

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

**ESTIMATIVAS DE CONSUMO DE BOVINOS A PASTO
UTILIZANDO CAULIM COMO INDICADOR FECAL**

Luana Silva Caramalac

CAMPO GRANDE, MS

2021

Lombada

| | | |
|------|---|-----------------------|
| 2021 | Estimativas de consumo de bovinos a pasto utilizando caulim como indicador fecal | Luana Silva Caramalac |
|------|---|-----------------------|

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

ESTIMATIVAS DE CONSUMO DE BOVINOS A PASTO
UTILIZANDO CAULIM COMO INDICADOR FECAL

Feed intake estimates of grazing cattle using kaolin as a fecal marker

Luana Silva Caramalac

Orientador: Prof. Dr. Gumercindo Loriano Franco

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

CAMPO GRANDE, MS 2021

Processo: 23104.034171/2020-21 Documento: 2428280



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



ATA DE DEFESA DE TESE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
DOCTORADO

Aos vinte e seis dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e um, às oito horas, na FAMEZ, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Gumercindo Lorian Franco (UFMS), Érikli Nogueira (EMBRAPA), Luiz Orcirio Fialho de Oliveira (EMBRAPA), Rodrigo da Costa Gomes (EMBRAPA) e Sergio Raposo de Medeiros (EMBRAPA), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho da aluna: **LUANA SILVA CARAMALAC**, CPF 02588405100, Área de concentração em Produção Animal, do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Curso de Doutorado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "**Estimativas de consumo de bovinos a pasto utilizando o caulim como indicador fecal**" e orientação de Gumercindo Lorian Franco. O presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra à aluna que expôs sua Tese. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, o presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu parecer expresso conforme segue:

EXAMINADOR**AVALIAÇÃO**

| | |
|---|----------|
| Dr. Gumercindo Lorian Franco (Interno) | APROVADA |
| Dr. Érikli Nogueira (Externo) | APROVADA |
| Dr. Luiz Orcirio Fialho de Oliveira (Externo) | APROVADA |
| Dr. Rodrigo da Costa Gomes (Interno) | APROVADA |
| Dr. Sergio Raposo de Medeiros (Externo) | APROVADA |

RESULTADO FINAL:

X Aprovação

Aprovação com revisão

Reprovação

OBSERVAÇÕES:

Banca realizada por web conferência conforme PORTARIA/RTR nº 964, de 09-11-2020.

Nada mais havendo a ser tratado, o Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos

*Porque dEle, por Ele e para Ele são todas as coisas. A Ele, **JESUS CRISTO**, seja dada toda a glória, Amém! Rm 11.36*

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao meu amado Deus, *JESUS CRISTO*, por estar e se manifestar presente comigo em toda a caminhada.

À minha família, Silva e Caramalac, por serem meu braço forte.

À minha orientadora Dra. Maria da Graça Morais. Obrigada pelos ensinamentos, apoio e orientação. Uma mente brilhante, excelente profissional, me sinto honrada de ter sido uma das últimas orientadas em sua carreira.

Ao meu QUERIDO co-orientador, Dr. Luiz Orcirio Fialho de Oliveira. Obrigada por todo conhecimento compartilhado, conselhos e grande amizade. Exemplo de líder, orientador, mestre, ser humano e profissional. Me sinto privilegiada por trabalhar junto. O maior incentivador que tive. Obrigada por acreditar em mim.

Ao Prof. Gumercindo Franco por todo suporte na pesquisa e amizade. Um grande professor. Mas, sou suspeita de falar do sr., neh?! Muito obrigada por aceitar com tanta alegria me orientar.

Ao Dr. Rodrigo Gomes pelos auxílios na estatística. Obrigada pela paciência, você é sensacional. Ao Dr. Henrique Fernandes, muito obrigada.

Aos demais membros da banca examinadora, Dr. Urbano Gomes Pinto de Abreu e Dr. Sergio Raposo de Medeiros.

Aos funcionários da Fazenda Tarumã, Embrapa Gado de Corte, Embrapa Pantanal e colaboradores pela dedicação e auxílio durante todo o período de coleta de dados no campo e análises laboratoriais.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul e a Embrapa Gado de Corte por proporcionarem oportunidades para realizar mais esse sonho.

À ASBRAM e FUNDECT pelo apoio e auxílio financeiro neste estudo, permitindo a melhor realização dos dados obtidos.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo na modalidade de doutorado.

Por fim, não menos importante, aos meus grandes amigos por fazerem dos meus dias mais agradáveis, tornando essa fase mais leve. Em especial, amado *Espírito Santo*.

“CALMA, vamos dar um jeito. Dará tudo certo”.

Luiz Orcirio Fialho de Oliveira (2017, 2018, 2019, 2020 e 2021)

CARAMALAC, L.S. Estimativas de consumo de bovinos a pasto utilizando caulim como indicador fecal, 2021. 78 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2020.

Resumo: Artigo 1: Muitos marcadores apresentam certas limitações de uso, e nesse contexto o caulim é um possível marcador com aplicabilidade, pois apresenta características aceitáveis. Sua quantificação é realizada indiretamente através do alumínio presente no composto, e o teor do mesmo, determinado pelo método analítico colorimétrico com aluminon. Atualmente, pesquisas em nutrição animal tem apresentado informações interessantes, porém, falhas na metodologia analítica do composto tem apresentado resultados não satisfatórios. Uma alternativa eficaz, é o método de digestão ácida com mistura nitroperclórica associado ao ácido fluorídrico. Assim, a busca por novas metodologias acessíveis, práticas, de baixo custo que promove resultados acurados, precisos e robustos para a quantificação do teor de Al no caulim, se faz necessário diante desse cenário. Artigo 2: Nós testamos um novo procedimento analítico quantitativo de extração de Al em caulim e comparamos os resultados com amostras analisadas pelo método colorimétrico aluminona e leitura por espectroscopia de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente. Por meio do novo procedimento, amostras puras de caulim e fezes, e/ou misturadas foram digeridas em mistura ácida nitroperclórica, após, acrescentado ácido fluorídrico e quantificadas por espectrofotometria de absorção atômica. Conclui-se que o procedimento analítico proposto pelo estudo foi acurado e robusto quanto a extração de Al de amostras de fezes bovina com caulim. Artigo 3: No *Exp. 1*, buscou-se substituir o dióxido de titânio pelo caulim, fornecidos via oral, como marcadores fecais, enquanto se utilizou o óxido crômico como marcador do consumo de suplemento. Foram realizados três ensaios sequenciais, sendo que em cada ensaio utilizou-se quatro garrotes Nelore inteiros, que receberam individualmente e simultaneamente 20 g de TiO₂ e 80 g de caulim/animal via oral, 2,0 kg de suplemento contendo 1% de óxido crômico. Afim de avaliar a diferença das avaliações nutricionais entre diferentes horários de coleta de fezes foram coletadas fezes em dois horários (08h00min e 16h00min), após realizada uma amostra composta destes. Não foram verificadas diferenças significativas ($P=0,7976$) na determinação da excreção fecal quando determinados pelos marcadores externos dióxido de titânio e caulim, e comparados entre eles. Quando foram comparados os resultados finais por meio de coletas de fezes em diferentes horários, não foi verificado efeito significativo entre os valores estimados. Conclui-se que o caulim foi capaz de estimar a excreção fecal de bovinos de corte a pasto, e o manejo de coleta de fezes realizada uma vez ao dia é suficiente para estimar as avaliações nutricionais dos mesmos. No *Exp. 2*, avaliou-se a possibilidade de substituir o dióxido de titânio pelo caulim, fornecidos via suplemento, como marcadores de excreção fecal em bovinos de corte a pasto (4 garrotes/estudo; 360 dias de idade). Observou-se que o caulim apresentou resultados superiores ($P \leq 0,0002$) ao estimado pelo TiO₂ (2,70 e 5,25 kg/d, respectivamente; EPM = 0,357). Conclui-se que o fornecimento via suplemento do marcador externo caulim, não permitiu a estimativa de excreção fecal de garrotes. Artigo 4: Foram realizados dois experimentos simultâneos para avaliar a substituição do LIPE[®] como estimador da excreção fecal, e do óxido crômico como estimador do consumo de suplemento por Caulim (*Exp. 1*) e dióxido de titânio (*Exp. 2*). Foram utilizados doze garrotes Nelore (4 garrotes/tratamento; 233 ± 6,2 kg de PC). Os animais foram distribuídos em um delineamento de quatro quadrados latinos 3 x 3 simultâneos. Concluiu-se que os marcadores externos caulim e TiO₂ foram capazes de estimarem a excreção fecal e os consumos de matéria seca de bovinos de corte a pasto.

Palavras-chave: alumínio, ingestão diária, excreção fecal

CARAMALAC, L.S. Intake estimates of cattle grazing using kaolin as a fecal marker, 2021. 78 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2020.

Abstract: Manuscript 1: Many markers have limitations, kaolin is a possible intake marker with applicability, because it has acceptable physical and chemical characteristics. The quantification is performed indirectly by aluminum present in the substance, and determined by colorimetric method with aluminon. Currently, research in animal nutrition has presented interesting information, however, flaws in the analytical methodology of kaolin have shown unsatisfactory results. An effective alternative is nitroperchloric acid digestion associated with hydrofluoric acid. So, research for new practical and low-cost methodologies that present accurate and robust results is still necessary. Manuscript 2: We tested a new Al extraction analytical procedure in kaolin samples and compared the results with samples analyzed by the aluminon colorimetric method and reading by optical emission spectroscopy with inductively coupled plasma. The samples were digested in a nitroperchloric acid mixture associated with hydrofluoric acid, and quantified by atomic absorption spectrophotometry. Therefore, the analytical procedure proposed by the study was accurate and robust regarding Al extraction from samples of cattle feces with kaolin. Manuscript 3: *Exp. 1* The objective was to replace titanium dioxide with kaolin, supplied orally, as fecal markers, while chromic oxide was used as a marker of supplement intake. Three sequential trials were conducted, and in each trial used four Nelore steers, which received individually and simultaneously 20 g TiO₂ and 80 g kaolin/animal orally and 2.0 kg of supplement containing 1% chromic oxide. To evaluate the difference between different times of collection of feces were collected feces at two times (08:00 am and 16:00 pm), after performing a composite sample of these. There were no significant differences ($P=0.7976$) in the determination of fecal excretion when determined by the external markers titanium dioxide and kaolin. When the final results were compared by collecting feces at different times, there was no significant effect between the estimated values. It was concluded that kaolin was able to estimate the fecal excretion of beef cattle on pasture, and the management of collecting feces once a day is sufficient to estimate the nutritional evaluations of them. In *Exp. 2*, we evaluated the possibility of replacing titanium dioxide with kaolin, supplied via supplement, as markers of fecal excretion in beef cattle grazing (4 steers/study; 360 days of age). It was observed that kaolin showed superior results ($P \leq 0.0002$) to that estimated by TiO₂ (2.70 and 5.25 kg/d, respectively). Concluded that the supply via supplement of the external marker kaolin, did not allow the estimation of fecal excretion of calves. Manuscript 4. Two simultaneous experiments were performed to evaluate the substitution of LIPE® as an estimator of fecal excretion, and of chromic oxide as an estimator of supplement intake by kaolin (*Exp. 1*) and titanium dioxide (*Exp. 2*). Twelve Nelore steers were used (4 steers/treatment; 233 ± 6.2 kg of BW). Thus, the external markers kaolin and TiO₂, were able to estimate the fecal excretion and dry matter consumption of beef cattle to pasture.

Keywords: aluminium, daily intake, fecal output

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| Capítulo 1. Introdução..... | 01 |
| Referências bibliográficas..... | 02 |
| Capítulo 2. Artigo 1: Caulim como marcador de consumo de suplemento e excreção fecal de bovinos a pasto..... | 03 |
| Determinação do consumo de matéria seca de animais a pasto..... | 05 |
| Marcadores de consumo..... | 05 |
| Técnica do triplo marcador | 09 |
| Caulim..... | 10 |
| Busca por nova metodologia analítica..... | 11 |
| Bibliografia..... | 12 |
| Capítulo 3. Artigo 2: Nota técnica: Procedimento analítico e avaliação de alumínio no caulim como um marcador fecal de bovinos a pasto..... | 17 |
| Introdução..... | 17 |
| Materiais e métodos..... | 19 |
| Resultados..... | 22 |
| Discussão..... | 23 |
| Literatura citada..... | 29 |
| Capítulo 4. Artigo 3: Caulim e dióxido de titânio como marcadores externos de excreção fecal de garrotes a pasto..... | 31 |
| Introdução..... | 32 |
| Materiais e métodos..... | 33 |
| Resultados..... | 38 |
| Discussão..... | 38 |
| Referências | 41 |
| Capítulo 5. Artigo 4: Caulim como marcador de consumo de suplemento de bovinos a pasto..... | 47 |
| Introdução..... | 48 |
| Materiais e métodos..... | 49 |
| Resultados..... | 54 |
| Discussão..... | 56 |
| Referências | 59 |

INTRODUÇÃO

1
2
3 Considera-se a avaliação de consumo de matéria seca (CMS) o papel de maior relevância
4 na nutrição animal, porém em sistemas de produção a pasto a determinação do CMS torna-se
5 complexa, pois existem diversos fatores que o influenciam, como aqueles relacionados com a
6 pastagem (morfologia da forragem, a estrutura do dossel forrageiro), e aqueles relacionados ao
7 animal (estado fisiológico, sanitário e desempenho) (Jardsted et al. 2018; Davis et al. 2014).

8 Existem diversos métodos para a avaliação do CMS de animais a pasto (Van Soest 1994),
9 mas a medida por meio da estimativa de excreção fecal e digestibilidade de matéria seca são as
10 mais utilizadas, e tem sido feita com a utilização de marcadores externos e/ou internos.

11 Os marcadores são substâncias indigestíveis, utilizadas como monitores químicos e
12 físicos em processos digestivos e metabólicos (Owens & Hanson 1992). No entanto, como
13 todos os marcadores em uso ainda apresentam limitações (Wang et al. 2017; Rodrigues et al.
14 2010), a busca por novas substâncias se justifica.

15 Como alternativa destaca-se o caulim, possível marcador externo que apresenta
16 propriedades favoráveis para estimar o consumo e excreção fecal diária dos animais, pois se
17 trata de um mineral cujas características evidenciam possibilidade de uso. Este composto
18 mineral é inerte em ampla faixa de pH (3 a 9), fácil dispersão, baixa condutividade térmica e
19 elétrica, pouca abrasividade, apresentar baixo custo e sua determinação é realizada de forma
20 indireta por meio de elementos não absorvidos pelo organismo animal, como o alumínio
21 (Trckova et al., 2009).

22 O teste colorimétrico da aluminona associado a quantificação por meio do Plasma por
23 Acoplamento Indutivo – Espectrofotometria de Emissão Ótica (ICP-OES), tem sido o principal
24 método utilizado para quantificar o teor de Al (Korn et al., 2007; Brauner et al., 1966). No
25 entanto, a técnica exposta é considerada inviável, pois além da demanda de grandes quantidades
26 e diversidades de reagentes para as análises, são requeridos equipamentos específicos e
27 onerosos. Recentemente, resultados apresentados por Oliveira et al. (2018) evidenciam que
28 o problema do uso do caulim ainda reside na metodologia analítica de extração e quantificação
29 deste marcador. Objetivou-se com essa tese propor um procedimento analítico de extração do
30 Al em amostras de fezes de garrotes nelore a pasto, que receberam caulim como marcador
31 externo de excreção fecal e consumo de suplemento.

32 **REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA**

33

34 BRAUNER, J. L., CATANI, R. A., BITTENCOURT, W.C. Extração e determinação do
35 alumínio trocável do solo. *Anais da E.S.A.* (1966). Luiz de Queiroz, p.53-73.

36 DAVIS M.P., FREETLY H.C., KUEHN L.A., WELLS J.E. Influence of dry matter intake, dry
37 matter digestibility, and feeding behavior on body weight gain of beef steers. *J Anim SCI*,
38 v. 92, p. 3018-3025, 2014.

39 JARDSTEDT, M., HESSLE, A., NORGAARD, P., FRENDBERG, L., NADEAU, E. Intake
40 and feed utilization in two breeds of pregnant beef cows fed forages with high-fiber
41 concentrations. *Journal of animal science*, v. 96, p. 3398-3411, 2018.

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

46 OLIVEIRA, L. O. F., C. RIBEIRO, M G. M. MORAIS, L. S. CARAMALAC, R. C. GOMES,
47 U. G. P. ABREU, J. SILVA. 2018. Técnicas de análise para estimativas da concentração
48 de caulim nas fezes bovinas. *Embrapa Gado de Corte-Boletim de Pesquisa e*
49 *Desenvolvimento* (INFOTECA-E).

50 OWENS, F.N. & HANSON, C.F. External and internal markers for appraising site and extent
51 of digestion in ruminants. *Journal Dairy Science*, v. 75, p. 2605-2617, 1992.

52 TRCKOVA M., VONDRUSKOVA H., ZRALY Z., ALEXA P., HAMRIK J., KUMMER V.,
53 MASKOVA J., MRLIK V., KRIZOVA K., SLANA I., LEVA L., PAVLIK I. The effect
54 of kaolin feeding on efficiency, health status and course of diarrhoeal infections caused by
55 enterotoxigenic *Escherichia coli* strains in weaned piglets. *Veterinarni Medicina*, v. 54, p.
56 47-63, 2009.

57 VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press,
58 1994. 476p.

59 WANG, Y, SU, H, GU, Y, SONG, X, ZHAO, J. Carcinogenicity of chromium and
60 chemoprevention: a brief update. *OncoTargets and therapy*, v. 10, p. 4065, 2017.

61 Capítulo 2. Capítulo redigido conforme as normas da revista Archivos de Zootecnia.

62

63

64 **Caulim como marcador de consumo de suplemento e excreção fecal de**
65 **bovinos a pasto**

66 Kaolin as supplement intake marker and fecal excretion of the cattle grazing

67 **Palavras chave**

68 Alumínio.

69 Consumo de matéria seca.

70 Digestibilidade.

71 **Keywords**

72 Aluminum.

73 Dry matter intake.

74 Digestibility.

75

76 Luana Caramalac:

77 Tomamos una decisión sobre su envío a Archivos de Zootecnia, "Caulim como marcador de
78 consumo de suplemento e excreção fecal de bovinos a pasto".

79 Nuestra decisión es: **Aceptar**

80 Dr Francisco Javier Navas González (EDITOR-IN-CHIEF). *Aceito em: 15/09/2020*

81 **Resumo**

82 Esta revisão de literatura teve como objetivo abordar de forma sucinta o uso de caulim como
83 marcador externo na estimativa de consumo de matéria seca de suplemento e excreção fecal
84 bovinos a pasto. Muitos marcadores apresentam certas limitações de uso, e nesse contexto o caulim
85 é um possível marcador com aplicabilidade, pois apresenta características aceitáveis. Sua
86 quantificação é realizada indiretamente através do alumínio presente no composto, e o teor do
87 mesmo, determinado pelo método analítico colorimétrico com aluminon. Atualmente, pesquisas
88 em nutrição animal tem apresentado informações interessantes, porém, falhas na metodologia
89 analítica do composto tem apresentado resultados não satisfatórios. Uma alternativa eficaz, é o
90 método de digestão ácida com mistura nitroperclórica associado ao ácido fluorídrico. Assim, a
91 busca por novas metodologias acessíveis, práticas, de baixo custo que promove resultados
92 acurados, precisos e robustos para a quantificação do teor de Al no caulim, se faz necessário diante
93 desse cenário.

94 **Summary**

95 The objective was describing the use of kaolin as an extern marker in the dry matter supplement
96 intake and fecal output of cattle grazing. Many markers have limitations, kaolin is a possible intake
97 marker with applicability, because it has acceptable physical and chemical characteristics. The
98 quantification is performed indirectly by aluminum present in the substance, and determined by
99 colorimetric method with aluminon. Currently, research in animal nutrition has presented
100 interesting information, however, flaws in the analytical methodology of kaolin have shown
101 unsatisfactory results. An effective alternative is nitro perchloric acid digestion associated with
102 hydrofluoric acid. So, research for new practical and low-cost methodologies that present accurate
103 and robust results is still necessary.

104 **Introdução**

105 Considera-se a avaliação de consumo de matéria seca (CMS) o papel de maior relevância na
106 nutrição animal (Berchielli et al. 2011) e determinar de forma precisa e acurada essa estimativa
107 pode apontar o nível de nutrientes ingeridos, consequentemente melhorar o desempenho animal
108 (Jardsted et al. 2018; Davis et al. 2014; Souza et al. 2015) e minimizar o impacto ambiental (NRC
109 2001).

110 Porém, em sistemas de produção a pasto a determinação do CMS torna-se complexa, pois
111 existem diversos fatores que o influenciam, como aqueles relacionados com a pastagem
112 (morfologia da forragem, a estrutura do dossel forrageiro), e aqueles relacionados ao animal
113 (estado fisiológico, sanitário e desempenho) (Jardsted et al. 2018; Davis et al. 2014; Souza et al.
114 2015 Reis & Silva 2006).

115 Com o objetivo de reduzir esses efeitos, é necessário estabelecer determinados critérios na escolha
116 da metodologia a ser aplicada em situações específicas para obtenção de resultados válidos.

117 Existem métodos para a avaliação do CMS de animais a pasto (Valadares & Marcondes
118 2009; Kozloski et al. 2006; Van Soest 1994; Horn et al. 1979), porém a medida por meio da
119 estimativa de excreção fecal e digestibilidade de matéria seca são as mais utilizadas, e tem sido
120 feita com a utilização de marcadores externos e/ou internos.

121 Os marcadores são substâncias indigestíveis, utilizadas como monitores químicos e físicos
 122 em processos digestivos e metabólicos (Owens & Hanson 1992). No entanto, como todos os
 123 marcadores em uso ainda apresentam limitações (Wang et al. 2017; Rodrigues et al. 2010;
 124 Glindemann et al. 2009), a busca por novas substâncias se justifica.

125 Como alternativa destaca-se o caulim, possível marcador externo que apresenta propriedades
 126 favoráveis para estimar o consumo e excreção fecal diária dos animais, pois se trata de um mineral
 127 cujas características evidenciam possibilidade de uso. Este composto mineral é inerte em ampla
 128 faixa de pH (3 a 9), fácil dispersão, baixa condutividade térmica e elétrica, pouca abrasividade,
 129 além de apresentar baixo custo (Silva et al. 2007).

130 Essa revisão propõe descrever de forma sucinta o uso de caulim como marcador na
 131 estimativa de excreção fecal e consumo de matéria seca de suplemento de bovinos a pasto.

132 **Revisão de literatura**

133 *Determinação do consumo de matéria seca de animais a pasto*

134

135 Existem métodos diretos e indiretos para a determinação do CMS de animais sob sistema de
 136 pastejo, tais como: método de diferença de peso dos animais e/ou da forragem, avaliação do
 137 comportamento ingestivo dos animais, além do uso de coleta de fezes para a determinação da
 138 digestibilidade da matéria seca (Valadares & Marcondes 2009; Berchielli et al. 2006; Kozloski et
 139 al. 2006; Van Soest 1994; Horn et al. 1979).

140 Entre estes, as medidas indiretas por meio das estimativas de excreção fecal (EF) e
 141 digestibilidade aparente da matéria seca (DMS) são as mais utilizadas. E, segundo Cavalcanti et
 142 al. (2013) a junção dessas informações acuradas, permite estimar o CMS do animal. Podendo ser
 143 calculada pela Equação [1].

144

$$145 \text{ CMS (kg/dia) } = [\text{EF} / (1 - \text{DMS})] \quad \text{Eq. [1]}$$

146

147 A estimativa de EF pode ser obtida por meio da coleta total de fezes, exigindo que os animais
 148 a pasto sejam munidos de bolsas coletoras presas ao corpo (Schneider & Flatt 1975). Porém, essa
 149 técnica pode causar desconforto ao animal e consequentemente, modificar o comportamento
 150 ingestivo, ou seja, alterar o consumo de alimento.

151 Como alternativa, a estimativa de EF tem sido feita com a utilização de substâncias
 152 oferecidas aos animais, chamadas marcadores (Van Soest 1994). Essas estimativas são obtidas a
 153 partir da relação entre a quantidade do marcador fornecido diariamente ao animal e sua
 154 concentração nas fezes (Sampaio et al. 2011).

155 Já a determinação da DMS é realizada pela diferença entre a quantidade de nutriente
 156 consumido e excretado nas fezes (Marais, 2000). No entanto, como em sistema de pastejo não é
 157 possível a coleta total de fezes, a estimativa da DMS pode ser obtida por meio de técnicas de
 158 desaparecimento da matéria seca *in vitro* e *in situ* (Cavalcanti et al. 2013; Berchielli et al. 2006;
 159 Van Soest et al. 1991; Orskov et al. 1980).

160 A técnica *in vitro* por outro lado, torna-se inviável em algumas situações, assim, o método
 161 *in situ*, por meio do uso de marcadores internos, possibilita a estimativa da DMS (Cavalcanti et al.
 162 2013).

163

164 *Marcadores de consumo*

165

166 Os marcadores são substâncias indigestíveis, geralmente de fácil determinação, utilizadas
 167 como monitores químicos (hidrólise e síntese) e físicos (fluxo) em processos digestivos e
 168 metabólicos (Ownes & Hanson 1992). De acordo com os autores, essas substâncias são usadas
 169 rotineiramente para estimar o fluxo da digesta e a excreção fecal dos animais, e comparada com
 170 procedimentos invasivos (bolsas coletoras), minimizam a interferência nos padrões de
 171 comportamento dos animais, como o pastejo.

172 Existem marcadores externos (incluídos no alimento ou fornecido diretamente no trato
 173 digestivo) e/ou internos (presente naturalmente na dieta) (Van Soes 1994). No entanto, há
 174 limitações no uso dos marcadores separadamente, sendo os externos não se comportam como
 175 partículas da dieta, e quando aderidos a sua porção fibrosa podem alterar algumas características
 176 químicas e físicas (como a gravidade específica), e a utilização exclusiva de marcadores internos
 177 resulta em variabilidade nas estimativas de consumo (Rodriguez et al. 2006).

178 Uma alternativa que vem sendo utilizada é a associação desses marcadores, permitindo assim
 179 estimativas necessárias para o cálculo do CMS em animais a pasto (Kozloski et al. 2006; Van
 180 Soest 1994). Ou seja, a EF é comumente determinada a partir do marcador externo, enquanto o
 181 interno permite a obtenção da DMS (Oliveira et al. 2012; Berchielli et al. 2006; Cochran et al.
 182 1986). Podendo ser estimadas pelas Equação [2] e [3].

183

$$184 \text{ EF (kg/dia)} = \{[\text{OF}_{\text{marcador}} * (\text{Conc}_{\text{marcador}}/1000)] / \text{FZ}_{\text{marcador}}\} \quad \text{Eq. [2]}$$

185

186 Onde, $\text{OF}_{\text{marcador}}$ é a quantidade diária oferecida do marcador externo ao animal (g/d),
 187 $\text{Conc}_{\text{marcador}}$ é a concentração do marcador oferecido (g/kg), e $\text{FZ}_{\text{marcador}}$ é a concentração do
 188 marcador externo nas fezes (g/kg).

189

$$190 \text{ DMS (\%)} = \{100 - [100 * (\text{DT}_{\text{marcador.interno}} / \text{FZ}_{\text{marcador.interno}})]\} \quad \text{Eq. [3]}$$

191

192 Onde, $\text{DT}_{\text{marcador.interno}}$ é a concentração do marcador interno na dieta total (g/kg), e
 193 $\text{FZ}_{\text{marcador.interno}}$ é a concentração do marcador interno nas fezes (g/kg).

194

195 Segundo Mayes et al. (1986) para ser considerado um marcador ideal, a substância deve
 196 apresentar algumas propriedades como não ser tóxico, não ter função fisiológica, não ser
 197 metabolizado, ser recuperado totalmente a partir do trato digestivo, não influenciar a motilidade e
 198 secreções intestinais, deve fluir de forma similar ao material marcado, além de ter um método de
 199 determinação fácil e preciso.

200

201 Dentre os **marcadores externos** mais utilizados na determinação do CMS de suplemento de
 202 ruminantes em pastejo, destaca-se o óxido crômico (Cr_2O_3) (Ferreira et al. 2009). Em geral, este
 203 composto natural está presente no ambiente e é utilizado em processos industriais, como também
 204 podem ser usados como micronutrientes e suplementos alimentares (Wang et al. 2017). As
 205 vantagens de sua utilização estão relacionadas à facilidade de incorporação à dieta, procedimentos
 206 analíticos simples, estimativas satisfatórias do CMS de bovinos a pasto, além de permitir a
 207 administração por meio da suplementação, facilitando o manejo e diminuindo o estresse causado
 208 nos animais (Ribeiro et al. 2018; Morenz et al. 2006; Oliveira et al. 2004).

209 Contudo, existem limitações ao se optar pelo Cr_2O_3 como irregularidade de excreção ao
 210 longo do dia, taxa de passagem mais rápida pelo rúmen que o material fibroso, além de grandes

211 quantidades desse marcador poder acarretar em contaminação ambiental por ser um metal pesado
212 (Kozloski et al. 2006; Van Soest 1994; Mir et al. 1989).

213 Em estudos com monogástricos, mas especificamente em equinos, Lanzetta et al. (2009)
214 observaram que o uso de Cr_2O_3 não apresentam estimativas de digestibilidade de nutrientes
215 adequadas. De acordo com os autores, este fato ocorre devido à baixa taxa de recuperação fecal
216 que o marcador apresenta, com isso, como os dados de EF são subestimados a DMS dos nutrientes
217 são superestimadas, tornando-se o uso desse marcador limitado para algumas espécies de animais.

218 Dentre as limitações encontradas ao se usar o Cr_2O_3 como marcador de consumo, a mais
219 séria e importante se dá por esse composto ser um metal pesado e tóxico, podendo causar danos à
220 saúde humana (Wang et al. 2017). Mesmo ainda sendo incerto que o Cr_2O_3 é considerado um
221 composto cancerígeno, o fato é que esta substância necessita ser encaminhada a um laboratório e,
222 para que seja quantificada é preciso um processo de digestão ácida das amostras. Com isso, o
223 Cr_2O_3 (verde) é oxidado e transformado em Cr_2O_6 (amarelo-laranja) (Souza et al. 2012; Silva &
224 Queiroz 2002). Este composto formado após a digestão é considerado 100 vezes mais tóxico que
225 o Cr (verde), assim a exposição ocupacional a altas concentrações de Cr (amarelo-laranja) podem
226 gerar diversos problemas respiratórios, tornando-se um grande risco para câncer de pulmão (Wang
227 et al. 2017).

228 Outro marcador usado com frequência nos estudos de nutrição animal capaz apresentar
229 resultados semelhantes ao Cr_2O_3 quanto a estimativas de DMS, EF e CMS de animais a pasto é o
230 dióxido de titânio (TiO_2).

231 O uso de TiO_2 apresenta grandes vantagens sobre o Cr_2O_3 , pois além do fato de que ele é
232 permitido legalmente ser adicionado ao alimento, é um pó com coloração branca sem odor ou
233 sabor, não influenciando o consumo do mesmo quando fornecido aos animais por meio da
234 suplementação (Myers et al. 2004). Com isso, além desse composto destacar-se pela eficiência
235 como marcador para estimar a DMS, CMS e EF semelhantes aos observados, a uniformidade da
236 recuperação fecal tem sido observada de 90,0 a 108,8% (Marcondes et al. 2008; Myers et al. 2004;
237 Titgemeyer et al. 2001).

238 Segundo Glindemann et al. (2009) o marcador TiO_2 apresenta alta acurácia e precisão no
239 método analítico aplicado para detectar a quantidade do composto adicionado às fezes de ovinos
240 e eficiente resultados para estimar a EF dos animais em pastejo.

241 No entanto, existem no meio ambiente algumas matérias orgânicas que apresentam valores
242 médios aproximados a 0,03 % MS de TiO_2 (Myers et al. 2004; Glindemann et al. 2009). Assim,
243 levanta-se a dúvida se esses valores encontrados, influenciam ou não os resultados finais das
244 amostras com a adição da substância. Autores como Myers et al. (2004) sugerem que quando o
245 TiO_2 for administrado aos animais em pastejo com o intuito de mensurar o conteúdo da digesta de
246 ruminantes, faz-se necessário a quantificação da concentração da substância na mesma matéria
247 orgânica (sem adição de TiO_2) fornecida aos animais, sendo os valores encontrados, usados para
248 corrigir os resultados finais.

249 Por outro lado, Glindemann et al. (2009) indicam que esses dados (0,03% TiO_2 MS) não são
250 significativos para que haja a necessidade de qualquer correção, em relação à recuperação analítica
251 ou a um valor que representa as amostras sem adição do TiO_2 . Segundo os autores, a concentração
252 encontrada é muito baixa, não proporcionando alteração nos resultados finais e a recuperação
253 analítica do composto é próxima de 1 (99,5 %).

254 Limitações do marcador TiO_2 , como administração e coletas de fezes duas vezes ao dia,
255 maior do tempo de manejo e o impacto das atividades sobre o comportamento dos animais, afeta
256 negativamente o consumo de suplemento (< 150 g MS) dos mesmos (Glindemann et al. 2009).

257 Concluindo-se que além de apresentar erros nas estimativas o composto promove manejo
258 estressante aos animais, fator esse a ser levado em consideração, quando se pretende avaliar o
259 consumo de bovinos de corte.

260 Como alternativa, o método LIPE[®] (lignina de madeira moída extraída do
261 *Eucaliptusgrandis*) tem se apresentado como um marcador externo promissor a partir dos
262 resultados apresentados nos estudos com bovinos, mediante manejo mais prático, ou seja,
263 administração e coleta de fezes para a mensuração uma vez ao dia (Lima et al. 2008; Souza et al.
264 2005).

265 Essa metodologia desenvolvida apresenta ampla resposta linear, tornando-a acurada e
266 eficiente nos cálculos dos coeficientes de digestibilidade não apenas em diferentes espécies de
267 animais ruminantes, como também possibilita a determinação em monogástricos (Saliba et al.
268 2015; Vasconcellos et al. 2007).

269 Outras vantagens ao optar pelo marcador LIPE[®], de acordo com Ferreira et al. (2009) inclui
270 a capacidade de estimar a EF em experimentos com animais alimentados em grupo e/ou recebendo
271 diferentes dietas alimentares, bom como possui característica inerte e natural, assim a substância
272 não prejudica a saúde humana e animal.

273 Por se tratar de uma técnica recente, economicamente inviável e sua coleta de dados exigir
274 metodologia específica, dificultando a obtenção de repetição de análises e necessitando de
275 confiabilidade dos resultados feito por terceiros, seu uso torna-se limitado as condições
276 experimentais e de pesquisa. Outro fato se dá, que a taxa de recuperação do marcador varia de 95,5
277 a 106,9 % em diferentes espécies animal, apresentando variabilidade nos resultados (Saliba et al.
278 2015).

279 Entre outros marcadores, existem substâncias capazes de estimarem as taxas de passagens,
280 o tempo médio de retenção das fases sólida e líquida dos alimentos pelo rúmen-retículo e o volume
281 do trato gastrointestinal. Dentre esses destacam-se as fibras mordentadas com cromo ou itérbio
282 (FDN-Cr ou FDN-Yr), polietileno glicol e o EDTA com cromo ou cobalto (NRC, 2001; Berchielli
283 et al., 1996; Pond et al., 1989). Segundo Pond et al. (1989) avaliando vários tipos de associação da
284 fibra com “terras raras” (Yb, tb, Cr, Sm, La e Lu), os dados apresentaram confiáveis e similares
285 entre os elementos nas primeiras 24 horas, permitindo assim a utilização de dois marcadores.
286 Outros autores também observaram resultados satisfatórios ao avaliarem o fluxo alimentar de
287 bovinos recebendo quantidades variáveis de suplemento proteicos utilizando amostras compostas
288 de forragens mordentadas com dicromato de sódio com 12% de cromo MS de fibra em detergente
289 neutro (FDN).

290
291 Os **marcadores internos** apresentam a vantagem sobre os externos por estarem
292 naturalmente presentes nos alimentos e permanecerem uniformemente distribuídos na digesta
293 (Piaggio et al. 1991), contudo para que possam ser determinados, devem ser submetidos à digestão
294 por períodos de no mínimo 144 horas de incubação in situ (Berchielli et al. 2000).

295 Dentre eles, os mais utilizados, a fibra em detergente ácido insolúvel (FDAi), fibra em
296 detergente neutro insolúvel (FDNi), cinza insolúvel em ácido (CIA) e em detergente ácido (CIDA),
297 se destacam. Esses componentes presentes nas paredes celulares da dieta têm mostrado bons
298 resultados na determinação da DMS da forragem (Salman et al., 2010; Carvalho et al., 2007;
299 Berchielli et al., 2000; Van Soest, 1994; Johnson, 1983).

300 Diversas pesquisas têm apresentado resultados satisfatórios com o uso dos marcadores FDNi
301 e FDAi no auxílio da estimativa de CMS de volumosos em ruminantes, sendo ambos apresentando
302 eficácia na mensuração (Fernandes et al. 2012; Ferreira et al. 2009). No entanto, segundo Zeoula

303 et al. (2002) o uso do FDNi tem mostrado inconstâncias nos resultados finais obtidos, a exemplo
 304 tem-se dados de digestibilidade subestimados e recuperação fecal da FDNi inferior a 100%.

305 Em estudos com ovinos Rodrigues et al. (2010) observaram que a FDAi proporcionou
 306 estimativa de digestibilidade aparente da matéria seca superior ao FDNi e óxido crômico, resultado
 307 de recuperação desses marcadores de 93,7, 90,9 e 86,1 %, respectivamente. De acordo com os
 308 autores, recuperações menores apontam que a concentração fecal do marcador pode levar a
 309 superestimava da excreção das frações dietéticas de interesse e, logo, valores de DMS
 310 subestimados.

311 Menor erro de predição da DMS apresentado por Rodrigues et al. (2010) foi obtido pelo
 312 FDAi, indicando que as estimativas obtidas pelo uso desse marcador foram mais acuradas,
 313 apresentando valores mais próximos ao valor real da DMS, observada pela coleta total de fezes.
 314 Semelhantemente, Berchielli et al. (2000) observaram resultados de avaliações nutricionais de
 315 bovinos estimativos a partir da FDAi, apresentaram estatisticamente iguais aos obtidos por coleta
 316 total de fezes.

317 O uso das cinzas insolúveis (CIA e CIDA) ainda que estudos comprovam a eficiência dos
 318 marcadores (Sein e Todd, 1988), porém, valores inconstantes estimados e inferiores aos reais foi
 319 observado, e de acordo com Zeoula et al. (2002) esses resultados podem ser devido a consequência
 320 das concentrações dessas nas dietas, concluindo que as CIA estimam mais corretamente a excreção
 321 fecal do que a CIDA.

322
 323 O marcador *n-alcanos* apresenta a vantagem da associação de marcadores (externo e interno)
 324 em um mesmo procedimento (Mayes et al. 1986). Segundo Dove e Mayes (1996) valores de
 325 consumo em bovinos e ovinos em diversos tipos de dietas, foi apresentado com eficiência ao
 326 estimarem por meio do uso da técnica dos alcanos. Esta técnica permite estimar o consumo da
 327 dieta em animais sob pastejo a partir do perfil específico de n-alcanos de cada planta, porém
 328 mostra-se a desvantagens ao se utilizar este marcador, o alto custo (Carvalho et al. 2007).

329
 330 *Técnica do triplo marcador*

331
 332 Os animais em regime de pastejo podem ter avaliações nutricionais estimadas separadamente
 333 mediante a técnica de associação de diferentes marcadores (Titgemeyer et al. 1997; Cochran et al.
 334 1986). Algumas pesquisas de nutrição a pasto (Fernandes et al. 2012; Ferreira et al. 2009) vem
 335 desfrutando dessa ferramenta afim de avaliar os consumos isoladamente dos animais.

336 Essa técnica é realizada por meio do fornecimento de três marcadores diferentes ao animal.
 337 Ou seja, a administração de um marcador externo via sonda esofágica afim de estimar a EF, um
 338 segundo marcador externo adicionado ao suplemento para a estimativa do consumo de suplemento
 339 (CSUP), e por fim, um marcador interno para estimar diretamente o consumo de forragem (CFO).
 340 Podendo ser calculados pelas Equações [4] e [5].

341
 342
$$\text{CSUP (kg/d)} = [(EF * FZ_{\text{marcador}}) / SP_{\text{marcador}}] \quad \text{Eq. [4]}$$

343
 344 Onde, EF é a excreção fecal do animal (kg/dia), FZ_{marcador} é a concentração do marcador nas
 345 fezes (kg/dia), e SP_{marcador} é a concentração do marcador no suplemento (kg/kg).

346
 347
$$\text{CFO (kg/d)} = [(EF * FZ_{\text{marcador.interno}}) - SP_{\text{marker.interno}}] / FO_{\text{marcador.interno}} \quad \text{Eq. [5]}$$

348

349 Onde, EF é a excreção fecal do animal (kg/d), $FZ_{\text{marcador.interno}}$ é a concentração do marcador
350 interno nas fezes (%), $SP_{\text{marcador.interno}}$ é a concentração do marcador interno no suplemento (g),
351 $FO_{\text{marcador.interno}}$ é a concentração do marcador interno na forragem (%).

352
353 Por fim, é reconhecido que a escolha do marcador representa um passo importante quando
354 se pretende estimar o consumo alimentar dos animais. Como todos os métodos utilizados para
355 estimar o CMS de bovinos em pastejo possuem limitações (Berchielli et al. 2011; Ferreira et al.
356 2009; Detmann et al. 2004) e, segundo Carvalho et al. (2007) apesar dos avanços metodológicos,
357 as estimativas ainda são deficientes em confiabilidade, a busca por novas substâncias (moléculas)
358 que apresentem propriedades favoráveis se justifica.

359 Como alternativa destaca-se o caulim, possível marcador externo para estimar o consumo,
360 pois se trata de um mineral cujas características evidenciam possibilidade de uso.

361 362 *Caulim*

363
364 O caulim é uma matéria-prima, contendo em grande parte o caulinita mineral argiloso. Na
365 mineralogia sistemática, é classificada como argila de filossilicato (Silva 2007).

366 Devido às suas qualidades de adsorção e ausência de toxicidade primária, o uso de caulim é
367 considerado um medicamento para prevenir uma série de materiais tóxicos, tóxicos, não apenas
368 no meio ambiente, mas também nos organismos vivos. Pois, quando adicionado às dietas de
369 animais, reduz a reabsorção de toxinas nocivas presentes na alimentação através da mucosa
370 intestinal para o organismo, porque as liga firmemente e seletivamente e, assim, elimina seus
371 efeitos tóxicos (Trkova et al., 2009).

372 Segundo Trkova et al. (2009) as características de adsorção e ausência de toxicidade
373 primária do caulim possibilitam considerá-lo material efetivo na prevenção de efeitos tóxicos
374 causados no ambiente e/ou em organismos vivos por diversos materiais.

375 Essa substância é formada por um grupo de silicatos hidratados de alumínio, classificado
376 como um argilomineral, sendo representado principalmente pela caulinita e haloisita, presente em
377 abundância na natureza (Luz et al. 2008; Silva 2001).

378 Mais especificamente, segundo Luz et al. (2008) é uma substância aluminossilicato
379 hidratado, constituído principalmente de caulinita, e sua célula unitária é expressada por
380 $Al_4(Si_4O_{10})(OH)_8$. A caulinita é um filossilicato (argila mineral) com composição química teórica
381 de 39,50 % de Al_2O_3 , 46,54 % de SiO_2 e 13,96 % de H_2O , e outros elementos em menor quantidade
382 como ferro, manganês, magnésio, potássio e sódio.

383 Por fim, o caulim é inerte em ampla faixa de pH (3 a 9), apresenta fácil dispersão, possui
384 baixa condutividade térmica e elétrica, possui pouca abrasividade (Silva 2007). E segundo o autor,
385 o fato de o Brasil deter aproximadamente 28% das reservas mundiais de caulim, demonstra a
386 facilidade de obtenção o que o torna candidato para servir de marcador coletivo de consumo, ou
387 seja, apresenta baixo custo. Sendo assim, diante de todas as características apresentadas, torna-se
388 favorável o uso da substância como marcador de consumo de animais.

389 390 *Marcador externo Caulim*

391
392 O fornecimento do caulim como marcador externo, por meio do suplemento de bovinos,
393 segundo Ribeiro et al. (2018) resulta em estimativas semelhantes aos da administração via oral,
394 por meio do aplicador de bólus. Concluindo-se que a substância além das características

395 apresentadas, possui grande potencial de ser fornecido por meio da alimentação, não havendo a
396 necessidade de manejo rigoroso com consequências negativas sobre o comportamento ingestivo
397 dos animais.

398 O caulim por ser um composto de mineral, torna-se instável em meio ácido. Pois, dissocia-
399 se no trato gástrico intestinal reagindo com outras substâncias orgânicas ou minerais do meio. Com
400 isso, quando utilizado se faz necessário sua quantificação de forma indireta, por meio de elementos
401 não absorvidos pelo organismo animal, como o **alumínio** (Al) (Underwood 1977).

402 Ribeiro et al. (2018) observaram ausência de acurácia nos resultados obtidos nas estimativas
403 de EF de bovinos, por meio do marcador caulim. De acordo com os autores, devido a perdas e
404 vícios decorrentes dos processos de extração e quantificação do composto, observou-se incompleta
405 extração do Al nas amostras, interferindo diretamente nas estimativas das avaliações. Uma vez
406 que, utiliza-se o elemento para determinar a substância.

407 Avaliando os diferentes procedimentos analíticos para a determinação indireta do caulim,
408 por meio da concentração de Al em fezes bovinas, Oliveira et al. (2018) observaram que a extração
409 do elemento na substância por meio da digestão nitro sulfúrica sequencial (DNS) apresentou
410 resultados semelhantes aos valores esperados pelo método de coleta total de fezes. Segundo os
411 autores, o método sequencial permite estimar separadamente as concentrações de Al nas fases in
412 natura (orgânica) e cinzas (mineral) em relação ao total encontrado, levando em consideração a
413 resistência da solubilização do Al retido na fração orgânica ou na fração mineral.

414 Pois, de acordo com Oliveira et al. (2018) o Al contido no caulim é estritamente mineral,
415 enquanto o retido no restante do material (fezes) pode ter origem orgânica (da forragem) ou
416 mineral (do solo).

417 As concentrações de Al extraídas por meio da técnica DNS, são expressadas em diferentes
418 proporções, ou seja, nas fezes puras 80 % do Al provém da primeira fase e os outros 20% da
419 segunda fase, e no caulim puro ocorre o inverso. Assim, é possível presumir que o Al medido na
420 segunda etapa seria principalmente originário do caulim (Oliveira et al. 2018).

421 Ainda que a separação das fases tende a auxiliar a identificação da origem do Al, o caulim
422 apresenta altas concentrações do elemento (39,5 % de Al). Com isso, a digestão por meio dessa
423 técnica necessita de maiores diluições do substrato, afim de se obter os resultados e que os mesmos
424 permaneçam dentro do espectro de leitura do aparelho (Oliveira et al. 2018). Diante disso, erros
425 acumulativos podem aparecer entre as etapas da metodologia analítica.

426 Então, embora o caulim apresente todas as características importante para um bom marcador
427 de consumo de animais a pasto, os resultados superestimados apresentados por Ribeiro et al.
428 (2018) evidenciam que o problema da substância ainda reside na metodologia analítica de extração
429 e quantificação deste marcador. Tornando este processo alvo de maior atenção.

430 *Busca por nova metodologia analítica*

431
432
433 Como apresentado anteriormente, a quantificação do caulim tem sido determinada através
434 do Al presente no composto. E, normalmente o teor de Al é quantificado por meio do método
435 analítico de colorimetria com aluminon, descrita por Bauner et al. (1966). Segundo os autores,
436 após a amostra ser exposta a uma digestão ácida, o Al_3^+ é tratado com aluminon, sua cor é lida em
437 espectrofotômetro e comparada aos valores estabelecidos por uma curva padrão.

438 As leituras dos teores de Al podem ser feitas também por meio do Plasma por Acoplamento
439 Indutivo – Espectrofotometria de Emissão Ótica (ICP-OES) e Espectrofotometria de Absorção
440 Atômica (EAA) (McDowell 1992). No entanto, ambas as técnicas aqui expostas são consideradas

441 inviáveis, pois além da demanda de grandes quantidades e diversidades de reagentes para as
442 análises, equipamentos específicos são requeridos.

443 A busca por novas metodologias analíticas acessíveis, práticas, de baixo custo que promove
444 resultados acurados, precisos e robustos para a quantificação do teor de Al no caulim, se faz
445 necessário diante desse cenário.

446 De acordo com Chao & Sanzolene (1992) matérias orgânicas e inorgânicas exigem diversos
447 ácidos fortes para o processo de digestão, como por exemplo o ácido perclórico (HClO_4) e ácido
448 nítrico (HNO_3). No entanto, para completa decomposição de alguns minerais complexos, como
449 por exemplo o silicato (SiO), faz se necessário o combinado dos ácidos com o ácido fluorídrico.

450 Nessa situação, o caulim por ser um alumino silicato hidratado, cuja composição aproxima-
451 se de $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$, as matrizes de silicato associadas ao Al apenas serão dissolvidas na presença
452 HF. Pois, o flúor é o elemento mais eletronegativo existente, ou seja, possui a maior afinidade por
453 elétrons.

454 Portanto, as ligações SiO em contato com o íon F^- são rompidas, formando SiF e a mesma é
455 volatilizada em meio aquecido (Chao & Sanzolene 1992). Conclui-se que a partir desse processo,
456 toda a associação do Al com SiO_2 no produto caulim, será rompida liberando o Al para a completa
457 quantificação.

458 Partindo-se da premissa de que o Al seja completamente extraído do caulim e disponível
459 para determinação, é necessário fazer uma correção dos valores finais obtidos da concentração do
460 elemento.

461 O elemento Al está presente no meio ambiente associado ao oxigênio, silício e outros
462 elementos, essa ligação torna-o insolúvel em condições ambientais, como também apresenta
463 baixas concentrações em fontes de alimentos para animais (Miller et al. 1984).

464 De acordo com Underwood (1977) ainda que a absorção deste elemento no metabolismo é
465 praticamente zero, quando fornecido aos animais, seja por ingestão adicional via solo e/ou
466 forragem, o Al é totalmente excretado por meio das fezes dos animais. Estes teores provenientes
467 da dieta, caso não identificados separadamente, influenciaram diretamente nos resultados finais
468 das estimativas nutricionais.

469 Torna-se então primordial identificar o teor de Al presente nas fezes dos animais antes de
470 serem expostos ao estudo de digestibilidade. Ou seja, uma fase de coleta de fezes dos animais,
471 antes do fornecimento do marcador, se faz necessária para mensurar o teor Al provenientes de
472 fontes externas (solo, forragem e água). A partir daí a concentração final de Al do caulim pode ser
473 expressa pela diferença dos teores do elemento nas fezes durante as fases pré e pós administração
474 do caulim.

475

476 **Conclusão**

477 Ainda que pouco se sabe sobre a eficácia do caulim como marcador de consumo, atualmente
478 pesquisas vêm sendo aperfeiçoadas com o intuito de melhorar as metodologias analíticas
479 propostas. Com isso, o caulim por ser uma substância inerte e com características semelhantes ao
480 considerado um marcador externo ideal, torna-se uma possível escolha para uso em avaliações
481 nutricionais de animais a pasto.

482

483 **Bibliografia**

484 Berchielli, TT, Rodriguez, NM, Gonçalves, LC 1996, 'Polietilenoglicol e colbato-EDTA como
485 marcadores da fase líquida ruminal', *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 38, no. 4, pp. 463-
486 471.

- 487 Berchielli, TT, Andrade, P, Furlan, CL 2000, 'Avaliação de marcadores internos em ensaios de
488 digestibilidade', *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 29, no. 3, pp. 830-833.
- 489 Berchielli, TT, Garcia, AV, Oliveira, SG 2006, 'Principais técnicas de avaliação aplicadas em
490 estudos de nutrição', in Berchielli, TT, Garcia, AV, Oliveira, S. G (eds.), *Nutrição de*
491 *ruminantes*, Funep, Jaboticabal, BRA., pp. 397-421.
- 492 Berchielli, TT, Garcia, AV, Oliveira, SG 2011, 'Principais técnicas de avaliação aplicadas em
493 estudo de nutrição', in Berchielli, TT, Garcia AV, Oliveira, SG (eds.), *Nutrição de ruminantes*,
494 2 ed. Funep, Jaboticabal, BRA., pp. 415-436
- 495 Brauner, JL, Catani, RA, Bittencourt, WC 1966, 'Extração e determinação do alumínio trocável
496 do solo', in Anais E.S.A.(eds), *Luiz de Queiroz*, vol.23, pp.53-73.
- 497 Carvalho, PCF, Kozloski, GV, Ribeiro Filho, HMN, Reffatti, MV, Genro, TCM, Euclides, VPB.
498 2007, 'Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo',
499 *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 36, pp. 51-170.
- 500 Cavalcanti, AC, Saliba, EOS, Rodriguez, NM, Silva, FAE 2013, 'Indicadores do metabolismo
501 animal' in Saliba, EOS (eds.), *Compêndio de utilização de indicadores do metabolismo animal*,
502 GIL, Belo Horizonte, pp. 8- 38.
- 503 Chao TT, Sanzalone, RF 1992, 'Decomposition techniques', *J Geochem Explor*, vol. 44, pp. 65-
504 106.
- 505 Cochran, RC, Adams, DC, Wallace, JD, Galyean, ML 1986, 'Predicting digestibility of different
506 diets with internal markers: evaluation of four potential markers', *Journal Animal Science*, vol.
507 63, no. 5, pp. 1476-1483.
- 508 Davis MP, Freetly HC, Kuehn LA and Wells JE 2014, 'Influence of dry matter intake, dry matter
509 digestibility, and feeding behavior on body weight gain of beef steers', *J Anim SCI*, vol. 92, pp.
510 3018-3025.
- 511 Detmann, E, Valadares Filho, SC, Paulino, MF 2004, 'Avaliação da técnica de marcadores na
512 estimação do consumo por ruminantes em pastejo', *Cad. Tec. Vet. Zootec*, vol.46, pp. 40-47.
- 513 Dove, H, Mayes, RW, 1996, 'Plant wax components: anew approach to estimating intake and
514 diet composition in herbivores', *The Journal of Nutrition*, vol. 126, no. 1, pp. 13-26.
- 515 Fernandes, HJ, Paulino, MF, Detmann, E 2012, 'Avaliação nutricional, durante a amamentação de
516 tourinhos em pastejo recebendo suplementação proteica da amamentação à terminação',
517 *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 41, no. 2, pp. 374-383.
- 518 Ferreira, MA, Filho, SDCV, Inácio, M, Marcondes, MLP, Paulino, MF & Valadares, RFD 2009,
519 'Avaliação de marcadores em estudos com ruminantes: digestibilidade', *Revista Brasileira de*
520 *Zootecnia*, vol. 38, no. 8, pp. 1568-1573.
- 521 Glindemann, T, Tas, BM, Wang, C, Alvers, S, Susenbeth, A 2009, 'Evaluation of titanium dioxide
522 as an inert marker for estimating faecal excretion in grazing sheep', *Anim. Feed Sci. Technol*,
523 vol. 152, pp. 186-197.
- 524 Horn, FP, Telford, JP, Mc Croskey, JE 1979, 'Relationship of animal performance and dry matter
525 intake, to chemical constituents of grazed forage', *Journal Animal Science*, vol. 49, no. 4, pp.
526 1051-1058.
- 527 Jardstedt, M, Hessle, A, Norgaard, P, Frendberg, L, & Nadeau, E 2018, 'Intake and feed utilization
528 in two breeds of pregnant beef cows fed forages with high-fiber concentrations', *Journal of*
529 *animal science*, vol. 96, no.8, pp. 3398-3411.
- 530 Johnson, RM 1983, 'Animal litter and method for deodorizing animal waste with dried citrus pulp',
531 U.S. Patent n. 4,386,580, 7 jun. 1983.

- 532 Kozloski, GV, Perez Neto, D, Oliveira, L, Maixner, AR, Leite, DT, Maccari, M, Brondani, IL,
533 Asnchez, LMB, Quadros, FLF. 2006, 'Uso do óxido de cromo como marcador da excreção
534 fecal de bovinos em pastejo: variação das estimativas em função do horário de amostragem',
535 *Ciência Rural*, vol. 36, no. 2, pp. 599-603.
- 536 Lanzetta, VAS, Rezende, ASC, Saliba, EOS 2009, 'Validação do LIPE® como método para
537 determinar a digestibilidade dos nutrientes em equinos', *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol.
538 38, no. 1, pp. 69-74.
- 539 Lima, JBMP, Graça, DS, Borges, ALCC, Saliba, EOS, Simão, SMB 2008, 'Uso do óxido crômico
540 e do LIPE® na estimativa do consumo de matéria seca por bezerros de corte', *Arquivo
541 Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 60, no. 5, pp. 1197-1204.
- 542 Luz, AB, Campos, AR, Carvalho, EA, Bertolino, LC, Scorzelli, RB 2008, 'Argila – caulim', in
543 *Rochas e Minerais Industriais no Brasil: usos e especificações*, 2ª ed., CETEM/MCTI, Rio de
544 Janeiro, BRA., pp. 2559-294.
- 545 Marais, JP 2000, 'Use of markers', in D'Mello, JOF. (eds.) *Farm animal metabolism and
546 nutrition: critical reviews*, The Scottish Agricultural College, pp.255-277.
- 547 Mayes, RW, Lamb, CS, Colgrove, PM 1986, 'The use of dosed and herbage n-alkanes as markers
548 for the determination of herbage intake', *Journal Agriculture Science*, vol. 70, no. 1, pp. 161-
549 170.
- 550 Miller, RG, Kopfler, FC, Kelty, KC, Stober, JA, Ulmer, NS. 1984, 'The occurrence of aluminum
551 in drinking water', *J. Am. Water Works Assoc.*, vol. 76, pp. 84-91.
- 552 Mir, PS, Kalnin, CM, Garvey, SA 1989, 'Recovery of fecal chromium used as a digestibility
553 marker in cattle', *Journal of Dairy Science*, vol. 72, pp. 2549-2553.
- 554 Morenz, MJF, Da Silva, JFC, Aroeira, LJM, Deresz, F, Vásquez, HM, Paciullo, SC, Lopes, FCF,
555 Elyas, CW, Detmann, E. 2006, 'Óxido de cromo e alcanos na estimativa do consumo de
556 forragem de vacas em lactação em condições de pastejo', *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol.
557 35, no. 4, pp. 1535-1542.
- 558 Myers, WD, Ludden, PA, Nayigihugu, V, Hess, BW 2004, 'Technical Note: A procedure for the
559 preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide', *Journal of Animal
560 Science*, vol. 82, pp. 179-183.
- 561 Nutrient requirements of dairy cattle (NRC). 2001, 7ª ed., Washington: *National Academy of
562 Sciences*, Washington, USA, pp. 381.
- 563 Oliveira, LOF, Saliba, EOS, Gonçalves, LC, Borges, I, Miranda, PAB, Fialho, MPF, 2010,
564 'Digestibilidade *in situ* e cinética ruminal de bovinos de corte a pasto sob suplementação de
565 proteinados' *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 39, no. 6, pp. 1328-1335.
- 566 Oliveira, LOF, Ribeiro, C, Morais, MDG, Caramalac, LS, Gomes, RDC, De Abreu, UGP, Silva, J
567 2018, 'Técnicas de análise para estimativas da concentração de caulim nas fezes bovinas'.
568 *Embrapa Gado de Corte-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* (INFOTECA-E).
- 569 Orskov, ER, Deb Hovell, FD, Mould, F 1980, 'The use of the nylon bag technique for the
570 evaluation of feedstuffs', *Trop Anim Production*, vol. 5, pp. 195-213
- 571 Owens, FN & Hanson, CF 1992, 'External and internal markers for appraising site and extent of
572 digestion in ruminants', *Journal Dairy Science*, vol. 75, no. 9, pp. 2605-2617.
- 573 Piaggio, LM, Prates, ER, Pires, FF, Ospina, H. 1991, 'Avaliação das cinzas insolúveis em ácido,
574 fibra em detergente ácido indigestível e lignina em detergente ácido indigestível como
575 marcadores internos da digestibilidade', *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 20, no. 3, pp.
576 306-312.

- 577 Pond, KR, Ellis, WC, Matis, JH, Desweysen, AG, 'Passage of chromium-mordanted and rare
578 earth-labeled fibre: time of dosing kinetics', *Journal of Animal Science*, vol.67, no.4, pp.
579 1020-1028.
- 580 Reis, RA & Silva, SC 2006, 'Consumo de forragens', in Berchielli, TT, Garcia, AV, Oliveira, SG
581 (eds.), *Nutrição de ruminantes*, Funep, Jaboticabal, BRA., pp. 79-109.
- 582 Reis, SF, Huntington, G, Hopkins, M, Whisnant, S, & Paulino, PVR 2015, 'Herbage selection,
583 intake and digestibility in grazing beef cattle', *Livestock Science*, vol. 174, pp. 39-45.
- 584 Ribeiro, CB, de Oliveira, LOF, da Graça Morais, M, Fernandes, HJ, Carneiro, MMY, Rocha,
585 RFAT, & Rocha, DT 2018, 'Kaolin and chromic oxide under different forms of administration
586 in a study of consumption and digestibility', *Semina: Ciências Agrárias*, vol. 39, no.6, pp. 2607-
587 2620.
- 588 Rodrigues, PHM, Gomes, RDC, Siqueira, RFD, Meyer, PM, & Rodrigues, RR 2010, 'Acurácia,
589 precisão e robustez das estimativas da digestibilidade aparente da matéria seca determinada
590 com o uso de marcadores em ovinos', *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 39, no.5, pp. 1118-
591 1126.
- 592 Saliba, EDOS, Faria, EP, Rodriguez, NM, Moreira, GR, Sampaio, IBM, Saliba, JS, & Borges,
593 ALCC 2015, 'Use of infrared spectroscopy to estimate fecal output with marker
594 Lipe', *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, vol. 4, pp. 1-10.
- 595 Sampaio, CB, Detmann, E, Valente, TNP, Costa, VCV, Valadares Filho, SDC, Queiroz, ACD.
596 2011, 'Fecal excretion patterns and short term bias of internal and external markers in a
597 digestion assay with cattle', *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 40, no. 3, pp. 657-665.
- 598 Schneider, BH & Flatt, WP 1975, *The Evaluation of Feeds Through Digestibility Experiments*,
599 *University of Georgia Press*, Athens, USA.
- 600 Sein, T, Todd, JR, 1988, 'Investigations into the use of indicator methods of estimating the
601 digestibilities of foods by ruminant animals', *Journal of Agricultural Science*, vol. 110, no. 2,
602 pp. 315-320.
- 603 Silva, SP 2001, *Caulim - Balanço Mineral Brasileiro*, *Departamento Nacional de Produção*
604 *Mineral (DNPM)*, acesso em: 10/08/2019.
605 <<http://www.dnpm.gov.br/assets/galeriadocumento/balancomineral2001/caulim.pdf>>.
- 606 Silva & Queiroz 2002, *Livro Métodos para Análises de Alimento*. Univers, cidade, estado, Brasil.
- 607 Souza, JDS, Ferreira, WM, Saliba, EOS, Asad, CEP, Machado, LC, Monteiro, JR. 2005,
608 'Digestibilidade aparente da dieta suplementada com concentrado de leveduras vivas para
609 avestruzes em crescimento', *Rev. Acad., Curitiba*, vol. 3, no. 3, pp. 59-66.
- 610 Smith, AM, Reid, JT 1955, 'Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the purpose
611 of determining the intake of a pasture herbage by grazing cows', *Journal of Dairy Science*,
612 vol. 38, pp. 515-524.
- 613 Souza, N. K. P., D. S. Pina, E. Detmann. 2012. Avaliação de Cr em amostras fecais. Detmann, E.,
614 M. D Souza, S. D. C. Valadares Filho, A. D. Queiroz, T. T. Berchielli, E. D. O. Saliba, J. A.
615 G. Azevedo. In: *Métodos para análise de alimentos*. Visconde do Rio Branco: Suprema, 214p.
- 616 Souza, J, Batistel, F, Welter, KC, Silva, MM, Costa, DF, & Santos, FAP 2015, 'Evaluation of
617 external markers to estimate fecal excretion, intake, and digestibility in dairy cows', *Tropical*
618 *animal health and production*, vol. 47, no. 1, pp. 265-268.
- 619 Titgemeyer, EC, Armendariz, CK, Bindel, DJ 2001, 'Evaluation of titanium dioxide as a
620 digestibility marker for cattle', *Journal of Animal Science*, vol. 79, no. 4, pp. 1059-1063.
- 621 Titgemeyer, EC, 1997, 'Design and interpretation of nutrient digestion studies', *Journal of Animal*
622 *Science*, vol. 75, pp. 2235-2247.

- 623 Trckova M, Vondruskova H, Zraly Z, Alexa P, Hamrik J, Kummer V, Maskova J, Mrlik V,
624 Krizova K, Slana I, Leva L, Pavlik I 2009, 'The effect of kaolin feeding on efficiency, health
625 status and course of diarrhoeal infections caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* strains in
626 weaned piglets', *Veterinarni Medicina*, vol. 54, no. 2, pp. 47-63.
- 627 Underwood, EJ 1977, Trace Elements in Human and Animal Nutrition 4., *Academic Press*, New
628 York, USA, pp. 430-432.
- 629 Van Soest, PJ 1994, Nutritional ecology of the ruminant, 2^a ed., Ithaca: *Cornell University*, New
630 York, USA, pp. 476.
- 631 Van Soest, PJ, Robertson, JB, Lewis, BA 1991, 'Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber,
632 and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition', *Journal Dairy Science*, vol. 74,
633 pp. 3583-3597.
- 634 Vasconcellos, CHF, Veloso, JAF, Saliba, EOS, Baião, NC, Lara, LJC 2007, 'Uso da LIPE® como
635 marcador externo na determinação da energia metabolizável de alimentos em frangos de corte',
636 *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, vol. 59, pp. 459-465.
- 637 Zeoula, LM, Prado, IN, Dian, PHM, Geron, LJV, Caldas Neto, SF, Maeda, EM, Dal Pra Peron, P,
638 Marques, JA, Falcão, AJS 2002, 'Recuperação fecal de indicadores internos avaliados em
639 ruminantes', *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, vol. 31, pp.1856-1874.
- 640 Wang, Y, Su, H, Gu, Y, Song, X, & Zhao, J 2017, 'Carcinogenicity of chromium and
641 chemoprevention: a brief update', *Oncotargets and therapy*, vol. 10, pp. 4065.

642 Capítulo 3. Capítulo redigido conforme as normas da Revista Brasileira de Zootecnia

643

644 Nota Técnica: Procedimento analítico de extração de alumínio em amostras de caulim e

645 fezes bovinas

646

647 **Resumo:** Nós testamos um novo procedimento analítico quantitativo de extração de Al em
648 caulim e comparamos os resultados com amostras analisadas pelo método padrão
649 colorimétrico aluminona e leitura por espectroscopia de emissão óptica com plasma
650 acoplado indutivamente. Por meio do novo procedimento, amostras puras de caulim e fezes,
651 e/ou misturadas foram digeridas em mistura ácida nitroperclórica, após, acrescentado ácido
652 fluorídrico e quantificadas por espectrofotometria de absorção atômica. Devem ser tomadas
653 precauções para evitar fumaças tóxicas de SiF₄ geradas durante a digestão das amostras. A
654 acurácia foi avaliada pela comparação do viés médio (predito – observado) entre os
655 procedimentos analíticos; e a robustez, pelo estudo da regressão entre o viés e a
656 porcentagem de caulim presente nas amostras de fezes. Não foi observada diferença ($P \geq$
657 0,05) entre os resultados encontrados de concentração de Al em amostras de caulim puro,
658 quando comparado os dois procedimentos analíticos avaliados. Todos os valores obtidos
659 apresentaram resultados próximos ao valor esperado, e o processo analítico se mostrou
660 acurado ($P = 0,9436$) e robusto ($R^2 = 0,0002$ e $P = 0,9634$) para extração de Al em amostras
661 de fezes bovinas com caulim. Conclui-se que o procedimento analítico proposto pelo estudo
662 foi eficaz, acurado e robusto quanto a extração de Al de amostras de fezes bovina com caulim.

663

664 **Palavras-chave:** excreção fecal, marcador externo, digestão nitroperclórica

665

666

Introdução

667 O caulim trata-se de uma substância indigestível, cuja as características físicas e
668 químicas (Trckova et al., 2009; Luz et al., 2009), evidenciam o seu uso como potencial
669 marcador externo de bovinos a pasto. Por ser um composto minério, da qual a composição

670 aproxima-se de $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$, o caulim torna-se instável em meio ácido, fazendo-se
671 necessário sua determinação de forma indireta por meio de elementos não absorvidos pelo
672 organismo animal, como o alumínio.

673 A digestão nitroperclórica ($\text{HNO} + \text{HClO}_4$) (Malavolta et al., 1997), associada ao método
674 colorimétrico aluminona (ácido aurintricarboxílico) (Brauner et al., 1966), e leitura por meio
675 do aparelho de Espectrofotometria de Emissão Ótica (ICP-OES) (Korn et al., 2007), tem sido
676 o principal procedimento analítico utilizado para obtenção de extratos e determinação do
677 teor de alumínio em matérias orgânicas e inorgânicas. No entanto, esse método é
678 considerado inviável, pois além da demanda de grandes quantidades e diversidades de
679 reagentes, é requerido aparelho específico para a leitura do elemento, considerado oneroso,
680 dificultando sua realização em muitos laboratórios de pesquisas.

681 Outra técnica aplicada na determinação do teor de Al é por meio do aparelho de
682 Espectrofotometria de Absorção atômica em chamas (EAA) (McDoweel, 1992). No entanto,
683 apesar do procedimento sugerido por Malavolta et al. (1997) e Brauner et al. (1966)
684 conseguirem recuperar o alumínio na forma de íon (Al^3) em matérias orgânicas, pelo fato do
685 caulim ser matéria inorgânica e contar com um alumínio silicatado, existe a preocupação de
686 que as ligações de silicato de alumínio não sejam rompidas após o procedimento de extração
687 (Chao & Sanzolene, 1992). E, este óxido refratário formado, impossibilitaria a completa
688 exposição do Al para a sua determinação por meio do aparelho EAA.

689 Diante disso, a busca por procedimentos analíticos simples e acurados que auxiliem na
690 extração de Al em amostras de caulim puro e/ou misturado em fezes bovinas, se faz
691 necessária. Objetivou-se propor um eficiente procedimento analítico capaz de extrair Al de
692 amostras de fezes bovina com caulim.

693 **Materiais e métodos**

694 Todos os procedimentos do experimento foram aprovados pelo Comitê de ética no uso
695 de animais da EMBRAPA Pantanal, Corumbá, MS, Brasil, No. 15/2017. O experimento seguiu
696 todas as normas de segurança à exposição de produtos deletérios e saúde dos pesquisadores,
697 bem como o uso de equipamentos de proteção individual exigidos no local.

698 O produto caulim® (Silicate e Indústria e Comércio Ltda; Nova Campina, SP, Brasil) foi
699 oriundo de extração e processamento de rocha do grupo sedimentar metamórfica, sendo o
700 silicato de alumínio como principal ingrediente. O produto apresenta também densidade de
701 $0,8 \text{ g/cm}^3$, pH de 6,5 com granulometria de $99,9 \leq 0,3\text{mm} < 0,1\%$ e $82\% \leq 0,075\text{mm} < 18\%$
702 (Silicate e Indústria e Comércio Ltda; Nova Campina, SP, Brasil). Por ser um produto
703 comercial e sua composição variar de acordo com a região, se faz necessário todas as
704 avaliações físicas e químicas específicas de cada composto por estudo.

705

706 *Validação do procedimento analítico:*

707 A fim de se avaliar a eficiência do procedimento analítico proposto para extração de
708 Al em caulim, foram pré-secas (72 horas; 55°C), trituradas em moinho de facas (1mm) e
709 pesadas em triplicatas, amostras de caulim puro (0,050 g), fezes puras (0,200 g), compostas
710 (0,194 g de fezes puras + 0,006 g de caulim puro) e forragem (0,200 g).

711 As amostras de forragem e fezes, foram coletadas do mesmo piquete e garrote Nelore,
712 respectivamente. Sendo este animal alocado durante um mês exclusivamente em regime de
713 pastejo (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu; 3730,3 kg MS/ha de massa forrageira; 8,4 %
714 proteína bruta; 56,5 % nutrientes digestíveis totais; 65,3 % fibra em detergente neutro; 35,5
715 % fibra em detergente ácido; 89,6 % matéria orgânica; com base na MS).

716 Posteriormente, todas as amostras foram submetidas ao procedimento analítico
717 apresentado na Tabela 1. De modo geral, a metodologia analítica incluiu a digestão
718 nitroperclórica da amostra como descrito por Malavolta et al. (1997), seguida pela adição de
719 ácido fluorídrico para completo rompimento da sílica ligada ao Al (Chao & Sanzolene, 1992).
720 Uma curva padrão com 0, 3, 6, 9, 12 e 15 mg/L de Al foi montada por meio da solução padrão
721 de 1000 mg/L de Al (Merck KGaA; Darmstadt, Alemanha). Para a determinação do teor de
722 Al, o extrato foi diluído em solução de óxido de lantânio (0,2 %) e medido no
723 Espectrofotômetro de Absorção Atômica (McDowell, 1992), modelo AAnalyst 400 (Perkin
724 Elmer; Waltham, MA, EUA). Utilizou-se uma lâmpada de cátodo oco de Al como fonte de
725 radiação primária, operada a um comprimento de onda de 309 nm. Aplicou-se o valor
726 encontrado da leitura dos extratos (LTAL, mg/kg) na equação de regressão dos padrões (R^2
727 = 0,9996) para estimar a concentração do Al (mg/kg).

728 Para o cálculo de concentração de Al em cada amostra, utilizou-se a Equação [1].

$$729 \quad [Al] \text{ mg/kg} = (LTAL * \text{fator de diluição do extrato}) / \text{peso da amostra, mg} \quad \text{Eq. [1]}$$

730

731 Para se conhecer a quantificação de Al proveniente do caulim em amostras compostas
732 (Fezes + caulim), foi determinada através da diferença entre a concentração de Al presente
733 nas fezes com caulim e nas fezes puras, pois as mesmas podem conter algum teor do
734 elemento (Al derivado da dieta). Este foi calculado pela Equação [2].

$$735 \quad [Al] \text{ no caulim, mg/kg} = \text{Total de Al nas fezes com caulim adicionado} - \text{Al presente nas fezes}$$

736 puras Eq. [2]

737

738 Os resultados encontrados foram comparados com os valores observados de Al obtidos
739 por meio do procedimento analítico padrão para análise de Al, descrito por Malavolta et al.
740 (1997) e Brauner et al. (1966) e, o teor do elemento quantificado pelo aparelho de
741 Espectrofotometria de Emissão Ótica, modelo ICPE série 9800 (Schimadzu Corporation;
742 Quioto, Quioto, Japão).

743

744 *Análises estatísticas:*

745 Os dados de concentração de Al presente nas amostras de caulim puro foram
746 submetidos a análise de variância pelo teste f, por meio do programa SAS v.9.3 (Sas Institute
747 Inc., Cary, Ca, EUA).

748 O procedimento analítico de extração de Al em amostras de fezes com caulim foi
749 avaliado quanto à acurácia e à robustez. A acurácia foi avaliada pelo estudo do viés médio,
750 que é a diferença entre o valor predito (procedimento proposto) e o valor observado
751 (procedimento padrão), sendo a metodologia analítica mais acurada à medida que esta
752 possui um viés médio mais próximo de zero (Kohn et al., 1998). A raiz quadrada da média do
753 erro de predição (RQMEP) é a variabilidade média da distância entre o valor predito e o
754 observado ou ainda, a variabilidade dos vieses. Os cálculos foram feitos como descrito por
755 Rodrigues et al. (2010), sendo utilizado o teste t para média igual a zero (PROC UNIVARIATE
756 do SAS) para avaliar a significância do viés médio.

757 Além da significância do viés médio, os vieses foram ainda avaliados quanto a seu
758 comportamento em função da variação dos valores de concentração de Al na amostra
759 conhecida, de acordo com Kohn et al. (1998). Para isso, foi estimada a regressão entre os
760 vieses e os valores de Al, obtendo-se, desta forma, o viés linear (coeficiente angular), o

761 coeficiente de determinação do modelo (R^2) e a significância do viés, pelo procedimento GLM
762 do SAS v.9.3 (Sas Institute Inc., Cary, CA, EUA).

763 Por sua vez, a avaliação da robustez da metodologia analítica proposta foi feita em
764 relação ao nível de caulim presente nas fezes. Foi realizada uma análise de regressão entre
765 os valores de viés das estimativas de Al e as concentrações de caulim nas amostras de fezes.
766 Para isso, foi utilizado o procedimento GLM do SAS v.9.3 (Sas Institute Inc., Cary, CA, EUA).

767 Em todas as análises foi utilizado um nível de significância utilizado foi de 5%.

768

769

Resultados

770 Amostras de caulim puro foram processadas e analisadas por meio dos dois
771 procedimentos analíticos avaliados, observou-se que não houve diferença ($P \geq 0,05$) entre
772 os resultados encontrados de concentração de Al entre ambos, apresentando valor médio de
773 8,65 % (Figura 1).

774 A fim de se conhecer o teor do Al derivado de fontes externas (dieta), amostras de fezes
775 puras e forragem fornecida ao animal, foram analisadas por meio do procedimento proposto,
776 e foi observada teor médio de 600 mg Al/kg e 800 mg Al/kg, respectivamente.

777 O procedimento analítico proposto neste estudo apresentou um viés médio
778 estatisticamente ($P \geq 0,05$) igual a zero (Tabela 2), mostrando-se acurado para a extração de
779 Al em amostras de fezes bovinas com caulim. Além disso, considerando-se o estudo do viés
780 linear, a ausência de sua significância ($P = 0,9636$) deste coeficiente e o baixo valor do
781 coeficiente de determinação ($R^2 = 0,0002$) da regressão, pode-se dizer que o viés do método
782 analítico se manteve o mesmo ao longo de toda amplitude de concentração de Al presente
783 das amostras.

784 Quando avaliado o comportamento do viés em relação à porcentagem de caulim nas
785 fezes, verificou-se que o modelo de regressão obtido não foi significativo ($P = 0,9634$), assim
786 como o coeficiente de determinação ($R^2 = 0,0002$) foi bastante baixo (Tabela 2). Tal fato
787 indica que o método analítico empregado é robusto quanto a variações na concentração de
788 caulim nas fezes, na faixa analisada neste estudo.

789

790

Discussão

791 A determinação de alumínio, de acordo com Malavolta et al. (1997); Brauner et al.
792 (1966) e Korn et al. (2007) por meio do procedimento padrão, apresenta boa sensibilidade,
793 alta precisão e rapidez. Seguindo esses princípios, a partir da semelhança de resultados da
794 extração de Al no composto mineral (caulim puro) pelo procedimento analítico aqui
795 proposto, concluiu-se que este método foi eficiente em realizar a extração do Al em matéria
796 inorgânica (Figura 1).

797 O processo analítico baseou-se na teoria de que a ação da digestão nitroperclórica
798 sobre matérias inorgânicas apresenta alta eficácia. Porém, para que haja completa
799 decomposição de alguns minerais complexos, como por exemplo o silicato (SiO), faz-se
800 necessário combinar soluções ácidas com o ácido fluorídrico (HF) (Malavolta et al., 1997;
801 Chao & Sanzolene, 1992).

802 Sendo assim, no caso de o caulim ser um alumino silicato hidratado ($Al_2Si_2O_5(OH)_4$), as
803 matrizes de SiO associadas ao Al, apenas são dissolvidas com a presença do HF. Este processo
804 ocorre devido ao flúor (F) ser um elemento mais eletronegativo, ou seja, possui a maior
805 afinidade por elétrons. Assim, de acordo com Chao & Sanzolene (1992) as ligações silicatadas
806 em contato com o íon F^- são rompidas, formando SiF, que é volatilizado em meio aquecido.

807 Por meio disso, toda a associação do Al associado ao SiO presente no produto caulim foi
808 rompida, liberando o Al para a completa quantificação do elemento.

809 Como observado, o teor de Al encontrado nas matérias orgânicas (fezes puras; 600 mg
810 Al/kg) apresenta-se baixo. Considerando o fato de que as amostras não tiveram adição de
811 caulim, presume-se que a baixa concentração de Al encontrada seja causada por meio de
812 ingestão do elemento via solo e forragem (Underwood, 1977). Isto pôde ser confirmado na
813 concentração do elemento presente na forrageira fornecida aos animais no estudo.

814 Ainda que nestas baixas concentrações, o Al está presente nas forragens, e encontra-se
815 associado a outros elementos, como o oxigênio e/ou silício. Essa ligação o torna insolúvel em
816 condições ambientais e a absorção deste elemento no metabolismo do animal é mínima
817 (Miller et al., 1984; Underwood, 1977). De acordo com esses autores, quando consumido
818 pelos animais, seja por ingestão natural via forragens, solo, água, etc., ou fornecidos em
819 suplementos, praticamente todo o Al é eliminado via fezes.

820 Entanto, como existe esta interferência dietética, para se determinar a concentração de
821 Al proveniente somente do caulim faz-se necessária a correção dos valores correspondentes
822 presentes nas fezes, correspondentes a estas fontes (forragens, solo e água).
823 Semelhantemente, Myers et al. (2004) quando avaliaram o uso de dióxido de titânio como
824 marcador de excreção fecal de animais em pastejo, observaram a presença de valores do
825 composto (TiO_2) provenientes de fontes externas ao ensaio, sugerindo então ajuste dos
826 resultados finais.

827 A busca por métodos acessíveis que promove resultados acurados, precisos e robustos
828 para a quantificação do teor de Al no caulim se torna necessário. Neste sentido, comprova-
829 se os dados observados (Tabela 2), que o método preposto foi acurado e robusto para a

830 recuperação total do alumínio após a extração nas amostras de matéria orgânica (fezes
831 bovinas) associada a matérias inorgânicas (caulim).

832 O caulim apresenta-se como uma alternativa potencialmente viável como indicador de
833 baixo custo: é um composto inerte em uma ampla faixa de pH (3 a 9), tem fácil dispersão,
834 baixa condutividade térmica e elétrica e pouca abrasividade (Trckova et al., 2009; Luz et al.,
835 2009). Segundo Trckova et al. (2009) as características de adsorção e ausência de toxicidade
836 primária do caulim possibilitam considerá-lo isento de efeitos tóxicos no ambiente e/ou em
837 organismos vivos.

838 Por outro lado, o método analítico pode ser considerado economicamente mais viável
839 e metodologia simples e prática, facilitando seu processo em diversos meios de pesquisas,
840 quando se comparado a técnica padrão. Além do fato de o Brasil deter aproximadamente
841 28% das reservas mundiais de caulim (Luz et al., 2009), facilita a obtenção deste produto em
842 nosso país, a um baixo custo.

843

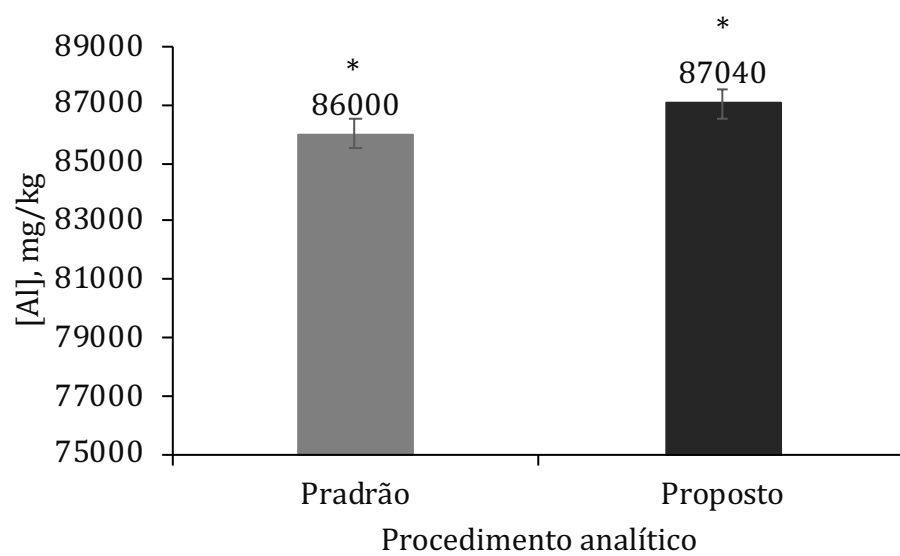
Tabelas

844 Tabela 1. Procedimento analítico para determinação indireta da concentração de caulim em
845 matéria orgânica

-
- 1º Pesar duplicado 0,2000 g de material seco e colocar em tubo de digestão de 250 mL.
Obs. Amostras de fezes puras são utilizados para correção.
 - 2º Adicionar 6 mL de mistura ácida $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ na proporção 2:1 (v:v) em cada tubo.
 - 3º Digerir as amostras à 220°C em bloco digestor por 4 horas, ou até que as amostras estejam translúcidas. Remover os tubos de digestão do bloco digestor em seguida esperar esfriar por um período mínimo de 20 min.
 - 4º Adicionar 0,15 mL de ácido fluorídrico P.A. em cada tubo e aquecer no bloco digestor à 150°C por 10 min.
 - 5º Filtrar o extrato com papel filtro Whatman No. 541 para remover qualquer precipitado.
 - 6º Completar com água deionizada o volume final de 50 mL utilizando balão volumétrico.
 - 7º Para o procedimento da quantificação do Al, diluir o extrato com óxido de lantânio (0,2 %) na proporção de 1:2 (v/v).
 - 8º Mensurar a absorvância à 309 nm. Espectrofotômetro calibrado com a curva padrão preparada com 0, 3, 6, 9, 12 e 15 mg/L de Al. Usa-se o padrão 0 mg/L para zerar o aparelho.
-

846

847



856 Figura 1. Concentração de alumínio presente em amostras de caulim puro observada em
857 diferentes procedimentos analíticos de extração do elemento. * $P \geq 0,05$

858 Tabela 2. Parâmetros de acurácia e robustez do procedimento analítico de extração de
 859 alumínio e a concentração de caulim no extrato de amostras de fezes bovina com a quantidade
 860 conhecida de caulim¹

| | Valor predito | Valor observado | Viés médio ² | RQPEM ² | Regressão Linear ³ | | |
|------------------------------|------------------|--------------------|----------------------------|--------------------|-------------------------------|----------------|--------------|
| | | | | | Viés linear | R ² | Valor – P |
| Concentração de Al, mg/kg | 2790.2 | 2653.3 | 136.9 ^{ns} | 673.7 | -0.015 | 0.0002 | 0.961 |
| Porcentagem de Caulim, % | 3.24 | 3.08 | 136.9 ^{ns} | 717.1 | -12.63 | 0.0002 | 0.963 |

861 ¹Média dos resultados das concentrações das amostras conhecidas foram estimados por
 862 meio da metodologia ICP-OS no LAQAM (Rio de Janeiro, RJ, Brasil);

863 ²Probabilidade do teste t para média igual a 0.

864 ³Estimativa do coeficiente angular da equação linear de regressão entre os vieses e a
 865 respectiva variável independente (procedimento padrão).

866 ^{ns} não significativo;

Referências

- 867
- 868 Brauner, J. L.; R. A.; Catani, W.C. and Bittencourt, W. C. 1966. Extração e determinação do
869 alumínio trocável do solo. Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". 23:53-
870 73. <https://doi.org/10.1590/S0071-12761966000100006>
- 871 Chao, T. T. and Sanzolone, R. F. 1992. Decomposition techniques. Journal of Geochemical
872 Exploration. 44:65-106. [https://doi.org/10.1016/0375-6742\(92\)90048-D](https://doi.org/10.1016/0375-6742(92)90048-D)
- 873 Kohn, R. A.; Kalscheur, K. F. and Hanigan, M. 1998. Evaluation of models for balancing the
874 protein requirements of dairy cows. Journal of Dairy Science. 81:3401-3414.
875 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75904-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75904-1)
- 876 Korn, M. G. A.; Oleszezuk, N.; Castro, J. T. and Silva, M. M. 2007. Method development for the
877 determination of manganese, cobalt and copper in green coffee comparing direct solid
878 sampling electrothermal atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma
879 optical emission spectrometry. Talanta. (Oxford). 73:862-869.
880 <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.05.005>
- 881 Luz, A. B.; Carvalho, E. A.; Bertolino, L. C. and Scorzelli, R. B. 2009. Caulim. p. 255-294. In:
882 Rochas & Minerais Industriais: usos e especificações. 2 ed. Rio de Janeiro - CETEM/MCT.
- 883 Malavolta, E.; Vitti, G. S. and Oliveira, S. A. 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas:
884 princípios e aplicações. 319p. 2.ed. Piracicaba, POTAFOS.
- 885 Mcdowell, L.R. 1992. Minerals in animal and human nutrition. p.352-365. Academic Press,
886 Inc, California.
- 887 Miller, R. G.; Kopfler, F. C.; Kelty, K. C.; Stober, J. A. and Ulmer, N. S. 1984. The occurrence of
888 aluminum in drinking water. J. Am. Water Works Assoc. 76:84-91.
889 <https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.1984.tb05267.x>

- 890 Myers, W. D.; Ludden, P. A.; Nayigihugu, V. and Hess, B. W. 2004. A procedure for the
891 preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *Journal of Animal*
892 *Science*, 82:179-183. doi: 10.2527 / 2004.821179x.
- 893 Rodrigues, P. H. M.; Gomes, R. C.; Siqueira, R. F. D.; Meyer, P. M. and Rodrigues, R. R. 2010.
894 Acurácia, precisão e robustez das estimativas da digestibilidade aparente da matéria seca
895 determinada com o uso de indicadores em ovinos. *R. Bras. Zootec.* 39:1118-1126.
896 <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000500024>
- 897 Trckova, M.; Vondruskova, H.; Zraly, Z.; Alexa, P.; Hamrik, J.; Kummer, V.; Maskova, J.; Mrlik,
898 V.; Krizova, K.; Slana, I., Leva, L and Pavlik, I. 2009. The effect of kaolin feeding on efficiency,
899 health status and course of diarrhoeal infections caused by enterotoxigenic *Escherichia coli*
900 strains in weaned piglets. *Veterinarni Medicina.* 54:47–63. doi: 10.17221/5/2009-VETMED
- 901 Underwood, E. 1977. *J. Trace Elements in Human and Animal Nutrition* 4. p 430–432.
902 Academic Press, New York.

903 Capítulo 4. Capítulo redigido conforme as normas da revista *Animal*

904 **Caulim e dióxido de titânio como marcadores externos de excreção fecal de**
905 **garrotes em pastejo**

906 Título curto: Caulim como marcador fecal de bovinos
907

908 **Resumo**

909 No *Exp. 1*, buscou-se substituir o dióxido de titânio pelo caulim, fornecidos via oral, como
910 marcadores fecais, enquanto se utilizou o óxido crômico como marcador do consumo de
911 suplemento. Foram realizados três ensaios sequenciais, sendo que em cada ensaio
912 utilizou-se quatro garrotes Nelore inteiros ($223,4 \pm 5,4$ kg, $253,6 \pm 2,8$ kg e $312,0 \pm 15,8$
913 kg de PC médio no 1º, 2º e 3º ensaio, respectivamente), que receberam individualmente
914 e simultaneamente 20 g de TiO_2 e 80 g de caulim/animal via oral, 2,0 kg de suplemento
915 contendo 1% de óxido crômico. Afim de avaliar a diferença das avaliações nutricionais
916 entre diferentes horários de coleta de fezes foram coletadas fezes em dois horários
917 (08h00min e 16h00min), após realizada uma amostra composta destes. Não foram
918 verificadas diferenças significativas ($P=0,7976$) na determinação da excreção fecal
919 quando determinados pelos marcadores externos dióxido de titânio e caulim, e
920 comparados entre eles. Quando foram comparados os resultados finais por meio de
921 coletas de fezes em diferentes horários, não foi verificado efeito significativo entre os
922 valores estimados. Conclui-se que o caulim foi capaz de estimar a excreção fecal de
923 bovinos de corte a pasto, e o manejo de coleta de fezes realizada uma vez ao dia é
924 suficiente para estimar as avaliações nutricionais dos mesmos. No *Exp. 2*, avaliou-se a
925 possibilidade de substituir o dióxido de titânio pelo caulim, fornecidos via suplemento,
926 como marcadores de excreção fecal em bovinos de corte a pasto (4 garrotes/estudo; 360
927 dias de idade). Observou-se que o caulim apresentou resultados superiores ($P \leq 0,0002$)
928 ao estimado pelo TiO_2 (2,70 e 5,25 kg/d, respectivamente; EPM = 0,357). Conclui-se que
929 o fornecimento via suplemento do marcador externo caulim, não permitiu a estimativa de
930 excreção fecal de garrotes.

931

932 **Palavras-chave: bovinos de corte, consumo diário, digestibilidade**

933 **Introdução**

934 Existem diversos métodos para a avaliação do CMS de animais a pasto, mas a
935 medida por meio da estimativa de excreção fecal e digestibilidade de matéria seca são
936 as mais utilizadas, e tem sido feita com a utilização de marcadores externos e/ou
937 internos. Os marcadores são substâncias indigestíveis, utilizadas como monitores
938 químicos e físicos em processos digestivos e metabólicos (Owens & Hanson 1992).
939 Essas substâncias, ao se comparar com metodologias invasivas existentes, minimizam
940 a interferência com os padrões de comportamento animal e simplificam os
941 procedimentos, tendo em vista a não necessidade de utilização de cânulas permanentes
942 no trato digestivo, sacolas de coleta de fezes e até mesmo esvaziamento do trato
943 digestivo ou abate dos animais.

944 Dentre os marcadores mais utilizados mundialmente, destaca-se o dióxido de
945 titânio (TiO_2). O uso de TiO_2 apresenta grandes vantagens, pois além do fato de que ele
946 é permitido legalmente ser adicionado ao alimento, é um pó com coloração branca sem
947 odor ou sabor, não influenciando o consumo do mesmo quando fornecido aos animais
948 por meio da suplementação (Myers et al. 2004). Com isso, além desse composto
949 destacar-se pela eficiência como marcador para estimar a DMS, CMS e EF semelhantes
950 aos observados, a uniformidade da recuperação fecal tem sido observada de 90,0 a
951 108,8% (Souza et al., 2015; Marcondes et al. 2008; Myers et al. 2004; Titgemeyer et al.
952 2001).

953 Tem sido reconhecido que a escolha do marcador representa um passo importante
954 quando se pretende estimar o consumo alimentar dos animais. Como todos os métodos
955 utilizados para estimar o CMS de bovinos em pastejo possuem limitações (Berchielli et

956 al. 2011; Ferreira et al. 2009; Detmann et al. 2004) e, segundo Carvalho et al. (2007)
957 apesar dos avanços metodológicos, as estimativas ainda são deficientes em
958 confiabilidade, a busca por novas substâncias (moléculas) que apresentem propriedades
959 favoráveis se justifica.

960 Como alternativa destaca-se o caulim, possível marcador externo para estimar o
961 consumo, pois se trata de um mineral cujas características evidenciam possibilidade de
962 uso. Além de ser um produto utilizado rotineiramente em fábricas de ração para
963 “preencher” fórmulas, o que facilita já sua mensuração não necessitando de fornecimento
964 aos animais. O objetivo deste estudo foi comparar o uso do caulim e do dióxido de titânio
965 como marcadores externos, para estimação da excreção fecal e do consumo de matéria
966 seca de garrotes Nelore em pastejo.

967

968 **Material e métodos**

969 Todos as análises químicas de laboratórios foram diligentemente realizadas
970 conforme as normas de segurança do Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Gado
971 de Corte. Manejo e cuidado dos animais para os experimentos foram realizados de
972 acordo com o Guia para o Cuidado e Uso de Animais Agrícolas em Pesquisa e Ensino
973 (FASS, 2010). Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de ética no uso de
974 animais da EMBRAPA Pantanal, Corumbá, MS, Brasil, No. 15/2017.

975

976 *Experimentos*

977 Foram realizados dois experimentos. No primeiro, buscou-se substituir o dióxido de
978 titânio pelo caulim, fornecidos via oral, como marcadores fecais, enquanto se utilizou o

979 óxido crômico como marcador do consumo de suplemento. No segundo experimento,
980 avaliou-se a possibilidade de substituir o dióxido de titânio pelo caulim, fornecidos via
981 suplemento, como marcadores de excreção fecal.

982

983 *Experimento 1.* Foram realizados três ensaios independentes, sendo cada um composto
984 por quatro garrotes Nelore ($223,4 \pm 5,4$ kg, $253,6 \pm 2,8$ kg e $312,0 \pm 15,8$ kg de PC médio
985 no 1º, 2º e 3º ensaio, respectivamente), que receberam 20 g de TiO_2 e 80 g de
986 caulim/animal via oral, como marcadores externos de excreção fecal e, mais 2,0 kg de
987 suplemento proteico energético (1,0 kg na parte da manhã e 1,0 kg na parte da tarde)
988 contendo 1% de óxido crômico, como marcador de consumo de matéria seca de
989 suplemento.

990 A fim de avaliar a diferença das estimativas entre diferentes horários de coleta de
991 fezes, amostras fecais de cada animal foram coletadas em dois horários (08h00min e
992 16h00min), após o que, procedeu-se à elaboração de uma amostra composta destes.

993

994 *Experimento 2.* Foram realizados três ensaios independentes, sendo cada um composto
995 por quatro garrotes Nelore ($279,1 \pm 16,7$ kg, $239,0 \pm 7,1$ kg e $271,0 \pm 2,5$ kg de PC médio
996 no 1º, 2º e 3º ensaio, respectivamente) que receberam em grupo, 2,0 kg/animal de
997 suplemento proteico energético (1,0 kg na parte da manhã e 1,0 kg na parte da tarde)
998 com a adição de TiO_2 e caulim (proporção de 1 % e 4 %, respectivamente).

999

1000 Em ambos os experimentos, cada ensaio independente teve duração de dezesseis
1001 dias cada. Sendo, nos três primeiros dias de cada ensaio ofereceu-se aos animais o

1002 pasto e o suplemento sem os marcadores, a fim de se conhecer a concentração de AI
1003 derivada da dieta (AI basal). O fornecimento dos marcados testados via sonda esofágica
1004 e/ou suplemento começou a partir do 4º dia e, para se alcançar o equilíbrio da excreção
1005 fecal, esperou-se até o 10º dia antes de iniciar-se as coletas. As coletas de fezes foram
1006 feitas entre o 11º e 16º dia.

1007

1008 *Alojamento e Dieta*

1009 Durante os ensaios, os animais ficaram alocados em uma área de 25 hectares com
1010 *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com 2.542,5 kg MS/ha de massa forrageira (8,4 %
1011 proteína bruta; 56,5 % nutrientes digestíveis totais; 65,3 % fibra em detergente neutro;
1012 35,5 % fibra em detergente ácido; 89,6 % matéria orgânica; 0,08% de AI; com base na
1013 MS), sendo manejados pelo método de pastejo contínuo. O suplemento mineral proteico-
1014 energético[®] que era fornecido aos animais, incluiu 20 % de proteína bruta e 79 % de
1015 nutrientes digestíveis totais. Contendo em sua composição milho, farelo de soja,
1016 carbonato de cálcio, sal, fosfato bicálcio micro, melaço pó, ureia, enxofre pó, óxido de
1017 magnésio, óxido de zinco, sulfato de cobre, sulfato de manganês, sulfato de cobalto,
1018 iodato de cálcio e selenito de sódio.

1019

1020 *Manejo*

1021 Ao início de cada ensaio, procedeu-se a pesagem com jejum de sólidos dos
1022 animais. Os animais eram levados ao curral duas vezes ao dia, às 08h00min e às
1023 16h00min, para serem feitas as coletas retais de fezes e o fornecimento dos marcadores
1024 por via oral e/ou via suplemento aos animais.

1025 A cada ensaio foi feita uma avaliação quantitativa e qualitativa do pasto. Foi
1026 realizada uma avaliação da disponibilidade da forragem pelo o método do “rendimento
1027 comparativo” descrito por Haydock & Shaw (1975). A fim de se estimar o valor nutricional
1028 da pastagem consumida pelos animais, realizou-se a amostragem do pasto pelo método
1029 do pastejo simulado (Euclides et al., 1992).

1030

1031 *Análises laboratoriais*

1032 O Caulim[®] (Silicate e Indústria e Comércio Ltda; Nova Campina, SP, Brasil), foi
1033 oriundo de extração e processamento de rocha do grupo sedimentar metamórfica, sendo
1034 o silicato de alumínio como principal ingrediente com 8,67 % de Al. O produto apresenta
1035 densidade de 0,8 g/cm³, pH de 6,5 com granulometria de 99,9 ≤ 0,3mm < 0,1% e 82% ≤
1036 0,075mm < 1 8%. Por ser um produto comercial e sua composição variar de acordo com
1037 a região, se faz necessário todas as avaliações físicas e químicas específicas de cada
1038 composto por estudo.

1039 As amostras de fezes, pasto e suplemento, depois de pré-secas em estufa de
1040 ventilação forçada (55 °C/72 h) foram trituradas em moinho inox com peneira de 1 mm,
1041 e posteriormente analisadas para seu conteúdo de matéria seca (MS) (método 930.15),
1042 proteína bruta (PB) (método 976.05) (AOAC, 1990), fibra em detergente neutro e em
1043 detergente ácido (FDN e FDA) (Van Soest et al., 1991). O teor de nutrientes digestíveis
1044 totais (NDT) foi estimado segundo equação determinada por Cappelle et al. (2001).

1045 A dosagem de cromo nas fezes foi realizada por espectrofotometria de absorção
1046 atômica, conforme método descrito por Silva & Queiroz (2002), e, o teor de titânio nas

1047 fezes foi mensurado por espectrofotometria colorimétrica conforme metodologia descrita
1048 por Myers et al., (2004).

1049 O teor do caulim foi quantificado indiretamente por meio da determinação do Al
1050 proveniente da substância e do teor deste elemento no caulim. No cálculo do Al oriundo
1051 do Caulim, subtraiu-se, do total de Al das fezes, o teor de Al das fezes puras antes do
1052 fornecimento do Caulim. A determinação do alumínio foi realizada por meio do
1053 procedimento analítico proposto no Artigo 2.

1054 As amostras de suplemento, forragem e fezes foram ainda quantificadas para o teor
1055 de FDNi (marcador interno, utilizado na estimativa do consumo de MS a partir da
1056 excreção fecal), segundo o método descrito por Van Soest et al., (1991). Porém, adotou-
1057 se incubação ruminal *in situ* por 240 horas, como sugerido por Orskov et al., (1980).

1058

1059 *Cálculos*

1060 A estimativa da excreção fecal (EF) foi estimada conforme descrito por Smith &
1061 Reid (1955) e o consumo de matéria seca de suplemento, de forragem e total de acordo
1062 com as equações descritas por Fernandes et al. (2012) e Ferreira et al. (2009).

1063

1064 *Análises estatísticas*

1065 Em ambos os experimentos os dados foram analisados segundo um modelo que
1066 considerou, além do efeito fixo de tratamento, os efeitos aleatórios de ensaio (3
1067 ensaios/experimento) e de animal dentro de ensaio.

1068 Para se avaliar o efeito dos horários de coletas de fezes sobre as estimativas, no
1069 experimento 1, as estimativas de excreção fecal, e consumos de MS total, da forragem

1070 e do suplemento foram comparadas a partir de um modelo que considerou, além dos
1071 efeitos fixos de hora da coleta e do marcador utilizado, os efeitos aleatórios de ensaio e
1072 de animal dentro de ensaio.

1073 Quando verificado efeito de tratamento de marcadores, os tratamentos foram
1074 comparados pelo teste de Dunnett. Utilizou-se o SAS University (SAS Institute Inc., Cary,
1075 CA, EUA) em todas as análises estatísticas. Adotou-se um nível de significância de 5%
1076 em todas as análises estatísticas.

1077

1078 **Resultados**

1079 *Experimento 1.* Não foram verificadas diferenças significativas ($P=0,798$) na
1080 determinação da excreção fecal utilizando-se os marcadores externos dióxido de titânio
1081 ou caulim (Tabela 1). Também não foi detectada diferença ($P>0,05$) entre os valores
1082 médios estimados de consumo de matéria seca de suplemento, forragem e total,
1083 utilizando-se os mesmos marcadores fecais.

1084 Quando as médias da excreção fecal ou do consumo baseadas nas coletas de
1085 fezes realizadas em diferentes horários (0800h, 1600h ou composta), foram comparadas,
1086 também não foi verificado efeito significativo ($P>0,05$) destes horários (Tabela 2).

1087

1088 *Experimento 2.* As estimadas de excreções fecais de matéria seca diferiram ($P = 0,002$)
1089 entre si, quando os marcadores caulim e dióxido de titânio foram comparados (2,70 e
1090 5,25 kg/d, respectivamente; EPM = 0,357) (Figura 1).

1091

1092 **Discussão**

1093 *Experimento 1.* O uso de dióxido de titânio apresenta grandes vantagens como marcador
1094 externo, pois além do fato de que ele é permitido legalmente ser adicionado ao alimento,
1095 é um pó com coloração branca sem odor ou sabor, não influenciando o consumo do
1096 suplemento quando fornecido aos animais (Myers et al. 2004). Souza et al. (2015),
1097 Ferreira et al. (2009), Marcondes et al. (2008), Myers et al. (2004) e Titgemeyer et al.
1098 (2001) também concluíram que este marcador é eficaz e sua estimativa de excreção
1099 fecal não apresenta diferença significativa, quando comparado à coleta total de fezes.
1100 Concluindo ser um marcador eficiente, que apresenta resultados consistentes, tornando
1101 válido os resultados obtidos para comparação (Tabela 1).

1102 Partindo dessa premissa, os resultados mostraram semelhança das estimativas de
1103 excreção fecal e consumos de matérias seca feitas a partir do uso do caulim (Tabela 1).
1104 Pode-se inferir que este marcador estudo é adequado para estimar avaliações
1105 nutricionais de bovinos em sistema de pastejo, se apresentando como uma nova
1106 alternativa como marcador fecal igualmente o dióxido de titânio.

1107 Por outro lado, os marcadores podem apresentar variações nas concentrações
1108 fecais devido a sua administração aos animais, devido a manejos rigorosos que exigem
1109 levar os animais ao curral duas ou mais vezes por dia. Assim, o estudo tem possibilitado
1110 ajustes nas coletas (uma vez ao dia) e análises (vício de amostragem e procedimentos
1111 laboratoriais), melhorando a precisão das técnicas para estimativas de consumo de
1112 matéria seca (Tabela 2).

1113 Diversos estudos (Oliveira et al., 2004; Detmann et al., 2001) corroboram o aqui
1114 observado (que uma única coleta de fezes por dia, apresenta resultados coerentes com
1115 os valores observados ao se trabalhar com amostras compostas de coletas em vários

1116 horários). Isto abre a possibilidade de se diminuir a mão de obra, facilitar o manejo e
1117 reduzir o estresse dos animais durante o período de experimento de digestibilidade.

1118 Diante desse cenário, o Caulim, além de apresentar resultados semelhantes ao
1119 marcador utilizado mundialmente, apresenta menor custo, tornando-o uma alternativa
1120 viável para os estudos de digestibilidade de animais a pasto.

1121 Outras vantagens do uso do Caulim como marcador se dão ao fato de ser inerte e
1122 composto natural, não sendo prejudicial ao animal e saúde humana (Trckova et al.,
1123 2009).

1124 *Experimento 2.* Segundo Owens & Hanson (1992), na administração de marcadores via
1125 suplemento existe grande variabilidade na sua concentração nas fezes. Isto pode ser
1126 devido às variações no consumo diário do suplemento. As variações no consumo de
1127 suplemento (devido a estresse, dominância hierárquica, etc...), afetam diretamente o
1128 consumo do marcador misturado a este suplemento, alterando assim a excreção fecal
1129 destes marcadores, e as estimativas de excreção e consumo daí derivadas. Podendo
1130 confirmar os dados observados por meio da diferença entre as estimativas de excreções
1131 fecais entre os marcadores avaliados (Figura 1).

1132 Diferente dos dados obtidos, Ribeiro et al. (2018) observaram que o fornecimento
1133 do caulim como marcador fecal, por meio do suplemento de bovinos, segundo resulta
1134 em estimativas semelhantes aos valores reais (coleta total). Concluindo-se que a
1135 substância além das características apresentadas, possui grande potencial de ser
1136 fornecido por meio da alimentação, não havendo a necessidade de manejo rigoroso com
1137 consequências negativas sobre o comportamento ingestivo dos animais.

1138 Diante disso, o que se aplica nos resultados obtidos (Figura 1) que poderia explicar
1139 esta maior variação nas estimativas, segundo Rodrigues et al. (2010) seriam as perdas
1140 que podem ocorrer por adesão no cocho ou durante a mastigação, levando a uma
1141 ingestão dos marcadores menor que a esperada. O que pode ser explicado no presente
1142 estudo, pois observou-se a presença de resíduos brancos no cocho após o consumo de
1143 suplementos adicionados com dióxido de titânio e com caulim, no estudo. Neste caso,
1144 possivelmente uma recuperação incompleta do marcador caulim pode ter levado a estes
1145 resultados divergentes (Figura 1).

1146

1147 **Referências**

- 1148 AOAC 1990). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical
1149 Chemists. The Association of official analytical chemists. 15 ed. Arlington, VA, USA.
- 1150 Berchielli TT, García AV, Oliveira SG 2011. Principais técnicas de avaliação aplicadas
1151 em estudo de nutrição. In Nutrição de ruminantes (2 ed. Berchielli TT, Garcia AV,
1152 Oliveira SG), pp. 415-436. Funep, Jaboticabal, BRA.
- 1153 Cappelle ER, Silva JFC, Cecon PR 2001. Estimativas do Valor Energético a partir de
1154 Características Químicas e Bromatológicas dos Alimentos. Rev. Bras. Zoot. V. 30,
1155 pp. 1837-1856.
- 1156 Carvalho PCF, Kozloski GV, Ribeiro Filho HMN, Reffatti MV, Genro TCM, Euclides VPB
1157 2007. Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em
1158 pastejo. Revista Brasileira de Zootecnia. V. 36, pp. 51-170.
- 1159 Detmann E, Valadares Filho SC, Paulino MF 2004. Avaliação da técnica de marcadores
1160 na estimação do consumo por ruminantes em pastejo. Cad. Tec. Vet. Zootec. V.46,
1161 pp. 40-47.
- 1162 Detmann E, Cecon PR, Paulino MF, Zervoudakis JT, Valadares Filho SC, Araújo, CV
1163 2001. Estimação de parâmetros da cinética de trânsito de partículas em bovinos
1164 sob pastejo por diferentes sequências amostrais. Revista Brasileira de Zootecnia.
1165 V. 30, p. 222-230,

- 1166 Euclides VPB, Macedo MCM, Oliveira MP 1992. Avaliação de diferentes métodos de
1167 amostragem para se estimar o valor nutritivo de forragens sob pastejo. Revista
1168 Brasileira de Zootecnia. V.21, pp.691-702.
- 1169 FASS. 2010. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research
1170 and Teaching. (ed.3 Federation of Animal Science Societies). Savoy, IL, EUA.
- 1171 Fernandes HJ, Paulino MF, Detmann E 2012. Avaliação nutricional, durante a
1172 amamentação de tourinhos em pastejo recebendo suplementação proteica da
1173 amamentação à terminação. Revista Brasileira de Zootecnia. V. 41, pp. 374-383.
- 1174 Ferreira MA, Inácio M, Marcondes MLP, Paulino MF, Valadares RFD 2009. Avaliação de
1175 marcadores em estudos com ruminantes: digestibilidade', Revista Brasileira de
1176 Zootecnia. V. 38, pp. 1568-1573.
- 1177 Haydock KP, Shaw NH 1975. The comparative yield method for estimating dry matter
1178 yield of pasture. Aust. J. Agri. Anim. Husb. V.15, pp.663- 6670.
- 1179 Marcondes MI, Valadares Filho SC, Paulino PVR, Detmann E, Paulino MF, Diniz LL,
1180 Santos TR 2008. Consumo e desempenho de animais alimentados individualmente
1181 ou em grupo e características de carcaça de animais Nelore de três classes
1182 sexuais. Revista Brasileira de Zootecnia. V.37, pp. 2243-2250.
- 1183 Myers WD, Ludden PA, Nayigihugu, V, Hess BW 2004. Technical Note: A procedure for
1184 the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. Journal of
1185 Animal Science. V. 82, pp. 179-183.
- 1186 Oliveira LOF, Saliba OS, Amaral TB, Oliveira A 2004. Avaliação de diferentes períodos
1187 de oferecimento de óxido crômico como marcador externo nas estimativas de
1188 consumo para bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE
1189 ZOOTECNIA, V. 14., 2004. Campo Grande. Anais... Campo Grande: Sociedade
1190 Brasileira de Zootecnia. 1 CD-ROM.
- 1191 Orskov ER, Deb Hovell FD, Mould F 1980. The use of the nylon bag technique for the
1192 evaluation of feedstuffs. Trop Anim Prod. V.5, pp.195-213.
- 1193 Owens FN, Hanson CF 1992. External and internal markers for appraising site and extent
1194 of digestion in ruminants. Journal Dairy Science. v. 75, pp. 2605-2617.

- 1195 Smith AM, Reid JT 1955. Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the
1196 purpose of determining the intake of a pasture herbage by grazing cows. *Journal of*
1197 *Dairy Science*. V. 38, pp. 515-524.
- 1198 Souza J, Batistel F, Welter KC, Silva MM, Costa DF, Santos, FAP 2015. Evaluation of
1199 external markers to estimate fecal excretion, intake, and digestibility in dairy cows.
1200 *Tropical animal health and production*. V. 47, pp. 265-268.
- 1201 Titgemeyer EC, Armendariz CK, Bindel DJ 2001. Evaluation of titanium dioxide as a
1202 digestibility marker for cattle. *Journal of Animal Science*. V. 79, pp. 1059-1063.
- 1203 Titgemeyer EC 1997. Design and interpretation of nutrient digestion studies. *Journal of*
1204 *Animal Science*. V. 75, pp. 2235-2247.
- 1205 Trckova M, Vondruskova H, Zraly Z, Alexa P, Hamrik J, Kummer V, Maskova J, Mrlik V,
1206 Krizova K, Slana I, Leva L, Pavlik I 2009. The effect of kaolin feeding on efficiency,
1207 health status and course of diarrhoeal infections caused by enterotoxigenic
1208 *Escherichia coli* strains in weaned piglets. *Veterinarni Medicina*. V. 54, pp. 47-63.
- 1209 Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA 1991. Methods for dietary fiber, neutral
1210 detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition.
1211 *Journal Dairy Science*. V. 74, pp. 3583-3597.

1212

Tabelas

1213 Tabela 1. Utilização do caulim ou do dióxido de titânio para a estimativa de excreção
 1214 fecal e do consumo de matéria seca de garrotes nelore em pastejo

| Item | Marcador externo | | | Valor – <i>p</i> |
|----------------------|------------------|--------|--------|------------------|
| | TiO ₂ | Caulim | EPM* | |
| Excreção fecal, kg/d | 4,0188 | 4,1031 | 0,2322 | 0,7976 |
| CFO, kg/d | 6,6796 | 6,8775 | 0,4009 | 0,6930 |
| CSUP, kg/d | 0,6698 | 0,6741 | 0,0561 | 0,9258 |
| CMS, kg/d | 7,3494 | 7,5516 | 0,4346 | 0,7098 |

1215 *EPM: Erro padrão médio.

1216 CFO: Consumo de forragem utilizando FDNi como marcador interno;

1217 CSUP: Consumo de matéria seca de suplemento;

1218 CMS: Consumo de matéria seca total utilizando FDNi como marcador interno.

1219 Tabela 2. Utilização de amostras de fezes coletadas em diferentes horários ou da
 1220 amostra composta destas na estimativa da excreção fecal e do consumo de matéria seca
 1221 em garrotes Nelore em pastejo

| Item | Horas de coleta de fezes | | | EPM* | Valor - <i>P</i> |
|----------------------|--------------------------|----------|----------|--------|------------------|
| | 08h00min | 16h00min | Composta | | |
| Excreção fecal, kg/d | 3,8322 | 4,0251 | 4,0610 | 0,2256 | 0,3930 |
| CFO, kg/d | 6,4077 | 6,7355 | 6,7786 | 0,4429 | 0,4012 |
| CSUP, kg/d | 0,6719 | 0,6640 | 0,6720 | 0,0483 | 0,9547 |
| CMS, kg/d | 7,0797 | 7,3995 | 7,4505 | 0,4796 | 0,4610 |

1222 *EPM: Erro padrão médio.

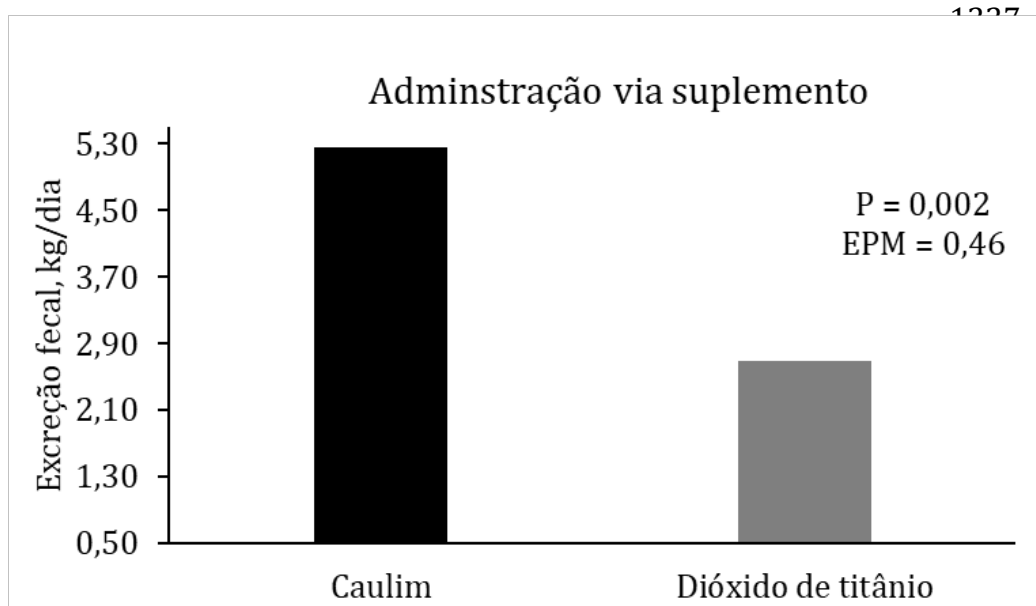
1223 CFO: Consumo de forragem utilizando FDNi como marcador interno;

1224 CSUP: Consumo de matéria seca de suplemento;

1225 CMS: Consumo de matéria seca total utilizando FDNi como marcador interno.

1226

Figura



1236 Figura 1. Médias dos quadrados mínimos da excreção fecal (kg/d) estimada a partir do
1237 dióxido de titânio e do caulim, administrados via suplemento de garrotes Nelore em
1238 pastejo.

1239 Capítulo 4. Capítulo redigido conforme as normas da revista *Animal*

1240 **Caulim como marcador de consumo de suplemento de bovinos em pastejo**

1241 Título curto: Caulim como marcador de digestão de bovinos

1242

1243 **Resumo**

1244 Foram realizados dois experimentos simultâneos para avaliar a substituição do LIPE®
1245 como estimador da excreção fecal, e do óxido crômico como estimador do consumo de
1246 suplemento por Caulim (Exp. 1) e dióxido de titânio (Exp. 2). Foram utilizados doze
1247 garrotes Nelore (4 garrotes/tratamento; $233 \pm 6,2$ kg de PC). Os animais foram
1248 distribuídos em um delineamento de quatro quadrados latinos 3 x 3 simultâneos. No
1249 modelo, considerou-se o efeito fixo de tratamento, e os efeitos aleatórios de animal
1250 (dentro de cada QL), período e de quadrado latino. Quando verificado efeito de
1251 tratamento, os tratamentos de substituição foram comparados com o tratamento controle
1252 pelo teste de Dunnett. Adotou-se um nível de significância de 5% em todas as análises.
1253 Foi estimada a regressão linear dos dados observados pelos dados preditos por cada
1254 tratamento e avaliados o coeficiente de determinação e o teste F simultâneo para
1255 identidade dos parâmetros. Outros critérios utilizados foram o coeficiente de correlação
1256 e concordância, a raiz quadrada do quadrado médio do erro da predição e a partição do
1257 quadrado médio do erro de predição em vício médio, vício sistemático e erro aleatório.
1258 Todos os cálculos das estatísticas de avaliação foram realizados utilizando-se o MES.
1259 Observou-se valores médios semelhantes de excreção fecal ($P \geq 0,05$) quando
1260 comparadas as médias entre as estimativas pela LIPE® vs. caulim e LIPE vs. TiO_2 . Não
1261 houve efeito ($P \geq 0,05$) no consumo de matéria seca de suplemento, forragem e total
1262 entre os marcadores (caulim vs. Cr_2O_3 e TiO_2 vs. Cr_2O_3). Observou-se que as estimativas
1263 por meio do TiO_2 apresentaram dados menos dispersos e maior CCC ($R^2 = 0,54$ e $0,32$;
1264 $CCC = 0,74$ e $0,62$, respectivamente), maior valor do quadrado médio do erro de predição
1265 observado na estimativa pelo caulim (RQMEP = 40,5) quando comparado ao TiO_2
1266 (RQMEP = 30,4). As estimativas pelo Caulim apresentam menor erro aleatório (82,5 %)
1267 comparado ao TiO_2 . (98,9 %), com maior possibilidade de correções aditivas e
1268 multiplicativas do modelo, respectivamente, possibilitando alcançar resultados de

1269 consumo de suplemento mais consistentes a partir das estimativas realizadas pelo
1270 marcador. Concluiu-se que os marcadores externos caulim e TiO_2 , foram capazes de
1271 estimarem a excreção fecal e os consumos de matéria seca de bovinos de corte a pasto.
1272

1273 **Palavras-chave:** Dióxido de titânio, Excreção fecal, Ingestão diária

1274

1275 **Introdução**

1276 Animais em regime de pastejo podem ter avaliações nutricionais estimadas
1277 separadamente mediante a técnica de associação de marcadores de consumo
1278 (Titgemeyer et al., 1997; Cochran et al., 1986). Essa técnica é realizada por meio do
1279 fornecimento de três marcadores diferentes ao animal, ou seja, a administração de um
1280 marcador externo via oral afim de estimar a excreção fecal, um segundo marcador
1281 externo via suplemento para a estimativa do consumo de suplemento, e por fim, um
1282 marcador interno para estimar diretamente o consumo de forragem.

1283 Por outro lado, como todos os marcadores em estudos ainda apresentam limitações
1284 (Wang et al., 2017; Saliba et al., 2015; Rodrigues et al., 2010), a busca por novas
1285 substâncias que apresentem propriedades favoráveis se justifica. Como alternativa
1286 destaca-se o caulim, possível marcador externo para estimar o consumo, pois trata-se
1287 de um elemento cujas características evidenciam possibilidade de uso, sendo um mineral
1288 inerte, de ampla faixa de pH (3 a 9), fácil dispersão, baixa condutividade térmica e
1289 elétrica, pouca abrasividade, baixo custo (Trkova et al., 2009; Luz et al. 2008).

1290 Outras características favoráveis ao uso dessa substância, se dá pelo fato de o
1291 Brasil deter aproximadamente 28% das reservas mundiais de caulim, demonstra a
1292 facilidade de obtenção o que o torna candidato para servir de marcador coletivo de

1293 consumo, ou seja, apresenta baixo custo e, por ser utilizado como composto inerte por
1294 algumas empresas para “preencher” formulações de dietas para animais, requer assim,
1295 manejo de administração menos rigoroso. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar
1296 o uso de caulim e dióxido de titânio para estimativa de excreção fecal e consumo de
1297 matéria seca de suplemento de garrotes Nelore em pastejo.

1298

1299 **Material e métodos**

1300 Todos as análises químicas de laboratórios foram diligentemente realizadas
1301 conforme as normas de segurança do Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Gado
1302 de Corte. Manejo e cuidado dos animais para os experimentos foram realizados de
1303 acordo com o Guia para o Cuidado e Uso de Animais Agrícolas em Pesquisa e Ensino
1304 (FASS, 2010). Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de ética no uso de
1305 animais da EMBRAPA Pantanal, Corumbá, MS, Brasil, No. 15/2017.

1306

1307 *Animais, dieta e manejo*

1308 Realizou-se dois experimentos simultâneos afim de avaliar o uso do Caulim (*Exp.*
1309 *1*) e dióxido de titânio (*Exp.* *2*) como substitutos ao LIPE® para estimativa de excreção
1310 fecal e ao óxido crômico para estimativa do consumo de matéria seca (MS) do
1311 suplemento, na estimação da excreção fecal e do consumo de matéria seca total de
1312 garrotes Nelore em pastejo.

1313 Para isso foram utilizados doze garrotes Nelore (4 garrotes/tratamento; 360 dias de
1314 idade; $233 \pm 6,2$ kg e $277 \pm 6,8$ kg de PC inicial e final, respectivamente), sendo
1315 distribuídos em um delineamento de quatro quadrados latinos (3x3) simultâneos.

1316 No tratamento 1, os animais receberam 500 mg/dia de LIPE® via oral, como
1317 marcador de excreção fecal e, mais 2,0 kg de suplemento concentrado (1,0 kg na parte
1318 da manhã e 1,0 kg na parte da tarde) contendo Caulim e dióxido de titânio, nas
1319 proporções de 4 e 1% respectivamente, como marcadores de consumo de matéria seca
1320 de suplemento. No tratamento 2, os animais receberam 500 mg/animal de LIPE®
1321 fornecida via oral, como marcador de excreção fecal e, mais 2,0 kg de suplemento
1322 concentrado (1,0 kg na parte da manhã e 1,0 kg na parte da tarde) contendo 1% de óxido
1323 crômico, como marcador de consumo de matéria seca de suplemento. Por fim, no
1324 tratamento 3, os animais receberam 80 g de Caulim e 20 g de dióxido de titânio via oral,
1325 como marcadores de excreção fecal e, mais 2,0 kg de suplemento concentrado (1,0 kg
1326 na parte da manhã e 1,0 kg na parte da tarde) contendo 1% de óxido crômico, como
1327 marcador de consumo de matéria seca de suplemento.

1328 Foram avaliados três períodos experimentais, com duração de dezesseis dias de
1329 coleta de dados, cada. Nos três primeiros dias de cada ensaio ofereceu-se aos animais
1330 o pasto e o suplemento sem os marcadores, a fim de se conhecer a concentração de Al
1331 derivada da dieta (Al basal). O fornecimento dos marcados testados via sonda esofágica
1332 e/ou suplemento começou a partir do 4º dia e, para se alcançar o equilíbrio da excreção
1333 fecal, esperou-se até o 10º dia antes de iniciar-se as coletas. As coletas de fezes foram
1334 feitas entre o 11º e 16º dia.

1335

1336 *Alojamento e Dieta*

1337 Durante os períodos, os animais ficaram alocados em uma área de 25 hectares
1338 com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com 2.542,5 kg MS/ha de massa forrageira (8,4

1339 % proteína bruta; 56,5 % nutrientes digestíveis totais; 65,3 % fibra em detergente neutro;
1340 35,5 % fibra em detergente ácido; 89,6 % matéria orgânica; 0,08% de AI; com base na
1341 MS), sendo manejados pelo método de pastejo contínuo. O suplemento mineral proteico-
1342 energético[®] que era fornecido aos animais, incluiu 20 % de proteína bruta e 79 % de
1343 nutrientes digestíveis totais. Contendo em sua composição milho, farelo de soja,
1344 carbonato de cálcio, sal, fosfato bicálcio micro, melação pó, ureia, enxofre pó, óxido de
1345 magnésio, óxido de zinco, sulfato de cobre, sulfato de manganês, sulfato de cobalto,
1346 iodato de cálcio e selenito de sódio.

1347

1348 *Manejo*

1349 Ao início de cada período, procedeu-se a pesagem com jejum de sólidos dos
1350 animais. Os animais eram levados ao curral duas vezes ao dia, às 08h00min e às
1351 16h00min, para serem feitas as coletas retais de fezes e o fornecimento dos marcadores
1352 por via oral e/ou via suplemento aos animais.

1353 A cada período foi feita uma avaliação quantitativa e qualitativa do pasto. Foi
1354 realizada uma avaliação da disponibilidade da forragem pelo o método do “rendimento
1355 comparativo” descrito por Haydock & Shaw (1975). A fim de se estimar o valor nutricional
1356 da pastagem consumida pelos animais, realizou-se a amostragem do pasto pelo método
1357 do pastejo simulado (Euclides et al., 1992).

1358

1359 *Análises laboratoriais*

1360 O Caulim[®] (Silicate e Indústria e Comércio Ltda; Nova Campina, SP, Brasil), foi
1361 oriundo de extração e processamento de rocha do grupo sedimentar metamórfica, sendo

1362 o silicato de alumínio como principal ingrediente com 8,67 % de Al. O produto apresenta
1363 densidade de 0,8 g/cm³, pH de 6,5 com granulometria de 99,9 ≤ 0,3mm < 0,1% e 82% ≤
1364 0,075mm < 1 8%. Por ser um produto comercial e sua composição variar de acordo com
1365 a região, se faz necessário todas as avaliações físicas e químicas específicas de cada
1366 composto por estudo.

1367 Amostras de fezes, pasto e suplemento, depois de pré-secas em estufa de
1368 ventilação forçada (55 °C/72 h) foram trituradas em moinho inox com peneira de 1 mm.
1369 A concentração da LIPE® nas fezes foi realizada por Espectrofotômetro Infravermelho
1370 FTIV pelo Laboratório de Nutrição Animal de Minas Gerais, de acordo com Saliba et al.,
1371 (2015). A dosagem de cromo nas fezes foi realizada por espectrofotometria de absorção
1372 atômica, conforme método descrito por Silva & Queiroz (2002), e, o teor de titânio nas
1373 fezes foi mensurado por espectrofotometria colorimétrica conforme metodologia descrita
1374 por Myers et al., (2004).

1375 O teor do caulim foi quantificado indiretamente por meio da determinação do Al
1376 proveniente da substância, corrigindo os resultados finais extraindo-se o Al da
1377 concentração das fezes puras (Al original da dieta). A determinação do alumínio foi
1378 realizada por meio do procedimento analítico proposto no artigo anterior (**Artigo 2**).
1379 Podendo ser calculado pela seguinte Equação [1].

$$1380 \text{ Al.caulim, mg/kg} = \text{Al.total} - \text{Al.basal} \quad \text{Eq. [1]}$$

1381 Onde, Al.caulim é a concentração de Al proveniente do caulim, mg/kg; Al.total é a
1382 concentração de Al proveniente do caulim + Al presente nas fezes puras, mg/kg; Al.basal
1383 é a concentração de Al presente nas fezes puras, mg/kg.

1384 Quanto a determinação do marcador interno FDNi, as amostras de suplemento,
 1385 forragem e fezes foram quantificadas segundo o método descrito por Van Soest et al.,
 1386 (1991). Porém, adotou-se incubação ruminal *in situ* por 240 horas, como sugerido por
 1387 Orskov et al., (1980).

1388 Por fim, a estimativa da excreção fecal (EF) foi obtida conforme descrito por Smith
 1389 & Reid (1955), de acordo com Equação [2].

$$1390 \text{ EF (kg/d) = } \{ [ME_{\text{oferta}} * (ME_{\text{conc}}/1000)] / ME_{\text{fezes}} \} \quad \text{Eq. [2]}$$

1391 Onde, ME_{oferta} é a quantidade diária de marcador externo oferecido ao animal (g/d),
 1392 ME_{conc} é a concentração do marcador externo oferecido (g/kg) e ME_{fezes} é a concentração
 1393 do marcador externo nas fezes (g/kg).

1394

1395 O consumo de matéria seca de suplemento (CSUP) foi estimado segundo a
 1396 Equação [3].

$$1397 \text{ CSUP (kg/d) = } [(EF * ME_{\text{fezes}}) / ME_{\text{supl}}] \quad \text{Eq. [3]}$$

1398 Onde, EF é a excreção fecal (kg/d), ME_{fezes} é a concentração do marcador externo
 1399 nas fezes (kg/d) e ME_{supl} é a concentração do marcador externo no suplemento (kg/kg).

1400

1401 As estimativas do consumo de matéria seca total (CMS) e de forragem (CFO) foram
 1402 obtidas de acordo com as Equações [4] e [5].

$$1403 \text{ CMS (kg/d) = } \{ [(EF * MI_{\text{fezes}}) - (CSUP * MI_{\text{supl}})] / MI_{\text{forr}} \} + CSUP \quad \text{Eq. [4]}$$

$$1404 \text{ CFO (kg/d) = } [(CMS) - (CSUP)] \quad \text{Eq. [5]}$$

1405 Onde, EF é a excreção fecal (kg/d), MI_{fezes} é a concentração do marcador interno
 1406 nas fezes (kg/kg), CSUP é o consumo de matéria seca de suplemento (kg/d), MI_{supl} é a

1407 concentração do marcador interno no suplemento (kg/kg), MI_{forr} é a concentração do
1408 marcador interno na forragem (kg/kg).

1409

1410 *Análises estatísticas*

1411 No modelo, considerou-se o efeito fixo de tratamento, e os efeitos aleatórios de
1412 animal (dentro de cada QL), período e de quadrado latino. Quando verificado efeito de
1413 tratamento de marcadores, os tratamentos foram comparados pelo teste de Dunnett.
1414 Utilizou-se o SAS University (SAS Institute Inc., Cary, CA, EUA) em todas as análises
1415 estatísticas.

1416 A avaliação da adequação dos resultados de predição foi realizada como sugerido
1417 por Tedeschi (2006). Foi estimada a regressão linear dos dados observados (Dioxido de
1418 Titânio ou Caulim) pelos dados preditos (Óxido Cromico ou LiPE) por cada tratamento e
1419 avaliados o coeficiente de determinação (R^2) e o teste F simultâneo para identidade dos
1420 parâmetros ($\beta_0 = 0$ e $\beta_1 = 1$). Outros critérios utilizados foram o coeficiente de correlação
1421 e concordância (CCC), a raiz quadrada do quadrado médio do erro da predição (RQMEP)
1422 e a partição do quadrado médio do erro de predição em vício médio, vício sistemático e
1423 erro aleatório. Todos os cálculos das estatísticas de avaliação foram realizados
1424 utilizando-se o MES – Model Evaluation System
1425 (<http://nutritionmodels.tamu.edu/mes.htm>, College Station, TX, USA; Tedeschi, 2006).

1426 Adotou-se um nível de significância de 5% em todas as análises estatísticas.

1427

1428 **Resultados**

1429 Os resultados comprovam disponibilidade média de massa forrageira oferecida aos
1430 animais do presente estudo (2454,0 kg MS/ha), suficiente para se manter um ótimo
1431 desempenho para bovinos de corte, não interferindo nos resultados obtidos das
1432 avaliações nutricionais dos animais (Tabela 1).

1433 Observou-se valores médios semelhantes de excreção fecal ($P = 0,8992$), e
1434 consumos de MS quando comparadas as médias das estimativas pelo uso do LIPE® e
1435 do Caulim fornecidos via oral (Tabela 2).

1436 Não houve também diferenças ($P \geq 0,05$) na estimativa do consumo de MS de
1437 suplemento, forragem e total quando o Caulim substituiu o Cr_2O_3 como marcador de
1438 consumo de suplemento.

1439 Semelhantemente, o marcador externo dióxido de titânio não apresentou diferença
1440 significativa ($P = 0,9016$) na estimativa de excreção fecal, quando comparadas as médias
1441 com os valores observados pela LIPE®, sendo que a média foi de 4,02 kg de fezes
1442 diariamente (Tabela 3).

1443 Não foi observado diferença ($P \geq 0,05$) no consumo de matéria seca total,
1444 suplemento e forragem entre os marcadores (TiO_2 vs, Cr_2O_3) (Tabela 3). Sendo o
1445 consumo médio de MS total representando cerca de 2,94 % do peso corporal médio dos
1446 animais sob suplementação durante o ensaio de avaliação nutricional.

1447 A partir dos resultados de consumo de matéria seca de suplemento obtidos nos
1448 dois estudos (Caulim vs. Cr_2O_3 e TiO_2 vs. Cr_2O_3 , respectivamente), não foi observado
1449 diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 4). No entanto, observou-se que as
1450 estimativas por meio do TiO_2 apresentaram dados menos dispersos e maior CCC,
1451 indicando maior acurácia e precisão quando comparado ao Caulim.

1452 O maior valor do quadrado médio do erro de predição observado na estimativa pelo
1453 caulim (RQMEP = 40,5) quando comparado ao TiO_2 (RQMEP = 30,4), indica baixa
1454 precisão nos resultados (Tabela 4). Ao avaliar o erro de predição desses estudos,
1455 utilizando RQMEP dividido pelo consumo de suplemento médio observado dos
1456 respectivos estudos, verifica-se que o menor erro de predição (43,2 %) ocorreu com o
1457 uso do TiO_2 .

1458 A decomposição do RQMEP em vício médio, sistemático e erro aleatório permitem
1459 constatar que as estimativas pelo TiO_2 e Caulim apresentaram um somatório de 1,04 %
1460 e 17,5 %, respectivamente (Tabela 4). Por outro lado, as estimativas pelo Caulim
1461 apresentam menor erro aleatório comparado ao TiO_2 com maior possibilidade de
1462 correções aditivas e multiplicativas do modelo, respectivamente, possibilitando alcançar
1463 resultados de consumo de suplemento mais consistentes a partir das estimativas
1464 realizadas pelo marcador.

1465

1466 **Discussão**

1467 A lignina isolada purificada e enriquecida (LIPE[®]) e óxido crômico (Cr_2O_3) são
1468 utilizados como substâncias referências para marcação de excreção fecal e de consumo
1469 de suplemento para animais em pastejo (Ribeiro et al., 2018; Saliba et al., 2015;
1470 Fernandes et al., 2012; Rodrigues et al., 2010; Ferreira et al., 2009).

1471 Com isso, como os resultados obtidos pelo caulim não diferiram dos observados,
1472 comprova-se ser um bom marcador de excreção fecal, com a vantagem de apresentar
1473 baixo custo, fácil administração, podendo ser fornecido individualmente e/ou adicionado

1474 à dieta, além de fácil análise, possibilitando repetição de dados quando necessário
1475 (Tabela 2).

1476 Outro ponto importante, segundo Trckova et al. (2009) se dá que o uso de caulim é
1477 considerado um medicamento para prevenir uma série de materiais tóxicos, não apenas
1478 no meio ambiente, mas também nos organismos vivos. Pois, quando adicionado às
1479 dietas de animais, reduz a reabsorção de toxinas nocivas presentes na alimentação
1480 através da mucosa intestinal para o organismo, porque as liga firmemente e
1481 seletivamente e, assim, elimina seus efeitos tóxicos.

1482 Os resultados de estimativa do consumo de suplemento obtidos com o uso do
1483 marcador Cr_2O_3 (Tabela 2) confirmam os verificados por Ribeiro et al. (2018), Ferreira et
1484 al. (2009), Titgemeyer et al. (1997) e Smith & Reid (1955) ao demonstraram que esse
1485 marcador, pode ser utilizado em estudos de consumo de bovinos, comprovando ser um
1486 bom marcador, com a vantagem de ser de baixo custo, fácil administração e de fácil
1487 análise. Além disso, sua utilização está relacionada a facilidade de incorporação à dieta,
1488 procedimentos analíticos simples, estimativas satisfatórias do consumo de matéria seca
1489 de bovinos a pasto, além de permitir a administração por meio da suplementação,
1490 facilitando o manejo e diminuindo o estresse causado nos animais (Rodrigues et al.,
1491 2010; Morenz et al., 2006; Willians et al., 1962).

1492 No entanto, mesmo sendo incerto que o Cr_2O_3 é considerado um composto
1493 cancerígeno, o fato é que esta substância necessita ser encaminhada a um laboratório
1494 e, para que seja quantificado é preciso um processo de digestão ácida das amostras.
1495 Com isso, o Cr_2O_3 é oxidado e transformado em Cr_2O_6 (Souza et al., 2012; Silva &
1496 Queiroz, 2002). Este composto formado após a digestão é considerado 100 vezes mais

1497 tóxico que o Cr (III), assim a exposição ocupacional a altas gerar diversos problemas
1498 respiratórios, tornando-se um grande risco para causar câncer de pulmão (Wang et al.,
1499 2017).

1500 Sobre o consumo médio de matéria seca estimado para os animais (Tabela 2 e 3),
1501 esses resultados podem estar associados à disponibilidade de forrageira com alto valor
1502 nutritivo encontrados na dieta oferecida aos animais. Segundo Horn et al. (1979) o
1503 consumo é influenciado positivamente, quando está associado com alta digestibilidade
1504 de forragem, baixo teor de lignina, alto teor de proteína bruta e médio de FDN, na dieta
1505 total oferecida aos animais. Outros fatores importantes são os fatos desses animais
1506 estarem recebendo um suplemento múltiplo e terem sido amansados e adaptados ao
1507 manuseio um mês antes do início dos experimentos, reduzindo o efeito do estresse de
1508 manejo sobre o comportamento ingestivo do animal.

1509 O uso de TiO_2 apresenta grandes vantagens sobre o Cr_2O_3 , pois além do fato de
1510 que ele é permitido legalmente ser adicionado ao alimento, é um pó com coloração
1511 branca sem odor ou sabor, não influenciando o consumo do mesmo quando fornecido
1512 aos animais por meio da suplementação (Myers et al. 2004). Portanto, os resultados de
1513 excreção fecal e os consumos de matéria seca deste estudo mostra que,
1514 independentemente do tipo de marcador, todas as substâncias avaliadas possuem a
1515 capacidade para estimarem o consumo individual de matéria seca de forragem e
1516 suplemento e que a escolha dependerá da disponibilidade do marcador, valor, condições
1517 do laboratório para as análises (Tabela 3).

1518 O marcador externo TiO_2 é insolúvel em água, de coloração branca, sem odor ou
1519 sabor (Cavalcanti et al., 2013). Este pode ser utilizado como substituto do óxido crômico,

1520 não é afetado pelas diferentes condições de alimentação e não apresenta limitação
1521 quanto a sua inclusão na dieta animal (Sampaio et al., 2011). Apresenta como vantagem
1522 a inexistência de propriedades carcinogênicas (Cavalcanti et al., 2013).

1523 Em estudos com novilhos, Titgemeyer et al. (2001) também indicaram a
1524 possibilidade de uso desta substância para bovinos. Uma das principais limitações
1525 encontra-se na escolha da técnica para determinação do marcador que deve apresentar
1526 resultados quantitativos precisos e não apenas qualitativos (Cavalcanti et al., 2013).

1527 Semelhantemente ao dióxido de titânio, o caulim apresenta características que o
1528 evidenciam como potencial marcador externo em estudos de consumo e digestibilidade,
1529 como ser inerte em ampla faixa de pH, fácil dispersão, baixa condutividade térmica e
1530 elétrica, pouca abrasividade, baixo custo e boa resistência ao ataque químico por ácidos
1531 ou álcalis. Para a mensuração da substância via fezes, é preciso determinar a
1532 concentração de algum de seus elementos, ou seja, pelo fato do Al de estar presente
1533 nas forrageiras em concentração muito pequena, e metodologia analítica mais prática,
1534 leva a acreditar que este elemento é a escolha mais coerente.

1535

1536 **Referências**

1537 Cochran RC, Adams DC, Wallace JD, Galyean ML 1986. Predicting digestibility of
1538 different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. Journal
1539 Animal Science. V. 63, pp. 1476-1483.

1540 Euclides VPB, Macedo MCM, Oliveira MP 1992. Avaliação de diferentes métodos de
1541 amostragem para se estimar o valor nutritivo de forragens sob pastejo. Revista
1542 Brasileira de Zootecnia. V.21, pp.691-702.

1543 FASS. 2010. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research
1544 and Teaching. (ed.3 Federation of Animal Science Societies). Savoy, IL, EUA.

- 1545 Fernandes HJ, Paulino MF, Detmann E 2012. Avaliação nutricional, durante a
1546 amamentação de tourinhos em pastejo recebendo suplementação proteica da
1547 amamentação à terminação. *Revista Brasileira de Zootecnia*. V. 41, pp. 374-383.
- 1548 Ferreira MA, Inácio M, Marcondes MLP, Paulino MF, Valadares RFD 2009. Avaliação de
1549 marcadores em estudos com ruminantes: digestibilidade', *Revista Brasileira de*
1550 *Zootecnia*. V. 38, pp. 1568-1573.
- 1551 Glindemann T, Tas BM Wang, C Alvers S, Susenbeth A 2009. Evaluation of titanium
1552 dioxide as an inert marker for estimating faecal excretion in grazing sheep. *Anim. Feed*
1553 *Sci. Technol*. V. 152, pp. 186–197.
- 1554 Haydock KP, Shaw NH 1975. The comparative yield method for estimating dry matter
1555 yield of pasture. *Aust. J. Agri. Anim. Husb.* V.15, pp.663- 6670.
- 1556 Horn FP, Telford JP, Mc Croskey JE 1979. Relationship of animal performance and dry
1557 matter intake, to chemical constituents of grazed forage. *Journal Animal Science*. V.
1558 49, pp. 1051-1058.
- 1559 Kozloski GV, Perez Neto D, Oliveira L, Maixner AR, Leite DT, Maccari M, Brondani IL,
1560 Asnchez LMB, Quadros FLF 2006. Uso do óxido de cromo como marcador da
1561 excreção fecal de bovinos em pastejo: variação das estimativas em função do horário
1562 de amostragem. *Ciência Rural*. V. 36, pp. 599-603.
- 1563 Luz AB, Campos AR, Carvalho EA, Bertolino LC, Scorzelli RB 2008. Argila – caulim. In
1564 Rochas e Minerais Industriais no Brasil: usos e especificações. 2ª ed. CETEM/MCTI,
1565 Rio de Janeiro, BRA., pp. 2559-294.
- 1566 Marcondes MI, Valadares Filho SC, Paulino PVR, Detmann E, Paulino MF, Diniz LL,
1567 Santos TR 2008. Consumo e desempenho de animais alimentados individualmente
1568 ou em grupo e características de carcaça de animais Nelore de três classes
1569 sexuais. *Revista Brasileira de Zootecnia*. V.37, pp. 2243-2250.
- 1570 Morenz MJF, Silva JFC, Aroeira LJM, Deresz F, Vásquez HM, Paciullo SC, Lopes FCF,
1571 Elyas CW, Detmann E 2006. Óxido de cromo e alcanos na estimativa do consumo de
1572 forragem de vacas em lactação em condições de pastejo. *Revista Brasileira de*
1573 *Zootecnia*. V. 35, pp. 1535-1542.

- 1574 Myers WD, Ludden PA, Nayigihugu, V, Hess BW 2004. Technical Note: A procedure for
1575 the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *Journal of*
1576 *Animal Science*. V. 82, pp. 179-183.
- 1577 Orskov ER, Deb Hovell FD, Mould F 1980. The use of the nylon bag technique for the
1578 evaluation of feedstuffs. *Trop Anim Prod*. V.5, pp.195-213.
- 1579 Ribeiro CB, Oliveira LOF, Graça Morais M, Fernandes HJ, Carneiro MMY, Rocha RFAT,
1580 Rocha DT 2018. Kaolin and chromic oxide under different forms of administration in a
1581 study of consumption and digestibility. *Semina: Ciências Agrárias*, vol. 39, pp. 2607-
1582 2620.
- 1583 Rodrigues PHM, Gomes RDC, Siqueira RFD, Meyer PM, Rodrigues RR 2010. Acurácia,
1584 precisão e robustez das estimativas da digestibilidade aparente da matéria seca
1585 determinada com o uso de marcadores em ovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*.
1586 V. 39, pp. 1118-1126.
- 1587 Saliba EDOS, Faria EP, Rodriguez NM, Moreira GR, Sampaio IBM, Saliba JS, Borges
1588 ALCC 2015. Use of infrared spectroscopy to estimate fecal output with marker
1589 Lipe. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. V. 4, pp. 1-10.
- 1590 Silva, Queiroz 2002. *Livro Métodos para Análises de Alimento*. Univers, cidade, estado,
1591 Brasil.
- 1592 Smith AM, Reid JT 1955. Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the
1593 purpose of determining the intake of a pasture herbage by grazing cows. *Journal of*
1594 *Dairy Science*. V. 38, pp. 515-524.
- 1595 Souza NKP, Pina DS, Detmann E 2012. Avaliação de Cr em amostras fecais. In: *Métodos*
1596 *para análise de alimentos*. (Detmann E, Souza MD, Valadares Filho, Queiroz AD,
1597 Berchielli TT, Saliba EO, Azevedo JAG). Visconde do Rio Branco: Suprema, 214p.
- 1598 Titgemeyer EC, Armendariz CK, Bindel DJ 2001. Evaluation of titanium dioxide as a
1599 digestibility marker for cattle. *Journal of Animal Science*. V. 79, pp. 1059-1063.
- 1600 Titgemeyer EC 1997. Design and interpretation of nutrient digestion studies. *Journal of*
1601 *Animal Science*. V. 75, pp. 2235-2247.
- 1602 Trckova M, Vondruskova H, Zraly Z, Alexa P, Hamrik J, Kummer V, Maskova J, Mrlik V,
1603 Krizova K, Slana I, Leva L, Pavlik I 2009. The effect of kaolin feeding on efficiency,

- 1604 health status and course of diarrhoeal infections caused by enterotoxigenic
1605 *Escherichia coli* strains in weaned piglets. *Veterinari Medicina*. V. 54, pp. 47-63.
- 1606 Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent
1607 fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal Dairy*
1608 *Science*. V. 74, pp. 3583-3597.
- 1609 Wang Y, Su H, Gu Y, Song X, Zhao J 2017. Carcinogenicity of chromium and
1610 chemoprevention: a brief update. *OncoTargets and therapy*. V. 10, pp. 4065.

1611

Tabelas

1612 Tabela 1. Composição química e disponibilidade da pastagem *Brachiaria brizantha* cv.
 1613 Marandu nos meses do experimento e do suplemento proteico-energético fornecido aos
 1614 animais

| Item | Pastagem | | | | Suplemento |
|----------------------------|----------|----------|---------|----------|------------|
| | Agosto | Setembro | Outubro | Novembro | |
| Matéria seca, g/kg MS | 411,9 | 304,2 | 290,5 | 243,2 | 941,0 |
| Proteína bruta, g/kg MS | 74,7 | 80,5 | 88,1 | 91,3 | 200,4 |
| Extrato etéreo, g/kg MS | 16,8 | 20,1 | 23,8 | 22,2 | 45,5 |
| Matéria orgânica, g/kg MS | 879,8 | 890,4 | 902,1 | 913,6 | 814,0 |
| FDN, g/kg MS | 687,9 | 670,3 | 656,2 | 597,1 | 197,0 |
| CIDN, g/kg MS | 67,2 | 50,9 | 77,9 | 42,2 | 52,0 |
| PIDN, g/kg MS | 9,22 | 11,78 | 9,64 | 18,41 | 15,33 |
| FDA, g/kg MS | 406,5 | 359,7 | 337,3 | 318,0 | 51,3 |
| CIDA, g/kg MS | 43,1 | 36,5 | 38,3 | 29,8 | 0,1 |
| PIDA, g/kg MS | 6,85 | 5,78 | 9,17 | 12,5 | 8,20 |
| NDT ¹ , g/kg MS | 550,9 | 558,3 | 564,1 | 588,8 | 797,6 |
| Massa de forragem, kg/ha | 2052,6 | 2161,8 | 2225,0 | 3730,2 | - |

1615 FDN: Fibra em detergente neutro; CIDN: Cinza insolúvel em detergente neutro; PIDN:
 1616 Proteína insolúvel em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido; CIDA: Cinza
 1617 insolúvel em detergente ácido; PIDA: Proteína insolúvel em detergente ácido; NDT:
 1618 Nutrientes digestíveis totais.

1619 ¹Dados estimados de acordo com Capelle et al. (2001) a partir da equação: NDT
 1620 (forragem) = (83,79 – 0,4171 * FDN) e NDT (suplemento) = (91,0246 – 0,571588*FDN).

1621 Tabela 2. Utilização do caulim como substituto ao LIPE[®] para estimativa de excreção
 1622 fecal e ao óxido crômico para estimar o consumo de suplemento, na estimação da
 1623 excreção fecal e do consumo de matéria seca de garrotes nelore em pastejo

| Item | LIPE [®] Cr ₂ O ₃ | Tratamento | | EP* | Valor - p |
|----------------------|---|--|--|-------|-----------|
| | | e Caulim substituindo LIPE [®] | Caulim substituindo Cr ₂ O ₃ | | |
| Excreção fecal, kg/d | 4,044 | 4,103 | 3,995 | 0,210 | 0,8982 |
| CSUP, kg/d | 0,704 | 0,674 | 0,694 | 0,098 | 0,9547 |
| CFO, kg/d | 6,774 | 6,877 | 6,579 | 0,315 | 0,7052 |
| CMS, kg/d | 7,477 | 7,552 | 7,273 | 0,321 | 0,7851 |

1624 *EPM: Erro padrão médio;

1625 CSUP: Consumo de matéria seca de suplemento;

1626 CFO: Consumo de forragem, utilizando FDNi como indicador interno;

1627 CMS: Consumo de matéria seca total, utilizando FDNi como indicador interno.

1628 Tabela 3. Utilização do dióxido de titânio como substituto ao LIPE[®] para estimativa de
 1629 excreção fecal e ao óxido crômico para estimar o consumo de suplemento, na
 1630 estimação da excreção fecal e do consumo de matéria seca de garrotes nelore em
 1631 pastejo

| Item | LIPE [®] e Cr ₂ O ₃ | Tratamento | | EP* | Valor – <i>p</i> |
|----------------------|---|---|--|--------|------------------|
| | | TiO ₂ substituindo LIPE [®] | TiO ₂ substituindo Cr ₂ O ₃ | | |
| Excreção fecal, kg/d | 4,044 | 4,018 | 3,995 | 0,1071 | 0,9016 |
| CSUP, kg/d | 0,704 | 0,670 | 0,691 | 0,104 | 0,8650 |
| CFO, kg/d | 6,774 | 6,680 | 6,580 | 0,159 | 0,6931 |
| CMS, kg/d | 7,477 | 7,349 | 7,270 | 0,167 | 0,6414 |

1632 *EPM: Erro padrão médio;

1633 CSUP: Consumo de matéria seca de suplemento;

1634 CFO: Consumo de forragem, utilizando FDNi como indicador interno;

1635 CMS: Consumo de matéria seca total, utilizando FDNi como indicador interno.

1636 Tabela 4. Avaliação dos modelos de predição da excreção fecal e consumo de
 1637 suplemento por diferentes marcadores externos

| | Estatística de adequação ² | | | | | | |
|---|---------------------------------------|---------|------|-------|-------------|-------------------|----------------|
| | R ² | Teste F | CCC | RQMEP | Vício médio | Vício Sistemático | Erro aleatório |
| Cr ₂ O ₃ vs. Caulim | 0,32 | 0,883 | 0,62 | 40,5 | 0,113 | 17,37 | 82,5 |
| Cr ₂ O ₃ vs. TiO ₂ | 0,54 | 0,949 | 0,74 | 30,4 | 0,365 | 0,673 | 98,9 |

1638 ²RQMEP é o quadrado médio do erro da predição, %; R² é o coeficiente de
 1639 determinação da regressão linear dos dados observados pelos dados preditos; Teste
 1640 F é o valor *P* para o teste simultâneo para identidade dos parâmetros ($\beta_0 = 0$ e $\beta_1 =$
 1641 1) da regressão linear dos dados observados pelos dados preditos; CCC é o
 1642 coeficiente de correlação e concordância.