

Estimativa da ingestão e digestibilidade de erva e bolota em porcos alentejanos pela técnica dos n-alcenos

Estimation of intake and digestibility of pasture and acorns by alentejano pigs using n-alkanes

C. Mendes¹, M. I. Ferraz-de-Oliveira², T. Ribeiro³ & M. C. d'Abreu¹

RESUMO

Com o objectivo de estimar, em porcos Alentejanos, a ingestão e a digestibilidade de erva e bolota, foi realizado um ensaio utilizando n-alcenos de cadeia longa como marcadores fecais. Oito animais, alojados em caixas metabólicas, distribuídos aleatoriamente em 2 grupos de 4 animais cada, foram sujeitos a dois tratamentos. Cada animal do grupo 1 recebeu um bolinho por dia, contendo 100 mg de C₃₂ e 150 mg de C₃₆ e do grupo 2, dois bolinhos por dia contendo 50 mg de C₃₂ e 75 mg de C₃₆. Os animais foram alimentados com erva e bolota ao longo de todo o ensaio.

A ingestão e a digestibilidade da dieta foram determinadas individualmente, através da medição das quantidades de alimento ingeridas e de fezes produzidas durante 5 dias e estimadas através da utilização da técnica dos n-alcenos.

As estimativas da digestibilidade feitas através da utilização dos n-alcenos naturais C₂₅ e C₂₇ permitiram a obtenção de resultados muito próximos das medições *in vivo*. Os C₂₉ e C₃₁, em combinação com os n-alcenos artificiais (C₃₂ e C₃₆), forneceram as

estimativas da digestibilidade mais próximas da determinada, sendo os pares C₂₉:C₃₂ e C₂₉:C₃₆ os que forneceram as melhores estimativas para a ingestão. A administração dos C₃₂ e C₃₆ uma ou duas vezes por dia não demonstrou ter qualquer influência nas estimativas realizadas.

A composição da dieta (bolota e erva), estimada pelos n-alcenos, apresentou valores próximos dos medidos *in vivo*, sendo as melhores estimativas dadas pelas combinações dos n-alcenos C₂₉ e C₃₁.

ABSTRACT

The aim of this experiment was to estimate intake and digestibility of grass and acorns in Alentejano pigs, using long chain n-alkanes as fecal markers. Eight male Alentejano pigs, housed in metabolic cages were randomly allocated into two groups. Group 1 received one small cake per animal per day containing 100 mg of C₃₂ and 150 mg of C₃₆ and group 2 received two small cakes per animal per day containing 50 mg of C₃₂ and 75 mg of C₃₆. The animals were

¹ Departamento de Zootecnia, Universidade de Évora, Apartado 94 – 7002-554 Évora; ² Instituto de Ciências Agrárias Mediterrâneas (ICAM), Universidade de Évora, e-mail: mifo@uevora.pt; ³ Rua do Sarra, nº1 esq, 2580-503 Carregado

fed, during all the trial, with acorns and grass.

Intake and digestibility were measured *in vivo*, per animal, during 5 days and estimated using the n-alkane technique.

The estimates of digestibility, based on the concentration of the natural n-alkanes C₂₅ and C₂₇, were close to the measured digestibility *in vivo*. C₂₉ and C₃₁, in combination with the artificial n-alkanes (C₃₂ and C₃₆), gave the closest digestibility estimates to the measured one. The pairs C₂₉:C₃₂ and C₂₉:C₃₆ gave the best estimates of digestibility. The frequency of administration of artificial alkanes (once or twice daily) did not affect the estimates of intake and digestibility.

Diet composition (acorn and grass) was also estimated using n-alkanes. The combination of C₂₉ and C₃₁ n-alkanes gave the closest estimates to the *in vivo* measurements.

INTRODUÇÃO

O acabamento extensivo de suínos Alentejanos no montado tem uma elevada tradição no Sudoeste da Península Ibérica e está associado à obtenção de produtos de elevada qualidade, devendo-se esta, sobretudo, à alimentação à base de bolota e erva (Fernandes, 1999). Apesar da composição química dos principais ingredientes da dieta ingerida por estes animais (erva e bolota) ser bem conhecida, a composição quantitativa dessa dieta permanece ainda desconhecida. Ao determinar a composição da dieta dos suínos Alentejanos ao longo do seu período de engorda será possível compreender os efeitos da alimentação tradicional de montanha na qualidade dos produtos originados por estes animais.

Os n-alcenos, componentes estruturais das ceras cuticulares das plantas, têm sido utili-

zados como marcadores fecais para a estimativa da ingestão e digestibilidade em estudos de nutrição animal, particularmente em ruminantes e embora não sejam os componentes presentes em maior concentração, são de fácil análise e identificação (Dove & Mayes, 1991). O perfil das concentrações de n-alcenos é diferente entre espécies de plantas, o que possibilita a identificação dos diferentes componentes da dieta dos animais (Dove & Mayes, 1991).

Neste ensaio pretenderam-se estimar a ingestão de erva e bolota através da utilização de n-alcenos, avaliar o efeito da frequência de administração dos n-alcenos artificiais nessas estimativas, e testar a possibilidade de utilização dos n-alcenos para estimar a proporção relativa de erva e bolota na dieta.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados oito porcos, machos castrados de raça Alentejana com um peso vivo médio de 58 kg. Os 8 animais foram aleatoriamente distribuídos por dois grupos de 4 animais cada, colocados em caixas metabólicas e alimentados com bolota proveniente de *Quercus rotundifolia* e erva (mistura, à base de maioritariamente gramíneas e leguminosas).

Os animais foram submetidos a um período de habituação de 15 dias, durante o qual foram alimentados diariamente com 1,5 kg de bolota e 200 g de erva. Durante este período um animal do grupo 1 foi retirado do ensaio por doença. Nos últimos 3 dias do período de habituação foram distribuídos bolos (20 g) de melação de cana e farinha de milho (190 g de farinha para 210 g de melação) sem alcenos. Seguiu-se um período experimental de 10 dias, durante o qual foram administrados bolos de melação e farinha de milho preparados do mesmo

modo, mas com a introdução dos alcanos C32 e C36. Os bolos foram distribuídos, uma ou duas vezes por dia, resultando na mesma dose total diária de C32 e C36. O grupo 1 recebeu, antes da refeição da manhã, um bolo por dia com 100 mg de C32 e 150 mg de C36, e o grupo 2, dois bolos de melação por dia com 50 mg de C32 e 75 mg de C36 distribuídos antes da refeição da manhã e da refeição da tarde.

Durante os últimos 5 dias do período experimental, foram recolhidos individualmente os refugos de alimento e as fezes totais produzidas para a determinação da digestibilidade da matéria seca (MS). As fezes produzidas ao longo dos 5 dias foram depois utilizadas para preparar uma amostra compósita representativa da excreção de cada animal.

As amostras de fezes, dos refugos e dos alimentos, foram identificadas e armazenadas a -20 °C. Amostras dos alimentos (erva e bolota) foram recolhidas aleatoriamente ao longo do ensaio. Após descongelação, os alimentos e refugos foram desidratados em estufa a 65 °C e as amostras de fezes liofilizadas. As bolotas amostradas foram separadas em casca e miolo para posterior análise, tendo sido utilizados os valores de n-alcanos no miolo para o cálculo das concentrações dos marcadores na dieta.

Após homogeneização do refugo de cada animal foi retirada uma amostra representativa (cerca de 1/2), sendo o restante desprezado. Metade da amostra retirada do refugo foi utilizada para a análise global e a outra metade foi separada em casca de bolota e erva, constituindo amostras individuais da quantidade refugada pelos animais para cada um dos componentes da dieta.

Para todas as amostras recolhidas durante o ensaio foi determinada a humidade residual e foram doseados os n-alcanos de cadeia longa (C25-C36) de acordo com o

procedimento descrito por Dove & Mayes (2003).

A digestibilidade foi determinada, individualmente, através da medição das quantidades de alimento ingeridas e da quantidade total de fezes produzidas durante 5 dias, de acordo com a equação 1.

$$D = \frac{I - Pf}{I} \quad (1)$$

D= Digestibilidade

I= Ingestão (kg MS)

Pf= Produção Fecal (kg MS)

A digestibilidade foi estimada de duas formas: a partir da concentração dos n-alcanos naturais presentes em maior concentração na dieta: C₂₅, C₂₇, C₂₉, C₃₁ e C₃₃ (equação 2);

$$D = 1 - \left[Rf \times \left(\frac{Mdi}{Mfi} \right) \right] \quad (2)$$

D= Digestibilidade

Rf= Recuperação fecal do alcano natural

Mdi= Concentração do alcano natural na dieta (mg kg⁻¹ MS)

Mfi= Concentração do alcano natural nas fezes (mg kg⁻¹ MS)

e através (equação 1) da diferença entre a ingestão estimada pela combinação de pares de n-alcanos com recuperações fecais semelhantes (equação 4) e a produção fecal estimada através da utilização de um marcador externo, neste caso o n-alcano C₃₂ ou o C₃₆ (equação 3).

$$Pf = \frac{Da}{Mfa} \quad (3)$$

Da= Dose de alcano artificial distribuído (mg/dia)

Mfa= Concentração do alcano artificial nas fezes (mg kg⁻¹ MS)

A estimativa da ingestão foi feita através da concentração, na dieta e nas fezes, de dois n-alcenos com recuperações fecais semelhantes (Dove & Mayes, 1991) (equação 4). Foi utilizado em cada par um n-alceno artificial, com elevada recuperação fecal e um natural com recuperação fecal semelhante.

$$I = \frac{Da}{\frac{Mfa}{Mfi} \times Mdi - Mda} \quad (4)$$

Mfi= Concentração do alceno natural nas fezes (mg kg⁻¹ MS)

Mda= Concentração do alceno artificial na dieta (mg kg⁻¹ MS)

A estimativa da composição da dieta foi realizada a partir de um sistema de equações (Oliván & Osoro, 1997) onde foi relacionada a concentração de vários n-alcenos naturais nas fezes (corrigida com a respectiva recuperação fecal) e na dieta, de modo a determinar a proporção de cada componente na dieta (equação 5).

$$xAi + yBi = Hi \quad (5)$$

Em que:

x= Proporção componente A da dieta

y= Proporção do componente B da dieta

Ai= Concentração do n-alceno i no componente A da dieta

Bi= Concentração do n-alceno i no componente B da dieta

Hi= Concentração do alceno i nas fezes / recuperação fecal

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância (STATISTICA™ versão 6.0, Statsoft®), utilizando o modelo factorial. Consideram-se dois factores: tratamento (uma ou duas administrações da mesma dose diária de n-alcenos) e modo de

cálculo da digestibilidade, ingestão e composição da dieta (determinação *in vivo* ou estimativa obtida através de diferentes n-alcenos).

Quando não se observaram efeitos significativos do factor tratamento e da interacção entre dois factores, foram realizadas análises de variância a um só factor. A comparação de médias foi realizada utilizando o teste LSD (Least significant difference). É de referir que, na análise de variância realizada para cada estimativa, foram retirados os "outliers", ou seja todos os valores que apresentavam um erro superior a 3 vezes o desvio padrão e que, por essa razão poderiam comprometer a análise.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de n-alcenos na dieta distribuída aos animais apresentam-se no Quadro 1.

A digestibilidade da matéria seca (MS) da dieta, determinada durante o período experimental do ensaio (5 dias), foi de 89,2%. A administração dos n-alcenos artificiais C₃₂ e C₃₆, uma ou duas vezes por dia, não interferiu (p>0,05) na estimativa da digestibilidade.

As digestibilidades médias estimadas a partir das concentrações dos n-alcenos naturais presentes na dieta (equação 2) e a digestibilidade determinada ao longo do ensaio são apresentadas no Quadro 2.

As concentrações de n-alcenos naturais nas fezes foram corrigidas com as respectivas taxas de recuperação fecais (Ribeiro, 2005). As estimativas da digestibilidade calculadas com os C₂₅, C₂₇, C₂₉ e C₃₁ não diferiram significativamente do valor determinado *in vivo*. Apenas o C₃₃ originou uma estimativa muito inferior à digestibilidade determinada, o que poderá dever-se às

QUADRO 1 - Concentração de n-alcenos nos alimentos (mg kg⁻¹ MS)

Alimentos	Concentração de n-alcenos (mg kg ⁻¹ MS)									
	C ₂₅	C ₂₇	C ₂₈	C ₂₉	C ₃₀	C ₃₁	C ₃₂	C ₃₃	C ₃₅	C ₃₆
Bolota Inteira	9,5	32,0	9,40	47,1	3,7	4,4	2,0	1,0	0,8	1,5
Casca Bolota	12,8	62,0	17,8	155,1	4,1	5,2	1,3	0,8	0,7	0,7
Miolo Bolota	5,44	5,5	4,5	4,7	3,1	1,9	1,2	0,7	0,2	0,6
Erva	15,5	37,8	9,9	176,7	13,0	231,1	9,3	39,6	1,8	7,6

QUADRO 2 - Digestibilidade estimada utilizando os n-alcenos naturais e digestibilidade determinada

	Estimada					Determinada	n	EPM
	C ₂₅	C ₂₇	C ₂₉	C ₃₁	C ₃₃			
Digestibilidade média	0,889 ^a	0,890 ^a	0,919 ^a	0,899 ^a	0,580 ^b	0,892 ^a	7	0,0342

^{a,b} Médias com letras diferentes correspondem a diferenças estatisticamente significativas (p≤0,05)

baixas concentrações deste alceno nas fezes (Ribeiro, 2005). As estimativas de digestibilidade média obtidas com a utilização dos C₂₅ e C₂₇ são as que mais se aproximam do valor determinado *in vivo*.

No Quadro 3 apresentam-se as digestibilidades médias obtidas a partir da estimativa da ingestão com pares de n-alcenos e da produção fecal com os C₃₂ e C₃₆ e a digestibilidade real.

Não se observaram diferenças significativas entre qualquer uma das estimativas e a digestibilidade determinada *in vivo*, embora haja diferenças entre as várias estimativas. A utilização de pares de n-alcenos de elevada recuperação fecal permitiu uma estimativa adequada da digestibilidade. De todos os pares de n-alcenos utilizados nesta estimativa, o C₃₁:C₃₆ é o que mais se afasta do valor obtido para a digestibilidade determinada, o

que poderá dever-se às diferenças (embora não significativas) observadas nas recuperações fecais dos dois n-alcenos (Ribeiro, 2005). A melhor estimativa da digestibilidade foi dada pelo par C₂₉:C₃₆, o que se deveu, provavelmente, ao facto de estes serem os que apresentam valores de recuperações fecais mais semelhantes, entre todos os pares utilizados.

A ingestão de MS determinada *in vivo* (5 dias) foi de 6,35 kg. No Quadro 3 são apresentadas as ingestões médias estimadas por vários pares de alcenos de recuperação fecal semelhante e o valor de ingestão determinada. O par C₂₇:C₃₂ originou uma estimativa da ingestão diferente (p<0,05) da determinada *in vivo*. As ingestões estimadas através dos pares C₃₁:C₃₂ e C₃₁:C₃₆, embora não significativamente diferentes da ingestão determinada *in vivo* (dado o elevado erro padrão

QUADRO 3 - Digestibilidade determinada *in vivo* e estimada a partir da ingestão calculada por um par de alcenos e a produção fecal a partir dos C₃₂ e C₃₆ e ingestão determinada *in vivo* e estimada a partir de pares de alcenos

	Estimada					Determinada	n	EPM
	C ₃₂ :C ₂₇	C ₃₂ :C ₂₉	C ₃₂ :C ₃₁	C ₃₆ :C ₂₉	C ₃₆ :C ₃₁			
Digestibilidade	0,849 ^{ac}	0,916 ^b	0,852 ^{ac}	0,909 ^{ab}	0,844 ^c	0,892 ^{abc}	7	0,034
Ingestão (kg MS)	3,75 ^a	6,37 ^b	4,95 ^{ab}	6,22 ^b	4,92 ^{ab}	6,35 ^b	7	0,499

^{a-c} Médias na mesma linha com letras diferentes correspondem a diferenças estatisticamente significativas (P≤0,05)

QUADRO 4 - Composição média estimada para cada componente da dieta pela combinação de n-alcenos naturais e proporção real de cada componente na dieta

Composição da dieta	Estimada			Determinada	n	EPM
	C ₂₇ /C ₂₉	C ₂₇ /C ₃₁	C ₂₉ /C ₃₁			
Proporção (%) erva/bolota	1,97/98,03 ^a	0,76/99,24 ^b	0,33/99,67 ^b	0,64/99,36 ^b	6	0,387

^{a-b} Médias com letras diferentes correspondem a diferenças estatisticamente significativas ($P \leq 0,05$)

da média), foram mais afastadas desta do que as estimadas pelos pares C₂₉:C₃₂ e C₂₉:C₃₆ (Quadro 3). Os pares C₂₉:C₃₂ e C₂₉:C₃₆ foram os que originaram estimativas da ingestão mais próximas da medida *in vivo*.

As proporções dos dois componentes da dieta, distribuídas aos animais ao longo de todo o período experimental do ensaio foram de 30% de bolota e 70% de erva, o que correspondeu a aproximadamente 900 g MS de erva e 8 kg MS de bolota. A dieta ingerida pelos animais corresponde, em média a 99,4% de bolota e 0,6% de erva. No Quadro 4 são apresentadas as proporções de cada componente da dieta, estimada pela combinação de dois n-alcenos naturais e a proporção real ingerida pelos animais ao longo dos cinco dias do período experimental.

Utilizaram-se para a estimativa da composição da dieta os n-alcenos naturais presentes em maior concentração na dieta e com maiores recuperações fecais, ou seja o C₂₇, C₂₉ e C₃₁. A combinação dos n-alcenos C₂₇ e C₂₉ originou uma estimativa da composição da dieta diferente da medida *in vivo*, sendo os valores obtidos significativamente diferentes de todas as outras estimativas e da proporção medida de cada componente ingerido na dieta. As restantes combinações permitiram a obtenção de proporções significativamente semelhantes para os dois componentes da dieta, sendo a combinação dos alcenos C₂₇ e C₃₁ a que permitiu a estimativa mais próxima da medida *in vivo*. A obtenção de melhores estimativas com a

combinação do C₃₁ com o C₂₇ e o C₂₉, quando comparadas com a combinação do C₂₇ com o C₂₉, poderá dever-se às diferenças observadas entre os dois componentes da dieta (bolota e erva) no que diz respeito à concentração dos n-alcenos C₂₇ e C₂₉ em relação ao C₃₁ (Dove & Mayes, 1991)

CONCLUSÕES

A frequência de doseamento dos n-alcenos artificiais C₃₂ e C₃₆ não afectou a estimativa da digestibilidade nem da ingestão.

Foi possível através da técnica dos n-alcenos estimar a ingestão e a digestibilidade de erva e bolota em porcos Alentejanos. A digestibilidade estimada a partir das concentrações de n-alcenos naturais foi semelhante à determinada *in vivo*, com excepção da digestibilidade estimada com o C₃₃.

Os pares de alcenos C₃₂:C₂₉ e C₃₆:C₂₉ foram aqueles que originaram as melhores estimativas de ingestão e digestibilidade.

A proporção dos dois principais componentes da dieta (bolota e erva) foi estimada pela combinação de dois pares de alcenos C₃₁/C₂₇ e C₃₁/C₂₉. A combinação C₂₇/C₂₉ levou a resultados significativamente diferentes de qualquer uma das outras estimativas e do valor determinado *in vivo*.

Embora as estimativas médias de ingestão e digestibilidade obtidas neste ensaio sejam em muitos casos não significativamente diferentes ($P > 0,05$) dos valores de ingestão e digestibilidade *in vivo*, têm associados a si, erros padrões relativamente elevados. Este

facto deve-se provavelmente à baixa concentração de alcanos naturais na dieta ingerida e consequentemente nas fezes, fruto da baixa ingestão de erva em relação à bolota e à ingestão apenas do miolo da bolota que tem uma concentração relativamente baixa de alcanos.

AGRADECIMENTOS

A autora M. I. Ferraz de Oliveira agradece a bolsa de Pós doutoramento (SFRH/BPD/5646/2001) concedida pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dove, H. & Mayes, R.W. 1991 The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. *Australian Journal of Agricultural Research*, **42**: 913-952
- Dove, H. & Mayes, R.W. 2003 *Satellite meeting: wild and domestic herbivore diet characterization of the 6th International Symposium on Nutrition of Herbivores*, pp. 1-88. Mérida, Yucatán, México.
- Oliván, M. & Osoro, K. 1997. Utilización da la técnica de los n-alcanos en estudios de ingestión y selección de dieta de los rumiantes en pastoreo:revisión. *Itea*, **93A**: 193-208.
- Fernandes L. S. 1999. *Campos do Sul: Da História e Agro-Economia do Porco Alentejano ao Desenvolvimento Sustentável da Sua Agricultura*. Tese de doutoramento, Universidade de Évora, Évora
- Ribeiro T. 2005. Validação da Técnica dos n-Alcanos para *Estimativa da Ingestão e Digestibilidade em Porcos Alentejanos*. Trabalho de fim de curso em Engenharia Zootécnica. Universidade de Évora.