

Métodos de determinação dos teores de amido e pectina em alimentos para animais (*Determination methods of starch and pectin levels in animal feeds*)

Gleudson Jordano Pinto de Carvalho¹, Francisco Éden de Paiva Fernandes², Aureliano José Vieira Pires³

¹ Mestrando em Zootecnia, UFV, Viçosa – MG – Brasil. Bolsista do CNPq. gleidsongjordano@yahoo.com.br

² Mestrando em Zootecnia, UFV, Viçosa – MG – Brasil. Bolsista da FAPEMIG. fernandesfep@yahoo.com.br

³ Departamento de Tecnologia Rural e Animal, UESB, Itapetinga – BA – Brasil. aureliano@uesb.br

Resumo

A separação dos carboidratos não fibrosos (CNF) em frações nutricionalmente mais relevantes, por meio de análises de seus componentes, tais como ácidos orgânicos, mono e oligossacarídeos, amido e fibra solúvel contribuem para avanços na formulação de dietas. A pectina, embora seja um carboidrato associado à parede celular, não é covalentemente unida às porções lignificadas e é completamente digerida no rúmen (90 a 100%). Com a importância destes compostos na alimentação de ruminantes, esta revisão tem por objetivo descrever alguns métodos de avaliação de amido e pectina em alimentos para animais.

Palavras-chave: carboidratos, digestibilidade, métodos de determinação

Abstract

The separation of non fiber carbohydrates (NFC) in nutritionally more relevant fractions, by analysis of its components, such as organic acids, mono and oligosaccharides, starch and soluble fiber contribute to advances in diet formulation. Pectin, although an cellular wall associated carbohydrate, is not covalent linked to lignified portions and is completely digested in the rumen (90 and 100%). With the importance of these components in ruminant feeding, this revision has the objective of describe some starch and pectin evaluation methods in animal feeds.

Key words: carbohydrates, digestibility, determination methods

Introdução

Dos componentes dos CNF, o amido talvez seja o mais importante, sendo o principal componente energético dos grãos de cereais e raízes utilizados na alimentação de ruminantes, devido as suas características como fonte de reserva, este apresenta uma disponibilidade energética superior à dos carboidratos estruturais (Zeoula & Neto, 2001).

Os carboidratos estruturais incluem aqueles encontrados normalmente constituindo a parede celular, representados principalmente pela pectina, hemicelulose e celulose, que são

Pinto de Carvalho¹, Gleudson Jordano; de Paiva Fernandes, Francisco Éden ; Vieira Pires, Aureliano José. | Métodos de determinação dos teores de amido e pectina em alimentos para animais.

Revista Electrónica de Veterinaria REDVET®, ISSN 1695-7504, Vol. VII, nº 01, Enero/2006, [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)® -

[Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)® - Veterinaria Organización S.L.® España. Mensual. Disponible en

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> y más específicamente en

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010106.html>

normalmente os mais importantes na determinação da qualidade nutritiva das forragens (Van Soest, 1994).

As substâncias pécticas são polissacarídeos ácidos de elevado peso molecular, constituídas por unidades de ácido D-galacturônico e ocorrem praticamente em todas as plantas superiores, nas quais se encontram, principalmente, sob a forma de protopectina na lamela média e membrana celular. Nos frutos, encontram-se nos espaços intercelulares, sendo constituídas por unidades de ácido Dgalacturônico, estando presente em grande quantidade nos frutos verdes na forma de protopectina (Wosiack, 1971 citado por Pimenta et al., 2004). Diferenças na estrutura, degradabilidade, local de utilização e influência sobre a fermentação ruminal entre os diversos cereais que podem ser utilizados como fonte de amido, influenciam diretamente a performance dos animais e desperta o interesse por parte dos pesquisadores em determinar relações ideais entre os teores de amido das diversas fontes e os demais nutrientes da dieta.

De acordo com o CNCPS, os carboidratos podem ser fracionados em componentes "A" (açúcares solúveis e ácidos orgânicos, com rápida degradação ruminal), "B1" (amido e pectina, com degradação intermediária), "B2" (correspondente à fibra potencialmente degradável, com taxa de degradação mais lenta) e "C", que apresenta características de indigestibilidade.

Neste sentido esta revisão tem como objetivo descrever alguns métodos de determinação de amido e pectina em alimentos para animais.

Revisão de Literatura

A falta de métodos ou problemas com ensaios para carboidratos individuais tornam impraticável a medida individual de CNF e a soma dos componentes (Hall, 2001). Geralmente, o conteúdo de CNF dos alimentos é calculado baseado nas porcentagens de nutrientes subtraídos de 100% de matéria seca (MS):

$$\text{CNF}\% = 100\% - (\text{PB}\% + \text{FDN}\% + \text{EE}\% + \text{Cinzas}\%)$$

Ou

$$\text{CNF}\% = 100\% - [\text{PB}\% + (\text{FDN}\% - \text{PBF DN}\%) + \text{EE}\% + \text{Cinzas}\%]$$

Onde:

PB= proteína bruta, EE=extrato etéreo, FDN=fibra em detergente neutro e PBF DN= proteína bruta insolúvel em detergente neutro.

Segundo Hall (2001), embora a primeira equação seja mais comumente usada, a segunda equação é preferida, porque ela corrige a FDN para proteína bruta (PBF DN) e evita que se subtraia a PBF DN duas vezes (como parte de PB e da PBF DN). Efetivamente, a fração CNF incluem quaisquer carboidratos solúveis em detergente neutro.

A fração de carboidratos dos alimentos mais prontamente digestível carece ainda de um sistema satisfatório de classificação, embora eles representem a principal fonte de energia produzida pelos componentes dos alimentos.

Na prática, as frações de carboidratos são definidas pelos métodos químicos ou enzimáticos usados para sua análise. Sua partição confia nas diferenças de solubilidade e especificidade enzimática. Dessa forma, é essencial que o procedimento seja suficientemente específico para realizar a separação desejada para descrever as frações nutricionalmente relevantes (Figura 1), uma vez que, possuem características nutricionais diferentes (Figura 2).

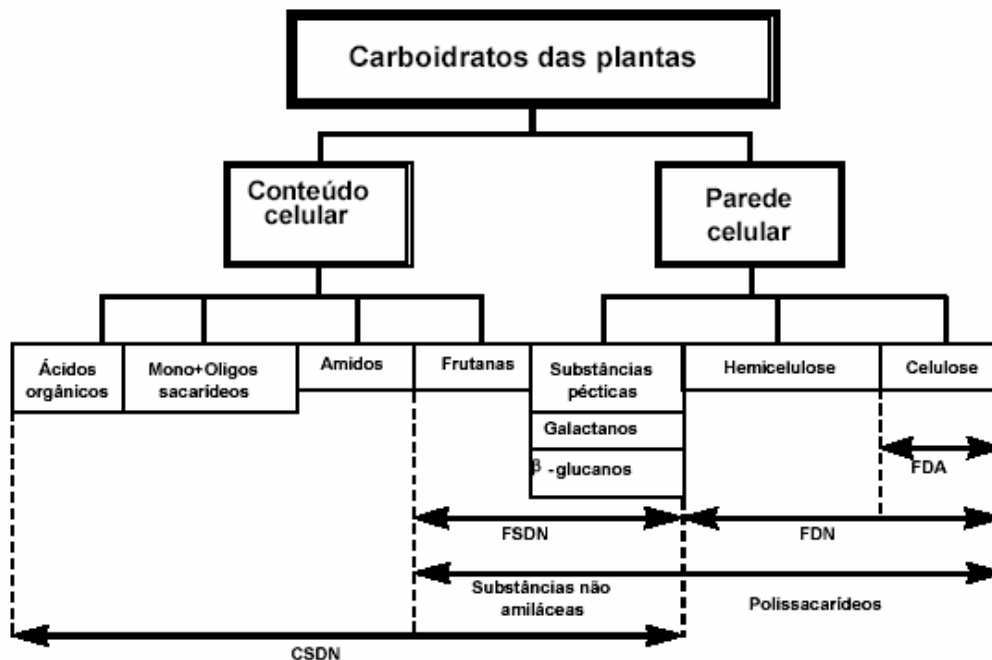


Figura 2. Carboidratos das plantas. FDA = fibra em detergente ácido, FDN = fibra em detergente neutro, CSDN = carboidratos solúveis em detergente neutro, FSDN = fibra solúvel em detergente neutro, Açúcares = mono e oligossacarídeos. Lignina em FDA e FDN não está incluída porque ela não é um carboidrato (Adaptado de Hall, 2001).

Segundo Hall et al. (1999) um ponto negativo na utilização das equações anteriores, mesmos após as correções para a PB da FDN ou para a inclusão de NNP das dietas, é a inclusão de uma grande variedade de carboidratos com solubilidades, taxas de degradação, características de fermentação ruminal e capacidade de utilização, ao nível de intestino delgado muito diferente.

Júlio César Teixeira

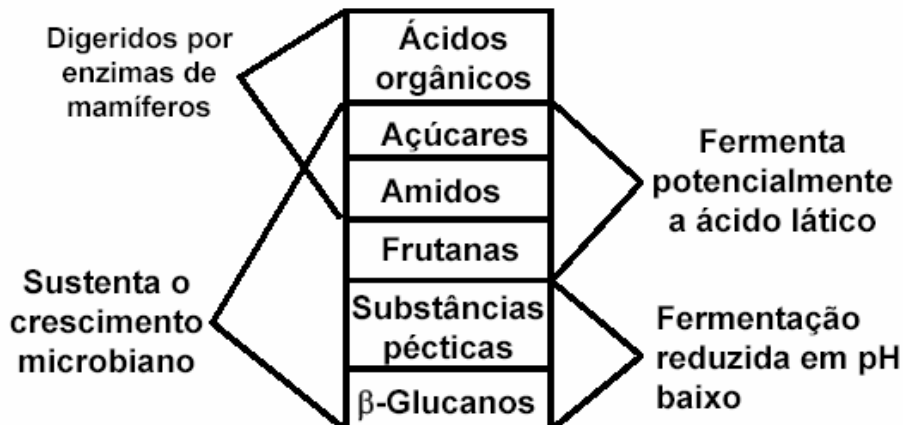


Figura 3. Características nutricionais de carboidratos solúveis em fibra em detergente neutro (Adaptado de Hall, 2001).

Hall et al. (1999) desenvolveram um sistema para partição de CSDN em ácido orgânico, açúcar, amido e frações fibrosas solúveis. O sistema usa uma extração com 80% de etanol para separar açúcares e ácidos orgânicos de baixo peso molecular dos polissacarídeos (amido e fibra solúvel). Os açúcares são medidos diretamente no extrato de etanol e o amido no resíduo insolúvel em etanol. Os ácidos orgânicos e as fibras solúveis em detergente neutro (CSDN), que são as duas frações mais diversas, em termos de composição, são calculadas por diferença.

Os cálculos para ácidos orgânicos e fibra solúvel em detergente neutro são:

$AO = (\text{Matéria orgânica da amostra} - PB) - (\text{MOIE} - \text{PBIE}) - EE - \text{Açúcares}$; $\text{CSDN} = (\text{MOIE} - \text{PBIE}) - (\text{MORDN} - \text{PBRDN}) - \text{AIE}$

Onde:

AO = Ácido orgânicos; PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, PBIE= proteína bruta insolúvel em etanol a 80%, MOIE= matéria orgânica insolúvel em etanol a 80%, PBRDN= proteína bruta insolúvel no resíduo de detergente neutro, MORDN= matéria orgânica no resíduo de detergente neutro (FDN) e MO= matéria orgânica, AIE=amido insolúvel em etanol a 80%.

Um esquema representativo é mostrado na Figura 4.

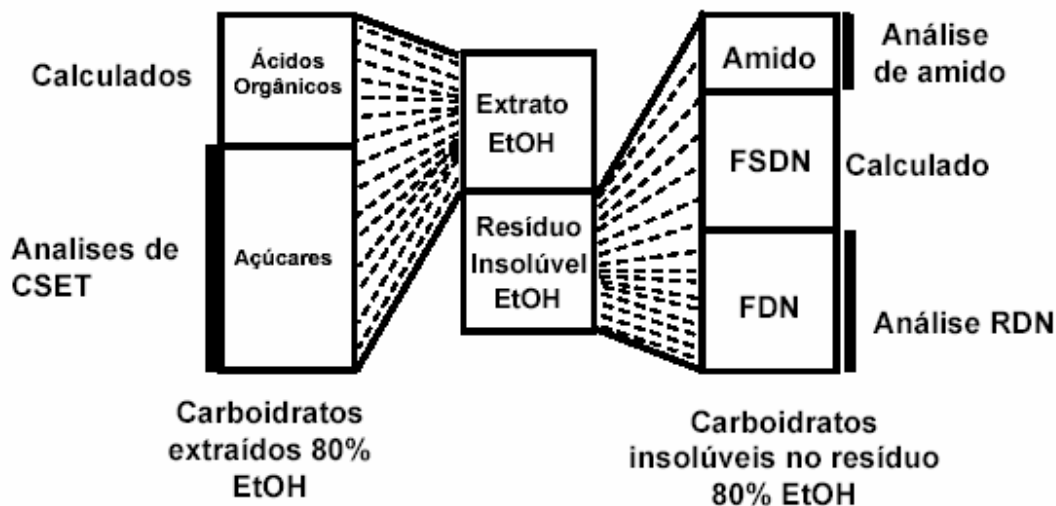


Figura 5. Partição do CSDN com etanol (80%), em análise direta e estimativas de cálculo. Etanol 80%= 80:20 etanol:agua (v:v), FDN = fibra em detergente neutro, RDN = resíduo em detergente neutro, FSDN = fibra solúvel em detergente neutro, CSET = carboidratos solúveis em etanol 80%. (Adaptado de HALL et al., 1999).

A maioria das análises de amido, são enzimáticas, confiando na especificidade enzimática para separar o amido de outros carboidratos contendo glicose. Os passos seguidos na avaliação de amido são normalmente a gelatinização, a hidrólise e a medição dos produtos finais. Os elementos críticos para uma acurada avaliação do amido são: 1) uma completa gelatinização do amido 2) especificidade das enzimas 3) completa hidrólise do amido a glicose 4) medições específicas da glicose produzida a partir do amido hidrolisado 5) minimização das interferências (Hall, 2003).

A gelatinização envolve a dissolução das pontes de hidrogênio entre e dentro das moléculas de amido, permitindo a hidratação e a hidrólise enzimática da molécula. Antes da gelatinização o amido nos grãos processados é cristalino. As porções lineares da molécula são ligadas entre si por pontes de hidrogênio, resultando em uma exclusão da água e resistência à atividade enzimática, dessa forma essa estrutura cristalina deve ser rompida para que se consiga uma completa hidrólise enzimática do amido em um intervalo de tempo razoável. O processo de gelatinização é tipicamente realizado com aquecimento com água quente (90 a 100°C), ou, alternativamente, com o uso de uma base (hidróxido de potássio) seguida por uma neutralização. Sendo que uma incompleta gelatinização pode levar a uma incompleta hidrólise do amido à glicose.

A hidrólise enzimática de somente ligações lineares alfa 1-4 e ramificações alfa 1-6, presentes no amido é o elemento que torna o método específico para o amido e alfa-glucanos, excluindo outros carboidratos que contenham glicose da análise. A amilase termoestável, a qual pode ser adicionada durante o processo de gelatinização e uma amiloglicosidase são comumente usadas, cuidados devem ser tomados para garantirem condições ótimas de atuação enzimática (pH e temperatura). Desde que o amido é estimado como a glicose liberada pela hidrólise enzimática, essa deve ser completa ou o amido será subestimado. A presença de outras enzimas tais como invertase (hidrolisa sacarose), ou celulase as quais liberam glicose por meio da hidrólise de substratos não amiláceos podem superestimar a quantidade de amido. As medições dos produtos de hidrólise do amido devem ser realizadas com análises específicas para glicose, tais como a avaliação da glicose oxidase-peroxidase. O conteúdo de amido é calculado como o conteúdo de glicose vezes 0,9 o que permite a subtração do peso de uma molécula de água (18g/mol) para cada molécula de glicose (180g/mol), sendo que, esse fator considera a remoção de uma molécula de água durante as ligações covalentes das moléculas de glicose para formar o amido. A glicose deve ser usada como padrão para a avaliação do produto final da hidrólise, o uso do amido não é recomendado, devido a este confiar na completa recuperação do amido (amido medido/amido existente) além de presumir similar recuperação para todas as fontes. De acordo com Hall, (2003) ao conduzir-se a análise em uma amostra de amido purificado como controle, isso permite a avaliação da enzima, das condições de avaliação e da eficácia da técnica.

Algumas substâncias podem interferir, aumentando ou diminuindo a medição do amido estimado. O método de medição de produtos finais usa ambos glicose ou açúcares redutores, e determina quais substâncias podem interferir na análise. Algumas preparações comerciais de enzimas (amiloglicosidase), especialmente as utilizadas para a análise de fibra dietética, contém glicose e não devem ser utilizadas para a análise de amido. Mesmo substâncias que não são carboidratos, mas, que absorvem o mesmo comprimento de onda no colorímetro, podem indevidamente alterar os valores de amido. A interferência de carboidratos de baixo peso molecular pode ser reduzida ou eliminada pelo pré-extração do material com solução 80% etanol: água (v/v), antes da análise de amido. Alternativamente a glicose livre pode ser medida em uma amostra de "branco" não tratada com enzima e esse valor ser posteriormente subtraído da amostra hidrolisada. A pureza da enzima pode ser testada analisando-se amostras de sacarose, celobiose ou celulose com o método de amido, sendo que quantidades apreciáveis de glicose não deverão ser produzidas.

A extensão na qual substâncias podem interferir na análise de amido é dependente do tipo de amostra analisada. Amostras de grãos maduros e silagem provavelmente terão poucos carboidratos remanescentes interferindo com a análise de amido. O procedimento para avaliação de amido por meio da detecção dos produtos finais da hidrólise, deve ser realizado no mesmo dia para minimizar a degradação dos produtos pela atividade microbiana.

Em relação as pectinas, são considerados carboidratos associados com a parede celular mas não é covalentemente unida às porções lignificadas e são digeridas completamente no

rúmen (90 a 100 %). As concentrações de pectina são altas em polpa cítrica, polpa de beterraba, casca de soja, e em leguminosas, mas geralmente é baixa em gramíneas (Allen e Knowlton, 1995; citados por Hall, 2001).

Normalmente, o coeficiente de digestibilidade aparente da FDA é menor do que o coeficiente de digestibilidade da FDN. Isso pode ser observado nos trabalhos conduzidos por Rodrigues et al. (1997) e Resende et al. (2001), porém em experimento realizado por Melo et al. (2003) os autores observam-se valores de digestibilidade da FDA superiores aos da FDN, fato este que também observado por Andrade et al. (2002), quando da substituição da silagem de sorgo por palma forrageira. Isso, provavelmente, deve-se ao procedimento metodológico utilizado para determinação das fibras em detergente neutro e detergente ácido, pois as mesmas são comumente determinadas em amostras separadas (comum), e não na mesma amostra (seqüencial), como descrito por Van Soest (1967). Portanto, quando da determinação da FDA do alimento pelo método comum, estaria sendo incorporada, além da celulose e da lignina, a pectina presente na palma forrageira. Essa substância é pouco solúvel em detergente ácido, uma vez que faz parte da parede celular; porém, solúvel em detergente neutro e altamente digestível pelos microrganismos do rúmen.

Este comportamento foi verificado quando da composição de FDN e FDA determinados pelos métodos comum e seqüencial, cuja diferença resultou em 4,6% na MS, ou 23,3% a menos do total de FDA, que, presume-se, seja relativo ao teor de pectina.

Diante do exposto, sugere-se que, quando da análise dos teores de fibra da palma forrageira ou outro alimento material com elevada concentração de pectina, deve-se adotar a metodologia descrita por Van Soest (1967).

Métodos de determinação de amido e pectina

Amido

Este método que será abordado posteriormente foi descrito por Carvalho et al. (2002) e, segundo os autores se aplica principalmente a farinha de trigo, mandioca ou amostras que contenham alto teor de amido.

Princípio

O amido não apresenta reação redutora. Uma hidrólise energética em meio fortemente ácido produz exclusivamente glicose, que é determinada pelo método de Lane-Eynon. Baseia-se na redução de um volume conhecido de um reagente de cobre alcalino (Fehling) a óxido cuproso. O ponto final é indicado pelo azul de metileno, que é reduzido à sua forma leuco por um pequeno excesso de açúcar redutor.

Material e Equipamentos

1. Autoclave.
2. Chapa elétrica com regulagem até 150°C.
3. Papel de filtro qualitativo.

4. Papel tornassol.
5. Vidraria comum de laboratório.

Reagentes e Soluções

1. Ácido clorídrico concentrado (HCl) P.A.
2. Solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 10%.
3. Sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) P.A.
4. Tartarato duplo de sódio e potássio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) P.A.
5. Solução de acetato de zinco (CH_3COO)₂Zn.2H₂O) A 30% ou sulfato de zinco ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) A 30%.
6. Solução de azul de metileno a 1%.
7. Solução de Fehling tituladas: *Preparo:* Solução A – pesar 34,639g de sulfato de cobre - $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ e transferir para um balão volumétrico de 1000mL. Completar o volume com água destilada. Solução B – pesar 173g de tartarato duplo de sódio e potássio (sal de Rochelle) e 125g de NaOH. Transferir para um balão volumétrico de 1000mL e completar o volume com água destilada. *Titulação:* Colocar numa bureta a solução padrão de glicose. Transferir com pipeta volumétrica 10mL de solução de Fehling A e 10mL de solução de Fehling B para balão de titulação Fehling. Adicionar 40mL de água destilada, juntamente com algumas pérolas de ebulição, aquecendo até a ebulição. Gotejar a solução padrão, sem agitação, até quase o final da titulação. Mantendo a ebulição, adicionar uma gota de azul de metileno a 1% e completar a titulação até descoramento do indicador. O final da titulação será em torno de 10mL de glicose. *Cálculo do título da solução Fehling:*

$$\text{FC} = \frac{\text{ml gastos de glicose} \times 0,5}{100}$$

O tempo de titulação não deve ultrapassar 3 minutos.

8. Solução de ferrocianeto de potássio ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) a 15%.
1. Solução padrão de glicose – pesar 0,500g de glicose pura (seca em estufa à vácuo regulada a 70°C, durante 1h) e diluir a 100mL em balão volumétrico.

Procedimento

2. Pesar 2g de amostra com precisão de 0,0001g.
3. Com o auxílio de 200mL de água, transferir a amostra para um Erlenmeyer de 500mL.
4. Adicionar 1mL de NaOH a 10% e colocar em autoclave a 121°C por 1h. Deixar esfriar.
5. Adicionar 10mL de HCl concentrado e aquecer novamente em autoclave (1atm) por 30 minutos. Esfriar novamente, neutralizar a solução com NaOH 40%. Adicionar ao balão 5mL de cada antiinterferente e transferir para balão volumétrico de 500mL.
6. Completar o volume com água destilada. Agitar e deixar sedimentar.

7. Filtrar em papel de filtro seco. Receber o filtrado em um frasco Erlenmeyer seco.
8. Transferir a solução filtrada para uma bureta de 25mL.
9. Transferir para um balão de titulação de Fehling de 250mL com auxílio de pipetas, 10mL de cada uma das soluções de Fehling e algumas pérolas de ebulição. Adicionar 40mL de água destilada.
10. Aquecer até a ebulição. Adicionar gota a gota a solução da bureta até que fique levemente azulada.
11. Mantendo a ebulição, adicionar uma gota da solução de azul de metileno a 1% e continuar a titulação até a descoloração do indicador (no fundo do frasco deve ficar um resíduo vermelho). Titular no menor tempo possível após a adição do azul de metileno.

Cálculos

$$\text{Amido (\%)} = \frac{\text{FC}/2 \times 500 \times 100 \times 0,9}{V \times P}$$

Onde:

FC = título da solução de Fehling.

V = nº de ml da solução da amostra gasto na titulação.

P = peso da amostra em g.

(a) Quando a amostra só contém amido, multiplicar o resultado por 0,90, que é o fator de transformação de glicose em amido.

(b) Se a amostra contém sacarose, o cálculo será:

$$\% \text{ amido} = (\text{açúcares totais} - \text{sacarose}) \times 0,90$$

(C) Se a amostra contém sacarose e glicose o cálculo será: % amido = [açúcares totais - (sacarose + glicose)] x 0,90

Métodos para pectina

1) O procedimento que será abordado foi descrito por Bucher (1984) citado por Van Soest (1991). Este método foi melhorado com respeito a especificidade para o ácido galacturônico sobre o ácido glucorônico. O procedimento não mensura arabinanas que pode está associada com a pectina.

Reagentes

Os reagentes incluem o ácido sulfúrico concentrado, solução de hidróxido de sódio (0.5% NaOH, p/p) e o reagente metahidroxidifenil (0.15% m-fenilfenol, p/v em 0.5% NaOH, p/p).

Procedimento

Alíquotas (0,5mL) da solução da amostra contendo 5 a 20 ug de ácido urônico por alíquota são pipetados dentro de tubos de teste (15 x 25 mm) em quaduplicata e os tubos são colocados em um banho de gelo por no mínimo 10 minutos. O ácido sulfúrico concentrado (3mL) em temperatura ambiente é pipetado dentro de cada tubo e os tubos são imediatamente devolvidos ao banho de gelo por no mínimo 5 minutos. Os tubos são então misturados através de vortexing e colocados em banho-maria, com agitação, a 80°C por exatamente 8 minutos. Os tubos são removidos e esfriados em temperatura ambiente. O reagente metahidroxidifenil (50ul) é adicionado a um par de tubos e a solução de hidróxido de sódio (50ul) é adicionada a um segundo par de tubos para o controle. Todos os tubos são vortexed por 10 segundos e mantidos em temperatura ambiente por poucos minutos para assegurar completa formação de cor e permitir a dissipação de bolhas. As absorvâncias são lidas em 520 nm em um espectrofotômetro dentro de 1 hora de mistura (a cronometragem é importante). As amostras são corrigidas por leituras do branco. A concentração de galacturona é calculada por referência a uma curva do ácido galacturônico padrão que segue a lei de Lambert-Beer até 35 ug/ml da solução da amostra (17,5 ug/alíquota). Uma partida de padrões de soluções de ácido galacturônico é analisada com cada partida de amostras.

2) Este segundo método que será abordado foi proposto por Carvalho et al. (2002). De acordo com os autores esta técnica se aplica em resíduos de frutas, geléias e produtos afins.

Princípio

Baseia-se na neutralização das cargas dos resíduos de ácido galacturônico livre pelos íons cálcio, provocando a geleificação da pectina e sua precipitação.

Material e Equipamentos

1. Balança analítica (precisão 0,0001g).
2. Banho-maria.
3. Cápsulas de alumínio.
4. Dessecador (com sílica).
5. Erlenmeyer de 500ml.
6. Estufa.
7. Papel de filtro Whatmann n.4.
8. Vidraria comum de laboratório.

Reagentes e Soluções

1. Solução de ácido acético ($H_3C_6H_5O_2 \cdot H_2O$) 1 N: 58g em 1000ml de água destilada.
2. Solução de cloreto de cálcio ($CaCl_2$) 2 N: 220g em 1000ml de água destilada recentemente fervida e resfriada.
3. Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1 N: 40g de NaOH em 1000ml de água destilada recentemente fervida e resfriada.
4. Solução de nitrato de prata ($AgNO_2$) a 1%.

De Moura Zanine, Anderson; Mauro Santos, Edson; De Jesus Ferreira, Daniele; Pinto de Garvalho, Gleidson 10
Giordano. **Potencialidade da integração lavoura-pecuária: relação planta-animal.** *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET* @, ISSN 1695-7504, Vol. VII, nº 01, Enero/2006, [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org) @ - *Comunidad Virtual Veterinaria.org* @ - Veterinaria Organización S.L.® España. Mensual. Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> y más específicamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010106.html>

Procedimento

A – 1º dia

1. Pipetar 100ml de amostra ou pesar quantidade conveniente (50g de goiaba ou 100g de laranja) em um Becker de 800ml. Juntar cerca de 400 ml de água destilada.
2. Ferver lentamente durante 1 h, recolocando a água perdida por evaporação. Deixar esfriar o conteúdo do Becker.
3. Agitar bem e filtrar para um Erlenmeyer de 500ml usando papel de filtro (ou algodão).
4. Verter para um balão volumétrico de 500ml e completar o volume. Pipetar alíquotas de 100ml em Becker de 500ml.
5. Adicionar 300ml de água destilada e 10 ml de hidróxido de sódio 1 N, agitando continuamente.
6. Deixar em repouso durante a noite.

B – 2º dia

1. Adicionar 50ml de solução de ácido acético 1N.
2. Esperar 5 minutos.
3. Adicionar, também sob agitação, 50ml de solução de cloreto de cálcio 2N.
4. Levar à fervura por 1 minuto.
5. Deixar em repouso por 1 h, no mínimo.
6. Filtrar em papel de filtro (seco e previamente tarado em cápsula de alumínio). Lavar com água destilada bem quente até remover todo o cloreto livre (testar com nitrato de prata). Transferir o resíduo do filtro para a cápsula de alumínio previamente tarada, evaporar em banho-maria até secura.
7. Deixar em estufa a 100°C por 3 h ou 40°C durante a noite.
8. Deixar esfriar em dessecador e pesar.

Cálculo

O teor de pectina é calculado pela fórmula:

$$\text{gramas de pectato de cálcio \%} = \frac{\text{g de pectato de cálcio} \times 100}{\text{(volume ou peso da amostra)}}$$

Referências

- ANDRADE, D. K. B., FERREIRA, M.A., VERÁS, A.S.C. et al. Digestibilidade e absorção aparentes em vacas da raça Holandesa alimentadas com palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 31, n.5, p. 2088-2097, 2002.
- CARVALHO, H.H., JOMG, E.V., BELLÓ, R.M. et al. **Alimentos: métodos físicos e químicos de analyses**. 1.ed. Porto alegre: Universidade/UFRGS, 2002. 180p.
- HALL, M. B. Challenges with nonfiber carbohydrate methods. **Journal of Animal Science**. v.81, p. 3226–3232, 2003.

De Moura Zanine, Anderson; Mauro Santos, Edson; De Jesus Ferreira, Daniele; Pinto de Garvalho, Gleidson 11
Giordano. **Potencialidade da integração lavoura-pecuária: relação planta-animal**. [Revista Electrónica de Veterinaria REDVET](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet) @, ISSN 1695-7504, Vol. VII, nº 01, Enero/2006, [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org/) @ - [Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org/) @ - Veterinaria Organización S.L.® España. Mensual. Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> y más específicamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010106.html>

- HALL, M.B., HOOVER, W.H.; JENNINGS, J.P., MILLER, T.K.; WEBSTER. A method for partitioning neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal Science Food Agriculture**, v.79, p.2079, 1999.
- HALL, M.B.; Recent advanced in non-ndf carbohydrates for the nutrition of lactating cows, In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM BOVINOS DE LEITE, 2., 2001, Lavras. **Anais...** Lavras:UFLA-FAEPE, 2001. p.139-148.
- MELO, A.A.S., FERREIRA, M.A., VERÁS, A.S.C. ET AL. Substituição parcial do farelo de soja por uréia e palma forrageira em dietas para vacas em lactação. Digestibilidade. **Revista Acta Scientiarum**, v.25, n.2, p.339-345, 2003.
- PIMENTA, C.J., VILELA, E.R., CARVALHO JUNIOR, C. Componentes de parede celular de grãos de frutos de café (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes tempos à espera da secagem. **Revista Acta Scientiarum**, v.26, n.2, p.203-209, 2003.
- RESENDE, F. D., QUEIROZ, A.C., OLIVEIRA, J.V. et al. Bovinos mestiços alimentados com diferentes proporções de volumoso:concentrado. 1. Digestibilidade aparente dos nutrientes, ganho de peso e conversão alimentar. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.30, n.1, p. 261-269, 2001.
- RODRIGUES, L. R. R., FONTES, C.A.A., JORGE, A.M. et al. Digestibilidade de rações contendo quatro níveis de concentrado em bovino (taurinos e zebrinos) e bubalinos. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.26, n.4, p. 844-851, 1997.
- VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed analysis and its applications to forages. **Journal of Dairy Science**, v.26, n.1, p.119-128, 1967.
- VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. 2. ed. New York: Cornell University Press, 1994.
- VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J.B., LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**. V.74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- ZEOULA, L.M.; NETO, S.F.C. Recentes Avanços em Amido na Nutrição de Vacas Leiteiras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE – **Anais...** SINLEITE, 2, 2001, Lavras: UFLA, p. 228 – 243, 2001.

Trabajo recibido el 11/11/2005, nº de referencia 010604_RED VET. Enviado por su autor principal, miembro de la [Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)®. Publicado en [Revista Electrónica de Veterinaria REDVET](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet)®, ISSN 1695-7504 el 01/01/06.

[Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)® - [Comunidad Virtual Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)® - Veterinaria Organización S.L.® Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica en su totalidad o parcialmente, siempre que se cite la fuente, enlace con [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org) - [http://www.veterinaria.org/](http://www.veterinaria.org) y [REDVET](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet)® <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> y cumplan los requisitos indicados en [Copyright](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010106.html) 1996-2006