



**MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO E EFEITO DA CONCENTRAÇÃO
DE ÁCIDOS FENÓLICOS NA DEGRADABILIDADE
DO CAPIM- COASTCROSS**

ANTÔNIO JOSÉ PERON

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2007**

ANTÔNIO JOSÉ PERON

**MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO E EFEITO DA CONCENTRAÇÃO
DE ÁCIDOS FENÓLICOS NA DEGRADABILIDADE
DO CAPIM- COASTCROSS**

Tese apresentada à Universidade Federal Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Forragicultura e Pastagem, para obtenção do título de “Doutor”.

ORIENTADOR

PROF: ANTÔNIO RICARDO EVANGELISTA

LAVRAS

MINAS GERAIS – BRASIL

2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Peron, Antônio José

Métodos de extração e concentração de ácidos fenólicos no capim-coastcross e seus efeitos sobre a degradabilidade. / Antônio José Peron. 71p Lavras : UFLA, 2007.

p.71

Orientador: Antônio Ricardo Evangelista.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Cynodon. 2. Degradabilidade. 3. Ácidos Fenólicos. 4. *In Situ*. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD- 636.08552

ANTÔNIO JOSÉ PERON

**MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO E EFEITO DA CONCENTRAÇÃO
DE ÁCIDOS FENÓLICOS NA DEGRADABILIDADE
DO CAPIM- COASTCROSS**

Tese apresentada à Universidade Federal Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Forragicultura e Pastagem, para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA EM 13 DE JULHO DE 2007.

Prof. José Cardoso Pinto – DZO/UFLA

Prof. Joel Augusto Muniz – DEX/UFLA

Prof. Sidnei Tavares dos Reis – UNIMONTES

Pesquisador: Aduino Ferreira Barcelos – EPAMIG/LAVRAS

ORIENTADOR

PROF: ANTÔNIO RICARDO EVANGELISTA

LAVRAS

MINAS GERAIS – BRASIL

2007

A Deus, que me concedeu a graça de estar onde estou
e que nunca me faltou, principalmente nos momentos mais difíceis.

AGRADEÇO

Aos meus pais,
Nelson Peron e Antonieta Paulina Chiaperini Peron
exemplos de vida, dignidade e respeito,

DEDICO

A minha amiga e esposa, Verônica,
pelo amor e companheirismo em todos os momentos.
Aos meus filhos, Gabriel, Thiago e Vinícius,
pelo carinho e compreensão,

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, responsável por tudo na minha vida.

À Universidade Federal do Tocantins, pela liberação para realizar o Doutorado.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do Doutorado.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos e apoio financeiro.

Ao Professor Antônio Ricardo Evangelista, pela orientação, apoio e amizade.

Aos integrantes da banca examinadora, professores José Cardoso Pinto, Joel Augusto Muniz e Sidnei Tavares dos Reis, e ao pesquisador Aduino Ferreira Barcelos, pela ajuda na finalização deste trabalho.

Aos professores Adelir A. Saczak e Mário C. Guerreiro, pela ajuda em parte das análises químicas.

Ao Professor Pedro Castro Neto, pelo qual tenho um grande respeito e profunda admiração e à sua esposa Sandra Regina Peron Castro, minha querida irmã, pelo apoio e incentivo ao longo de todos esses anos.

Aos amigos: professor Tocio Sedyama e sua esposa, Maria Aparecida Nogueira Sedyama e professor Antônio Carlos Fraga e sua esposa, Janice Alvarenga Santos Fraga, pela amizade de longa data e incentivo constante.

A professora Wander, pela amizade e incentivo durante o curso.

Aos secretários Carlos Henrique de Souza, Kátia Aparecida de Oliveira, Keila Cristina de Oliveira e Pedro Adão Pereira, pelo apoio prestado.

Aos funcionários do setor de produção do DZO/UFLA, na pessoa do Sr. Luiz Carlos de Oliveira, pelo apoio durante a condução do experimento com os animais.

Ao Professor José Cleto e aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal do DZO/UFLA, Márcio dos Santos Nogueira, Suelba Ferreira de Souza, Eliana Maria dos Santos e José Geraldo Virgílio, pela amizade e colaboração nas análises bromatológicas.

Aos colegas do curso de pós-graduação, Pedro Nelson, Guilherme Benko, Vinícius Vieira, Cláudio Gonçalves, Valdir Botega, Jálison, Flávio Moreno e Antônio Athaide, e a todos os membros do NEFOR, pelo agradável convívio e amizade.

Aos alunos de graduação Rafael Peron Castro, Hélio Alcântara, Renata Alvarenga, Edivânia Pontes e Stefânia Souza, pela participação nos ensaios e nas análises laboratoriais.

Às demais pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

ANTÔNIO JOSÉ PERON, filho de Nelson Peron e de Antonieta Paulina Chiaperini Peron, nasceu em Tambaú, SP, em 29 de março de 1962. Em julho de 1986 graduou-se em Zootecnia na Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL). Em julho de 1987 iniciou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Produção de Ruminantes, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), obtendo o título de Mestre em agosto de 1991. Em fevereiro de 1992 iniciou trabalho como professor no Curso de Agronomia da Universidade do Tocantins (UNITINS), na cidade de Gurupi, TO. Em 2002, concluiu curso de Licenciatura em Pedagogia, área de concentração Biologia, pela Universidade do Tocantins (UNITINS), iniciando trabalho como professor no Centro de Ensino Médio Ary Ribeiro Valadão Filho, CEM, na cidade de Gurupi, TO. Em março de 2003, foi aprovado em Concurso Público Federal e iniciou trabalho como professor no curso de Agronomia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), na cidade de Gurupi, TO. Em março de 2003 iniciou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Forragicultura e Pastagem, na Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde obteve o título de Doutor em julho de 2007.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iv
LISTAS DE ABREVIATURAS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1- INTRODUÇÃO	01
2-REFERENCIAL TEÓRICO	03
2.1. Consumo de forragem.....	03
2.2 Lignina nas forrageiras tropicais.....	04
2.3 Caracterização do capim-coastcross.....	07
2.3.1 Composição química do capim-coastcross.....	08
2.4 Degradabilidade.....	10
2.5 Determinação de ácidos fenólicos.....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Local e instalação do experimento.....	14
3.2 Coleta e preparação das amostras.....	18
3.3 Análise bromatológica das amostras.....	19
3.4 Avaliação da degradabilidade.....	20
3.5 Avaliação dos ácidos fenólicos.....	23
3.5.1 Preparo das amostras.....	23
3.5.2 Reagentes utilizados.....	24
3.5.3 Solubilização dos ácidos fenólicos.....	24
3.5.4 Estudo cromatográfico dos ácidos fenólicos.....	24
3.5.5 Determinação dos ácidos fenólicos.....	26
3.6 Delineamento experimental e modelo estatístico.....	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1 Composição química do capim-coastcross.....	32
4.2 Cinética da degradabilidade ruminal.....	38
4.2.1 Degradação da matéria seca.....	38
4.2.2 Degradação da fibra em detergente neutro.....	41
4.3 Ácidos fenólicos.....	46
4.3.1 Concentração de ácidos fenólicos.....	46
4.3.2 Avaliação do ácido p-cumárico.....	52
4.4 Efeito do ácido p-cumárico na degradabilidade.....	54
5 CONCLUSÕES	56
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
7 ANEXOS	65

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Representação gráfica das temperaturas máxima e mínima diárias, no período de novembro de 2006 a fevereiro de 2007 (Dados coletados pela Estação Climatológica Principal de Lavras, MG e fornecidas pelo Setor de Agroclimatologia do Departamento de Engenharia da UFLA).....	17
FIGURA 2	Representação gráfica da precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar, no período de novembro de 2006 a fevereiro de 2007 (Dados coletados pela Estação Climatológica Principal de Lavras, MG e fornecidas pelo Setor de Agroclimatologia do Departamento de Engenharia da UFLA).....	18
FIGURA 3	Cromatograma da solução de ácidos fenólicos ($1,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹) com detecção espectrofotométrica em 330 nm. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 = ácido m-cumárico (tr = 24,7 min); 5 = ácido o-cumárico = 28,3 min.....	26
FIGURA 4	Curva analítica obtida da solução de ácido caféico.....	27
FIGURA 5	Curva analítica obtida da solução de vanilina.....	28
FIGURA 6	Curva analítica obtida da solução de ácido p-cumárico	28
FIGURA 7	Curva analítica obtida da solução de ácido m-cumárico.	29
FIGURA 8	Curva analítica obtida da solução de ácido o-cumárico.....	29
FIGURA 9	Efeito da idade no teor de matéria seca do feno de capim-coastcross.....	32
FIGURA 10	Efeito da idade no teor de proteína bruta do feno de capim-coastcross.....	33
FIGURA 11	Efeito da idade no teor de extrato etéreo do feno de capim-coastcross.....	33
FIGURA 12	Efeito da idade no teor de cinzas do feno de capim-coastcross.....	34
FIGURA 13	Efeito da idade no teor de fibra em detergente neutro do feno de capim-coastcross.....	35
FIGURA 14	Efeito da idade no teor de fibra em detergente ácido do feno de capim-coastcross.....	36
FIGURA 15	Efeito da idade no teor de nitrogênio na FDN do feno de capim-coastcross.....	37
FIGURA 16	Efeito da idade no teor de nitrogênio na FDA do feno de capim-coastcross.....	37
FIGURA 17	Efeito da idade no teor de nitrogênio solúvel do feno de capim-coastcross.....	38

FIGURA 18	Fração indegradável (FI) da MS seca do feno de capim-coastcross em função das diferentes idades.....	39
FIGURA 19	Degradabilidade potencial da MS do feno de capim-coastcross em função das diferentes idades.....	40
FIGURA 20	Curvas de desaparecimento da MS em função dos tempos de incubação do feno capim-coastcross nas diferentes idades.....	41
FIGURA 21	Degradação da fração solúvel (a) da FDN do feno de capim-coastcross em função das diferentes idades.....	42
FIGURA 22	Degradação da fração insolúvel potencialmente degradável (b) da FDN do feno de capim-coastcross em função das diferentes idades.....	43
FIGURA 23	Taxa de degradação (c) da FDN do feno capim-coastcross em função das diferentes idades.....	44
FIGURA 24	Degradabilidade efetiva da FDN do feno de capim-coastcross em função das diferentes idades.....	45
FIGURA 25	Curva de degradação da FDN em função do tempo de incubação do feno de capim-coastcross nas diferentes idades.	46
FIGURA 26	Cromatograma da amostra de feno de capim-coastcross coletada aos 20 dias de crescimento, sem extração.....	47
FIGURA 27	Cromatograma da amostra de feno de capim-coastcross coletada aos 40 dias de crescimento, sem extração.....	47
FIGURA 28	Cromatograma da amostra de feno de capim-coastcross coletada aos 60 dias de crescimento, sem extração.....	47
FIGURA 29	Cromatograma da amostra de feno de capim-coastcross coletada aos 80 dias de crescimento, sem extração.....	48
FIGURA 30	Cromatograma da amostra de feno de capim-coastcross coletada aos 20 dias de crescimento e extração com etanol 80%.....	48
FIGURA 31	Cromatograma da amostra de feno de capim-coastcross coletada aos 40 dias de crescimento e extração com etanol 80%.....	49
FIGURA 32	Cromatograma da amostra de feno de capim-coastcross coletada aos 60 dias de crescimento e extração com etanol 80%.....	49
FIGURA 33	Cromatograma da amostra de feno de capim-coastcross coletada aos 80 dias de crescimento e extração com etanol 80%	49
FIGURA 34	Cromatograma da amostra de feno de capim-coastcross coletada aos 20 dias de crescimento e extração com SDN.....	50
FIGURA 35	Cromatograma da amostra de feno de capim-coastcross coletada aos 40 dias de crescimento e extração com SDN.....	50

FIGURA 36	Cromatograma da amostra de feno de capim-coastcross coletada aos 60 dias de crescimento e extração com SDN.....	51
FIGURA 37	Cromatograma da amostra de feno de capim-coastcross coletada aos 80 dias de crescimento e extração com SDN.....	51
FIGURA 38	Efeito da idade no teor de ácido p-cumárico do feno de capim-coastcross	54

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Resultados da análise do solo da área experimental.....	18
TABELA 2	Composição da ração concentrada fornecida às vacas fistuladas.....	20
TABELA 3	Composição do gradiente da fase móvel otimizada.....	25
TABELA 4	Valores médios de ácido p-cumárico (g/L) do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.....	53
TABELA 5	Coefficiente de correlação parcial para a degradabilidade efetiva da MS e FDN do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.....	55

LISTA DE ABREVEATURAS

Acido m-cumárico	ácido metacumárico
Acido o-cumárico	ácido ortocumárico
Acido p-cumárico	ácido paracumárico
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
CZ	matéria mineral
EE	extrato etéreo
FDA	fibra em detergente ácido
FDN	fibra em detergente neutro
HPLC	cromatografia líquida de alta performance
MAP	conoamonio fosfato
MS	catéria seca
N	nitrogênio
NFDN	nitrogênio na FDN
NFDA	nitrogênio na FDA
NSOL	nitrogênio Solúvel
PB	proteína bruta
SDN	Solução detergente neutro

RESUMO

PERON, Antônio José. **Métodos de determinação e efeito da concentração de ácidos fenólicos na degradabilidade de capim-coastcross**. 2007. 71 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

A digestão da parede celular das plantas forrageiras está intimamente associada à composição química. Dos componentes da parede celular, a lignina é a que apresenta o maior efeito negativo sobre a digestão ruminal. A concentração de lignina presente na parede celular não é suficiente para explicar as variações na digestão das forrageiras. O arranjo da lignina e seus precursores, em especial os ácidos p-cumárico e ferúlico, juntamente com os demais componentes da parede celular, tem efeito em boa parte das limitações observadas na digestão das forrageiras. O trabalho foi realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, no período de novembro de 2006 a fevereiro de 2007, com o objetivo de determinar a degradabilidade do feno de capim-coastcross em diferentes estágios de crescimento, e correlacionar essa degradabilidade com as concentrações dos ácidos fenólicos encontrados no capim-coastcross. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 3 (4 idades x 3 métodos de extração) com 4 repetições. A idade da forragem influenciou sobre a composição química e a degradação da fibra em detergente neutro, bem como na concentração do ácido p-cumárico. Os teores de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, cinzas, fibra em detergente neutro, nitrogênio na fibra em detergente neutro, nitrogênio na fibra em detergente ácido e nitrogênio solúvel aumentaram e da fibra em detergente ácido diminuiu com o avanço da idade. A degradabilidade da fibra em detergente neutro diminuiu com o avanço da idade. O teor de ácido p-cumárico diminuiu com o avanço da idade da forragem e não influenciou a sua degradabilidade.

¹ Comitê de Orientação: Antônio Ricardo Evangelista – DZO/UFLA (Orientador); José Cardoso Pinto – DZO/UFLA; Joel Augusto Muniz – DEX/UFLA.

ABSTRACT

PERON, Antônio José. **Methods of determination and effects of the concentration of phenolic acids in the coast cross grass degradation.** 2007. 71 p. Thesis (Doctorate in Animal Science) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.¹

The digestion of the cell wall of forage plants shows closely associated to its chemical composition. Of the components of cell wall, lignin is considered the one which shows the highest negative effects on ruminal digestion. The concentration of lignin present in the cell wall is not enough to account for the variations in the digestion of forages. The arrangement of lignin and its precursors, in particular acids p-coumaric and p-ferulic, along with the other components of the cell wall have an effect on a great part of the limitations found in the digestion of forages. The work was accomplished in the Animal Science Department of the Federal University of Lavras, in the period of November/2006 to February/2007, with the objective of determining the degradability of coast cross grass hay at different growth stages, relating them to the concentrations of phenolic acids found in the grass. The utilization design was completely randomized in a factorial scheme 4 x 3 (4 age x 3 extraction methods) with 4 replicates. The age of the grass influenced the chemical composition and degradation of neutral detergent fiber (NDF) as well as in the concentration of p-coumaric acid. The contents of dry matter (DM), crude protein (CP), ether extract (EE), mineral matter (CZ), neutral detergent fiber (NDF), nitrogen in neutral detergent fiber (NNDF), nitrogen in acid detergent fiber (ANDF) and soluble nitrogen (NSOL) increased and acid detergent fiber (ADF) decreased with advancing age. The degradability of NDF decreased with the advance of the age. The content of p-coumaric acid decreased with increasing age of the grass and did not influence degradability.

¹ Guidance Committee: Antônio Ricardo Evangelista – DZO/UFLA (Adviser); José Cardoso Pinto – DZO/UFLA; Joel Augusto Muniz – DEX/UFLA.

1 INTRODUÇÃO

A digestão da parede celular das plantas forrageiras está intimamente associada à composição química. Dos componentes da parede celular, a lignina é considerada a que apresenta o maior efeito negativo sobre a digestão ruminal.

Esses efeitos são mais pronunciados nas gramíneas tropicais, principalmente com o avanço da sua idade. A disponibilidade de energia luminosa nos trópicos permite elevadas taxas de crescimento das forrageiras, como parte da sua adaptação fisiológica (metabolismo - C₄). Esse elevado potencial de produção não pode ser adequadamente aproveitado, principalmente pelos efeitos negativos da deposição de lignina, resultante da maturação fisiológica da planta. Entretanto, parece que a concentração de lignina presente na parede celular das forrageiras não é suficiente para explicar determinadas variações na sua digestão ou em parte das mesmas (Morrison et al., 1998; Deschamps, 1999). O arranjo da lignina e de seus precursores com os demais componentes da parede celular, dentre outros fatores, tem efeito em boa parte das limitações observadas na digestão das forrageiras. Desse modo, pouca relação se poderia esperar entre a composição da lignina como unidade polimérica e a digestão da parede celular das forrageiras. Assim, a concentração de seus precursores e, principalmente, a associação desses com os carboidratos constituintes da parede celular desempenhariam, então, um papel mais importante.

Os ácidos fenólicos, especialmente o p-cumárico e o ferúlico, estão diretamente envolvidos na associação da lignina com a hemicelulose (polioses) da parede celular. As principais formas de interação molecular estão bem estabelecidas e envolvem ligações éster e éter com os carboidratos e unidades condensadas da lignina (Jung & Deetz, 1993).

Pesquisas têm evidenciado a necessidade do entendimento da estrutura e da função dos ácidos fenólicos que compõem a fração lignina de espécies lenhosas e forragens, porém, pequeno esforço tem sido dirigido à quantificação da composição de ácidos fenólicos (Mertens, 2002).

Após o isolamento dos ácidos fenólicos, sua presença e quantificação dependem, então, da disponibilidade de métodos simples, de grande sensibilidade e da praticidade de execução no laboratório. Isso é especialmente importante no estudo das forrageiras, já que, normalmente, implica no processamento de grande número de amostras.

Objetivou-se, com este trabalho, determinar a degradabilidade do feno de coastcross em diferentes estágios de crescimento e correlacionar essa degradabilidade com as concentrações de ácidos fenólicos encontrados na forragem.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Influência da fibra na digestibilidade

A alimentação dos ruminantes é baseada em forragens, as quais lhes provêm vários nutrientes, como proteínas e minerais. Além desses nutrientes, as forragens também fornecem a fibra necessária às rações para promover mastigação, ruminação e atividade dos microrganismos do rúmen, que utilizam a fibra como fonte de energia. Por sua vez, os ácidos graxos voláteis produzidos durante a fermentação ruminal são as principais fontes de energia para o animal.

Na formulação de dietas para bovinos, a qualidade e a quantidade de forragens são os primeiros fatores a serem analisados no atendimento das exigências nutricionais e de fibra. Forragens de alta qualidade podem prover mais nutrientes e terão taxa de inclusão maior em dietas que forragens de baixa qualidade.

O termo fibra pode ser definido, nutricionalmente, como a fração lentamente digestível ou indigestível dos alimentos que ocupam espaço no trato gastrointestinal dos animais (Mertens, 1997). Para Jung & Allen (1995), a fibra serve como parâmetro de avaliação da qualidade das forrageiras, visto que, por meio dela se pode estimar a digestão dos componentes da parede celular.

As forrageiras de clima tropical, em relação às espécies de clima temperado, são caracterizadas por apresentarem baixos teores de carboidratos não fibrosos e pela elevada proporção de parede celular, conseqüentemente de carboidratos estruturais. O elevado conteúdo de parede celular das gramíneas tropicais está associado a aspectos de natureza anatômica das espécies, em razão da alta proporção de tecido vascular característico das plantas C₄ (Van Soest, 1994).

2.2 Lignina nas forrageiras tropicais

A digestibilidade e o consumo são dois dos principais componentes que determinam a qualidade de um alimento. De todos os nutrientes necessários para suprir as exigências nutricionais para manutenção, crescimento e ou produção dos bovinos, a energia, oriunda da forma, principalmente da celulose e hemicelulose, constitui a principal contribuição das forrageiras. A extensão da digestão microbiana dos carboidratos do rúmen se relaciona com a digestibilidade da forragem e, juntamente com a taxa de digestão desses mesmos carboidratos, irá determinar o valor nutritivo da forragem para o ruminante, não apenas sob o aspecto energético como também protéico e outros (Mertens, 1993).

A digestão da parede celular das plantas forrageiras está intimamente associada à sua composição química. Dos componentes da parede celular, a lignina é considerada a que apresenta o maior efeito negativo sobre a digestão ruminal (Nascimento Jr., 1974; Hatfield, et al., 1994; Wilson & Mertens, 1995; Burns et al., 1997; Deschamps, 1999). A disponibilidade de energia luminosa nos trópicos permite elevadas taxas de crescimento das forrageiras, como parte da sua adaptação fisiológica. No entanto, esse elevado potencial de produção não é aproveitado na sua totalidade, principalmente pelos efeitos negativos da deposição da lignina, resultante da maturação fisiológica da planta (Burns et al., 1997).

A lignina é limitante para a degradação da parede celular (Jung, 1989; Jung & Deetz, 1993). A deposição de lignina aumenta com a maturação fisiológica e diminui a digestibilidade dos polissacarídeos estruturais pelos ruminantes (Terry & Tilley, 1964; Nascimento Jr., 1974; Hatfield, 1993; Burns et al., 1997; Deschamps, 1999; Reis, et al., 2001).

A lignina é um polímero não-carboidrato, composto de monômeros fenólicos (do tipo fenilpropano). Esse polímero exerce grande influência sobre a taxa de degradação e a degradabilidade efetiva da parede celular dos alimentos volumosos (Van Soest, 1994), sendo um fator determinante do conteúdo de energia digestível das plantas forrageiras.

A lignina das plantas forrageiras tem sido como sendo um dos principais fatores limitantes da digestibilidade da planta (Van Soest, 1963; Morrison, 1983; Burns et al., 1997; Deschamps, 1999; Deschamps, 2002). Ela inibe consideravelmente a digestibilidade da matéria seca (MS) e sua concentração nas forrageiras tem sido, justamente por esta razão, utilizada na estimativa da extensão da digestão da fibra (Barton II & Akin, 1977; Hartley & Jones, 1977). Ela associa-se aos carboidratos fibrosos (celulose e hemicelulose) durante o processo de formação da parede celular, alterando significativamente a digestibilidade desses (Norton, 1981). O espessamento da parede celular e o aumento da área ocupada pelo tecido vascular lignificado afetam negativamente a digestibilidade (Wilson, 1997; Alves de Brito et al., 1999).

Entretanto, parece que a concentração de lignina presente na parede celular das forrageiras não é suficiente para explicar determinadas variações na digestão de forragens ou em parte das mesmas (Morrison et al., 1998; Deschamps, 1999). O arranjo da lignina e seus precursores com os demais componentes da parede celular, dentre outros fatores, pode ser responsabilizado por boa parte das limitações observadas na digestão das forragens. Desse modo, pouca relação se poderia esperar entre a composição da lignina como unidade polimérica e a digestão da parede celular das forragens. Assim, a concentração de seus precursores e, principalmente, a associação destes com os carboidratos constituintes da parede celular desempenhariam um papel muito importante (Deschamps, 2002).

A condensação dos chamados ácidos fenólicos leva à formação da lignina, agindo, portanto, como suas unidades precursoras. Akin et al. (1985) concluíram que a natureza dos compostos fenólicos presentes no parênquima e esclerênquima de caules de gramíneas é diferente. Além disso, a quantidade de compostos fenólicos presentes nos diferentes tecidos tem sido relacionada com a digestibilidade (Akin et al., 1990). Tem sido relatado que os compostos fenólicos derivados da degradação da lignina (vanilina, ácido p-cumárico e ácido ferúlico) inibem a digestão da celulose e da hemicelulose por culturas puras ou mistas de microorganismos ruminais (Akin et al., 1988).

Os ácidos fenólicos, especialmente p-cumárico e ferúlico, estão diretamente envolvidos na associação da lignina com as hemiceluloses (polioses) da parede celular. As principais formas de interação molecular estão bem estabelecidas e envolvem ligações éster e éter com os carboidratos e unidades condensadas da lignina (Jung & Deetz, 1993).

O isolamento dos ácidos fenólicos, sua presença e quantificação podem ser de grande valia quando correlacionado com a quantidade de fibra na dieta animal. Como método para diferenciar se os ácidos fenólicos estão ligados a outras moléculas na forma éster ou éter, tem sido proposta sua extração em condições diferenciadas de concentração de NaOH (Iiyama et al., 1990; Morrison, et al., 1993; Morrison et al., 1998). Assim, os ácidos fenólicos ligados na forma éster são extraídos em solução de NaOH (1 a 2 moles/L) em temperaturas brandas (20°C). Condições mais severas (NaOH 4 moles/L, 170°C) solubilizam fenóis totais, sendo a diferença entre totais e éster a quantidade de fenóis ligados na forma éter. Após o isolamento dos ácidos fenólicos, sua presença e quantificação dependem, então, da disponibilidade de métodos simples, de grande sensibilidade e praticidade no laboratório. Isso é especialmente importante no estudo das forrageiras, já que normalmente implica no processamento de grande número de amostras.

2.3 Caracterização do capim-coastcross

O capim-coastcross é um híbrido estéril, obtido do cruzamento da cultivar Coastal (*Cynodon nlemfuensis* Vanderist) e o capim-bermuda [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.], de alta digestibilidade, pouco tolerante ao frio, proveniente do Quênia (Bogdan, 1977).

As principais pesquisas com cultivares de *Cynodon* foram conduzidas nas Universidades da Geórgia e da Flórida, nos Estados Unidos, com uma procedente da África e introduzida naquele país. O programa de melhoramento genético de plantas forrageiras dessas universidades aproveitou o potencial forrageiro desse gênero, utilizando a variabilidade existente dentro e entre espécies e desenvolveu forrageiras melhor adaptadas às condições subtropicais do sudeste americano. Avaliadas criteriosamente, sob corte e pastejo, foram lançadas como híbridos para aquelas regiões. No Brasil, não existe registro de onde e como o gênero *Cynodon* foi introduzido. Acredita-se que foi por iniciativa privada, em consequência da curiosidade de produtores em avaliar o seu comportamento em condições brasileiras (Vilela & Alvim, 1998). Ainda segundo os mesmos autores, as forrageiras do gênero *Cynodon* apresentam elevado potencial de produção de forragem de boa qualidade, sendo usadas tanto na forma de pastejo como na forma de feno.

Essa gramínea não cobre rapidamente o solo, mesmo tendo estolões vigorosos, o que a torna susceptível à invasão por outras espécies ou mesmo por capim-bermuda comum. Possui colmos finos e boa relação folha/colmo, entretanto essa relação se modifica conforme o manejo. Quando adubado e irrigado adequadamente, produz grande quantidade de forragem de boa qualidade, com boa distribuição ao longo do ano. As folhas são macias, apresentando verde menos intenso do que aquele das gramas estrelas. É muito

indicada para fenação, já que desidrata com facilidade e também pode ser usada para pastejo (Vilela & Alvim, 1996).

Contrariando o acima exposto, Carneiro (1995) caracteriza o capim-coastcross como gramínea perene, rasteira, rizomatosa e fortemente estolonífera, que enraíza facilmente nos nós em contato com o solo úmido; é extremamente agressiva e ocupa totalmente o terreno, sem deixar áreas descobertas, formando um denso e macio relvado que pode atingir até 0,50 m de altura. Requer temperatura em torno de 37°C para sua máxima atividade fotossintética e um período seco, com temperatura inferior a 15°C, influencia negativamente a sua produção. Precipitações pluviais de, no mínimo, 500 mm anuais são necessárias para produções razoáveis de forragem. Adapta-se a climas tropicais e subtropicais e apresenta ótima resistência ao pisoteio, ao fogo, ao frio (mesmo geadas leves) e à seca. Quanto ao solo, é exigente em fertilidade e responde bem à calagem e à adubação (Wheeler, 1950, citado por Dias, 1993).

Segundo Dias (1993), o capim-coastcross cresce em uma variedade de solos bem drenados (arenosos e argilosos). As produções dependem dos nutrientes disponíveis, particularmente o nitrogênio (N), e baixas produções são geralmente observadas em solos arenosos pobres. Por produzir poucas sementes férteis, a propagação do capim-coastcross é vegetativa, podendo se fazer a multiplicação por meio de material enraizado e de não enraizado (estacas), sendo fundamental a existência de boas condições de umidade no momento e após o plantio.

2.3.1 Composição química do capim-coastcross

A composição química pode ser utilizada como parâmetro de qualidade das espécies forrageiras; contudo, deve-se ter em mente que tal composição é dependente de aspectos de natureza genética e ambiental e não deve ser utilizada

como único determinante da qualidade de uma forragem (Norton, 1982; Reis, 2005).

Reis et al. (2001), estudando a composição química do capim-coastcross e Tifton 85 em diferentes idades de corte, concluíram que o avanço da idade de 30 para 360 dias afetou a composição das gramíneas, havendo, em geral, aumentos nos teores de MS, FDA, lignina e sílica e um decréscimo para os demais nutrientes estudados. Os autores relatam ainda que correu indisponibilização dos nutrientes à medida que ocorreu a maturidade da forrageira. Os valores médios observados pelos autores foram de 33,22%, 8,59%, 3,29%, 86,51%, 47,81%, 8,23%, 3,28%, 6,44%, 0,40%, 0,30% e 51,66%, para o capim-coastcross e 34,21%, 7,93%, 2,70%, 89,65%, 50,73%, 9,08%, 3,27%, 5,81%, 0,41%, 0,19% e 49,39% para o Tifton 85, respectivamente, para MS, PB, EE, FDN, FDA, lignina, sílica, cinzas, Ca, P e NDT.

No mesmo trabalho, avaliando o fracionamento de nutrientes das duas gramíneas, Tifton 85 e o capim-coastcross, em diferentes idades ao corte, Reis et al. (2001) relatam aumentos no N associado à parede celular e, conseqüentemente, um decréscimo do N contido no conteúdo celular à medida que a idade alongou-se de 30 para 360 dias. Os autores relatam ainda que, em média, 57,93% e 59,39% do N-Total está associado a FDN, respectivamente para o capim-coastcross e o Tifton 85.

Gonçalves et al. (2001), avaliando o valor nutritivo de gramíneas do gênero *Cynodon* (Tifton 85, Tifton 44 e capim-coastcross) colhidas no outono, observaram diferenças entre as cultivares para os teores de PB. Porém, ocorreu decréscimo significativo com o avanço na idade ao corte (42 para 84 dias), de 14,80% para 8,73%.

Segundo Omaliko (1980), a maior idade ao corte em gramíneas tropicais causa aumentos na proporção de colmos e, conseqüentemente, aumento de proporção de tecido estrutural na MS.

Rocha et al. (2001), estudando o comportamento de três gramíneas do gênero *Cynodon* (Tifton 68, Tifton 85 e capim-coastcross) submetidas a diferentes doses de N, observaram diferenças para as gramíneas quanto aos teores médios de FDN: 72,14%; 73,03% e 75,16%, respectivamente para as três gramíneas. Com relação ao teor de FDA, os mesmos autores relatam que as gramíneas apresentaram teores médios semelhantes, independentemente das doses de N e da cultivar, sendo os valores de 40,38%; 40,68% e 39,49%, respectivamente, para capim-coastcross, Tifton 68 e Tifton 85.

2.4 Degradabilidade

A estimativa da degradação das frações nitrogenadas pode ser obtidas por meio de técnicas *in vivo*, *in vitro* ou *in situ*. As técnicas *in vivo* são, aparentemente, as mais desejáveis. Entretanto, os resultados encontrados não têm sido satisfatórios, em razão da inacurácia da determinação do fluxo da digesta entre o N do alimento, o N microbiano e o N de origem endógena, além da necessidade de manter animais fistulados em diferentes segmentos do trato gastrointestinal (Broderick, 1995, citado por David, 2001)

As técnicas *in vitro* foram desenvolvidas como alternativas para a obtenção de estimativas mais precisas dos parâmetros cinéticos da degradação dos alimentos, uma vez que são reduzidas as flutuações físico-químicas do ambiente de incubação, normalmente responsáveis pela grande variação dos dados obtidos pelos métodos *in vivo* e *in situ* (Konh & Allen, 1995). No entanto, o método não consegue reproduzir as condições de movimentação do alimento

no ambiente ruminal, como ocorre no método *in situ* (Mertens, 1993; Petit et al., 1994).

A técnica *in situ* consiste em colocar uma quantidade de amostra de alimento dentro de sacos de náilon, lacrá-los e incubá-los no rúmen por diferentes períodos de tempo (McQueen et al., 1980), possibilitando determinar, simultaneamente, a quantidade de forragem que é digerida e a taxa em que essa digestão se realiza (Ruiz & Ruiz, 1990).

O uso dessa técnica para avaliar a digestão de alimentos, remonta de várias décadas, quando Quinn et al. (1938) a utilizaram na investigação da digestão no rúmen de ovinos fistulados. Posteriormente, o método foi aperfeiçoado e, atualmente, utilizam-se sacos de poliéster, os quais são mais baratos e possui um menor teor de N (Mehez & Orskov, 1977). Segundo Erasmus & Prinsloo (1988), a técnica *in situ* apresenta as vantagens de ser rápida e baixo custo.

O fato da técnica *in situ* levar em conta a importante dinâmica da interação animal-dieta também é considerada, por alguns autores, como sua principal vantagem para a determinação da degradação da proteína e da fibra dos alimentos. Isso porque o método *in vitro* não consegue reproduzir condições de movimentação do alimento no ambiente ruminal como o *in situ* (Mertens, 1993; Petit et al., 1994).

O alimento em suspensão dentro do rúmen terá um contato íntimo com o ambiente ruminal. De acordo com Van Soest (1994), essa é a melhor forma de simulação dentro de um regime alimentar (temperatura, pH, substrato tampão e enzimas), embora o alimento não esteja sujeito a eventos digestivos, como a mastigação, a ruminação e a taxa de passagem.

Segundo Nocek & Russell (1988), a técnica *in situ* permite maior contato entre o alimento a ser avaliado e o ambiente ruminal, sendo, portanto, mais intensivamente utilizada para a estimativa da degradação da proteína,

embora apresente sérias limitações no que se refere à necessidade de manter animais fistulados, contaminação microbiana nos resíduos de incubação, efluxo e influxo de partículas, dificuldades de padronização da porosidade dos sacos e tamanho ótimo das partículas incubadas.

Para avaliar a degradabilidade *in situ*, Nocek (1985) & Nocek (1988) sugerem o uso de náilon com porosidade entre 40 e 60 μm , tamanho da partícula de 5 mm para volumosos, relação do peso da amostra por área de superfície do saco de 10 a 20 mg/cm^2 , introdução dos sacos na posição ventral do rúmen, em diferentes horários e retirada simultânea para diminuir o erro experimental.

Essa técnica é considerada apropriada para a determinação do desaparecimento ruminal dos alimentos (Arieli et al., 1989), fornecendo uma estimativa da proporção do alimento que é rapidamente fermentado e a taxa de degradação dos componentes insolúveis, que são susceptíveis de fermentação no rúmen (Resende et al., 1996).

Para Aufrère et al. (1991), citados por Lopes (2007), a técnica de degradabilidade *in situ*, provavelmente, oferece estimativa mais exata da degradação da proteína no rúmen que as determinadas em laboratórios, justificando sua utilização como técnica de referência.

A qualidade de uma forragem pode, segundo Orskov (1986), ser expressa pela extensão da digestão potencial que determina a quantidade de matéria indigerível que ocupa espaço no rúmen, pela taxa de fermentação que influencia no tempo em que a fração digestível ocupa espaço no rúmen e pela taxa de redução do tamanho de partícula.

2.5 Determinação de ácidos fenólicos

A determinação de ácidos fenólicos em amostras de forragens tropicais pode oferecer informações importantes para a compreensão das limitações

envolvidas na digestão ruminal da parede celular de tais espécies. A cromatografia líquida de alta eficiência constitui uma ferramenta adicional para a determinação dos principais ácidos fenólicos envolvidos na lignificação e na interligação da lignina com os carboidratos da parede celular vegetal (Deschamps & Ramos, 2002).

Para os mesmos autores, o perfil cromatográfico dos padrões utilizados nesse método apresenta perfeita separação de todos os compostos, em especial das formas isoméricas do ácido cumárico (orto, meta e para). Eles encontraram perfis cromatográficos em amostras de bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) e de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Scham.), evidenciando picos referentes aos ácidos p-cumárico e ferúlico. Ao observarem a altura dos picos, relataram ser possível visualizar as diferentes concentrações e relações molares dos ácidos fenólicos presentes em cada material.

Para Deschamps & Ramos (2002), a extensão da corrida cromatográfica até 45 minutos serve para demonstrar que apenas os ácidos p-cumárico e ferúlico são detectados. Ainda ressaltaram que a determinação realizada a partir de uma extração branda desses ácidos fenólicos representa formas de ligação éster, conforme descrito por Iiyama et al. (1990), Morrison et al. (1993) e Morrison et al. (1998) e que, possivelmente, em condições mais severas de extração (NaOH 4 moles/L, 170°C, por duas horas), outros derivados do complexo lignina ou lignina/carboidratos possam ser detectados.

O tratamento das amostras com álcali e posterior acidificação gera apreciáveis quantidades de sal. Embora não se tenham observado alterações nas determinações cromatográficas, é importante considerar alguns cuidados, com vistas a preservar a integridade da coluna cromatográfica. Como as amostras são analisadas sem outras purificações ou derivações, deve-se ter cuidado com o volume a ser injetado no sistema. Nesse sentido, o volume de injeção de 5 µL utilizado foi suficiente para a determinação das moléculas de interesse

(Deschamps & Ramos, 2002). No entanto, esse volume foi bastante inferior aos 40 µL utilizados por Hartley & Buchan (1979).

Segundo Wilson (1993), a natureza química e a anatômica da parede celular das gramíneas e leguminosas tropicais são distintas. Isso deve ser considerado quando do estabelecimento de um protocolo de análise de ácidos fenólicos para esse tipo de material, como ficou demonstrado por Deschamps & Ramos (2002). Nesse caso, o pré-tratamento das amostras com etanol 80% ou detergente neutro apresenta alguns aspectos interessantes.

Deschamps & Ramos (2002) relatam ser o tratamento com detergente neutro mais efetivo na remoção de substâncias de menor massa molecular do que a remoção com etanol 80%. Mas, em geral, pode-se considerar que o etanol solubiliza lipídeos e pigmentos, além de outras substâncias que fazem parte do conteúdo celular. Já o detergente neutro tende a solubilizar proteínas, gordura e carboidratos solúveis, pectina e outros compostos solúveis em água (Van Soest, 1967).

A presença dos ácidos fenólicos está restrita à parede celular, sendo pouco provável que sejam encontrados ácidos p-cumárico e ferúlico livres nos extrativos. Entretanto, seria possível esperar que a ação dos extratores ou solventes pudesse solubilizar parte dos ácidos fenólicos presentes na parede celular. Isso não foi observado por Deschamps & Ramos (2002) ao estudarem os teores destes ácidos em bagaço de cana e em capim-elefante. Porém, em folhas de mandioca (*Manihot sculenta* Crantz), foi observada redução na concentração dos ácidos, como resultado do aumento da ação dos extratores.

A MS perdida pela ação de extratores pode também, em parte, estar relacionada à perda de partículas finas resultantes da moagem das amostras (Deschamps & Ramos, 2002). A adoção de procedimentos de pré-tratamento das amostras, com vistas a remover substâncias de baixa massa molecular, parece não alterar a concentração de ácidos fenólicos de amostras de gramíneas.

Cuidados adicionais poderiam ser tomados com relação às leguminosas. A adoção do pré-tratamento é uma prerrogativa do pesquisador, de acordo com os objetivos do seu estudo. Para Deschamps & Ramos (2002), a ação dos solventes é diferenciada sobre as amostras de diferentes origens.

A concentração de ácidos fenólicos na parede celular das forrageiras pode contribuir para o entendimento das limitações de digestão que muitas espécies tropicais apresentam. Tem-se postulado, que nas plantas jovens, os complexos éster/ácido ferúlico se constituem em sítios iniciadores para a polimerização da lignina (Morrison et al., 1998). Isso ocorre porque, com o envelhecimento dos tecidos, a quantidade de ferulatos com ligações éster tende a se manter, enquanto aqueles com ligações éter são incrementados (Morrison et al., 1998; Jung et al., 1998).

A interligação do ácido ferúlico com a arabinose e lignina cria obstáculos para a degradação dos polissacarídeos da parede celular das forragens (Grabber et al., 1998). As diversas formas pelas quais esses ácidos fenólicos podem se associar às hemiceluloses ou, mesmo, serem incorporados à lignina, constitui a grande barreira para a digestão dos materiais (Grabber et al., 1998; Lu & Ralph, 1999). Deschamps & Ramos (2002) observaram que a concentração dos ácidos fenólicos foi bastante distinta para o bagaço de cana, o capim-elefante e a folha de mandioca. A concentração média de ácido ferúlico não foi muito diferente entre bagaço de cana (4,56 µg/mg de MS) e capim-elefante (3,96 µg/mg de MS). Entretanto, a concentração de ácido p-cumárico foi bastante superior no bagaço de cana (18,98 µg/mg de MS) do que no capim elefante (5,87 µg/mg/MS), o que é um indicativo da reduzida digestão que o bagaço apresenta (Deschamps et al., 1996).

Deschamps & Ramos (2002), ao avaliarem a cromatografia líquida de alta eficiência na determinação de ácidos fenólicos em gramíneas tropicais, concluíram que esse método pode ser considerado simples e adequado para a

determinação de ácidos fenólicos na parede celular de forrageiras tropicais, permitindo o processamento de grande número de amostras. As gramíneas e leguminosas apresentam distintas concentrações de ácidos fenólicos, sendo superior nas gramíneas. A ação de solventes (etanol 80% e detergente neutro) sobre as amostras é distinta, já que o detergente neutro solubiliza maior quantidade de substâncias de baixa massa molecular em comparação ao etanol 80%.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e instalação do experimento

A forrageira utilizada neste estudo foi obtida no sítio Cata Vento, no município de Itutinga, Estado de Minas Gerais.

A Estação Climatológica mais próxima fica a, aproximadamente, 60 km de distância, no município de Lavras, região Sul de Minas, localizada nas coordenadas de 21°14' de latitude Sul, 45°00' de longitude Oeste de Greenwich, à altitude média de 910 (Castro Neto, et al., 1980). Segundo a classificação internacional de Koppen, o clima da região é do tipo Cwa, subtropical com verão quente e chuvoso e inverno frio e seco. A precipitação anual média é de 1.493,2 mm, com temperaturas máxima de 25,0°C e mínima de 14,6°C, em média (Vilela & Ramalho, 1980).

Nas Figuras 1 e 2 são apresentados dados sobre temperaturas, precipitação e umidade relativa (UR), durante o período de coleta das amostras.

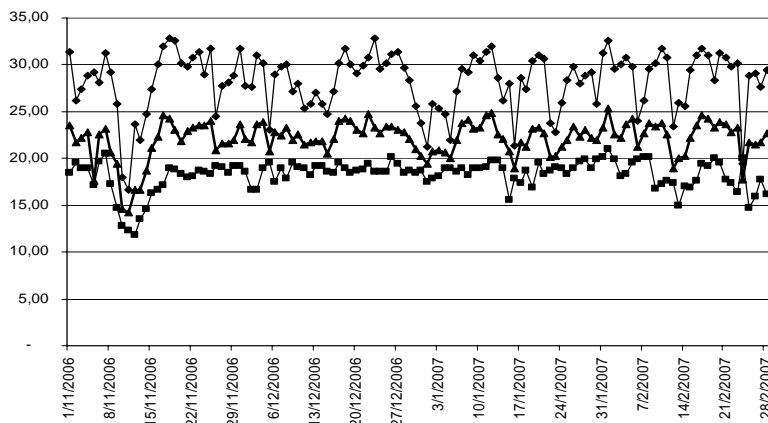


FIGURA 1. Representação gráfica das temperaturas máxima e mínima diárias, no período de novembro de 2006 a fevereiro de 2007 (Dados coletados pela Estação Climatológica Principal de Lavras, MG e fornecidas pelo Setor de Agroclimatologia do Departamento de Engenharia da UFLA)

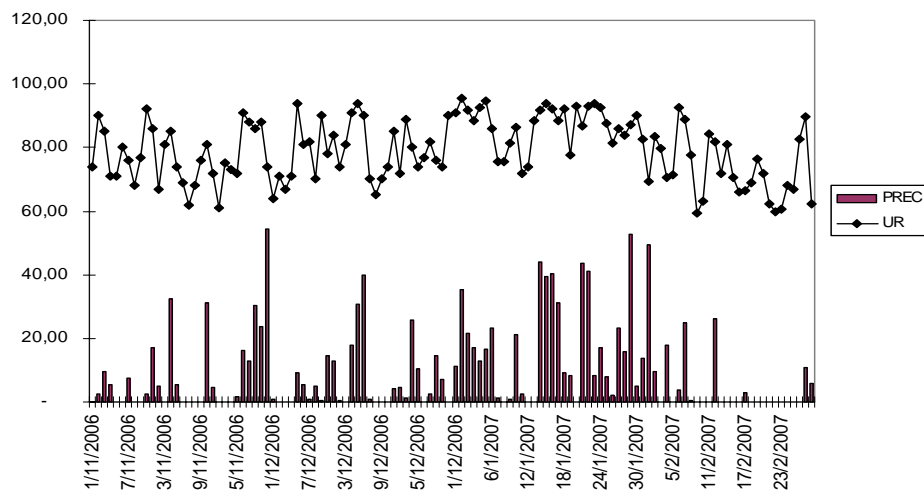


FIGURA 2. Representação gráfica da precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar, no período de novembro de 2006 a fevereiro de 2007 (Dados coletados pela Estação Climatológica Principal de Lavras, MG e fornecidas pelo Setor de Agroclimatologia do Departamento de Engenharia da UFLA).

3.2 Coleta e preparo das amostras

O material utilizado foi o feno de capim-coastcross (*Cynodon dactylon* x *Cynodon nlemfluensis*), produzido em campo de feno com três anos de formação, em solo cuja análise química de fertilidade apresentou valores relacionados na Tabela 1.

TABELA 1. Resultados da análise do solo da área experimental.

	P	K	Na	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H + Al
pH	mg/dm ³			cmolc/dm ³			
6,2	1,4	30	-	2,8	0,6	0,0	2,3
SB	(t)	(T)	V	m	ISNa	MO	P-rem
cmolc/dm ³			%			dag/kg	mg/L
3,5	3,5	5,8	60,2	0	-	3,6	7,7

Com base nos valores apresentados na Tabela 1, foi feita a adubação no início do período chuvoso com 150 kg/ha de monoamônio fosfato (MAP) e uma cobertura aos 40 dias de crescimento com 420 kg/ha da fórmula 20-05-20.

As amostras para cada idade de crescimento foram coletadas do interior de 10 fardos de feno, confeccionados com a forrageira cortada aos 20, 40, 60 e 80 dias de crescimento de verão. O processamento do feno na colheita foi mecânico, sendo empregada a segadora CM164, o ancinho revolvedor Haybob 300 e a enfardadora AP41N.

Por se tratar de feno e as amostras já estarem naturalmente secas e, em função das análises de ácidos fenólicos que seriam posteriormente realizadas, as amostras não foram submetidas à pré-secagem em estufa, sendo moídas diretamente em moinho do tipo Willey. O feno usado na determinação da degradabilidade foi moído em peneira de 5mm e para as demais análises, laboratoriais, foi moído em peneira de 2 mm. Após a moagem, todas as amostras foram armazenadas em potes plásticos, e devidamente identificadas.

3.3 Análises bromatológicas do feno

As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Pesquisa Animal do DZO/UFLA. Foram feitas as determinações de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e cinzas (CZ) de acordo com as técnicas descritas por Van Soest & Wine (1968). Para as determinações do nitrogênio não protéico (NNP), nitrogênio na parede celular (N-FDN), e nitrogênio indisponível (N-FDA), utilizando-se as técnicas descritas por Krishnamoorthy et al. (1972) e Association of Official Analytical chemists AOAC (1990).

3.4 Avaliação da degradabilidade ruminal

Na avaliação da degradabilidade ruminal foram utilizadas três vacas da raça Jersey fistuladas no rúmen, com peso vivo médio de 380 kg, as quais passaram por uma adaptação prévia de 14 dias, consumindo feno de capim-coastcross.

As vacas foram mantidas confinadas em baias individuais nas dependências do Laboratório de Pesquisa Animal do DZO-UFLA, onde recebiam, além de feno à vontade, 3,0 kg de ração concentrada/cabeça/dia, formulada conforme apresentado na Tabela 2.

TABELA 2. Composição da ração concentrada fornecida às vacas fistuladas.

INGREDIENTES	COMPOSIÇÃO (%)
Fubá de milho	55,8
Farelo de algodão	25,0
Polpa cítrica	10,4
Farelo de sôja	5,8
Mistura mineral	1,5
Sal	1,5

Foi utilizada a técnica de digestibilidade “*in situ*”, com sacos de náilon incubados no rúmen. A porosidade do náilon era de aproximadamente 50 μm e cada saco media 7 x 15 cm, totalizando uma área de 210 cm^2 . Todos os sacos foram fechados à quente com máquina seladora, identificados com caneta própria para tecido, secos em estufa, a 65°C, por 48 horas, retirados e colocados em dessecador até resfriarem, quando foram pesados.

Posteriormente, as amostras de feno moídas em moinho tipo Willey, com peneira de 5 mm, foram colocadas nos sacos, na quantidade de aproximadamente 3 gramas (15 mg/cm^2), sendo, em seguida, pesadas e o saco foi selado. Para facilitar a localização dos sacos dentro do rúmen, eles foram

colocados dentro de uma sacola de filó medindo 25 x 40 cm, contendo um peso de chumbo de, aproximadamente, 100 g. A sacola foi fechada de forma a não permitir a perda dos sacos no interior do rúmen, sendo também amarrada a um fio de náilon de aproximadamente 1,0 metro, que ficava preso externamente à tampa da fistula ruminal. O comprimento do fio de náilon e o peso de chumbo permitiram a movimentação da sacola nas fases sólida e líquida do rúmen.

A colocação dos sacos de náilon na sacola, no interior do rúmen se deu nos tempos 96, 72, 48, 24, 18, 12, 6 e 0 horas. Em seguida às incubações dos sacos, a sacola era empurrada para a região ventral do rúmen.

Para cada material, em cada vaca e em cada tempo, foram utilizado as três repetições (três sacos para cada idade do feno, em cada tempo e em cada vaca), perfazendo um total de 288 sacos.

Após o término de cada fase de incubação, as sacolas de filó foram retiradas do rúmen, abertas e os sacos de náilon contendo as sobras das amostras foram imediatamente lavados com água gelada, durante 30 minutos, em máquina apropriada, do mesmo modelo apresentado por Teixeira et al. (1992). Depois, foram colocados em estufa, a 65°C, durante 48 horas, resfriados em dessecador e pesados.

Os sacos de náilon referentes ao tempo zero, para determinar a fração prontamente degradável, foram introduzidos na massa ruminal e imediatamente retirados, recebendo, então, o mesmo tratamento destinado aos demais tempos.

Os resíduos remanescentes nos sacos recolhidos do rúmen foram analisados quanto aos teores de matéria seca (MS) e fibra em detergente neutro (FDN). A porcentagem de degradação foi calculada pela proporção de alimentos remanescentes nos sacos após a incubação ruminal. A determinação da FDN seguiu a metodologia proposta por Van Soest (1982) e as de MS seguiram as metodologias descritas pela AOAC (1990).

Os dados obtidos foram ajustados para uma regressão não linear pelo método de Gauss-Newton (Neter, et al., 1985), utilizando-se o Statistical Analysis System (SAS Institute, 2000), conforme a equação proposta por Orskov e McDonald (1979).

$$Y = a + b (1 - e^{-ct})$$

em que:

Y = degradabilidade acumulada do componente nutritivo analisado após um tempo t;

a = intervalo da curva de degradabilidade quando $t = 0$, correspondendo à fração solúvel do componente nutritivo analisado;

b = potencial de degradabilidade da fração insolúvel do componente nutritivo analisado;

$a + b$ = degradabilidade potencial do componente nutritivo analisado, quando o tempo t não é um fator limitante;

c = taxa de degradação por ação fermentativa da fração b.

Uma vez calculadas as constantes a, b e c, elas foram aplicadas à equação proposta por Orskov e McDonald (1979);

$$P = a + [(b.c)/(c+k)]$$

em que:

P = degradabilidade ruminal efetiva do componente nutritivo analisado;

k = taxa de passagem ruminal do alimento (0,05%h)

As degradabilidades efetivas ruminais foram calculadas e expressas em termos de matéria seca (MS) e fibra detergente neutro (FDN) efetivamente degradadas no rúmen.

3.5 Avaliação da concentração de ácidos fenólicos

3.5.1 Preparo das amostras

As amostras de feno foram moídas em peneira de 1 mm. Para remover as substâncias solúveis de baixa massa molecular, foram utilizados dois métodos de extração. Parte das amostras foi tratada com etanol 80% e parte com solução detergente neutro (SDN) (Deschamps, 1999).

Para a extração com etanol, 3 g da amostra para cada uma das idades, em 4 repetições, foram acondicionados em saquinhos de náilon medindo 5 x 7 cm, com cerca de 45 µm de porosidade. As amostras foram mantidas sob agitação em 1 litro da solução de etanol 80%, durante duas horas, em temperatura ambiente. Após esse período, as amostras foram lavadas em água corrente e deixadas para secar em estufa, a 60°C, conforme metodologia proposta por Deschamps (1999).

Para a extração com SDN, também foram utilizados 3 g de amostra, para cada uma das idades, em 4 repetições, sendo estas acondicionadas também em sacos de náilon com as mesmas características descritas anteriormente. As amostras foram, então, submetidas à extração em detergente neutro, por 40 minutos, em autoclave a 120°C (Deschamps, 1999).

Para efeito de comparação entre os dois métodos de extração, utilizaram-se, como testemunha, também 4 repetições de cada idade com 3 g do feno não submetido a nenhum tipo de extração prévia.

3.5.2 Reagentes utilizados

Os padrões dos ácidos fenólicos utilizados neste trabalho foram: vanilina, ácido caféico e ácido p-cumárico, ácido m-cumárico e o-cumárico. O solvente metanol de grau HPLC e o reagente ácido acético foram utilizados como fase móvel para a separação dos ácidos fenólicos. A água desmineralizada foi obtida a partir da purificação no sistema Milli-Q e utilizada no sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

3.5.3 Solubilização dos ácidos fenólicos

A solubilização dos ácidos fenólicos nas amostras foi realizada com base na literatura (Deschamps & Ramos, 2002): 50,0 mg de amostra foram submetidos à extração em um tubo de ensaio, com 5,0 mL de NaOH 1,0 mol L⁻¹, por 24 horas. Em seguida, o material foi filtrado em filtro de fibra de vidro e lavado com água Milli-Q, sendo o filtrado acidificado para pH 2,5, com a adição de 0,7 mL de uma solução de HCl:H₂O (1:1). O volume final foi ajustado para 10,0 mL, com água Milli-Q, sendo retirados 2,0 mL para posterior análise. Após uma noite em geladeira, o material foi centrifugado (1.000 rpm por 10 minutos), sendo deixado em congelador até o momento da análise. Após o descongelamento, as amostras foram novamente centrifugadas (1.000 rpm por 10 minutos) e imediatamente filtradas em membrana de polietileno 0,45 µm, tendo 20 µL dessa solução sido injetados no sistema CLAE.

3.5.4 Estudo cromatográfico dos ácidos fenólicos

As análises cromatográficas foram realizadas em um sistema CLAE Varian equipado com uma bomba ternária (Varian modelo 9012) e um injetor

automático (Varian modelo 9300). O detector empregado no sistema CLAE foi um detector espectrofotométrico na região do UV/Vis (Varian modelo 9050), com comprimento de onda fixado em 330 nm.

As amostras foram injetadas em uma coluna LC Shim-pack CLC-ODS (150 cm x 4,6 mm, 5 μ m) marca Shimadzu, conectada a uma pré-coluna analítica LC Shim-pack CLC-ODS (1,0 cm x 4,0 mm, 5 μ m – Shimadzu) e a fase móvel utilizada foi composta pelos solventes metanol 100% (grau HPLC) solvente A e solução de ácido acético 2% - solvente B. Foi utilizado um sistema do tipo gradiente e a composição da fase móvel otimizada está representada na Tabela 3. O fluxo utilizado em todas as análises foi de 1,1 mL min⁻¹.

TABELA 3 – Composição do gradiente da fase móvel otimizada.

Solução	Tempos (minutos)					
	00:01	00:15	00:20	00:30	00:40	00:50
A%	10	33	33	55	100	10
B%	90	67	67	45	-	90

A determinação do perfil cromatográfico da solução padrão dos ácidos fenólicos vanilina, ácido caféico, ácido p-cumárico, m-cumárico e o-cumárico foi feita por meio da detecção espectrofotométrica destes ácidos, obtida após a injeção de 20 μ L da solução contendo a mistura de todos os seus padrões com metanol PA ($1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹), conforme metodologia descrita por Deschamps & Ramos (2002). O perfil cromatográfico obtido está apresentado na Figura 3.

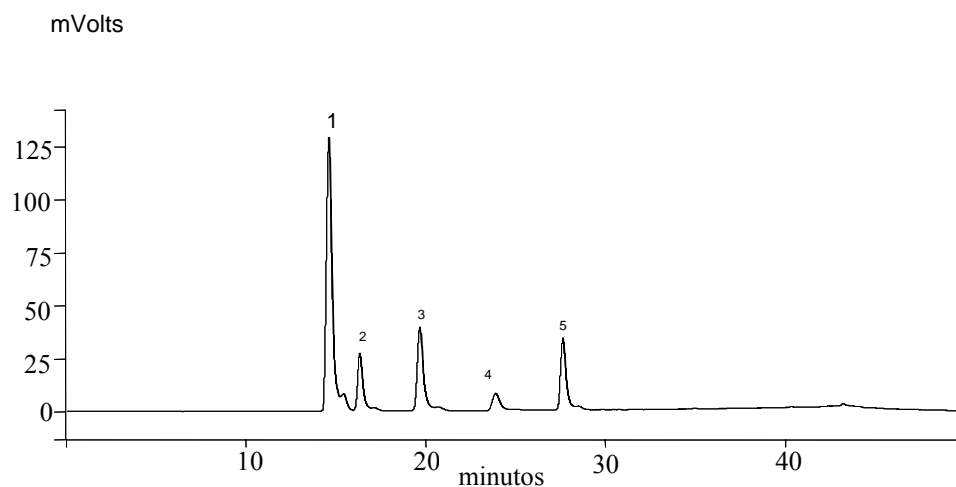


FIGURA 3. Cromatograma da solução de ácidos fenólicos ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) com detecção espectrofotométrica em 330 nm. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 = ácido m-cumárico (tr = 24,7 min); 5 = ácido o-cumárico = 28,3 min.

3.5.5 Determinação dos ácidos fenólicos nas amostras

As conversões quantitativas dos ácidos fenólicos vanilina, ácido caféico, ácidos p-cumárico, m-cumárico e o-cumárico presentes nas amostras do capim-coastcross foram determinadas e quantificadas utilizando-se o método da curva analítica.

A determinação das curvas analíticas das soluções padrões de ácidos fenólicos foi obtida por meio de diluições das soluções concentradas de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução contendo a mistura metanol:solução ácido acético 2%, obtendo-se soluções em um intervalo de concentração de $1,86 \times 10^{-6}$ a $1,75 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. A detecção espectrofotométrica das soluções padrões de ácidos

fenólicos no sistema cromatográfico foi ofertada medindo-se a resposta do detector (área) em função da concentração, com comprimento de onda de 330 nm e o volume de injeção foi de 20 µL em todas as medidas, conforme metodologia empregada por Deschamps & Ramos (2002).

As curvas analíticas dos ácidos fenólicos foram obtidas por regressão linear, obtendo-se as áreas dos picos a 330 nm de cada um dos compostos versus sua concentração, e são apresentadas nas Figuras 4 a 8.

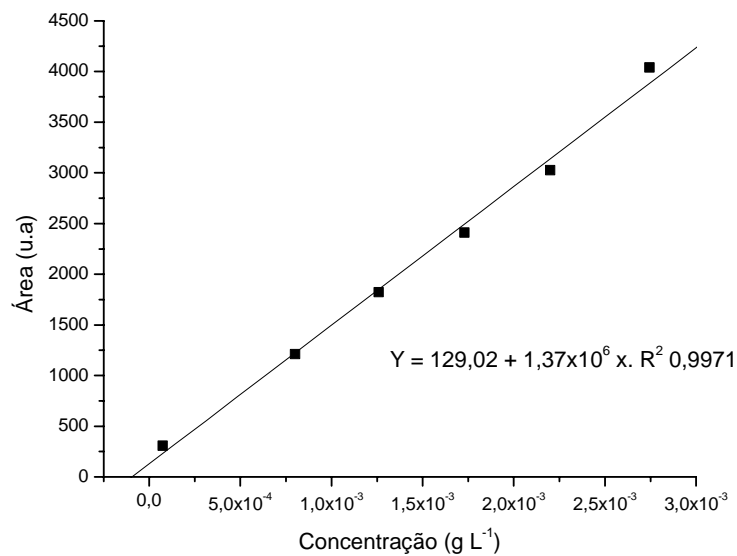


FIGURA 4. Curva analítica obtida da solução de ácido cafêico.

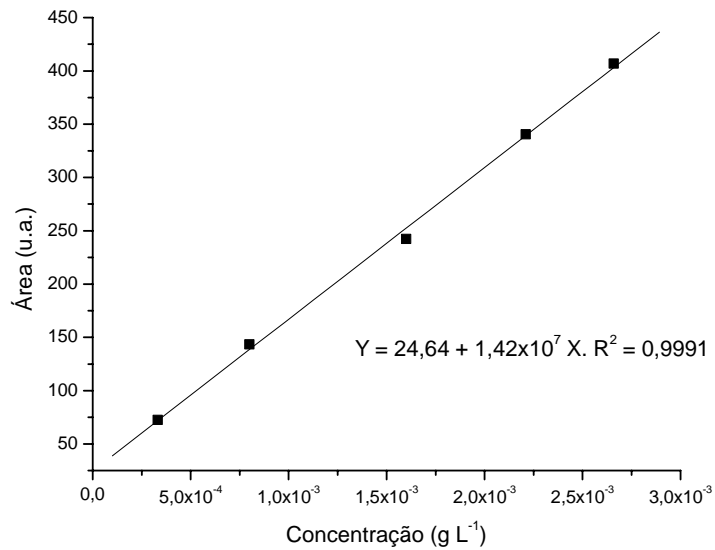


FIGURA 5. Curva analítica obtida da solução de vanilina.

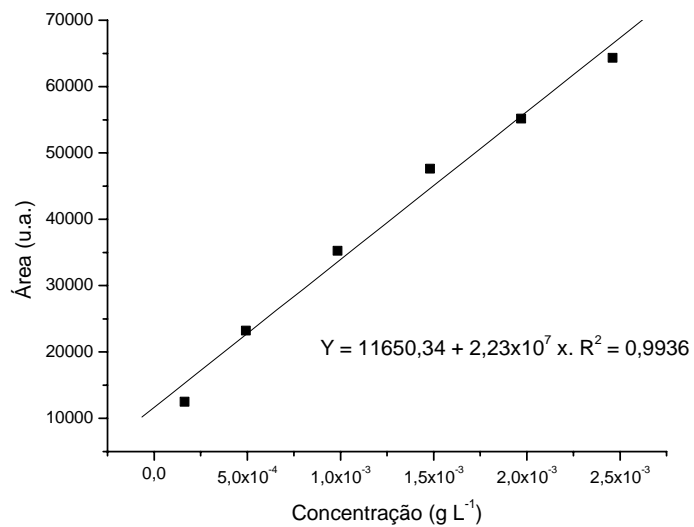


FIGURA 6. Curva analítica obtida da solução de ácido p-cumárico.

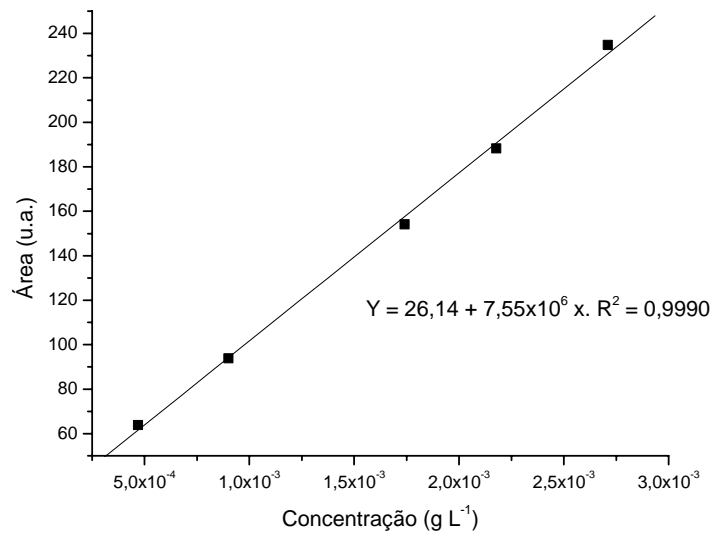


FIGURA 7. Curva analítica obtida da solução de ácido m-cumárico.

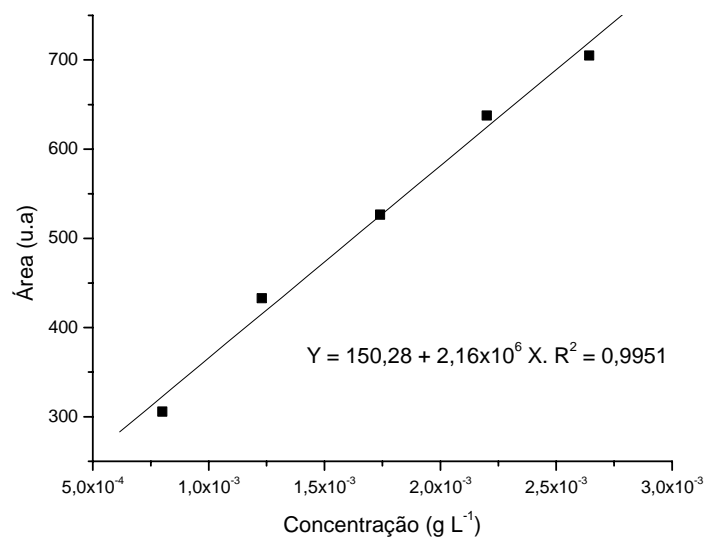


FIGURA 8. Curva analítica obtida da solução de ácido o-cumárico.

3.6 Delineamento experimental e modelo estatístico

Nos ensaios de degradabilidade potencial e efetiva e nas análises bromatológicas foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições. O modelo estatístico utilizado foi o seguinte:

$$Y_{ij} = \mu + I_i + e_{ij}$$

em que:

Y_{ij} = observação referente à idade de corte “i”, na repetição “j” ;

μ = média geral;

I_i = efeito da idade de corte “i”, com $i = 1, 2, \dots 4$;

e_{ij} = erro experimental independente associado a todos os valores observados que, por hipótese, tem distribuição normal com média zero e variância σ^2 .

O delineamento experimental utilizado na determinação da concentração dos ácidos fenólicos no feno também foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 3, sendo quatro idades do feno (20, 40, 60 e 80 dias de corte) e três métodos de extração (sem extração, extração com etanol 80% e extração com SDN).

O modelo estatístico utilizado foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + I_i + M_j + IM_{ij} + e_{ijk}$$

em que:

Y_{ijk} = observação referente à idade de corte “i”, submetido ao método de extração “j” na repetição “k”;

μ = média geral;

I_i = efeito da idade de corte “i”, com $i = 1, 2, \dots 4$;

M_j = efeito do método de extração “j”, com $i = 1, 2$ e 3 ;

IM_{ij} = efeito da interação da idade de corte com método de extração;

e_{ijk} = erro experimental independente, associado a todos os valores observados que, por hipótese, tem distribuição normal com média zero e variância σ^2 , com $k = 1, 2, \dots, 4$.

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e, quando significativas, as médias dos tratamentos foram submetidas ao estudo de regressão, por meio do programa Sisvar (Ferreira,2000). Para o ensaio de ácidos fenólicos, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, quando significativa, a idade foi submetida ao estudo de regressão e o método de extração comparado pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Composição química do capim coastcross

A composição química do feno é apresentada na Tabela 1A. Os resultados da análise de variância indicaram efeitos significativos ($P < 0,01$) entre os componentes nutritivos da gramínea utilizado na confecção do feno com o avanço na idade da planta (Tabelas 2A, 3A e 4A).

Os teores de MS, PB e EE diminuíram linearmente com o avanço da idade da forrageira, demonstrando um efeito significativo ($P < 0,01$) da idade de corte do feno sobre os teores desses componentes (Figuras 9, 10 e 11).

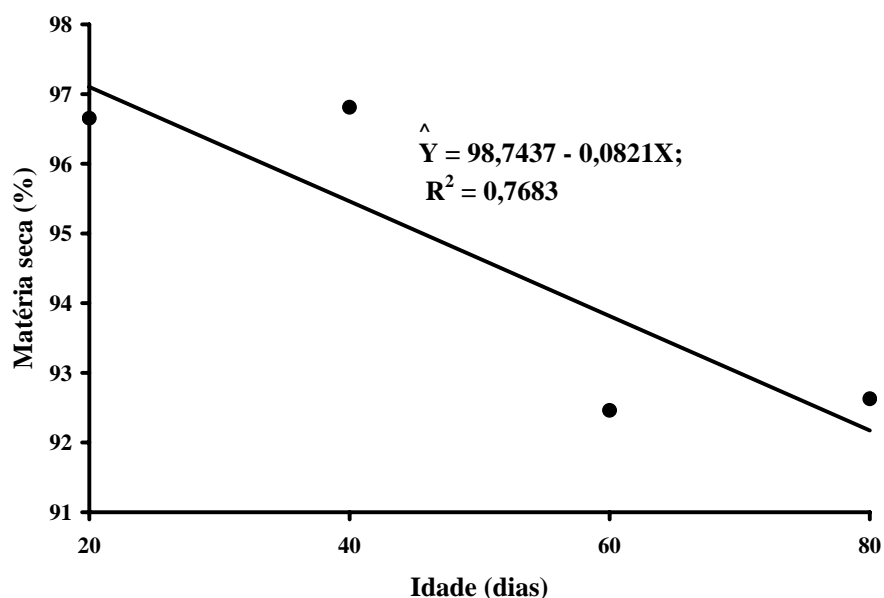


FIGURA 9. Efeito da idade no teor de matéria seca do feno de capim-coastcross.

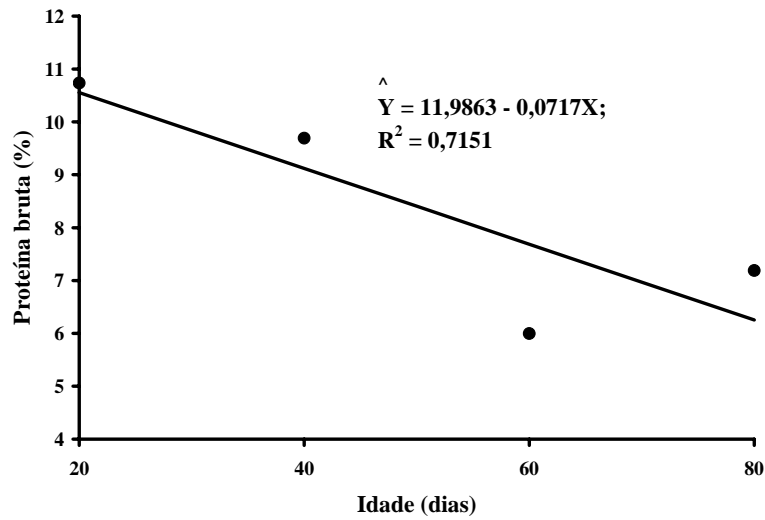


FIGURA 10. Efeito da idade no teor de proteína bruta do feno de capim-coastcross.

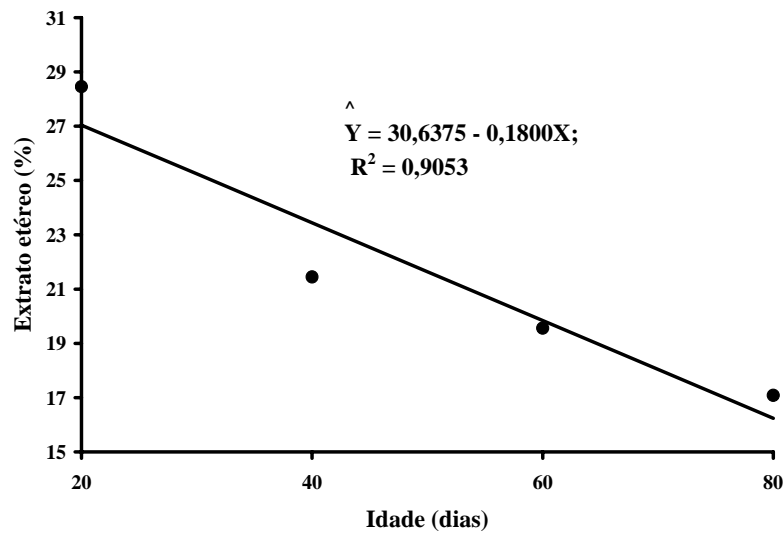


FIGURA 11. Efeito da idade no teor de extrato etéreo do feno de capim-coastcross.

Embora estatisticamente significativa, a diminuição nos teores de MS observado entre as diferentes idades durante o período experimental foi pequena, estando relacionada com a perda de folhas no processo de confecção mecânica dos fardos e, também, pela maior perda de umidade da forragem na idade mais nova, quando os talos estão bastante tenros.

Os teores de PB e EE diminuíram conforme já se previa, uma vez que, com o avanço da idade, a planta acumula mais material fibroso, ocorrendo redução na relação folha/caule e, conseqüentemente, nos teores desses nutrientes. Essa é uma tendência comum a todas as espécies forrageiras (Loch, 1977; Rocha, 1979; Reis, 2000).

Após um período inicial de ligeiro aumento nos teores de CZ e FDN até os 40 dias, possivelmente resultante da resposta à adubação de cobertura (Figuras 12 e 13), essas variáveis sofreram um decréscimo acentuado até os 80 dias, seguindo-se um comportamento quadrático, causando uma diminuição significativa ($P < 0,01$) de seus teores com o avanço da idade das plantas.

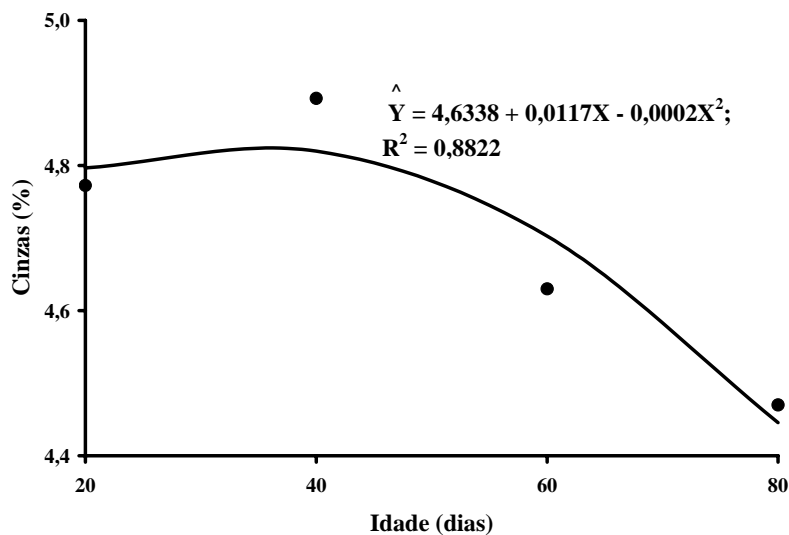


FIGURA 12. Efeito da idade no teor de cinzas do feno de capim-coastcross.

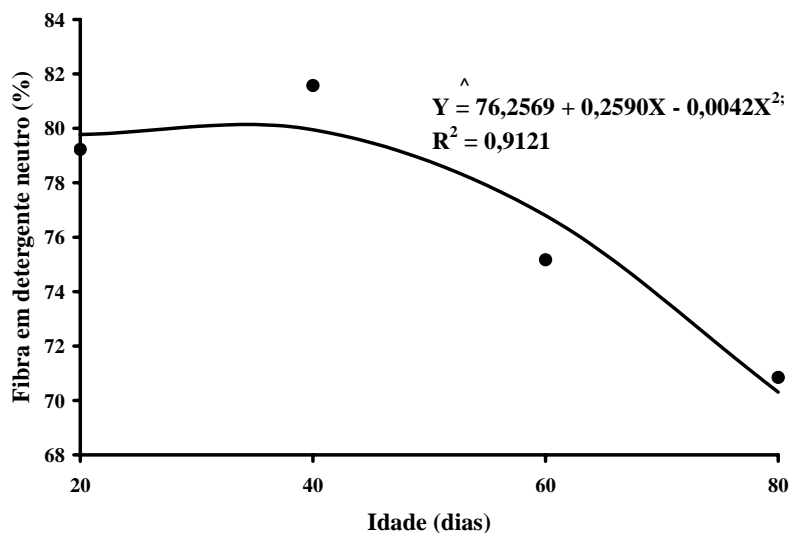


FIGURA 13. Efeito da idade no teor de fibra em detergente neutro do feno de capim-coastcross.

Reis (2000) também observou um decréscimo semelhante nos teores de FDN nos capins coastcross (*Cynodon dactylon* x *Cynodon nlemfluensis*), Tifton 85 (*Cynodon spp.*), Gordura (*Melinis minutiflora*), braquiária africana (*Brachiaria decumbens*) e braquiarão (*Brachiaria brizantha*). Esse decréscimo da FDN como avanço da idade de forrageiras tropicais também foi observado por David (2001), em estudos com os capins colômbio (*Panicum maximum*, Jacq.), cameroon (*Pennisetum purpureum*, Schum.) e napier (*Pennisetum purpureum*, Schum.).

O decréscimo no teor de CZ pode também estar relacionado à perda das folhas mais velhas. Diminuições nos teores desses componentes também foram observadas por Reis (2000); no entanto, em seus estudos, a diminuição ocorreu de forma linear.

Com relação aos teores de FDA (Figura 14), observa-se um pequeno aumento, entretanto, com efeito linear ascendente significativo ($P < 0,01$), com o

avanço da idade da forrageira como consequência do aumento da relação caule/folha que, normalmente, ocorre com o avanço da idade da planta. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Reis (2000), para capim-coastcross e Tifton 85.

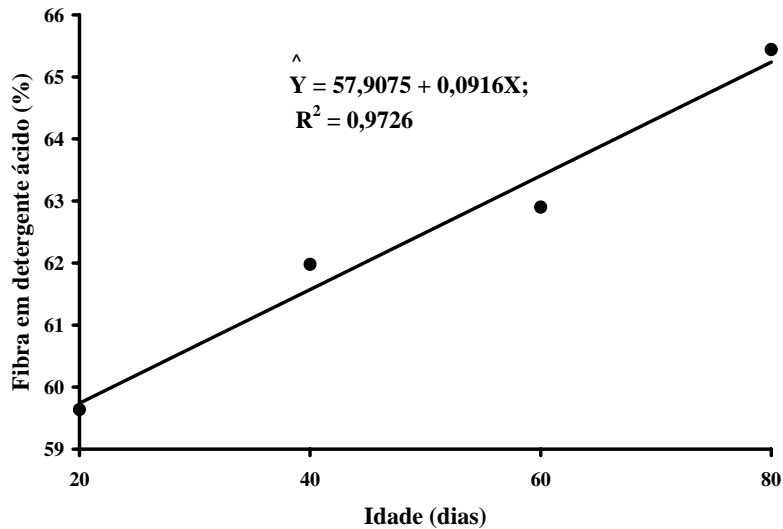


FIGURA 14. Efeito da idade no teor de fibra em detergente ácido do feno de capim-coastcross.

O teor de NFDN sofreu uma diminuição, manifestada de forma quadrática (Figura 15), bastante acentuada até os 60 dias. Isso, possivelmente, se deve à modificação na composição da parede celular ocorrida com o avanço da idade da forrageira, o que aumentou proporcionalmente a quantidade de carboidratos estruturais, diminuindo, conseqüentemente, a quantidade de compostos nitrogenados nas células das plantas. Entre 60 e 80 dias, o teor desse componente voltou a aumentar, possivelmente decorrente da rebrota da forrageira com o avanço da idade. Pelos mesmos motivos, ocorreram reduções lineares dos teores de NFDA e NSOL (Figuras 16 e 17).

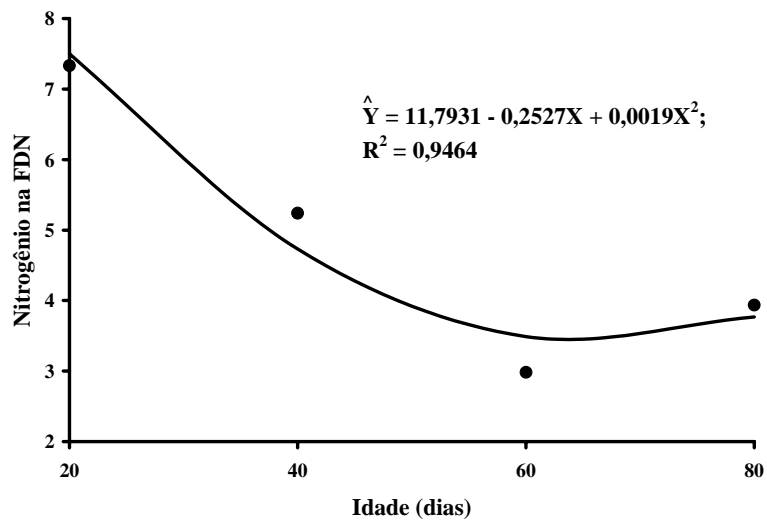


FIGURA 15. Efeito da idade no teor de nitrogênio na FDN do feno de capim-coastcross.

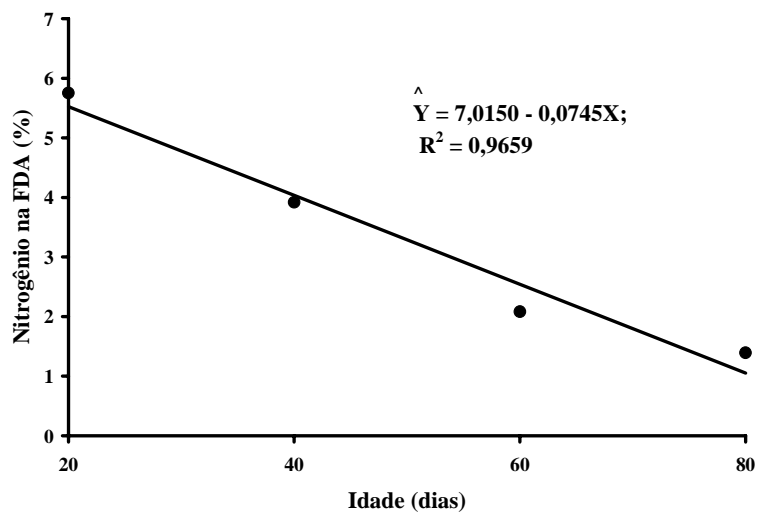


FIGURA 16. Efeito da idade no teor de nitrogênio na FDA do feno de capim-coastcross.

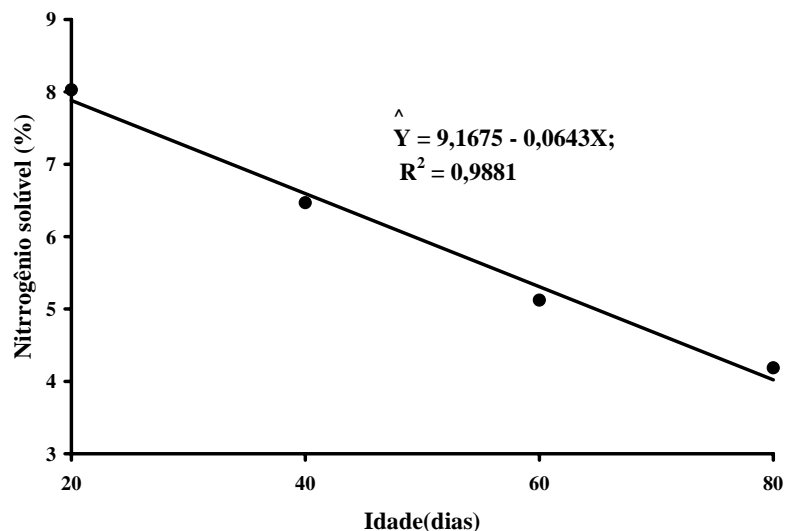


FIGURA 17. Efeito da idade no teor de nitrogênio solúvel do feno de capim-coastcross.

4.2 Cinética da degradação ruminal

4.2.1 Degradação da matéria seca

Observou-se efeito significativo ($P < 0,01$) da idade do capim, na degradação de algumas das frações estudadas e também entre os extratores testados (Tabela 5A).

Avaliando-se a degradabilidade da MS, das frações, não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre as idades estudadas sobre a degradação da fração solúvel (a), fração potencialmente solúvel (b) e a taxa de degradação (c) da MS da forrageira (Tabela 7A).

Para o comportamento da fração indegradável (FI) da MS, observou-se efeito significativo ($P < 0,01$), nas diferentes idades estudadas (Figura 18), diminuindo levemente de 20 aos 40 dias, aumentando de 40 aos 60 dias e

voltando a decrescer acentuadamente dos 60 aos 80 dias. O aumento observado entre os 40 e 60 ocorreu devido ao aumento da relação caule/folha resultante do crescimento mais acelerado da forrageira, manifestado logo após a adubação de cobertura realizada aos 40 dias de idade.

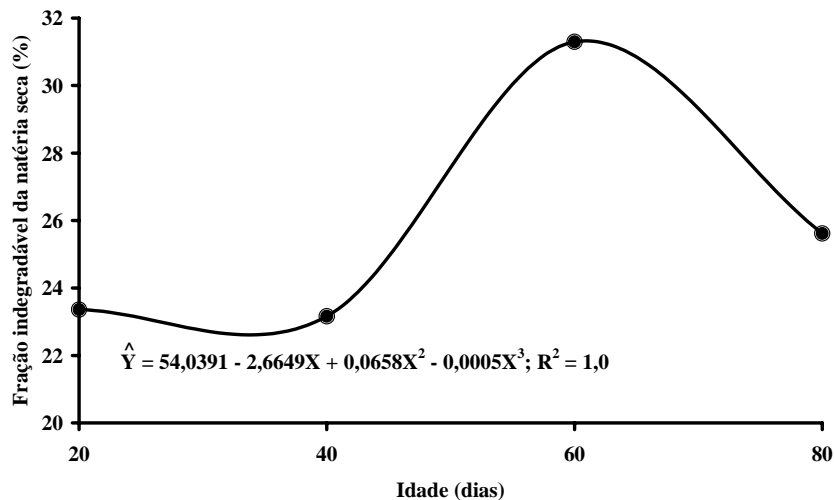


FIGURA 18. Fração indegradável (FI) da MS do feno de capim-coastcross em função das diferentes idades.

Da mesma forma da fração indegradável (FI), a degradabilidade potencial (DP) da MS foi influenciada significativamente ($P < 0,01$) pela idade (Tabela 8A), com comportamento cúbico (Figura 19). Inicialmente, essa variável apresentou um ligeiro aumento até os 40 dias, decrescendo acentuadamente até os 64 dias e voltando a crescer até os 80 dias.

A diminuição da degradação observada até os 64 dias coincide com o aumento dos carboidratos fibrosos da parede celular da planta, decorrente do avanço da idade da mesma.

Já a melhora na degradabilidade potencial após os 64 dias ocorreu, possivelmente, pela modificação da composição química da forragem em função da rebrota natural da forrageira decorrente do florescimento e quebra da dominância apical, verificada dos 64 para os 80 dias de idade. Valores semelhantes de DP (65,37 e 66,5%) foram encontrados, respectivamente, por Reis (2005) e Itavo et al (2002).

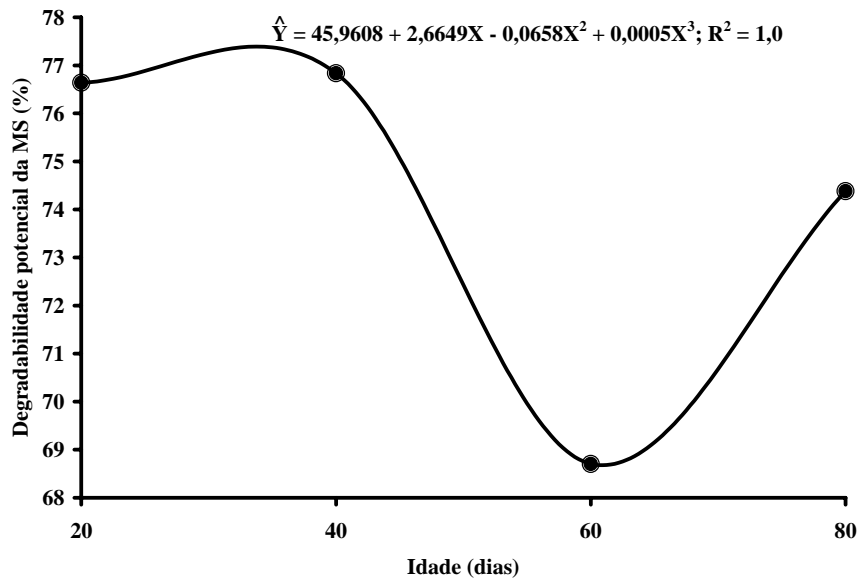


FIGURA 19. Degradabilidade potencial da MS do feno de capim-coastcross em função das diferentes idades.

Não foi observada diferença ($P > 0,05$) na degradação efetiva (DE) entre as idades do capim-coastcross estudadas. Valores semelhantes de degradação potencial foram apresentados por Reis (2005) que encontrou 36,51% em capim-coastcross, em cultura já implantada, 42 dias após um corte de uniformização e adubação de reposição.

As curvas de desaparecimento da MS do feno em função do tempo de

incubação estão ilustradas na Figura 20. De forma geral, nota-se que o comportamento do desaparecimento da MS segue a tendência de aumentar gradativamente com o avanço no tempo de incubação dos fenos, inicialmente mais acelerado, pela maior disponibilidade das frações degradáveis nos fenos, tendendo a se estabilizar com o avanço do tempo de incubação, seguindo a mesma tendência nas diferentes idades de colheita.

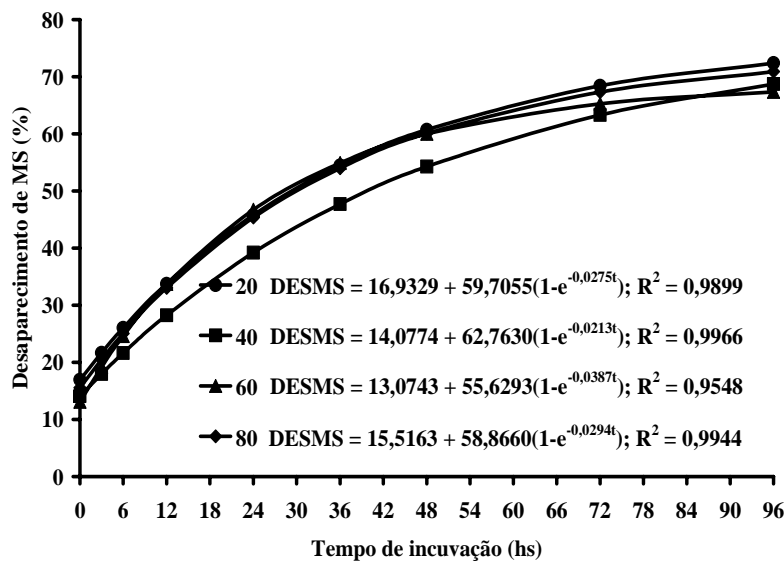


FIGURA 20. Curvas de desaparecimento da MS, em função dos tempos de incubação do feno nas diferentes idades

4.2.2 Degradação da fibra em detergente neutro

Não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre as idades avaliadas sobre a fração indegradável (FI) e a degradabilidade potencial (DP) da FDN da MS (Tabela 11A).

A fração solúvel (a) da FDN apresentou efeito significativo ($P < 0,01$) nas diferentes idades estudadas, diminuindo lentamente até os 40 dias e depois mais acentuadamente até os 58 dias e voltando a aumentar consideravelmente aos 80 dias (Figura 21). A diminuição da solubilidade observada aos 58 dias é resultante do aumento gradativo de carboidratos fibrosos na parede celular das plantas, resultante do aumento da relação caule/folha decorrente do envelhecimento da planta. O aumento da degradabilidade da fração solúvel (a) observado aos 80 dias pode estar relacionado com o fato de já estar ocorrendo rebrota da forrageira nessa idade.

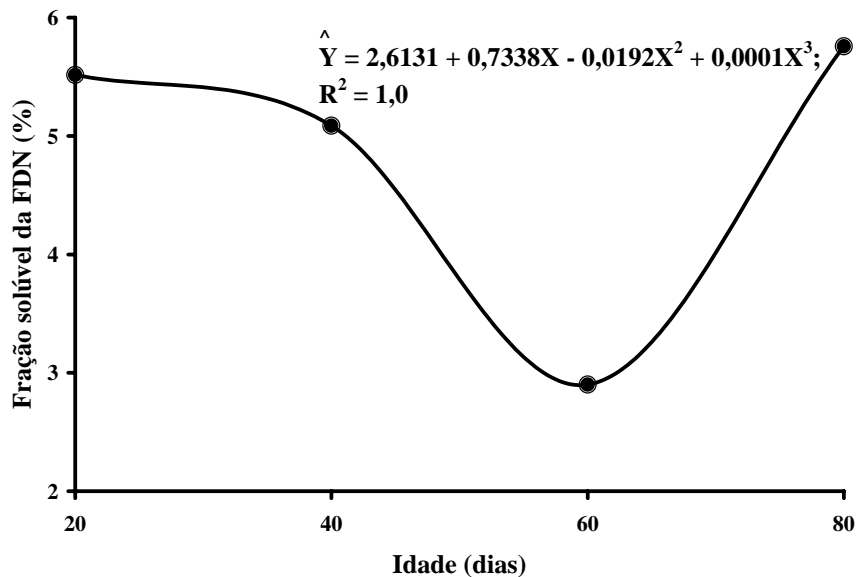


FIGURA 21. Degradação da fração solúvel (a) da FDN do feno de capim-coastcross em função das diferentes idades.

Os valores encontrados na degradação da fração solúvel (a) se assemelham aos valores de 3,0%, 6,4%, 8,8% e 2,52% encontrados, respectivamente, por Malafaia et al. (1998), Oliveira et al. (1999), Itavo et al.

(2002) e Reis (2005), também em capim-coastcross e, de acordo com Itavo et al. (2002), indicam a não existência de perdas de material insolúvel em água.

A fração potencialmente degradável (b) da FDN também apresentou efeito significativo ($P < 0,01$) com o avanço da idade do capim-coastcross (Figura 22). No entanto, o comportamento foi inverso ao da fração solúvel (a), como esperado. A degradação da fração potencialmente solúvel (b) aumentou acentuadamente até os 66 dias, voltando a diminuir aos 80 dias. Esse comportamento é explicado pelas mesmas razões apresentadas para a MS.

Avaliando a fração potencialmente degradável (b) do capim-coastcross, Oliveira et al. (1999), Itavo et al. (2002) e Reis (2005) também observaram valores bastante semelhantes ao encontrados nesse estudo, de 60,55%, 70,00% e 63,43%, respectivamente.

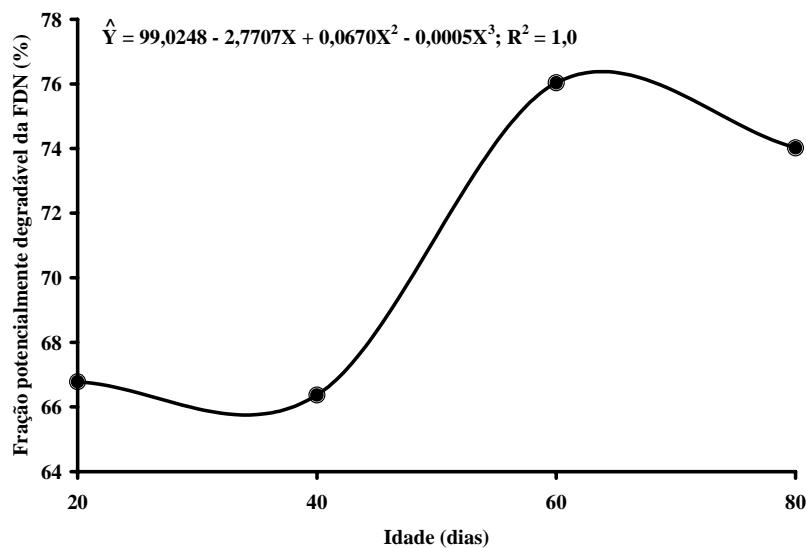


FIGURA 22. Degradação da fração insolúvel potencialmente degradável (b) da FDN do feno de capim-coastcross em função das diferentes idades.

A taxa de degradação (c) da FDN da MS do feno de capim-coastcross diminuiu de forma significativa ($P < 0,01$) e acentuada até os 56 dias, aumentando, em seguida, até os 80 dias de idade da forrageira (Figura 23). Esse mesmo comportamento também foi observado com a degradabilidade efetiva (DE) da FDN (Figura 24), em resposta à modificação da parede celular que causou efeito negativo na degradabilidade até aos 47 dias de idade, voltando a se manifestar positivamente aos 80 dias como decorrência da rebrota da forrageira.

Taxas semelhantes de degradação foram encontradas por Malafaia et al. (1998), Oliveira et al. (1999), Itavo et al. (2002) e Reis (2002), que encontraram valores de 3,0%, 2,6%, 3,5% e 4,0%, respectivamente, em capim-coastcross.

No que se refere à degradabilidade efetiva (DE) da FDN do feno do capim-coastcross, estudos de Oliveira et al. (1999), Itavo et al. (2002) e Reis (2005) encontraram valores semelhantes, 39,75%, 33,12% e 27,74%, respectivamente. No entanto, em outros trabalhos, registraram-se DE diferentes, como o de Malafaia et al. (1998), de 21,1% e Assis et al. (1999), de 51%.

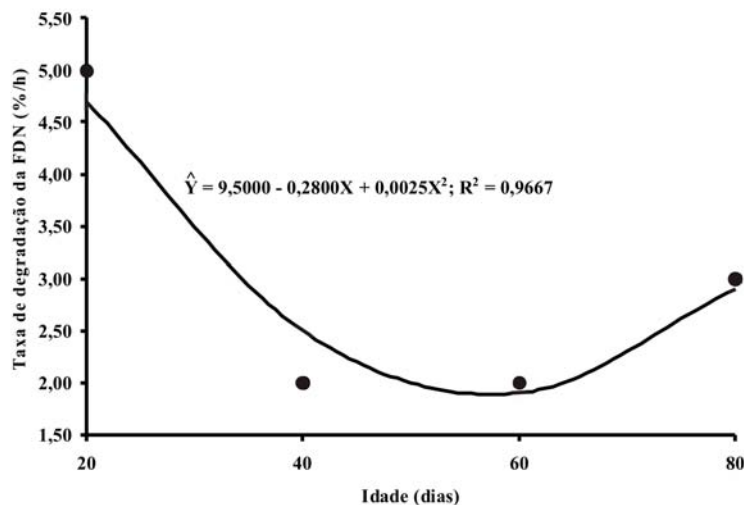


FIGURA 23. Taxa de degradação (c) da FDN do feno de capim-coastcross em função das diferentes idades.

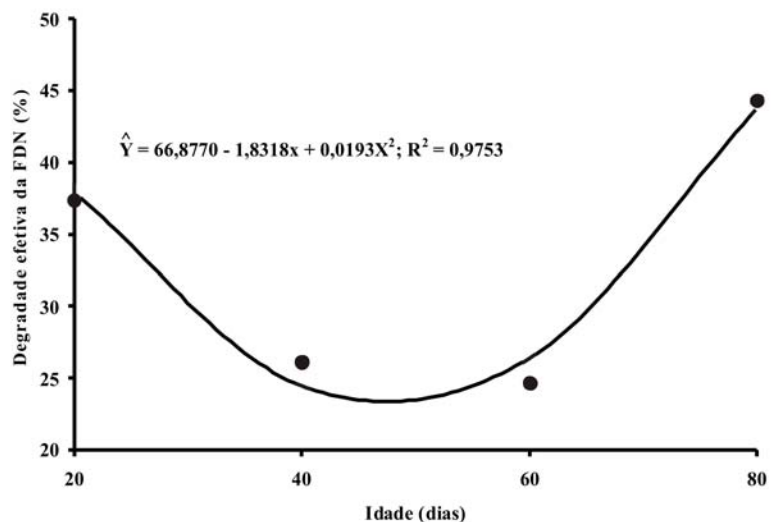


FIGURA 24. Degradabilidade efetiva da FDN do feno de capim-coastcross em função das diferentes idades.

O desaparecimento da FDN da MS do feno de capim-coastcross em função do tempo de incubação está ilustrado na Figura 25. De modo geral, nota-se que o comportamento do desaparecimento da FDN se mostrou mais acelerado nos primeiros momentos, principalmente para os fenos de 20 e 80 dias de idade, os quais atingiram estabilidade na degradação logo nas primeiras 24 horas de incubação. Esse comportamento ocorre em função da maior disponibilidade de material degradável, que ocorre naturalmente na forrageira mais nova e também após a rebrota aos 80 dias.

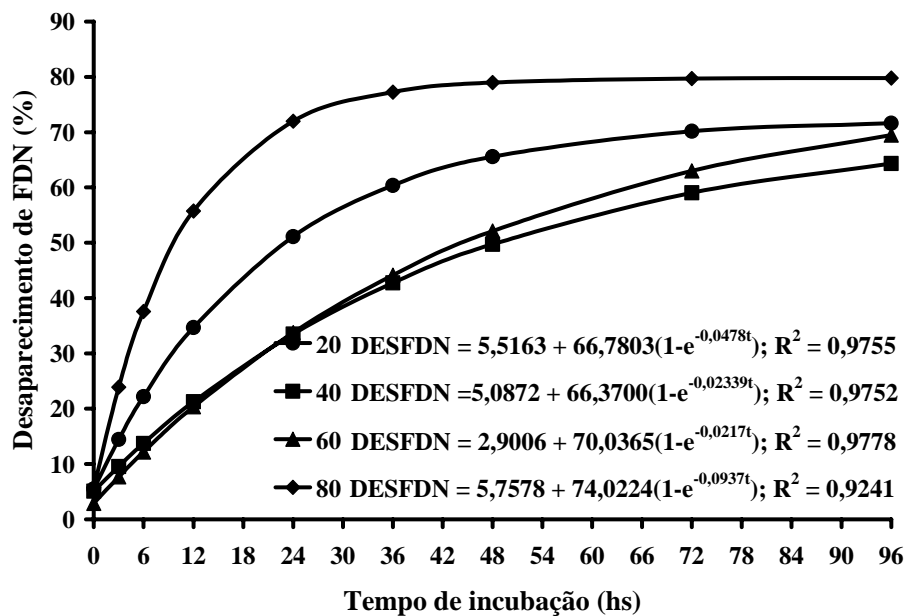


FIGURA 25. Curva de degradação da FDN em função do tempo de incubação do feno de capim-coastcross nas diferentes idades.

4.3 Ácidos fenólicos

4.3.1 Concentração de ácidos fenólicos nas amostras

A concentração dos ácidos fenólicos estudados foi encontrada relacionando-se as áreas dos picos de cada ácido, obtida por meio das análises cromatográficas de cada amostra, com o perfil cromatográfico e com as curvas analíticas dos ácidos.

Nas Figuras 26 a 29, observam-se os perfis cromatográficos encontrados nas amostras de feno nas diferentes idades, sem a utilização de extratores. As áreas apresentadas referem-se aos valores médios obtidos nas repetições.

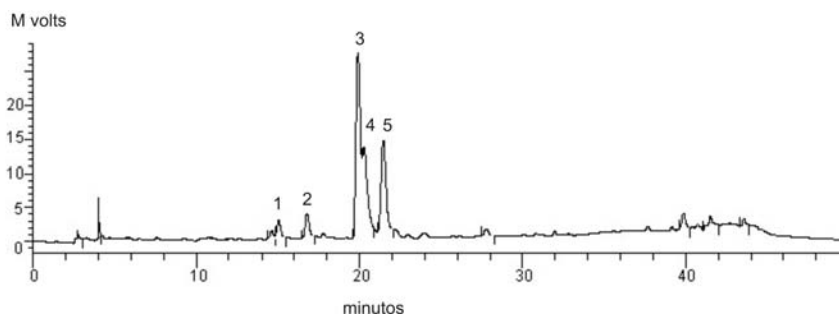


FIGURA 26. Cromatograma da amostra de feno coletada aos 20 dias de crescimento, sem extração. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 e 5 = não identificados.

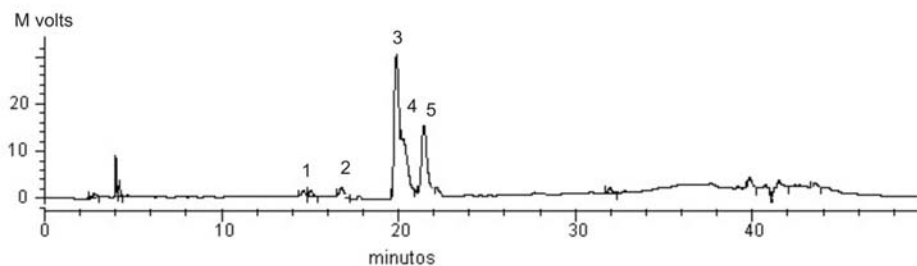


FIGURA 27. Cromatograma da amostra de feno coletada aos 40 dias de crescimento, sem extração. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 e 5 = não identificados.

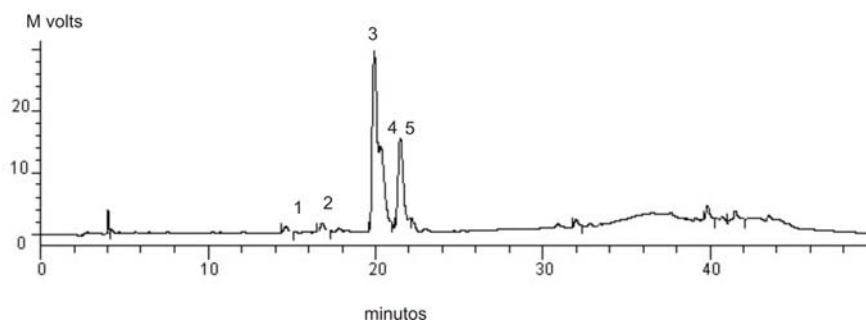


FIGURA 28. Cromatograma da amostra de feno coletada aos 60 dias de crescimento, sem extração. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 e 5 = não identificados.

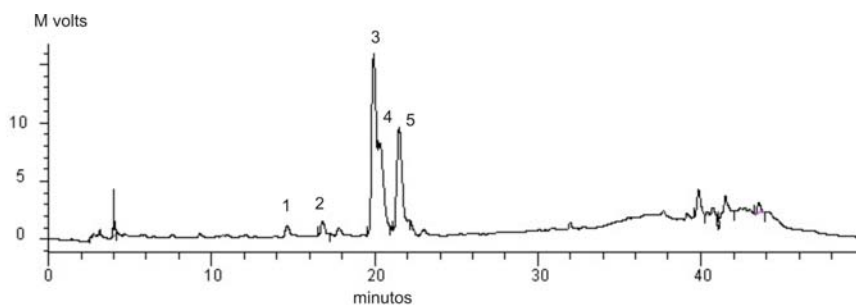


FIGURA 29. Cromatograma da amostra de feno coletada aos 80 dias de crescimento, sem extração. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 e 5 = não identificados.

Nas Figuras 30 a 33 observam-se os perfis cromatográficos encontrados nas amostras de feno nas diferentes idades, utilizando-se o etanol 80% como extrator. As áreas apresentadas referem-se aos valores médios obtidos nas repetições.

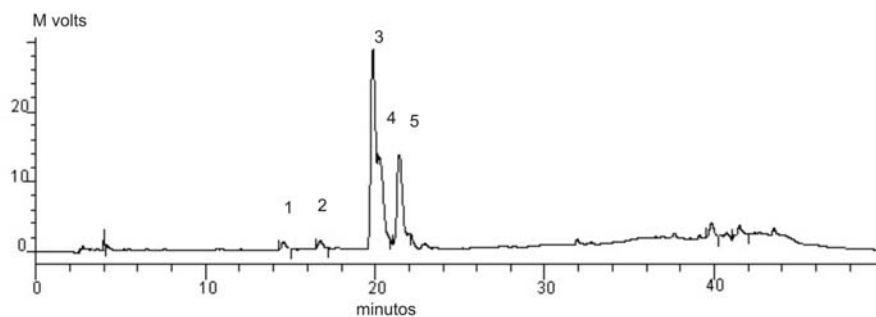


FIGURA 30. Cromatograma da amostra de feno coletada aos 20 dias de crescimento e extração com etanol 80%. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 e 5 = não identificados.

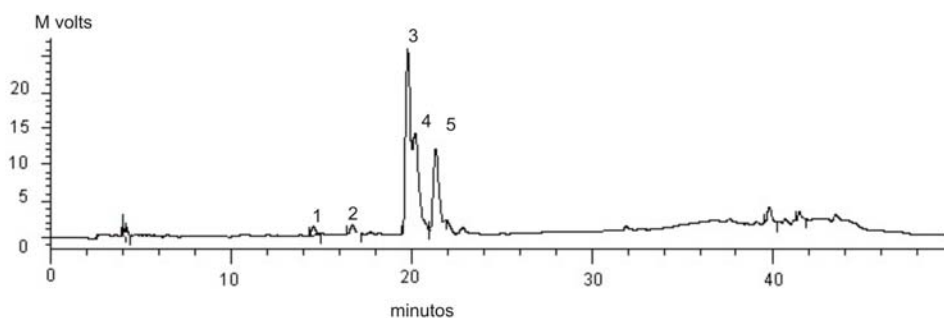


FIGURA 31. Cromatograma da amostra de feno coletada aos 40 dias de crescimento e extração com etanol 80%. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 e 5 = não identificados.

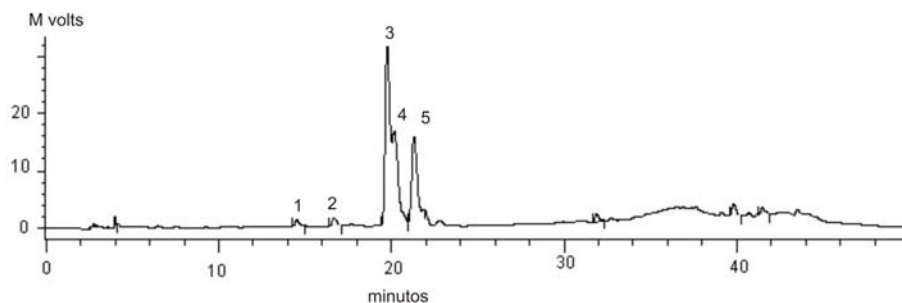


FIGURA 32. Cromatograma da amostra de feno coletada aos 60 dias de crescimento e extração com etanol 80%. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 e 5 = não identificados.

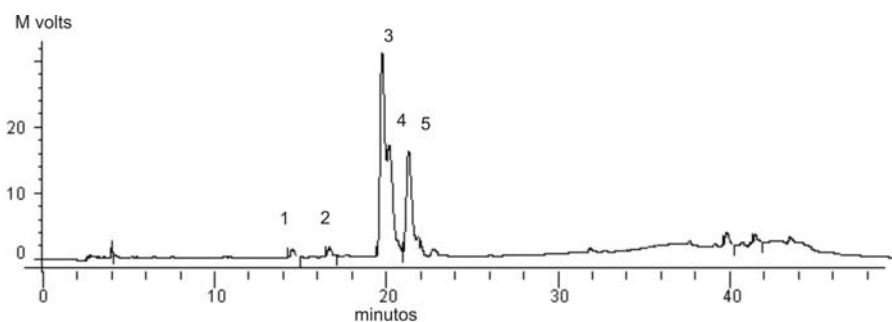


FIGURA 33. Cromatograma da amostra de feno coletada aos 80 dias de crescimento e extração com etanol 80%. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 e 5 = não identificados.

Nas Figuras 34 a 37 observam-se os perfis cromatográficos encontrados nas amostras de feno nas diferentes idades, utilizando SDN como extrator. As áreas apresentadas referem-se aos valores médios obtidos nas repetições.

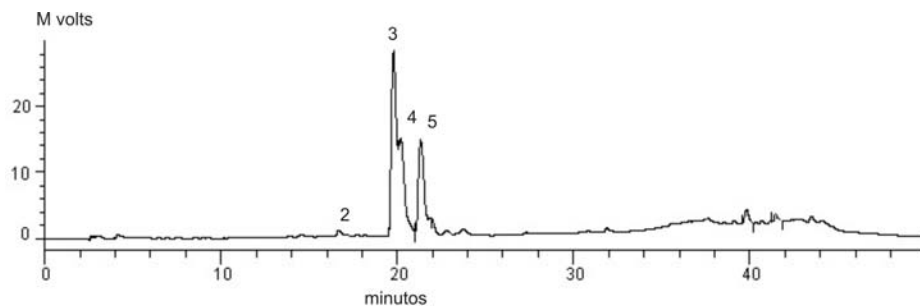


FIGURA 34. Cromatograma da amostra de feno coletada aos 20 dias de crescimento e extração com SDN. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 e 5 = não identificados.

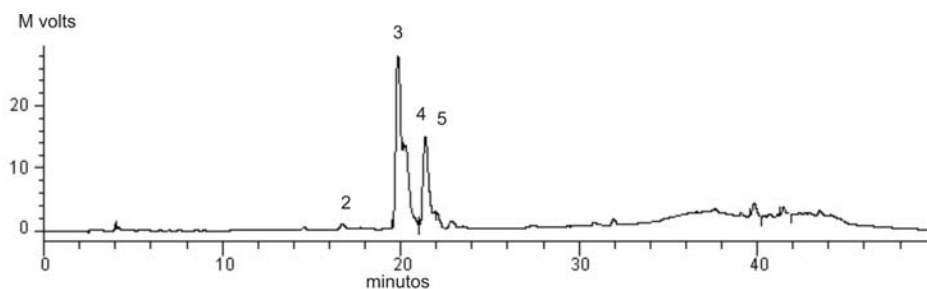


FIGURA 35. Cromatograma da amostra de feno coletada aos 40 dias de crescimento e extração com SDN. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 e 5 = não identificados.

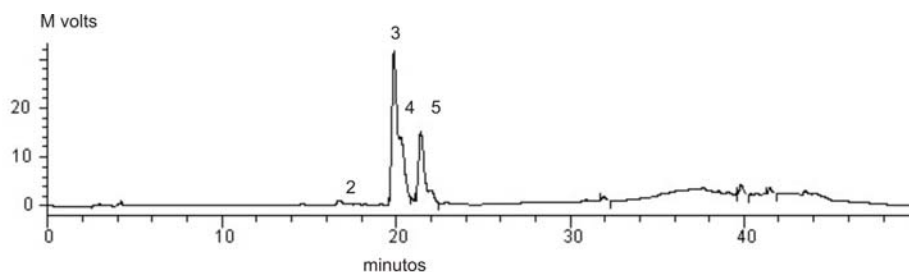


FIGURA 36. Cromatograma da amostra de feno coletada aos 60 dias de crescimento e extração com SDN. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 e 5 = não identificados.

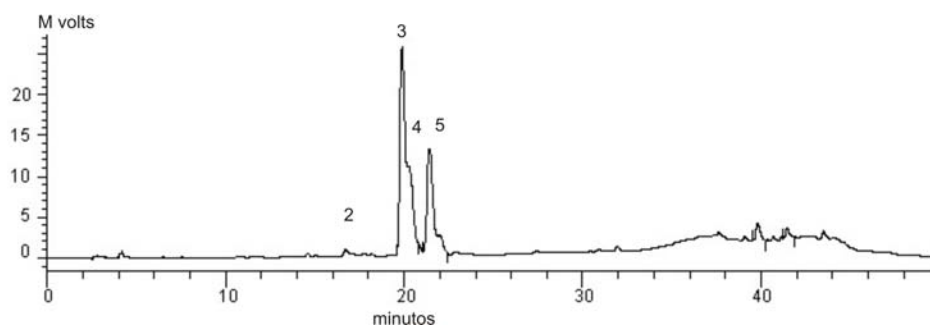


FIGURA 37. Cromatograma da amostra de feno coletada aos 80 dias de crescimento e extração com SDN. Identificação dos picos pelo tempo de resposta (tr): 1 = ácido caféico (tr = 14,6 min); 2 = vanilina (tr = 16,7 min); 3 = ácido p-cumárico (tr = 19,9 min); 4 e 5 = não identificados.

Não foi encontrada presença de ácidos o-cumárico e m-cumárico nas amostras analisadas, e as concentrações de ácido caféico e vanilina, quando encontrados, foram muito pequenas. Já as concentrações de ácido p-cumárico se mostraram significativamente maior nos materiais estudados, conforme se observa pela definição dos picos referentes a esse ácido (Tabela 12A).

A extensão da corrida cromatográfica até 30 minutos serviu para demonstrar que, nas condições experimentais, foram detectados a vanilina, o ácido caféico e o ácido p-cumárico, além de duas outras substâncias não identificadas. Deschamps & Ramos (2002) encontraram tempo de corrida bem semelhantes (22 minutos) em determinações de ácidos fenólicos em capim-

elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) e folhas de mandioca (*Manihot sculenta* Crantz).

Cabe ressaltar que a presente determinação foi realizada a partir de uma extração branda desses ácidos, representando formas de ligação éster, conforme descrito por Iiyama et al. (1990), Morrison III et al. (1993) e Morrison et al. (1998). É possível que, em condições mais severas de extração (NaOH 4 mol L⁻¹, 170°C por duas horas), outros derivados do complexo lignina ou lignina/carboidratos possam ser detectados.

4.3.2 Avaliação do ácido p-cumárico

Foram detectadas diferenças significativas, $P < 0,05$ e $P < 0,01$, respectivamente, entre os extratores e idades dos fenos. Não ocorreu efeito significativo ($P > 0,05$) da interação idade do feno e tipos de extratores (Tabela 5A).

Observou-se que os dois extratores testados foram eficientes na solubilização do ácido p-cumárico da parede celular dos fenos, não havendo diferenças significativas ($P > 0,05$) entre as suas eficiências (Tabela 5). Deschamps e Ramos (2002) também não encontraram diferenças na ação desses extratores em capim-elefante e bagaço de cana-de-açúcar.

Segundo Deschamps & Ramos (2002), a presença de ácidos fenólicos está restrita à parede celular, sendo pouco provável que se encontre ácido p-cumárico livre em outras frações da planta. No entanto, segundo os autores, é possível solubilizar parte desse ácido presente na parede celular. Essa solubilização foi observada no presente estudo.

TABELA 4. Valores médios de ácido p-cumárico do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Idade (dias)	Métodos de extração do ácido p-cumárico (10 ⁻⁴ µg/mg)			Média
	Sem extração	Etanol 80%	FDN	
	20	4,78	4,95	
40	4,74	4,80	4,77	4,77
60	4,54	4,52	4,61	4,56
80	4,39	4,54	4,57	4,50
Média	4,61 b	4,70 a	4,68 a	

Média seguidas de letras distintas, na linha, diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

A interligação do ácidos fenólicos com a lignina cria obstáculos para a degradação dos polissacarídeos da parede celular das forragens. As diversas formas pelas quais os ácidos fenólicos podem se associar às hemiceluloses ou, mesmo, serem incorporados à lignina, constituem-se na grande barreira para a digestão dos materiais (Grabber et al., 1998; Lu e Ralph,1999).

Na Figura 38 observa-se que a concentração de ácido p-cumárico diminuiu linear e significativamente (P<0,01) com o avanço da idade da forragem. Esse comportamento decorre, possivelmente, do aumento do teor de fibra que normalmente ocorre com o avanço da idade da planta e, conseqüentemente, com a diminuição da solubilidade do ácido fenólico.

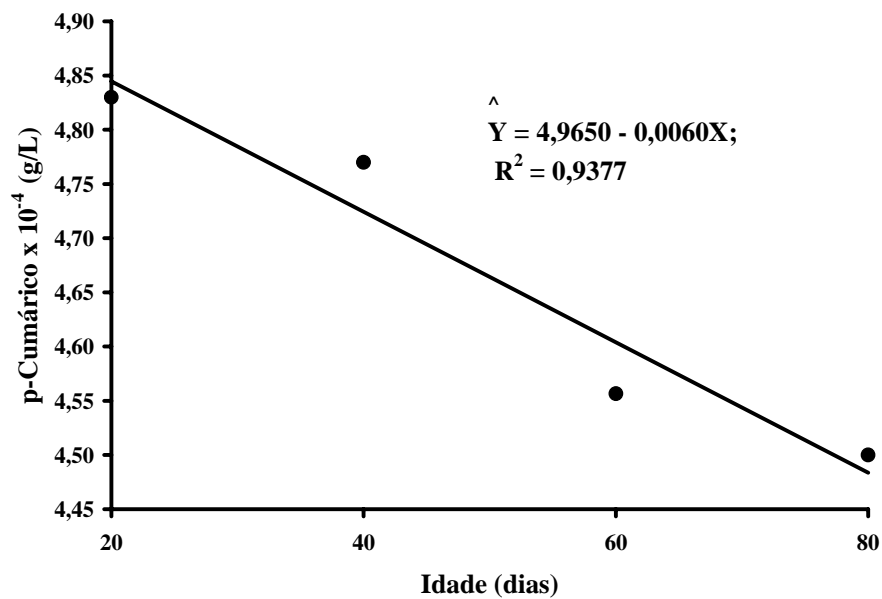


FIGURA 38. Efeito da idade no teor de ácido p-cumárico do feno de capim-coastcross.

4.4 Degradabilidade em função dos ácidos fenólicos

As degradabilidades efetivas da MS e da FDN não foram influenciadas significativamente ($P > 0,05$) pela concentração do ácido p-cumárico (Tabela 5).

TABELA 5. Coeficiente de correlação parcial para a degradabilidade efetiva da MS e FDN do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Ácido p-cumárico		
Degradabilidade efetiva da MS	r	-0,141223
	Pr > r	0,6454
Degradabilidade efetiva da FDN	r	-0,331254
	Pr > r	0,2689

Embora tenha sido observada a presença de ácido p-cumárico no feno de capim-coastcross, a maior concentração foi observada no material mais novo, quando, normalmente, as degradabilidades da MS e da FDN são maiores. Com o avanço da idade das forrageiras, ocorreu diminuição na concentração de ácido p-cumárico, acompanhada também da diminuição da degradabilidade de maneira geral. Esse comportamento mostra que, pelo menos nas condições em que este trabalho foi realizado, o teor de ácido p-cumárico não interferiu na degradação do feno e sugere que outros fatores estariam limitando a sua digestão com o avanço da idade.

CONCLUSÕES

A idade de corte do capim-coastcross influenciou a composição química e a degradação da FDN, bem como a concentração do ácido p-cumárico.

A concentração de ácido p-cumárico, único ácido fenólico encontrado, diminuiu com o avanço da idade do capim-coastcross e não interferiu na degradabilidade do seu feno.

Os dois extratores testados apresentaram a mesma eficiência na extração do ácido p-cumárico da parede celular do feno de capim-coastcross.

Como avanço da idade, a rebrota melhora a composição química do capim-coastcross e, conseqüentemente, sua degradabilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKIN, D.E.; GOTTFRED, N.A.; HARTLEY, R.D. et al. Microspectrophotometry of phenolic compounds in bermudagrass cell wall in relation to rumen microbial digestion. **Crop Science**, v.30, p.396-401, 1990.
- AKIN, D.E.; RIGSBY, L.L.; THEODOROU, M.K. et al. Population changes of fibrolytic rumen bacteria in the presence of phenolic acids and plant extracts. **Animal Feed Science Technology**, v.19, p.261-275, 1988.
- AKIN, D.E.; WILLEMSE, T.M.; BARTON, F.E. Histochemical reactions, autofluorescence and rumen microbial degradation of tissues in untreated and delignified bermudagrass stems. **Crop Science**, v.25, p.901-905, 1985.
- ALVES de BRITO, C.J.F.; RODELLA, R.A.; DESCHAMPS, F.C. et al. Anatomia quantitativa e degradação *in vitro* de tecidos em cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.2, p.223-229, 1999.
- ARIELI, A.; BRUCKENTAL, I.; SMOLER, E. Prediction of duodenal nitrogen supply from degradation of organic and nitrogenous matter *in situ*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.10, p.2532-2539, 1989.
- ASSIS, M.A.; SANTOS, G.T.; CECATO, U. et al. Degradabilidade *in situ* de gramíneas do gênero *Cynodon* submetida ou não a adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum**, Maringá., v.21, n.3, p.657-663, Sept. 1999.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15.ed.Arlington, 1990. v1, 1117 p.
- BARTON II, F.E.; AKIN, D.E. Digestibility of delignified forage cell walls. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.25, p.1299-1303, 1977.
- BOGDAN, A.V. **Tropical pasture and fodder plants**. London: Longman, 1977. 475p.
- BURNS, J.C.; POND, K.R.; FISHER, D.S. et al. Changes in forages quality, ingestive mastication and digesta kinetics resulting from switchgrass maturity. **Journal of Animal Science**, v.75, p.1368-1379, 1997.

CARNEIRO, A.M. **Forragicultura**. Belo Horizonte: UFMG. Escola de Veterinária, 1995. 86p. (Cadernos Técnicos, 2).

DAVID, F.M. **Composição e degradabilidade, através da técnica de produção de gás, de quatro gramíneas tropicais submetidas a corte em diferentes idades**. 2001. 110p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DESCHAMPS, F.C. Implicações do período de crescimento na composição química e digestão dos tecidos de cultivares de capim elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.6, p.1178-1189, 1999.

DESCHAMPS, F.C.; RAMOS, L.P. Método para a determinação de ácidos fenólicos na parede celular das forragens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1634-1639, 2002.

DESCHAMPS, F.C.; RAMOS, L.P.; FONTANA, J.D. Pretreatment of sugarcane bagasse for enhanced ruminal digestion. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.57/58, p.171-182, 1996.

DIAS, P.F. **Efeito da adubação nitrogenada sobre o rendimento, composição bromatológica e digestibilidade “in vitro” de três gramíneas forrageiras tropicais**. 1993. 150p. Dissertação. (Mestrado em Zootecnia)- Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG.

ERASMUS, L.J.; PRINSLOO, J. The establishment of protein degradability data base for cattle using nylon bag technique. 1. Protein sources. **South African Journal of Animal Science**, Pretoria, v.18, n.1, p.23-29, Sept. 1988.

FERREIRA, D.F.. Análise estatística por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. Anais ... São Carlos: UFSCar, 2000. p.225-258.

GONÇALVES, G. D.; SANTOS, G. T. dos; CECATO, U. et al. Estimativas de produção e valor nutritivo de gramíneas do gênero *Cynodon* em diferentes idades ao corte colhidas no outono. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, SP: USP/ESALQ, 2001. CD-ROM.

- GRABBER, J.H.; RALPH, J.; HATFIELD, R.D. Ferulate cross-link limit the enzymatic degradation of synthetically lignified primary walls of maize. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.2609-2614, 1998.
- HARTLEY, R.D.; BUCHAN, H. High-performance liquid chromatography of phenolic acids and aldehydes derived from plants or from the decomposition of organic matter in soil. **Journal of Chromatography**, v.180, p.139-143, 1979.
- HARTLEY, R.D.; JONES, E.C. Phenolic components and degradability of cell walls of grass and legume species. **Phytochemistry**, v.16, p.1531-1534, 1977.
- HATFIELD, R.D. Cell wall polysaccharides interaction and degradability. In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D. et al. (Ed.). **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: Wisconsin: ASA/ CSSA/ SSSA, 1993. p.285-313.
- HATFIELD, R.D.; JUNG, H.G.; RALPH, J. et al.; A comparison of the insoluble residues produced by the Klason lignin and acid detergent lignin procedures. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.65, p.51-58, 1994.
- ITÁVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F.da et al. Consumo, degradabilidade ruminal e digestibilidade aparente de fens de gramíneas do gênero *Cynodone* rações concentradas utilizando indicadores internos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.1024-1032, 2002.
- IYAMA, K.; LAM, T.B.T.; STONE, B.A. Phenolic acid bridges between polysaccharides and lignin in wheat internodes. **Phytochemistry**, v.29, p.733-737, 1990.
- JUNG, H.G. Forages lignins and their effects on fiber digestibility. **Agronomy Journal**, v.81, p.33-38, 1989.
- JUNG, H.G.; ALLEN, M.S. Characteristics of plant cell-wall affecting intake and digestibility of forages by ruminants. **Journal Animal Science**, v.73, p.2774-2790, 1995.
- JUNG, H.G.; DEETZ, D.A. Cell wall lignification and degradability. In: JUNG, G.; HATFIELD, D.R. **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: American Society of Agronomy. Society of America Science, 1993. p.315-46.

JUNG, H.G.; MORRISON, T.A.; BUXTON, D.R. Degradability of cell wall polysaccharides in maize internodes during stalk development. **Crop Science**, v.38, p.1047-1051, 1998.

KONH, R.A.; ALLEN, M.S. In vitro protein degradation of feeds using concentrated enzymes extracted from rumen contents. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.52, n.1/2, p.15-28, Mar. 1995

KRISHNAMOORTHY, U.; MUSCATO, T.V.; SNIFFEN, C.J.; VAN SOEST, P.J. Nitrogen fractions in select feed stuffs. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.65, n.2, p.217-225, Feb. 1982.

LOCH, D.S. *Brachiaria decumbens* (signal grass); a review with particular reference to Australia. **Tropical Grassland Queensland**, v.11, n.2, p.141-157, Juli 1977.

LOPES, L.S. **Degradabilidade *in situ* e digestibilidade de feno de brachiária suplementado com energia e proteína**. 2007. 44p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Federal de Lavras, Lavras, MG.

LU, F.; RALPH, J. Detection and determination of *p*-coumaroylated units in lignins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.1988-1992, 1999.

MALAFAIA, P.A.M.; VALADARES FILHO, S.C.; VIEIRA, R.A.M. et al. Cinética ruminal de alguns alimentos investigada por técnicas gravimétricas e metabólicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.2, p.370-380, 1998.

McQUEEN, R.E.; BUSH, R.S.; NICHOLSON, J.W.G. Variability of forage digestion in nylon bags suspended in the rumen. In: MEETING HELD IN ALBERA, 1980, Canadá. **Proceedings...** Canadá, 1980. p.9.

MEHREZ, A.Z.; ORSKOV, E.R. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.88, n.3, p.645-650, June 1977

MERTENS, D.R. Kinetics of cell wall digestion and passage in ruminants. In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D. et al. (Ed.). **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: American Society of Agronomy. Crop Science Society of America. Soil Science Society of America, 1993. p.535-570.

MERTENS, D.R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.80, p.1463-1481, 1997.

MERTENS, D.R. Identification of phenolic acid composition of alkali-extracted plants and soils. **Soil Science Society American Journal**, v.66, p.1240-1248, July./Aug. 2002.

MORRISON, I.M. The effect of physical and chemical treatments on the degradation of wheat and barley straws by rumen liquor-pepsin and pepsin-cellulose systems. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.34, n.1, p.1323, 1983.

MORRISON, T.A.; JUNG, H.G.; BUXTON, D.R. et al. Cell wall composition of maize internode of varying maturity. **Crop Science**, v.38, p.455-460, 1998.

MORRISON-III, W.H.; AKIN, D.E.; HIMMELSBACH, D.S. et al. Investigation of the éster and ether-linked phenolic constituents of cell wall types of normal and brown midrib pearl millet using chemical isolation, microspectrophotometry and ¹³C-NMR spectroscopy. **Journal of Science Food Agriculture**, v.63, p.329-337, 1993.

NASCIMENTO JR., D. Comentários sobre métodos químicos para avaliação de forragens. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.3, p.233-244, 1974.

NETER, J.; WASSERMAN, W.; KUTNER, M.H. **Linear statistical models: regression, analysis of variance, and experimental designs**. 2. ed. USA: Richard D. Irwin, 1985. 112 p.

NOCEK, J.E. Evaluation of specific variables affecting in situ estimates of ruminal dry matter and protein digestion. **Journal Animal Science**, Champaign, v.60, n.5, p.1347-1358, May 1985.

NOCEK, J.E. In situ and others methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: A review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n.8, p.2051-2059, Aug. 1988.

NORTON, B.W. Fiferences betwee species in forage quality. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM NUTRITIONAL LIMTS TO ANIMAL PRODUCTION FROM PASTURE, 1981. **Proceedings...** Oxford, 1981. p.89-110.

NORTON, B.W. Differences between species in forrage quality. In: HACKER, J. B. (Ed.). **Nutritional limits to animal production from pastures**. Farnham Royal: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1982. p.89-110.

OLIVEIRA, R.L.; PEREIRA, J.C.; SILVA, P.R.C. et al. Degradabilidade ruminal de cama de frango e do feno de capim Coastcross e avaliação de modelos matemáticos para estimativa da taxa de passagem de partículas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.4, p.839-849, 1999.

OMALIKO, C.P.E. Influence of initial cutting date and cutting frequency on yield and quality of star, elephant and guinea grasses. **Grass and Forage Science**, Oxford, v.35, n.2, p.139-145, 1980.

ORSKOV, E.R. Evaluation of fibrous diets for ruminants. In: INTERNATIONAL SEMINAR ON FEEDING EVALUATION MODERN ASPECTS-PROBLEMS-FUTURE TRENDS, 1., 1985, Aberdeen. **Proceedings...** Aberdeen: Rowett. Research Institute, 1986. p.38-41.

ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of degradability in the rumen from incubation measurement weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.92, n.1, p.499-508, Mar.1979.

PETIT, H.V.; RIOUX, R.; TREMBLAY, G.F. Evaluation of forages and concentrates by the "in situ" degradability technique: In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO DE RUMINANTES; REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 31., 1994, Maringá. **Anais...** Maringá, PR: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1994. p.119.

REIS, S.T. **Valor nutricional de gramíneas tropicais em diferentes idades de corte**. 2000. 199p. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Ruminantes)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

REIS, S.T. dos. **Fracionamento e degradabilidade ruminal de proteínas e carboidratos de forrageiras do gênero Cynodon**. 2005. 70p. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

REIS, S.T.; TEIXEIRA, J.T.; EVANGELISTA, A. R. et al. Composição química do Coastcross (*Cynodon dactylon* x *Cynodon nlenfuensis*) e Tifton 85 (*Cynodon spp*). In: REUNIÃO DA ASSOCIAÇÃO LATINO AMERICANA DE PRODUÇÃO ANIMAL, 17., 2001, Ciudad de la Habana. **Anais...** Ciudad de la Habana, Cuba: Associação Latino Americana de Produção Animal, 2001. p.383.

RESENDE, K.T. et al. Nutrição de caprinos: novos sistemas e exigências nutricionais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, CE: SBZ, 1996. p.27-31.

ROCHA, G.L. **Efeito da idade na composição química, digestibilidade “in vitro” e taxa de fermentação de oito gramíneas tropicais.** 1979. 104p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG.

ROCHA, G.P.; EVANGELISTA, A.R.; LIMA, J.A. de. Digestibilidade, teores de FDN e FDA de três gramíneas do gênero *Cynodon*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, SP: USP/ESALQ/SBZ, 2001. 1 CD-ROM.

RODRIGUES, L.R.A. Espécies forrageiras para pastagens: gramíneas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PASTAGENS, 1986, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, SP: ESALQ, 1986. p.375-387.

RUIZ, M.E.; RUIZ, A. **Nutricion de ruminantes:** guia metodológica de investigación. San José, Oxford, 1990. 340p.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT. User's guide.** Version 8. Cary, NC, 2000.

TEIXEIRA, J.C.; JUNIOR, R.F.; EVANGELISTA, A.R. et al. Degradabilidade ruminal da matéria seca em fibra em detergente neutro do bagaço-de-cana. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 29., 1992, Lavras. **Anais . . .** Lavras, MG: SBZ, 1992. p.484.

TERRY, R.A.; TILLEY, J.M.A. The indigestibility of the leaves and stems of perennial ryegrass, cocksfoot, timothy, tall fescue, lucerne and sainfoin as measured by in vitro procedure. **Journal of the British Grassland Society**, v.19, p.362-372, 1964.

VAN SOEST, P.J. & WINE, R.H. Determination of lignina and cellulose in acid detergent fiber with oermanganate. *Journal of Association of Agricultural cheistry*, Washington, v.51, p.780-85, 1968.

VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant.* Corvallis, O.R: O&B Books, 1982.

VAN SOEST, P.J. Use of detergents in the analysis of fibrous foods. II. A rapid method for the determination of fibre and lignin. **Journal of the Association of the Official Analytical Chemists**, v.46, p.829-835, 1963

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

VILELA, D.; ALVIM, M.J. Produção de leite em pastagens de *Cynodon dactylon*, (L.) Pers, cv. Coastcross. In: WORKSHOP SOBRE O POTENCIAL FORRAGEIRO DO GÊNERO *CYNODON*, 1996, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora, MG: EMBRAPA-CNPGL, 1996. p.77-91.

VILELA, D.; ALVIM, M.J. Manejo de pastagens do gênero *Cynodon*: Introdução, caracterização e evolução do uso no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 15., Piracicaba, 1998. **Anais...** Piracicaba, SP: FEALQ/ESALQ, 1998. p.23-54.

WILSON, J.R. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D. et al. (Ed.). **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, 1993. p.1-32.

WILSON, J.R. Structural and anatomical traits of forage influencing their nutritive value for ruminants. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1997, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1997. p.173-208.

WILSON, J.R.; MERTENS, D.R. Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage. **Crop Science**, v.35, p.251-259, 1995.

ANEXOS

ANEXO DE TABELAS

TABELA 1A.	Composição química do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades	67
TABELA 2A.	Resumo da análise de variância para os teores de cinzas (CZ), matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.....	67
TABELA 3A.	Resumo da análise de variância para os teores de extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.....	67
TABELA 4A.	Resumo da análise de variância para os teores de nitrogênio na fibra em detergente neutro (NFDN), de nitrogênio na fibra em detergente ácido (NFDA) e nitrogênio solúvel (NSOL) do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.....	68
TABELA 5A.	Resumo da análise de variância para a concentração de ácido p-cumárico (APC) do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.....	68
TABELA 6A.	Fração solúvel (a), fração potencialmente solúvel (b), taxa de degradação (c), fração indegradável (FI), degradabilidade potencial (DP) e degradabilidade efetiva (DE) da matéria seca do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades	68
TABELA 7A.	Resumo da análise de variância para fração solúvel (a), fração potencialmente solúvel (b) e taxa de degradação (c) da matéria seca do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades	69
TABELA 8A.	Resumo da análise de variância para fração indegradável (FI), degradabilidade potencial (DP) e degradabilidade efetiva (DE) da matéria seca do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades	69
TABELA 9A.	Fração solúvel (a), fração potencialmente solúvel (b), taxa de degradação (c), fração indegradável (FI), degradabilidade potencial (DP) e degradabilidade efetiva (DE) da fibra em detergente neutro do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades	69

TABELA10A	Resumo da análise de variância para fração solúvel (a), fração potencialmente solúvel (b) e taxa de degradação (c) da fibra em detergente neutro do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades	70
TABELA11A	Resumo da análise de variância para fração indegradável (FI), degradabilidade potencial (DP) e degradabilidade efetiva (DE) da da fibra em detergente neutro do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades	70
TABELA12A	Concentração de Ac.cafeico, Vanilina e Ac.p- cumárico nas amostras de feno de capim-coastcross.....	70
TABELA13A	Equações de regressão, coeficientes de determinação e pontos de inflexão dos teores de cinzas (CZ), fibra em detergente neutro (FDN) e nitrogênio na fibra em detergente neutro (NFDN) do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.....	71
TABELA14A	Equações de regressão, coeficientes de determinação e pontos de inflexão da fração indegradável (FI) e da Degradabilidade Potencial (DP) da MS do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.....	71
TABELA15A	Equações de regressão, coeficientes de determinação e pontos de inflexão da fração solúvel (a), fração potencialmente solúvel (b), taxa de degradação (c) e degradabilidade efetiva (DE) da FDN do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.....	71

ANEXO DE TABELAS

TABELA 1A. Composição química do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Idade (dias)	MS (%)	PB (%)	EE (%)	CZ (%)	FDN (%)	FDA (%)	NFDN (%)	NFDA (%)	SOL (%)
20	96,65	10,74	28,46	4,77	79,23	59,64	7,33	5,75	8,03
40	96,81	9,69	21,45	4,89	81,57	61,98	5,24	3,92	6,47
60	92,46	6,00	19,56	4,63	75,17	62,90	2,98	2,09	5,12
80	92,63	7,19	17,09	4,47	70,85	65,44	3,94	1,40	4,19

TABELA 2A. Resumo da análise de variância para os teores de cinzas (CZ), matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Fonte de variação	G.L	CZ (%)		MS (%)		PB (%)	
		Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F
Idade	3	0,1330	0,0000	23,4009	0,0000	19,1451	0,0000
Erro	12	0,0021		0,1425		0,1034	
CV (%)		1,00		0,40		3,83	

TABELA 3A. Resumo da análise de variância para os teores de extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Fonte de variação	G.L	EE (%)		FDN (%)		FDA (%)	
		Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F
Idade	3	95,4088	0,0000	89,0120	0,0000	23,0232	0,0001
Erro	12	0,2972		1,3177		1,2245	
CV (%)		2,52		1,50		1,77	

TABELA 4A. Resumo da análise de variância para os teores de nitrogênio na fibra em detergente neutro (NFDN), de nitrogênio na fibra em detergente ácido (NFDA) e nitrogênio solúvel (NSOL) do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Fonte de variação	G.L	NFDN (%)		NFDA (%)		NSOL (%)	
		Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F
Idade	3	14,1773	0,0000	15,3384	0,0000	11,1666	0,0000
Erro	12	0,1280		0,0334		0,0913	
CV (%)		7,34		5,56		5,08	

TABELA 5A. Resumo da análise de variância para a concentração de ácido p-cumárico (APC) do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Fonte de variação	G.L	APC (%)	
		Q.M	Pr>F
Idade (I)	3	0,308833	0,0000
Extrator (E)	2	0,034533	0,0304
I*E	6	0,019600	0,0670
Erro	36	0,008961	
CV (%)			2,03

TABELA 6A. Fração solúvel (a), fração potencialmente solúvel (b), taxa de degradação (c), fração indegradável (FI), degradabilidade potencial (DP) e degradabilidade efetiva (DE) da matéria seca do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Idade (dias)	a (%)	b (%)	C (%/h)	FI	DP (%)	DE (%)
20	16,93	59,71	3,0	23,36	76,64	37,84
40	14,07	62,76	2,0	23,16	76,84	32,23
60	13,07	55,63	4,0	31,30	68,70	36,41
80	15,52	58,87	3,0	25,62	74,38	36,78

TABELA 7A. Resumo da análise de variância para fração solúvel (a), fração potencialmente solúvel (b) e taxa de degradação (c) da matéria seca do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Fonte de variação	G.L	a (%)		b (%)		c (%/h)	
		Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F
Idade	3	11,3695 47	0,2046	34,4069	890,0506	0,0002	0,1465
Erro	12	6,39108 4		9,904571		0,000096	
CV (%)		16,97		5,31		33,51	

TABELA 8A. Resumo da análise de variância para fração indegradável (FI), degradabilidade potencial (DP) e degradabilidade efetiva (DE) da matéria seca do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Fonte de variação	G.L	FI (%)		DP (%)		DE (%/h)	
		Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F
Idade	3	57,5081	0,0244	57,5081	0,0244	24,2783	0,2255
Erro	12	12,7574		12,7574		14,5167	
CV (%)		13,81		4,82		10,64	

TABELA 9A. Fração solúvel (a), fração potencialmente solúvel (b), taxa de degradação (c), fração indegradável (FI), degradabilidade potencial (DP) e degradabilidade efetiva (DE) da fibra em detergente neutro do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Idade (dias)	a (%)	B (%)	c (%/h)	FI	DP (%)	DE (%)
20	5,52	66,78	5,00	27,70	72,30	37,38
40	5,09	66,37	2,00	28,54	71,46	26,16
60	2,90	76,04	2,00	21,06	78,94	24,67
80	5,76	74,02	3,00	20,22	79,78	44,30

TABELA 10A. Resumo da análise de variância para fração solúvel (a), fração potencialmente solúvel (b) e taxa de degradação (c) da fibra em detergente neutro do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Fonte de variação	G.L.	a (%)		b (%)		c (%/h)	
		Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F
Idade	3	6,8262	0,0003	98,1162	0,0375	0,0005	0,0203
Erro	12	0,4684		25,2631		0,0001	
CV (%)		14,21		7,10		36,34	

TABELA 11A. Resumo da análise de variância para fração indegradável (FI), degradabilidade potencial (DP) e degradabilidade efetiva (DE) da fibra em detergente neutro do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Fonte de variação	G.L.	FI (%)		DP (%)		DE (%/h)	
		Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F	Q.M	Pr>F
Idade	3	75,5781	0,0740	75,5781	0,0740	350,6539	0,0080
Erro	12	25,3685		25,3685		55,2857	
CV (%)		20,66		6,66		22,44	

TABELA 12A. Concentração de Ac.caféico, Vanilina e Ac.p-cumárico nas amostras de feno de capim-coastcross

AMOSTRAS	Ácido p-cumárico	Vanilina	Ácido caféico
	$(10^{-4} \mu\text{g}/\text{mg})$		
1	$4,7938 \cdot 10^{-4}$	$4,6896 \cdot 10^{-5}$	$7,2516 \cdot 10^{-5}$
2	$4,7533 \cdot 10^{-4}$	$1,8236 \cdot 10^{-5}$	$7,0474 \cdot 10^{-5}$
3	$4,5582 \cdot 10^{-4}$	$1,1211 \cdot 10^{-5}$	$7,2954 \cdot 10^{-5}$
4	$4,6963 \cdot 10^{-4}$	$6,2238 \cdot 10^{-5}$	$7,1422 \cdot 10^{-5}$
5	$4,7648 \cdot 10^{-4}$	$8,2609 \cdot 10^{-5}$	$6,9161 \cdot 10^{-5}$
6	$4,8114 \cdot 10^{-4}$	$9,8063 \cdot 10^{-5}$	$6,9001 \cdot 10^{-5}$
7	$4,5397 \cdot 10^{-4}$	$1,3881 \cdot 10^{-5}$	$6,7775 \cdot 10^{-5}$
8	$4,5574 \cdot 10^{-4}$	$1,1843 \cdot 10^{-5}$	-
9	$4,0354 \cdot 10^{-4}$	$1,3768 \cdot 10^{-5}$	-
10	$4,7824 \cdot 10^{-4}$	$6,0411 \cdot 10^{-5}$	-
11	$4,5212 \cdot 10^{-4}$	$4,5535 \cdot 10^{-5}$	-
12	$4,5851 \cdot 10^{-4}$	$1,3627 \cdot 10^{-5}$	-

TABELA 13A. Equações de regressão, coeficientes de determinação e pontos de inflexão dos teores de cinzas (CZ), fibra em detergente neutro (FDN) e nitrogênio na fibra em detergente neutro (NFDN) do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Fração	Equação	R ²	Idade (dias)	
			Min.	Max.
CZ	$Y = 4,6338 + 0,0117X - 0,0002X^2$	0,8822	-	30
FDN	$Y = 76,2569 + 0,2590X - 0,0042X^2$	0,9121	-	30
NFDN	$Y = 11,7931 + 0,2527X - 0,0019X^2$	0,9464	60	-

TABELA 14A. Equações de regressão, coeficientes de determinação e pontos de inflexão da fração indegradável (FI) e da Degradabilidade Potencial (DP) da MS do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Fração	Equação	R ²	Idade (dias)	
			Min.	Max.
FI	$Y = 54,0391 - 2,6649X + 0,0658X^2 - 0,00047 X^3$	1,0	30	64
DP	$Y = 45,9608 + 2,6649X - 0,0658X^2 + 0,00047 X^3$	1,0	64	30

TABELA 15A. Equações de regressão, coeficientes de determinação e pontos de inflexão da fração solúvel (a), fração potencialmente solúvel (b), taxa de degradação (c) e degradabilidade efetiva (DE) da FDN do feno de capim-coastcross colhido em diferentes idades.

Fração	Equação	R ²	Idade (dias)	
			Min.	Max.
a	$Y = 2,3131 + 0,7338X - 0,0192X^2 + 0,00008X^3$	1,0	56	-
b	$Y = 99,0248 - 2,7707X + 0,0670X^2 + 0,00008X^3$	1,0	34	66
c	$Y = 9,5000 + 0,2800X + 0,0025X^2$	0,9667	56	-
DE	$Y = 66,8770 - 1,8318X + 0,0193X^2$	0,9753	48	-