

# Utilização da técnica de produção de gás para determinar a cinética de fermentação dos carboidratos estruturais e não estruturais em sorgo para forragem

RR Nogueira, E O Saliba\*, L C Gonçalves\* e RM Maurício\*\*

Universidade de Antioquia, Escuela de Producción Agropecuaria - GRICA  
 ricaronogueira@agraria.udca.edu.co

\*Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Zootecnia, Minas Gerais, Brasil  
 \*\*Fundação Ezequiel Dias FUNED, Minas Gerais Brasil

## Resumo

Amostras da forragem inteira e a fibra em detergente neutro (FDN) de cinco genótipos de sorgo colhidos em três estádios de maturação foram incubados *in vitro* através da técnica de produção de gás com o objetivo de estudar a cinética de fermentação dos carboidratos estruturais e não estruturais. As curvas de produção de gás da fração solúvel em detergente neutro (FSDN) foram obtidas pela diferença entre o volume de gás produzido pela forragem inteira e o volume de gás produzido pela FDN (curvas de subtração).

Os maiores volumes de gás para a forragem inteira e a FSDN foram observados na segunda e terceira época de colheita do material. O FDN precisou de prolongados períodos de tempo para que a produção de gás tivesse lugar. Equações de regressão foram estabelecidas entre o volume de gás produzido e a degradabilidade da fibra em detergente neutro (FSDN) para todos os genótipos de sorgo. Quanto aos parâmetros de fermentação estimados pelo modelo foi verificado que a forragem inteira produziu uma maior quantidade de gás quando comparada com os volumes de gás produzidos pela FDN e a FSDN. As maiores taxas de produção de gás foram verificadas na FSDN o que mostra a eficiente utilização desta fração pelos microrganismos ruminais.

**Palavras chave:** Degradabilidade, forragem, *in vitro*, produção de gás, Sorgo.

## Use of the gas production technique to determine the kinetics of fermentation of the structural and non structural carbohydrates in sorghum forage

### Abstract

Samples of unfractionated forage and neutral-detergent fiber (NDF) of five sorghum genotypes harvested in different stage of maturity were incubated *in vitro* using the gas production technique to study the kinetics of fermentation of structural and non structural carbohydrates. The fermentation of neutral detergent-soluble (NDS) fraction was measured using a curve subtraction technique with *in vitro* gas production data from the whole forage and the isolated neutral detergent-extracted fiber.

The higher volumes of gas were observed in the second and third crop time to the whole plant and NDS fraction. The NDF fraction needed long periods of time so that the production of gas begins. Regression equations were established between the volume of produced gas and the degradation of the dry matter in NDF. The regression equations predicted with good accuracy the degradations in the rumen to the five sorghum genotypes. The higher rates of gas production were observed to NDS fraction indicating an efficient use of this fraction for the ruminal microorganisms.

**Key words:** Degradability, forage, gas production, *in vitro*, kinetics, Sorghum.

### Introdução

As forragens contêm quantidades variáveis de material solúvel que pode ser extraído mediante sua solubilização em água ou soluções tampão (Van Soest 1994). Esta fração solúvel está constituída por minerais, proteínas, ácidos orgânicos, açúcares simples e cadeias curtas de polissacarídeos. Os carboidratos solúveis são digeridos pelos microrganismos ruminais mas rapidamente que os carboidratos estruturais como a celulose ou os polissacarídeos de reserva como o amido (Chesson e Forsberg 1988). Como é conhecido sobre a cinética de digestão da fração solúvel das forrageiras, isto se deve ao fato de que os estudos de cinética *in vitro* e *in situ* acompanham o desaparecimento dos compostos insolúveis da parede celular e a que os técnicos gravimétricos empregados por estes sistemas não quantificam o conteúdo de fibra.

Um outro aspecto desconhecido sobre a cinética de digestão da fração solúvel das forrageiras é a possível interação entre a taxa e a extensão da digestão do material potencialmente degradável e a composição da fração solúvel, portanto trabalhos relatam o impacto da fração solúvel sobre a digestão da fibra (Hillner e Dehority 1983; Pivonka e Firkins 1993; Mertens e Lofen 1980). A técnica de produção de gás oferece a possibilidade de estudar a fração solúvel através da técnica de curvas de subtração que permite quantificar e analisar a cinética de digestão da fração solúvel em detergente neutro (FSDN) das forrageiras (Schofield e Pell 1995b).

Os atuais sistemas de avaliação de rações como o NRC (1996) e o CNCPS (Cornell Net Carbohydrate and Protein System) (Fox et al 1992; Sniffen et al 1992) negligenciam o suprimento de nutrientes baseados na estreita relação entre as taxas de digestão e passagem das diferentes frações que constituem o alimento. As taxas de digestão obtidas através da técnica de produção de gás de cada uma destas frações podem ser empregadas nestes modelos nutricionais. Pell et al (1997) afirma que os dados de produção de gás podem fornecer estimativas mais acuradas do valor energético dos alimentos que as estimativas feitas a partir dos análises de fibra.

O presente estudo teve como objetivos determinar como a concentração e a cinética de digestão dos carboidratos solúveis e estruturais varia com o estágio de maturidade da forragem, determinar as possíveis interações entre as cinéticas de digestão das frações solúveis e estruturais e estimar a degradação da matéria seca (MS) a partir do volume de gás produzido pelo substrato.

## Materiais e métodos

### Fonte e preparação dos substratos

Cinco híbridos de sorgo para forragem foram selecionados para ser empregados neste estudo. Os híbridos Massa 3, Volumax, BR601, BR700 e BR701 foram plantados nas dependências da EMBRAPA Centro Nacional de Pesquisa Milho e Sorgo (CNPMS) em Minas Gerais, Brasil. Cada híbrido foi plantado em três locais diferentes que constituiriam as repetições e coletados em três épocas de corte diferentes (corte 1= sete dias após o florescimento; Corte 2= 28 dias após o florescimento; Corte 3= 49 dias após o florescimento).

Imediatamente após a colheita as plantas enteras de sorgo foram picadas em partículas com tamanho médio de dois centímetros, empregando-se uma picadeira estacionária Nogueira modelo DPM-4. O material dos cinco genótipos de sorgo nas três épocas de corte foi individualmente homogeneizado, colocado em bandejas de alumínio de peso conhecido e seco em estufa de ventilação forçada com temperatura de 60-65°C, por 72 horas. Após esse procedimento todas as amostras foram moídas através de peneira de 1.0 mm para as análises químicas e o estudo *in vitro*.

Devido ao grande número de substratos (5 híbridos x 3 repetições x 3 épocas de corte = 45 materiais), amostras compostas das três repetições de cada genótipo em cada época de corte foram feitas, fazendo um total de 15 substratos para análise (5 genótipos x 3 épocas de corte). Além destes 15 substratos, que constituiriam o material original, extrações de fibra em detergente neutro (FDN) de cada material foram feitas de acordo com a seguinte metodologia: 4 gramas de cada genótipo em cada época de corte foram pesadas e colocadas em bekers com capacidade para 600 ml, 400 ml de detergente neutro foram adicionados a cada becker e colocados para ferver a 105°C por uma hora (Van Soest et al 1991; Pell e Schofield 1993). Após esse tempo, o conteúdo dos bekers foi filtrado através de sacos de nylon com porosidade de 50mm, o material retido nos sacos foi lavado exaustivamente com água destilada quente e 200 ml de acetona, visando remover todo o detergente da amostra. Imediatamente após a lavagem o material foi seco em estufa de ventilação forçada a 50°C por 72 horas. Este procedimento foi repetido varias vezes até conseguir a quantidade de material suficiente para a realização do experimento.

### Técnica de produção de gás

Os híbridos de sorgo e suas respectivas frações de FDN foram avaliados empregando a técnica de produção de gás descrita por Theodorou et al (1994). Para o processo de incubação foram usados frascos de vidro com capacidade para 125 ml. Antes do início do experimento os frascos de incubação foram lavados com abundante água e secos em estufa a 110°C por 12 h. Após a secagem os frascos foram saturados com CO<sub>2</sub> e um grama de material original e sua respectiva fração de FDN, foram pesados e colocados em frascos individuais.

Um dia antes do início do experimento 90 ml de meio de cultura preparado como descrito por Maurício et al (2001) foi adicionado ao material a ser estudado. Cinco horas antes da inoculação os frascos foram removidos da geladeira e levados para estufa a 39°C.

### Preparação do inoculo e inoculação

O líquido ruminal foi obtido de uma vaca fistulada mantida no Hospital Veterinário na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. O animal doador era alimentado com silagem de milho "ad libitum" e 2 kilos de ração concentrada. A coleta do inoculo foi feita às 06:30 h antes da primeira refeição. O líquido ruminal foi retirado manualmente de varias partes do rúmen e armazenado em garrafas térmicas previamente aquecidas com água a 39°C. Após a coleta, o líquido ruminal foi levado para o Laboratório de Nutrição Animal e filtrado através de duas camadas de pano de algodão, a parte sólida retida nos panos foi rapidamente transferida para um liquidificador com certa proporção de líquido ruminal e liquidificado por 20 segundos. Após esse procedimento o material liquidificado foi filtrado novamente e transferido para um erlenmeyer mantido em banho-maria a 39°C sendo continuamente saturado com CO<sub>2</sub>. Este procedimento foi feito para garantir que o inoculo resultante estivesse composto por microrganismos ruminais aderidos e não aderidos à fibra (Theodorou et al 1994).

Os frascos com o meio de cultura e o substrato foram inoculados com 10 ml de líquido ruminal usando uma seringa graduada de 10 ml. Os frascos totalmente vedados foram agitados manualmente, transferidos para estufa a 39°C (tempo zero) e incubados por um período de 96 horas. As leituras de gás foram realizadas nos horários 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 e 96 horas pós-inoculação, empregando um transdutor de pressão (Bailey and Mackey, Birmingham, UK). Após as leituras nos horários 6, 12, 24, 48 e 96 horas, uma quantidade determinada de frascos contendo o material original e a fração de FDN foi removida com seus respectivos brancos e filtrada através de cadinho de filtração (porosidade 1) para acompanhar o processo de degradação da MS e a matéria orgânica (MO). A MS degradada foi determinada pela secagem a 110°C até obtenção de peso constante. A MO degradada foi obtida pela diferença após obtenção das cinzas (6h a 500°C).

### Curvas de subtração

Neste experimento foram diretamente determinadas as curvas de produção de gás para o material original e para a FDN. A contribuição na produção de gás da fração solúvel em detergente neutro (FSDN) foi calculada através da subtração da produção acumulativa de gás do material original e a produção acumulativa de gás da FDN corrigida para a quantidade de FDN contida no material original de acordo com a metodologia sugerida por Schofield e Pell (1995a) e Stefanon et al (1996).

### Curvas de ajuste

As curvas de produção de gás foram ajustadas através de um modelo gomperzt que supõe que a taxa de produção de gás é proporcional à atividade microbiana, mas a proporcionalidade diminui com o tempo de incubação o que pode ser interpretado como a perda de eficiência na taxa de fermentação com o tempo. A equação que representa este modelo é:

$$V_T = V_{\infty} \times \exp(-c) / (\exp(-c) + x)$$

Onde  $V_T$  corresponde a volume de gás no tempo  $t$ ,  $V_{\infty}$  é o volume de gás correspondente à completa digestão do substrato (asintota),  $A$  é um fator de eficiência microbiana, e representa uma taxa específica semelhante à taxa de degradação ( $h^{-1}$ ). As curvas de ajuste e as estimativas dos parâmetros de interesse biológico foi feito através do processo iterativo do algoritmo Marquardt, com a ajuda do procedimento para modelos não lineares (PROC NLIN) do Statistical Analysis Systems Institute Inc. (1985).

### Delineamento experimental e Análises estatísticas

As análises estatísticas para a comparação dos tratamentos quanto aos volumes de composição química e parâmetros estimados através das curvas de produção de gás foram feitas usando-se o *General Linear Model Procedures* (PROC GLM) do SAS (1985) segundo um delineamento fatorial 5 x 3 (5 genótipos x 3 épocas de corte) em concordância com o seguinte modelo:

$$Y_{i,j,k} = \mu + M_j + T_j + (MT)_{i,j} + e_{i,j,k}$$

Onde:  
 $\mu$  = Média geral da variável em estudo;  
 $M_j$  = Efeito do i-ésimo genótipo ( $i$  = Massa 3, Volumax, BR 601, BR 700 e BR 701);  
 $T_j$  = Efeito do j-ésimo corte ( $j$  = sete, 24 e 49 dias);  
 $(MT)_{i,j}$  = Efeito do i-ésimo genótipo com o j-ésimo corte;  
 $e_{i,j,k}$  = Erro experimental.

As comparações das médias dos tratamentos e suas respectivas interações foram feitas usando-se o procedimento PROC GLM (OPTION LSMEANS) do SAS (1985).

## Resultados e discussão

A composição química dos cinco genótipos de sorgo em cada estágio de maturação é apresentada na tabela 1.

**Tabela 1.** Composição química (% da MS) dos cinco genótipos de sorgo nas três épocas de corte

Corte 1	MS, %	MO	PB	FDN	FDA	Lignina
<b>Corte 1</b>						
Massa 3	47,66	95,84	3,47	76,46	40,75	5,3
Volumax	43,85	94,94	6,43	72,27	34,88	5,57
BR 601	24,75	96,00	3,59	75,83	45,24	7,43
BR 700	40,47	95,90	5,45	76,42	36,56	5,62
BR 701	40,99	95,65	5,58	73,19	40,83	7,18
<b>Corte 2</b>						
Massa 3	59,08	94,75	5,39	80,00	35,29	5,42
Volumax	55,22	95,34	6,58	74,22	36,61	5,13
BR 601	24,58	95,54	4,5	75,77	43,09	6,75
BR 700	50,28	95,81	6,98	74,66	36,46	6,17
BR 701	54,86	96,78	4,85	72,90	40,06	7,41
<b>Corte 3</b>						
Massa 3	64,60	96,47	4,66	79,31	37,75	5,54
Volumax	56,01	94,55	7,13	71,75	35,37	5,4
BR 601	26,11	95,49	4,51	77,32	42,93	8,47
BR 700	54,93	95,98	5,18	78,21	37,78	6,68
BR 701	54,50	95,27	4,15	77,41	42,21	7,86

O modelo gomperzt descrito por Nogueira et al (2004), mostrou melhor capacidade de ajuste em termos de coeficiente de determinação e soma quadrado do erro (SQE) na estimativa dos parâmetros da cinética de produção de gás (tabela 2).

**Tabela 2.** Parâmetros da cinética de fermentação estimados através da técnica de produção de gás para cinco genótipos de sorgo colhidos em três épocas de corte

Corte	Genótipo	$V_{\infty}$ (ml/g de MS)	$c$ (% h <sup>-1</sup> )	A	R <sup>2</sup> 3
1	Massa 3	251,63 <sup>A</sup>	0,05 <sup>A</sup>	3,44 <sup>A</sup>	99,86
	Volumax	227,34 <sup>B</sup>	0,047 <sup>A</sup>	3,32 <sup>A</sup>	99,80
	BR 601	243,54 <sup>AB</sup>	0,044 <sup>A</sup>	3,25 <sup>A</sup>	99,79
	BR 700	243,06 <sup>AB</sup>	0,055 <sup>A</sup>	3,4 <sup>A</sup>	99,75
	BR 701	250,36 <sup>A</sup>	0,058 <sup>A</sup>	3,52 <sup>A</sup>	99,77
2	Massa 3	272,88 <sup>A</sup>	0,062 <sup>AB</sup>	3,68 <sup>A</sup>	99,77
	Volumax	242,96 <sup>BC</sup>	0,056 <sup>AB</sup>	3,67 <sup>A</sup>	99,87
	BR 601	252,26 <sup>AB</sup>	0,045 <sup>B</sup>	3,37 <sup>A</sup>	99,77
	BR 700	246,25 <sup>ABC</sup>	0,063 <sup>AB</sup>	3,43 <sup>A</sup>	99,63
	BR 701	221,83 <sup>C</sup>	0,065 <sup>A</sup>	3,13 <sup>A</sup>	99,70
3	Massa 3	263,48 <sup>A</sup>	0,056 <sup>A</sup>	3,6 <sup>A</sup>	99,92
	Volumax	229,17 <sup>B</sup>	0,058 <sup>A</sup>	3,49 <sup>A</sup>	99,81
	BR 601	244,57 <sup>AB</sup>	0,046 <sup>A</sup>	3,14 <sup>A</sup>	99,78
	BR 700	244,46 <sup>AB</sup>	0,054 <sup>A</sup>	3,68 <sup>A</sup>	99,81
	BR 701	256,07 <sup>A</sup>	0,057 <sup>A</sup>	3,83 <sup>A</sup>	99,87

<sup>1</sup> Parâmetros estimados pelo modelo gomperzt  $V_T = V_{\infty} \times \exp(-c) / (\exp(-c) + x)$ .  $V_{\infty}$  = volume de gás correspondente à completa digestão do substrato (asintota),  $c$  = taxa constante de produção de gás do material potencialmente degradável.  $A$  = fator constante de eficiência microbiana.

<sup>2</sup> Em um mesmo corte, letras maiúsculas iguais nas colunas indicam médias semelhantes para genótipos.

Como verificado na tabela, na primeira época de colheita do material houve diferenças estatísticas ( $p < 0,05$ ) entre os genótipos em estudo para a variável volume de gás produzido. Os maiores valores foram observados para os genótipos Massa 3 (251,63 ml/g de MS) e BR 701 (250,36 ml/g de MS) apresentando diferenças estatísticas significativas unicamente para o genótipo Volumax (227,34 ml/g de MS). Os genótipos BR 601 e BR 700 produziram volumes de gás muito próximos (243,54 e 243,06 ml/g de MS, respectivamente) verificando-se apenas variações numéricas quando comparados com os genótipos Massa 3, BR 701 e Volumax. O modelo estimou semelhantes taxas de degradação e fatores constantes de eficiência microbiana para todos os genótipos, sem que foram verificadas diferenças estatísticas ( $p < 0,05$ ).

Na segunda época de colheita do material, significativas diferenças ( $p < 0,05$ ) nos valores médios dos volumes de gás produzido foram verificadas entre genótipos. Os genótipos Massa 3 (272,88 ml/g de MS), BR 601 (252,26 ml/g de MS) e BR 700 (246,25 ml/g de MS) apresentaram os maiores volumes, verificando-se apenas diferenças numéricas entre seus valores médios. Os menores valores foram registrados para os genótipos BR 701 (221,83 ml/g de MS) e Volumax (242,96 ml/g de MS) embora tenham sido estatisticamente equivalentes ( $p > 0,05$ ) dos genótipos BR 700 e BR 601 respectivamente.

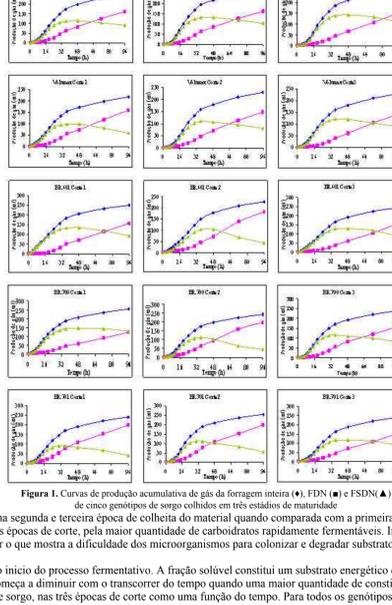
Equivalentes taxas de produção de gás ( $p > 0,05$ ) foram estimadas pelo modelo para os genótipos BR 701 (6,5 ml/h), BR 700 (6,3 ml/h), Massa 3 (6,2 ml/h) e volumax (5,6 ml/h). As menores taxas de produção de gás foi verificada no genótipo BR 601 com 4,5 ml/h, cujo valor mostrou ser estatisticamente inferior do registrado para o genótipo BR 701. Os fatores de eficiência microbiana foram equivalentes entre genótipos ( $p > 0,05$ ) variando de 3,13 a 3,87.

Quando comparados os volumes de gás produzidos na terceira época de colheita do material, nenhuma diferença estatística foi observada entre os valores médios dos genótipos Massa 3 (263,48 ml/g de MS), BR 701 (256,07 ml/g de MS), BR 601 (244,57 ml/g de MS) e BR 700 (244,46 ml/g de MS). Já o genótipo Volumax registrou o menor volume de gás com 229,17 ml/g de MS apresentando diferenças estatísticas ( $p < 0,05$ ) unicamente para o genótipo Massa 3, mostrando-se equivalente com os outros materiais avaliados neste experimento. Nenhuma diferença estatística foi observada entre genótipos para as taxas de produção de gás e os fatores de eficiência microbiana cujos valores médios variaram de 4,6 a 5,8 ml/h e de 3,14 a 3,83.

Houve interação estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) entre os genótipos e o estágio de maturação (tabela 2). As maiores produções de gás foram observadas na segunda e terceira época de colheita do material em todos os genótipos quando comparadas com a primeira. Estas maiores produções de gás podem ser atribuídas ao fato de que com o avanço no estágio de maturidade, as plantas de sorgo apresentam uma maior quantidade de panículas e grãos em estado pastoso e farrisco, sendo assim, maiores quantidades de amido seriam propiciado um maior potencial de fermentação e produção de gás nestas épocas de corte.

A técnica de produção de gás permite o estudo e a concepção de formação dos carboidratos estruturais e a fração solúvel dos alimentos através da técnica de curvas de subtração, que permite quantificar e analisar a cinética de digestão da fração solúvel em detergente neutro (FSDN) das forrageiras. A fração solúvel se encontra principalmente constituída por proteínas, minerais, ácidos orgânicos açúcares simples e alguns polissacarídeos não estruturais. Pouco é conhecido sobre a cinética de digestão da fração solúvel das forrageiras e as possíveis interações que existem entre a taxa e a extensão da digestão do material potencialmente degradável e a composição da fração solúvel. Por tal motivo, foi desenhado um experimento onde o material original e a FDN de cinco genótipos de sorgo colhidos em diferentes épocas de corte foram incubados *in vitro* através da técnica de produção de gás para estudar sua cinética de fermentação.

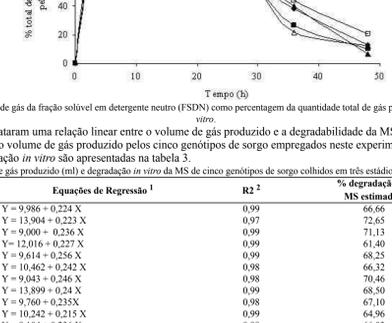
As curvas de produção de gás para os cinco genótipos de sorgo colhidos em três estádios de maturação, normalizados para a quantidade de material estudado (1 g de MS) são apresentados na figura 1.



**Figura 1.** Curvas de produção acumulativa de gás da forragem inteira (●) FDN (○) e FSDN (▲) dos cinco genótipos de sorgo colhidos em três estádios de maturação.

A contribuição na produção de gás da fração FSDN mostrou ser maior na segunda e terceira época de colheita do material quando comparada com a primeira, o que confirma que a presença de uma maior quantidade de grãos em estado pastoso e farrisco contribuindo para a produção de gás nestas épocas de corte, pela maior quantidade de carboidratos rapidamente fermentáveis. Independentemente da época de corte e do genótipo a FSDN precisou de prolongados períodos de tempo para que a produção de gás tivesse lugar o que mostra a deficiência dos microrganismos para colonizar e degradar substratos deficientes em carboidratos rapidamente fermentáveis.

As curvas na figura 1 sugerem que a FSDN tem um importante papel no início do processo fermentativo. A fração solúvel constituiu um substrato energético de rápida fermentação para os microrganismos, facilitando assim os processos de adesão e colonização do substrato, mas sua importância começa a diminuir com o transcorrer do tempo quando uma maior quantidade de constituintes da parede celular começa a ser disponíveis. A figura 2 mostra a percentagem média de gás produzido pela FSDN dos cinco genótipos de sorgo, nas três épocas de corte como uma função do tempo. Para todas as genótipos esta percentagem foi maior de 90% nas primeiras 12 horas de incubação e diminuiu em torno de 50% após de 24 horas de início do processo fermentativo. Com 48 horas de incubação a participação da FSDN na produção total de gás é aproximadamente do 12 % o que indica que em horários superiores a 24 horas de incubação uma grande parte da produção de gás procede da fermentação dos constituintes estruturais da parede celular.



**Figura 2.** Produção média de gás da fração solúvel em detergente neutro (FSDN) como percentagem da quantidade total de gás produzida durante a incubação *in vitro*.

Pell e Schofield (1993) trabalhando com alfafa, trevo e pasto guineia relataram uma relação linear entre o volume de gás produzido e a degradabilidade da MS, encontrando que por cada mg de MS fermentado eram produzidos 0,37 ml de gás. Para examinar a mesma relação entre a degradação da MS e o volume de gás produzido pelos cinco genótipos de sorgo colhidos neste experimento foi feita uma análise de regressão. As equações que predizem a degradação da MS a partir do volume de gás produzido durante a incubação *in vitro* são apresentadas na tabela 3.

**Tabela 3.** Equações de regressão entre o volume de gás produzido (ml) e degradabilidade *in vitro* da MS de cinco genótipos de sorgo colhidos em três estádios de maturidade

Genótipo	Corte	Equação de Regressão <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	% degradação <sup>3</sup>	% edificação <i>in vitro</i> <sup>4</sup>
Massa 3	1	Y = 9,986 + 0,224 X	0,99	66,66	64,10
	2	Y = 13,904 + 0,223 X	0,97	72,65	58,61
	3	Y = 9,000 + 0,236 X	0,99	71,13	58,90
Volumax	1	Y = 13,899 + 0,23 X	0,96	60,03	55,41
	2	Y = 9,614 + 0,256 X	0,99	68,25	63,52
	3	Y = 10,462 + 0,242 X	0,98	66,32	70,07
BR 601	1	Y = 9,043 + 0,246 X	0,98	70,46	62,68
	2	Y = 8,243 + 0,237 X	0,99	68,50	59,87
	3	Y = 9,760 + 0,235 X	0,98	67,10	64,60
BR 700	1	Y = 10,242 + 0,215 X	0,99	64,96	68,86
	2	Y = 9,104 + 0,236 X	0,99	66,03	66,41
	3	Y = 8,243 + 0,237 X	0,99	64,97	66,73
BR 701	1	Y = 10,964 + 0,23 X	0,99	66,48	62,79
	2	Y = 9,722 + 0,23 X	0,99	68,59	