

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

EFICÁCIA DO CAULIM COMO INDICADOR DE CONSUMO
E DIGESTIBILIDADE PARA BOVINOS

Caroline Bertholini Ribeiro

CAMPO GRANDE, MS
2017

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**EFICÁCIA DO CAULIM COMO INDICADOR DE CONSUMO
E DIGESTIBILIDADE PARA BOVINOS**

Kaolin efficiency as marker intake and digestibility for cattle

Caroline Bertholini Ribeiro

**Orientador: Profa. Dra. Maria da Graça Moraes
Co-Orientador: Dr. Luiz Orcirio Fialho de Oliveira**

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

Certificado de aprovação

CAROLINE BERTHOLINI RIBEIRO

Eficácia do caulim como indicador de consumo e digestibilidade para bovinos

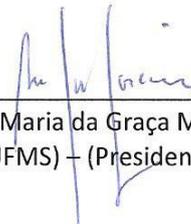
Kaolin efficiency as marker intake and digestibility for cattle

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de doutora em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

Aprovado(a) em: 31-01-2017

BANCA EXAMINADORA:



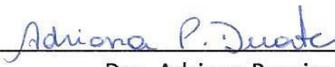
Dra. Maria da Graça Morais
(UFMS) – (Presidente)



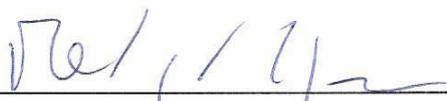
Dra. Eloisa de Oliveira Simões Saliba
UFMG



Dr. Henrique Jorge Fernandes
UEMS



Dra. Adriana Pereira Duarte
UFMS



Dr. Rodrigo da Costa Gomes
EMBRAPA Gado de Corte

Dedicatória

À toda minha família, pelo carinho, apoio e orações realizadas durante todo o Doutorado, meu muito obrigada.

À minha mãe Marilda, pelo amor incondicional e por abrir mão de seus compromissos para ajudar a alcançar mais uma etapa da minha vida.

Ao meu marido e amigo, Waldinei que sempre está ao meu lado incentivando, apoiando e ajudando a superar os desafios impostos pela vida, e por fazer parte do momento mais feliz da minha vida, ser mãe do nosso amado Pedro, à quem também dedico. Obrigada por completarem minha vida.

À minha irmã Camila, às minhas sobrinhas Taís e Beatriz, ao amigo e segundo pai Domingos, aos meus sogros Daniel e Eva pelo incentivo e companheirismo.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, proteção e alento nos momentos de angústia e dificuldade.

Em especial à minha orientadora Profa. Dra. Maria da Graça Morais, pelos ensinamentos, apoio e dedicação ao meu crescimento profissional e pessoal, pela amizade e incentivo nestes 14 anos de convívio. Que possamos continuar trabalhando e desfrutando desta amizade por muitos e muitos anos.

Ao Dr. Luiz Orcirio Fialho de Oliveira pela oportunidade de trabalhar neste projeto, pelos ensinamentos e dedicação, agradeço pela amizade, apoio e incentivo constante, mesmo nos momentos de dificuldade e incerteza. Muito obrigada.

Ao Prof. Henrique Jorge Fernandes, pelos ensinamentos e auxílio na análises estatísticas, sempre nos atendendo com muita atenção e dedicação.

Agradeço aos funcionários e colegas da Embrapa Pantanal, Antônio Arantes Bueno Sobrinho, Emerson Souza Esnarriaga e Hernandes de Campos Monteiro que foram essenciais para a obtenção dos resultados aqui apresentados, muito obrigada pela atenção, ajuda e dedicação doada durante toda a execução do trabalho.

Obrigada aos grandes amigos Antônio Peres Straviz, Mayara Mitiko Yoshihara Carneiro, Raizza Fátima Abadia Tulux Rocha pelo total apoio durante a realização dos experimentos e análises laboratoriais, a ajuda foi crucial para a finalização do projeto, pelo companheirismo e ombro amigo nos momentos de tensão, e pela alegria e diversão em todos os momentos divididos com vocês, agradeço também ao Anderson Luiz de Lucca Bento e Érico Celso Carneiro Filho pela amizade, apoio e companheirismo.

Muito obrigada aos colegas e amigos da FAMEZ/UFMS, Álvaro Fideles Rezende, Bruna Biava de Menezes, Bruno Benjamim Benaglia, Catherine Cecília Walker, Débora Tiburcio Rocha, Erick Gamarra, Estefany Eudosciak Souza Luz, Letícia Rezende, Mariana Pereira, Marco Aurélio Scarton Comparin, Roseane de Souza Carlos, que se doaram em algum momento para auxiliar no projeto e colaboraram para a obtenção dos resultados aqui apresentados.

Meu sincero agradecimento à ASBRAM e seus associados, em especial à Dra. Elizabeth Chagas, Dr. Nelson de Souza Lopes, Dr. Lauriston Bertelli, Dr. Jorge Matsuda, Dr. Mario Renck Real, pelo apoio neste projeto, pelos recursos disponibilizados que permitiram melhor execução do trabalho.

Aos Doutores, membros das bancas de Qualificação e Defesa, Profa. Dra Adriana Pereira Duarte, Profa. Dra. Eloisa de Oliveira Simões Saliba, Prof. Dr. Henrique Jorge Fernandes,

Prof. Dr. Gumercindo Lorian Franco e Dr. Rodrigo da Costa Gomes, agradeço por compartilharem seus conhecimentos e possibilitarem meu crescimento profissional e melhoria do trabalho. Muito obrigada!

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul que permitiu a realização deste curso de doutorado.

À CAPES pela concessão das bolsas de estudos na modalidade doutorado.

À todos que direta ou indiretamente me apoiaram e por ventura não estão citados.

“O sucesso é algo que não se ganha, ele é conquistado quando a sinceridade, humildade e perseverança mora dentro de nós.” Regiane Moura Mendonça

Resumo

RIBEIRO, C.B. Utilização do caulim como indicador de consumo e digestibilidade para bovinos. 2017. 100f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2017.

O fato de todos os indicadores de consumo e digestibilidade em uso apresentarem limitações abre espaço para a busca de novas substâncias ou moléculas que apresentem propriedades favoráveis como futuros indicadores. Neste sentido, destaca-se o caulim cuja identificação nas fezes, seria obtida de forma indireta por meio de análise do alumínio (Al). Partindo-se da premissa de que o alumínio reage diferentemente aos processos de digestão ácida de acordo com sua origem orgânica ou mineral, objetivou-se no primeiro trabalho, avaliar diferentes procedimentos analíticos de extração e quantificação do Al em amostras de fezes puras e misturadas com caulim. Com intuito de utilizar os resultados de Al nas estimativas de produção fecal (PF), objetivou-se no segundo trabalho determinar a metodologia mais eficaz para quantificação do alumínio em diferentes amostras para estimativas da PF a partir do indicador caulim. No terceiro artigo, objetivou-se avaliar o fornecimento do óxido crômico via esofágica ou misturado na ração, e o uso do caulim como indicador, sob as mesmas formas de fornecimento, para estimativas de produção fecal e digestibilidade. No artigo 1, amostras de fezes, de caulim e de fezes + caulim nas concentrações de 3,0 e 6,0% foram submetidas à digestão nitro-perclórica da amostra *In Natura* e posterior digestão das cinzas do resíduo (DNS), digestão clorídrica da amostra *In Natura* e posterior digestão das cinzas (DCS), digestão ácida (mistura ácida com HNO₃ e H₂SO₄), da amostra *In Natura*, e posterior digestão ácida das cinzas do resíduo (DAS), digestão nitro-perclórica das cinzas (DNC) e digestão clorídrica das cinzas (DCC). Os tratamentos DNS e DCS foram os que mais se aproximaram dos resultados esperados. No segundo trabalho, as diferentes amostras foram submetidas à digestão clorídrica sequencial (duas etapas de digestão) e direta (uma etapa de digestão), sendo avaliado quatro leituras de Al. Ao final foram gerados 256 modelos para estimativas de produção fecal. A ausência de diferenças significativas entre os modelos (combinações) Fs2 x Sil3 x C3 x So3 e Fs3 x Sil3 x C3 x So3 sugere a padronização dos procedimentos laboratoriais em todos os materiais submetidos a análise do Al, e escolha do método Fs3 x Sil3 x C3 x So3 para estimativas de PF a partir do uso do indicador caulim. No artigo 3, foram testados os indicadores óxido crômico (OC) e caulim (Caul) sob as formas de administração, esofágica (esof) ou misturado ao suplemento concentrado (rac), totalizando quatro tratamentos (OCesof, Caulesof, OCrac e Caulrac) distribuídos em delineamento quadrado latino 4x4. Foram realizados quatro períodos experimentais de 12 dias, com intervalos de no mínimo seis dias entre os períodos. O tratamento OCrac não diferiu do tratamento OCesof (p>0,05) em nenhum dos parâmetros avaliados, evidenciando que o indicador óxido crômico pode ser fornecido misturado diretamente na ração sem prejudicar as estimativas de produção fecal e digestibilidade. O caulim, nas condições estudadas, não se mostrou como eficiente indicador para obter estimativas acuradas de produção fecal, havendo necessidade de mais estudos no sentido de ajustar as técnicas analíticas de extração do alumínio bem como sanar algumas dúvidas quanto ao seu processo de digestão.

Palavras-chave: alumínio. análise química. extração. marcador. produção fecal.

Abstract

RIBEIRO, C.B. Use of kaolin a marker of feed intake and digestibility for cattle. 2017. 100f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2017.

The fact that all indicators of consumption and digestibility in use present limitations opens space for the search for new substances or molecules that present favorable properties as future indicators. In this sense, we highlight the kaolin whose identification in the faeces, would be indirectly obtained by means of aluminum analysis (Al). Based on the premise that aluminum reacts differently to acid digestion processes according to their organic or mineral origin, the objective of the first work was to evaluate different analytical procedures for extraction and quantification of Al in samples of pure faeces and mixed with kaolin. In order to use Al results in fecal production (PF) estimates, the second work was to determine the most efficient methodology for quantifying aluminum in different samples for PF estimates from the kaolin indicator. In the third article, the objective was to evaluate the supply of chorionic oxide via esophageal or mixed in the diet, and the use of kaolin as an indicator, under the same forms of supply, for estimates of fecal production and digestibility. In article 1, samples of feces, kaolin and feces + kaolin at concentrations of 3.0 and 6.0% were submitted to nitro-perchloric digestion of the In Natura sample and subsequent digestion of the ashes of the residue (DNS), hydrochloric digestion of the In Natura sample and subsequent digestion of the ashes (DCS), acid digestion (acid mixture with HNO₃ and H₂SO₄), of the In Natura sample and subsequent acid digestion of the ashes of the residue (DAS), nitro-perchloric ash digestion (DNC) and hydrochloric ash digestion (DCC). The DNS and DCS treatments were the closest to the expected results. In the second work, the different samples were submitted to sequential hydrochloric (two digestion stages) and direct digestion (one digestion step), and four Al readings were evaluated. In the end, 256 models were generated for fecal production estimates. The absence of significant differences between the models (combinations) Fs₂ x Sil₃ x C₃ x So₃ and Fs₃ x Sil₃ x C₃ x So₃ suggests the standardization of laboratory procedures in all materials submitted to Al analysis, and choice of the method Fs₃ x Sil₃ x C₃ x So₃ for estimates of PF from the use of the kaolin indicator. In article 3, chromium oxide (CA) and kaolin (Caul) were tested under administration, esophageal (esof), or mixed with the concentrate supplement (rac), totaling four treatments (OCesof, Caulesof, OCrac and Caulrac) in a 4x4 Latin square design. Four experimental periods of 12 days were performed, with intervals of at least six days between periods. The OCrac treatment did not differ from the OCesof treatment (p > 0.05) in any of the evaluated parameters, evidencing that the chromic oxide indicator can be supplied mixed directly in the feed without damaging the estimates of fecal production and digestibility. In the studied conditions, kaolin was not shown to be an efficient indicator to obtain accurate estimates of fecal production. There is a need for further studies to adjust the analytical techniques of aluminum extraction as well as to resolve some doubts about its digestion process.

Keywords: aluminum. chemical analysis. extraction. fecal production. indicator.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

INTRODUÇÃO

- Figura 1 - Localização dos principais depósitos de caulins no Brasil (Wilson et al. 1998). 19
- Figura 2 - Diagrama simplificado do beneficiamento de caulim, via úmida (Luz et al., 2009). 22
- Figura 3 - Características de qualidade x tipo litológico de uma jazida de caulim (Criscuolo, 2008). 22

ARTIGO 1

- Figura 1 - Valores esperados e determinados de alumínio em fezes puras e misturadas com caulim pelos tratamentos DCS e DNS. 57
- Figura 2 - Valores esperados e determinados de alumínio em fezes puras e misturadas com caulim pelos tratamentos DNC e DCC. 57
- Figura 3 - Valores esperados e determinados de alumínio em fezes puras e misturadas com caulim pelo tratamento DAS. 58
- Figura 4 - Concentrações de alumínio em amostras de fezes puras, caulim puro e de fezes misturadas com caulim pelos tratamentos DNS e DCS. 60

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO

- Tabela 1 - Compilação de resultados de recuperação fecal, acurácia e precisão de diferentes indicadores. 09
- Tabela 2 - Análises químicas e mineralógicas de caulins brasileiros (Wilson et al., 1998) 21

ARTIGO 1

- Tabela 1 - Análises químicas e físicas do produto Caulim utilizado neste trabalho. 49
- Tabela 2 - Médias dos teores de alumínio (mg/kg) nas amostras de fezes puras, misturadas com caulim e de caulim puro, de acordo com os tratamentos estudados. 56
- Tabela 3 - Valores máximos e mínimos de alumínio (mg/kg) nas amostras de fezes contendo 3% e 6% de caulim, de acordo com os tratamentos estudados. 58
- Tabela 4 - Valores médios em percentual de Alumínio nas fases *in natura* e cinzas pelos métodos sequenciais (DNS, DCS e DAS). 59
- Tabela 5 - Médias e desvios padrão de produção fecal e correlações entre os valores reais e estimados a partir das combinações das leituras de alumínio. 62
- Tabela 6 - Valores médios e desvios padrão da produção fecal real e estimada por combinações das leituras de alumínio. 62
- Tabela 7 - Avaliação dos modelos predição da produção fecal por diferentes combinações das leituras de alumínio. 62

ARTIGO 2

- Tabela 1 - Ingredientes e composição química estimada da dieta fornecida aos animais. 71

Tabela 2 - Médias de produção fecal, digestibilidade aparente e nutrientes digestíveis totais reais (controle) e estimados pelos indicadores óxido crômico e caulim administrados via esofágica ou na ração. 76

Tabela 3 - Médias por quadrados mínimos da recuperação fecal dos indicadores óxido crômico e caulim nas fezes administrados via esofágica ou na ração. 78

Tabela 4 - Adequação dos dados da produção fecal, digestibilidade aparente de nutrientes e NDT, preditos pelos indicadores óxido crômico e caulim administrados via esofágica e na ração. 80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido ascórbico	CIDA	Cinza insolúvel em detergente ácido
AAI	Acetato de aluminona	CMS	Consumo de matéria seca
AD	Água deionizada	CNF	Carboidrato não fibroso
Al	Alumínio	CPB	Consumo de proteína bruta
Al _{CA}	Concentração de alumínio presente no caulim	CromoFz	Concentração de cromo nas fezes
Al _{con}	Quantidade de alumínio presente no concentrado	CromoOC	Concentração de cromo no óxido crômico
AlFz	Concentração de alumínio nas fezes	CromoSo	Quantidade de cromo nas sobras
Al _{sil}	Quantidade de alumínio presente na silagem	CSie	Concentração de indicador externo no suplemento
Al _{so}	Quantidade de alumínio presente nas sobras de ração	CSUP	Consumo de matéria seca de suplemento
AlTt	Quantidade total de alumínio consumido	D	Digestibilidade
C	Concentrado	DA	Digestibilidade aparente
CA	Quantidade diária de Caulim oferecida ao animal	DACNF	Digestibilidade aparente do carboidrato não fibroso
Caul	Caulim	DAEE	Digestibilidade aparente do extrato etéreo
Caulsof	Caulim via esofágica	DAMO	Digestibilidade aparente da matéria orgânica
Caulrac	Caulim via concentrado	DAMS	Digestibilidade aparente da matéria seca
CCC	Coeficiente de correlação e concordância	DAPB	Digestibilidade aparente da proteína bruta
CCNF	Consumo de carboidrato não fibroso	DAS	Digestão ácida sequencial
CEAL	Concentração estimada de alumínio	DCC	Digestão clorídrica das cinzas
CEE	Consumo de extrato etéreo	DCS	Digestão clorídrica sequencial
CF	Concentração final	Ddp	Dose diária de n-alceno de cadeia par
CFDN	Consumo de fibra em detergente neutro	DN	Digestibilidade de nutriente
CFie	Concentração fecal de indicador externo	DNC	Digestão nitroperclórica das cinzas
CIA	Cinza insolúvel em ácido	DNS	Digestão nitroperclórica sequencial
		DP	Dias pastejados

EAA	Espectrofotometria de absorção atômica	MS	Matéria seca
EE	Extrato etéreo	MSi	Matéria seca indigestível
EF	Excreção fecal	NA	Número de animais
F	Flúor	Na	Sódio
Fs	Fezes	Na ¹	Concentração do nutriente no alimento
FDA	Fibra insolúvel em detergente ácido	NB	Número de bocado
FDAi	Fibra insolúvel em detergente ácido indigestível	NDT	Nutrientes digestíveis totais
FDN	Fibra insolúvel em detergente neutro	Nf	Concentração do nutriente nas fezes
FDNi	Fibra insolúvel em detergente neutro indigestível	O	Oxigênio
Fe	Ferro	OC	Óxido crômico
Fi	Teor de n-alcano de cadeia impar nas fezes	OCesof	Óxido crômico via esofágica
Fp	Teor de n-alcano de cadeia par nas fezes	OCof	Quantidade diária de óxido crômico oferecida ao animal
Fz	Concentração de indicador interno nas fezes	OCrac	Óxido crômico via concentrado
Hi	Teor de n-alcano de cadeia impar na forragem	PB	Proteína bruta
Hp	Teor de n-alcano de cadeia par na forragem	PF	Produção fecal
Ia	Concentração do indicador no alimento	PFest	Produção fecal estimada
ICP-OS	Espectrometria de emissão óptica por plasma	pH	Potencial hidrogeniônico
ID	Quantida diária fornecida de indicador	Ps	Concentração de indicador interno na forragem
If	Concentração do indicador nas fezes	Os	Concentração de indicador interno na forragem
IMS	Ingestão de matéria seca	RF	Recuperação fecal
K	Potássio	RMF	Redução de massa de forragem
MB	Massa do bocado	RQMEP	Raiz quadrada do quadrado médio do erro de predição
Mg	Magnésio	Si	Silício
Mn	Manganês	Sil	Silagem
MO	Matéria orgânica	So	Sobras
		Ssp	Concentração do indicador interno no suplemento

TGI	Trato gastrintestinal
Ti	Titânio
TiO ₂	Dióxido de titânio
TP	Tempo de pastejo

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	1
1. Consumo e Digestibilidade	2
2. Estimativas do Consumo e da Digestibilidade.....	5
3. Indicadores de consumo e/ou excreção fecal.....	7
3.1. Formas de administração dos indicadores.....	14
3.2. Técnica do triplo indicador.....	15
4. Óxido de Cromo (VI)– Cr ₂ O ₃	16
5. Busca por um novo indicador – Caulim.....	17
5.1. Como medir a presença do Caulim nas fezes?.....	23
5.2. Alumínio.....	23
5.3. Silício.....	27
6. Técnicas Analíticas.....	28
6.1. Comparações analíticas entre o Si e o Al.....	29
7. Escolha do componente para análise do Caulim.....	31
Referências.....	32
ARTIGO 1: Escolha da técnica de análise de alumínio em fezes bovinas acrescidas de caulim.....	46
Resumo.....	46
Abstract.....	47
Introdução.....	48
Material e Métodos.....	49
Resultados e Discussão.....	55
Conclusões.....	63
Referências.....	64
ARTIGO 2: Caulim e óxido crômico sob diferentes formas de administração em estudo de consumo e digestibilidade.....	67
Resumo.....	67
Abstract.....	68
Introdução.....	69
Material e Métodos.....	70
Resultados e Discussão.....	75
Conclusões.....	81
Referências.....	82

INTRODUÇÃO

A determinação do consumo de alimentos apresenta grande importância na nutrição animal, pois permite relacionar a quantidade de nutrientes ingerida com o desempenho animal (Berchielli et al., 2011).

Em sistemas de pastejo a determinação do consumo é complexa, pois existem diversos fatores que o influenciam como aqueles relacionados com o pasto (morfologia da forragem, estrutura do dossel forrageiro), e aqueles relacionados ao animal (estado fisiológico, sanitário e desempenho) (Santos, 1997; Reis & Silva, 2006).

Existem métodos diretos e indiretos para a determinação do consumo de animais a pasto, contudo todos os métodos utilizados possuem limitações (Berchielli et al., 2006), especialmente em sua acurácia (Carvalho et al., 2007).

Alguns métodos diretos foram inicialmente utilizados para avaliação do consumo, como as diferenças entre os pesos dos animais antes e após a ingestão de alimentos, a diferença entre os pesos de massa de forragem antes e após o pastejo, a avaliação do comportamento ingestivo do animal e/ou da excreção fecal e digestibilidade dos nutrientes com bolsas coletoras, porém estes não se mostraram eficazes devido às variabilidades dos resultados, e às dificuldades experimentais a campo.

Estimativas indiretas a partir do uso de indicadores vêm sendo aplicadas e gradativamente melhoradas no que se refere à acurácia dos resultados. Os indicadores são substâncias indigestíveis, geralmente de fácil determinação, utilizadas como monitores químicos e físicos em processos digestivos e metabólicos (Owens & Hanson, 1992).

Embora o uso de indicadores para estimativa de consumo de animais em pastejo apresentem resultados precisos em relação aos métodos diretos, sua utilização permanece restrita ao meio acadêmico. Entretanto, procedimentos de adequação da metodologia – como a identificação de novas substâncias e formas de administração e coletas, podem permitir sua utilização em condições técnicas de campo, atendendo demandas das indústrias de suplementos e até dos produtores.

As técnicas usuais foram ajustadas para condições de estudos científicos, levando-se em consideração o controle dos fatores e das condições experimentais, buscando a minimização dos efeitos e aumentando a acurácia dos resultados. A determinação de campo por sua vez, tem como premissa exatamente o inverso, ou seja, não alterar ou controlar os fatores, a fim de estimar o consumo nas condições naturais do ambiente e do animal.

A técnica experimental requer o manejo diário dos animais, como a contenção no tronco, a aplicação dos indicadores e coleta retal de fezes dos animais por diversos dias. Outro ponto limitante é o elevado custo para aquisição e análises laboratoriais e o fato de alguns indicadores, como o óxido crômico apresentar potencial para contaminação do meio ambiente (Oliveira et al., 2012a).

Assim, o estudo de novas substâncias que apresentem características de um potencial indicador de fácil manipulação e aplicação no campo, que não represente riscos à saúde animal e ao ambiente e com custos mais acessíveis poderá atender um nicho de oportunidades e de demandas das indústrias e produtores para estimativas do consumo de matéria seca (CMS) de forragem.

Para as indústrias de suplementos, o caulim é uma substância inerte usada rotineiramente no preenchimento de fórmulas, não apresentando nenhuma restrição alimentar, ambiental e de baixo custo. Suas características (similares a outros indicadores) o credencia como possível indicador para estimativa do CMS de ruminantes.

A demanda da indústria encontra-se principalmente na necessidade de estimativas acuradas de consumo de MS de suplemento. Neste sentido, o desenvolvimento de metodologias acuradas, facilmente aplicáveis a campo, possibilitaria a indústria certificar com segurança o consumo real dos seus produtos em propriedades específicas, abrindo mão de leituras de cocho subjetivas e pouco acuradas.

No entanto, trabalhos sobre a utilização do caulim como indicador não são conhecidos e os estudos no Brasil ainda são incipientes. Devido à escassez de informações, a utilização do caulim também demanda estudos para padronização dos métodos de avaliação do consumo para tornar sua aplicação prática a campo.

1. Consumo e Digestibilidade

A ingestão de forragem é resultante da associação de diversos fatores incluindo suas características químicas e físicas e as características físicas e fisiológicas do animal (Mertens, 1994; Burns et al., 1994).

A regulação do consumo de forragem apresenta duas fases, a primeira corresponde ao fator não nutricional, representado pelo comportamento ingestivo dos animais em pastejo e a segunda corresponde aos fatores nutricionais, como a digestibilidade, composição química e fatores metabólicos, que apresentam grande importância na regulação da ingestão (Reis & Silva, 2006).

A partir de estudos de cinética do trato gastrointestinal, Waldo et al. (1972) propuseram um modelo que utiliza interações de taxas de digestão e passagem que estão associadas ao consumo e digestibilidade. O modelo considera o tamanho e enchimento ruminal constantes, o que nem sempre acontece (Silva, 2006). Outro modelo proposto por Mertens (1987) considera mecanismos fisiológicos, físicos e psicogênicos de regulação de consumo.

Existem teorias de regulação de consumo que, de acordo com Mertens (1994), prevalecem em algumas situações, como o controle do consumo a partir da geração de metabólitos após a ingestão, o equilíbrio do ganho do peso em animais adultos resulta em consumo igual a produção de energia, havendo regulação do consumo de acordo com as exigências energéticas, e a regulação de consumo de curto prazo por controle quimiostático, termostático, aminostático e psicogênico, e de longo prazo por controle lipostático e de enchimento.

Estímulos nos centros da fome e saciedade, localizados na região ventromedial do hipotálamo (Silva, 2006) resultam em controle do consumo por meio de mecanismos homeostáticos, visando manter o peso e reservas corporais dos animais adultos, e homeorrético para atender exigências em situações específicas como gestação e lactação (Pereira et al., 2003). Isso evidencia que o consumo é uma função das exigências energéticas e depende da genética e condição fisiológica do animal (Mertens, 1994).

O excesso de metabólitos na corrente sanguínea, com taxa superior ao que podem ser removidos, resultam em sinal de saciedade pelo envio de informações captadas por quimiorreceptores ao sistema nervoso central sinalizando alterações da concentração dos metabólitos além de mudanças no pH e osmolalidade (Silva, 2006).

Existe íntima relação entre mecanismos físicos de controle de consumo e a digestão e desaparecimento da fibra no trato gastrointestinal (TGI), sendo esta melhor representada pela fibra em detergente neutro (FDN) (NRC, 1987; Mertens, 1994; Silva, 2006), uma vez que a limitação física na ingestão de alimentos está relacionada à degradação do alimento e ao fluxo da digesta pelo TGI (Silva, 2006).

A distensão física do retículo-rúmen geralmente é aceito como o principal fator limitante de consumo de forragens em dietas com alto teor de fibra (Baile & Forbes, 1974). Nesse caso, a regulação do consumo será de curto prazo, em que os receptores de tensão são estimulados, os estímulos atingem o centro de saciedade no cérebro e inibem os estímulos de consumo (Mertens, 1994).

Em situação de regulação física de consumo de longo prazo, em que dietas com alta concentração de fibras limitam a ingestão de MS, a capacidade do TGI é modificada pela

hipertrofia de órgãos, aumentando o limite físico dos mesmos (Waldo, 1986; Mertens, 1994). Ao comparar o consumo de FDN em animais com diferentes inclusões de alimento volumoso, Detmann et al. (2003) e Fernandes (2009) encontraram resultados que corroboram a explicação anterior, em que observaram possíveis adaptações de limite físico possibilitando aumento do consumo de FDN e consequentemente de MS.

A regulação psicogênica envolve a resposta do comportamento animal frente aos fatores de inibição ou estímulos do alimento ou ambiente que não estejam relacionados ao valor energético ou enchimento (Mertens, 1994). Fatores como paladar, cheiro, textura, aparência visual do alimento, o estado emocional do animal, interações sociais e a experiência ingestiva anterior podem atuar como controladores de consumo (Silva, 2006). Estes estímulos psicogênicos modificam ou modulam as funções de regulação fisiológica e física.

A digestibilidade representa o valor nutricional dos alimentos, sendo dependente das características do próprio alimento (físicas e químicas), de sua interação com o animal, como a quantidade de alimento ingerido, ou mesmo por seu estado fisiológico (NRC, 1981).

Alterações ruminais, como mudança de pH, substratos, tamanho de partículas e taxa de passagem, podem alterar drasticamente a velocidade de crescimento e ação digestiva microbiana (Owens & Goetsch, 1993).

Existe alta correlação entre o nível de alimentação e a taxa de passagem do alimento pelo rúmen (Oliveira, 2005), sendo que esta última juntamente com a taxa de digestão tem relação direta com a porcentagem de degradação ruminal (Russell et al., 1992). Portanto, o desaparecimento das partículas digestíveis do rúmen pode ocorrer simplesmente pela passagem desta no compartimento ou através da sua digestão (Oliveira, 2005). Enquanto as frações indigestíveis somente desaparecem do rúmen por meio de sua passagem (Waldo et al., 1972). O tamanho das partículas da digesta diminuem de forma proporcional à velocidade de passagem (Prigge et al., 1990), indicando a importante influência da taxa de passagem sobre os valores de digestibilidade.

O consumo de suplemento proteico melhora o processo de digestão de bovinos alimentados com forragem de baixo valor nutricional por aumentar a degradabilidade efetiva, acelerar a taxa de passagem, reduzindo o tempo de retenção ruminal (Oliveira et al., 2010). Apesar da queda na digestibilidade total pelo aumento da taxa de passagem (Ellis et al., 1994), existe a compensação pelo aumento na absorção de nutrientes (Russell et al., 1992).

O conhecimento da cinética dos alimentos representa uma ferramenta nas avaliações das taxas de passagem de diferentes dietas (Aitchinson et al., 1986).

Nesse contexto, alguns modelos para o estudo dos alimentos, como o unicompartmental (Colucci et al., 1990) e bicompartimental (Grovm e Williams, 1973), são utilizados nas avaliações das taxas de passagem das fases líquidas e sólidas, respectivamente (Oliveira, 2005).

2. Estimativas do Consumo e da Digestibilidade

Os métodos para determinação do consumo em pastejo dividem-se em diretos e indiretos podendo-se destacar a diferença de peso corporal, diferença das massas de forragem, comportamento ingestivo, determinações por meio de estimativas da excreção fecal e digestibilidade, entretanto todos apresentam alguma limitação (Berchielli et al., 2006). Apesar dos avanços metodológicos as estimativas de consumo em sistemas de pastejo ainda são deficientes em acurácia e confiabilidade (Carvalho et al., 2007).

O método direto que consiste em pesar os animais antes e após o pastejo foi recomendado por Horn et al. (1979) como sendo o melhor para a estimativa de consumo de forragem, porém Burns et al. (1994) relataram desvantagens, como o fato de medir o consumo em matéria natural e a necessidade de avaliações por tempo curto, devido às possíveis perdas por defecação, micção e respiração e, segundo Reis & Silva (2006), os ganhos observados podem ser devido a ingestão de minerais e água.

A estimativa direta por meio do método da diferença da massa de forragem é realizada medindo a redução da massa de forragem em determinado período (pré e pós pastejo). A ingestão diária de MS (IMS) é obtida pela razão entre o valor da redução de massa de forragem (RMF) e o produto do número de animais (NA) e os dias pastejados (DP) (Burns et al., 1994), conforme a equação:

$$IMS=RMF/NA \times DP \quad \text{Eq. 1}$$

Fatores como o pisoteio e crescimento da forragem podem reduzir a acurácia dos resultados (Berchielli et al., 2006), dessa forma, Corbett (1978) recomenda considerar o crescimento da forragem quando o período de pastejo for superior a dois dias, evitando maiores problemas com a estimativa.

A avaliação do comportamento ingestivo dos animais representa outra técnica para estimar o consumo de MS, já que alterações em variáveis como tempo de pastejo, ruminação, ócio, taxa e tamanho de bocado afetam o consumo animal (Stobbs, 1973).

Longos períodos de alimentação (4 a 12 horas) são observados em bovinos em pastagem com baixo teor energético (Bürger et al., 2000). Assim, o tempo de pastejo vai

dependem do atendimento das exigências energéticas, do enchimento ou simplesmente das características anatômicas ou apetite do animal (Ítavo et al., 2008).

As estimativas de consumo pelo comportamento de pastejo são feitas por meio da multiplicação da massa do bocado, taxa de bocado e tempo de pastejo (Burns et al., 1994), de acordo com a equação adaptada de Costa et al. (2011):

$$\text{IMS} = (\text{MB} \times \text{NB} \times \text{TP}) \times \% \text{MO} \quad \text{Eq. 2}$$

Onde, IMS = ingestão de MS (g.dia⁻¹); MB = massa do bocado (g MO); NB = número de bocados (boc./min); TP = tempo de pastejo (min/dia); %MO = teor de matéria orgânica da forragem aparentemente consumida pelos animais em pastejo.

Como vantagem desta técnica destaca-se o reduzido estresse dos animais (Reis & Silva, 2006), porém a falta de constância do tamanho e número de bocados limitam uso da técnica (Berchielli et al., 2006).

A associação de informações acuradas da excreção fecal (EF) diária e da digestibilidade da dieta (D) permite estimar o consumo de MS do animal, fazendo uso da equação (Cavalcanti et al., 2013):

$$\text{Consumo (kg/dia)} = \text{EF}/(1-\text{D}) \quad \text{Eq. 3}$$

Uma medida direta da excreção fecal pode ser realizada utilizando bolsas coletoras, e apenas com análises de MS é possível determinar a produção fecal. Algumas desvantagens como a redução no desempenho, coleta incompleta de fezes e alteração de comportamento ingestivo tornam a técnica impraticável para bovinos em pastejo (Burns et al, 1994). Como alternativa, existem métodos indiretos para determinação da excreção fecal a partir do uso de indicadores internos e externos.

A estimativa indireta da excreção fecal é obtida a partir da relação entre a quantidade de indicador fornecido diariamente ao animal e sua concentração nas fezes (Sampaio et al., 2011b):

$$\text{EF} = \text{ID}/\text{IF} \quad \text{Eq. 4}$$

Onde, EF é a excreção fecal estimada em g/dia, ID é a quantidade de indicador fornecida diariamente em g/dia, e IF é a concentração do indicador na amostra fecal representativa em g/g).

Estimativas acuradas da produção fecal dependerão da amostragem regular e representativa das fezes além da constância do fluxo do indicador (Marais, 2000).

A digestibilidade aparente é determinada pela diferença entre a quantidade de nutriente consumido e excretado nas fezes (Marais, 2000). Em situação de pastejo, em que não é

possível a coleta total de fezes, a estimativa da digestibilidade pode ser obtida por meio de técnicas de desaparecimento da MS *in vitro* e *in situ*.

Em situações em que a técnica *in vitro* apresenta-se inviável, o uso de um indicador interno possibilita a estimativa da digestibilidade aparente (Cavalcanti et al., 2013):

$$DA(\%) = 100 - (100 \times I_a / I_f) \quad \text{Eq. 5}$$

Onde DA é a digestibilidade aparente, I_a é a concentração do indicador no alimento, I_f é a concentração do indicador nas fezes.

Existe equação que permite estimar a digestibilidade aparente dos nutrientes que compõem a forragem ou alimento (Marais, 2000).

$$DN = 1000 - 1000 \times (1 - I_a / I_f) \times (N_a^1 / N_f) \quad \text{Eq. 6}$$

Onde, DN é a digestibilidade do nutriente, I_a é concentração do indicador no alimento, I_f é a concentração do indicador nas fezes, N_a^1 é a concentração do nutriente no alimento e N_f é a concentração do nutriente nas fezes.

3. Indicadores de consumo e/ou excreção fecal

Os indicadores são substâncias indigestíveis, geralmente de fácil determinação, utilizados como monitores químicos (como da hidrólise e síntese de compostos) e físicos (a exemplo da taxa de passagem) em processos digestivos e metabólicos (Owens & Hanson, 1992).

Algumas propriedades permitem caracterizar determinadas substâncias como indicadores, como ser inerte, não ser tóxico, não ter função fisiológica, não ser metabolizado, poder ser processado com o alimento, ser recuperado totalmente a partir do TGI, não influenciar a motilidade e secreções intestinais, não influenciar e não ser influenciado pela microbiota do TGI, possuir propriedades físico-químicas que não interfiram nos processos digestivos, fluir de forma similar ao material marcado e apresentar um método analítico fácil, preciso e acurado (Fahey & Jung, 1983).

Um indicador que apresente todas as características descritas acima é considerado um indicador ideal (Mayes et al., 1986). Assim, pesquisas tem sido realizadas com intuito de descobrir um indicador ideal.

Os indicadores têm sido bastante utilizados em trabalhos de nutrição e alimentação animal, principalmente quando não é possível obter dados de produção fecal e/ou digestibilidade de forma direta. O método dos indicadores, apesar de bastante utilizado, ainda apresenta falhas, principalmente em relação a recuperação fecal do indicador. Na maioria das

vezes essa recuperação é inferior a 100%, resultando em superestimativas da produção fecal (Berchielli et al., 2006).

Variações nas concentrações fecais dos indicadores podem estar associadas à frequência de administração aos animais. Em algumas situações é impraticável coletar fezes mais de duas vezes ao dia, assim, devido à baixa frequência de amostragem, as amostras podem não ser representativas (Berchielli et al., 2006).

Os estudos sobre os indicadores têm possibilitado ajustes de metodologia (dose diária e tempo de estabilização), coletas (vezes por dia e número de dias) e análises (vício de amostragem e procedimentos laboratoriais), melhorando a precisão das técnicas para estimativas de consumo e digestibilidade (Oliveira et al., 2012a).

Para predição dessas características faz-se necessário o uso de indicadores internos e externos. Os internos são representados por alguns componentes intrínsecos à dieta e são mais utilizados em estimativas de digestibilidade aparente, não sendo descartado seu uso em estimativas de excreção fecal. Os externos são fornecidos ao animal via oral ou ruminal, representados por substâncias que não fazem parte da dieta.

Ao comparar os indicadores citados, verifica-se alguma vantagem dos internos sobre os externos por permanecerem uniformemente distribuídos na digesta (Piaggio et al., 1991), não serem digeridos nem absorvidos pelos animais (Cavalcanti et al., 2013), porém a variação de sua recuperação nas fezes pode ser uma limitação da técnica (Fahey & Jung, 1983).

Portanto, o conhecimento da recuperação fecal dos indicadores nas fezes representa uma ferramenta para avaliação do indicador e/ou uma forma de possibilitar seu uso em situações em que sua recuperação nas fezes é diferente de 100% (Tab. 1). Algumas equações podem ser utilizadas para a avaliação de suas porcentagens: Recuperação fecal da MS = (g de MS fecal estimada/g de MS fecal real) x 100; Gramas de MS fecal estimada = (g ingerida do indicador/% de indicador nas fezes); Recuperação do indicador = (1/Recuperação de MS fecal) x 100 (Zeoula et al., 2002).

Os representantes de indicadores internos incluem a lignina, cromogênio, sílica, cinza insolúvel em ácido e em detergente ácido, MS indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) e também os n-alcenos de cadeia ímpar.

A lignina é formada por polímeros condensados resistentes à hidrólise ácida e alcalina e à diversos complexos enzimáticos (Fukushima & Hatfield, 2003), estas características indicam a indigestibilidade do indicador.

Tabela 1. Compilação de resultados de recuperação fecal, acurácia e precisão de diferentes indicadores.

Indicador	RF ¹ (%)	Acurácia ²	Precisão ³	Referência
Lignina em detergente ácido	110,5			Bohnert et al., 2000
	68,18	5,98	8,57	Gobesso et al., 2011
	89,6			Pombo et al., 2016
	74,4	-10,1	3,72	Rodrigues et al., 2010
	100,0	-0,56	7,02	Siqueira et al., 2009
Fibra em detergente ácido indigestível	99,9			Bohnert et al., 2000
	89,76			Zeoula et al., 2002
	103,67			Oliveira et al., 2012b
	99,4			Pombo et al., 2016
	130,0			Cezimbra, 2010
	93,7	-2,47	3,24	Rodrigues et al., 2010
	102,07			Sampaio et al., 2011a
	101,6			Zeoula et al., 2002
Fibra em detergente neutro indigestível	107,0			Cezimbra, 2010
	94,08			Oliveira et al., 2012b
	96,0			Pombo et al., 2016
	90,9	-3,50	3,67	Rodrigues et al., 2010
	98,87			Sampaio et al., 2011a
Cinza insolúvel em ácido	105,77			Zeoula et al., 2002
	111,65	-7,55	7,85	Gobesso et al., 2011
Dióxido de titânio	174,0			Cezimbra, 2010
	101,95			Sampaio et al., 2011a
LIPE®	86,0			Cezimbra, 2010
	95,94			Lanzetta et al., 2009
Óxido crômico	73,22	12,07	4,14	Gobesso et al., 2011
	86,1	-4,62	1,24	Rodrigues et al., 2010
	99,50			Sampaio et al., 2011
	88,0	-4,69	3,14	Siqueira et al., 2009
	83,73			Lanzetta et al., 2009

¹RF: Recuperação fecal dos indicadores.

²Acurácia dos indicadores avaliada pelo viés médio.

³Precisão dos indicadores avaliada pela raiz quadrada média do erro de predição (RQMPEP).

A característica de não ser digerida e a recuperação quantificável nas fezes incentivou o uso da lignina como indicador interno. Entretanto, existe a possibilidade desses polímeros serem degradados durante a passagem pelo TGI alterando sua recuperação nas fezes (Cavalcanti et al., 2013). Dessa forma, sua utilização como indicador torna-se questionável uma vez que foi demonstrada grande variação da digestibilidade da lignina (27,9 a 53,3%) em diversas dietas (Fahey & Jung, 1983).

Recomenda-se utilizar a lignina como indicador quando sua concentração na MS das rações for superior a 5%, porém deve-se ter cautela ao utilizá-la devido sua incompleta recuperação fecal que resultará em subestimativa da digestibilidade (Cavalcanti et al., 2013).

Os pigmentos de plantas completamente recuperados nas fezes são chamados de cromogênios. Seu uso como indicador interno limita-se à forragem com grande conteúdo de

clorofila (Burns et al., 1994). Por esse motivo apresenta baixa frequência de utilização, além dos resultados muito variáveis e pouco confiáveis (Cavalcanti et al., 2013).

A sílica também apresenta uso limitado pois, apesar de ser indigestível e recuperada nas fezes, sua concentração nas forragens é considerada inconsistente devido à grande ocorrência de contaminação pelo solo (Burns et al., 1994).

As cinzas, insolúvel em ácido (CIA) e em detergente ácido (CIDA), também constituintes naturais da dieta, apresentam estimativas satisfatórias (Cavalcanti et al., 2013). As vantagens do seu uso como indicador interno tem como base suas análises simples e rápidas e ausência de variações diurnas e diárias dos indicadores (Araújo et al., 2000; Zeoula et al., 2002).

Para que a predição da digestibilidade a partir desses indicadores seja acurada os resultados de estimativa da recuperação fecal devem ser confiáveis, para isso, recomenda-se utilizar alimentos que contenham concentração mínima de 0,75% de CIA e concentração superior a 3% de CIDA na MS (Thonney et al., 1984; Sherrod et al., 1988 apud Berchielli et al., 2000).

Deve-se ter cuidado quanto ao risco de ingestão de solos, quando utilizados em experimento com animais sob pastejo, pois essa ingestão representa importante fonte de erro na determinação da digestibilidade (Cavalcanti et al., 2013).

Os indicadores representados pelos resíduos indigestíveis (MSi, FDNi e FDAi) precisam ser submetidos à digestão, permanecendo no rúmen por período mínimo de 144 horas pela técnica de incubação *in situ* (Berchielli et al., 2000). Existe grande falta de padronização nos estudos de resíduos indigestíveis, incluindo diferenças nos tempos de incubação, entre tamanhos de partículas, porosidade dos sacos de incubação e quantidade de amostra, o que levou Rebouças et al. (2013) a proporem o uso de uma única metodologia nestes estudos como forma de padronização da técnica e possibilidade de comparação dos resultados.

A possibilidade de uso dos resíduos indigestíveis como indicadores internos está diretamente associada à semelhança estatística com os resultados obtidos por meio de coleta total.

O uso da MSi como indicador somente será possível caso seus valores de recuperação fecal sejam considerados nos cálculos, devido à alta variabilidade (64,8 a 108,4%) (Kozloski et al., 2009). Ainda assim, a técnica mostra-se pouco precisa para detectar pequenas diferenças na digestibilidade, devido seu baixo coeficiente de determinação (63%) (Kozloski et al., 2009).

Maior variabilidade e menor precisão na recuperação fecal da MSi em comparação à FDNi foi demonstrado por Sampaio et al. (2011a). Isto pode estar associado a falta de constância da contaminação microbiana entre os materiais (Casali et al. 2008) e ausência de homogeneidade entre as repetições. Porém, o uso da MSi foi considerado mais aceitável quando comparado à FDNi (Kozloski et al., 2009).

As altas concentrações de FDNi na MS da dieta (15,31 e 17,88%) (Berchielli et al., 2000) são indicativas de resultados satisfatórios nas estimativas de digestibilidade. Entretanto, a técnica de FDNi mostrou-se pouco precisa quando comparada aos dados observados, apresentando baixo coeficiente de determinação (60%) e recuperação altamente variável e incompleta (49,5 a 67, 9%) (Kozloski et al., 2009).

Assim como a FDNi, ao utilizar a FDAi como indicador interno, deve-se considerar a composição da fibra, o tamanho das partículas incubadas, o número de dias e horários de coletas de fezes e o tempo de incubação ruminal (Zeoula et al., 2002).

Os dados observados em alguns trabalhos vêm demonstrando inconstâncias nos resultados obtidos a partir do uso de FDNi como indicador, a exemplo tem-se dados de digestibilidade subestimados (Zeoula et al., 2000), recuperação fecal da FDNi próxima de 100% (Zeoula et al., 2002) e subestimativas da produção fecal (Ítavo, 2001).

Ao escolher a FDAi como indicador maior cuidado analítico deve ser tomado, especialmente durante as pesagens, pois apresenta pequena massa residual ficando sujeito a maiores erros de acurácia (Sampaio et al., 2011a). Contudo, estudos encontraram resultados de digestibilidade, estimados a partir da FDAi, estatisticamente iguais aos obtidos por coleta total de fezes (Berchielli et al., 2000), e existe a recomendação de escolha do indicador FDAi para estimativas de produção fecal em detrimento do FDNi pelo fato deste último resultar em subestimativas (Ítavo, 2001).

Os n-alcanos de cadeia ímpar são componentes naturais da cera cuticular formados por cadeias ímpares de 25 a 35 átomos de carbono (C₂₅ a C₃₅) (Cavalcanti et al., 2013). Foram considerados adequados como indicadores fecais indigestíveis pelo fato de serem quimicamente inertes e por serem mais facilmente analisados quando comparados aos ácidos graxos de cadeia longa que haviam sido considerados como possíveis indicadores (Mayes et al., 1984).

Para obter estimativas acuradas recomenda-se que a concentração de alcanos naturais nas plantas seja superior a 50 mg/kg de MS (Casson et al., 1990). Contudo, a técnica apresenta limitações, como a necessidade de conhecimento prévio do perfil de n-alcanos da forragem consumida pelo animal (Côrtes et al., 2005), a variação da concentração dos alcanos

entre as forrageiras e também dentro da mesma espécie de acordo com o período do ano ou ciclo vegetativo (Cavalcanti et al., 2013).

Outros indicadores de grande importância para os estudos de consumo e digestibilidade são os externos, substâncias inertes que não fazem parte da dieta, fornecidos individualmente ou adicionados à dieta (Cavalcanti et al., 2013).

Entre os representantes dos indicadores externos utilizados na técnica de excreção fecal e digestibilidade aparente para avaliações de consumo está o dióxido de titânio, os lantanídeos, n-alcanos de cadeia par, o óxido crômico e o LIPE[®].

Esses indicadores podem ser administrados em dose única ou continuamente, com determinada frequência em um período de tempo, objetivando alcançar um equilíbrio de forma que a digesta esteja marcada uniformemente e a taxa de saída seja constante (Marais, 2000).

A administração individual diária do indicador exige que os animais em pastejo sejam deslocados do piquete ao curral, contidos no tronco e que sejam submetidos à introdução oral de cápsulas contendo a quantidade exata do indicador, com auxílio de sonda esofágica. Tal procedimento provoca mudanças comportamentais de pastejo, causa estresse nos animais acostumados a permanecerem constantemente no piquete, além de poderem provocar irritações na mucosa oral e do esôfago.

Existem substâncias administradas aos animais que apresentam liberação controlada do indicador (bólus). Estas apresentam a vantagem de não necessitar da administração diária do indicador, contudo é comum ocorrer estimativas superiores da produção fecal devido à discordância entre a taxa de liberação descrita no equipamento (utilizada nos cálculos) e a verdadeira taxa de liberação (Marais, 2000).

O indicador externo dióxido de titânio (TiO_2) é insolúvel em água, de coloração branca, sem odor ou sabor (Cavalcanti et al., 2013). Este pode ser utilizado como substituto do óxido crômico, pois apresenta completa recuperação fecal, com valores iguais estatisticamente a 100% (99,51 e 104%), não é afetado pelas diferentes condições de alimentação e não apresenta limitação quanto a sua inclusão na dieta animal (Sampaio et al., 2011a). Apresenta como vantagem a inexistência de propriedades carcinogênicas (Cavalcanti et al., 2013).

O dióxido de titânio não tem efeito prejudicial sobre ovinos quando ingerido 2 a 3 g por dia, apresentando recuperação fecal de 98% (Marais, 2000). Em estudos com novilhos, Titgemeyer et al. (2001) também indicaram a possibilidade de uso desta substância para bovinos. Uma das principais limitações encontra-se na escolha da técnica para determinação

do indicador que deve apresentar resultados quantitativos precisos e não apenas qualitativos (Cavalcanti et al., 2013).

Os lantanídeos são representados por quinze elementos químicos que compõe o grupo de metais terras-raras, sendo que diversos deles são utilizados como indicadores, como o itérbio, lantânio, cério, disprósio e európio (Marais, 2000).

Dentre os lantanídeos, o elemento mais utilizado como indicador externo é o cloreto de itérbio (Silva & Costa, 2013), que apresenta concentração constante em 24 horas de amostragem (Owens & Hanson, 1992). O itérbio tende a se dissociar da partícula de alimento e migrar para partículas não marcadas, além da possibilidade de sofrer solubilização em meios ácidos como o abomaso (Crooker et al., 1982). Ao comparar os coeficientes de digestibilidade obtidos a partir do cloreto de itérbio e coleta total, Saliba et al. (2002) observaram que o indicador externo subestimou os resultados em 24%.

Os N-alcenos de cadeia par, com 28 a 32 carbonos (C₂₈ a C₃₂), são utilizados como indicadores externos, pois ocorrem em concentração muito baixa nas plantas (< 40 mg/kg de MS) (Cavalcanti et al., 2013).

A recuperação fecal desses indicadores varia de 78,8 a 88,9% entre os n-alcenos de menor (C₂₈) e maior (C₃₂) cadeia, respectivamente, e essas variações nas taxas de recuperação se assemelham entre os n-alcenos de cadeia ímpar (C₂₅ a C₃₅) (Mayes et al., 1986).

A combinação de n-alcenos de cadeia par e ímpar em uma mesma dieta pode ser utilizada como ferramenta para estimativa de consumo de MS. Nestes casos, o cálculo do consumo diário de MS pelo método do duplo n-alceno é determinada pela equação: Consumo (kg MS/dia) = [(Fi/Fp)xDdp]/[Hi-(Fp×HP)], onde: Fi e Fp representam respectivamente, os teores de n-alcenos de cadeia ímpar e par nas fezes (mg/kg MS); Hi e Hp são respectivamente, os teores de n-alcenos de cadeia ímpar e par nas forragens (mg/kg MS); Ddp é a dose diária de n-alcenos de cadeia par (mg/kg MS) (Cavalcanti et al., 2013).

Alguns aspectos dos n-alcenos limitam sua escolha como indicador nos estudos de consumo e digestibilidade, como o alto custo (Carvalho et al., 2007), a necessidade de conhecimento prévio do perfil de n-alcenos da forragem consumida pelo animal (Côttes et al., 2005), a ocorrência de variações importantes na concentração fecal quando administrado uma vez ao dia (Berchielli et al., 2006) e, quando se utiliza a técnica do duplo n-alceno, a ocorrência de baixas concentrações em determinadas gramíneas tropicais (Laredo et al., 1991).

Conhecido como sesquióxido de cromo, o óxido crômico é um dos indicadores externos mais difundidos e utilizados nas estimativas de produção fecal. As vantagens

apresentadas por este indicador como, ser facilmente incorporado à dieta, apresentar análise relativamente fácil e baixo custo em relação aos demais (Morenz et al., 2006), além de permitir estimativas satisfatórias do consumo de MS de bovinos a pasto (Oliveira et al., 2004) são alguns dos motivos para a escolha do óxido crômico como indicador externo nos estudos de consumo.

Algumas desvantagens relacionadas ao uso desse indicador foram relatadas na literatura, incluindo a incompleta homogeneização na dieta (Coelho Silva & Leão, 1979), alta variação diurna de excreção fecal (Owens & Hanson, 1992; Van Soest, 1994; Kozloski et al., 2006), recuperação incompleta (Mir et al., 1989), passagem mais rápida pelo rúmen que o material fibroso e possibilidade de acúmulo em partes do TGI (Van Soest, 1994), além do potencial carcinogênico que tem limitado seu uso, havendo gradual substituição por outros indicadores (Oliveira et al., 2012a).

Ao comparar a produção fecal estimada a partir do indicador óxido crômico com a produção real, Barros et al. (2009), demonstraram uma estimativa superior da produção fecal em 5%, com boa recuperação do indicador (96,92%). Da mesma forma, Soares et al. (2004), em estudo do consumo de MS utilizando a técnica do óxido crômico encontraram resultados superestimados em 9,25% do consumo.

Pesquisas sobre lignina isolada de resíduos de milho por Saliba et al. (1999) deram início aos estudos sobre o indicador externo LIPE[®], caracterizado como hidroxifenilpropano modificado e enriquecido, indicador externo desenvolvido especificamente para pesquisa (Saliba, 2013).

Os resultados apresentados por Oliveira (2005) demonstraram que a excreção fecal e o consumo obtidos por meio desse indicador não diferem daqueles obtidos pelo óxido crômico o que caracteriza o LIPE[®] como um indicador externo capaz de estimar satisfatoriamente a excreção fecal e o consumo de bovinos. Da mesma forma, Soares et al. (2011) indicaram o LIPE[®] como indicador externo de estimativas acuradas para a produção fecal de búfalos pelo fato dos resultados não diferirem dos valores do total de produção fecal.

A utilização do LIPE[®] permite obter estimativas acuradas e eficientes de produção fecal em experimentos com diversas espécies animais, realizando análises rápidas e simples por meio de espectroscopia de infravermelho próximo (Saliba et al., 2015). Porém, por se tratar de uma técnica recente, desenvolvida especificamente para pesquisa (Saliba, 2013), seu uso limita-se aos experimentos e meio acadêmico.

3.1 Formas de administração dos indicadores

Apesar da variedade de indicadores disponíveis para os estudos de consumo e digestibilidade, a garantia de resultados precisos e acurados não se restringe apenas à escolha do indicador, mas também à sua forma de administração.

Para escolher adequadamente um indicador e a sua forma de administração deve-se reconhecer que os mesmos apresentam diferenças em suas propriedades e que a escolha também dependerá do tipo de dados que se deseja obter com o estudo (Merchen, 1993).

A administração do óxido crômico em pó, embalado em cápsulas de papel ou gelatina, via sonda oro esofágica, é a forma mais utilizada deste indicador (Carvalho et al., 2007). O fornecimento do cromo em pó tende a agravar algumas limitações desse indicador (Comeron, 1991), como a recuperação fecal incompleta (Soares et al., 2004) e a irregularidade na excreção ao longo do dia (Morenz et al., 2006; Kozloski et al., 2006). Contudo, ao administrá-lo juntamente com o concentrado pode haver uma redução na variação diurna de sua excreção (Ferreira et al., 2009).

O estresse causado pelo manejo e pelo fornecimento em si do indicador pode ser reduzido quando o mesmo é fornecido via ruminal, contudo os problemas de homogeneização com a dieta continuam presentes (Carvalho et al. 2007).

A mistura de indicador com alimento concentrado peletizado permite melhorar sua associação com as partículas de digesta, facilitar o manejo, diminuir o estresse causado aos animais e controlar sua ingestão (Carvalho et al., 2007). Porém, para que não haja necessidade do uso de cânula ruminal, a mistura de indicador mais concentrado deve ser palatável com pequena quantidade do indicador, o que exige um método de análise sensível e preciso (Carvalho et al., 2007).

A administração dos indicadores óxido crômico, dióxido de titânio e LIPE[®] juntamente com o concentrado permite estimar a digestibilidade de maneira semelhante ao método de coleta total (Ferreira et al., 2009).

3.2 Técnica do triplo indicador

Bovinos submetidos ao regime de pastejo podem ter consumos de forragem e suplemento estimados separadamente a partir da técnica dos três indicadores.

Os indicadores externos, como o lítio (Kanh, 1994), itérbio (Earley et al., 1999), óxido crômico e dióxido de titânio (Kincheloe, 2004; Fernandes et al., 2012; Lima et al., 2016) podem ser utilizados como ferramentas para avaliação do consumo individual de suplementos de animais sob pastejo.

A técnica consiste em administrar um indicador externo via sonda esofágica, para a estimativa da excreção fecal, um segundo indicador externo deve ser adicionado ao suplemento para estimativa deste consumo e um indicador interno para a estimativa direta do consumo de pasto e indireta da digestibilidade da dieta (Fernandes et al., 2012).

O uso de equações, (Eq. 1 e 2), permite estimativas dos consumos de matéria seca de suplemento e consumo voluntário de matéria seca (kg/dia) (Fernandes et al., 2012; Rocha et al., 2012):

$$CSUP = \frac{EF \times CFie}{CSie} \quad \text{Eq.1}$$

em que: CSUP = consumo de matéria seca de suplemento (kg/dia); EF = excreção fecal (kg/dia); CFie = concentração fecal de indicador externo (kg/kg); CSie = concentração de indicador externo no suplemento (kg/kg).

$$CMS = \frac{[(EF \times Fz) - (CSUP \times Ssp)]}{Ps} + CSUP \quad \text{Eq.2}$$

em que: CMS = consumo de matéria seca (kg/dia); EF = excreção fecal (kg/dia); Fz = concentração de indicador interno nas fezes (kg/kg); CSUP = consumo de matéria seca de suplemento (kg/dia); Ssp = concentração de indicador interno no suplemento (kg/kg); e Ps = concentração de indicador interno na forragem (kg/kg).

4. Óxido de Cromo (VI) – Cr₂O₃

O óxido crômico é o indicador externo mais utilizado na estimativa de produção fecal (Soares et al., 2011) em estudos de consumo e digestibilidade de ruminantes.

A administração do referido indicador em cápsulas de papel durante 12 dias permite alcançar o equilíbrio de sua excreção fecal (Aroeira, 1997). Resultados mais coerentes de consumo e desempenho são observados quando a quantidade diária de óxido crômico (10 g) é aplicada em uma única dose (Detmann et al, 2001).

A estabilização da concentração fecal do óxido crômico é observada no terceiro dia após o início da oferta do indicador, sendo suficiente igual período de adaptação ao indicador (Oliveira, 2005).

A acurácia dos resultados de produção fecal e consumo de matéria seca podem ser influenciadas por algumas características desse indicador, como a incompleta homogeneização à dieta (Coelho Silva & Leão, 1979), alta variação diurna de excreção fecal (Owens & Hanson, 1992; Van Soest, 1994; Kozloski et al., 2006), recuperação incompleta (Mir et al., 1989) e passagem mais rápida pelo rúmen que o material fibroso, possibilitando seu acúmulo em partes do trato gastrointestinal (Kameoka et al., 1956).

A variação na excreção fecal do óxido crômico e seu possível acúmulo no omaso e abomaso estão associados à superestimativas da produção fecal e do consumo de matéria seca nos estudos de consumo e digestibilidade em animais ruminantes (Soares et al. 2011).

O óxido crômico pode resultar em superestimativas de 9,25% do consumo de matéria seca em relação ao consumo medido pelas diferenças de alimento oferecido e sobras e ainda assim ser considerado um indicador satisfatório (Soares et al., 2004).

Publicações do *Journal of Animal Science* entre os anos de 1985 e 1995 mostram o óxido crômico como o indicador mais utilizado nos trabalhos, com importante informações científicas sobre o consumo e digestibilidade de alimentos (Titgemeyer, 1997). Apesar da representatividade desse indicador nos estudos de consumo e digestibilidade, observa-se uma tendência de substituição do óxido crômico por substâncias que representem menor risco à saúde e ao meio ambiente (Oliveira et al., 2012a).

5. Busca por um novo indicador – Caulim

A determinação do consumo e digestibilidade por técnicas indiretas está intimamente relacionada com a escolha do indicador que representa um importante passo para resultados acurados e precisos. O fato de todos os indicadores em uso apresentarem limitações abre espaço para a busca de novas substâncias ou moléculas que apresentem propriedades favoráveis como futuros indicadores. O caulim destaca-se como interessante alternativa, pois já faz parte da nutrição dos animais e por se tratar de um mineral cujas características evidenciam possível aplicação como indicador fecal.

O termo caulim é derivado de uma localidade conhecida como Kao-Ling na China, que significa colina alta, onde a população local utilizava a argila presente no solo da colina na produção de porcelanas finas, sendo esta a razão de ser comercialmente também conhecido como "China Clay" (Bristow, 1987b).

O caulim é um argilomineral representado principalmente pela caulinita e haloisita, presentes em abundância na natureza (Silva, 2001). Apresenta várias aplicações industriais

(Murray, 2000; 2007), bastante utilizado como material de enchimento (Xiang and Gu, 2006; Rugmini and Menon, 2008), como pigmentos para papel (Murray and Kogel, 2005; Vimonses et al., 2009), também é bastante utilizado na indústria de ração animal (Bordonalli, 1995).

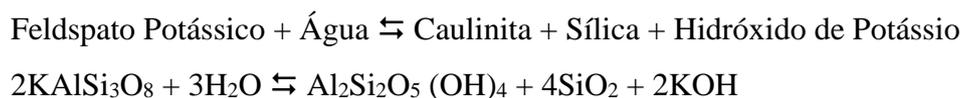
A rocha de caulim é composta principalmente de minerais do grupo caulinita, e componentes como o quartzo, mica, feldspato, óxidos de ferro (Fe), alumínio (Al) e titânio (Ti) (Luz & Damasceno, 1993).

A variabilidade dos elementos minerais que originam o caulim ocorre devido a variação dos tipos de rochas envolvidas em sua formação, sendo observado diferentes grupos de caulins nos principais depósitos do Brasil (Fig. 1).

A alteração das rochas feldspáticas por processo geológico resultam na formação do caulim, ocorrendo dois tipos de depósitos: a) primários ou residuais, resultante da alteração de rocha por processo de intemperismo, hidrotermal ou “solfataras”; b) secundário, formado pela deposição de materiais transportados por correntes de água doce, sendo estes classificados como sedimentares, areias caulínicas e argilas plásticas (Luz & Damasceno, 1993; Luz et al., 2009).

A formação do caulim por intemperismo se dá pela ação climática quente e úmida principalmente sobre granitos, gnaisses e meta-arcósios, com geração de depósitos irregulares tanto na forma como na espessura (Bordonalli, 1995).

A caulinização da rocha ocorre devido a hidratação de um silicato anidro de alumínio, seguida da remoção de álcalis, conforme reação a seguir (Luz et al., 2009).



O processo de hidrotermalismo ocorre com a passagem de fluidos hidrotermais em falhas e fraturas do corpo rochoso e posterior ação de águas superficiais e de baixas temperaturas que completam a caulinização dos feldspatos (Witte, 1993).

A alteração tipo “solfataras” ocorre a partir da ação vulcânica ácida, constituídas de vapores e águas quentes, ricos em enxofre, que passam entre as rochas formando o caulim (Bristow, 1987a). Estes tipos de depósitos são pouco encontrados no Brasil devido às características geológicas da região, onde não existem relatos de atividade vulcânica. Neste caulim, o quartzo ocorre em granulometria fina, semelhante da caulinita, sendo difícil sua remoção, portanto torna-se um produto abrasivo (Luz et al., 2009).

Os depósitos primários de caulim encontrados no Brasil resultam da alteração intempérica de rochas cristalinas, e os secundários são resultados do processo de sedimentação dos depósitos primários (Luz & Damasceno, 1993).



Figura 1. Localização dos principais depósitos de caulins no Brasil (Wilson et al. 1998).

As diferentes origens geológicas dos caulins secundários resultam em diferenças na composição mineralógica (Luz et al., 2009), em geral com maior concentração de contaminantes como óxido de ferro (Fe) e titânio (Ti) (Bristow, 1987a, Luz e Damasceno, 1993), porém sua granulometria é a mais fina dos argilominerais (Luz et al., 2009).

Os caulins secundários são classificados em três grupos: sedimentares, areias caulínicas e argilas plásticas, refratárias e silicosas (Luz e Damasceno, 1993).

O caulim sedimentar apresenta elevada porcentagem de caulinita após seu beneficiamento, enquanto as areias caulínicas contêm menos de 20% de caulinita (Luz et al., 2009).

As argilas plásticas (ball clays) são constituídas de caulinita, ilita e material carbonoso, sendo que as argilas refratárias apresentam composição química semelhante porém, ocorrem associadas a gibbsita e a haloisita (Luz et al., 2009). Enquanto as argilas

silicosas (flint clays), segundo os mesmos autores, são constituídas de caulinita, contendo Fe e outros componentes escorificantes.

A caulinita é um dos minerais mais abundantes na crosta terrestre e, apresenta caráter hidrofílico ou lipofóbico que é conferido pelo fato da superfície de seus cristais ser formada por ânions de um lado OH^- e de outro O^{2-} (Coelho et al., 2007).

O grupo das caulinitas é subdividido de acordo com a presença e a natureza de seus constituintes e dos demais minerais associados (Bordonalli, 1995). São quatro as argilas básicas desse grupo: o caulim, que é nosso objeto de estudo, o "ball clay", as argilas refratárias e a haloisita (Santos, 1975).

A haloisita, mineral do grupo das caulinitas também abundante no caulim, difere deste por apresentar forma tubular e viscosidade seis a sete vezes maior (Bordonalli, 1995).

Os caulins são aluminossilicatos hidratados, cuja composição aproxima-se de $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$, o que corresponde a aproximadamente 46,5% de SiO_2 , 39,5% de Al_2O_3 e 14% de H_2O e outros elementos em menor quantidade como Fe, Ti, manganês (Mn), magnésio (Mg), potássio (K) e sódio (Na) (Giese Jr., 1988), estes últimos representam as impurezas do caulim (Bordonalli, 1995).

A coloração branca do caulim é um dos principais fatores responsáveis por seu grande uso industrial e está associada com a característica da caulinita que apresenta íons incolores e quando esses cristais encontram-se na forma de pó apresentam cor branca (Coelho et al., 2007).

A composição química e mineralógica dos caulins variam de acordo com o tipo de depósito e localização no Brasil (Tab. 2).

Independentemente do tipo de formação (primária ou secundária), a qualidade do caulim dependerá de alguns padrões físicos e químicos, como a alvura, distribuição granulométrica, viscosidade, porcentagem de areia e de óxidos de Al e silício (Si) (Bordonalli, 1995).

Existe grande variedade de produtos no mercado, incluindo caulins beneficiados e não beneficiados (Bordonalli, 1995). O produto não beneficiado trata-se do caulim extraído e imediatamente consumido (minério ou caulim bruto), sem que haja tratamento químico ou magnético posterior à extração (Bordonalli, 1995). Enquanto o caulim beneficiado, de carga ou cobertura, pode ser obtido por beneficiamento a seco ou úmido, e tem o objetivo de realçar determinadas propriedades do caulim, como alvura, granulometria, viscosidade e superfície específica (Bordonalli, 1995).

Tabela 2. Análises químicas e mineralógicas de caulins brasileiros (adaptado de Wilson et al., 1998).

Tipo de depósito	Morfologia ¹	Localização	Análise Química (Peso % FRX) ²								Análise mineralógica (Peso % DRX) ²				
			SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	TiO	CaO	MgO	K ₂ O	NaO	LOI	Caulim	Mica	Feldspato	Quartzo
Sedimentar	L	Tio Jari, PA	45	37	2,2	1,3	0,03	0,03	0,01	0,08	14,4	99	tr	-	tr
	L	Plateau Berenice	45	38	2,1	1,4	0,04	0,01	0,01	0,07	14,0	99	tr	-	tr
	L	Capim													
	T	Registro, SP	47	37	0,8	0,7	0,05	0,06	0,04	0,11	14,5	93	5	-	-
Pegmatitos	T	Marilac, MG	46	40	0,05	0,50	0,04	0,03	0,53	0,05	13,8	95	4	tr	tr
	T	Bicas, MG	46	40	0,06	0,05	0,03	0,08	0,24	0,06	13,8	95	4	-	-
	T	S. Antonio, Rio	46	39	0,26	0,09	0,08	0,26	0,84	0,29	13,1	95	4	-	tr
	T	Conceição, MG	46	39	0,05	0,01	0,03	0,05	0,21	0,12	14,0	94	6	-	-
	L	Junco, PB	46	39	0,26	0,02	0,05	0,11	0,54	0,08	13,7	93	6	-	1
Graníticos	L	Jundiapéba, SP	46	39	0,71	0,05	0,04	0,12	1,25	0,12	13,0	90	7	-	1
	T	Embu, SP	46	39	0,36	0,01	0,07	0,09	0,74	0,43	13,6	96	4	-	-
	T	Piracaia, SP	49	35	1,4	0,14	0,05	0,16	2,4	0,8	12,1	82	7	9	2
Anortosito	T	Encruzilhada, RS	45	40	0,34	0,01	0,24	0,44	1,10	0,18	13,1	85	15	-	tr
Vulcânico	T	S. Bento (Turvo), SC	52	34	0,53	0,74	0,05	0,21	0,28	0,07	12,1	93	-	-	7
	T	S. Bento (Kovalski)	57	30	0,98	0,25	0,05	0,26	1,20	0,06	11,1	89	-	-	11

1: Morfologia - L = Caulinita laminar; T= Haloisita tubular

2: FRX = Fluorescência de raio X (Peso %); DRX = Difração de raio X (Peso %); tr = traços

O beneficiamento a seco é realizado quando o caulim apresenta alvura, distribuição granulométrica adequada e baixo teor de quartzo (Luz et al., 2009). O processo consiste em fragmentar o caulim bruto (rocha), secar em secadores rotativos e pulverizar em moinhos de rolo e, por último separar partículas por flotação de ar, onde as partículas mais finas são conduzidas para o topo do aereo separador por uma corrente de ar quente (Luz et al., 2009).

As etapas envolvidas no beneficiamento a úmido são dispersão, desareamento, fracionamento em hidrociclone ou centrífuga, separação magnética, floculação seletiva, alveijamento químico, filtragem e secagem (Monte et al., 2001) (Fig. 2).

Parâmetros como a variedade do caulim produzido, a tipologia dos depósitos, os tipos de produtos e formas de beneficiamento permitem a divisão qualitativa do caulim em caulim de alto padrão, de padrão intermediário e padrão marginal (Bordonalli, 1995).

O caulim de alto padrão ou “coating” apresenta alvura elevada (85-91%) e 78 a 98% das partículas apresentam granulometria inferior a 2 µm (Bordonalli, 1995). Diferentemente, o caulim de carga apresenta qualidade inferior com alvura variando entre 70 e 80% e granulometria abaixo de 2 µm representados por 30 a 97% do material (Bordonalli, 1995).

O padrão marginal confere ao caulim um perfil para ser utilizado em cerâmica, cimento branco e ração animal, o mesmo pode ser comercializado na forma beneficiada a seco, úmido ou na forma bruta (Bordonalli, 1995).

Existe uma diferenciação do caulim de acordo com a granulometria e quantidade de quartzo, em caulim duro, intermediário, macio e arenito caulínico (Fig. 3) (Criscuolo, 2008).

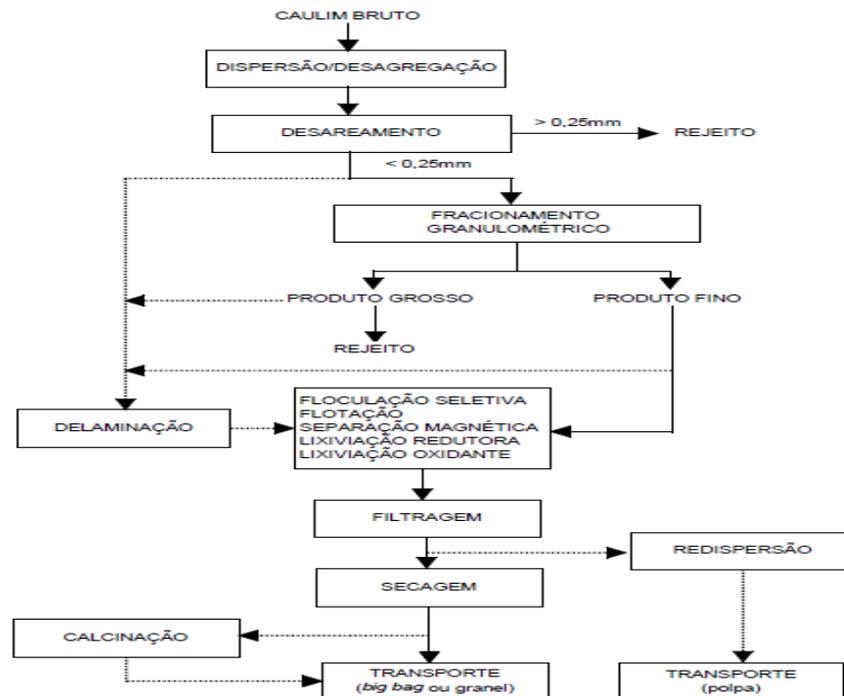


Figura 2. Diagrama simplificado do beneficiamento de caulim, via úmida (Luz et al., 2009).

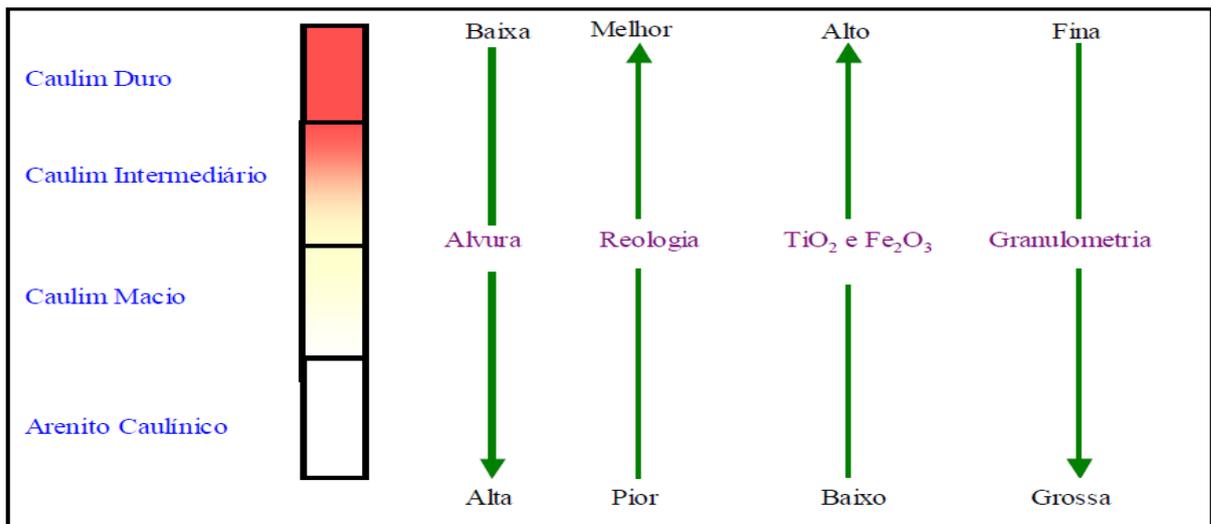


Figura 3. Características de qualidade x tipo litológico de uma jazida de caulim (Criscuolo, 2008).

O caulim apresenta algumas características que o credenciam como potencial indicador externo em estudos de consumo e digestibilidade, como ser inerte em ampla faixa de pH (3 a 9), fácil dispersão, baixa condutividade térmica e elétrica, pouca abrasividade, baixo custo (Silva, 2007; Luz et al., 2009) e boa resistência ao ataque químico por ácidos ou álcalis (Coelho et al., 2007).

Outra característica atrativa desta substância para os estudos de consumo e digestibilidade está na facilidade de sua aquisição, pois o Brasil encontra-se em 5º lugar no ranking mundial de produtores (Soeiro, 2014).

Os minerais argilosos, como a caulinita, podem ser utilizados no tratamento de algumas enfermidades, como situações patológicas crônica ou aguda de diarreia (Carretero, 2002). As características de adsorção e ausência de toxicidade primária do caulim (Anonymous, 1998) possibilitam considerá-lo material efetivo na prevenção de efeitos tóxicos causados no ambiente e/ou em organismos vivos por diversos materiais (Trckova et al., 2009).

A administração dietética de caulim resulta na redução da absorção de toxinas presentes na alimentação através da mucosa intestinal, uma vez que ele se liga seletiva e firmemente à substância tóxica, eliminando seus efeitos (Trckova et al., 2009). Contudo, existe o risco de contaminação do caulim por micobactéria potencialmente patogênico, durante seu beneficiamento (Matlova et al., 2004).

Estudos demonstram que as argilas minerais podem aumentar o ganho de peso corporal e melhorar a conversão alimentar dos animais (Papaioannou et al., 2005; Alexopoulos et al., 2007; Trckova et al., 2009). Para alcançar esses resultados recomenda-se uma suplementação de dieta com 1 a 3% de argilas adsorventes (Trckova et al., 2009).

O efeito adsorvente sobre a eficiência animal é explicado pela redução da velocidade de passagem do alimento no intestino, melhorando a conversão e aumentando a reabsorção de água (Castro and Elias, 1978; Papaioannou et al., 2005). Outro mecanismo aceito por alguns autores é a melhora do crescimento e eficiência devido a redução da produção de amônia nos intestinos (Papaioannou et al., 2005).

5.1 Como medir a presença do Caulim nas fezes?

O caulim por ser um composto instável em meio ácido, pode dissociar-se no TGI, assim como reagir com outras substâncias orgânicas ou minerais do meio. Desta forma, não é possível sua identificação nas fezes, a não ser de forma indireta por meio de seus principais componentes – entre eles o Si e o Al.

A determinação da concentração destes elementos nas fezes pode ser uma maneira indireta de sabermos a quantidade do caulim excretado. Entretanto faz-se necessário o conhecimento da forma de excreção dos mesmos, nível de absorção e tipos de contaminantes possíveis.

5.2 Alumínio

O alumínio é um componente do solo encontrado na natureza como minerais de argila, como caulinita, gibbsita e outros óxidos (Pedrotti et al. 2003). Não ocorre na natureza na forma elementar e, devido sua alta afinidade pelo oxigênio (O) é encontrado na forma

combinada Al^{3+} , em rochas e minerais como, $\text{Al}(\text{OH})_3$, Al_2O_3 , $\text{Na}[\text{Al}(\text{OH})_4]$, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e haletos de alumínio (Constantino et al., 2002). O hidróxido de alumínio, composto químico de fórmula $\text{Al}(\text{OH})_3$, é a forma mais estável de alumínio nas condições normais.

A caulinita é um mineral do grupo argilomineral, principal constituinte do caulim (Teixeira, 2015). Apresenta estrutura cristalina do tipo 1:1 o que lhe confere caráter hidrofílico ou lipofóbico (Coelho et al., 2007). A ligação de hidrogênio e o baixo grau de carga permanente conferem ausência de substituições isomórficas em sua estrutura, portanto existe baixa capacidade de troca catiônica desse argilomineral (Khawmee et al., 2013)

Gibbsita tem uma típica estrutura de hidróxido metálico com ligações de hidrogênio, sendo constituída por duas camadas de grupos hidroxila com íons alumínio ocupando dois terços dos buracos octaédricos entre as duas camadas. Esse mineral é importante na agregação do solo devido sua característica microscópica, em que a estrutura tende a granular com o aumento dos seus teores no solo (Resende, 1985)

Alumínio é o terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre, excedido apenas pelo O e Si (Pedrotti et al., 2003). Entretanto é encontrado apenas em quantidades traços nos organismos biológicos. Devido sua alta reatividade natural, o Al ocorre na natureza combinado com O, Si, Flúor (F) e outros compostos (McDowell, 1992), tornando-se insolúvel em condições ambientais, e desta forma, sua concentração em soluções aquosas e até mesmo nas fontes de suprimento para os animais é extremamente baixa (Miller et al., 1984).

O Al ao ser liberado dos minerais para a solução de solo pode causar problemas de fitotoxidez às plantas, reduzem a capacidade de troca catiônica do solo e influenciam atributos físicos do solo (Wada & Harward, 1974; Goldberg, 1989). O sintoma mais visível de toxicidade de alumínio às plantas é a redução do crescimento do sistema radicular, causada por mecanismos diferentes, que atuam fora ou no interior das células (Delhaize, 1995).

Ocorre em alta variabilidade em plantas (McDowell, 1992), árvores e samambaias podem apresentar de 3000 a 4000 mg/kg de Al enquanto que em gramíneas e trevos os níveis não ultrapassam 50 mg/kg (Underwood, 1977). A constituição de Al nos solos fica entre 3 a 6%, representado em sua maioria por complexos siliciosos insolúveis (Suttle, 2010).

Esses complexos insolúveis ocorrem predominantemente em solos com pH acima de 5,8 em que apresentam pequenas quantidades de Al trocável (McDowell, 1992), pois praticamente todo o mineral estará na forma insolúvel ($\text{Al}(\text{OH})_3$), não tóxica para as plantas (Faquin, 2005). Sob essas condições de pH também apresentarão baixo potencial de toxidez aos animais em pastejo.

Em solos ácidos observa-se maior disponibilidade de Al trocável em solução de solo, que pode acarretar em toxicidade quanto maior for a absorção do elemento pelas plantas. Contudo, na intenção de se proteger do efeito tóxico do Al, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa durante seu processo evolutivo, como limitações da sua translocação para a parte aérea, procurando mantê-lo nas paredes celulares do córtex das raízes, na forma de compostos aluminossilicatos e complexação do Al em ácidos orgânicos nas raízes (Sangster et al. 2001; Ma, 2000).

A pastagem juntamente com o solo representam as principais fontes de Al para os animais, porém o pasto apresenta baixo teor de Al entanto o solo é rico neste elemento. As partículas grosseiras ingeridas de solo provavelmente ficam retidas no retículo-rúmen, enquanto as partículas finas são rapidamente excretadas pelas fezes (Brebner et al., 1985). O alumínio pode constituir de 0,3 a 1,2% da matéria seca ingerida por animais em pastejo, pois a ingestão de solo por estes animais pode representar 10 a 25% da ingestão de matéria seca (Healy et al., 1974; Thornton, 1974).

Existe a teoria que de que a maioria das formas de Al ingerida é gradualmente solubilizada pelo ácido clorídrico estomacal (Stewart, 1989; Lote & Saunders, 1991), contudo, a solubilização gástrica dependerá da forma em que o Al ingerido se encontra (Powell & Thompson, 1993). Os aluminossilicatos são pouco solúveis mesmo em pH ácido, e quando solubilizados não são absorvidos (Mauras et al., 1983). A dissolução e absorção do $Al(OH)_3$ é variável mas baixa (Weberg & Berstad, 1986), enquanto sais solúveis são mais absorvíveis (Froment et al., 1989).

Menos de 1% do Al ingerido é absorvido pelo trato gastrintestinal e retido nos tecidos dos animais, portanto a excreção urinária somente será importante quando o consumo for excessivo (NRC, 2005). Essas características de baixa absorção e boa excreção urinária quando ingerido em excesso, indicam a baixa toxicidade deste elemento para os animais (Suttle, 2010). Testes com ratos e animais de laboratório, ingerindo dieta contendo moderada quantidade de Al (160 a 335 ppm), excretaram praticamente todo o Al via fezes (McDowell, 1992).

A pequena quantidade de Al que é absorvida ocorre através da mucosa gástrica (nanopartículas) ou no intestino delgado proximal, imediatamente antes da precipitação como hidróxido pela ação de secreções pancreático-biliares (Powell & Thompson, 1993). A absorção pode ocorrer por meio de processo passivo ou ativo envolvendo proteínas de ligação a metais, inespecíficas da mucosa (NRC, 2005). Nessas situações de absorção ou de

administração sistêmica a principal via de excreção do Al observada é a urinária (Alfrey, 1986).

Nos casos em que as excreções fecal e urinária não são suficientes para a eliminação do mineral, o mesmo é absorvido e depositado no fígado, ossos, cérebro, e outros tecidos (NRC, 1980).

O alumínio é classificado como tóxico devido sua atividade biológica estar relacionada a reações tóxicas (McDowell, 1992) porém, sua toxicidade em humanos é considerada relativamente baixa (Underwood, 1977) e de acordo com McDowell (1992) este elemento é facilmente eliminado do corpo pelas fezes.

Em ruminantes a toxidez do Al está altamente associada à deficiência de fósforo, pois a afinidade destes minerais pode resultar na formação de complexos que não são absorvidos pelo intestino (Foy & Brown, 1963), interferindo na formação óssea. O Al depositado na mitocôndria dos osteoblastos inibe a formação dos fosfatos ósseos (Lieberherr et al., 1987), tornando os ossos mais frágeis. Contudo, evidências indicam que o acúmulo de Al pode induzir a regeneração óssea a partir de estímulos a certas enzimas envolvidas no metabolismo do succinato e, é considerado essencial para a fertilidade de ratas (NRC, 1980).

O nível máximo tolerável de um mineral é definido como nível dietético que, quando fornecido por um período limitado não prejudique o desempenho animal e não produza resíduos perigosos na alimentação humana derivados de animais (NRC, 1980). A idade, condição fisiológica do animal, biodisponibilidade do elemento consumido e sua relação com os outros minerais determinam a ingestão máxima tolerável de Al (McDowell, 1992). De maneira geral, os bovinos toleram a ingestão máxima de 1000 ppm de sais solúveis de alumínio de alta biodisponibilidade (McDowell, 1992).

Se a ingestão de Al é oriunda de solo, provavelmente apresentará menor biodisponibilidade quando comparado aos sais inorgânicos, assim apresentará menor efeito sobre a disponibilidade do fósforo (Robinson et al., 1984). Além disso, não existem evidências de hipofosfatemia ou má mineralização óssea em animais recebendo dietas com níveis adequados de fósforo, mesmo com a ingestão de solos ricos em alumínio (Suttle, 2010).

As diferentes fontes de Al conferem diversidade em sua biodisponibilidade e toxicidade potencial. A ingestão de cloreto e lactato de Al por períodos acima de 24 semanas está associada a redução da atividade da bomba de sódio-potássio (Na-K), aumento na concentração de Al em várias regiões cerebrais, além de aumento de peroxidação lipídica (Lal et al., 1993; Sarin et al., 1997) que provavelmente resulta em diminuição significativa do

conteúdo em lipídios totais, glicolípídios e fosfolípídios, bem como um aumento dos níveis de colesterol e da razão colesterol/fosfolípídios (Sarin et al., 1997).

A atividade da bomba de sódio-potássio é essencial em diversas funções celulares já que os gradientes eletroquímicos de Na e K são importantes para o controle do volume celular, transporte de metabólitos e outras substâncias e para garantir a excitabilidade das células nervosas e musculares (Mobasheri et al., 2000; Jorgensen et al., 2003).

O alumínio é considerado um agente neurotóxico (Yokel, 2000), relacionado a doenças degenerativas como a Doença de Alzheimer (Mjöberg et al., 1997; Exley, 1999; Exley & Korchazhkina, 2001; Flaten, 2001). Conteúdos de 15 a 30 $\mu\text{mol/Kg}$ de peso seco de cérebro são considerados normais em humanos, sendo observados aumentos de três a dez vezes desse conteúdo em casos de intoxicação (Ganrot, 1986).

5.3 Silício

O silício, depois do O_2 , é o elemento mais abundante da crosta terrestre e está entre os doze elementos principais na composição dos organismos vivos (Santos, 2009). Enquanto o óxido de silício (SiO_2) é o mineral mais abundante nos solos, constituindo a base da estrutura da maioria dos argilominerais (Barbosa Filho et al., 2001).

Em razão do avançado grau de intemperização em que se encontram os solos tropicais, o Si é encontrado basicamente na forma de quartzo, opala ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) e outras formas não-disponíveis às plantas (Barbosa Filho et al., 2001).

A adubação com Si pode resultar em aumento na produtividade de várias culturas como o arroz e cana-de-açúcar (Fox et al., 1967; Datnoff et al., 1991; Anderson et al., 1991). Esses autores relacionam a presença do Si na planta com resistência à pragas e doenças, maior capacidade fotossintética (as folhas ficam mais eretas e a incidência de luz é maior) e tolerância à falta de água.

Mesmo não sendo considerado elemento essencial para o desenvolvimento das plantas, sua absorção pode trazer inúmeros benefícios, principalmente para culturas acumuladoras de Si, como o arroz (Mengel & Kirkby, 1987). As plantas absorvem o Si da solução do solo na forma de ácido monossilícico $\text{Si}(\text{OH})_4$, juntamente com a água e se acumula principalmente nas áreas de máxima transpiração (tricomas, espinhos) como ácido silícico polimerizado (sílica amorfa) (Tisdale et al., 1993).

Em geral, são consideradas plantas acumuladoras de Si, aquelas que possuem teor foliar acima de 1%, e não acumuladoras plantas com teor de silício menor que 0,5% (Ma et al., 2001).

O Si, ao ser absorvido pelas plantas, é facilmente translocado no xilema, e tem tendência natural a se polimerizar. Mais de 94% do Si absorvido pelo trigo é transportado rapidamente para a parte aérea, concentrando-se nas folhas mais velhas, com teores de até 11,8% de Si.

Na planta, o silício concentra-se nos tecidos de suporte, caule e folhas, podendo ser encontrado em pequenas quantidades nos grãos. Em geral, o conteúdo médio de silício das raízes é menor se comparado com o caule e folhas, em alguns casos, como a soja, o teor de Si na raiz é maior do que nas folhas (Oliveira, 2004).

Do ponto de vista técnico, determinações indiretas do caulim via Si, apresentam como dificuldades as altas concentrações de Si contaminantes, oriundos de outras fontes, como solo e plantas (forragens), o que exige estratégias de separação e identificação destes.

A ingestão oral de silício por espécies monogástricas não representa risco à saúde, contudo, a ingestão de plantas ricas em Si pode resultar em cálculos renais silicosos em ruminantes (McDowell, 1992), além de reduzir a digestibilidade (Van Soest & Jones, 1968).

O silício é facilmente excretado pela urina, porém em algumas situações, como o consumo excessivo do mineral, pode ocorrer deposição do Si nos rins, bexiga ou uretra formando os cálculos ou urólitos (McDowell, 1992).

6. Técnicas Analíticas

Os métodos de quantificação dos minerais nas fezes geralmente envolvem duas etapas, a extração e a quantificação. A primeira é utilizada para eliminar a matéria orgânica da amostra e deixar o mineral em uma forma química possível de ser quantificada pela segunda etapa (Souza et al., 2013).

A digestão úmida de material biológico é caracterizada pelo uso de ácidos e reagentes oxidantes para digerir as amostras (McDowell, 1992), podendo ser precedida por calcinação em altas temperaturas que auxiliam na eliminação da matéria orgânica (Souza et al., 2013). Com este procedimento obtém-se o extrato do material digerido o qual será utilizado para a quantificação do mineral desejado.

Podemos destacar ácidos como o nítrico (HNO_3), perclórico (HClO_4), fosfórico (H_3PO_4), sulfúrico (H_2SO_4) e algumas misturas dos mesmos, como os mais utilizados nas técnicas de digestão (Kimura & Miller, 1957; Willians et al., 1962; Fenton & Fenton, 1979).

A digestão nitroperclórica ($\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$) é a metodologia mais utilizada para obtenção de extratos nas análises de alumínio em plantas, associada ao método colorimétrico

da aluminona (ácido aurintricarboxílico) para quantificação (Malavolta et al., 1997), contudo outros métodos importantes utilizados na quantificação de minerais, em especial para alumínio e cromo, devem ser lembrados.

A espectrofotometria de absorção atômica (EAA) representa umas das técnicas de quantificação mineral. A EAA consiste em introduzir o elemento mineral em uma chama, haverá uma dissociação de sua ligação química em átomos individuais (McDowell, 1992). O átomo é capaz de absorver radiação em determinados comprimentos de onda, dessa forma, a concentração do elemento é determinada a partir da quantidade de luz absorvida com a passagem de um feixe de luz através da chama (McDowell, 1992).

A utilização de técnicas de digestão baseadas na utilização de ácidos nítrico e perclórico, ácido sulfúrico e perclórico combinadas com quantificações por EAA mostram-se acuradas para determinação da concentração de cromo nas fezes de bovinos (Souza et al., 2013).

Uma das técnicas bastante utilizada para determinação de íons metálicos é a espectrometria de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado (ICP-OS). Apresenta boa sensibilidade, precisão, rapidez, sendo capaz de determinar simultaneamente a maioria dos elementos da tabela periódica (Korn et al., 2007). O princípio da técnica consiste na radiação eletromagnética nas regiões visível e ultravioleta do espectro por átomos e íons após excitação eletrônica em um gás (plasma) em alta temperatura, operando entre 180 a 900 nm (Settle, 1997).

A fonte de excitação transforma a amostra que se encontra em estado sólido, líquido ou gasoso, em um plasma de átomos, íons e radicais moleculares que podem ser eletricamente excitados. Posteriormente, há a emissão de radiação e a mensuração da intensidade dessa radiação emitida que é utilizada para determinar a concentração dos elementos presentes (Adams et al., 1988).

6.1 Comparações analíticas entre o Si e o Al

Muitos procedimentos analíticos têm sido testados para a determinação do silício em solo, planta e fertilizantes, sendo a determinação colorimétrica a mais empregada. O procedimento colorimétrico é rápido, preciso e de baixo custo, além de possibilitar a determinação de pequenas (método azul) ou grandes quantidades (método amarelo) de silício (Korndorfer et al, 2004).

A determinação colorimétrica envolve a reação do ácido silícico com o ácido molíbdico [$H_4(SiMo_{12}O_{40})$], resultando na formação do complexo ácido sílico-molíbdico, de

coloração amarela (Shell, 1962), podendo ser encontrado na forma de ácido α -sílico-molíbico (em pH mais baixo) ou β -sílico-molíbico (em pH mais alto) (Hallmark et al., 1982).

Durante a análise de silício, ocorre uma redução da absorbância em função do tempo de reação, ocasionada, em parte, pela transformação do complexo α em β . Assim, para promover a estabilização da forma α do ácido sílico-molíbico, faz-se a adição de ácido sulfúrico (H_2SO_4) na solução (Snyder, 2001). Tanto o complexo sílico-molíbico amarelo lido no comprimento de onda de 410nm, como o azul em 660nm podem ser utilizados para a determinação colorimétrica do silício.

Os teores de Si presentes no extrato é resultado da força de ação/reação dos extratores usados, sendo a mesma aplicada como critério para os objetivos finais da análise em questão.

Para a determinação da disponibilidade de Si da amostra para as plantas (usado nas análises de Si em solo) aplica-se extratores mais fracos como o ácido acético ou o cloreto de cálcio. Caso necessite conhecer a concentração do Si em tecidos orgânicos/vegetal faz-se o uso da água oxigenada (H_2O_2) em associação com o hidróxido de sódio (NaOH) (na determinação dos teores de Si na planta para definir exigências nutricionais). Para determinar quantidade total de Si na amostra (análises de fertilizantes, por exemplo) utiliza-se extratores fortes como o ácido clorídrico em associação com o ácido fluorídrico (Korndorfer et al., 2004).

O principal método utilizado nas determinações do Al é o teste colorimétrico da aluminona (Brauner et al., 1966). Após a digestão ácida, o Al^{3+} é tratado pela aluminona (ácido aurintricarboxílico), formando um complexo colorido. A concentração de Al do referido extrato pode ser medida por colorimetria ou espectrofotometria, a partir de comparações dos valores em curva padrão previamente feita com soluções contendo concentrações conhecidas de Al.

O grande poder de pigmentação do íon Fe constitui o principal interferente nas análises de Al pela técnica da aluminona (Malavolta et al., 1997; Costa et al., 2002). A adição de ácido ascórbico resulta na formação de um complexo sem coloração com o Fe (Malavolta et al., 1997).

A técnica da aluminona é simples e de baixo custo, necessitando o preparo da amostra (calcinação), digestão ácida (nitroperclórica) e leitura do espectro. Tem o objetivo de medir a totalidade de alumínio da amostra, tanto de origem mineral (caulim) quanto de origem orgânica (contaminantes – planta e solo), já que a amostra é precedida de calcinação, ou seja, da queima total da matéria orgânica.

7. Escolha do componente para análise do Caulim

Como descrito anteriormente, para sabermos o volume de caulim excretado via fezes, é preciso determinar a concentração de algum de seus elementos e a partir desta estimar indiretamente a sua concentração. Desta forma é importante realizar comparações entre os seus possíveis elementos, no que se refere aos aspectos – absorção, via de excreção, contaminação, e técnicas de análises.

A maior concentração de Si (46,5% de SiO_2) em relação ao Al (39,5% de Al_2O_3) no caulim (Giese Jr., 1988) pode induzir a escolha do primeiro elemento para estimativas do produto na fezes pressupondo obter estimativas mais precisas. No entanto, é sabido que ambos elementos apresentam concentrações contaminantes oriundas da ingestão de fontes não controladas durante o pastejo (solo, forragem).

O fato do Al de estar presente nas forrageiras em concentração muito pequena leva a acreditar que este elemento é a escolha mais coerente. Apesar da elevada ingestão de solos, 10 a 25% da ingestão de MS, resultar em Al contaminante na faixa de 0,3 a 1,2% da matéria seca ingerida por animais em pastejo (Healy et al., 1974; Thornton, 1974).

O silício apresenta alta concentração contaminante oriundo de solo, pois é o mineral mais abundante nos solos (Barbosa Filho et al., 2001) e também em forragens, o que exige estratégias de separação e identificação para possibilitar a estimativa do caulim nas fezes.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, F.; GIJBELS, R.; VAN GRIEKEN, R. *Inorganic mass spectrometry*. New York Wiley, 1988.
- AITICHISON, E., GILL, M., FRANCE, J., DHANOA, M.S. Comparison of methods to describe the kinetics of digestion and passage of fiber in sheep. *J. Sci. Food Agric.*, v.73, p.1965-1074, 1986.
- ALEXOPOULOS C., PAPAIOANNOU D.S., FORTOMARIS P., et al. Experimental study on the effect of in-feed administration of a clinoptilolite-rich tuff on certain biochemical and hematological parameters of growing and fattening pigs. *Livestock Science*, v.111, p.230–241, 2007.
- ALFREY, A.C. Aluminun. In: MERTZ, W. (Ed.). Trace elements in human and animal nutrition. 5ed. San Diego: ACADEMIC PRESS, v.2, p.225-244, 1986.
- ANDERSON, D.L.; SNYDER, G.H. & MARTIN, F.G. Multi-year response of sugarcane to calcium silicate slag on Everglades Histosols. *Agron. J.*, v.8, p.870-874, 1991.
- ANONYMOUS Kaolin clay Tolerance Requirement Exemption 2/98. Environmental Protection Agency (EPA), Federal Register February 25, v.63, n.37, p.9427–9430, 1998.
- ARAÚJO, K.V.; LIMA, J.A.F.; FIALHO, E.T.; MIYAGI, E.S. Comparação dos indicadores internos com o método de coleta total para determinar a digestibilidade dos nutrientes de dietas mistas em equinos. *Ciênc. agrotec.*, v.24, n.4, p.1041-1048, 2000.
- AROEIRA, L.J.M. Estimativas de consumo de gramíneas tropicais. In: TEIXEIRA, J.C. (ED.) Simpósio Internacional de Digestibilidade em Ruminantes. Anais... (1997) Lavras: UFLA-FAEPE, 1997, p.127-163.
- BAILE, C.A.; FORBES, J.M. Control of feed intake and regulation of energy balance ruminants. *Physiol. Rev.* v. 54, p. 160-214, 1974.
- BARBOSA FILHO, M.P.; SNYDER, G.H.; FAGERIA, N.K. et al. Silicato de cálcio como fonte de silício para o arroz de sequeiro. *R. Bras. Ci. Solo*, v.25, p.325-30, 2001.
- BARROS, E.E.L; FONTES, C.A.A.; DETMANN, E. et al. Vícios na estimação da excreção fecal utilizando indicadores internos e óxido crômico em ensaios de digestão com ruminantes. *Rev. Bras. Zootec.*, v.38, n.10, p.2015-2020, 2009.
- BERCHIELLI, T.T., ANDRADE, P.; FURLAN, C.L. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 29, n.3, p. 830-833, 2000.
- BERCHIELLI, T.T.; GARCIA, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudos de nutrição. In: _____ (Eds.). Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p.397-421.

BERCHIELLI, T.T.; VEGAGARCIA, A.; OLIVEIRA, S.G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds). *Nutrição de Ruminantes*. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2011. p.565-600.

BOHNERT D.W., HARMON D.L., LARSON B.T. Evaluation of four internal markers and an intra-ruminal chromium-releasing device for use in predicting diet digestibility and intake in beef steers. *Kentucky Beef Cattle Research Report*, Agricultural Experimental Station, College of Agriculture, University of Kentucky, KY (USA), pp. 29-30, 2000.

BORDONALLI, S.P. *Potencial Técnico e Econômico da Indústria do Caulim: Monitoração e um Ensaio de Projeções para a Próxima Década*. 1995. 126f. Dissertação (Mestre). Universidade Estadual de Campinas – Campinas – SP. 1995.

BREBNER, J., THORNTON, I., MCDONALD, P. AND SUTTLE, N.F. The release of trace elements from soils under conditions of simulated rumenal and abomasal digestion. In: Mills, C.F., Bremner, I. and Chesters, J.K. (eds) *Proceedings of the Fifth International Symposium on Trace Elements in Animals and Man*. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK, 1985; pp. 850–852.

BRAUNER, J.L.; CATANI, R.A.; BITTENCOURT, W.C. Extração e determinação do alumínio trocável do solo. *Anais... E.S.A. "Luiz de Queiroz"*. v.23, p.53-73, 1966

BRISTOW, C. M. Kaolin paper underpins current demand. *Industrial Minerals*, p.62-67, July. 1987a.

BRISTOW, C. M. World Kaolins - genesis, explotation and application. *Industrial Minerals*, London, n240, p.45-59, Jul. 1987b.

BÜRGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; QUEIROZ, A.C. et al. Comportamento ingestivo em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. *R. Bras. Zootec.*, v.29, n.1, p.236-242, 2000

BURNS, J.C., POND, K.R., FISHER, D.S. Measurements of forage intake. In: _____ (Ed.) *Forage quality, evaluation and utilization*. Ohio: American Society of Agronomy, Inc, 1994. p. 494-532.

CARVALHO, P.C.F., KOZLOSKI, G.V., RIBEIRO FILHO, H.M.N.; et al. Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36, suplemento especial, p.151-170, 2007.

CARRETERO, M.I. Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review. *Applied Clay Science*, v.21, p. 155-163, 2002.

CASALI, A.O. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos pro procedimentos in situ. *R. Bras. Zootec.* v.37, n.2, p.335-342, 2008.

CASSON, T.; ROWE, J.B.; THORN, C.W.; HARRIS, D. The use of natural n-alkanes in medic and clover as indigestible markers. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, v. 18, p.462, 1990.

CASTRO M.; ELIAS A. Effect of inclusion of zeolite in final molasses-based diets on performance of growing and fattening pigs. *Cuban Journal of Agricultural Science*, v.12, p.69–75, 1978.

CAVALCANTI, A.C. et al. Indicadores do metabolismo animal. In: _____. (Eds.). *Compêndio de utilização de indicadores do metabolismo animal*. Belo Horizonte:GIL. p. 8-38, 2013.

CEZIMBRA, I.M. *Indicadores na estimativa do fluxo de nutrientes no duodeno, produção fecal, consumo de concentrado e volumoso por bovinos*. 2010, 65 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010.

COELHO SILVA, J. F.; LEÃO, M. I. *Fundamento de nutrição de ruminantes*. Piracicaba: Livroceres, 1979. 384 p.

COELHO, A.C.V.; SANTOS, P.S.; SANTOS, H.S. argilas especiais: argilas quimicamente modificadas – uma revisão. *Quim. Nova*, v.30, n.5, p.1282-1294, 2007.

COLUCCI, P.E., MACLEOD, G.K., GROVUM, W.L., McMILLAN, I., BARNEY, D.J. Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes. *J. Dairy Sci.*, v.73, p.2143-2156, 1990

COMERÓN, E.A. Estimation des quantités ingérées para des vaches laitières au pâturage: influence des caractéristiques des animaux; influence de la quantité et de la structure de l'herbe offerte. Rennes: Université de Rennes, 1991. 156p. Tese (Doutorado) - Université de Rennes.

CONSTANTINO, V.R.L.; ARAKI, K.; SILVA, D.O.; OLIVEIRA, W. Preparação de compostos de alumínio a partir da bauxita: considerações sobre alguns aspectos envolvidos em um experimento didático. *Quim. Nova*, v.25, n.3, p.490-498, 2002.

CORBETT, F.L. Measuring animal performance. In: t'MANNETJE, L. (Ed.) *Measurement of grassland vegetation and animal production*. Bucks, Cab, 1978. p. 163-231.

CÔRTEZ, C., DAMASCENO, J.C., PAINE, R.C., FUKUMOTO, N.M. et al. Uso de n-alcanos na estimativa da composição botânica em amostras com diferentes proporções de *Brachiaria brizantha* e *Arachis pintoi*. *Rev. Bras. Zootec.*, v.34, n.5, p.1468-1474, 2005.

COSTA, A. C. S.; ALMEIDA, V.C.; LENZI, E.; NOZAKI, J. Determinação de cobre, alumínio e ferro em solos derivados do basalto através de extrações sequenciais. *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 4, 548-552, 2002

COSTA, V.G.; ROCHA, M.G.; PÖTTER, L. et al. Comportamento de pastejo e ingestão de forragem por novilhas de corte em pastagens de milho e papuã. *R. Bras. Zootec.*, v. 40, n. 2, p. 251-259, 2011.

CRISCUOLO, P.S.R. *Beneficiamento do caulim duro das bacias dos rios Capim e Jari através do processo de agregação seletiva*. 2008. Dissertação (Mestrado). UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

CROOKER, B. A.; CLARK, J. H.; SHANKS, R. D. Rare earth elements as markers for rate of passage measurements of individual feedstuffs through the digestive tract of ruminants. *J. Nutr.* v. 112, n. 7, p. 1353-1361, 1982.

DELHAIZE, E.; RYAN, P.R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiology*, v.107, p.315-321, 1995.

DETTMAN, E., PAULINO, M.F., ZERVOUDAKIS, J.T., VALADARES FILHO, S.C., et al. Suplementação de novilhos mestiços durante a época das águas: parâmetros ingestivos e digestivos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, p.1340-1349, 2001.

DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C.; CECON, P.R. et al. Consumo de Fibra em Detergente Neutro por Bovinos em Confinamento. *R. Bras. Zootec.*, v.32, n.6, supl.1, p.1763-1777, 2003.

EARLEY, A.V.; SOWELL, B.F.; BOWMAN, J.G.P. Liquid supplementation of grazing cows and calves. *Animal Feed Science and Technology*, v.80, n.3-4, p.281-296, 1999.

ELLIS, W.C.; MATIS, J.H.; HILL, T.M.; MURPHY, M.R. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forage. In: FAHEY JR., G.C., MOSER, L.E., MERTENS, D.R., et al. (Eds.) National Conference on Forage Quality, Evaluation, and Utilization. Madison: Soil Science Society of America. 1994. p.682-756.

EXLEY C. A molecular mechanism of aluminium-induced Alzheimer's disease? *J. Inorg. Biochem.* v.76, p.133-140, 1999.

EXLEY C.; KORCHAZHKINA O. The association of aluminum and amyloid in Alzheimer's disease. In: Exley C. (Eds.) Aluminium and Alzheimer's disease. The science that describes the link, chapter 22, *Elsevier Science*, 2001. pp. 421-433.

FAHEY JR, G.C.; JUNG, H.G. Lignin as a marker in digestion studies: a review. *J. Anim. Sci.* v.57, n.1, p.220-225, 1983.

FAQUIN, V. *Nutrição mineral de plantas*. 2005. 186 f. Especialização - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2005.

FENTON, T.W.; FENTON, M. An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. *Can. J. Anim. Sci.*, v.59, p.631-634, 1979.

FERNANDES, H.J. *Estudo do crescimento de tourinhos em pastejo recebendo suplementação concentrada com diferentes perfis proteicos*. 2009. 283 f. Tese Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2009.

FERNANDES, H.J.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E. Avaliação nutricional, durante a amamentação, de tourinhos em pastejo recebendo suplementação proteica da amamentação à terminação. *R. Bras. Zootec.*, v.41, n.2, p.374-383, 2012.

FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I. et al. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. *R. Bras. Zootec.*, v.38, n.8, p.1568-1573, 2009.

FLATEN T. P. Aluminium as a risk factor in Alzheimer's disease, with emphasis on drinking water. *Brain Res. Bull.* v.55, p.187-196, 2001.

FOY, CD.; BROWN, JC. 1963. Toxic factor in acid soil. I. Characterization of aluminum toxicity in cotton. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* v.27, p.403-407, 1963.

FROMENT, D. H.; BUDDINGTON, B.; MILLER, N. L.; ALFREY, A. C. Effect of solubility on the gastrointestinal absorption of aluminium from various aluminium compounds in the rat. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, v.114, p.237-242, 1989.

FUKUSHIMA, R.S.; HATFIELD, D.R. Composição fenólica de ligninas dioxano determinadas pela reação oxidativa com o nitrobenzene. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.38, n.3, p.373-378, 2003.

GANROT P. O., Metabolism and possible health effects of aluminum. *Environ. Health Perspect.* v.65, p.363-441, 1986.

GIESE JR., R.F. Kaolin minerals: structures and stabilities. *Review in Mineralogy: Hydrous Phyllosilicates*, (S.W. Bailey, Ed.), v.19, p.29-66, 1988.

GOLDBERG, S. Interaction of aluminum and iron oxides and clay minerals and their effect on soil physical properties: a review. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, v.20, p.1181-1207, 1989.

GROVUM, W.L., WILLIAMS, V.J. Rate of passage of digest in sheep. 4. Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. *Br. J. Nutr.*, v.30, p.313-329, 1973.

HALLMARK, C.T.; WILDING, L.P.; & SMECK, N.E. Silicon. *Methods of Soil Analysis, Chemical and Microbiological Properties*. Madison, *Agronomy Monograph*, v.2 n.9. p.263-273. 1982

HEALY, W.B., RANKIN, P.C. AND WATTS, H.M. Effect of soil contamination on the element composition of herbage. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, v.17, p.59-61, 1974.

HORN, F.P.; TELFORD, J.P., Mc CROSKEY, J.E. Relationship of animal performance and dry matter intake to chemical constituents of grazed forage. *J.Anim.Sci.*, v. 49, p. 1051-1058, 1979.

ÍTAVO, L.C.V. *Consumo, digestibilidade e eficiência microbiana de novilhos alimentados com dietas contendo vários níveis de concentrado, utilizando diferentes indicadores e períodos de coleta*. 2001. 114 f. Tese (Doctor Scientiae) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa –MG, 2001.

ÍTAVO, L.C.V.; SOUZA, S.R.M.B.O.; RÍMOLI, J.; ÍTAVO, C.C.B.F. et al. Comportamento ingestivo diurno de bovinos em pastejo contínuo e rotacionado. *Arch. Zootec.* v.57, n.217, p.43-52, 2008.

JORGENSEN P. L., HAKANSSON K. O. & KARLISH S. J. Structure and mechanism of Na,K-ATPase: functional sites and their interactions. *Annu. Rev. Physiol.*, v.65, p.817- 849, 2003.

KAMEOKA, K.; TAKAHASHI, S.; MORIMOTO, H. Variation in the excretion of chromic oxide by ruminants. *J. Dairy Sci.*, v.39, n.4, p.462-467, 1956.

KAHN, L.P. The use of lithium chloride for estimating supplement intake in grazing sheep: estimates of heritability and repeatability. *Australian Journal of Agricultural Research*, v.45, n.8, p.1731-1739, 1994.

KHAWMEE, K.; SUDDHIPRAKARN, A.; KHEORUENROMNE, I.; SINGH, B. Surface charge properties of kaolinite from Tai soils. *Geoderma*, v.192, p.120-131, 2013.

KIMURA, F.T.; MILLER, V.L. Improved determination of chromic oxide in cow feed and feces. *J. Agric. Food Chemist.*, v.5, p.216-216, 1957.

KINCHELOE, J.J. Variation in supplement intake by grazing ruminants. 2004. 72f. Thesis (Master of Science in Animal and Range Sciences) - Montana State University, Bozeman, 2004.

KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S.; NOLLA, A. Análise de silício no solo, planta e fertilizante. Uberlândia: UFU, 2004. (Boletim técnico, 2).

KORN, M.G.A.; OLESZEZUK, N.; CASTRO, J.T.; SILVA, M.M. Method development for the determination of manganese, cobalt and copper in green coffee comparing direct solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Talanta*. (Oxford), v.73, p. 862-869, 2007.

KOZLOSKI, G.V.; NETTO, D.P.; OLIVEIRA, L. et al. Uso do óxido de cromo como indicador da excreção fecal de bovinos em pastejo: variação das estimativas em função do horário de amostragem. *Ciênc. Rural*, v.36, p.599-603, 2006.

KOZLOSKI, G.V.; MESQUITA, F.R.; ALVES, T.P. et al. Avaliação do uso de frações indigestíveis do alimento como indicadores internos de digestibilidade em ovinos. *R. Bras. Zootec.*, v.38, n.9, p.1819-1823, 2009.

LAL, B.; GUPTA, A.; MURTHY, R.C. et al. Aluminum ingestion alters behaviour and some neurochemicals in rats. *Indian J. Exp. Biol.* v.31, p.30-35, 1993.

LANZETTA, V.A.S.; REZENDE, A.S.C.; SALIBA, E.O.S. et al. Validação do Lipe® como método para determinar a digestibilidade dos nutrientes em equinos. *R. Bras. Zootec.*, v.38, n.1, p.69-74, 2009.

LAREDO, M.A.; SIMPSON, G.D.; MINSON, D.J.; ORPIN, C.G. The potential for using n-alkanes in tropical forages as a marker for determination of dry matter by grazing ruminants. *Journal of Agricultural Science*, v.117, p.355-361, 1991.

- LIMA, J.A.C.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E. et al. Supplementation of grazing suckling beef calves receiving diferente energy sources. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v.37, n.3, p.1527-1538, 2016.
- LIEBERHERR, M.; GROSSE, B.; COURNOT-WITMER, G. Aluminum action on mouse bone cell metabolism and response to PTH and 1,25(OH)2D3. *Kidney International*, v.31, p. 736-743, 1987.
- LOTE, C. J.; SAUNDERS, H. Aluminium: gastrointestinal absorption and renal excretion. *Clinical Science*, v. 81, p.289-295, 1991.
- LUZ, A.B.; DAMASCENO, E.C. 1993. Caulim: Um mineral industrial importante. Série Tecnologia Mineral, n.65, p.29.
- LUZ, A.B.; CARVALHO, E.A.; BERTOLINO, L.C. et al. Caulim. Comunicação Técnica – Elaborada para o livro Rochas & Minerais Industriais: usos e especificações. 2 ed. - Rio de Janeiro - CETEM/MCT, p. 255-294, 2009.
- MA, J.F. Role of organic acids in detoxification of aluminum in higher plants. *Plant Cell Physiol.*, v.41, n.4, p.383-90, 2000.
- MA; J.F.; MIYAKE, Y; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element fr crop plants. In: DATNOFF, L.E.; SNEDER, G.H.; KORNDORFER, G.H. (Ed.). Silicon in Agriculture. Amsterdam: Elsevier, p.17-39, 2001.
- MALAVOLTA, E.; VITTI. G.S.; OLIVEIRA. S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2.ed. Piracicaba, POTAFOS, 1997. 319p.
- MARAI, J.P. Use of markers. In: D’MELLO, J.O.F. (Ed.) Farm animal metabolism and nutrition: critical reviews. THE SCOTTISH AGRICULTURAL COLLEGE, 2000, p.255-277.
- MATLOVA L., DVORSKA L., BARTOS M., et al. Tuberculous lesions in pig lymphnodes caused by kaolin fed as supplement. *Veterinarni Medicina*, v.49, p.379–388, 2004.
- MAURAS, Y.; RENIER, J.C.; TRICARD, A.; ALLAIN, P. Mise en evidence de l’absorption gastro-intestinale du silicium a partir d’un alumino-silicate (Evidence for the gastrointestinal absorption of silicon from an aluminosilicate). *Therapie*, v. 38, p.175-178, 1983.
- MAYES, R.W.; LAMB, C.S. The possible use of n-alkanes in herbage as indigestible faecal markers. Abstracts of Communications. *Proceedings of the Nutrition Society*, v.43, p.39, 1984.
- MAYES, R.W.; LAMB, C.S.; COLGROVE, P.M. The use of dosed and herbage n-alkanes as markers for the determination of herbage intake. *Journal Agriculture Science*, v.70, n.1, p.161-170, 1986.
- MCDOWELL, L.R. Minerals in animal and human nutrition. Academic Press, Inc., 1992, p.352-365.

MENGEL, K.E. & KIRKBY, G.A. Further elements of importance. In: PRINCIPLES of plant. 4.ed. Worblaufen-Bern, INTERNATIONAL POTASH INSTITUTE, 1987. p.573-588

MERCHEN, N. R. Digestion, absorption and excretion in ruminants. In: D. C. CHURCH. The ruminant animal digestive physiology and nutrition. Prentice-Hall, ENGLEWOOD CLIFFS, NJ, 1988. p.172-201.

MERCHEN, N. R. Digestion, absorption and excretion in ruminantes In: CHURCH, D. C. (Ed.) The ruminant animal digestive physiology and nutrition. 4. ed. Carvallis: O & B Books, 1993, p.172-201.

MERTENS, D.R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *J. Animal Sci.*, v.64, p.1548-1558, 1987.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY Jr, G.C.(Ed.) *Forage quality, evaluation and utilization*. Ohio: AMERICAN SOCIETY OF AGRONOMY, Inc. 1994, p.450-493.

MILLER, R.G., KOPFLER, F.C., KELTY, K.C. et al. The occurrence of aluminum in drinking water. *J. Am. Water Works Assoc.*, v.76, p. 84-91, 1984.

MIR, P.S.; KALNIN, C.M.; GARVEY, S.A. Recovery of fecal chromium used as a digestibility marker in cattle. *J. Dairy Sci.*, v.72, p.2549-2553, 1989.

MJÖBERG B., HELQUIST E., MALLMIN H.; LINDH U. Aluminium, Alzheimer's disease and bone fragility. *Acta Orthop. Scand.*, v.68, p.511-514. 1997.

MOBASHERI A., AVILA J., COZAR-CASTELLANO I., BROWNLEADER M. D. et al. Na⁺,K⁺-ATPase isozyme diversity; comparative biochemistry and physiological implications of novel functional interactions. *Biosci. Rep.*, v.20, p.51-91, 2000.

MONTE, M. B. M.; CARVALHO, E. A.; FERREIRA, O.e CABO. S. S. Caulim CADAM. In: Usinas de Beneficiamento de Minérios do Brasil, Editores: João A. Sampaio, Adão B. da Luz e Fernando F. Lins, 398p, CETEM/MCT, 2001. p.9-23.

MORENZ, M.J.F.; DA SILVA, J.F.C.; AROEIRA, L.J.M. et al. Óxido de cromo e alcanos na estimativa do consumo de forragem de vacas em lactação em condições de pastejo. *R. Bras. Zootec.*, v.35, n.4, p.1535-1542, 2006.

MURRAY, H.H. Traditional and new applications for kaolin, smectite, and palygorskite: a general overview. *Appl. Clay Sci.*, v.17, p.207-221, 2000.

MURRAY, H.H., KOGEL, J.E. Engineered clay products for the paper industry. *Appl. Clay Sci.* v.29, p.199-206, 2005.

MURRAY, H.H. Kaolin applications. In: Murray, H.H. (Ed.), Applied Clay Mineralogy. Occurrences, Processing and Application of Kaolins, Bentonites, Palygorskite-Sepiolite, and Common Clays. ELSEVIER, Amsterdam, 2007. pp. 85-109.

NRC - National Research Council. (Washington, DC). *Mineral tolerance of domestic animals*. Washington, DC: National Academic Press, 1980. 577p.

NRC - National Research Council. *Effect of Environment on Nutrient Requirements of Domestic Animals*. National Academy of Sciences, 1981. 169p.

NRC - National Research Council. *Predicting Feed Intake of Food-Producing Animals*. National Academy of Sciences, 1987. 85p.

NRC - National Research Council. *Mineral Tolerances of Animals*, 2^a ed. National Academy of Sciences, Washington, DC.: National Academy Press. 2005.

OLIVEIRA, L.O.F.; SALIBA, E.O.S.; AMARAL, T.B.; et al. Avaliação de diferentes períodos de oferecimento de óxido crômico como marcador externo nas estimativas de consumo para bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. *Anais...*, Campo Grande: [sn] 2004.

OLIVEIRA, L.O.F. *Desempenho, consumo, dinâmica ruminal e cinética da degradação da Brachiaria brizantha cv Marandu, em bovinos de corte suplementados com proteínados*. 2005. 94f. Tese (Doutor em Ciência Animal). Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária, Belo Horizonte.

OLIVEIRA, L.O.F.; SALIBA, E.O.; GONÇALVES, L.C. et al. Digestibilidade in situ e cinética ruminal de bovinos de corte a pasto sob suplementação com proteínados. *R. Bras. Zootec.*, v.39, n.6, p.1328-1335, 2010.

OLIVEIRA, L.O.F.; SANTOS, S.A.; ABREU, U.G.P. *Uso de indicadores nos estudos de nutrição animal aplicados aos sistemas de produção a pasto*. Documento 120. Embrapa Pantanal, Corumbá - MS. 25p, 2012a.

OLIVEIRA, K.; BITTAR, C.M.M.; COSTA, C. et al. Fezes equina como fonte de inóculo na obtenção de indicadores indigestíveis para estimar a digestibilidade em equinos. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, v.13, n.2, p.410-423, 2012b.

OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Fermentacion ruminal. In: CHURCH, C.D. (Ed.), *El ruminante – Fisiologia digestive y nutrición*. EDITORIAL ACRIBIA, Zaragoza. 1993. p.159-190.

OWENS, F.N.; HANSON, C.F. Symposium: External and internal markers for appraising site and extent digestion in ruminants. *J.Dairy Sci.*, v. 75, n. 9, p.2605-2617, 1992

PAPAIIOANNOU, D.; KATSOULOS, P.D.; PANOUSIS, N.; KARATZIAS, H. The role of natural and synthetic zeolites as feed additives on the prevention and/or the treatment of certain farm animal diseases: A review. *Microporous and Mesoporous Materials*, v.84, p.161–170, 2005.

PEREIRA, E.S.; ARRUDA, A.M.V; MIZUBUTI, I.Y.; SILVA, L.D.F. Consumo voluntário em ruminantes. *Semina: Ciênc. Agrár.*, v.24, n.1, p.191-196, 2003.

- PEDROTTI, A.; FERREIRA, M.M.; CURI, N. et al. Relação entre atributos físicos, mineralogia da fração argila e formas de alumínio no solo. *R. Bras. Ci. Solo*, v.27, p.1-9, 2003
- PIAGGIO, L.M., PRATES, E.R., PIRES, F.F.; OSPINA, H.. Avaliação das cinzas insolúveis em ácido, fibra em detergente ácido indigestível e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. *R. Bras. Zootec.*, v.20, n.3, p.306-312, 1991.
- POMBO, G.V.; VALLE, T.D.; BRADI, R.A.; BUENO, I.C.S. Acurácia, precisão e robustez de indicadores internos para predição da digestibilidade aparente total de matéria seca em equinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.68, n.3, p.769-775, 2016.
- POWELL, J.J.; THOMPSON, P.H. The chemistry of aluminium in the gastrointestinal lumen and its uptake and absorption. *Proceedings of the Nutrition Society*, v.52, p.241-253, 1993.
- PRIGGE, E.C., STUTHERS, B.A., JACQUEMENT, N.A. Influence of forage diets on ruminal particle size, passage of digesta, feed intake and digestibility by steers. *J. Anim. Sci.* v.68, p.4352-4360, 1990.
- REBOUÇAS, G.M.N; SILVA, F.A.; SILVA, C.R.M. Fibras indigestíveis. In: _____ (Eds.). *Compêndio de utilização de indicadores do metabolismo animal*. Belo Horizonte:GIL. 2013. p.97-123.
- REIS, R.A.; SILVA, S.C. Consumo de forragens. In:_____ (Eds.). *Nutrição de ruminantes*. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p.79-109.
- RESENDE, M. Aplicações de conhecimentos pedológicos à conservação de solos. *Inf. Agropec.*, v.11, p.3-18, 1985.
- ROBINSON, D.L., HEMKES, O.J. AND KEMP, A. Relationships among forage aluminium levels, soil contamination on forages and availability of elements to dairy cows. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, v.32, p.73–80, 1984.
- ROCHA, A.A.; PAULINO, M.F.; FERNANDES, H.J. et al. Performance and nutritional evaluation of beef cattle raised on pasture, castrated at different ages, with and without supplementation. *R. Bras. Zootec.*, v.41, n.4, p.1016-1024, 2012.
- RODRIGUES, P.H.M.; GOMES, R.C.; SIQUEIRA, R.F. et al. Acurácia, precisão e robustez das estimativas da digestibilidade aparente da matéria seca determinada com o uso de indicadores em ovinos. *R. Bras. Zootec.*, v.39, n.5, p.1118-1126, 2010.
- RUGMINI, S., MENON, A.R.R. Organommodified kaolin as filler for natural rubber. *J. Appl. Polym. Sci.*, v.107, p.3476–3483, 2008.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX D.G., VAN SOEST, P.J., et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.*, v.70, n.11, p.3551-3561, 1992.
- SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C.; FERNANDES, P.C.C. Effect of corn and soybean lignin residues submitted to the ruminal fermentation on structural carbohydrates digestibility. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 51, n. 1, p. 85-88, 1999.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C. et al. Lignina isolada da palha do milho utilizada como indicador em ensaios de digestibilidade. Estudo comparative. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v.54, n.1, p.52-54, 2002.

SALIBA, E.O.S. Lignina purificada e enriquecida LIPE®. In: _____ (Eds.). *Compêndio de utilização de indicadores do metabolismo animal*. Belo Horizonte:GIL. p. 179-192, 2013.

SALIBA, E.O.S.; FARIA, E.P.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Use of infrared spectroscopy to estimate fecal output with marker Lipe®. *J Food Sci Nutr Diet.* S4, n.1, p.1-10, 2015.

SAMPAIO, C.R.; DETMANN, E.; VALENTE, T.N.P. et al. Evaluation of fecal recovering and long term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. *R. Bras. Zootec.*, v.40, n.1, p.174-182, 2011a.

SAMPAIO, C.R.; DETMANN, E.; VALENTE, T.N.P et al. Fecal excretion patterns and short term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. *R. Bras. Zootec.*, v.40, n.3, p.657-665, 2011b.

Sangster, A.G., Hodson, M.J., Parry, D.W. Silicon deposition and anatomical studies in the inflorescence bracts of four *Phalaris* species with their possible relevance to carcinogenesis. *New Phytologist*, v.93, p.:105-122, 2001.

SIQUEIRA, R.F.; GOMES, R.C.; RODRIGUES, P.H.M. et al. Uso da cutina na estimativa da digestibilidade aparente de dietas para equinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.61, n.6, p.1373-1381, 2009.

SNYDER, G.H. Methods for silicon analysis in plants, soils and fertilizers. IN.: DATNOFF, L.E.; SNYDER, F.H.; KORNDÖRFER, G.H. (eds.) *Silicon in Agriculture*. Amsterdam, Elsevier Science B.V. 2001. p.185-191.

SANTOS, P.S. Tecnologia de argilas – aplicado a argilas brasileiras. Ed. Edgard Blucher, São Paulo, 1975. 802p.

SANTOS, V.F. dos. Métodos Agronômicos para estimativa de consumo e de disponibilidade de forragem na Zona da Mata. 1997. 155f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG.

SANTOS, F. C. dos. Silício orgânico: muito além da estética. *Revista Biotec* , n.2, p.16, 2009.

SARIN, S.; GUPTA, V.; GILL K.D. Alterations in lipid composition and neuronal injury in primates following chronic aluminium exposure. *Biol. Trace Elem. Res.* v.59, p.133-143, 1997.

SETTLE, A. F. Handbook of Instrumental for Analytical Chemistry. New Jersey: 1997.837p.

SHELL, H.R. Silicon In.: KOLTHOFF, I.M.; ELVING, P.J. (Eds) *Treatise on analytical chemistry*. New York, Interscience publishers, v.2, 1962.

SILVA, S.P. *Caulim*. Balanço Mineral Brasileiro 2001. Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM), 2001. Disponível em:

<<http://www.dnpm.gov.br/assets/galeriadocumento/balancomineral2001/caulim.pdf>>.
Acessado em: 10/08/2012.

SILVA, J.F.C. Mecanismos reguladores de consume. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G (Eds.). *Nutrição de ruminantes*. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p.57-78.

SILVA, F. A. N. G. *Estudos de Caracterização Tecnológica e Beneficiamento do Caulim da Região Borborema – Seridó*. 2007. 86f. Dissertação (Mestrado) – COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SILVA, F.A.; COSTA, H.H.A. Terras Raras. SALIBA, E.O, CAVALCANTI, A.C. (Eds.). *Compêndio de utilização de indicadores do metabolismo animal*. Belo Horizonte:GIL. 2013. p. 245-255.

SOARES, J.P.G.; BERCHIELLI, T.T.; AROEIRA, L.J.M. et al. Estimativas de Consumo do Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum* Schum), Fornecido Picado para Vacas Lactantes Utilizando a Técnica do Óxido Crômico. *R. Bras. Zootec.*, v.33, n.3, p.811-820, 2004.

SOARES, L.F.P; GUIM, A.; MODESTO, E.C. et al. Uso do LIPE® e do Óxido de Cromo na Estimativa do Consumo de Matéria Seca por Bubalinos. *Rev. Cient. Prod. Anim.*, v.13, n.1, p.80-83, 2011.

SOEIRO, E.R. Caulim. Sumário Mineral 2014. Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM), 2014. Disponível em: < <http://www.dnpm.gov.br/dnpm/sumarios/sumario-mineral-2014>>. Acessado em: 14/10/2016.

SOUZA, N.K.P; DETMANN, E.; PINA, D.S. et al. Evaluation of chromium concentration in cattle feces using different acid digestion and spectrophotometric quantification techniques. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, n.5, p.1472-1482, 2013.

STEWART, W. K. (1989). Aluminium toxicity in individuals with chronic renal disease. In: MASSEY, R.C.; TAYLOR, D. (Eds.). *Aluminium in Food and the Environment*. London: Royal Society of Chemistry, 1989. pp. 7-19

STOBBS, T.H. The effect of plant structure on the voluntary intake of tropical pastures. II. Differences in sward structure, nutritive value and bite size of animals grazing *Setaria anceps* and *Chloris gayana* at various stages. *Australian Journal of Agricultural Research*, v.24, p.821-829, 1973.

SUTTLE, N. F. *Mineral nutrition of livestock*. 4 ed. CABI. British Library, London, UK. 2010. 587p.

TEIXEIRA, G.K. *Caracterização mineralógica do caulim: aplicação em perfis dos depósitos do rio Capim (PA)*. 2015. 68f. Dissertação (Mestrado). Instituto de Geociência – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

THONNEY, M.L.; PALHOF, B.A; De CARLO, M.R. et al. Sources of variation of dry matter digestibility measured by the acid insoluble ash marker. *J. Dairy Sci.*, v.68, n.3, p.661- 668, 1984.

THORNTON, I. Biogeochemical and soil ingestion studies in relation to the trace-element nutrition of livestock. In: HOEKSTRA, W.G., SUTTIE, J.W., GANTHER, H.E. AND MERTZ, W. (Eds) Trace Element Metabolism in Animals – 2. University Park Press, Baltimore, MARYLAND, 1974. p.451–454.

TISDALE, S.L.; NELSON, W.L.; BESTON, J.D. & HAULIN, J.L. Soil fertility and fertilizer. New York, Macmillan, 1993. p.634

TITGEMEYER, E.C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. *Journal Animal Science*, v. 75, p. 2235-2247, 1997.

TITGEMEYER, E.C.; ARMENDARIZ, C.K.; BINDEL, D.J. et al. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *J. Animal Sci.*, v.79, n.4, p.1059-1063, 2001.

TRCKOVA, M.; VONDRUSKOVA, H.; ZRALY, Z. et al. The effect of kaolin feeding on efficiency, health status and course of diarrhoeal infections caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* strains in weaned piglets. *Veterinarni Medicina*, v.54, n.2, p.47–63, 2009.

UNDERWOOD, E.J. Trace Elements in Human and Animal Nutrition 4. Academic Press, New York, 1977. pp. 430–432.

VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VIMONSES, V.; LEI, S.; JIN, BO. Et al. SAINT, C. Kinetic study and equilibrium isotherm analysis of Congo red adsorption by clay materials. *Chem. Eng. J.* v.148, p.354–364, 2009.

XIANG, D., GU, C. A study on the friction and wear behavior of PTFE filled with ultra-fine kaolin particulates. *Mater. Lett.*, v.60, p.689–692, 2006.

WADA, K. & HARWARD, N.E. Amorphous clay constituents of soils. *Adv. Agron.*, v.26, p.211-260, 1974.

WALDO, D.R.; SMITH, L.W.; COX E.L. Model of cellulose disappearance from the rumen. *J. Dairy Sci.*, v.69, p.617-631, 1972.

WALDO, D.R. Effect of forage quality on intake and forage-concentrate interactions. *J. Dairy Sci.*, v.55, p.125-129, 1986.

WEBER, R.; BERSTAD, A. Gastrointestinal absorption of aluminium from single doses of aluminium containing antacids in man. *European Journal of Clinical Investigation*, v.16, p.428-432, 1986.

WILLIAMS, C.H.; DAVID, D.J.; IISMAA, O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agric. Sci.*, v.59, p.381-385, 1962.

WILSON, I.R.; SANTOS, H.S.; SANTOS, P.S. Caulins brasileiros: alguns aspectos de geologia e da mineralogia. *Cerâmica*, v.44, n.287-288, 1998.

WITTE, G.J. An introduction to china clay (kaolin) – geology, mineralogy and production. WBB Fact Sheet n.2, Watts Blake & Bearne Co. Plc, Devon, 1993 9p.

YOKEL, R.A. The toxicology of aluminum in the brain: a review. *Neurotoxicology*, v.21, p.813-28, 2000.

ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.; CALDAS NETO, S.F. et al. Substituição do milho pela farinha de varredoura de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) sobre o consumo voluntário e digestibilidade em ovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, v.37, 2000, Viçosa. *Anais...* Viçosa: SBZ, 2000.

ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.; DIAN, P.H.M. et al. Recuperação fecal de marcadores internos avaliados em ruminantes. *Rev. Bras. Zootec.*, v.31, n.4, p.1865-1874, 2002.

Escolha da técnica de análise de alumínio em fezes bovinas acrescidas de caulim

[Choice techniques of analysis of aluminum in bovine feces plus kaolin]

RESUMO

Medidas diretas do caulim nas fezes podem ser de difícil alcance, entretanto o estudo sobre os teores de alumínio (Al) podem ser indicativos da sua concentração. Partindo-se da premissa de que o alumínio presente em amostras minerais (caulim) pode estar complexado de forma diferente às amostras orgânicas (alimentos), e que assim sendo reage diferentemente aos processos de digestão ácida, variantes na etapa de digestão podem permitir a avaliação do comportamento das diferentes fontes de alumínio. Objetivou-se avaliar a eficiência das técnicas analíticas de extração e quantificação do alumínio em amostras de fezes puras e misturadas com caulim, e também em amostras oriundas de ensaios de digestibilidade correlacionando às variações nas estimativas de produção fecal. Os valores observados de Al nas amostras de fezes, 1120,95; 1116,08 e 1222,33 mg/kg dos respectivos tratamentos, digestão nitro-perclórica sequencial (DNS), digestão clorídrica sequencial (DCS) e digestão ácida sequencial (DAS) foram semelhantes ($P > 0,05$) aos valores esperados (1132,16 mg/kg). O método DAS não determinou eficientemente os valores do Al nas amostras com presença de caulim ($P < 0,05$), ficando os valores observados abaixo dos valores esperados. Os métodos sequenciais (DNS e DCS) são mais eficientes em estimar os teores de alumínio nas diferentes amostras avaliadas. Apenas duas combinações (Fs2 x Sil3 x C3 x So3 e Fs3 x Sil3 x C3 x So3) alcançaram 70% de correlação entre a estimativa da produção fecal e o valor real, indicando que os melhores procedimentos de quantificação do Al oriundo do caulim sejam a extração das cinzas do resíduo (Quantificação 2) ou soma da extração *In Natura* com a extração da cinzas do resíduo (Quantificação 3). A origem, se orgânica ou inorgânica, influi no processo de extração do Al e exige procedimentos diferenciados para a extração do mineral.

Palavras-chave: digestão, espectrofotometria, extração, procedimentos analíticos, titulometria

ABSTRACT

Direct measurements of kaolin in faeces may be difficult to reach, however the study of aluminum (Al) levels may be indicative of their concentration. Based on the premise that the aluminum present in mineral samples (kaolin) may be complexed differently to organic samples (food), and that thus being reacted differently to the acid digestion processes, variants in the digestion step may allow the evaluation behavior of the different aluminum sources. The objective of this study was to evaluate the efficiency of analytical techniques for extraction and quantification of aluminum in pure fecal samples mixed with kaolin and also in samples from digestibility tests correlating with variations in fecal production estimates. The observed values of Al in faeces samples, 1120.95; 1116.08 and 1222.33 mg / kg of the respective treatments, sequential nitro-perchloric digestion (DNS), sequential hydrochloric digestion (DCS) and sequential acid digestion (DAS) were similar ($P > 0.05$) to the expected values (1132 , 16 mg / kg). The DAS method did not efficiently determine Al values in the samples with kaolin ($P < 0.05$), with the observed values below the expected values. The sequential methods (DNS and DCS) are more efficient in estimating the aluminum contents in the different samples evaluated. Only two combinations (Fs2 x Sil3 x C3 x So3 and Fs3 x Sil3 x C3 x So3) reached a 70% correlation between the fecal production estimate and the actual value, indicating that the best procedures for quantifying Al from kaolin are extraction of ash from the residue (Quantification 2) or sum of the In Natura extraction with extraction of the ashes from the residue (Quantification 3). The origin, whether organic or inorganic, influences the extraction process of Al and requires different procedures for mineral extraction.

Keywords: analytical procedures, digestion, extraction, spectrophotometry, titulometry

INTRODUÇÃO

A utilização de métodos indiretos para determinação do consumo de animais em pastejo, a partir do uso de indicadores, representa uma ferramenta de grande importância na nutrição animal.

Apesar dos indicadores de consumo e digestibilidade serem bastante utilizados e haver constantes avanços nos estudos dessas substâncias, ainda são encontradas limitações em seu uso seja por falhas nas estimativas de produção fecal, por apresentarem custo elevado, análises laboratoriais complicadas e onerosas, por atenderem apenas às condições experimentais, não sendo possível o uso em condições de campo, ou ainda por representarem riscos à saúde e ao ambiente.

Assim, o estudo de novas substâncias que apresentem propriedades favoráveis para se tornarem futuros indicadores poderá suprir falhas e atender demandas não alcançadas pelos atuais indicadores.

Nesse sentido, o caulim destaca-se como alternativa interessante devido suas características que podem credenciá-lo como um indicador para estimativas de excreção fecal (EF), em conformidade com os requisitos estabelecidos por Kotb e Luckey (1972) e por Fahey Jr e Jung (1983) para um indicador ideal de consumo.

Medidas diretas do caulim nas fezes podem ser de difícil alcance, entretanto o estudo dos teores de alumínio (Al) podem ser indicativos da sua concentração. O alumínio encontra-se presente no caulim industrial (também chamado de Silicato de Alumínio - fórmula molecular $Al_2Si_2O_5(OH)_4$) representando aproximadamente 39,5% da sua composição química na forma de Al_2O_3 (Giese Jr., 1988).

O principal método utilizado nas determinações do alumínio é o teste colorimétrico da aluminona (Brauner et al., 1966). Após a digestão ácida, o Al^{3+} é tratado pela aluminona (ácido aurintricarboxílico), formando um complexo colorido, sendo sua cor lida em espectrofotômetro e comparada aos valores estabelecidos por uma curva padrão. É possível dosar o alumínio por meio da titulação indireta, após reações sequenciais com o hidróxido de sódio, fluoreto de sódio e o ácido clorídrico. As leituras dos teores de Al podem ser feitas também por espectrofotometria de absorção atômica (EAA) utilizando chama de óxido nitroso e acetileno (N_2O/C_2H_2), assim como pela técnica de ICP-OS (Espectrômetro de Massa).

Partindo-se da premissa de que o Al presente em amostras minerais (caulim) pode estar complexado de forma diferente às amostras orgânicas (alimentos), e que assim sendo reage diferentemente aos processos de digestão ácida (mais ou menos solúveis), variantes na

etapa de digestão podem permitir a avaliação do comportamento das diferentes fontes de Al mediante o poder das soluções ácidas e talvez sua possível identificação, com posterior uso nas estimativas de produção fecal (PF).

Objetivou-se, portanto, avaliar a eficiência das técnicas analíticas de extração e quantificação do alumínio em amostras de fezes puras e misturadas com caulim, e também em amostras oriundas de ensaios de digestibilidade correlacionando às variações nas estimativas de produção fecal.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi dividido em dois ensaios, sendo o primeiro destinado à quantificação dos teores de Al a partir de diferentes técnicas de digestão em amostras com concentrações conhecidas de caulim, previamente preparadas em laboratório. No segundo ensaio procedeu-se a quantificação dos teores de Al de maneiras diversas partir da técnica de digestão definida no primeiro ensaio em amostras de alimento, sobras e fezes oriundas de ensaio de digestibilidade, a fim de verificar variações nas estimativas de produção fecal.

O caulim utilizado neste trabalho foi oriundo da extração e processamento de rocha do grupo sedimentar metamórfica, apresentando o silicato de alumínio como ingrediente principal. O produto apresenta densidade de 0,8 g/cm³ e pH de 6,5 e características físicas e químicas específicas apresentadas na Tab. 1.

Tabela 1. Análises químicas e físicas do Caulim utilizado neste trabalho.

Ítem (%)	Análise química (%)	Especificação do produto	
		Mínimo (%)	Máximo (%)
SiO ₂	68,9	67,0	73,0
Al ₂ O ₃	18,4	16,0	20,0
Fe ₂ O ₃	2,7	0,80	2,90
TiO ₂	1,21	0,60	1,90
SO ₃	0,06	0,03	0,30
CaO	0,41	0,20	1,20
MgO	1,1	0,80	1,80
Na ₂ O	0,09	0,04	0,15
K ₂ O	5,2	4,20	5,80
Análise Física			
Granulometria	Peneira 50# (0,3 mm)	Retido 0,1 % máx	
	Peneira 200# (0,075 mm)	Retido 14,0 % a 22,0 %	
Umidade (%)	0,4 máx		

Fonte: Silicate Indústria e Comércio Ltda.

As fezes bovinas utilizadas no primeiro ensaio foram obtidas no mês de outubro, época em que o pasto apresentava-se com baixo volume de massa forrageira. Os animais eram mantidos exclusivamente em pastejo, sendo as fezes obtidas por meio de coleta retal.

Amostras de fezes bovinas, de caulim e de fezes + caulim nas concentrações de 3,0 e 6,0% foram preparadas no Laboratório da Embrapa Pantanal – Corumbá, MS, e processadas por diferentes metodologias para determinação do Al presente. As amostras de fezes foram secas em estufa ventilada (55°C) por aproximadamente 72 horas e processadas em moinhos com peneiras de 1mm. Foram preparadas quatro baterias de 100 amostras cada, por meio de pesagens individuais em balança analítica de precisão, diretamente nos cadinhos a fim de evitar erros de amostragens, conforme descrito abaixo:

Fezes puras	0,500g de fezes secas ao ar + 0,000g de caulim (n=100);
Fezes 3,0%	0,485g de fezes secas ao ar + 0,015g de caulim (n=100);
Fezes 6,0%	0,470g de fezes secas ao ar + 0,030g de caulim (n=100);
Caulim	0,000g de fezes secas ao ar + 0,500g de caulim (n=100).

As amostras foram submetidas aos seguintes tratamentos (procedimentos analíticos):

DNS – Digestão nitro-perclórica sequencial: extração nitro-perclórica do Al da amostra *In Natura* e posterior extração nitro-perclórica do Al das cinzas do resíduo obtido após a primeira etapa de extração da amostra (*In Natura*) (Técnica 1 – duas etapas);

DCS – Digestão clorídrica sequencial: extração clorídrica do Al da amostra *In Natura* e posterior extração clorídrica do Al das cinzas do resíduo obtido após a primeira etapa de extração da amostra (*In Natura*) (Técnica 2 – duas etapas);

DAS – Digestão de mistura ácida sequencial: (mistura ácida com 4 partes de H₂O + 5 partes de HNO₃ + 5 partes de H₂SO₄), extração ácida do Al da amostra *In Natura*, e posterior extração ácida do Al das cinzas do resíduo obtido após a primeira etapa de extração da amostra (*In Natura*) (Técnica 3 – duas etapas)

DNC – Digestão nitro-perclórica das cinzas (Técnica 4 – uma etapa);

DCC – Digestão clorídrica das cinzas (Técnica 5 – uma etapa);

As técnicas de extração utilizadas foram:

1. Técnica 1 – Digestão Nitro-perclórica

A. *Etapa 1 – In Natura:* As amostras de fezes puras, fezes acrescidas de caulim e de caulim, de 0,500 g cada, foram transferidas para tubos de digestão e acrescidas de 10 mL de ácido nítrico (HNO₃) concentrado, homogeneizados e mantidos em repouso por duas horas. Os tubos foram colocados em bloco digestor em temperatura aproximada de 150°C e retirados após a evaporação da maior parte do ácido. Em seguida foi adicionado em cada tubo

1 mL de ácido perclórico (HClO_4), e levados novamente ao bloco digestor à uma temperatura de até 210°C , tomando-se cuidado para evitar pequenas explosões e perdas de material. Considerou-se encerrada a digestão quando foi observada presença de uma fumaça branca e densa.

Procedeu-se a filtração do material em papel filtro Whatman nº 541 (baixo teor de cinzas) em balão volumétrico de 25 mL, com o auxílio de uma pisseta de 500 mL adaptada com uma ponteira para o lançamento de jatos finos de água deionizada durante o processo de filtração (extrato 1).

B. Etapa 2 – Cinzas do resíduo: Na segunda etapa o papel filtro contendo o material retido foi colocado em cadinhos, seco em estufa, e posteriormente calcinado em mufla (600°C) por uma hora. As cinzas foram submetidas à digestão nitro-perclórica e filtração da mesma forma da primeira etapa (extrato 2).

2. Técnica 2 – Digestão Clorídrica:

A. Etapa 1 – In Natura: Adicionou-se às amostras, de 0,500 g, 10 mL de HCl (p.a.) a 50% v/v, levados ao bloco digestor em temperatura baixa inicialmente, com posterior elevação gradativa, sendo mantidos no bloco até a evaporação quase total do ácido. Logo após, adicionou-se 15 mL de HCl (p.a.) 10% v/v, levando-se ao bloco digestor nas mesmas condições. Finalmente foram adicionados 15 mL de água deionizada e esperada sua evaporação até aproximadamente 1 mL.

Procedeu-se a filtração do material em papel filtro Whatman nº 541 (baixo teor de cinzas) em balão volumétrico de 25 mL, com o auxílio de uma pisseta de 500 mL adaptada com uma ponteira para o lançamento de jatos finos de água deionizada durante o processo de filtração (extrato 1).

B. Etapa 2 – Cinzas do resíduo: Na segunda etapa o papel filtro contendo o material retido foi colocado em cadinhos, seco em estufa, e posteriormente calcinado em mufla (600°C) por uma hora. As cinzas foram submetidas à digestão clorídrica e filtração como realizado na Etapa 1 desta técnica (extrato 2).

3. Técnica 3 – Digestão de Mistura Ácida:

A. Etapa 1 – In Natura: A amostra de 0,500 g, foi transferida para um Becker de 200 mL e adicionados 25 mL da mistura ácida contendo 4 partes de H_2O deionizada, 5 partes de HNO_3 e 5 partes de H_2SO_4 (p.a.), cobertos com vidro relógio e levados a chapa aquecedora a temperatura de até 130°C . Esperou-se por aproximadamente 60 minutos após o início do desprendimento intenso de fumos brancos (SO_3), para a retirada do Becker da chapa. Esperou-

se o resfriamento da solução, adicionando-se em seguida 50 mL de HCl a 1 mol/L e levando à chapa aquecedora até a evaporação de aproximadamente metade do volume.

Procedeu-se a filtração do material em papel filtro Whatman n° 541 (baixo teor de cinzas) em balão volumétrico de 25 mL, com o auxílio de uma pisseta de 500 mL adaptada com uma ponteira para o lançamento de jatos finos de água deionizada durante o processo de filtração (extrato 1).

B. Etapa 2 – Cinzas do resíduo: Na segunda etapa o papel filtro contendo o material retido foi colocado em cadinhos, seco em estufa, e posteriormente calcinado em mufla (600° C) por uma hora. As cinzas foram submetidas à mesma digestão ácida e filtração, conforme a Etapa 1 desta técnica (extrato 2).

4. Técnicas 4 e 5: Nas técnicas 4 e 5, procedeu-se apenas uma etapa de digestão das técnicas 1 e 2 respectivamente. A amostra original (*In Natura*) foi submetida a calcinação em mufla a 600°C por uma hora antes da digestão, e submeteu-se a digestão direta das cinzas.

As quantificações de alumínio nos extratos finais foram realizadas pela técnica do aluminon ou por titulometria dependendo da extração realizada, digestão nitroperclórica e clorídrica, ou digestão de mistura ácida, respectivamente.

Quantificação 1 – Espectrofotometria (aluminon): As leituras dos extratos referentes aos tratamentos DNC, DCC, DNS e DCS foram feitas em aparelho de Espectrometria UV/VIS, após preparação prévia da curva padrão, utilizando solução padrão de Al de 50 mg/L. Utilizou-se o padrão de alumínio 1000 mg Al, (AlCl₃ in H₂O) Titrisol® da Merck, para preparo da solução padrão de 50 mg/L de Al. Adicionou-se, os volumes crescentes da solução padrão de 50 mg/L e decrescentes de água deionizada, juntamente com volumes fixos de 2 mL de HCl a 0,3 N, em tubos de 15 mL, sendo em seguida levados para aquecimento em banho-maria a 80°C por 30 minutos. Os tubos foram retirados do banho-maria e resfriados em temperatura ambiente, para posterior adição de 1 mL do ácido ascórbico e 2 mL do acetato de aluminona em cada tubo. Após a adição da aluminona os tubos foram agitados em aparelho Vórtex e submetidos à leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 525nm.

As amostras dos diferentes extratos obtidos pelos diferentes tratamentos citados anteriormente foram tratadas para correção do pH. Para cada 1,5 mL de extrato de amostra utilizado para quantificação do Al, adicionava-se o mesmo volume de NaOH a 1 mol/L, com intuito de manter o pH na faixa de 4,2 a 4,8 (média de 4,6), a fim de que as reações com a aluminona ocorressem adequadamente.

O procedimento de quantificação do Al dos diferentes extratos foi o mesmo realizado para a obtenção da curva padrão, com diferenças apenas nos volumes da alíquota do extrato (1,5 mL) e da água deionizada (5,5 mL).

Determinou-se a equação de regressão dos padrões (considerando adequadas as curvas com r^2 acima de 0,99). Aplicou-se o valor encontrado da leitura na equação de regressão, a fim de se obter a concentração estimada do Al (CEAL), em ppm ou $\mu\text{g/mL}$ na solução inicial.

Para o cálculo da concentração de alumínio na amostra, utilizou-se a equação 1.

$$[\text{Al}] \mu\text{g/g} = \frac{\text{CEAL} \times \text{fator de diluição do extrato}}{\text{peso da amostra (g)}} \quad \text{Eq. 1}$$

Quantificação 2 – Por titulometria: Esta leitura foi feita nos extratos do tratamento DAS. Os extratos, colhidos em balão de 25 mL, foram transferidos para um Becker de 200 mL. Adicionou-se 25 mL de água destilada e 5 mL de gluconato de sódio ($\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NaO}_7$) a 1 mol/L a fim de promover a complexação de hidróxidos formados durante o processo de neutralização. Em seguida adicionou-se 5 gotas do indicador fenolftaleína. Após a adição do indicador, adicionou-se solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 1 mol/L, gota a gota até a mudança da coloração para rósea permanente.

Após esta etapa foram adicionados 15 mL de fluoreto de sódio (NaF) a 5 mol/L para em seguida titular a solução final com HCl a 0,05 mol/L. O volume gasto de HCl foi considerado para a determinação dos teores de alumínio, conforme as reações representadas pelas equações 2, 3 e 4.



A concentração de alumínio, em percentual de Al^{3+} , foi calculada conforme a equação 5.

$$(\%) \text{Al}^{3+} = \frac{1,6993 \times \text{M1} \times \text{V1} \times \text{V2}}{\text{V3} \times \text{m}} \quad \text{Eq. 5}$$

Onde: M1 é a molaridade da solução de HCl; V1 é o volume da solução de HCl, mL; V2 é o volume do balão volumétrico, mL; V3 é o volume da alíquota da solução-amostra, mL; e m é a massa da amostra, g.

Os teores de Al das amostras de fezes puras, fezes + 3% de caulim (caulim 3%), fezes + 6% de caulim (caulim 6%) e caulim puro encontrados nos diferentes tratamentos foram comparados aos valores esperados (média dos teores de Al obtidos a partir de vários ensaios utilizando a extração nitroperclórica em diferentes laboratórios). As médias foram

comparadas entre si pelo teste “t” utilizando o procedimento GLIMIX do programa SAS versão 9.12 (SAS Institute Inc., Cary, CA, EUA).

No segundo ensaio, foi instalado um ensaio de digestibilidade aparente utilizando dez dias de adaptação e oito dias de coleta de fezes e amostras de silagem de parte aérea de milho, concentrado e de sobras no qual os animais receberam o indicador caulim via esofágica, o experimento foi conduzido na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

As amostras coletadas foram armazenadas no freezer, posteriormente descongeladas e pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 72 a 96 horas, trituradas em moinho de facas utilizando peneira com 1 mm de crivo para posteriores análises.

As diferentes amostras foram submetidas à digestão clorídrica pelo método sequencial (duas etapas) e direto (uma etapa), conforme o primeiro ensaio, obtendo-se três extratos para a quantificação do Al, descritos abaixo:

Extrato 1: Obtido a partir da digestão clorídrica da amostra *In Natura*, referente a etapa 1 do método sequencial;

Extrato 2: Obtido a partir da digestão clorídrica das cinzas do resíduo, referente a etapa 2 do método sequencial;

Extrato 3: Obtido a partir da digestão clorídrica das cinzas das amostras originais, após calcinação, referente ao método direto.

Os diferentes extratos foram analisados quanto aos teores de Al por espectrofotometria. A partir da concentração de Al nos extratos realizou-se a quantificação dos teores Al das amostras, abaixo:

Quantificação 1: Teor de Al da amostra obtido a partir da análise do Extrato 1 considerando a massa submetida à extração;

Quantificação 2: Teor de Al da amostra obtido a partir da análise do Extrato 2 considerando a massa submetida à extração;

Quantificação 3: Teor de Al da amostra obtido a partir da soma das quantificações 1 e 2;

Quantificação 4: Teor de Al da amostra obtido a partir da análise do Extrato 3, considerando a massa submetida à extração.

Ao final das quantificações, cada material analisado (fezes, silagem, concentrado e sobras) obteve quatro valores (teores) de alumínio, sendo cada valor utilizado para cálculo de uma estimativa de produção fecal (Eq.1), totalizando 256 combinações para estimativas de PF a partir das diferentes quantificações (1, 2, 3 e 4) com os diferentes materiais analisados.

$$PF_{est} = \{[CA \times (Al_{CA} / 1000)] + (Al_{sil} + Al_{con} - Al_{so})\} / Al_{Fz} \quad \text{Eq. 6}$$

Onde: PF_{est} é a produção fecal estimada, kg/dia; CA é a quantidade diária de Caulim oferecida ao animal, g/dia; Al_{CA} é a concentração de alumínio presente no caulim, g/kg; Al_{sil} é a quantidade de alumínio presente na silagem, g/dia; Al_{con} é a quantidade de alumínio presente no concentrado, g/dia; Al_{so} é a quantidade de alumínio presente nas sobras de ração, g/dia; Al_{Fz} é a concentração de alumínio presente nas fezes, g/kg.

As estimativas de PF foram correlacionadas com os valores reais (medido) e, o valor mínimo de 70% de correlação entre a PF real e estimada pelo indicador caulim, a partir dos diferentes teores de Al, foi adotado como critério para seleção das melhores combinações.

Os dados outliers, com valores superiores a 2,5 vezes o desvio padrão, não foram considerados nas análises estatísticas.

As melhores combinações foram submetidas à avaliação da adequação dos resultados de predição conforme sugerido por Tedeschi (2006). Foi estimada a regressão linear dos dados observados pelos dados preditos por cada tratamento e avaliados o coeficiente de determinação (R^2) e o teste F simultâneo para identidade dos parâmetros ($\beta_0 = 0$ e $\beta_1 = 1$). Outros critérios utilizados foram o coeficiente de correlação e concordância (CCC), a raiz quadrada do quadrado médio do erro da predição (RQMEP) e a partição do quadrado médio do erro de predição em vício médio, vício sistemático e erro aleatório.

Todos os cálculos das estatísticas de avaliação foram realizados utilizando-se o MES – Model Evaluation System (<http://nutritionmodels.tamu.edu/mes.htm>, College Station, TX, USA; Tedeschi, 2006).

O nível de significância de 5% foi adotado em todos os procedimentos estatísticos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para efeito de comparações, sugeriu-se o valor de 1.132 mg/kg como esperado para as concentrações de alumínio nas fezes puras, visto este ter sido a média dos ensaios anteriores realizados em diversos laboratórios.

Os valores observados de Al nas amostras de fezes, caulim 3% e caulim 6% nos métodos sequenciais (amostra *In Natura* e posterior calcinação) DNS e DCS, e nas amostras de fezes do tratamento DAS foram semelhantes ($P > 0,05$) aos valores esperados, enquanto os valores obtidos nas técnicas DNC e DCC ficaram abaixo ($P < 0,05$) do esperado (Tab. 2). Neste sentido, observa-se maior eficácia da abertura em amostras submetidas a dupla digestão ácida dos métodos sequenciais em relação aos métodos diretos (cinzas), ressaltando a ação da

digestão dos ácidos sobre as amostras na formas *in natura*, que em conjunto com a calcinação do resíduo obtido da primeira extração, possibilitam maior extração do Al nas amostras diferentes amostras.

Tabela 2. Médias dos teores de alumínio (mg/kg) nas amostras de fezes puras, misturadas com caulim e de caulim puro, de acordo com os tratamentos estudados.

Amostra	Valor Esperado	Tratamentos ¹				
		DNS	DCS	DNC	DCC	DAS
Fezes	1.132,16	1.120,95	1.116,07	974,00*	835,92*	1.222,33
3,0% ²	3.360,03	3.305,94	3.314,35	2.678,02*	2.532,82*	2.445,87*
6,0% ³	5.574,00	5.503,16	5.514,57	4.369,49*	4.165,86*	3.928,20*
Caulim	75.764,35	74.329,62*	69.070,95*	60.629,53*	58.096,49*	50.800,75*

1: DNS é Digestão nitro-perclórica sequencial da amostra *In Natura* e posterior digestão nitro-perclórica das cinzas do resíduo; DCS é Digestão clorídrica sequencial da amostra *In Natura* e posterior digestão clorídrica das cinzas; DNC é Digestão nitro-perclórica das cinzas; DCC é Digestão clorídrica das cinzas; DAS é Digestão ácida sequencial (mistura ácida com 4 partes de H₂O + 5 partes de HNO₃ + 5 partes de H₂SO₄), da amostra *In Natura*, e posterior digestão ácida das cinzas do resíduo.

2: 3% representa as amostras de fezes + 3% de caulim.

3: 6% representa as amostras de fezes + 6% de caulim.

Médias seguidas de “*” diferem do valor esperado de Al.

Apesar de todas as metodologias conseguirem recuperar o alumínio na forma de íon (Al³⁺) após os respectivos procedimentos de extração, existe o indicativo de que ocorreu a formação de alumina (Al₂O₃) durante processo de calcinação das amostras originais submetidas às técnicas diretas de extração (DNC e DCC). Esse óxido metaestável, formado a partir da exposição do material em temperaturas entre 400 e 800°C (Osmari, 2015), provavelmente não foi solubilizado pelos ácidos durante o procedimento de extração, resultando nos menores teores de alumínio nas amostras analisadas (Tab. 2).

Nesse sentido, a redução das temperaturas de calcinação das amostras nas técnicas diretas e sequenciais de extração do Al pode representar uma melhoria das técnicas analíticas resultando em maiores extrações do elemento químico, alcançando resultados mais acurados.

Quando comparamos os resultados observados de Al nas amostras de caulim, observamos que os métodos não conseguiram determinar eficazmente (P<0,05) (Tab. 2). Porém, os tratamentos DNS e DCS foram os que mais se aproximaram dos resultados esperados. Amostras contendo caulim apresentam elevados teores de Al, provocando necessariamente o aumento das diluições do substrato a fim de que os valores se encontrem dentro do espectro de leitura do aparelho.

O aumento do número de diluições e manipulações das amostras e extratos da digestão do caulim, podem ter influenciado nos resultados observados. Outra possibilidade para estas diferenças pode estar associada a digestão incompleta das amostras, visto aos elevados teores de alumínio e sua demanda por mais repetições ou submissão das mesmas às digestões ácidas.

Quando se compara a curva de concentração de Al, mediante a adição de caulim nas fezes, observa-se que o comportamento dos tratamentos DNS e DCS foram melhores que os observados nos demais tratamentos (Fig. 1, 2 e 3), demonstrando uma maior oportunidade para estas técnicas em relação às demais, no que se refere à identificação do Al adicionado via caulim.

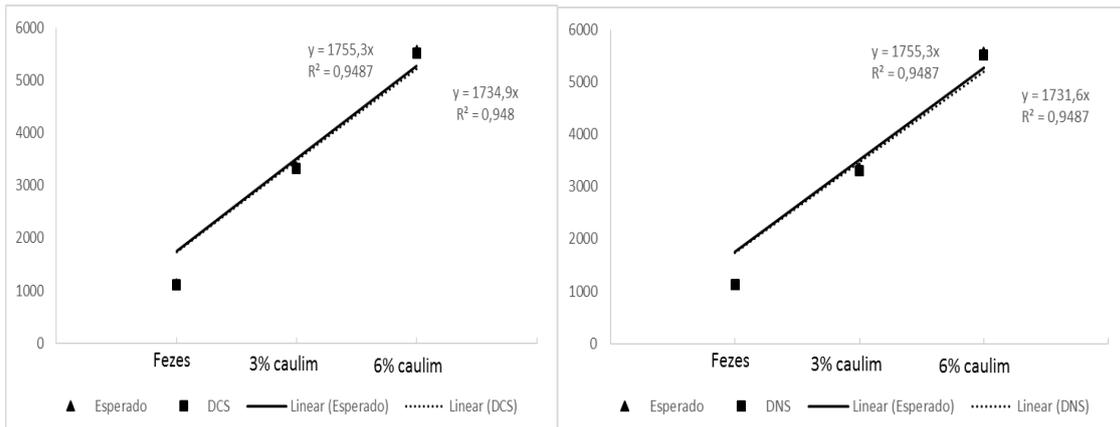


Figura 1. Valores esperados e determinados de alumínio em fezes puras e misturadas com caulim pelos tratamentos DCS e DNS.

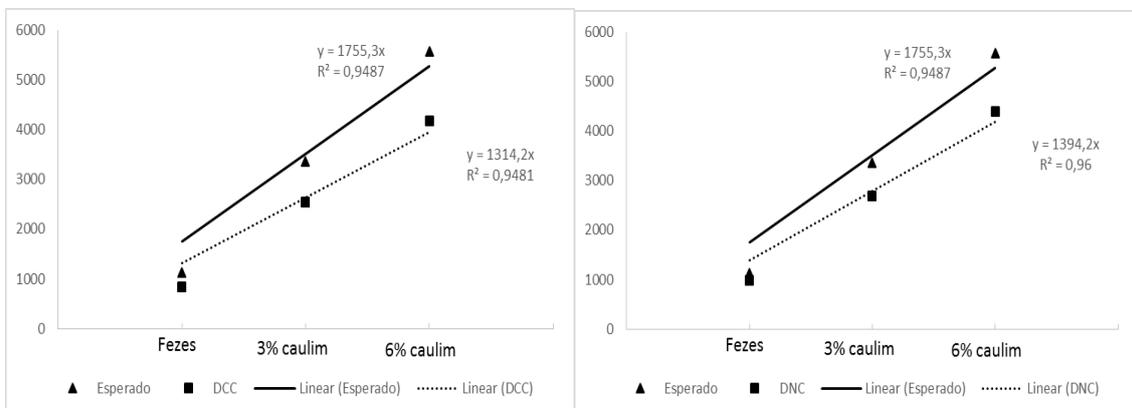


Figura 2. Valores esperados e determinados de alumínio em fezes puras e misturadas com caulim pelos tratamentos DCC e DNC.

O método DAS não determinou eficientemente os valores do Al nas amostras com presença de caulim ($P < 0,05$), ficando os valores observados abaixo dos valores esperados (Tab. 2). Observou-se também maior dispersão entre os valores mínimos e máximos encontrados no tratamento DAS (Tab. 3), comprometendo a eficácia desta técnica.

As menores concentrações de Al observadas no tratamento DAS (Tab. 2), provavelmente sejam reflexos de falhas durante o preparo das amostras, pois o método DAS conta com a ação dos ácidos mais fortes (HNO_3 e H_2SO_4) quando comparado aos demais procedimentos de extração, demonstrando maiores possibilidades deste método para a

extração do Al. Portanto, interferências durante a quantificação podem ter resultados em menores valores de Al nas amostras avaliadas.

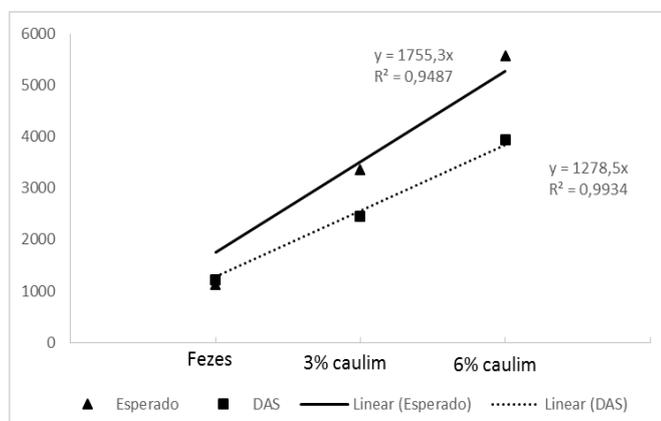


Figura 3. Valores esperados e determinados de alumínio em fezes puras e misturadas com caulim pelo tratamento DAS.

Tabela 3. Valores máximos e mínimos de alumínio (mg/kg) nas amostras de fezes contendo 3% e 6% de caulim, de acordo com os tratamentos estudados.

Amostras	Estatística ¹	Tratamentos ²				
		DNS	DCS	DNC	DCC	DAS
Caulim 3%	Vmin	3.156,74	2.994,61	2.332,56	2.190,34	678,45
	Vmax	3.605,60	3.472,07	2.922,30	2.778,34	4.322,55
	Ampl	448,86	477,46	589,74	588,00	3.644,10
Caulim 6%	Vmin	4.899,33	5.133,10	3.877,45	3.788,23	1.543,25
	Vmax	5.866,23	5.861,67	4.976,45	4.433,56	7.344,23
	Ampl	966,90	728,57	1.099,00	645,33	5.800,98

1: Vmin é valor mínimo; Vmax é valor máximo; Ampl é a amplitude (Vmax – Vmin);

2: DNS é Digestão nitro-perclórica sequencial da amostra *In Natura* e posterior digestão nitro-perclórica das cinzas do resíduo; DCN é Digestão clorídrica sequencial da amostra *In Natura* e posterior digestão clorídrica das cinzas; DNC é Digestão nitro-perclórica das cinzas; DCC é Digestão clorídrica das cinzas; DAS é Digestão ácida sequencial (mistura ácida com 4 partes de H₂O + 5 partes de HNO₃ + 5 partes de H₂SO₄), da amostra *In Natura*, e posterior digestão ácida das cinzas do resíduo.

Diferentemente dos demais tratamentos, a quantificação e os procedimentos de cálculos na técnica DAS, foram realizados por meio de titulometria, com a observação da mudança da cor dos substratos. Esta técnica, apesar de ser bastante sensível, é fortemente influenciada por variações na acidez inicial da amostra (pH) a qual é resultante do volume residual da solução ácida (processo de difícil controle) e das lavagens da amostra, assim como pela sensibilidade individual dos laboratoristas, vícios estes que podem ter ajudado na variação observada entre as amostras (Tab. 3). A ocorrência de turbidez na solução final de titulação indica a presença de alumínio não solubilizado, que não será contabilizado durante a determinação do alumínio, resultando em erros de quantificação do método DAS.

Os métodos sequenciais permitiram estimar os volumes de Al determinados na primeira (amostra *in natura* – orgânica) e na segunda etapa (cinzas do resíduo) em relação ao

total encontrado (Tab. 4). Este procedimento leva em consideração a resistência da solubilização do Al retido na fase orgânica ou na fase mineral, resultante da força de complexação deste nos diferentes substratos. Observou-se que os valores percentuais obtidos nas duas fases nos métodos DNS e DCS foram similares ($P > 0,05$) entre si, e diferentes do método DAS ($P < 0,05$).

Tabela 4. Valores médios em percentual de Alumínio nas fases *in natura* e cinzas pelos métodos sequenciais (DNS, DCS e DAS).

Etapas	Amostras	Tratamentos ¹		
		DNS (%)	DCS (%)	DAS (%)
In natura (1ª. Etapa)	Fezes	79,21Aa	79,95Aa	67,94Ab
	Caulim 3%	38,72Ba	38,51Ba	44,56Bb
	Caulim 6%	30,89Ba	29,60Ba	43,55Bb
	Caulim	19,98Ca	17,07Ca	41,98Bb
Cinzas (2ª. Etapa)	Fezes	20,79Ca	20,05Da	32,06Bb
	Caulim 3%	61,28Ba	61,49Ca	55,44Ab
	Caulim 6%	69,11Ba	70,40Ba	56,45Ab
	Caulim	80,02Aa	82,93Aa	58,02Ab

1: DNS é Digestão nitro-perclórica sequencial da amostra *In Natura* e posterior digestão nitro-perclórica das cinzas do resíduo; DCS é Digestão clorídrica sequencial da amostra *In Natura* e posterior digestão clorídrica das cinzas; DAS é Digestão ácida sequencial (mistura ácida com 4 partes de H₂O + 5 partes de HNO₃ + 5 partes de H₂SO₄), da amostra *In Natura*, e posterior digestão ácida das cinzas do resíduo. Aa: Médias nas linhas seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente. Médias nas colunas seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente.

Considerando os resultados encontrados nas amostras de fezes, nos métodos DNS e DCS, observou-se que 79,58% e 20,42% foram extraídos na primeira e segunda etapas respectivamente, comportamento este inverso do observado nas amostras de caulim puro, onde se encontrou os valores de 18,53% e 81,48% respectivamente para a primeira e a segunda etapas (Tab. 4). Estes resultados demonstram uma possível correlação entre a forma do composto de alumínio presente na amostra e sua resistência à digestão ácida (solubilização).

Ao considerar as duas etapas de digestão, os baixos teores de Al nas fezes puras, a elevada extração deste na primeira etapa (aproximadamente 80% nas técnicas DNS e DCS), e a baixa extração do Al de origem do caulim na primeira etapa, é possível presumir que o Al medido na segunda etapa seja majoritariamente originário do caulim, abrindo assim oportunidades de investigação no sentido de aplicação de modelos que permitam estimar o caulim por meio da concentração do Al nas fezes (Fig. 4).

O efeito da calcinação foi significativamente importante para a extração do Al das fezes e caulim, indicando a necessidade de uma metodologia sequencial para a obtenção da completa extração do Al da amostra.

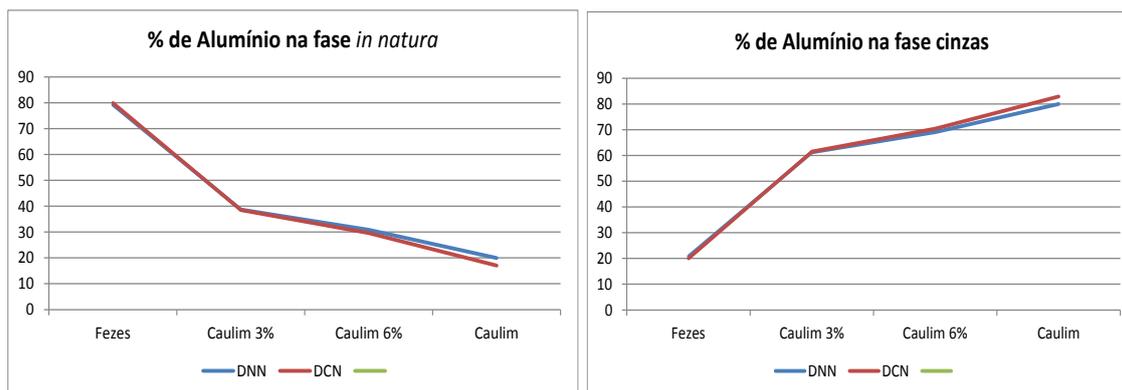


Figura 4. Concentrações de alumínio em amostras de fezes puras, caulim puro e de fezes misturadas com caulim pelos tratamentos DNS e DCS.

O alumínio possui efeito tóxico às plantas, provocado pela sua forma livre (Al^{3+}) no meio intra e extracelular, e da sua forte afinidade pelo oxigênio de compostos orgânicos como nucleotídeos, ácido ribonucleico (RNA), ácido desoxirribonucleico (DNA), fosfolipídeos, lipopolisacarídeos, ácidos carboxílicos, fosfato inorgânico entre outros, causando danos aos processos de divisão e respiração celular (Delhaize e Ryan 1995; Yi et al. 2010). As plantas defendem-se do seu efeito tóxico por meio de formações de complexos estáveis resultantes da sua reação com ácidos orgânicos (cítrico, oxálico, málico, tartárico, salicílico e malônico), tornando-o complexado e inativo (Ma, 2000).

A indisponibilidade e mínima absorção do Al no trato gastrointestinal (McDowell, 1992; Ma, 2000), sugerem que o mesmo possa ser excretado possivelmente em três formas – ligado aos complexos orgânicos de origem microbiana (Hara & Oliveira, 2004), ligado aos complexos orgânicos vegetais não degradados, ou livre e envoltos à massa vegetal não degradada. Investigações específicas por meio de variações nas metodologias de análise permitirão identificar com maior clareza a participação destas frações, contribuindo ainda mais com os estudos de viabilidade do caulim para as estimativa de consumo.

As diferenças percentuais de Al medido nas duas etapas ($P < 0,05$), quando comparamos as amostras puras de fezes ou de caulim pelas metodologias DNS e DCS, indicam que variações nas metodologias analíticas podem auxiliar nos estudos sobre a viabilidade do caulim nas estimativas de excreção fecal e de consumo (Tab. 4). O entendimento das variáveis analíticas, no que diz respeito aos aspectos de digestão das amostras, de leitura dos substratos, assim como o desenvolvimento de modelos matemáticos para esta finalidade podem ser estratégias importantes neste sentido.

Apesar das metodologias DNS e DCS apresentarem resultados semelhantes nas estimativas dos teores de alumínio, a maior facilidade metodológica, de aquisição de

reagentes e menor risco ao laboratorista devido ao baixo potencial de explosão induz à escolha do tratamento DCS para a estimativa dos teores de alumínio em amostras oriundas de estudos de consumo e digestibilidade.

No segundo ensaio, estimativas de PF foram obtidas a partir das análises de Al nas amostras de fezes (Fs), silagem (Sil), concentrado (C) e sobras (So), respectivamente, como sequência dos materiais analisados (Fs x Sil x C x So) para estimar a PF.

A partir dessa sequência dos materiais analisados utilizando quatro diferentes resultados de Al (quantificação 1, 2, 3 ou 4) para cada material foram obtidas 256 possíveis combinações para estimativa da PF.

Verificou-se que variações nas quantificações de Al nas amostras de fezes e silagem resultaram em modificações nas correlações da PF estimada com os valores reais. Enquanto as diferentes quantificações de Al nas amostras de concentrado e sobras não apresentaram influência sobre as correlações. Portanto, a quantificação utilizada nas amostras de silagem (1, 2, 3 ou 4) seria utilizada para definir a quantificação das amostras de concentrado e sobras nos cálculos de PF.

Materiais de origem orgânica como amostras de silagem, concentrado e sobras se comportam de maneira semelhante durante os procedimentos de extração do Al, dessa forma, variações nas metodologias de extração e quantificação nos diferentes materiais analisados somente se justificam quando existir a presença de materiais inorgânicos na amostra, como a presença de caulim e solos nas fezes.

Verifica-se que apenas duas combinações (Fs₂ x Sil₃ x C₃ x So₃ e Fs₃ x Sil₃ x C₃ x So₃) alcançaram 70% de correlação entre a estimativa da produção fecal e o valor real (Tab. 5), indicando que os melhores procedimentos de quantificação do Al oriundo do caulim sejam a extração das cinzas do resíduo (Quantificação 2) ou soma da extração *In Natura* com a extração da cinzas do resíduo (Quantificação 3).

Apesar da combinação Fs₂ x Sil₃ x C₃ x So₃ atender a correlação mínima exigida para as predições de PF, a estimativa média e variabilidade (valores mínimo e máximo) (Tab. 6) se distanciam bastante dos valores observados (real), indicando que as estimativas devem ser realizadas por equação de ajuste ou fator de correção destes resultados.

Apenas as combinações Fs₂ x Sil₃ x C₃ x So₃ e Fs₃ x Sil₃ x C₃ x So₃ foram submetidas às avaliações de resultados de predição (Tab.7), apresentando estimativas com baixa precisão em ambos os modelos.

Tabela 5. Médias e desvios padrão de produção fecal e correlações entre os valores reais e estimados a partir das combinações das leituras de alumínio.

	Média PF ²	DP ³	Correlação
Real	2,9809	1,2974	
Combinação ¹			
Fs1 x Sil1 x C1 x So1	7,6945	3,0173	0,3607
Fs1 x Sil2 x C2 x So2	6,9672	2,3344	0,3945
Fs1 x Sil3 x C3 x So3	9,3418	3,7139	0,5145
Fs1 x Sil4 x C4 x So4	6,5737	2,0869	0,1872
Fs2 x Sil1 x C1 x So1	6,7247	3,7345	0,6779
Fs2 x Sil2 x C2 x So2	5,8607	3,1436	0,5970
Fs2 x Sil3 x C3 x So3	8,3464	5,2341	0,7255
Fs2 x Sil4 x C4 x So4	5,4211	2,7022	0,4678
Fs3 x Sil1 x C1 x So1	3,3635	1,4052	0,6119
Fs3 x Sil2 x C2 x So2	3,0781	1,2309	0,6160
Fs3 x Sil3 x C3 x So3	4,1291	1,9126	0,7046
Fs3 x Sil4 x C4 x So4	2,8564	1,0675	0,4490
Fs4 x Sil1 x C1 x So1	6,4125	4,4429	0,5569
Fs4 x Sil2 x C2 x So2	5,7478	3,6976	0,5379
Fs4 x Sil3 x C3 x So3	8,1339	6,1942	0,5886
Fs4 x Sil4 x C4 x So4	4,5104	2,4810	0,6333

1: Combinação das quantificações de Al (1, 2, 3 ou 4) nos diferentes materiais (fezes (Fs) e silagem (Sil), concentrado (C) e sobras (So) respectivamente), formando as diferentes combinações (Fs x Sil x C x So) de acordo com a leitura utilizada em cada material.

2: Médias de produção fecal (kg de MS).

3: DP é o desvio padrão

Tabela 6. Valores médios e desvios padrão da produção fecal real e estimada por combinações das leituras de alumínio.

PF ¹	Média	DP ²	Mínimo	Máximo
Real	2.9809	1.2974	1.1339	5.2434
Fs2 x Sil3 x C3 x So3	8.3681	5.1240	2.7550	21.5249
Fs3 x Sil3 x C3 x So3	4.1396	1.8055	1.7374	8.5503

1: PF é a produção fecal em kg de matéria seca obtida a partir da coleta total de fezes (real) ou por combinações nas leituras de alumínio em que Fs2 x Sil3 x C3 x So3 e Fs3 x Sil3 x C3 x So3 representam as combinações das leituras de Al (1, 2, 3 ou 4) nos diferentes materiais (fezes (Fs), silagem (Sil), concentrado (C) e sobras (So) respectivamente), formando as diferentes combinações (F x Si x C x So) de acordo com a leitura utilizada em cada material.

2: DP é o desvio padrão em Kg de matéria seca.

Tabela 7. Avaliação dos modelos predição da produção fecal por diferentes combinações das leituras de alumínio.

Modelos ¹	Estatísticas de adequação ²						
	RQMEP	R ²	Teste F (Valor P)	CCC	Vício Médio	Vício Sistemático	Erro Aleatório
Fs2 x Sil3 x C3 x So3	6,89	0,72	0,00001	0,16	62,44	35,97	1,59
Fs3 x Sil3 x C3 x So3	1,76	0,77	0,00001	0,50	47,98	26,02	26,00

1: Combinação das leituras de Al (1, 2, 3 ou 4) nos diferentes materiais (fezes (Fs), silagem (Sil), concentrado (C) e sobras (So) respectivamente), formando as diferentes combinações (F x Si x C x So) de acordo com a leitura utilizada em cada material.

2: RQMEP é o quadrado médio do erro da predição, kg; R² é o coeficiente de determinação da regressão linear dos dados observados pelos dados preditos; Teste F é o valor P para o teste simultâneo para identidade dos parâmetros ($\beta_0 = 0$ e $\beta_1 = 1$) da regressão linear dos dados observados pelos dados preditos; CCC é o coeficiente de correlação e concordância.

Apesar da baixa acurácia e precisão nas predições (baixo CCC), os altos valores de vício médio e sistemático (Tab. 7) indicam a possibilidade de melhorias aditivas e multiplicativas, respectivamente, nos modelos avaliados.

A ausência de diferenças significativas entre os modelos (combinações) Fs2 x Sil3 x C3 x So3 e Fs3 x Sil3 x C3 x So3 sugere a padronização dos procedimentos laboratoriais em todos os materiais submetidos a análise do Al, e escolha da combinação Fs3 x Sil3 x C3 x So3 para estimativas de PF a partir do uso do indicador caulim.

CONCLUSÕES

Os métodos sequenciais (DNS e DCS) são mais eficazes em estimar os teores de alumínio nas diferentes amostras avaliadas.

A extração e quantificação do alumínio pelo método sequencial (*In Natura* + Cinza do resíduo) (Leitura 3) em amostras de fezes, silagem, concentrado e sobras deve ser adotada como procedimento para estimativas de produção fecal a partir do indicador caulim.

Mais estudos são necessários para tornar as técnicas de dosagem do Al oriundo do caulim mais acuradas e precisas.

REFERÊNCIAS

- ABAL - Associação Brasileira do Alumínio. História do Alumínio. Associação Brasileira do Alumínio, 1997-2011. São Paulo. ABAL, 2016. Disponível em: <<http://www.abal.org.br/aluminio/historia-do-aluminio/>> Acessado em: 03/12/2016.
- BOYER, J. 1985. Dinâmica dos elementos alocenicos e fertilidade dos solos. Salvador, Instituto de Geociências da Universidade Federal da Bahia. 311 p.
- BRAUNER, J.L.; CATANI, R.A.; BITTENCOURT, W.C. Extração e determinação do alumínio trocável do solo. Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz". v.23, p.53-73, 1966.
- COLEMAN, N. T.; THOMAS, G. W. Soil Acidity and Liming: The Basic chemistry of Soil Acidity. Number 12 in the series Agronomy. American Society Agronomy. Publisher Madison, Wisconsin, USA. 1967.
- CONSTANTINO, V.R.L.; ARAKI, K.; SILVA, D.O.; OLIVEIRA, W. Preparação de compostos de alumínio a partir da bauxita: considerações sobre alguns aspectos envolvidos em um experimento didático. Quim. Nova, v.25, n.3, p.490-498, 2002.
- CUNHA, G. O. M. Mineralogia e formas de alumínio em solos Ácidos brasileiros. 153p. Dissertação. (Mestre em Manejo do Solo). Universidade do Estado de Santa Catarina. Centro de Ciências Agroveterinárias. Lages – SC, 2013.
- DELHAIZE, E.; RYAN, P.R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. Plant Physiology, v.107, p.315-321, 1995.
- EVANS, K. A. Industrial Inorganic Chemicals: Production and Uses; Thompson, R., ed.; The Royal Society of Chemistry; Cambridge, 1995. p. 277-349.
- FAHEY JR, G.C.; JUNG, H.G. Lignin as a marker in digestion studies: a review. J.Anim. Sci., v.57, n.1, p.220-225, 1983.

- GIESE JR., R.F. Kaolin minerals: structures and stabilities. Review in Mineralogy: Hydrous Phyllosilicates, (S.W. Bailey, Ed.), v.19, p.29-66, 1988.
- GREENWOOD, N.N.; EARNSHAW, A.; Chemistry of the Elements, Butterworth Heinemann; Oxford, 2^a ed., 1997, p. 216-277.
- HARA, F.A.S.; OLIVEIRA, L.A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álicos de Presidente Figueiredo, Amazonas. Acta Amazonica, v.34, n.2, p.343-357, 2004.
- KIEHL, E. J. Manual de Edafologia: Relação Solo-Planta. Editora Agronômica Ceres. São Paulo – SP, 1979.
- KOTB, A. R.; LUCKEY, T. D. Markers in nutrition. Nutrition Abstracts Reviews, Farnham Royal, v.42, n.3, p. 813-845, 1972.
- MA, J.F. Role of organic acids in detoxification of aluminum in higher plants. Plant Cell Physiol. v.41, n.4, p.383-390, 2000.
- MCDOWELL, L.R. Minerals in animal and human nutrition. Academic Press, Inc. 1992. p.352-365.
- MILLER, R.G., KOPFLER, F.C., KELTY, K.C. et al. The occurrence of aluminum in drinking water. J. Am. Water Works Assoc., v.76, p. 84–91, 1984.
- OSMARI, T.A. Cinética da reação de desidratação de etanol em alumina. 2015. 118f. Dissertação (Mestre em Engenharia de Processos). Universidade Federal de Santa Maria. Centro de Tecnologia. Santa Maria – RS, 2015.
- TAKAHASHI, T., FUKUUKA, T., DAHLGREN, R.A. 1995. Aluminum solubility and release rates from soil horizons dominated by aluminum - humus complexes. Soil Science and Plant Nutrition 41(1): 119-131.
- TEDESCHI, L.O. Model Evaluation System - MES. <http://nutritionmodels.tamu.edu/mes.htm>, College Station, TX, USA. 2006.

- ULLMANN'S Encyclopedia - Industrial Inorganic Chemicals and Products, Willey-VCH: Weinheim, 1998, v.1, p.1-24.
- UNDERWOOD, E.J. Trace Elements: Toxicants occurring naturally in foods. Natl. Acad. Sci.; Washington, D.C., 1973.
- UNDERWOOD, E.J. Trace Elements in Human and Animal Nutrition 4. Academic Press, New York, 1977. pp. 430–432.
- VANCE, G. F.; STEVENSON, F. J.; SIKORA, F. J. Environmental chemistry of aluminum-organic complexes. In: SPOSITO, G. (ed). Environmental chemistry of aluminum. Boca Raton. Lewis, p. 169- 220, 1995.
- VIOLANTE, A; VIOLANTE, P. Influence of pH, concentration, and chelating power of organic anions on the synthesis of aluminum hydroxides and oxyhydroxides. Clays and Clay Minerals, v. 28, n.6, p.425-434, 1980.
- YI, M.; YI, H.; LI, H.; WU, L. Aluminum induces chromosome aberrations, micronuclei, and cell cycle dysfunction in root cells of *Vicia faba*. Environmental Toxicology, v.25, p.124-129, 2010.

Caulim e óxido crômico sob diferentes formas de administração em estudo de consumo e digestibilidade

[Kaolin and chromic oxide under different forms of administration in the study of feed intake and digestibility]

RESUMO

A nutrição animal necessita de metodologias simples que possam ser aplicadas em condições de campo, que sejam capazes de fornecer estimativas válidas de consumo e digestibilidade e que possam ser utilizadas tanto pelos produtores rurais quanto pela indústria produtora de insumos para animais. Assim a busca por novas substâncias, fornecidas de forma prática, quantificadas por metodologias analíticas simples e de baixo custo em substituição aos indicadores externos (óxido crômico usado como referência) seriam bem aceitas pela comunidade científica. Neste contexto objetivou-se avaliar o fornecimento do óxido crômico via esofágica ou misturado na ração, e o uso do caulim como indicador, sob as mesmas formas de fornecimento, para estimar a produção fecal e digestibilidade. Foram testados quatro tratamentos, sendo o primeiro aquele em que os animais foram submetidos ao fornecimento de óxido crômico fornecido via esofágica (OCesof), no segundo tratamento os animais receberam o caulim via esofágica (Caulesof), no terceiro o fornecimento do óxido crômico aos animais foi misturado à ração (OCrac) e no quarto tratamento o caulim foi administrado misturado à ração (Caulrac), em quatro períodos experimentais de 12 dias, com intervalos de seis dias entre os períodos. O tratamento Caulrac permitiu obter estimativas de produção fecal semelhante ao tratamento OCesof. O tratamento OCrac não diferiu do tratamento OCesof ($p > 0,05$) em nenhum dos parâmetros avaliados, evidenciando que o indicador óxido crômico pode ser fornecido misturado diretamente na ração sem prejudicar as estimativas de produção fecal e digestibilidade. O caulim, nas condições estudadas, não se mostrou como eficiente indicador para obter estimativas acuradas de produção fecal, havendo necessidade de mais estudos no sentido de ajustar as técnicas analíticas de extração do alumínio bem como sanar algumas dúvidas quanto ao seu processo de digestão.

Palavras-chave: alumínio, fezes, indicador, produção fecal

ABSTRACT

Animal nutrition needs simple methodologies that can be applied under field conditions that are able to provide valid estimates of consumption and digestibility and that can be used by both farmers and the animal feed industry. Thus the search for new substances, provided in a practical way, quantified by simple and low-cost analytical methodologies, replacing the external indicators (chromic oxide used as reference) would be well accepted by the scientific community. The objective of this study was to evaluate the supply of chromic oxide via esophageal or mixed in the diet and the use of kaolin as an indicator, under the same forms of supply, to estimate fecal production and digestibility. Four treatments were tested, the first one in which the animals were submitted to the supply of chromium oxide supplied via esophageal (OCesof), in the second treatment the animals received kaolin esophageal (Caulesof), in the third the supply of chromic oxide to the animals was mixed to the feed (OCrac) and in the fourth treatment the kaolin was administered mixed with the feed (Caulrac), in four experimental periods of 12 days, with intervals of six days between the periods. The Caulrac treatment allowed to obtain estimates of fecal production similar to OCesof treatment. The OCrac treatment did not differ from the OCesof treatment ($p > 0.05$) in any of the evaluated parameters, evidencing that the chromic oxide indicator can be supplied mixed directly in the feed without damaging the estimates of fecal production and digestibility. In the studied conditions, kaolin was not shown to be an efficient indicator to obtain accurate estimates of fecal production, and there is a need for further studies in order to adjust the analytical techniques of aluminum extraction as well as to resolve some doubts regarding its digestion process.

Keywords: aluminum; fecal production; feces; marker

INTRODUÇÃO

A mensuração de parâmetros como o consumo e digestibilidade auxilia na determinação da qualidade do alimento e da quantidade de nutrientes absorvíveis presentes no alimento (Moura et al., 2013).

Em situações de pastejo, essas mensurações podem ser comprometidas pela dificuldade em obter estimativas acuradas e precisas. Nesse sentido, o uso da técnica dos indicadores representa uma ferramenta nos estudos de consumo e digestibilidade. A partir de informações da digestibilidade do pasto ingerido e da quantidade de fezes excretada, estimadas por meio dos indicadores, é possível estimar o consumo de matéria seca do pasto (Oliveira, 2005).

Indicadores são substâncias utilizadas no monitoramento dos aspectos químicos (hidrólise e síntese) e físicos (fluxos) da digestão (Owens & Hanson, 1992), e algumas características permitem utilizá-los como indicadores, como ser inerte, não ser tóxico, não ter função fisiológica, não ser metabolizado, poder ser processado com o alimento, ser recuperado totalmente a partir do trato gastrointestinal (TGI), não influenciar a motilidade e secreções intestinais, não influenciar e não ser influenciado pela microbiota do TGI, possuir propriedades físico-químicas que não interfiram nos processos digestivos, fluir de forma similar ao material marcado e apresentar um método analítico fácil, preciso e acurado (Fahey & Jung, 1983).

O fornecimento de indicador externo, substância que não faz parte da dieta, ao animal representa importante fonte de variação nos resultados (Fukumoto et al., 2006), devido as eventuais perdas do indicador no momento de sua administração ou por estresse causado ao animal devido ao manejo de fornecimento via esofágica.

O óxido crômico (Cr_2O_3) é o indicador externo mais empregado nos estudos de consumo e digestibilidade até o presente momento (Moura et al., 2013), para estimativas de produção fecal. O fornecimento do Cr_2O_3 misturado em alimento concentrado tem a vantagem de diminuir o estresse causado aos animais durante o fornecimento do indicador. Entretanto, em função de sua baixa palatabilidade, a inclusão de 5% de Cr_2O_3 no concentrado, como recomendado por Penning (2004), tem limitado sua utilização a animais dotados de cânula ruminal (Ribeiro Filho et al., 2003).

Alguns problemas como incompleta mistura com a digesta ruminal, passagem mais rápida pelo rúmen que o material fibroso e possibilidade de acúmulo em alguma parte do trato

digestivo e, dificuldades na análise (Machado et al.,2011) indicam a necessidade de novas escolhas de indicadores.

O caulim possui características físico-químicas exigidas para um indicador externo para estudos de consumo e digestibilidade. Apresenta-se inerte em ampla faixa de pH (3 a 9), tem fácil dispersão, baixa condutividade térmica e elétrica, pouca abrasividade, baixo custo (Silva, 2007; Luz et al., 2009) e boa resistência ao ataque químico por ácidos ou álcalis (Coelho et al., 2007). No entanto ainda não existem técnicas analíticas padronizadas para sua quantificação em ensaios de digestibilidade e não foi avaliada sua acurácia e precisão.

Com intuito de contribuir, objetivou-se avaliar o uso do caulim, como possível indicador externo para estimar a produção fecal, fornecido via esofágica ou misturado na ração (concentrado+silagem) comparando-o com o óxido crômico em condições semelhantes de fornecimento e suas respectivas adequações de resultados em relação aos obtidos pelos animais em ensaio de digestibilidade aparente.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de metabolismo animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e foi aprovado pelo Comitê de ética no uso de animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, nº 752/2016.

Foram utilizados 4 bovinos machos castrados da raça Holandesa, com peso médio de 573 ± 104 kg, que permaneceram confinados em baias individuais providas de cocho para volumoso e concentrado, e bebedouro. Os animais foram tratados contra endo e ectoparasitas antes de se iniciar o período experimental.

O volumoso, silagem da parte aérea de milho, foi fornecido *ad libitum* duas vezes ao dia aos animais de todos os tratamentos.

Os animais receberam 1,0 kg/dia de um concentrado proteico-energético formulado para conter 20% de proteína bruta (PB), 76% de nutrientes digestíveis totais (NDT) e componentes minerais (Tab. 1). O concentrado foi fornecido uma vez ao dia, misturado a uma pequena porção do volumoso fornecido no período da manhã. Somente após o animal ter consumido essa primeira porção de ração total é que o restante do volumoso era adicionado no cocho, garantindo que consumo de concentrado chegasse a 100%. A água esteve permanentemente disponível aos animais.

Tabela 1. Ingredientes e composição química estimada da dieta fornecida aos animais.

Item	Silagem de parte aérea de milho	Concentrado ^{1, 2}
Matéria seca, %	34,40	92,04
Matéria orgânica, % MS	95,31	91,10
Proteína bruta, % MS	4,28	22,09
Fibra em detergente neutro, % MS	53,75	16,70
Extrato etéreo, % MS	2,20	2,71
Nutrientes digestíveis totais ³ , % MS	60,30	81,48
Alumínio, mg/Kg MS	364,40	155,90

¹Ingredientes do concentrado: milho, farelo de soja, carbonato Ilcon, sal, fosfato bicalcico micro, melação pó, ureia, enxofre pó, óxido de magnésio, óxido de zinco, sulfato de cobre, sulfato de manganês, sulfato de cobalto, iodato de cálcio, selenito de sódio.

²Níveis de minerais: Cálcio 15,50 g/kg MS, enxofre 10,02 g/kg MS, magnésio 4,02 g/kg MS, potássio 7,36 g/kg MS, sódio 8,09 g/kg MS, cobalto 8,00 mg/kg MS, cobre 82,00 mg/kg MS, ferro 85,37 mg/kg MS, iodo 11,05 mg/kg MS, manganês 82,61 mg/kg MS, selênio 2,25 mg/kg MS, zinco 306,35 mg/kg MS.

³Dados estimados a partir da equação: Nutrientes digestíveis totais = 91,0246 – 0,571588*Fibra em detergente neutro (Capelle et al., 2001).

Foram testados quatro tratamentos, contendo óxido crômico e caulim fornecidos via esofágica, utilizando-se um aplicador de bólus (OCesof e Caulesof), ou misturado no suplemento concentrado (OCrac e Caulrac).

O caulim utilizado neste trabalho é proveniente da extração e processamento de rocha do grupo sedimentar metamórfica, cujas características químicas e físicas estão apresentadas no Artigo 1 deste trabalho.

Os animais submetidos ao tratamento de óxido crômico via esofágica (**OCesof**) receberam 15 g/dia do indicador. Para isto, o mesmo foi acondicionado em cartucho de papel com intuito de se evitar perdas. No tratamento em que o caulim foi administrado via esofágica (**Caulesof**) os animais receberam 50 g/dia de caulim. No terceiro tratamento, os animais receberam 15 g/dia de óxido crômico (**OCrac**) diluído em 1 kg de concentrado proteico-energético. Por fim, o quarto tratamento consistiu em se fornecer 50 g/dia de caulim diluído em 1 kg de concentrado (**Caulrac**). O fornecimento do concentrado contendo os respectivos indicadores era realizado pela manhã misturado a uma pequena quantidade de volumoso. A administração dos respectivos indicadores ocorreu uma vez ao dia ao longo dos 12 dias de cada período experimental.

A oferta dos indicadores via esofágica ocorriam no período da manhã, imediatamente antes do trato dos animais.

Os tratamentos foram distribuídos aos animais segundo um delineamento quadrado latino 4x4. Foram realizados quatro períodos de 12 dias, com intervalos de seis dias entre os períodos para a eliminação completa do indicador do trato digestivo dos animais.

Durante os seis dias de intervalos entre os períodos experimentais, realizava-se o ajuste do consumo dos animais, definindo a quantidade diária de silagem a ser fornecida durante o próximo período experimental. A ração era fornecida duas vezes ao dia (60% da MS às 6 horas e 40% às 16 horas).

Em cada período experimental, o intervalo entre os dias zero e quatro (D0 ao D4) foi destinado à adaptação dos animais ao tratamento e à estabilização da excreção fecal do indicador. Os oito dias restantes (D5 ao D12) foram destinados ao protocolo de coleta total de fezes.

Na coleta total de fezes, cada amostra consistiu de uma subamostra representativa de um período de 24 horas, obtendo-se ao final de cada período experimental 8 amostras de fezes de cada animal. As fezes foram colhidas do piso das baias imediatamente após a defecação dos animais, para que não houvesse contaminação com urina ou pisoteio. Após cada defecação, as fezes eram pesadas e então 15% do valor da pesagem foi retirada para compor a amostra diária de fezes.

Durante todo o período de coleta de fezes também foram realizadas pesagens e coleta de amostras dos alimentos fornecidos e das sobras. Todos os componentes coletados foram pesados, amostrados por quarteamento e armazenados em freezer a -20°C para posteriores análises.

As amostras de fezes, alimentos fornecidos e sobras armazenadas no freezer depois de descongeladas, foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 72 a 96 horas, trituradas em moinho de facas utilizando peneira de 1 mm para posteriores análises.

As amostras assim preparadas foram analisadas quanto ao conteúdo de matéria seca (MS) (método 930.15), extrato etéreo (EE) (método 920.39), matéria mineral (MM) (método 942.05), e proteína bruta (PB) (método 976.05), conforme o AOAC (1990). As análises de fibra em detergente neutro (FDN) foram realizadas conforme recomendações de Van Soest et al. (1991).

Para determinação dos carboidratos não fibrosos utilizou-se a equação proposta por Hall (2000): $CNF = MO - (PB + EE + FDN - PB_{ureia} + Ureia)$, onde CNF são carboidratos não fibrosos, MO é matéria orgânica, PB é proteína bruta, EE é extrato etéreo, FDN é fibra em detergente neutro, PB_{ureia} é a proteína bruta advinda da ureia e Ureia é a porcentagem de ureia presente.

A dosagem de óxido crômico nas fezes foi realizada por Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) (Williams et al., 1962) com as modificações sugeridas por Saliba (1998).

O alumínio foi dosado para se quantificar o caulim nas amostras contendo caulim original, fezes, alimentos e sobras. Os teores de alumínio foram determinados por meio de colorimetria utilizando a técnica da Aluminona (Brauner et al., 1966). O método de extração utilizado foi a digestão clorídrica sequencial (DCS). Nesta análise a amostra original (*In Natura*) foi submetida a digestão, posteriormente seu resíduo foi calcinado e as cinzas submetida ao procedimento analítico de extração, conforme descrito no Artigo 1 deste trabalho.

A produção fecal estimada pelos indicadores foi obtida por meio de equações específicas (Eq. 1, 2 e 3) de acordo com os respectivos tratamentos, conforme descrito abaixo:

$$\text{PFOCesof} = \{ \text{OCof} \times (\text{CromoOC} / 1000) \} / \text{CromoFz} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde: PFOCesof é a produção fecal estimada a partir do tratamento OCesof, kg/dia; OCof é a quantidade diária de óxido crômico oferecida ao animal, g/dia; CromoOC é a concentração de cromo presente no óxido crômico, g/kg; CromoFz é a concentração de cromo nas fezes, g/kg.

$$\text{PFCaulesof e Caulrac} = \{ [\text{CA} \times (\text{AlCA} / 1000)] + (\text{Alsil} + \text{Alcon} - \text{Alsb}) \} / \text{AlFz} \quad \text{Eq. 2}$$

Onde: PFCaulesof e Caulrac é a produção fecal estimada a partir dos tratamentos Caulesof e Caulrac, respectivamente, kg/dia; CA é a quantidade diária de Caulim oferecida ao animal, g/dia; AlCA é a concentração de alumínio presente no caulim, g/kg; Alsil é a quantidade diária de alumínio consumida pelo animal oriunda da silagem, g/dia; Alcon é a quantidade diária de alumínio consumida pelo animal oriunda do concentrado, g/dia; Alsb é a quantidade de alumínio presente nas sobras de ração, g/dia; AlFz é a concentração de alumínio presente nas fezes, g/kg.

$$\text{PFOCrac} = \{ [\text{OCof} \times (\text{CromoOC} / 1000)] - \text{CromoSo} \} / \text{CromoFz} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde: PFOCrac é a produção fecal estimada a partir do tratamento OCrac, kg/dia; OCof é a quantidade diária de óxido crômico oferecida ao animal, g/dia; CromoOC é a concentração de cromo presente no óxido crômico, g/kg; CromoSo é a quantidade de cromo presente nas sobras de ração, g/dia; CromoFz é a concentração de cromo presente nas fezes, g/kg.

As porcentagens de recuperação fecal (RF) dos indicadores dos respectivos tratamentos foram calculadas conforme descrito (Eq. 4, 5 e 6):

$$\text{RFOCesof} = (\text{Cromofz} \times \text{MSfecal real}) / (\text{OCof} \times (\text{CromoOC} / 1000)) \quad \text{Eq. 4}$$

Onde: RFOCesof é a recuperação fecal do cromo no tratamento OCesof; CromoFz é a concentração de cromo presente nas fezes, g/kg; MSfecal real é a quantidade de matéria seca fecal excretada, quantificada a partir da coleta total de fezes e análise em estufa a 105°C, kg; OCOF é a quantidade diária de óxido crômico oferecida ao animal, g/dia; CromoOC é a concentração de cromo presente no óxido crômico, g/kg.

$$\text{RFOCrac} = (\text{Cromofz} \times \text{MSfecal real}) / (\text{OCof} \times (\text{CromoOC} / 1000) - \text{CromoSo}) \quad \text{Eq. 5}$$

Onde: RFOCrac é a recuperação fecal do cromo no tratamento OCrac; CromoFz é a concentração de cromo presente nas fezes, g/kg; MSfecal real é a quantidade de matéria seca fecal excretada, quantificada a partir da coleta total de fezes e análise em estufa a 105°C, kg; OCOF é a quantidade diária de óxido crômico oferecida ao animal, g/dia; CromoOC é a concentração de cromo presente no óxido crômico, g/kg; CromoSo é a quantidade de cromo presente nas sobras de ração, g/dia.

$$\text{RFCaulesof e Caulrac} = (\text{AlFz} \times \text{MSfecal real}) / [\text{CA} \times (\text{AICA} / 1000)] + (\text{Alsil} + \text{Alcon} - \text{Alsb}) \quad \text{Eq. 6}$$

Onde: RFCaulesof e Caulrac é a recuperação fecal do alumínio nos tratamentos Caulesof e Caulrac, respectivamente; AlFz é a concentração de alumínio presente nas fezes, g/kg; MSfecal real é a quantidade de matéria seca fecal excretada, quantificada a partir da coleta total de fezes, kg; CA é a quantidade diária de Caulim oferecida ao animal, g/dia; AICA é a concentração de alumínio presente no caulim, g/kg; Alsil é a quantidade diária de alumínio consumida pelo animal oriunda da silagem, g/dia; Alcon é a quantidade diária de alumínio consumida pelo animal oriunda do concentrado, g/dia; Alsb é a quantidade de alumínio presente nas sobras de ração, g/dia.

Os coeficientes de digestibilidade aparente (DA) dos nutrientes, reais e preditos, foram determinados pela diferença entre a quantidade diária consumida e excretada pelo animal, utilizando-se modelo abaixo:

$$\text{DA} (\%) = \frac{\text{Nutriente ingerido} - \text{Nutriente excretado} \times 100}{\text{Nutriente ingerido}} \quad \text{Eq. 7}$$

Onde: DA = coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes; Nutriente = MS, PB, EE, MO, FDN e CNF.

Os valores reais de excreção fecal utilizados nos cálculos do DA são representados pelos valores obtidos (medidos) durante coleta total de fezes, enquanto os valores preditos foram estimados pelos indicadores.

O teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) da dieta foi estimado a partir dos dados de composição e digestibilidade de cada nutriente, conforme a equação:

$$\text{NDT (\%)} = (\text{CPB/CMS} \times \text{DAPB}) + ((\text{CEE/CMS} \times \text{DAEE}) \times 2,25) + (\text{CFDN/CMS} \times \text{DAFDN}) + (\text{CCNF/CMS} \times \text{DACNF}) \quad \text{Eq. 8}$$

Onde: NDT são os nutrientes digestíveis totais, %; CPB é o consumo de proteína bruta, kg/dia; CMS é o consumo de matéria seca, kg/dia; DAPB é o coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta, %; CEE é o consumo de extrato etéreo, kg/dia; DAEE é o coeficiente de digestibilidade aparente do extrato etéreo, %; CFDN é o consumo de fibra em detergente neutro, kg/dia; DAFDN é o coeficiente de digestibilidade aparente da fibra insolúvel em detergente neutro, %; CCNF é o consumo de carboidrato não fibroso, kg/dia; DACNF é o coeficiente de digestibilidade aparente do carboidrato não fibroso, %.

As médias por quadrados mínimos de RF dos indicadores nos respectivos tratamentos foram comparados entre si pelo teste de Tukey.

Os dados de produção fecal, DA e NDT estimados de cada indicador foram comparados aos dados reais (medidos na digestibilidade aparente), e quando cabível, pelo teste de Dunnett. Posteriormente foram comparados entre si pelo teste “t”.

O software SAS versão 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, CA, EUA) foi utilizado para a comparação dos tratamentos.

A avaliação da adequação dos resultados de predição foi realizada como sugerido por Tedeschi (2006). Foi estimada a regressão linear dos dados observados pelos dados preditos por cada tratamento e avaliados o coeficiente de determinação (R^2) e o teste F simultâneo para identidade dos parâmetros ($\beta_0 = 0$ e $\beta_1 = 1$). Outros critérios utilizados foram o coeficiente de correlação e concordância (CCC), a raiz quadrada do quadrado médio do erro da predição (RQMEP) e a partição do quadrado médio do erro de predição em vício médio, vício sistemático e erro aleatório. Todos os cálculos das estatísticas de avaliação foram realizados utilizando-se o MES – Model Evaluation System (<http://nutritionmodels.tamu.edu/mes.htm>, College Station, TX, USA; TEDESCHI, 2006).

O nível de significância de 5% foi adotado em todos os procedimentos estatísticos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo médio de matéria seca dos animais durante o experimento foi de 9,18 kg/dia ou 2% do peso vivo.

Ao comparar as estimativas do indicador caulim aos valores reais de produção fecal e digestibilidade (Controle) (Tab. 2), observa-se que no tratamento Caulesof todos os

parâmetros estimados por este indicador diferiram ($p < 0,05$) dos valores reais, demonstrando superestimativas da produção fecal e subestimativas dos demais valores de DA e NDT.

Tabela 2. Médias de produção fecal, digestibilidade aparente e nutrientes digestíveis totais reais (controle) e estimados pelos indicadores óxido crômico e caulim administrados via esofágica ou na ração.

Parâmetros ¹	Controle ²	Tratamentos ³				C.V. ⁴
		Caulesof	Caulrac	OCesof	OCrac	
PF	2,98	4,86 ^{*ac}	4,43 ^{*a}	3,01 ^{ab}	2,65 ^b	19,48
DAMS	68,51	49,70 ^{*a}	50,18 ^{*a}	67,83 ^b	72,07 ^b	9,89
DAPB	58,38	34,96 ^{*ac}	42,64 ^{*a}	57,94 ^{ab}	64,26 ^b	9,88
DAEE	81,34	68,40 ^{*ac}	74,64 ^a	83,45 ^{ab}	82,86 ^{ab}	5,62
DAMO	71,86	54,38 ^{*a}	52,81 ^{*a}	70,68 ^b	75,87 ^b	10,96
DAFDN	56,93	31,99 ^{*ab}	39,67 ^{*a}	56,61 ^{ac}	62,72 ^{ac}	14,37
DACNF	92,38	86,69 ^{*ab}	90,84 ^a	91,10 ^a	93,96 ^{ac}	2,24
NDT	67,76	51,62 ^{*ac}	57,70 ^{*a}	67,16 ^{ab}	71,47 ^{ab}	6,83

¹PF é a produção de matéria seca fecal, kg/dia; DAMS é a digestibilidade aparente da matéria seca, %; DAPB é a digestibilidade aparente da proteína bruta, %; DAEE é a digestibilidade aparente do extrato etéreo, %; DAMO é a digestibilidade aparente da matéria orgânica, %; DAFDN é a digestibilidade aparente da fibra insolúvel em detergente neutro, %; DACNF é a digestibilidade aparente do carboidrato não fibroso, %; NDT são os nutrientes digestíveis totais, %.

²Controle representa os dados observados, obtidos a partir da coleta total de fezes.

³Caulesof é o tratamento caulim fornecido via esofágica; Caulrac é o tratamento caulim fornecido via ração; OCesof é o tratamento óxido crômico fornecido via esofágica; OCrac é o tratamento óxido crômico fornecido via ração

⁴C.V. é o coeficiente de variação.

Médias seguidas de “*” diferem do tratamento controle pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de significância.

As diferenças entre os valores reais (controle) e os valores estimados (Tab. 2) indicam a ausência de acurácia nos resultados obtidos a partir do caulim sob as duas formas de administração (esofágica e na ração).

A quantificação do caulim foi obtida de medidas indiretas por meio das dosagens do elemento alumínio presente em sua composição. Portanto, perdas e vícios decorrentes dos processos de extração e quantificação do alumínio podem interferir diretamente sobre as estimativas do indicador.

Assim, a escolha e ajustes nas metodologias de extração das amostras são cruciais para a obtenção de resultados robustos e acurados poderiam refletir nos resultados obtidos, pois segundo Melo e Silva (2008) a extração representa a etapa mais crítica do processo analítico para a caracterização da amostra. Além disso, pouco se conhece sobre a recuperação de elemento Al a partir de compostos orgânicos como os executados nas amostras de

concentrado, silagem e nas fezes) nos diferentes métodos de extração existentes (Zheljzakov; Warman, 2002).

A formação de um óxido metaestável (alumina) durante o processo de calcinação da amostra em temperaturas entre 400 e 800°C (Cartaxo et al., 2011; Osmari, 2015) poderia resultar em subestimativas dos teores de alumínio nas amostras analisadas devido à solubilização incompleta da alumina pelos ácidos durante o procedimento de extração.

Outro fator a considerar é que na rotina de extração de amostras contendo elevados teores de alumínio como no produto caulim possam necessitar de maior número de diluições (ou ajuste na razão massa amostral e volume dos ácidos extratores) que poderão resultar em digestão incompleta e influir nos resultados obtidos. Ou seja, é possível que o elevado teor de alumínio da amostra necessite de ajustes nas metodologias de extração, com demanda por mais repetições da fase de digestão.

Outro aspecto a considerar é que os métodos existentes para a extração do alumínio total podem não ser capazes de realizar a extração completa do elemento presente nas amostras, seja pela característica da amostra (fezes e alimentos) ou excesso de alumínio presente nas amostras de caulim. Portanto, persiste a incerteza de que o método de extração utilizado tenha conseguido disponibilizar todo o alumínio para ser quantificado.

A contaminação natural de partículas de solo (contém argilas silicatadas como caulim) via ingestão do volumoso pode interferir nos resultados analíticos. Contudo, neste estudo os animais encontram-se confinados e a principal fonte de contaminação seria oriunda da forragem, mas os níveis relativamente baixos (cerca de até 50 mg/kg de alumínio na composição de gramíneas e trevos (Underwood, 1977), não seriam suficientes para promover profundas modificações nos resultados obtidos.

Fatores da cinética da digestão como taxa de degradação e de passagem podem influenciar nos resultados acelerando ou reduzindo a velocidade de excreção fecal do indicador, mas considerando o consumo de MS do ensaio de digestibilidade aparente de 2% do peso corporal presume-se que o indicador (pré-misturado no concentrado para posterior mistura com o volumoso) aderido nas partículas do concentrado teve mais rápida taxa de passagem que o contido no volumoso que provavelmente teve maior tempo de permanência no rúmen e conseqüentemente, passagem mais lenta para o TGI posterior.

Apesar do indicador caulim apresentar resultados diferentes daqueles obtidos a partir da coleta total de fezes em praticamente todos os parâmetros avaliados, o tratamento Caulrac permitiu obter estimativas de produção fecal semelhante (exceto DAMS, DAMO) ao tratamento OCesof (Tab. 2).

A administração dos indicadores (caulim e óxido crômico) via suplemento não interferiu nas estimativas, pois os resultados foram semelhantes aos da administração esofágica dos respectivos indicadores. Embora o caulim, neste trabalho, não ter mostrado adequado nas estimativas de predição, os resultados nas duas formas de administração foram semelhantes, evidenciando que o problema reside na metodologia analítica de extração e quantificação deste indicador.

A semelhança dos valores de PF, DA e NDT estimados pelos OCrac com os obtidos a partir da coleta total (Controle) ressalta que a administração individual dos indicadores por meio de sua homogeneização na ração, permitiu a obtenção de resultados acurados a partir de um manejo mais simples e menos estressante do que o OC aplicado via esôfago dos animais.

Resultado semelhante foi observado por Ferreira et al. (2009). Naquele experimento, os coeficientes de digestibilidade aparente e nutrientes digestíveis totais obtidos com óxido crômico não diferiram daqueles observados com a coleta total de fezes.

Os valores de recuperação fecal (RF) dos indicadores caulim e óxido crômico foram diferentes ($p < 0,05$), independente da forma de administração (Tab.3). Contudo, ao comparar os valores de RF do mesmo indicador sob as diferentes formas de administração (ração ou esofágica), não foi observada diferença estatística ($p > 0,05$).

Tabela 3. Médias por quadrados mínimos da recuperação dos indicadores óxido crômico e caulim nas fezes administrados via esofágica ou na ração.

Parâmetros	Tratamentos ²				CV(%)
	Caulesof	Caulrac	OCesof	OCrac	
Recuperação ¹	0,6784 ^a	0,7575 ^a	1,1460 ^b	1,1089 ^b	9,70
Valor – p ³	0,0087	0,0409	0,0015	0,02094	
IC (95%) ⁴	0,5119 - 0,8451	0,5338 - 0,9812	1,1043 – 1,1877	1,0206 – 1,1971	

¹Médias por quadrados mínimos seguidas por letras diferentes, diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

²Caulesof é o tratamento caulim fornecido via esofágica; Caulrac é o tratamento caulim fornecido via ração; OCesof é o tratamento óxido crômico fornecido via esofágica; OCrac é o tratamento óxido crômico fornecido via ração.

³Valor P para a diferença entre a média observada neste tratamento e o valor de recuperação de 1,00 (representativo da recuperação ideal de 100% do total fornecido).

⁴IC (95%) é o intervalo de confiança de 95%.

Todos os tratamentos avaliados (Tab. 3) apresentaram resultados de RF diferente de 100% ($p < 0,05$), com menor RF ao utilizar o indicador caulim (Caulesof e Caulrac) e maior para o indicador óxido crômico (OCesof e OCrac).

Em condições normais não se observa absorção do alumínio pelos animais, pois os aluminossilicatos são pouco solúveis mesmo em pH ácido, e quando solubilizados não são absorvidos (Mauras et al., 1983).

Devido a composição das fontes de alumínio do presente estudo estarem classificadas como aluminossilicatos, considerou-se que todo alumínio, oriundo do caulim ou de outra fonte, fosse excretado nas fezes sem ser absorvido. Contudo, os resultados de RF demonstram uma recuperação inferior à ingerida. Portanto novos estudos deverão ser feitos para esclarecer os eventos fisiológicos da absorção e excreção do Al.

A partir dos resultados de produção fecal obtidos neste trabalho (Tab. 4), observa-se que o OCesof foi o melhor dos tratamentos em prever a produção fecal dos animais, pois apresentou menor dispersão ($R^2 = 0,86$) e dados com precisão e acurácia aceitáveis ($CCC = 0,76$). Contudo, o alto valor do quadrado médio do erro de predição ($RQMEP = 0,78$) nos resultados indica baixa precisão nas estimativas. Apesar do valor de $RQMEP$ (0,44) observado por Souza et al. (2015) ser inferior ao deste trabalho, ainda assim os autores os associaram como resultados pouco precisos.

Ao avaliar o erro de predição desses tratamentos, utilizando $RQMEP$ dividido pela produção fecal média observada dos respectivos tratamentos, verifica-se que o menor erro de predição (19,6%) ocorreu em OCrac.

As estimativas da produção fecal podem sofrer correções aditivas e multiplicativas, conforme demonstrado pelos vícios médio e sistemático, respectivamente, a fim de melhorar a predição dos dados. A decomposição do $RQMEP$ em vício médio, sistemático e erro aleatório (Tab. 4) permitem constatar que o tratamento Caulesof apresenta um somatório de 74% entre vício médio e sistemático.

A estimativa da digestibilidade aparente da matéria seca a partir do tratamento OCrac (DAMSOCrac) apresentou dados menos dispersos ($R^2=0,71$) e maior CCC (0,58), indicando maior acurácia e precisão quando comparado aos outros tratamentos.

As estimativas de DAMSCaulesof apresentam o menor erro aleatório (4,85%) dentre os tratamentos avaliados, com maior possibilidade de correções aditivas e multiplicativas do modelo, respectivamente, possibilitando alcançar resultados de DAMS mais consistentes a partir das estimativas realizadas com o indicador caulim oferecido via esofágica.

A predição da digestibilidade aparente da proteína bruta realizada por meio dos tratamentos apresenta dados bastante dispersos, (R^2 muito baixo), além de baixa acurácia e precisão desses dados ($CCC < 0,6$).

Tabela 4. Adequação dos dados da produção fecal, digestibilidade aparente de nutrientes e NDT, preditos pelos indicadores óxido crômico e caulim administrados via esofágica e na ração.

Método ¹	Estatísticas de adequação ²						
	RQMEP	R ²	Teste F (Valor P)	CCC	Vício Médio	Vício Sistemático	Erro Aleatório
Produção Fecal							
PF _{OCesof}	0,78	0,86	0,006	0,76	16,38	13,66	69,96
PF _{Caulsof}	1,76	0,77	0,0001	0,50	47,98	26,02	26,00
PF _{OCrac}	0,52	0,52	0,004	0,73	38,40	1,95	59,65
PF _{Caulrac}	1,33	0,52	0,00005	0,40	20,91	49,91	29,18
Digestibilidade Aparente da Matéria Seca							
DAMS _{OCesof}	7,19	0	0,00001	0,32	33,64	21,74	44,62
DAMS _{Caulsof}	20,26	0,09	0,00001	0	60,34	34,81	4,85
DAMS _{OCrac}	4,76	0,71	0,0001	0,58	38,29	20,00	41,71
DAMS _{Caulrac}	14,53	0,23	0,00001	0,10	19,55	72,20	8,25
Digestibilidade Aparente da Proteína Bruta							
DAPB _{OCesof}	9,80	0,34	0,00001	0,27	25,79	0,23	73,98
DAPB _{Caulsof}	19,39	0,15	0,00001	0,04	54,75	36,72	8,53
DAPB _{OCrac}	6,53	0,45	0,001	0,54	37,73	10,24	52,03
DAPB _{Caulrac}	13,67	0,40	0,00001	0,37	11,33	74,73	13,94
Digestibilidade Aparente da FDN							
DAFDN _{OCesof}	9,71	0	0,00001	0,21	27,49	31,89	40,62
DAFDN _{Caulsof}	19,61	0	0,00001	0	57,05	32,11	10,84
DAFDN _{OCrac}	6,76	0,70	0,0001	0,49	37,90	19,40	42,70
DAFDN _{Caulrac}	19,70	0,26	0,00001	0,17	19,75	66,02	14,23
Teor de Nutrientes Digestíveis Totais							
NDT _{OCesof}	6,36	0,54	0,00001	0,38	23,70	36,66	39,64
NDT _{Caulsof}	12,92	0,002	0,00001	0,02	53,14	40,48	6,38
NDT _{OCrac}	4,11	0,66	0,0002	0,61	38,48	16,69	44,83
NDT _{Caulrac}	12,54	0,39	0,00001	0,13	19,68	70,05	10,27

¹Caulsof é o tratamento caulim fornecido via esofágica; Caulrac é o tratamento caulim fornecido via ração; OCesof é o tratamento óxido crômico fornecido via esofágica; OCrac é o tratamento óxido crômico fornecido via ração.

²RQMEP é o quadrado médio do erro da predição, kg; R² é o coeficiente de determinação da regressão linear dos dados observados pelos dados preditos; Teste F é o valor P para o teste simultâneo para identidade dos parâmetros ($\beta_0 = 0$ e $\beta_1 = 1$) da regressão linear dos dados observados pelos dados preditos; CCC é o coeficiente de correlação e concordância.

Os diferentes tratamentos utilizados na predição da digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro resultaram em dados altamente dispersos (baixo R²) e demonstraram-se pouco eficientes em obter dados acurados e precisos, CCC variando de 0 a 0,49. Contudo, existe a possibilidade de correções aditivas e multiplicativas ao levar em consideração, os vícios médio e sistemático, respectivamente, que somados chegam a representar aproximadamente 90% do RQMEP.

Considerando os resultados obtidos e as análises estatísticas aplicadas, pode-se inferir que as equações utilizadas para obter as estimativas de digestibilidade aparente e nutrientes digestíveis totais (NDT) não foram suficientemente robustas para atender aos testes estatísticos de adequação realizados utilizando-se o MES – Model Evaluation System.

CONCLUSÕES

O processo de avaliação da excreção fecal a partir do indicador caulim não foi eficiente para alcançar estimativas acuradas de produção fecal, não ficando claro se os resultados alcançados se devem ao caulim propriamente dito ou às falhas analíticas em todo o processo de sua determinação.

A administração dos indicadores caulim e óxido crômico na ração permite obter resultados semelhantes ao da esofágica.

Falhas metodológicas e/ou analíticas principalmente na dosagem do caulim podem ter causado interferências nos resultados encontrados, indicando a necessidade de ajustes na metodologia utilizada e de novos estudos para esclarecer e comprovar os resultados.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official Methods of Analysis. 15th edition, Arlington: Virginia, USA. 1990.
- CAPELLE, E.R.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C.; CECON, P.R. Estimativas do Valor Energético a partir de Características Químicas e Bromatológicas dos Alimentos. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, MG, v. 30, n. 6, p. 1837-1856, 2001.
- COELHO, A.C.V.; SANTOS, P.S.; SANTOS, H.S. Argilas especiais: o que são, caracterização e propriedades. Química Nova, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 146-152, 2007.
- FAHEY JR, G.C.; JUNG, H.G. Lignin as a marker in digestion studies: a review. Journal of Animal Science, Champaign, v. 57, n. 1, p. 220-225, 1983.
- FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; PAIXÃO, M.L.; PAULINO, M.F.; VALADARES, R.F.D. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, MG, v. 38, n. 8, p. 1568-1573, 2009.
- FUKUMOTO, N. M., DAMASCENO, J.C, CÔRTEZ, C.; PAINE, R.C.; QUEIROZ, M.F.S.; SANTOS, G.T.; MATSUSHITA, M. Consumo e digestibilidade da matéria seca de fenos de braquiária decumbens e amendoim forrageiro em ovinos estimados por meio de n-alcanos. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, MG, v. 36, n. 2, p. 471-479, 2007.
- KRUG, F. J. Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1ª edição revisada. Piracicaba, SP: 340 p., 2010.
- LUZ, A.B.; CARVALHO, E.A.; BERTOLINO, L.C.; SCORZELLI, R.B.; CAMPOS, A.R. Caulim. Comunicação Técnica – Elaborada para o livro Rochas & Minerais Industriais: usos e especificações. 2 ed. - Rio de Janeiro - CETEM/MCT, p. 255-294, 2009.

- MACHADO, A.S.; GODOY, M.M.; LIMA, M.L.M.; FARIA JR., O.L.; MORGADO, H.S.; ARAÚJO, E.P. Utilização de óxido crômico e LIPE® como indicadores externos na estimativa de digestibilidade em ruminantes. PUBVET, Londrina, v. 5, n. 20, ed. 167, art. 1124, 2011.
- MOURA, A.K.B.; LIMA, R.N.; LOPES, K.T.L.; MORAIS, J.H.G.; MIRANDA, M.V.F.G.; LIMA, P.O. Uso de indicadores nos estudos da nutrição animal. PUBVET, Londrina, v. 7, n. 24, ed. 247, art. 1634, 2013.
- OLIVEIRA, L.O.F. Desempenho, consumo, dinâmica ruminal e cinética da degradação da *Brachiaria brizantha* cv Marandu, em bovinos de corte suplementados com proteinados. 94f. Tese (Doutor em Ciência Animal). Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. Belo Horizonte – MG, 2005.
- OLIVEIRA, L.O.F.; SANTOS, S.A.; ABREU, U.G.P.; CRISPIM, S.M.A; NOGUEIRA, E. Uso de indicadores nos estudos de nutrição animal aplicados aos sistemas de produção a pasto. Documento 120. Embrapa Pantanal, Corumbá, 25 p., 2012.
- OWENS, F.N.; HANSON, C.F. Symposium: External and internal markers for appraising site and extent digestion in ruminants. *Journal Dairy Science, Savoy*, v. 75, n. 9, p. 2605-2617, 1992.
- PENNING, P. D. Animal-based techniques for estimating herbage intake. In: PENNING P. D. (Ed). *Herbage Intake Handbook*. 2ed. Reading: The British Grassland Society, 2ed., p. 53-94, 2004.
- RIBEIRO FILHO, H.M.N.; DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J.L. Inclusion of white clover in stripgrazed perennial ryegrass swards: herbage intake and milk yield of dairy cows at diferente ages of sward regrowth. *Animal Science, Midlothian*, v. 77, p. 499-510, 2003.
- SALIBA, E.O.S. Caracterização química e microscópica das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e soja expostas a degradação ruminal e seu efeito sobre a digestibilidade dos carboidratos estruturais. Belo Horizonte: UFMG - Escola de Veterinária, 252p. Tese (Docência-livre), 1998.

- SILVA, F. A. N. G. Estudos de Caracterização Tecnológica e Beneficiamento do Caulim da Região Borborema – Seridó. Dissertação (Mestrado). Rio de Janeiro: COPPE/UFRJ. 2007.
- SOUZA, J.; BATISTEL, F.; WELTER, K.C.; SILVA, M.M.; COSTA, D.F.; SANTOS, F.A.P. Evaluation of external markers to estimate fecal excretion, intake, and digestibility in dairy cows. *Tropical Animal Health Production*, Edinburgh, v. 47, p. 265–268, 2015.
- TEDESCHI, L.O. Model Evaluation System - MES. <http://nutritionmodels.tamu.edu/mes.htm>, College Station, TX, USA. 2006.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, Savoy, v. 70, n. 10, p. 3583-3597, 1991.
- WILLIAMS, C.H., DAVID, D.J., IISMA, O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *Journal of Agricultural Science*, Belgrado, v. 59, n. 3, p. 381-385, 1962.
- ZHELJAZKOV, V. D.; WARMAN, P. R. Comparison of three digestion methods for the recovery of 17 plant essential nutrients and trace elements from six composts. *Compost Science and Utilization*, London, v. 10, n. 3, p. 197-203, 2002.