

# DETERMINAÇÃO DO FLUXO DE MÚLTIPLOS MARCADORES DE DIGESTA EM CARNEIROS UTILIZANDO TÉCNICAS ALTERNATIVAS DE ANÁLISE<sup>1</sup>

A.R.NOGUEIRA<sup>2</sup>; G.S.LOPES<sup>3</sup>; E.C.LIMA<sup>3</sup>; R.C.WANDERLEY<sup>4</sup>; A.G.SILVA<sup>2</sup>; F.J.KRUG<sup>5</sup>



<sup>1</sup> Trabalho desenvolvido no CPPSE, Embrapa e no CENA, USP, com financiamento do CNPq-PADCT e FAPESP.

<sup>2</sup> Pesquisadores do CPPSE, Embrapa, CP 339, CEP 13560-970, São Carlos, SP, Fone 016-2727611-

Email: anarita@cppse.embrapa.br

<sup>3</sup> University of Arizona, Tucson, USA; <sup>4</sup> Alunos de pós-graduação, UFSCar, S.Carlos, SP; <sup>5</sup> Pesquisador, CENA, USP, Piracicaba, SP

**RESUMO:** Um experimento foi desenvolvido para avaliar a utilização de técnicas analíticas alternativas na determinação da taxa de passagem ruminal (*turnover*) de diferentes marcadores de digesta (cromo, cobalto-EDTA e itérbio) em carneiros deslançados da raça Santa Inês. Os marcadores foram administrados simultaneamente em uma única dose a seis carneiros e as amostras de fezes coletadas em intervalos de seis horas, durante um período de 90 horas. Os marcadores foram determinados nas amostras por métodos alternativos de análise; cromo e cobalto por espectrometria, empregando sistema polivalente por injeção em fluxo, e itérbio por atomização eletrotérmica com filamento de tungstênio. Os resultados mostraram que essas técnicas apresentam-se como boa alternativa à utilização de absorção atômica com forno de grafite ou chama, possibilitando a determinação dos marcadores em concentrações cerca de 10 vezes menores.

**PALAVRAS-CHAVES:** Análise por injeção em fluxo, absorção atômica, atomização eletrotérmica, cobalto, cromo, filamento de tungstênio, itérbio, taxa de passagem.

## DETERMINATION OF MULTIPLE MARKERS FLUX IN SHEEP BY USING ALTERNATIVE ANALYTICAL TECHNIQS

**ABSTRACT:** A procedure was carried out to study alternative analytical technics to determine the ruminal passage rate (*turnover*) of different digest markers (chromium, Co-EDTA and Ytterbium) in sheep faeces. Six sheep simultaneously received one dose of the markers and the fecal samples were obtained every 06 hours through 90 hours. The markers were them determined in the sheep faeces by different analytical methods; spectrometry for chromium and cobalt, by using flow injection polyvalent system, and ytterbium by tungsten coil electrothermal absorption. With the results it is possible to observed that the technics used were a good alternative to the graphite furnace and flame atomic absorption spectrometry (FAAS), and that a reduction of 10 fold of added markers in animal daily diet in relation to FAAS procedure can be obtained.

**KEYWORDS:** Animal faces, cobalt, chromium, electrothermal atomic absorption spectrometry, flow injection analysis, tungsten coil atomizer, passage rate, ytterbium.

### INTRODUÇÃO

A avaliação do valor nutritivo dos alimentos consumidos pelos animais, em condições de pastejo ou confinados, é bastante requisitada, sendo que a determinação da digestibilidade envolvendo coleta total de fezes

é trabalhosa e onerosa. Método alternativo bastante utilizado é o denominado método dos indicadores ou marcadores, que podem fornecer uma série de informações, incluindo-se a quantidade ingerida de alimentos ou nutrientes

específicos, a taxa de passagem da digesta através de todo o trato gastrointestinal, a digestibilidade do alimento ou nutriente específicos e a produção e trânsito fecal (POORE, 1987). Múltiplos marcadores podem ser utilizados simultaneamente para se determinar diferentes taxas de passagem no mesmo animal.

Estes estudos são conduzidos misturando-se diferentes marcadores (óxido crômico, cobalto-EDTA ou terras raras) ao alimento e analisando-

se posteriormente seus teores nas fezes, coletadas em períodos regulares.

Um dos problemas normalmente encontrados são as grandes quantidades de marcadores que devem ser administrados para a obtenção de resultados analíticos satisfatórios, sendo que normalmente essas determinações são realizadas por espectrometria de absorção atômica. Foi proposto então, um experimento para avaliar a utilização de técnicas analíticas alternativas que venham a facilitar e baratear esse tipo de experimento, servindo também para reduzir a injeção de elementos ambientalmente tóxicos, como cromo. As determinações de cromo e cobalto utilizaram espectrofotometria por injeção em fluxo (RUZICKA e HANSEN, 1988) e para o itérbio espectrometria por atomização eletrotérmica em filamento de tungstênio. Os tubos de tungstênio apresentam vantagem sobre os de grafite, pelo baixo custo e alta velocidade de aquecimento, resultando em aumento nos sinais de absorvância (NÓBREGA et al., 1995). Os experimentos foram realizados com carneiros deslançados da raça Santa Inês, com o objetivo também de se obter um maior conhecimento sobre a alimentação e conversão alimentar desses animais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os marcadores foram administrados simultaneamente em uma única dose a seis carneiros. Cromo mordante, marcando a fibra, Co-EDTA, marcando a fase líquida da digesta e cloreto de itérbio, marcando o grão de milho (moído). O preparo desses marcadores foi adaptado do proposto por UDÉN et al. (1980). A seguir, três carneiros receberam a dose habitualmente administrada, enquanto que os outros três carneiros receberam os marcadores em dosagens cerca de 100 vezes inferiores.

As amostras de fezes foram coletadas em intervalos de seis horas, durante um período de 90 horas. Após a solubilização das amostras, cromo e cobalto foram determinados por espectrofotometria, empregando sistema polivalente por injeção em fluxo. Nesta configuração, as diferentes determinações são conduzidas sem modificação do módulo de análise do sistema (NOGUEIRA et al., 1995). O cromo foi determinado empregando-se difenilcarbazida (DFC) e o cobalto foi quantificado em função de seu efeito catalítico na oxidação de Tiron (ácido 1,2-dihidroxibenzeno-3,5-disulfônico) por peróxido de hidrogênio. Para a determinação de cromo, foi necessário sua solubilização e oxidação a Cr(VI) em digestão nítrico/perclórica a quente. O itérbio foi determinado por atomização

eletrotérmica em filamento de tungstênio (LIMA et al., no prelo) e forno de grafite.

As taxas de passagem foram estimadas com base no logaritmo natural da concentração dos marcadores excretados nas fezes, utilizando-se a parte linear da curva de excreção após o pico.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em função da alta sensibilidade dos métodos, pode-se trabalhar com pequenas quantidades de amostra. O sistema de análise por injeção em fluxo, empregando concentrações de  $2 \times 10^{-3}$  M DFC ou  $10^{-3}$  M Tiron mostrou linearidade até 5,00 mg Cr/L ou 40  $\mu$ g Co/L, velocidade analítica de 90/h e consumo de 0,31 mg Tiron ou 0,46 mg de DFC por determinação. Os resultados também mostraram que a atomização eletrotérmica com filamento de tungstênio é uma boa alternativa à utilização de absorção atômica com chama ou forno de grafite. No entanto, amostras com quantidades muito inferiores de marcador (100 vezes) mostraram-se susceptíveis à interferências de outros metais, tanto no sistema espectrofotométrico quanto na atomização eletrotérmica, apresentando maior variedade nos resultados.

Os resultados apresentaram a possibilidade de utilização dos marcadores em concentrações cerca de 10 vezes menores daquelas que normalmente são aplicadas. Algumas amostras foram também determinadas por ativação neutrônica como técnica comparativa, apresentando-se dentro do esperado. A taxa de passagem ruminal para a fibra, estimada pelo cromo mordante foi de 4,1 %/h; para a fase líquida, pelo Co-EDTA, de 6,3 %/h e para o milho moído, estimada pelo Yb, de 6,4 %/h (Figura 1). A utilização do filamento de tungstênio para determinação de cobalto e cromo está em desenvolvimento. Pretende-se utilizar a mesma técnica para determinação de outras terras raras, como európio e disprósio. Dessa maneira, seria ampliado seu espectro de aplicação, permitindo a utilização de um maior número de marcadores em um mesmo animal.

## CONCLUSÕES

Os resultados mostraram uma taxa de passagem para o grão moído mais próxima da fase líquida do que da fibra. A utilização de diferentes marcadores em diferentes alimentos da dieta de ruminantes é viável, com a possibilidade também de serem utilizados em doses menores que as normalmente empregadas, desde que técnicas analíticas adequadas sejam utilizadas. No entanto, quantidades muito menores de marcadores

1. LIMA, E.C., KRUG, F.J., NÓBREGA, J.A., NOGUEIRA, A.R.A., Determination of ytterbium in animal faeces by tungsten coil atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**. (no prelo).
2. NÓBREGA, J.A., SILVA, M.M., OLIVEIRA, P.V., Espectrometria atômica com atomização eletrotérmica em superfícies metálica. **Química Nova**, São Paulo, v.18, p.555-562, 1995.
3. NOGUEIRA, A.R.A., SOUZA, G.B., Sistema polivalente por injeção em fluxo para a determinação espectrofotométrica de cromo e cobalto em materiais biológicos. In: ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA, 8, 1995, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: ENQA, 1995. p.37.
4. RUZICKA J., HANSEN, E.H., **Flow Injection Analysis**. 2.ed. New York: John Wiley, 1988.
5. POORE, M.H., Rumen passage rates and fiber digestibilities for wheat straw, alfafa hay, and flaked sorghum grain in mixed diets for steers. M.S. Thesis, Tucson: University of Arizona, 1987.
6. UDÉN, P., COLUCCI, P.E., SOEST, P.J.V. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passages studies. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.31, p.625-632, 1980.

FIGURA 1. Taxa de passagem de Co-EDTA (fase líquida); Cr mordante (fibra) e Yb (grãos) em fezes de carneiros. O gráfico refere-se aos valores médios obtidos em amostras de 6 carneiros.

