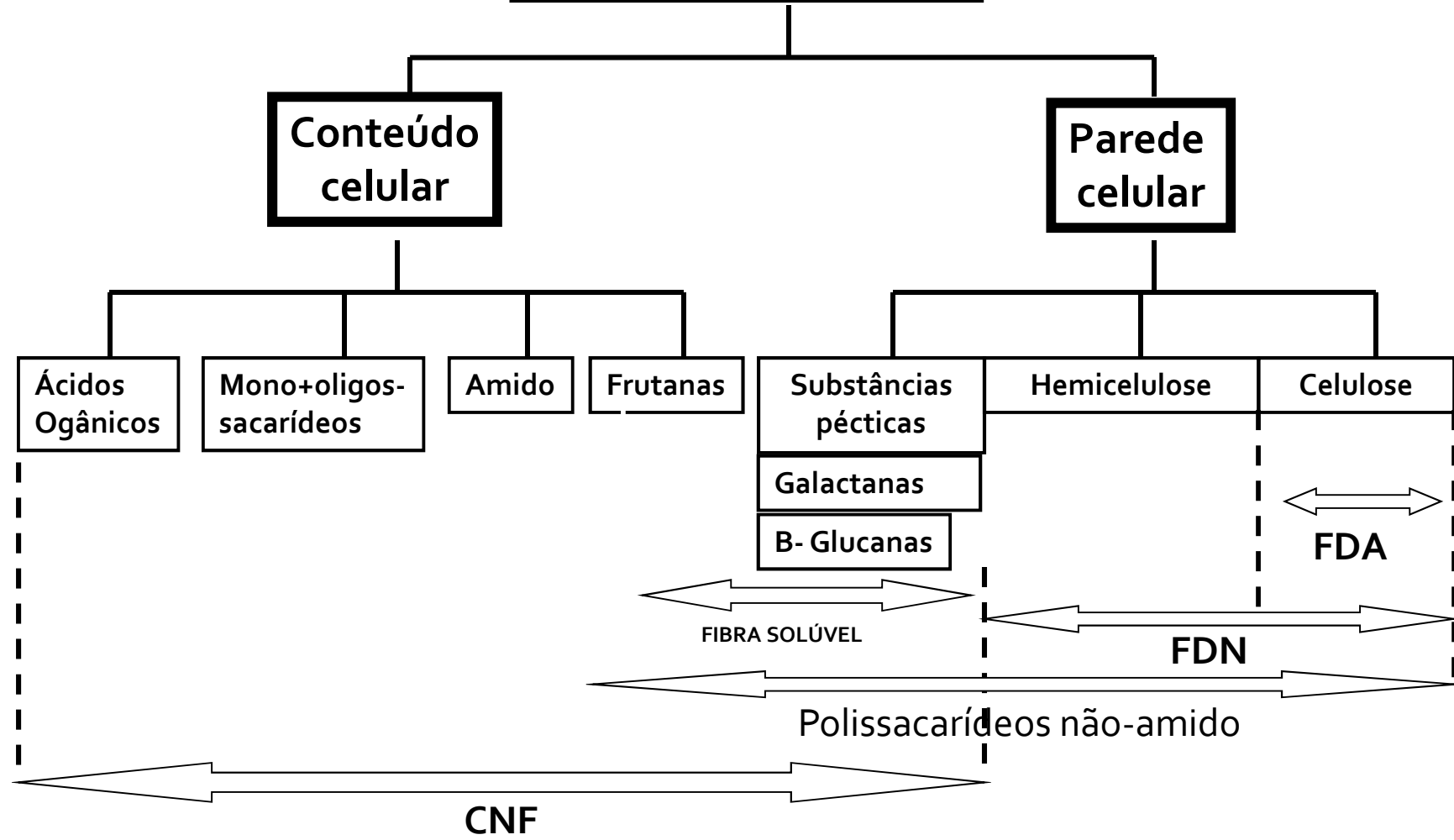


Relação Volumoso: Concentrado	Proporção		
	Acetato	Propionato	Butirato
100:0	71.4	16.0	7.9
75:25	68.2	18.1	8.0
50:50	65.3	18.4	10.4
40:60	59.8	25.9	10.2
20:80	53.6	30.6	10.7

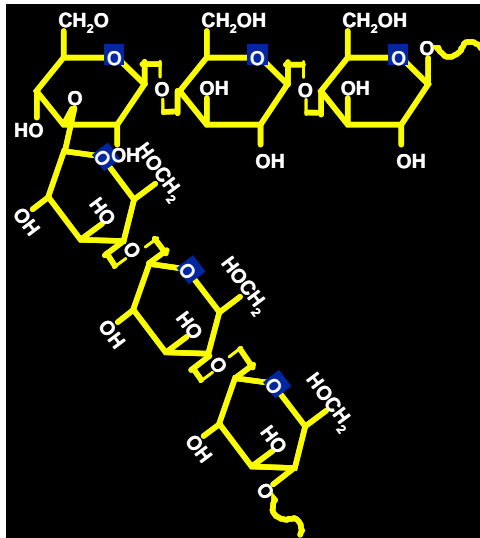




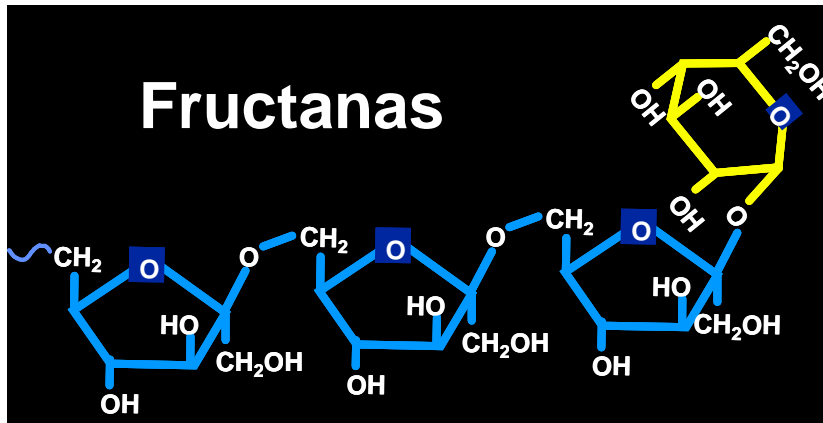
"CHO" DAS PLANTAS



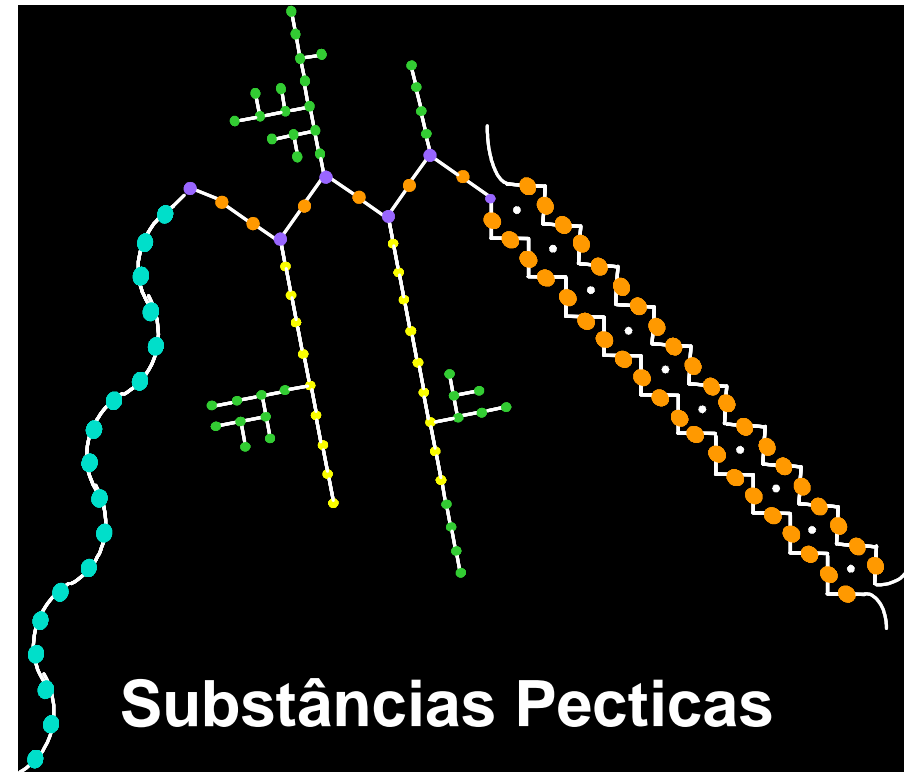
Fibra solúvel: grande diversidade



(1->3)(1->4)-
b-Glucana



Fructanas



Substâncias Pecticas

- Fermentável, mas não digestível por enzimas mamíferas
- Solúveis em detergente neutro

Carboidratos Não Fibrosos



Carboidratos não fibrosos (CNF) são definidos como:

$$\% \text{CNF} = 100 - (\% \text{PB} + \% \text{EE} + \% \text{FDN}_{\text{Livre de PB}} + \% \text{CZ})$$

Onde:

PB = proteína bruta

EE = extrato etéreo

CZ = cinza

$\text{FDN}_{\text{Livre de PB}} = \text{FDN} - \text{N-FDN}$

Observação: O FDN de ser corrigido para cinzas



Polissacarídeos Não Amiláceos Hidrossolúveis

Fazem parte do CNF

Frações não recuperadas (solúveis) no FDN, mas resistentes às enzimas digestivas de mamíferos.

- componentes da parede celular (beta-glucanas, pectinas, etc.), polissacarídeos de reserva, como galactanas, e outros.

Vantagem: fermentação não produz ácido láctico





Relação entre CNF e CNE

$$\text{CNF} = \text{CNE} + \text{PNA hidrossolúveis}$$

Diferença é causada pela pectina e ácidos orgânicos

Gramíneas e seus grãos: CNF ~ açúcares + amido

Alimentos ricos em pectina: CNF > CNE



Carboidratos não fibrosos (CNF) e carboidratos não estruturais (CNE) em vários alimentos



Alimento	CNF*	CNE**
	% MS	
Silagem de alfafa	18,4	7,5
Feno de alfafa	22,0	12,5
Silagem de milho	41,0	34,7
Milho moído	67,5	68,7
Polpa de beterraba	36,2	19,5
Caroço de algodão	10,0	6,4
Cevada, grão	60,7	62,0
Glutenose	17,3	12,0
Casca de soja	14,1	5,3
Farelo de soja, 45%	34,4	17,2

* CNF = 100% MS – (% PB + % EE + %NDFlivre de PB + % CZ)

**CNE determinados conforme o método enzimático (Smith, 1981)

NRC, 2001



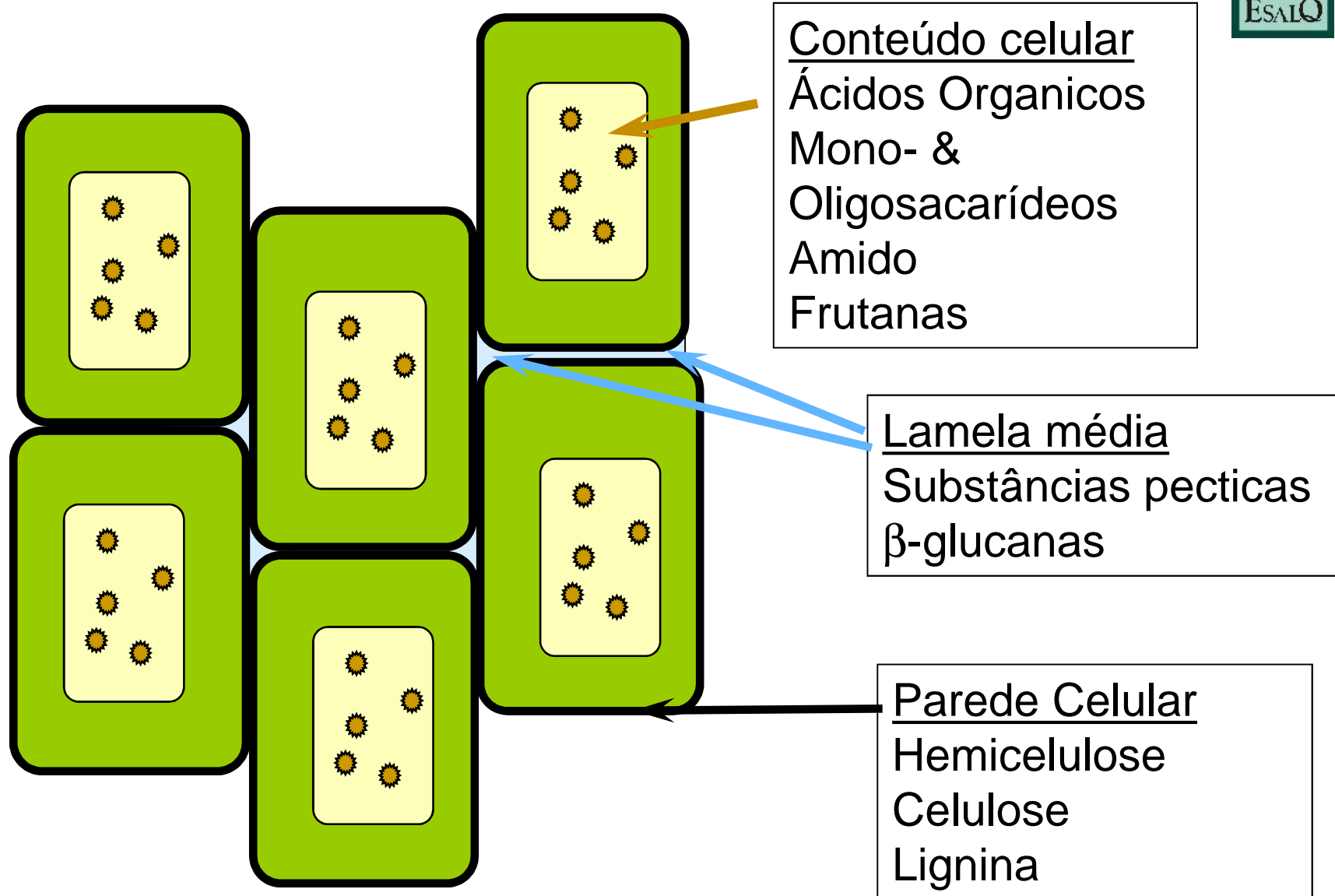
Concentração típica de carboidratos em leguminosas de clima temperado, gramíneas de inverno e gramíneas de verão

Fração	Leguminosa clima temperado	Gramínea inverno	Gramínea verão
g/kg MS			
CNE			
Açúcares solúveis	20-50	30-60	10-50
Amido	10-110	0-20	10-50
Frutanas	-	30-100	-
CE			
Celulose	200-350	150-450	220-400
Hemicelulose	40-170	120-270	250-400
Pectina	40-120	10-20	10-20

Adaptado de Van Soest, 1982



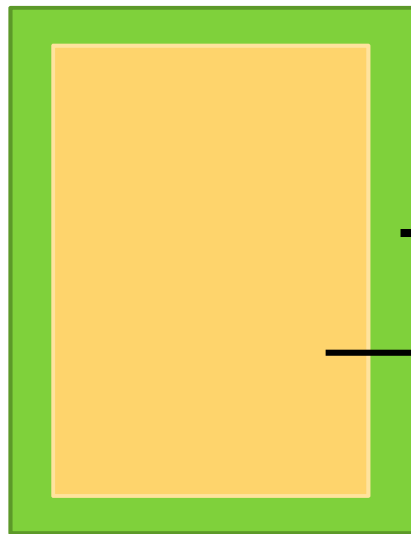
Estrutura celular das plantas



Parede celular

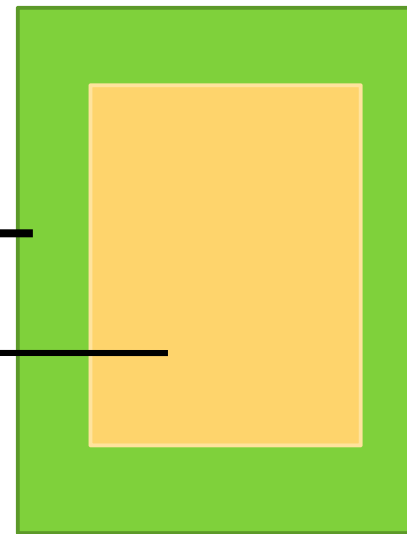


Planta jovem



Baixo FDN = alto consumo
Baixo FDA = alta energia

Planta mais velha



Alto FDN = baixo consumo
Alto FDA = baixa energia

Parece celular

Conteúdo celular

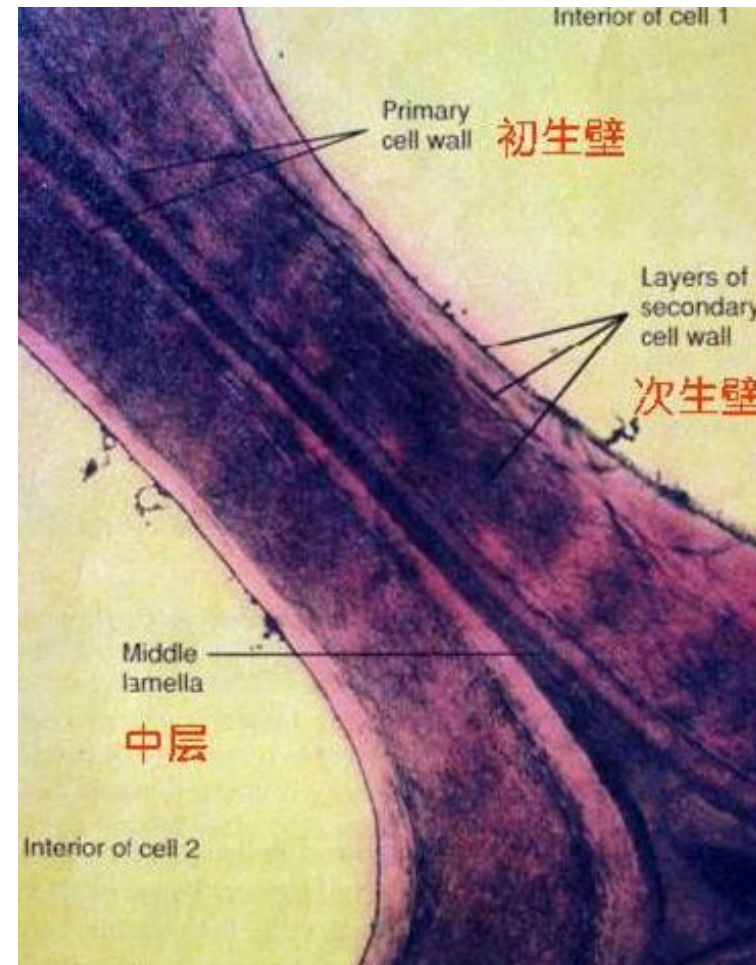
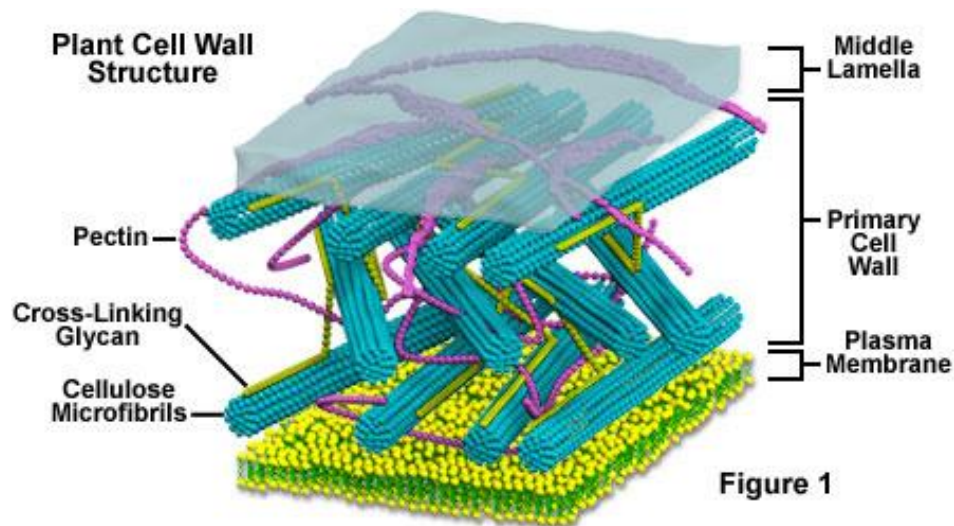


Composição da parede celular

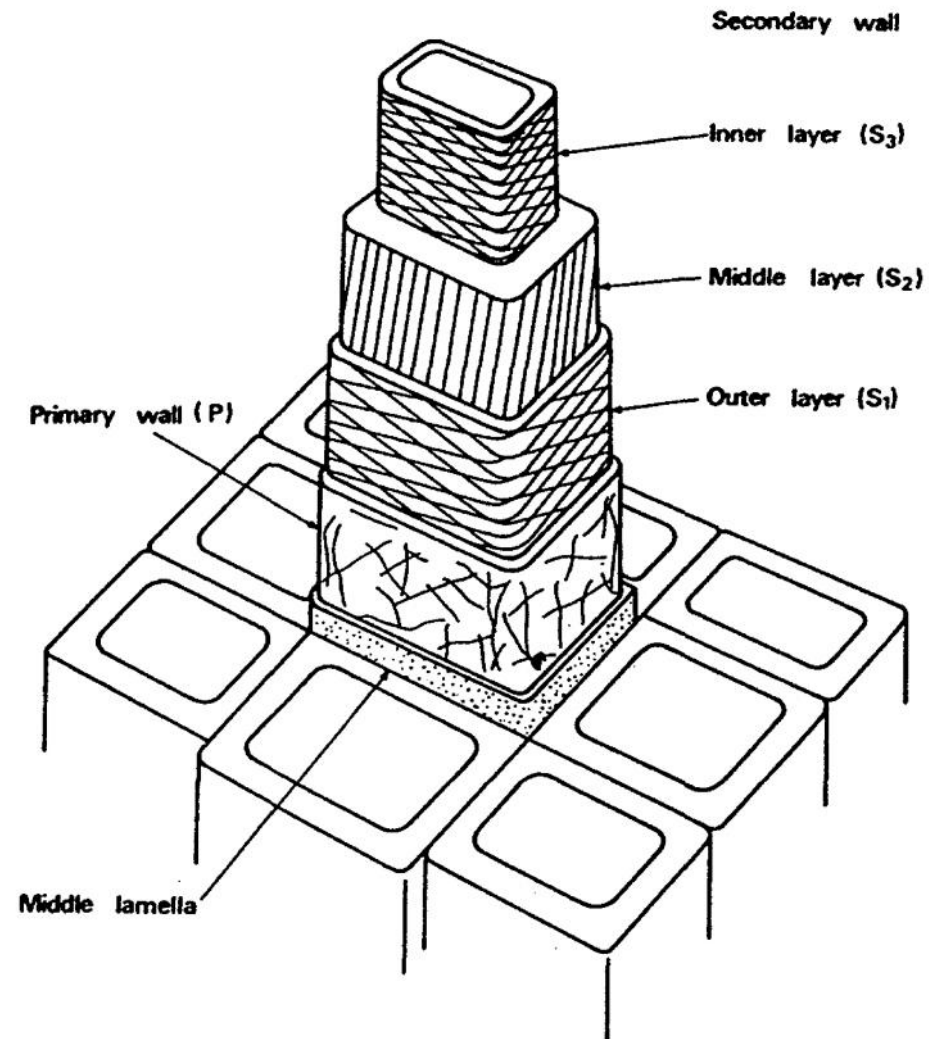


Deposição em camadas

- Lamela média
- Parede celular primária
- Parede celular secundária



Carboidratos estruturais



Composição da parede celular



PC primária: depositada enquanto a célula cresce

- Componentes não estão interligados

PC secundária: quando termina alongação

Fase microfibrilar e matricial



Composição da parede celular



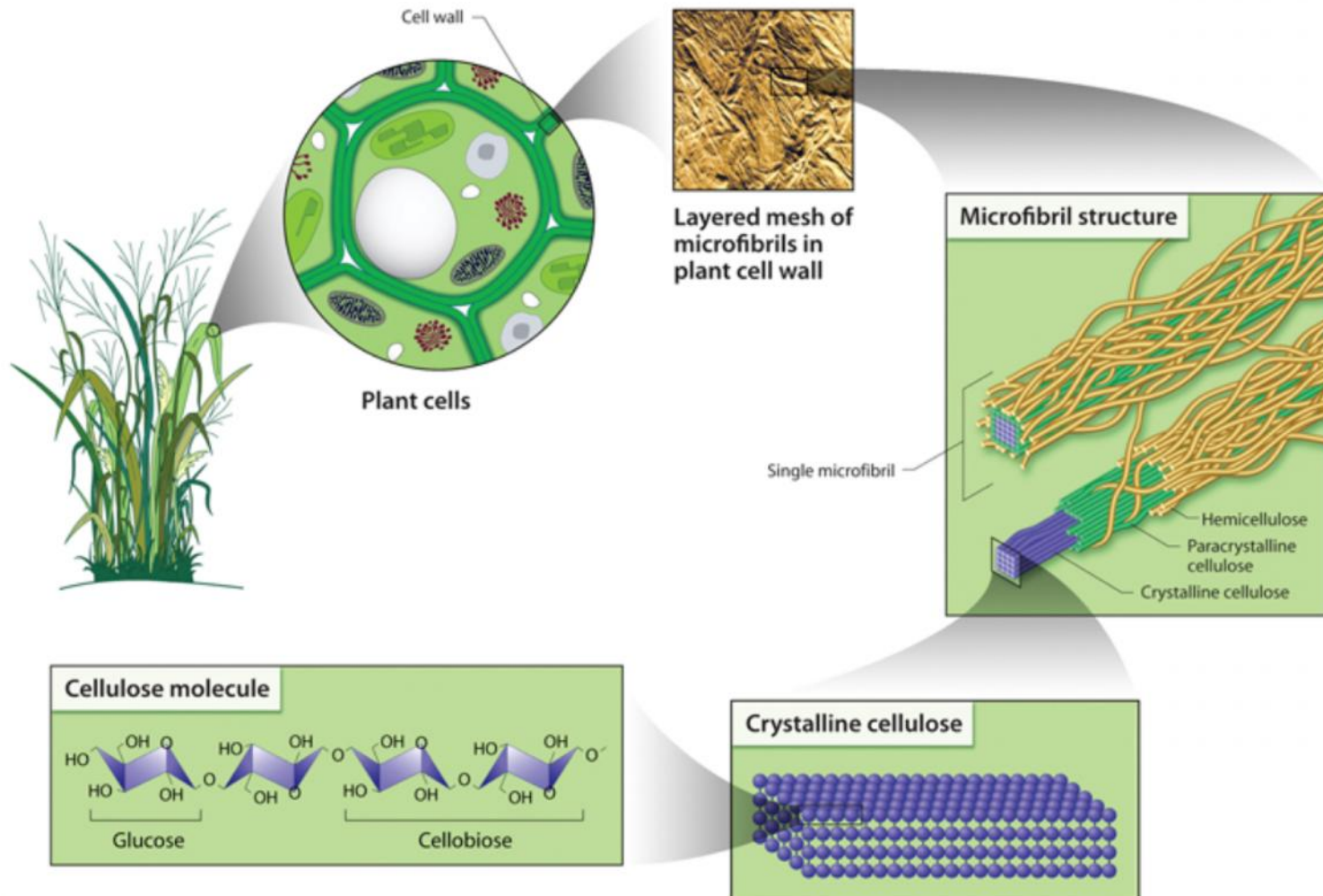
Fase	Componente	Composição
Microfibrilar	Celulose	Celulose
Matricial	Pectinas	Ramnogalacturana I e II, Arabinoxilana , Galactana, Arabinogalactana I, Homogalacturana
	Hemicelulose	Xilana, Glucomanana, Manana, Galactomanana, Xiloglucana, Calose, Beta1,3-, beta1,4-glucana Arabinogalactana II
	Compostos nitrogenados	Extensina Arabinogalactana-proteína Lignina, Ácido ferúlico, Outros (enzimas)



Composição da parede celular



Fase microfibrilar



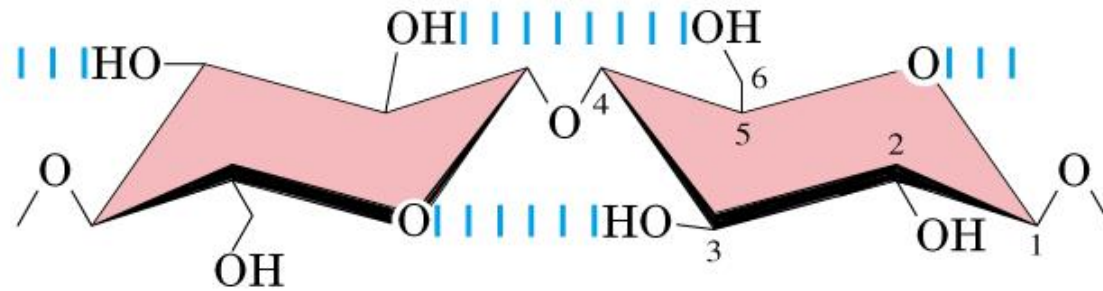


Celulose

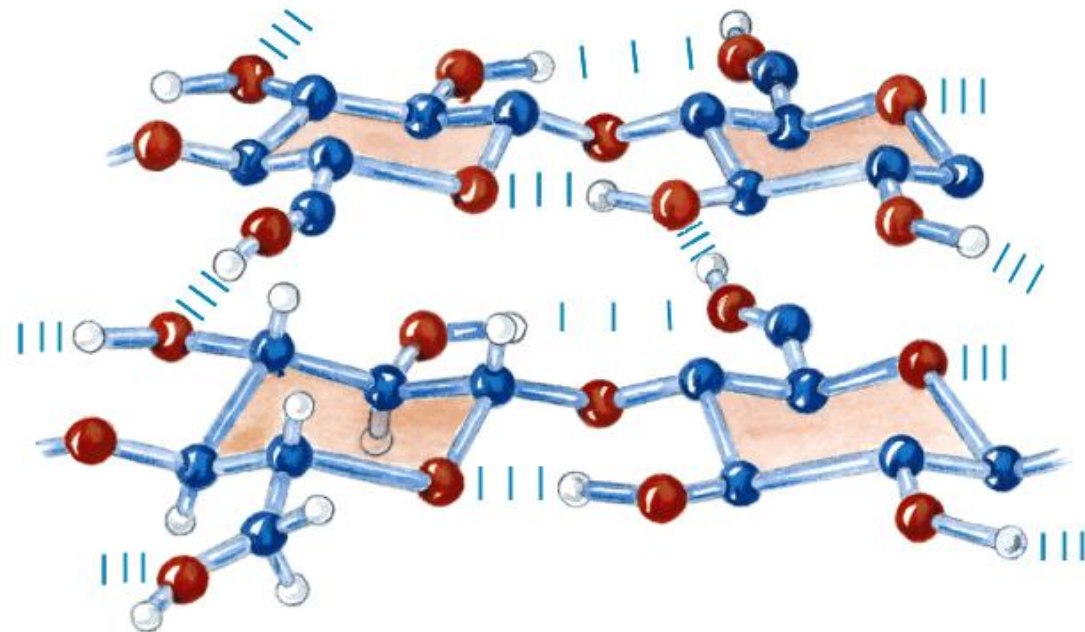
- Cadeia linear de β -D-glicose unidos por ligações glicosídicas (1 4)
- Cadeias individuais reunidas por pontes de H, que dão às plantas fibrosas sua força mecânica
- Os animais não possuem as enzimas celulasas que atacam as ligações



Celulose



(β 1 \rightarrow 4)-linked D-glucose units



Composição da parede celular



Fase matricial

- Não cristalina
- Grande complexidade da estrutura
- Composição variada de acordo com parte da parede, tipo de célula e estágio do ciclo
 - Polissacarídeos, proteínas e compostos fenólicos
- Purificação e extração
 - componentes muito heterogêneos e o estudo de um componente não é representativo do todo

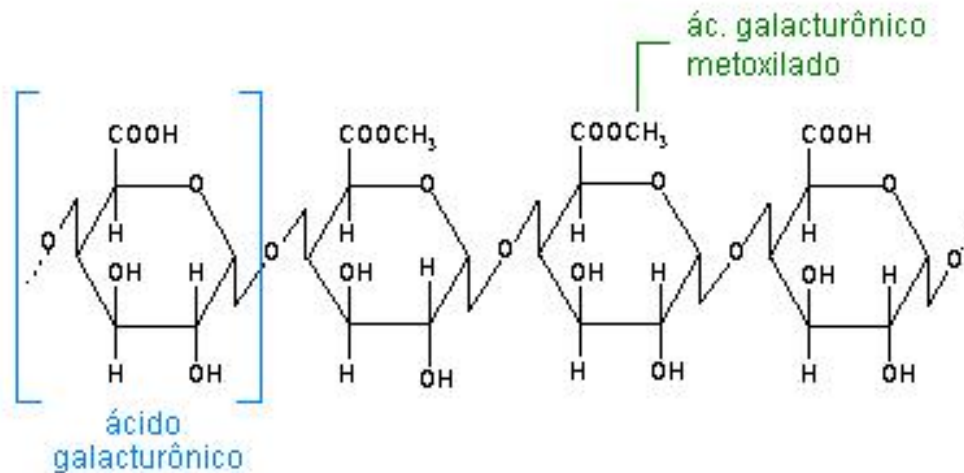


Pectina



Polímeros de ác. Galacturônico esterificados com metanol

Fibra solúvel para ruminantes



Hemiceluloses



Schulze (1891): extraídos com sol. alcalina

Polímeros com no. variados de monossacarídeos (50-200)

- D-xilanas
 - Cadeias de xilose em ligação (1 4) com cadeias laterais de arabinose, arabinose-xilose ou ác. glutâmico
- D-mananas : manose em ligação (1 4)
- D-gluco-D-mananas
 - Glucose e manose em ligações (1 4): relação 2:1

Hemicelulose



- Bastante variável em sua composição
- Predominância de uma hemicelulose
- Cadeia ramificada
- Fase amorfa da matriz

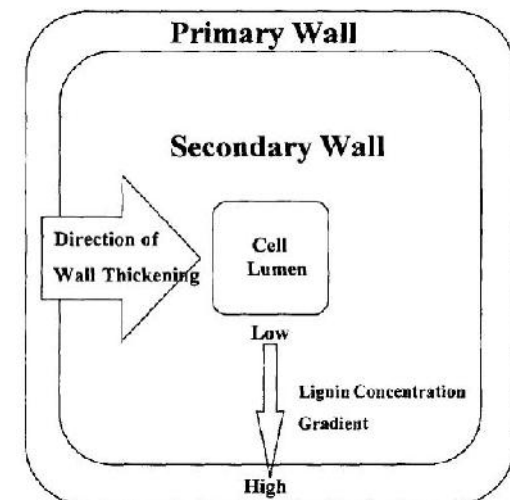


Composição da parede celular

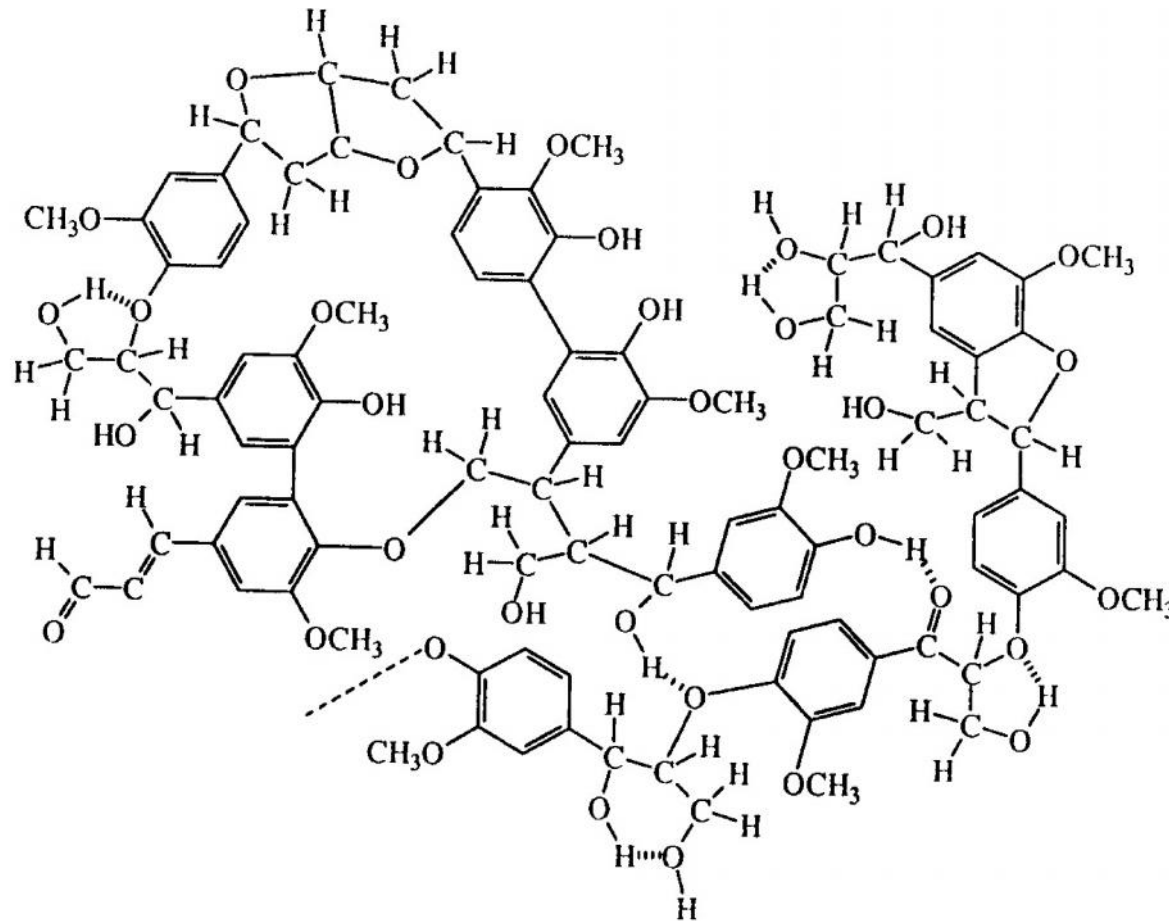


Lignina e compostos fenólicos

- Polímero fenólico, ramificado
- Depósito: após cessar alongação
- Expulsão de água – malha hidrofóbica
- Função:
 - Cimenta e ancora microfibrilas celulósicas
 - Não plástica: enrijecimento



Lignina



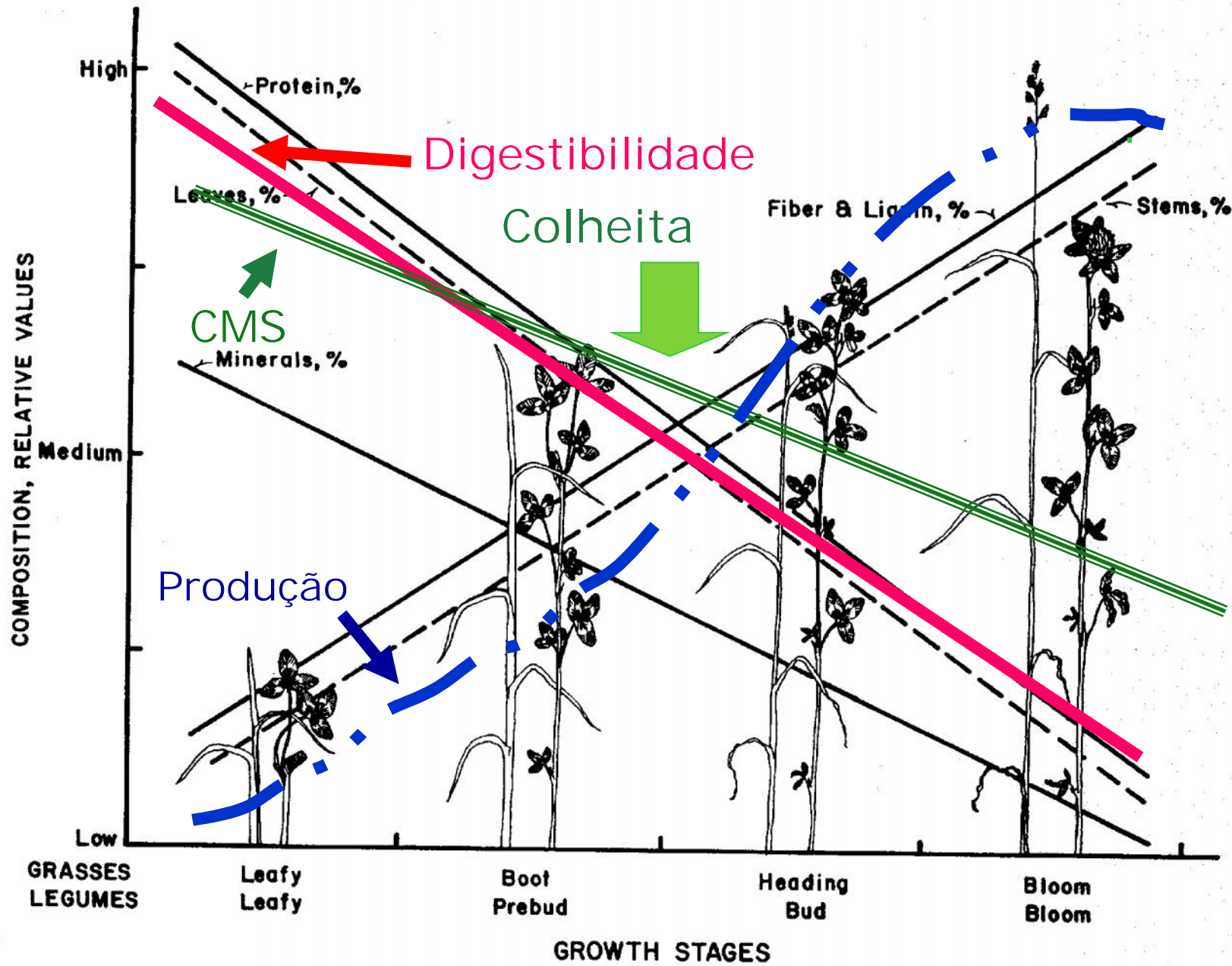
Lignina



Fator limitante para disponibilidade da parede celular

Fracionada em dois tipos de lignina:

- Core
 - principal polímero da lignina
 - mais condensado e mais resistente a degradação
 - considerada mais próxima a lignina verdadeira
- Não core
 - compostos fenólicos extraíveis associados a lignina core
 - ácido ferúlico e ácido p-cumárico são os principais compostos



Qualidade da forragem



% FDN	CMS, % PV	CMS máx., kg MS/d (vaca 500 kg)
<40	>3,0	15
40-46	2,6-3,0	12-15
47-53	2,3-2,5	11,3-12,0
54-60	2,0-2,2	10,0-10,9
61-65	1,8-1,9	9,0-9,5
>65	<1,8	<8,6



Qualidade da forragem



Efeito da idade de corte sobre os teores de PB, FDN, lignina e digestibilidade in vitro da matéria seca (DivMS) em capim-elefante

Idade de corte	PB (%)	FDN(%)	Lignina(%)	DivMS (%)
40	11,63	67,50	3,51	65,86
60	10,67	67,66	3,36	61,83
80	9,02	70,72	4,87	57,31
100	8,01	73,51	5,61	50,13
120	8,07	72,12	6,06	48,05

Qualidade de forragem



Parâmetro	Avaliação		
	Excelente	Bom	Ruim
PB %	>16	12 – 16	< 12
FDA %	< 32	32 – 40	> 40
FDN %	< 50	50 – 65	> 65
NDT %	> 60	50 – 60	< 50



Carboidratos Estruturais

Diferem em degradabilidade

- Celulose: 25-90% degradabilidade
- Hemicelulose : 45-90% de degradabilidade
- Pectina: 100% de degradabilidade ruminal
- Lignina: Responsável pela indegradabilidade da celulose e hemicelulose (não é carboidrato!!)





Determinação de CE

Determinação de fibra bruta

- Henneberg & Stohmann, 1859

Sistema de detergentes de Van Soest

- Solução de **Detergente Neutro**
 - Resíduo: Celulose, hemicelulose, lignina e cinzas
- Solução de **Detergente Ácido**
 - Resíduo: Celulose, lignina e cinzas





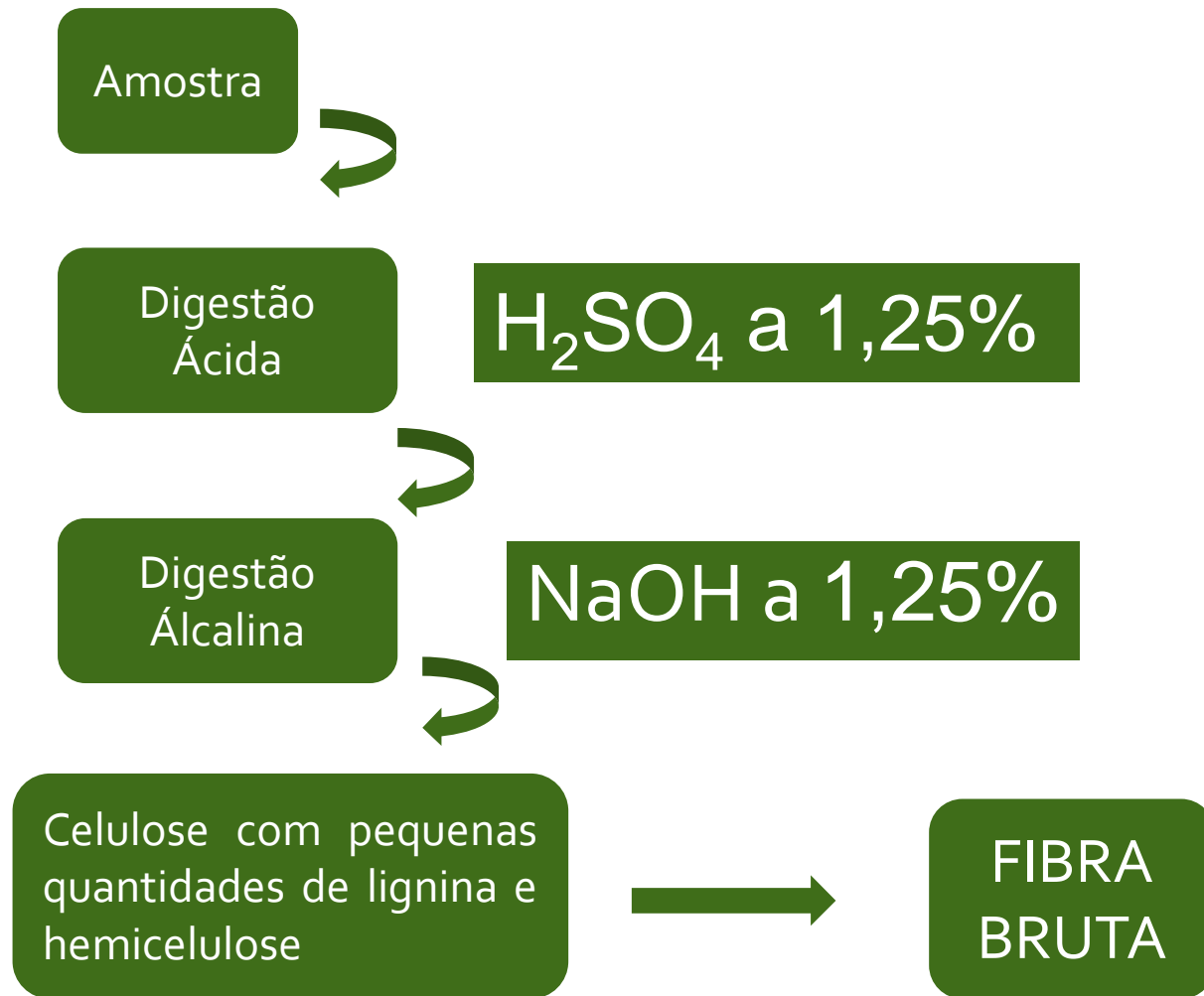
Fibra Bruta

AOAC

- 962.09: alimentos para animais estimação
método com filtro de cerâmica
- 978.10: cadinho filtrante



Determinação de Fibra Bruta



FIBRA BRUTA



Procedimento

Pese em torno de 1,0 g de amostra em Becker

Adicione 100 mL de H_2SO_4 a 1,25% e leve a fervura lenta (30 min)

Faça a filtração com o auxílio de funil de Buchner lavando com água

Transfira o resíduo para o Becker com com 100 mL de NaOH a 1,25%.

Faça a filtração em cadinho de Gooch previamente pesado

Lave o resíduo com água destilada quente por três vezes

Leve o cadinho para a estufa a $^{\circ}\text{C}$ por 3 horas

Deixe esfriar em dessecador e pese o cadinho

Leve o cadinho a mufla (1 hora a 550°C)

Deixe esfriar em dessecador e pese o cadinho novamente.

Van Soest x Weende



VAN SOEST	Componentes da forragem			WEENDE
	Nitrogenados	Não-nitrogenados		
↑ CONTEÚDO CELULAR (solúvel em detergente neutro)	Proteína solúvel NNP	Gorduras Solúveis em água amido pectina		Extrato Etéreo
↓ PAREDE CELULAR (fibra em detergente neutro)	Solúvel deterg. Ácido LIGNOCELULOSE (fibra em detergente ácido)	proteína insolúvel Nitrogênio lignificado	HEMICELULOSE LIGNINA (sol. em álcali)	Extrato Não Nitrogenado
↓	↓		LIGNINA (insolúvel)	↓ Fibra Bruta
			CELULOSE	↓

Van Soest e Moore (1966)



Teor de fibra de acordo com o método de análise

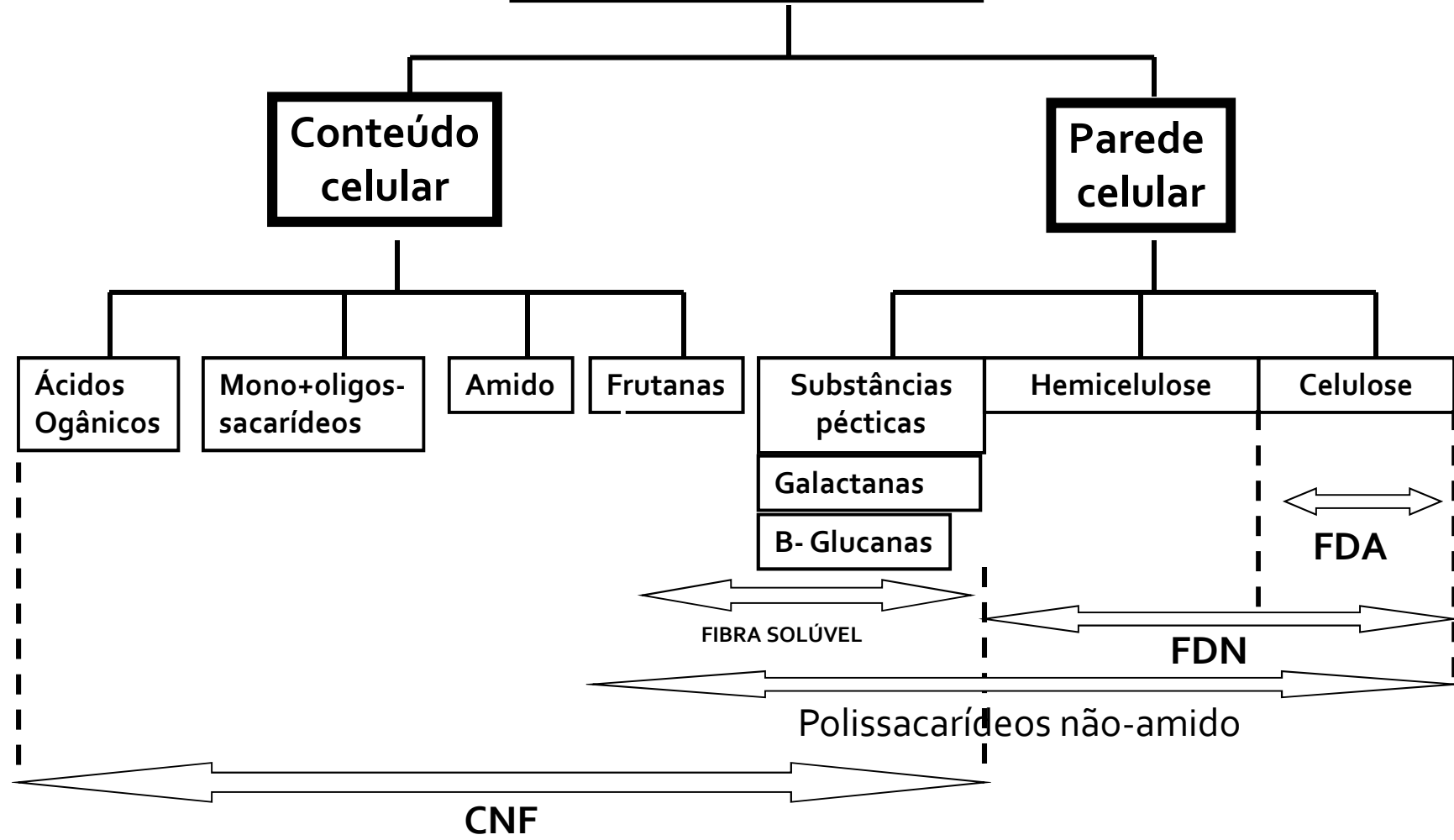


Alimento	FB, % MS	FDN, % MS	FDA, % MS
Silagem de milho	22,74	44,04	26,50
Silagem de milho 2	28,52	58,68	34,44
Silagem de sorgo	28,17	50,28	27,22
Feno tifton	37,82	76,78	37,97
Feno	36,97	74,09	38,93
Mombaça	43,04	74,32	Não analisado
Palha	45,64	80,26	Não analisado
Cevada grão	9,55	30,43	9,51
Milho grão	3,58	17,4	5,93
Gérmen de milho	3,55	8,09	Não analisado
Casca soja	32,13	49,93	36,25

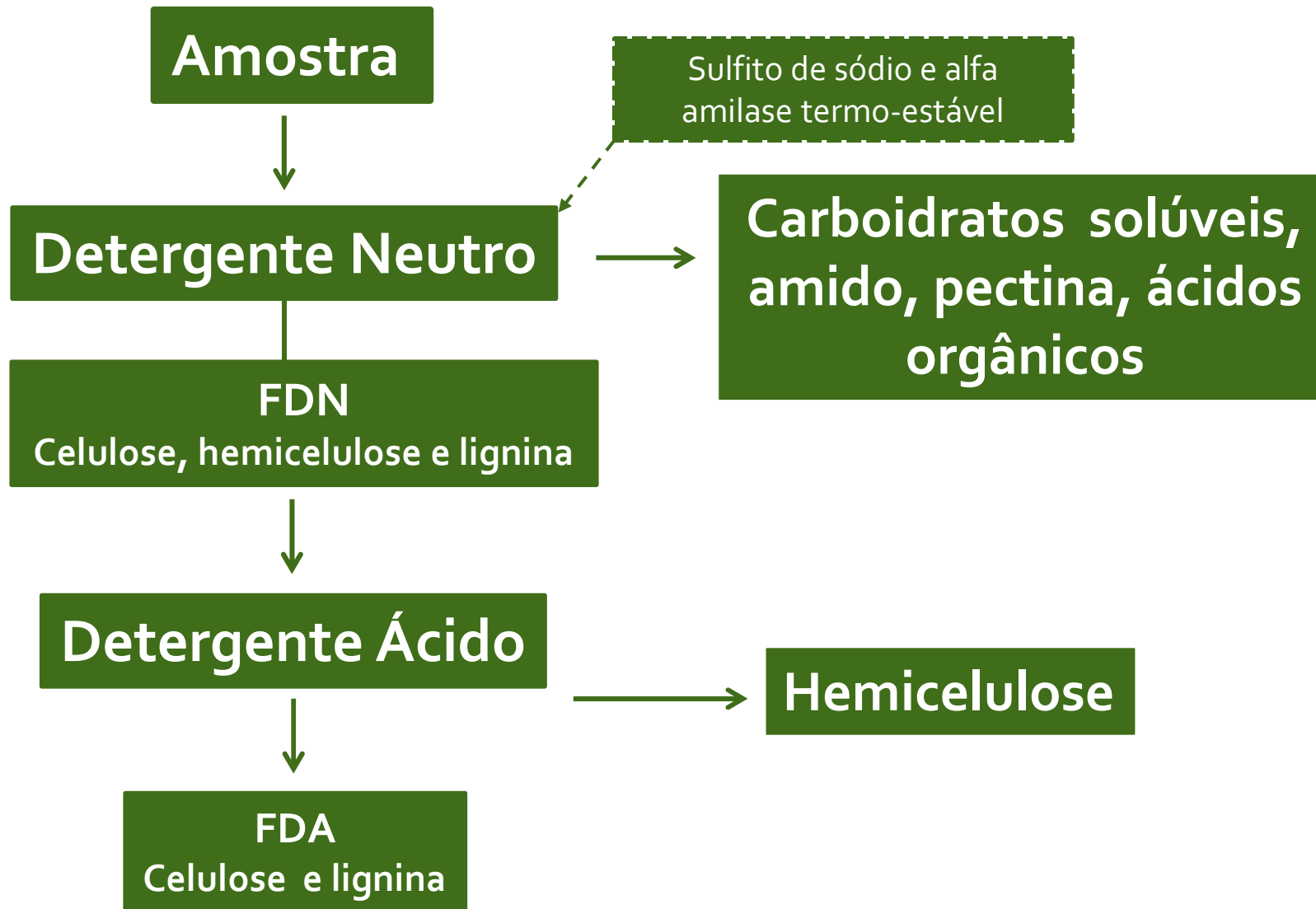
Laboratório de Bromatologia, ESALQ/USP



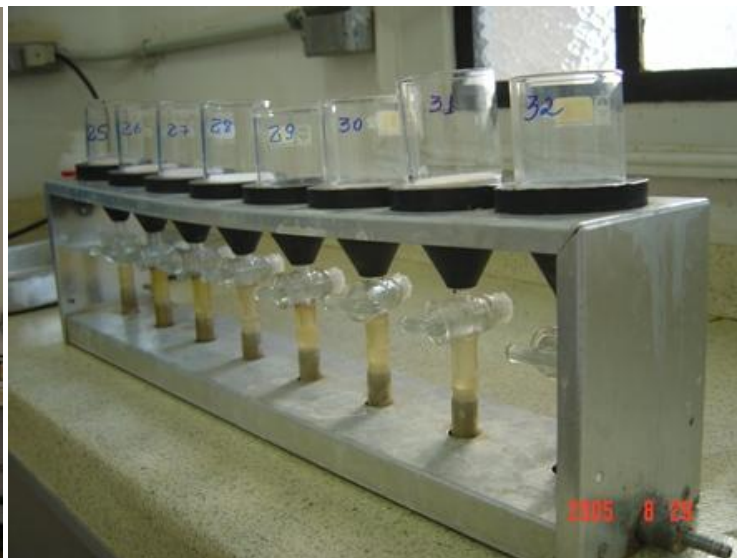
"CHO" DAS PLANTAS



Método de Van Soest



Sistema Detergente – Van Soest





FDA

Análise preparatória

- Lignina
- N-FDA
- Cinza insolúvel em detergente ácido

Predição de digestibilidade (?)

$NDF - ADF = \text{Hemicelulose}$



Limitações



Alimentos de origem animal

- Sistema detergente desenvolvido para forragens:
 - Valores irreais para subprodutos de origem animal

Alimentos com alta pectina: FDA > FDN

Amido e proteínas podem contaminar FDN



Particularidades



Uso de α -amilase

Uso de sulfito de sódio

- Opcional (Van Soest et al., 1991)
- Não utilizar quando se faz análise FDN para N-FDN

Interferência de lipídeos:

- Amostras com EE > 10%
- Camada de óleo
- Amostra desengordurada



Sistema Ankom



Condição homogênea de digestão e filtragem

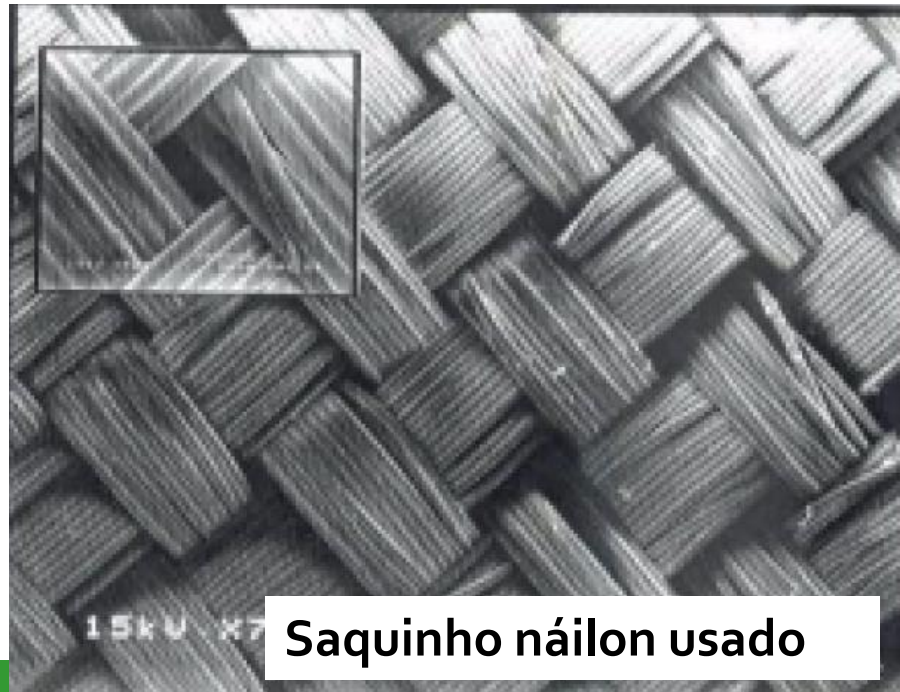
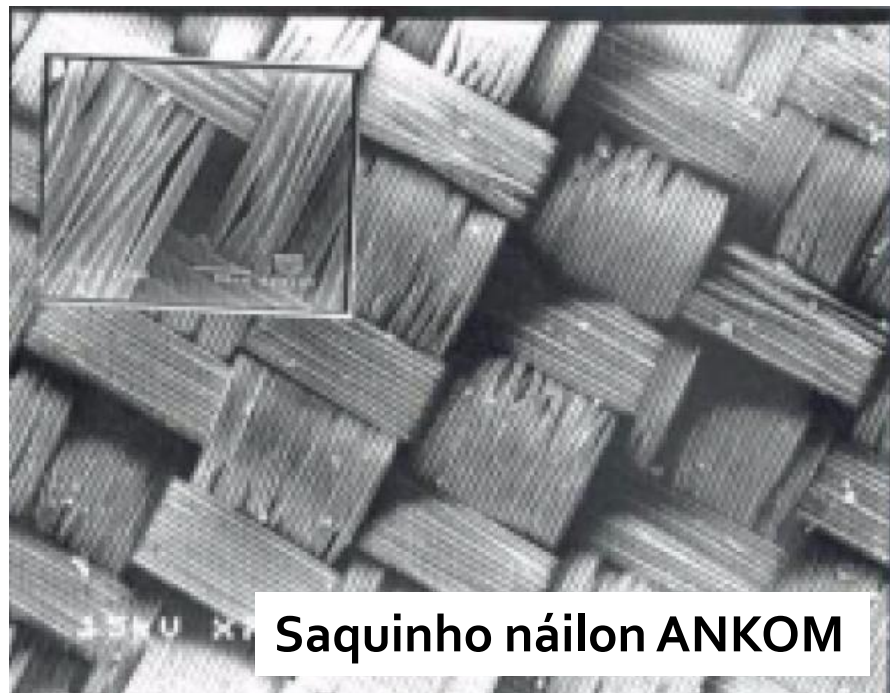
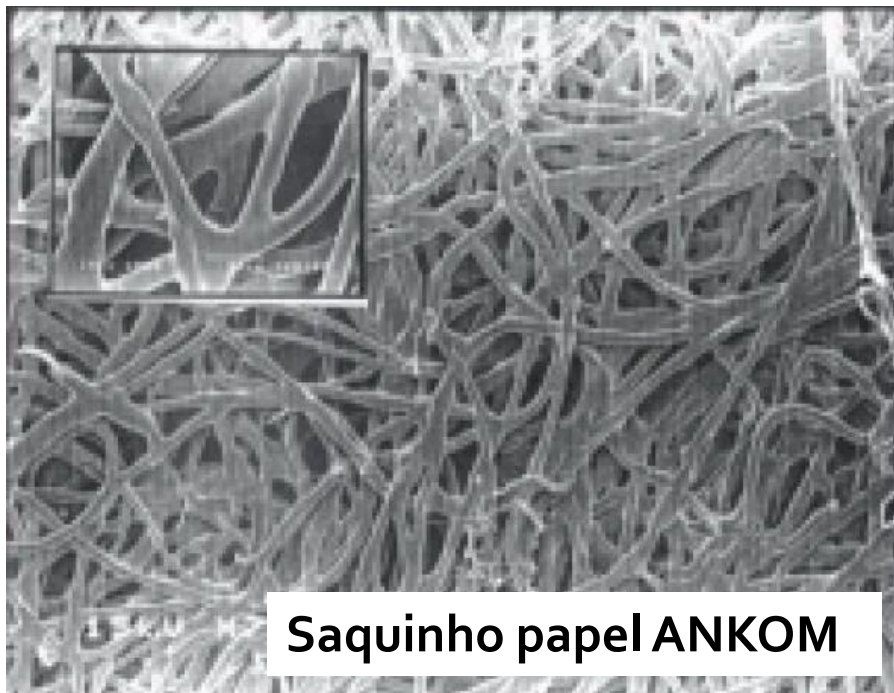
Realização de maior número de análises

Material do saquinho e aparelhos adaptados



Sistema Ankom







Sistema Ankom

Tabela 1 - Valores médios de FDN nos diferentes materiais, obtidos pelo equipamento ANKOM com diferentes saquinhos e pelo método convencional

Table 1 - Mean values of NDF for different materials, determined by ANKOM system, with different bags and by conventional system

Sistema/Saco System/Bag	% FDN %NDF					CV (%)
	Cana-de-açúcar <i>Sugar cane</i>	Capim-braquiária <i>Brachiaria grass</i>	Silagem de milho <i>Corn silage</i>	Polpa cítrica <i>Citrus pulp</i>	Fezes de bovinos <i>Cattle feces</i>	
ANKOM/SPA <i>Ankon/PBA</i>	58,59 ^A	59,26 ^A	53,79 ^A	18,40 ^A	60,86 ^{AB}	2,81
ANKOM/SNA <i>Ankon/NBA</i>	57,72 ^A	57,79 ^A	48,41 ^A	19,00 ^A	54,28 ^{BC}	3,84
ANKOM/SNN <i>Ankon/NNB</i>	58,72 ^A	59,82 ^A	49,63 ^A	20,20 ^A	55,43 ^{ABC}	4,18
ANKOM/SNU <i>Ankon/UNB</i>	59,00 ^A	58,39 ^A	46,51 ^{AB}	19,37 ^A	53,72 ^C	5,68
Convencional <i>Conventional</i>	59,40 ^A	57,47 ^A	47,35 ^{AB}	19,68 ^A	61,12 ^A	1,14
CV (%)	3,00	1,61	4,93	3,74	4,28	

Médias, nas colunas, seguidas de letras diferentes, diferem ($P < 0,05$) pelo teste Tukey.

Means in the same column followed by different letters differ ($P < 0.05$) by Tukey test.

SPA - saquinho de papel ANKOM (PBA - pattern bag ANKOM).

SNA - saquinho de náilon ANKOM (NBA - nylon bag ANKOM).

SNN - saquinho de náilon novo (NNB - new nylon bag).

SNU - saquinho de náilon usado (UNB - used nylon bag).

Sistema Ankom



Tabela 2 - Valores médios de FDA nos diferentes materiais, obtidos no Equipamento ANKOM com diferentes saquinhos e pelo método convencional

Table 2 - Average values of ADF for different materials determined by ANKOM system with different bags and by conventional system

Sistema/Saco System/Bag	% FDN					CV (%)
	Cana-de-açúcar Sugar cane	Capim-braquiária Brachiaria grass	Silagem de milho Corn silage	Polpa cítrica Citrus pulp	Fezes de bovinos Cattle feces	
ANKOM/SPA <i>Ankon/PBA</i>	34,39 ^A	24,13 ^B	25,59 ^A	12,00 ^B	31,86 ^B	4,00
ANKOM/SNA <i>Ankon/NBA</i>	34,11 ^A	24,18 ^B	25,62 ^A	12,85 ^B	25,84 ^{Bc}	4,09
ANKOM/SNN <i>Ankon/NNB</i>	34,63 ^A	24,90 ^{AB}	26,21 ^A	13,25 ^B	27,83 ^{Bc}	4,16
ANKOM/SNU <i>Ankon/UNB</i>	34,62 ^A	24,25 ^B	24,46 ^A	12,92 ^B	24,75 ^C	7,02
Convencional <i>Conventional</i>	36,14 ^A	26,35 ^A	26,24 ^A	21,77 ^A	40,28 ^A	4,11
CV (%)	5,14	2,20	6,67	3,24	7,36	

Médias, nas colunas, seguidas de letras diferentes, diferem ($P < 0,05$) pelo teste Tukey.

Means in the same column followed by different letters differ ($P < 0,05$) by Tukey test.

SPA - saquinho de papel ANKOM (PBA - pattern bag ANKOM).

SNA - saquinho de náilon ANKOM (NBA - naylor bag ANKOM).

SNN - saquinho de náilon novo (NNB - new naylor bag).

SNU - saquinho de náilon usado (UNB - used naylor bag).



Determinação de Lignina

Lignina Klason

- Contaminação com proteína

Cromatografia e espectrofotometria

- Padrão ?

Lignina ácida



Determinação de Lignina



Metodologias usuais

- lignina via ácido sulfúrico e via permanganato

Lignina ácida: Rápida e “barata”

Baixa repetibilidade

Digestão do resíduo do FDA em solução de ácido sulfúrico 72%

Condições da análises, como temperatura do ambiente e da reação são críticas no resultado



Bibliografia



SYMPOSIUM: CARBOHYDRATE METHODOLOGY, METABOLISM, AND NUTRITIONAL IMPLICATIONS IN DAIRY CATTLE

Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition

P. J. VAN SOEST, J. B. ROBERTSON, and B. A. LEWIS
Cornell University
Department of Animal Science and
Division of Nutritional Sciences
Ithaca, NY

Journal of Dairy Science, 1991, v. 74, p. 3583-3597

