

NOVAS PROPOSTAS PARA DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS SOLÚVEIS

TIARLES MOREIRA MADRIL¹; LÉSTER AMORIM PINHEIRO²;
RUDOLF BRAND SCHEIBLER³; GIULIANO ORLANDI SUZIN⁴; JORGE
SCHAFHÄUSER JUNIOR⁵

¹Graduando em Zootecnia - UFPel – tiarlesmadril96@gmail.com

²Mestrando no CMPCTA - UFPel – lester.pinheiro@embrapa.br;

³Doutorando no PPGZ - UFPel – rudolf_brand@hotmail.com;

⁴Mestrando no PPGZ - UFPel – giuliano.suzin@gmail.com;

⁵Pesquisador - EMBRAPA Clima Temperado – jorge.junior@embrapa.br

1. INTRODUÇÃO

Carboidratos são considerados a base da nutrição animal, pela sua alta concentração de energia, logo, mostram-se como a principal fonte energética para ruminantes. Estes são nutricionalmente classificados em fibrosos (CF) e não fibrosos (CNF). Os CF são representados pela celulose e hemicelulose, os quais apresentam taxa de degradação lenta, e os CNF representados por açucares solúveis, amido e pectina, sendo sua degradabilidade, em nível ruminal, alta e pouco variável entre os diferentes alimentos (MERTENS 1996).

O feno de alfafa é um volumoso que apresenta-se como importante fonte proteica para ruminantes, sendo que também tem seus carboidratos utilizados pela microbiota ruminal, deste modo, é de grande importância ter o conhecimento sobre a qualidade nutricional deste componente do alimento (LIZIEIRE et al. 2002).

Objetivando uma maior precisão quanto ao fornecimento destes carboidratos na dieta, faz-se necessário realizar análises bromatológicas dos alimentos, e que, quanto a esta categoria, possui um método considerado “tradicional” e mais usado em artigos científicos, que é o método de extração citado por HALL (2000), o qual utiliza como principal componente Etanol 80%.

Devido ao tempo necessário para o processo de análise, a disponibilidade e custos de reagentes, alguns autores acabam realizando adaptações dos métodos de análise, sem que haja uma confirmação preliminar da real funcionalidade e acurácia do mesmo.

Seguindo esta linha de pensamento, o presente trabalho objetiva a comparação e avaliação do método citado por HALL (2000) para análise de CHO, com adaptações que buscam um melhor aproveitamento de tempo e recursos disponíveis nos laboratórios de bromatologia.

2. METODOLOGIA

A amostra utilizada neste experimento foi feno de alfafa, de composição proximal: Matéria seca: 84,89 %, Proteína Bruta: 19,83 %, Fibra em detergente neutro: 57,57 %, Fibra em detergente ácido: 48,80 % e Cinzas: 6,39 %.

As avaliações foram executadas no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal da Embrapa Clima Temperado, cuja amostra estudada nesse experimento é utilizada como padrão interno para execução de testes e validação de técnicas.

Para a avaliação de Carboidratos solúveis descrita por HALL (2000) realizou-se a pré-secagem do material em estufa de ar forçado com temperatura de 55°C de 48 a 72 horas, após isso, a amostra foi moída a 1 mm, utilizando um

moinho tipo Willey, pesou-se 250 mg de amostra em *Erlenmeyer* de 125 ml, adicionou-se 50 ml de álcool 80% cobrindo com papel laminado, deixando sob agitação lenta por 4 horas. Após esse período filtrou-se com papel filtro 541 *Whatman*, utilizando um funil, em um balão volumétrico de 100 ml, lavando o funil e o *Erlenmeyer* com etanol 80% até completar o volume. A etapa seguinte consistiu em retirar da amostra uma alíquota de 0,5 ml num tubo de ensaio, colocar 0,5 ml de Fenol 5% e 2,5 ml de ácido sulfúrico concentrado diretamente sobre o líquido, misturar em agitador mecânico tipo vortex e deixar em repouso por 60 minutos. A leitura ocorreu em espectrofotômetro, em absorbância, utilizando o comprimento de onda de 490 nm.

As adaptações sugeridas por esse trabalho estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Adaptações propostas.

Metodologia	Hall (2000)	Adaptação 01	Adaptação 02	Adaptação 03
Quantidade de reagente	50 ml álcool 80%	50 ml álcool 80%	30 ml álcool 80%	30 ml álcool 80%
Tempo de extração	4 horas com agitação	Overnight sem agitação	4 horas com agitação	Overnight sem agitação

As alterações foram baseadas na economia de 40% do principal reagente utilizado na extração, e na diminuição de tempo útil no laboratório, tendo em vista as grandes quantidades de amostras a serem analisadas nos experimentos em nutrição animal.

Foram realizadas seis repetições para cada teste. Os resultados foram comparados por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, a 5% de significância ($p < 0,05$) utilizando o programa Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho podem ser observados nas Tabelas 2 e 3. Apenas a adaptação 02 não diferiu significativamente da técnica sugerida por Hall (2000).

Tabela 2. Teores de carboidratos solúveis em feno de alfafa.

Métodos comparados	Médias	C.V.
Hall	5,719270 ^a	2,074751
Adaptação 01	5,339718 ^b	2,428271
Adaptação 02	5,562391 ^{ab}	4,600508
Adaptação 03	5,420250 ^b	1,314549

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5% de significância do teste Tukey.

Em trabalho visando avaliar a resposta de cabras leiteiras em lactação, BOMFIM (2003), encontrou teores médios de 5,13% de açúcares solúveis em feno de alfafa, utilizando a técnica descrita por HALL (2000). Valores esses similares aos encontrados no presente trabalho.

A ausência de discrepância entre os métodos apresenta-se como um ponto positivo, visto que, as adaptações objetivaram métodos mais econômicos, tanto em custo quanto em tempo.

Na tabela 2 estão apresentados os valores de p das comparações entre as adaptações e a técnica descrita por HALL (2000).

Tabela 2. Comparação entre os diferentes métodos e respectivos valores de p.

Métodos comparados	p
Hall / Adaptação 01	0,002819*
Hall/ Adaptação 02	0,346728
Hall/ Adaptação 03	0,019287*

* Apresentam diferença estatística.

As Adaptações 01 e 03 diferem estatisticamente do método usado por Hall, não demonstrando confiabilidade em seu resultado.

A Adaptação 02 mostra-se como a mais eficiente, devido ao fato de apresentar resultados mais próximos do método Hall, juntamente com a ideia de economia de reagentes.

Esta economia, aliada ao grande volume de amostras processadas, proporcionará diferenças consideravelmente positivas na questão de custos. Sendo que, o volume de reagente utilizado para cada amostra foi reduzido em 40%.

As Adaptações 01 e 03 não foram mantidas sob agitação constante, tal como a técnica de Hall e a Adaptação 02. Deste modo, a agitação pode proporcionar maior contato entre as partículas da amostra e o reagente, possibilitando maior extração dos açúcares solúveis quando comparada a amostras apenas em suspensão, podendo concluir que o resultado da análise depende, em maior parte, do processo de agitação e não exclusivamente da concentração de reagente.

DOS REIS et al. (2015) também compararam diferentes técnicas laboratoriais para determinação de carboidratos solúveis em diferentes alimentos utilizados na nutrição de ruminantes, na ocasião, foram utilizados dois métodos, o método descrito por DERIAZ (1961) com base na utilização do reagente antrona e o método descrito por DUBOIS et al. (1956) utilizando fenol. Os resultados apresentados por eles corroboram a ideia que técnicas com diferentes reagentes (ou concentrações) podem ser utilizadas com a mesma eficácia.

Evidência que também proporciona confiabilidade na técnica utilizada no trabalho atual foi citada por CABEZAS-GARCIA (2011), que avaliando a fração carboidratos solúveis em cana-de-açúcar, revela que métodos que utilizam determinação em meio alcoólico mostram-se mais adequadas.

Como contraponto, pode ser positivo para esta avaliação, o uso de um número maior de comparações, podendo acarretar na utilização de uma equação de correção, devido ao fato de que, numericamente, todos as adaptações subestimaram o valor do método Hall.

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados do presente trabalho, conclui-se que o método Hall e a Adaptação 02 se equivaleram, logo, se torna possível otimizar o uso de reagentes na avaliação de carboidratos solúveis em feno de alfafa.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOMFIM, M. A. D. **Carboidratos solúveis em detergente neutro em dietas de cabras leiteiras.** 2003. 119p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa.

- CABEZAS-GARCIA, E. H. **Avaliação da fração carboidratos solúveis em cana-de-açúcar para animais.** 2011. 118p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo.
- DERIAZ, R. E. Routine analysis of carbohydrate and lignin in herbage. **Journal of Science and Food Agriculture**, UK, v. 12, n. 2, p. 150-160, 1961.
- DOS REIS, C. C.; HENRIQUE, D. S.; SCHERVINSKI, E.; ZANELA, J. CONSTANTINO, L. V.; DALLO, R. Comparação entre técnicas para determinação de açúcares solúveis em alimentos utilizados na nutrição de ruminantes. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v. 36, n. 1, p.401-408. 2015.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- HALL, M. B. **Neutral Detergent Soluble Carbohydrates Nutritional Relevance and Analysis: A Laboratory Manual.** University of Florida, 2000.
- LIZIEIRE, R. S.; CUNHA, D. N. F. V.; MARTUSCELLO, J. A.; CAMPOS, O. F. Fornecimento de volumoso para bezerros pré-ruminantes. **Ciência Rural**. Santa Maria. v. 32, n. 5, p. 835-840, 2002.
- MERTENS, D. R. Using fiber and carbohydrate analyses to formulate dairy rations. **Journal of Animal Science**, Wisconsin, v. 80, n. 7, p. 1463-1481, 1996.
- STATSOFT. **Statistica**: data analysis software system: version 7.0. Tulsa: Statsoft, 2004.