



NOTA CIENTÍFICA

Tays Raniellen Miranda Feitosa^{1*}
Luciano Fernandes Sousa¹

¹ Universidade Federal do Tocantins (UFT), Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (EMVZ), BR-153, Km 112, s/n, 77804-970, Araguaína, TO, Brasil

*Autor Correspondente:
E-mail: tays_raniellen@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE

Análise de regressão
Produção de gases
Fermentação ruminal

KEYWORDS

Regression analysis
Gas production
Rumen fermentation

Equação de predição do volume de gases através da pressão para ensaio *in vitro* no norte do Tocantins e implicações em diferentes altitudes

Prediction equation of gas volume by pressure for in vitro test in northern Tocantins and implications at different altitudes

RESUMO: O desenvolvimento de uma equação de predição que estabelece a relação entre pressão e volume de gases substitui leituras manuais de volume. Objetivou-se determinar uma equação de predição que correlaciona valores de pressão e volume de gases, para avaliar alimentos por meio da técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases. Foram utilizadas como dietas experimentais três relações de volumoso: concentrado (100:0, 50:50 e 75:25), contendo silagem de capim Mombaça e um concentrado comercial; e quatro níveis de propilenoglicol (PG) (0%, 2%, 4% e 6% do volume de conteúdo a ser incubado). Foi incubado 1 g de cada dieta em frascos de 150 mL, com 90 mL de meio de cultura, 10 mL de inoculo ruminal, e os níveis de PG (duas repetições por dieta). As leituras de pressão e volume de gases foram realizadas por meio de um transdutor. Os dados foram utilizados na análise de regressão que resultou na estimativa do volume de gases a partir da pressão. A equação gerada do volume em função da pressão apresentou curva com comportamento quadrático ($V = -0,0195 + 3,7989P + 0,2174P^2$). O valor do coeficiente da função de segundo grau “b” multiplicado à pressão “P” foi de 3,7989, numa altitude de 240 m. A altitude local influencia na relação entre pressão e volume de gases.

ABSTRACT: A prediction equation that establishes the relationship between pressure and gas volume can replace manual volume readings. This study serves to determine a prediction equation that correlates values of pressure and volume of gases for use in food evaluation by the semi-automatic *in vitro* gas production technique. The following was used with experimental diets 3 different ratio roughages: concentrate (100:0, 50:50 and 75:25) containing Mombaça grass silage and a commercial concentrate, and four levels of Propylene Glycol (PG) (0%, 2%, 4% and 6% of the volume of content to be incubated). A total of 1 g of each diet was incubated in 150 mL flasks with 90 mL culture medium, 10 mL ruminal inoculum, and the appropriate PG levels (two repetitions per diet). Gas pressure and volume readings were taken using a transducer. The data were used in the regression analysis, resulting in the estimation of gas volume from the pressure. The generated equation volume as a function of pressure presented curve with quadratic behavior was ($V = -0.0195 + 3.7989P + 0.2174P^2$). The coefficient “b” of the second degree function multiplied by pressure (P) was 3.7989 at an altitude of 240 m. Local altitude influences the relationship between pressure and gas volume.

1 Introdução

Parâmetros cinéticos são importantes fatores para avaliar a degradabilidade de alimentos em ruminantes. Para a obtenção destes parâmetros utilizam-se técnicas de produção cumulativa de gases (Elberg et al., 2018). A técnica *in vitro* engloba a digestibilidade do alimento quanto à produção cumulativa de gases por meio da incubação de amostras de alimento com líquido ruminal ou enzimas digestivas em frascos acoplados a medidores de gases. O volume de gases pode ser mensurado com uma seringa graduada, assim que ocorrer liberação após a fermentação do alimento. A produção de gases é medida em tempos definidos, para obtenção de uma curva de degradação (Theodorou et al., 1994). O método permite, em uma única amostra, estimar a digestibilidade, a taxa de fermentação das diferentes frações alimentares e a atividade microbiana do rúmen (Olivo et al., 2017).

Na técnica semiautomática de produção de gases, utiliza-se um transdutor de pressão acoplado a uma agulha, que é inserida no frasco em que ocorre a fermentação ruminal. Neste método são obtidos dados de pressão que podem ser correlacionados com o volume dos gases produzidos, levando a uma equação de predição, que varia de acordo com as condições do local em que é aplicada (Maurício et al., 1999b), devendo ser, portanto, desenvolvida para cada condição de local.

A equação desenvolvida por Boyle e Gay-Lussac foi avaliada para ser utilizada na estimativa do volume de gases por meio dos valores de pressão. Contudo ela não considera a difusão de gases na fase líquida no interior dos frascos, o que descarta seu uso na estimativa do volume total de gases (Maurício et al., 1999b).

Assim, o desenvolvimento de uma equação de predição que estabelece a relação entre pressão e volume de gases substitui leituras manuais de volume por meio de seringas plásticas, como descrito por Theodorou et al. (1994). Deste modo a cinética, assim como o período inicial de fermentação denominado “*lag phase*”, especificamente, puderam ser determinados com maior acurácia; ou seja, maior número de dados, devido à redução nos intervalos de leituras do volume de gases produzidos.

Diante do exposto, objetivou-se com este estudo determinar uma equação de predição que correlaciona os valores de pressão e volume de gases, para a avaliação de alimentos por meio da técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases para as condições da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins (UFT).

2 Material e Métodos

Um ensaio da cinética de fermentação ruminal *in vitro* foi realizado no mês de janeiro de 2019, no Laboratório de Fermentação Ruminal e Produção Gases da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da (UFT), campus Araguaína.

Dietas experimentais com três relações de volumoso: concentrado (100:0, 50:50 e 75:25), contendo silagem de capim *Megathyrsus maximus* cv. Mombaça e um formulado comercial a base de milho e soja com 20% de proteína bruta (PB), e quatro níveis de propilenoglicol (PG) (0%, 2%, 4% e 6% do volume de conteúdo a ser incubado) foram utilizados. As amostras de silagem foram pré secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 h e moídas a 1 mm.

Todas as dietas foram submetidas a análise bromatológica. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados (DBC), com arranjo fatorial 3 × 4, (três dietas e quatro níveis de PG), perfazendo 12 dietas com três repetições em cada bloco. Os blocos corresponderam ao inóculo ruminal, obtido de três bovinos mestiços canulados no rúmen, com peso médio de 677,5 kg, adaptados à dieta com relação 75:25 de volumoso: concentrado, a 2% do peso vivo durante sete dias.

Aproximadamente 1 g de cada dieta foi adicionado em frascos de 150 mL, com 10 mL de inóculo (devidamente filtrado e mantido em banho-maria a 39 °C), 90 mL de meio de cultura e os devidos níveis de PG. Os frascos foram vedados com tampa de silicone e incubados em estufa a 39 °C, sob controle rigoroso de temperatura, a fim de simular o ambiente ruminal. As medidas de pressão (PSI, pounds per square inch – libras por polegada quadrada) e volume (mL) de gases foram realizadas por meio de um transdutor de pressão modelo DPI800-P, conectado a uma válvula de três saídas, sendo a primeira acoplada a uma agulha (0,8 mm × 25 mm), a segunda ao transdutor de pressão e a terceira a uma seringa plástica que serviu para a medição do volume.

As leituras foram realizadas duas, quatro, seis, oito, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 e 96 horas após o início do processo de fermentação *in vitro*. Ao final do ensaio os pares de dados volume-pressão foram utilizados para a análise de regressão pelo programa SAS (SAS INSTITUTE, 2015), que resultou na estimativa de uma de predição do volume a partir da pressão obtida no transdutor.

Além disso, foi realizada uma associação (análise de regressão) dos coeficientes (“a”, “b” e “c”) das equações e do volume de gases para cada unidade de PSI expressos neste trabalho e na literatura com as diferentes altitudes dos locais onde foram realizados os trabalhos.

Para escolha do tipo de modelo (linear ou quadrático), os coeficientes lineares e quadráticos das análises de regressão foram considerados significativos quando a probabilidade de erro tipo I pelo teste t-student fosse inferior a 0,05.

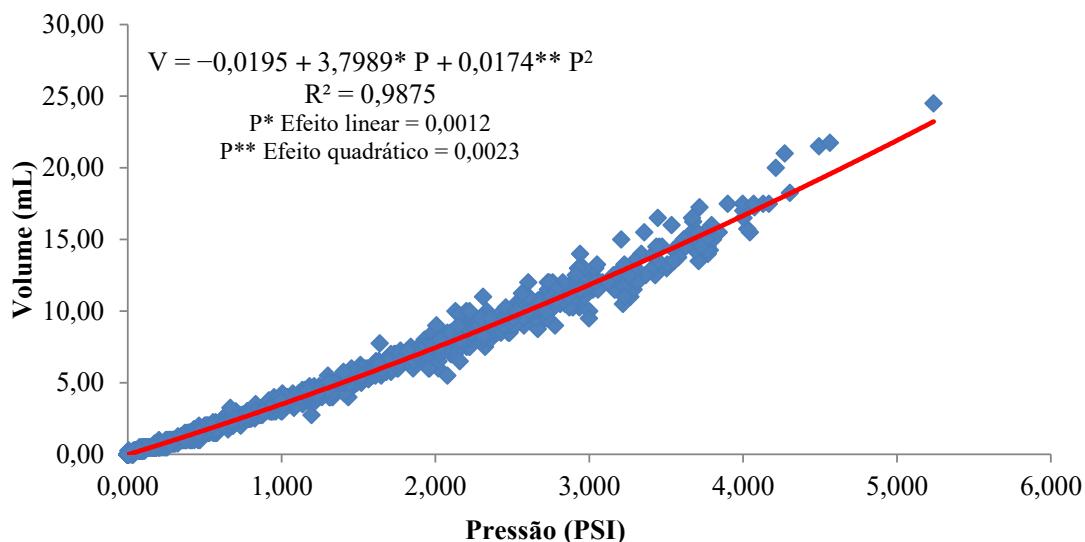
3 Resultados e Discussão

As leituras de pressão e volume totalizaram 1.638 dados oriundos da fermentação das 12 dietas, obtendo-se a equação representada na Figura 1.

A variação de volume foi de 0 mL a 25 mL e a de pressão foi de 0 PSI a 5,2 PSI, faixa que se encontra dentro das recomendações de Theodorou et al. (1994), abaixo de 7 PSI, denotando estabilidade na correlação dos dados. O valor de $R^2 = 0,9875$ demonstrou a alta capacidade de predição da equação em estimar o volume de gases.

A equação gerada do volume em função da pressão de gases neste ensaio apresentou curva com comportamento quadrático, semelhante às encontradas na Tabela 1.

A altitude de cada localidade implica valores de coeficiente “b” e “a” da função de segundo grau diferentes, pois as diferenças de altitude resultam em pressões atmosférica locais distintas. Locais com altitudes mais elevadas têm pressão atmosférica menor, gerando nas leituras maior volume de gases por pressão gasosa (Guimarães Júnior et al., 2008).

**Figura 1.** Dados de pressão e volume da produção cumulativa de gases e equação de regressão gerada**Figure 1.** Pressure and volume data of cumulative gas production and generated regression equation

P*: Probabilidade de erro tipo I pelo teste t-student.

P*: Probability of type I error by t-student test.

Tabela 1. Altitudes, parâmetros de funções de segundo grau e volume de gases para cada unidade de PSI** expressos na literatura**Table 1.** Altitudes, parameters of second degree functions and volume gases for each unit of PSI** expressed in the literature

Autores	Altitudes (m)	a*	b*	c*	R ²	1 (PSI**) (mL)
Maurício et al. (2003)	66	0,08	3,69	0,18	0,99	4,25
Maurício et al. (1999a)	780	0,18	3,87	0,56	0,98	5,13
Maurício et al. (2003)	2147	0,078	5,159	-0,138	0,99	5,70
Maurício et al. (2003)	836	0,051	4,43	-0,004	0,99	4,79
Guimarães Júnior et al. (2008)	1007	0,052	4,502	0	0,99	4,86
Azevêdo et al. (2008)	674	0,018	4,53	0	0,99	4,65

* Coeficientes da função de segundo grau ($\hat{Y} = aX^2 + bX + c$).* Second degree function coefficients ($\hat{Y} = aX^2 + bX + c$).

** PSI (Libra por polegada quadrada).

** PSI (pounds per square inch).

Neste estudo, o valor do coeficiente da função de segundo grau “b” multiplicado à pressão “P” foi de 3,7989 para a altitude de 240 m. Estes valores corroboram a ideia supracitada de Guimarães Júnior et al. (2008) e com outros autores (Tabela 1) que desenvolveram diferentes equações em locais com diferentes altitudes.

Em caso de modelos lineares, este valor pode ser entendido como o volume de gases (mL) preditos para cada unidade de PSI. No entanto, para modelos quadráticos, como o deste trabalho, se aplica, em razão do coeficiente “a” de 0,0174, também modificar a estimativa de volume de gases (mL).

Na Figura 2 pode-se observar que os parâmetros “a” e “c” das funções de segundo grau não estão associados às diferentes altitudes. No entanto, o parâmetro “b” e o volume de gases para cada unidade de PSI apresentam associação linear ($P = 0,0012$ e $P = 0,0027$, respectivamente) relativamente expressiva com valores de R^2 de 0,8107 e 0,8379 para associação do parâmetro “b” e do volume de gases para cada unidade de PSI, respectivamente.

Assim, ressalta-se a importância da implantação do método e obtenção de equações para condições e localidades específicas, principalmente quando em diferentes altitudes.

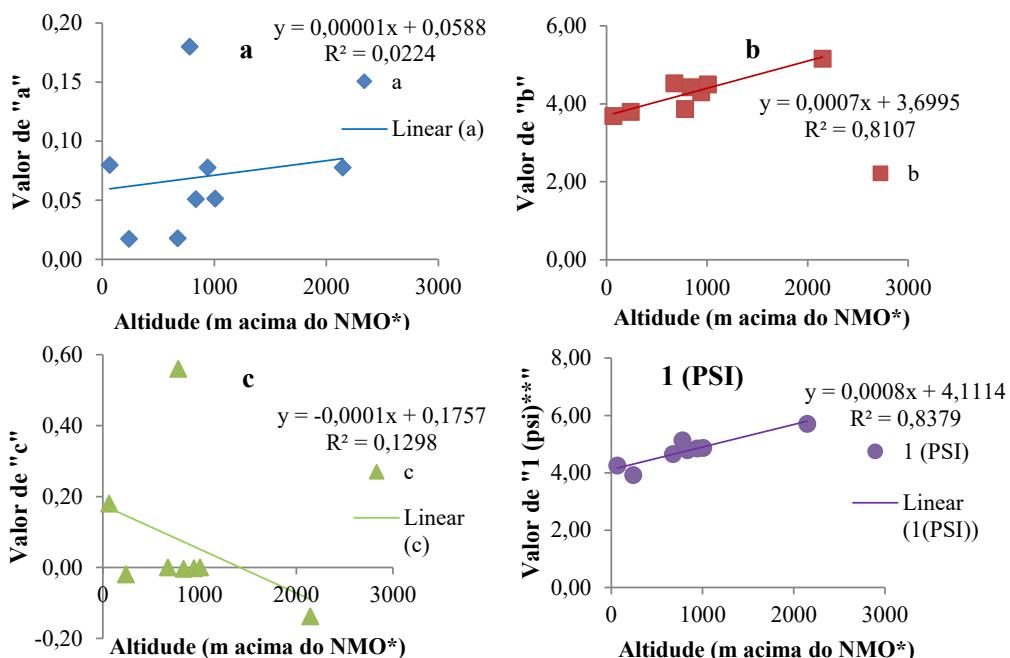


Figura 2. Relação entre altitude e parâmetros das diferentes funções de segundo grau estimadas pela literatura

Figure 2. Relationship between altitude and parameters of the different second degree functions estimated in the literature

* NMO: nível médio dos oceanos.

* NMO: middle ocean level.

** Volume de gases para cada unidade de PSI nas diferentes equações.

** Gas volume for each PSI unit in the different equations.

4 Conclusão

A altitude local influencia na relação entre pressão e volume de gases. A equação de regressão gerada por meio das leituras de pressão e volume de gases neste ensaio foi:

$$V = -0,0195 + 3,7989P + 0,0174P^2 \\ (R^2 = 0,9875)$$

Em que: V = Volume (mL); P = Pressão (PSI)

5 Referências

AZEVÊDO, M. M. R.; VASCONCELOS, V. R.; PIMENTEL, J. C. M.; PINTO, B. I. S.; ARAÚJO NETO, J. C.; CARVALHO, A. A. C. Estimativa do volume de gases por meio de equação de regressão para implantação da técnica in vitro semi-automática de produção de gases. *Revista Científica de Produção Animal*, João Pessoa, v. 10, n. 1, p. 15-20, 2008.

ELBERG, K.; STEUER, P.; HABERMANN, U.; LENZ, J.; NELLES, M.; SÜDEKUM, K. H. A small scale in vitro system for high throughput gas production analysis – A comparison with the Hohenheim gas test. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v. 241, p. 8-14, 2018.

GUIMARÃES JÚNIOR, R.; CABRAL FILHO, S. L. S.; FERNANDES, F. D.; VILELA, L.; MARTHA JÚNIOR, G. B. Relação entre pressão e volume para implantação da técnica in vitro semi-automática de produção de gases na Embrapa Cerrados. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. (Comunicado Técnico, 144).

MAURÍCIO, R. M.; OWEN, E.; ABDALLA, A. L.; BUENO, I. C. S.; MOULD, F. L.; GILMOUR, S.; THEODOROU, M. K. Comparison of rumen liquor and faeces, in UK and Brazil, as sources of microorganisms for *in vitro* gas production for assessing twelve forages. *Proceedings of the British Society of Animal Science*, Cambridge, v. 1999, p. 148, 1999a.

MAURÍCIO, R. M.; MOULD, F. L.; DHANOA, M. S.; OWEN, E.; CHANNA, K. S.; THEODOROU, M. K. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v. 79, n. 4, p. 321-330, 1999b.

MAURÍCIO, R. M.; PEREIRA, L. G. R.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUEZ, N. M. Relação entre pressão e volume para implantação da técnica in vitro semi-automática de produção de gases na avaliação de forrageiras tropicais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 55, n. 2, p. 216-219, 2003.

OLIVO, P. M.; SANTOS, G. T.; ÍAVO, L. C. V.; SILVA JUNIOR, R. C.; LEAL, E. S.; PRADO, R. M. Assessing the nutritional value of agroindustrial co-products and feed through chemical composition, *in vitro* digestibility, and gas production technique. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, Maringá, v. 39, n. 3, p. 289-295, 2017.

SAS INSTITUTE. *SAS/STAT 9.4: user's guide*. Cary: SAS Institute, 2015.

THEODOROU, M. K.; WILLIAMS, B. A.; MEWA, S. DHANOA, M. S.; MCALLAN, A. B.; FRANCE, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v. 48, n. 3-4, p. 185-197, 1994.

Contribuição dos autores: Ambos os autores contribuíram com o trabalho; Tays Raniellen Miranda Feitosa realizou o experimento, a coleta de dados e a escrita científica, e submeteu as amostras a testes laboratoriais; Luciano Fernandes Sousa realizou a análise estatística e a revisão do manuscrito, e contribuiu com a escrita científica, além de orientar toda a execução do experimento.

Fonte de financiamento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

Conflito de interesse: Os autores declaram não haver conflito de interesse.