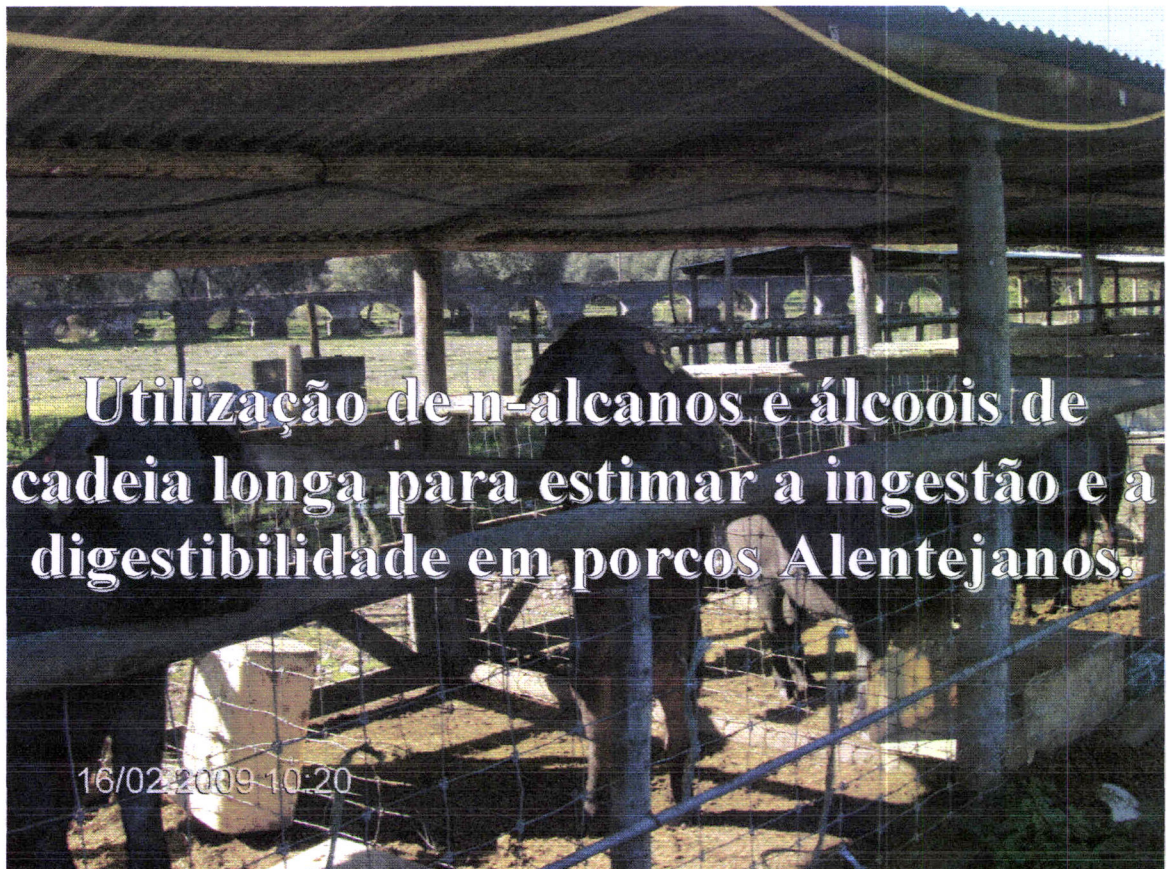


**Universidade de Évora**



**Mestrado em Zootecnia**



**Utilização de n-alcenos e álcoois de cadeia longa para estimar a ingestão e a digestibilidade em porcos Alentejanos.**

16/02/2009 10:20

*Tese de Mestrado realizada por:*

Cláudia Gomes

Nº 19343

**Orientador científico:** Dr.<sup>a</sup> Maria Isabel Ferraz-de-Oliveira

**Co-orientador científico:** Prof. Manuel Cancela d'Abreu

“Este trabalho não inclui as observações e críticas feitas pelo júri.”

**Évora, 2009.**

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A  
DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

---



171 333

***Tese de Mestrado realizada por:***  
Cláudia Gomes  
Nº 19343

**Orientador científico:** Dr.ª Maria Isabel Ferraz-de-Oliveira  
**Co-orientador científico:** Prof. Manuel Cancela d'Abreu

“Este trabalho não inclui as observações e críticas feitas pelo júri.”

## Índice

1 - Resumo.....	8
2 - Abstract.....	9
3 - Objectivos.....	10
4 - Agradecimentos.....	11
5 - Introdução.....	12
6 - Revisão bibliográfica.....	14
6.1 - O porco Alentejano e o montado.....	14
6.1.1 - A raça suína Alentejana.....	14
6.1.2 - O montado alentejano.....	15
6.1.3 - Exploração do porco Alentejano em Portugal no sistema de montanha e seus produtos.....	19
6.2 - Ingestão e digestibilidade.....	22
6.2.1 - Importância da avaliação da ingestão e da digestibilidade.....	22
6.2.1.1 - Ingestão.....	22
6.2.1.2 - Digestibilidade.....	23
6.2.2 - Estimativa da ingestão baseada nas estimativas da produção fecal e digestibilidade.....	24
6.2.2.1 - Estimativa da produção fecal.....	25
6.2.2.1.1 - Marcadores fecais.....	25
6.2.2.2 - Utilização de marcadores internos para estimar a digestibilidade.....	27

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

6.2.3 – Utilização de compostos das ceras cuticulares das plantas para estimar a digestibilidade e a produção fecal.....	30
6.2.3.1 – N-alcenos e álcoois de cadeia longa como marcadores na estimativa da ingestão e da digestibilidade.....	31
6.2.3.2 – Recuperação fecal.....	35
7 - Procedimento experimental.....	39
7.1 - Material e métodos.....	39
7.1.1 - Ensaio <i>in vivo</i> .....	39
7.1.1.1 – Animais e alojamento.....	39
7.1.1.2 – Alimentos.....	41
7.1.1.3 – Delineamento experimental.....	41
7.1.1.4 - Esquema do ensaio <i>in vivo</i> .....	42
7.1.1.5 – Colheitas de amostras do ensaio <i>in vivo</i> .....	44
7.1.2 - Preparação dos bolos com alcanos.....	45
7.1.3 - Preparação de amostras.....	46
7.2 – Análise laboratorial.....	46
7.2.1 - Determinação de matéria seca e cinzas totais.....	47
7.2.2 - Determinação de azoto total e proteína total.....	47
7.2.3 - Determinação de fibras insolúveis – NDF, ADF e ADL.....	48
7.2.4 - Doseamento de n-alcenos nos bolos.....	48
7.2.5 - Método de extracção de n-alcenos e álcoois de cadeia longa.....	49
7.2.5 - Análise por cromatografia gasosa (CG).....	51
8 - Equações utilizadas.....	54
8.1 – Equações utilizadas para estimar a ingestão, digestibilidade e recuperação fecal.....	54



**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

---

8.2 – Equações utilizadas para o cálculo das concentrações dos n-alcenos e dos álcoois de cadeia longa .....	56
9 - Análise estatística.....	57
10 - Apresentação e discussão de resultados.....	58
10.1 – Animais.....	58
10.2 – Alimentos.....	60
10.3 - Refugos .....	64
10.4 - Fezes totais.....	66
10.5 - Recuperação fecal.....	67
10.5.1 – Recuperação fecal dos alcanos.....	67
10.5.2 – Recuperação fecal dos álcoois de cadeia longa.....	72
10.6 – Digestibilidade.....	73
10.7 – Ingestão.....	75
11 – Conclusão e perspectivas futuras.....	77
12 - Referências bibliográficas.....	79
13 – Anexos.....	86

## Índice de tabelas, figuras e gráficos

Tabela 6.1 – Parâmetros reprodutivos da raça suína Alentejana.....	14
Tabela 6.2 – Parâmetros produtivos da raça suína Alentejana.....	15
Tabela 6.3 – Composição química da erva e da bolota (g/100g MS)*; média±desvio padrão.....	17
Tabela 6.4 - Composição química da bolota e da erva (% MS).....	17
Tabela 6.5 – Evolução da composição química da bolota (%)......	18
Tabela 6.6 - Composição da vegetação herbácea (% MS).....	18
Tabela 6.7 - Composição na bolota em ácidos gordos (%)......	19
Tabela 6.8 - Produtos alimentares originários da exploração do porco alentejano.....	21
Tabela 6.9 - Exemplos de marcadores internos usados para estimar a digestibilidade em herbívoros e suas principais características.....	29
Tabela 6.10 - Componentes comuns da cera cuticular insaponificada das plantas.....	30
Tabela 6.11 – Concentrações de n-alcenos e de álcoois de cadeia longa na cera cuticular de várias espécies vegetais (mg/kg MS).....	32
Tabela 6.12 - Concentração média dos n-alcenos constituintes da erva e bolota (mg/kg <sup>-1</sup> MS).....	33
Tabela 6.13 - Composição química da bolota em n-alcenos (mg/kg MS).....	34
Tabela 6.14 - Percentagens médias de recuperação fecal dos n-alcenos de cadeia ímpar e de cadeia par.....	37
Figura 7.1 – Animais alojados nas “quartelhas”.....	40
Figura 7.2 – Animais alojados nas caixas metabólicas.....	40
Figura 7.3 – Esquema do ensaio <i>in vivo</i> .....	43
Figura 7.4 - Bolos preparados.....	45
Gráfico 10.1 – Variação do peso vivo dos animais ao longo do tempo.....	58
Gráfico 10.2 – Ganho médio diário dos animais durante o ensaio <i>in vivo</i> .....	59
Tabela 10.1 - Composição química média dos alimentos administrados aos animais ao longo do ensaio <i>in vivo</i> (% MS).....	60
Tabela 10.2 - Peso médio / 100 bolotas (g) e relação casca:miolo na bolota (% em matéria fresca).....	61
Tabela 10.3 - Concentrações médias dos n-alcenos presentes na bolota e na luzerna (mg/kg MS).....	61
Tabela 10.4 - Concentrações médias dos álcoois de cadeia longa presentes na bolota e na luzerna (mg/kg MS).....	62
Figura 10.1 – Cromatograma de álcoois de cadeia longa para uma amostra de bolota inteira.....	63
Tabela 10.5 – Composição química média dos refugos recolhidos por tratamento ao longo do ensaio <i>in vivo</i> ± desvio padrão (% MS).....	64
Figura 10.2 – Refugos dos animais.....	65
Tabela 10.6 – Concentração média dos n-alcenos presentes nos refugos por tratamento ± desvio padrão (mg/kg MS).....	65
Tabela 10.7 – Concentração média dos álcoois de cadeia longa presentes nos refugos por	

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

---

tratamento $\pm$ desvio padrão (mg/kg MS).....	66
Tabela 10.8 – Composição química média das fezes totais por tratamento ao longo do ensaio <i>in vivo</i> $\pm$ desvio padrão (% MS).....	66
Tabela 10.9 – Concentração média dos n-alcenos presentes nas fezes por tratamento $\pm$ desvio padrão (mg/kg MS).....	67
Tabela 10.10 – Concentração média dos álcoois de cadeia longa presentes nas fezes por tratamento $\pm$ desvio padrão (mg/kg MS).....	67
Tabela 10.11 - Recuperações fecais médias (%) dos n-alcenos para os três tratamentos considerados (n=9).....	68
Tabela 10.12 - Concentrações médias dos alcenos naturais ingeridos (mg/kg MS) para cada tratamento $\pm$ desvio padrão.....	69
Tabela 10.13 - Recuperações fecais médias para os diferentes n-alcenos (%).....	70
Tabela 10.14 - Recuperações fecais médias (%) dos álcoois de cadeia longa para os três tratamentos considerados (n=9).....	72
Tabela 10.15 - Recuperações fecais médias dos álcoois de cadeia longa (%) (n=27).....	73
Tabela 10.1 - Digestibilidade determinada <i>in vivo</i> e estimada a partir de alcenos naturais para cada tratamento considerado (%) (n=9).....	74
Tabela 10.17 - Ingestão total determinada <i>in vivo</i> e estimada a partir de pares de alcenos para cada tratamento considerado (kg MS).....	75
Tabela 10.18 - Ingestão total determinada <i>in vivo</i> e ingestão estimada a partir de pares de alcenos (kg MS).....	76

## 1 – Resumo

O número diminuto de estudos sobre a técnica dos n-alcenos para porcos Alentejanos motivou o interesse em realizar um ensaio que simulasse as ingestões reais dos animais em Montanheira, no sentido de se compreender melhor o comportamento alimentar destes animais em condições extensivas.

Para validar a técnica dos n-alcenos com altos níveis de ingestão em porcos Alentejanos, realizou-se um ensaio *in vivo*, em caixas metabólicas, com nove machos castrados da raça suína Alentejana com peso médio de 97,64 kg. O delineamento do ensaio experimental foi efectuado segundo o quadrado latino e os suínos foram alimentados três vezes por dia com bolota e luzerna desidratada. Foi também fornecido a cada animal diariamente, dois bolinhos contendo alcenos sintéticos ( $C_{32}$  e  $C_{36}$ ). No período experimental foram realizadas colheitas de fezes, refugos e alimento, para se estimar pelo método *in vivo* a digestibilidade e a ingestão.

Calcularam-se as taxas de recuperação fecal para os n-alcenos e para os álcoois de cadeia longa, com o intuito de se identificar aqueles que apresentaram valores mais elevados e semelhantes entre si.

O alceno que mostrou apresentar uma taxa de recuperação mais elevada e semelhante aos alcenos sintéticos foi o  $C_{29}$ . Em relação aos álcoois de cadeia longa o que mostrou a taxa de recuperação fecal mais alta foi o  $C_{28}OH$ . Os n-alcenos naturais que melhor forneceram uma estimativa da digestibilidade foram o  $C_{25}$  e o  $C_{27}$ . Na estimativa da ingestão os pares de alcenos que mais se aproximaram do valor real foram o  $C_{29}:C_{32}$  e o  $C_{29}:C_{36}$ .

**Palavras-chave:** n-alcenos, álcoois de cadeia longa, ingestão, digestibilidade, recuperação fecal, marcador, porco Alentejano.

## 2 – Abstract

### **The use of n-alkanes and long chain alcohols to estimate intake and digestibility in Alentejano pigs.**

The miniature number of studies of the n-alkanes for Alentejano pigs motivated the interest in carrying through an essay that it simulated the real intake of the animal in “Montanheira”, the direction of to better understand the alimentary behavior of these animals in extensive conditions.

To validate the technique of the n-alkanes with high levels of intake in Alentejano pigs, an *in vivo* essay was become fulfilled, in metabolic cages, with nine castrated males of Alentejana swine race with average weight of 97,64 kg. The delineation of the experimental essay was effected according to latin square and the swines had been fed three times per day with acorn and deshydrated luceme (*Medicago sativa*).

Also it was supplied to each animal daily, two cookies contend synthetic alkanes (C<sub>32</sub> e C<sub>36</sub>). In experimental period had been carried through harvests of faeces, rubbishes and foods, to estimate digestibility and intake.

The fecal recoveries for the n-alkanes and the long chain alcohols had been calculated, with the intention to identifying those that had presented higher and similar values.

The alkane that showed to present a tax of higher and similar fecal recovery to synthetic alkanes was the C<sub>29</sub>. The long chain alcohol that it showed the higher fecal recovery was the C<sub>28</sub>OH. The natural alkanes that had better supplied a estimate of digestibility had been the C<sub>25</sub> and C<sub>27</sub>. In the estimate of intake the pairs of alkanes that been more come close to the real value had been the pair C<sub>29</sub>:C<sub>32</sub> and the C<sub>29</sub>:C<sub>36</sub>.

**Key-words:** n-alkanes, long chain alcohols, intake, digestibility, fecal recovery, markers, Alentejano pig.

### 3 - Objectivos

Validar, para níveis de ingestão elevados semelhantes aos observados em Montanheira, a utilização de n-alcenos como marcadores fecais para a estimativa da ingestão e digestibilidade de bolota e erva em porcos Alentejanos e realizar o primeiro estudo para a determinação da recuperação fecal de álcoois de cadeia longa em suínos da raça Alentejana.

Para atingir estes fins, realizou-se um ensaio *in vivo* com nove animais em caixas metabólicas, com o intento de se determinarem a digestibilidade e ingestão pelo método *in vivo* e a compará-las com a digestibilidade e ingestão calculadas segundo a técnica dos n-alcenos. Para o cálculo das estimativas da ingestão e da digestibilidade foi necessário calcular as taxas de recuperação fecal de cada alceno, com o objectivo de se averiguar aqueles que apresentaram valores elevados e semelhantes entre si. Para os álcoois de cadeia longa foram determinadas apenas, as taxas de recuperação fecal, no sentido de se estudar a sua possível relevância para posteriores estudos e ensaios na estimativa da composição da dieta.



## 4 - Agradecimentos

Agradeço especialmente, aos meus pais e irmã que desde o início até ao final deste trabalho sempre me apoiaram e me motivaram para que tudo corresse pelo melhor.

Agradeço à amiga e colega Marta Guerreiro pelo companheirismo ao longo destes meses de trabalho, sem a qual teria sido solitário e mais difícil.

Agradeço o apoio, a ajuda e a orientação da Dr.<sup>a</sup> M.<sup>a</sup> Isabel Ferraz-de-Oliveira que sempre me disponibilizou ao longo de todo o trabalho realizado; ao Professor Manuel Cancela d' Abreu a co-orientação e apoio e ao Professor Amadeu Freitas a ajuda prestada no ensaio *in vivo*. Agradeço ao Professor Paulo Infante do departamento de Matemática o esclarecimento de dúvidas relativas ao tratamento estatístico dos dados obtidos.

Agradeço também, à Engenheira Graça Machado, à D.<sup>a</sup> Margarida e à colega Fernanda toda a ajuda prestada no laboratório de Nutrição Animal e a amizade com a qual sempre pude contar.

Finalmente, agradeço a todos os meus amigos e familiares que não pude mencionar, mas que directa ou indirectamente, me apoiaram e se preocuparam com o sucesso deste trabalho.

## 5 - Introdução

A valorização da qualidade dos produtos resultantes do porco Alentejano e a preocupação, quer dos consumidores quer dos produtores, com questões relacionadas com problemas ambientais, bem-estar animal e segurança alimentar são cada vez mais, factores que condicionam o sistema de produção desta raça.

No sentido de melhorar o sistema de produção e torná-lo sustentável revelam-se imprescindíveis estudos que contribuam para compreender melhor o comportamento alimentar e a utilização digestiva dos alimentos por parte dos animais no sistema de Montanheira, em particular o conhecimento da ingestão e da digestibilidade da dieta, que são fundamentais para uma utilização racional dos recursos alimentares.

A medição directa da ingestão e da digestibilidade dos animais em pastoreio tem-se revelado difícil e várias metodologias e técnicas foram desenvolvidas e usadas satisfatoriamente, sendo que, um desses métodos é aquele que estima estes dois parâmetros a partir das concentrações de n-alcenos presentes na dieta e nas fezes dos animais.

Os n-alcenos são constituintes das ceras da cutícula das células epidérmicas das plantas e são hidrocarbonetos alifáticos saturados cujo tamanho da cadeia carbonada é variável e específico para cada espécie, existindo uma prevalência para aqueles que apresentam cadeia com número ímpar de átomos de carbono. Os álcoois de cadeia longa também estão presentes nas ceras epicuticulares das espécies vegetais e o seu número de carbonos também varia, no entanto, os que têm cadeia com número par de átomos de carbono parecem predominar entre as plantas.

O uso destas substâncias tem apresentado vantagens, nomeadamente nas seguintes vertentes: permite realizar estimativas de ingestão e digestibilidade sem a necessidade de condicionar os animais, e portanto o efeito do desvio do comportamento alimentar destes é eliminado e o bem-estar animal assegurado; as estimativas da ingestão e digestibilidade são obtidas individualmente e permite ainda, utilizar a mesma substância (alcenos) como marcador para estimar os dois parâmetros, reduzindo assim o trabalho laboratorial e analítico.

A utilização de n-alcenos como marcadores fecais tem-se revelado de grande

## **UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

---

utilidade na estimativa da ingestão, digestibilidade e composição da dieta para ruminantes em regimes extensivos. Existem vários estudos desenvolvidos utilizando n-alcenos para estimar a ingestão e digestibilidade em ruminantes, no entanto, em suínos existe ainda falta de informação sobre o assunto. Existem já estudos de validação da técnica dos n-alcenos em porcos Alentejanos, mas apenas para baixos níveis de ingestão, o que pode condicionar os resultados obtidos quando a técnica é aplicada em condições de exploração tradicional - a Montanha. Metodologias utilizando álcoois de cadeia longa juntamente com n-alcenos e até com ácidos gordos de cadeia longa, têm sido desenvolvidas satisfatoriamente na estimativa da composição da dieta, especialmente em herbívoros.

## 6 - Revisão bibliográfica

### 6.1 - O porco Alentejano e o montado

#### 6.1.1 - A raça suína Alentejana

A raça suína Alentejana é a principal raça suína autóctone e é explorada, maioritariamente, em regime extensivo, sendo o seu habitat natural o montado, o qual faz parte do sistema agro-silvo-pastoril da região alentejana (Freitas *et al.*, 2004).

O porco Alentejano é um animal de corpulência média-pequena, de pele preta ardósia, com poucas cerdas predominantemente de cor preta, apresenta região dorso lombar pouco arqueada, garupa comprida e oblíqua, ventre descaído, cauda fina de média inserção e terminada com um tufo de cerdas, cabeça comprida e fina de ângulo fronto-nasal pouco acentuado, orelhas pequenas e finas, de forma triangular, focinho aguçado, pescoço de comprimento médio e musculado e membros compridos, fortes e bem apumados (Fernandes, 1999).

Os parâmetros reprodutivos e produtivos desta raça encontram-se referenciados na tabela 6.1 e 6.2, respectivamente:

**Tabela 6.1 – Parâmetros reprodutivos da raça suína Alentejana.**

<b>Período de gestação</b>	114 dias
<b>Duração ciclo reprodutivo</b>	21 dias
<b>Duração do cio</b>	12 a 36 horas
<b>Taxa de fertilidade</b>	90%
<b>Tamanho da ninhada</b>	5 a 8 leitões
<b>Início da vida reprodutiva</b> ♂	12 meses
<b>Início da vida reprodutiva</b> ♀	8-10 meses
<b>Vida útil reprodutiva</b>	≅ 5 anos

**Fonte:** Freitas *et al.*, 2004.

**Tabela 6.2 – Parâmetros produtivos da raça suína Alentejana.**

<b>Desmame</b>	45-60 dias
<b>Peso ao nascimento</b>	1,1-1,3 kg
<b>Ganho médio diário nascimento-desmame</b>	150-250 g
<b>Ganho médio diário na recria</b>	150-350 g
<b>Ganho médio diário no crescimento</b>	150-450 g
<b>Ganho médio diário no acabamento</b>	650-1000 g

**Fonte:** Freitas *et al.*, 2004.

A fase da cria compreende o tempo desde o nascimento até ao desmame, que ocorre entre as 8 e as 10 semanas, altura em que os leitões atingem 20 kg de peso vivo, aproximadamente. A primeira fase de recria dura cerca de 30 dias e vai dos 14 aos 25 kg de peso vivo; a segunda fase de recria é variável segundo o maneio alimentar e vai desde os 25 aos 75-100 kg de peso vivo. Toda a fase de recria ocorre entre os 3 e os 8-10 meses de idade. A fase de engorda em montanha vai desde meados de Outubro a finais de Janeiro e o peso de saída dos animais é de 120 a 160 kg de peso vivo, mas pode variar de acordo com o objectivo do produto final (UNIAPRA).

Na maior parte das explorações existem duas épocas de parição: Agosto-Setembro e Dezembro-Janeiro. Os leitões nascidos na época Dezembro-Janeiro são orientados, predominantemente, para a produção de matéria-prima destinada à indústria de presuntos, para serem engordados na montanha, enquanto da época de parição Agosto-Setembro se escolhem os animais de substituição, destinando-se os restantes à indústria de enchidos, à produção de carne para consumo em fresco e ao mercado de leitão para assar (Freitas, 2006).

### **6.1.2 - O montado alentejano e os seus recursos alimentares**

O montado corresponde à imagem de marca da paisagem agrária do Alentejo e é característico do Sul da Península Ibérica. É um tipo de paisagem em que todos os traços se devem à história agrária e ao trabalho humano, que a transformaram (Ferreira, 2001).

O ecossistema do montado alentejano é constituído por dois estratos de vegetação:

um arbóreo, que é formado essencialmente por espécies do género *Quercus* (*Quercus rotundifolia* - azinheiras e *Quercus suber* - sobreiros) e um estrato herbáceo onde dominam as gramíneas (Nunes, 1993). Os principais recursos alimentares que são disponibilizados por este ecossistema são: a bolota/lande (frutos da azinheira e do sobreiro, respectivamente) e a erva.

Os montados são típicos de zonas de clima mediterrâneo, porque se adaptam melhor que qualquer outro sistema às limitações por ele impostas, como a escassez de água no Verão e as temperaturas excessivamente baixas para o desenvolvimento vegetativo no Inverno (Lopez-Bote, 1998).

A produção da bolota e da lande depende de vários factores, nomeadamente: o tipo de solos, a densidade de árvores, as condições climatológicas, o estado de conservação do próprio montado e a época do ano – o Outono e o Inverno são as estações do ano em que há disponibilidade destes recursos alimentares (Fernandes, 1999).

A bolota e a lande apresentam um valor energético bastante elevado, o que se deve essencialmente ao seu elevado conteúdo em amido, no entanto, o teor em proteína bruta é baixo. Este baixo teor em proteína bruta é complementada pela proteína disponibilizada pelas gramíneas e leguminosas do sob-coberto arbóreo e arbustivo. A presença de substâncias anti-nutricionais na bolota – os taninos – pode causar problemas de toxicidade, diminuição da palatabilidade e da digestibilidade, porque ao se complexarem com as proteínas causam um sabor adstringente na bolota. É do domínio corrente que os porcos engordam mais quando dispõem de erva abundante e que, quando chove no Outono, a bolota é *lavada* não provocando efeitos nefastos nos animais. Nestas situações a produção de erva é maior e a sua proteína contribui para a redução da toxicidade dos taninos da bolota e a neutralização parcial da sua adstringência, permitindo maiores níveis de ingestão e ganhos de peso mais elevados (Almeida, 1986).

Rodríguez-Estévez *et al.* (2008) e Mendes (2005) realizaram um ensaio com porcos Alentejanos em Montanha e analisaram os diferentes parâmetros químicos da bolota e da erva, que se pode observar nas tabelas 6.3 e 6.4. Almeida (1986) estudou a composição química dos frutos de espécies do género *Quercus*, apresentando-se também, na tabela 6.3 a composição química do fruto de *Quercus suber*.



UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

Tabela 6.3 – Composição química da erva e da bolota (g/100g MS)\*; média±desvio padrão.

	1	
	Erva	Bolota
<b>% Matéria seca</b>	24.05±1.52	58.05±1.28
<b>Cinzas*</b>	8.74±0.79	1.94±0.03
<b>Proteína bruta*</b>	15.73±0.73	4.71±0.21
<b>Fibra bruta*</b>	21.28±0.78	2.83±0.09
<b>Gordura*</b>	5.24±0.41	10.22±0.49
<b>Extracto não azotado*</b>	64.83±4.56	65.46±0.62

2

	<i>Quercus suber</i>	
<b>% Matéria seca</b>	86,5	
<b>Proteína bruta (% MS)</b>	5,6	
<b>Fibra bruta (% MS)</b>	5	
<b>Taninos (g/100g MS)</b>	4,03	

Adaptado de: Rodriguez-Estévez *et al*, 2008<sup>1</sup>; Almeida, 1986<sup>2</sup>.

Tabela 6.4 - Composição química da bolota e da erva (% MS).

<b>Alimento</b>	<b>% Matéria seca</b>	<b>Cinzas (% MS)</b>	<b>Proteína bruta (% MS)</b>	<b>NDF (% MS)</b>
<i>Erva</i>	46,32	8,13	6,23	42,29
<i>Bolota inteira</i>	56,03	1,93	4,54	58,71
<i>Miolo da bolota</i>	-	1,61	4,64	44,33
<i>Casca da bolota</i>	-	2,82	3,32	68,17

Fonte: Mendes, 2005.

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

Os valores dos parâmetros químicos da erva no ensaio realizado por Rodríguez-Estévez *et al.* (2008) são referentes a erva colhida entre os meses de Novembro e Dezembro e os de Mendes (2005) são relativos a erva colhida em Abril.

Pode-se verificar através da tabela 6.5 o efeito da evolução da composição da bolota ao longo da sua maturação, que foi estudado por Almeida e Marinho (1991).

**Tabela 6.5 – Evolução da composição química da bolota (%).**

Época de colheita/parâmetros	MS %	PB %	EE %	Açúcares solúveis %	Amido %	Fenóis totais %	Taninos
<i>Setembro</i>	46.36	3.16	5	9.41	17.98	7.32	9.76
<i>Outubro</i>	53.43	3.26	7.7	10.20	51.64	7.94	7.35
<i>Novembro</i>	58.32	3.69	8.5	13.43	57.29	4.9	2.94

**Adaptado de:** Almeida e Marinho, 1991.

Na tabela 6.6 é possível observar também, a evolução da composição da erva ao longo do tempo:

**Tabela 6.6 - Composição da vegetação herbácea (% MS).**

	MS (%)	PB (% MS)	NDF (% MS)	Celulose (% MS)	Lenhina (% MS)
<b>Outono</b>	33,2	12,1	49,6	26,5	9,2
<b>Inverno</b>	25,2	15,3	36,8	18,4	7,3
<b>Média</b>	29,2	13,7	43,2	22,5	8,3

**Fonte:** Freitas, 2006.

A proporção de bolota e erva influencia o balanço nutricional dos animais, o que pode assegurar a ausência de suplementos alimentares durante a fase de engorda em

Montanheira e influenciar conseqüentemente, o perfil de ácidos gordos da carcaça (Rodríguez-Estévez *et al*, 2008).

Os frutos do montado caracterizam-se ainda, pelo perfil de ácidos gordos que apresentam. Na tabela 6.7 pode-se observar que o ácido oleico é o que predomina, seguido do ácido linoleico e do ácido palmítico.

**Tabela 6.7 - Composição na bolota em ácidos gordos (%).**

<b>Composição em ácidos gordos (%)</b>	
Ácidos gordos saturados (% AG totais)	17,9
Ácidos gordos insaturados (% AG totais)	80,9
Ácido palmítico (% AG saturados)	14,35
Ácido oleico (% AG insaturados)	63,55
Ácido linoleico (% AG insaturados)	16,29

**Adaptado de:** Freitas, 1998.

O porco consegue ainda, recorrer a outros recursos que encontra, nomeadamente: tubérculos, raízes, insectos, larvas, restolhos e outros e que podem ter um papel importante como complemento da bolota e erva.

### **6.1.3 - Exploração do porco alentejano em Portugal no sistema de montanheira e seus produtos**

Desde tempos remotos que o porco Alentejano é explorado em regime extensivo, num sistema agro-silvo-pastoril, que terminava com a montanheira – engorda intensiva dos animais nos montados de azinho e sobro, durante os três ou quatro meses que decorriam entre o final de Outubro, princípios de Novembro, a fins de Fevereiro (Carvalho, 1964 citado por Mendes, 2005).

A convicção de que o porco Alentejano é o animal que melhor aproveita e valoriza os frutos dos montados (bolota e lande), é claramente salientada num velho ditado popular

que afirma que *a natureza criou a bolota para os porcos, e que os porcos nasceram para a bolota* (Picão, 1944 citado por Mendes, 2005).

As características do sistema de produção do porco de raça Alentejana permitem uma elevada ingestão de energia em montanha, um peso ao abate e idade elevados, associados à predisposição genética da raça, que conduz ao desenvolvimento acentuado do tecido adiposo e à deposição de gordura intramuscular (Lopez-Bote, 1998; Neves, 1998).

A engorda de porcos da raça Alentejana em montanha origina carcaças de elevada qualidade, associadas a produtos muito característicos e apreciados, sendo no entanto carcaças de baixo rendimento em peças nobres (Nunes, 1993).

O elevado consumo de bolota, aliado à composição da sua gordura confere à gordura dos porcos Alentejanos engordados em Montanha, um característico perfil de ácidos gordos (ácido oleico/ácido linoleico), que é responsável pelas características organolépticas da carne e dos produtos transformados (Neves, 1998). Este perfil em ácidos gordos insaturados, permite que os produtos fabricados a partir do porco de Montanha tenham claras vantagens para a saúde quando comparadas com os produtos oriundos dos porcos de raças melhoradas ou alimentados com rações comerciais (Nunes, 1993).

As características nutricionais deste tipo de carne bem como as condições de criação destes animais em regime extensivo são actualmente asseguradas por uma entidade – a ANCPA (Associação Nacional de Criadores de Porco Alentejano) – a qual tem desenvolvido diversas acções para garantir a qualidade do produto final que é disponibilizado ao consumidor, nomeadamente é efectuada a análise à composição da gordura do animal, antes de entrar no montado e após abate. Assim, têm sido controladas as condições de produção destes animais para que, no final a sua carne forneça o perfil lipídico pré-estabelecido para a denominação de porco Alentejano (Serras, 2009). As exigências requeridas para que os produtos originários da exploração do porco Alentejano sejam certificados, quer pela Indicação Geográfica Protegida, quer pela Denominação de Origem Protegida são: os animais têm de estar inscritos no Livro Genealógico Português de Suínos e que as herdades onde os animais são explorados disponham de áreas de montado (sobre e/ou azinho), compatíveis com os sistemas de produção extensivo ou semi-extensivo característicos da raça. Na tabela 7 apresentam-se os produtos que são resultantes da

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

exploração da raça suína Alentejana e que actualmente se encontram certificados.

**Tabela 6.8 - Produtos alimentares originários da exploração do porco alentejano.**

<b>Produtos Indicação Geográfica Protegida (IGP)</b>	<b>Produtos de Denominação Protegida (DOP)</b>
Enchidos de Portalegre	Presunto de Barrancos
Enchidos de Estremoz e Borba	Presunto e paleta do Alentejo
Enchidos de Beja	Carne de porco Alentejano
Presunto e paleta de Campo Maior e Elvas	-
Presunto de Santana da Serra	-

**Fonte:** Freitas *et al.*, 2004.

## **6.2 – Ingestão e digestibilidade**

### **6.2.1 – Importância da avaliação da ingestão e da digestibilidade**

#### **6.2.1.1 - Ingestão**

A ingestão e a digestibilidade dos alimentos oferecidos aos animais formam a base de muitos estudos em nutrição animal, não só por terem elevada importância na compreensão do desempenho animal, mas também por darem informações preciosas no que diz respeito às suas necessidades nutricionais e permitirem uma adaptação adequada da dieta fornecida (Oliván e Osoro, 1997).

Com o conhecimento destes parâmetros pode-se ajustar o encabeçamento dos animais à área destinada ao pastoreio, permitindo assim, uma melhoria da capacidade de uso do montado pelos porcos Alentejanos. Deste modo, torna-se possível saber se os animais em estudo estão perfeitamente adaptados ao sistema agro-silvo-pastoril ou se pelo contrário, é necessário uma suplementação alimentar para suprir as necessidades nutricionais dos animais. A partir da gestão do sistema global é possível contribuir para a melhoria da rentabilidade das explorações agro-pecuárias da raça suína Alentejana.

Muitas dúvidas acerca da estratégia de produção mais adequada a escolher resultam da lacuna do conhecimento sobre o comportamento de pastoreio, a ingestão e a digestibilidade da dieta dos porcos Alentejanos explorados em montanha (Ferraz-de-Oliveira *et al.*, 2007).

As técnicas para estimar a ingestão podem ser divididas em dois grandes grupos: aquelas que se baseiam em medições na pastagem e as que estimam a ingestão com métodos baseados nos animais (Greenhalgh, 1982). Nos métodos baseados na pastagem destaca-se a que estima a ingestão através da quantidade de erva disponível antes e depois do pastoreio. O problema que se prende com este processo é a impossibilidade de se estimar a ingestão individualmente, a não ser que se isolem os animais em estudo, no entanto tomar-se-ia um método muito laborioso. Nos métodos baseados nos animais referem-se os seguintes: aquele que se baseia no comportamento alimentar, ou seja, a



ingestão é estimada através do número de dentadas dos animais e da quantidade ingerida por dentada ao longo do tempo (Cancela d'Abreu, 1992); aquele que se baseia na produção dos animais, onde a ingestão é calculada a partir das necessidades energéticas para a manutenção e para a produção dos animais em estudo e da concentração energética do alimento ingerido (Baker, 1982); aquele que se baseia na variação do peso vivo dos animais, em que a ingestão é estimada a partir da pesagem dos animais antes e depois do pastoreio, das suas fezes, urina e da água ingerida e finalmente, aquele que se baseia na utilização de marcadores para determinar a excreção fecal e a digestibilidade. A técnica que usa o comportamento alimentar como forma de determinar a ingestão apresenta estimativas pouco precisas, devido à dificuldade em se determinar a quantidade de alimento ingerido por dentada; a falta de precisão é também apontada como crítica no caso da metodologia em que se utilizam as necessidades energéticas dos animais, porque para se aplicar este método é necessário medir-se, com maior rigor possível, o peso vivo dos animais para em conjunto com as necessidades energéticas para manutenção e produção, se determinar as necessidades totais em energia dos animais, além de que a determinação das necessidades energéticas está dependente da escolha de tabelas e fórmulas que melhor se adaptem às espécies e raças utilizadas, fase produtiva, condições ambientais e de pastoreio; no método baseado na variação de peso dos animais é necessário que os animais utilizem dispositivos para recolher amostras de fezes e urina e é difícil determinar a quantidade de matéria seca da erva ingerida (Cancela d'Abreu, 1992).

#### **6.2.1.2 - Digestibilidade**

A digestibilidade pode ser definida como a proporção da dieta que não é excretada nas fezes (Dove e Mayes, 2006). O valor real dos alimentos para os animais só pode conhecer-se depois de registadas as perdas inevitáveis que ocorrem durante a digestão, absorção e metabolismo (Ribeiro, 2005).

Para estimar a digestibilidade são utilizadas duas técnicas: a partir da digestibilidade *in vitro*, requerendo-se para esse efeito o uso de fistulas esofágicas e outros dispositivos e através de marcadores internos, em que se utilizam, por exemplo, ceras

cuticulares das plantas. Dove e Mayes (2000) apontam como principal crítica ao uso de fistulas esofágicas o facto de a sua estimativa ser pouco exacta. Os métodos *in vitro* apresentam as seguintes desvantagens: não estimam valores fidedignos se os animais forem sujeitos a uma suplementação alimentar (Dove e Mayes, 2003); apenas estimam um único valor de digestibilidade para um conjunto de alimentos distribuído a um conjunto de animais (Oliván *et al.*, 1999); incerteza de qual ou quais os componentes da pastagem que seriam realmente utilizados pelo animal (Oliván *et al.*, 1999); não mostram a influência do peso do animal, nem do seu estado fisiológico (Oliván *et al.*, 1999).

Muitas substâncias das dietas têm sido consideradas como marcadores internos para estimar a digestibilidade, mas nenhuma tem sido inteiramente satisfatória. A lenhina, as fibras insolúveis em detergente ácido (ADF) e o crómio foram usados como marcadores, mas como não são componentes discretos e como os métodos utilizados para a sua análise são empíricos, o que é medido nas fezes pode ser diferente daquilo que foi determinado na dieta. Como resultado, inconsistências na recuperação fecal leva a estimativas de digestibilidade pouco fiáveis. Por estes aspectos, durante muitos anos, o método escolhido para determinar a ingestão em ruminantes foi aquele que utilizou técnicas *in vitro* para medir a digestibilidade (Dove e Mayes, 2003).

### 6.2.2 - Estimativa da ingestão baseada nas estimativas da produção fecal e da digestibilidade

A fórmula para calcular a ingestão a partir da excreção fecal e da digestibilidade da dieta é a seguinte:

$$I = PF / (1 - D)$$

Equação 6.1

**Legenda:**

I – Ingestão (kg MS).

PF – Produção fecal (kg MS).

D – Digestibilidade (kg MS).

A determinação da ingestão está dependente de uma avaliação correcta da digestibilidade e da produção fecal (Cancela d'Abreu, 1992).

### **6.2.2.1 – Estimativa da produção fecal**

Para estimar a produção fecal é realizada a colheita total de fezes, no entanto este processo é pouco prático, muito laborioso (é essencial que não haja perda de fezes), e interfere no comportamento dos animais, afectando assim a ingestão (Dove e Mayes, 1996). Como alternativa usam-se marcadores fecais (externos), que são de fácil aplicação e revelam menor impacto no comportamento dos animais (Dove e Mayes, 1996).

#### **6.2.2.1.1 - Marcadores fecais**

Marcador é o termo utilizado para denominar uma substância usada na estimativa qualitativa ou quantitativa de fenómenos fisiológicos ou nutricionais. Um marcador é portanto, uma referência, um composto usado como monitor químico e físico de aspectos da digestão e/ou de metabólitos (Hanson e Owens, 1992). Como marcador fecal pode ser considerado qualquer substância encontrada nas fezes que tenha origem na dieta ou que estão ausentes nela, mas que podem ser administrados oralmente (Dove e Mayes, 2003). O uso de marcadores exige a sua quantificação nas fezes. Normalmente o marcador é administrado uma ou duas vezes por dia oralmente e a produção fecal é estimada a partir da diluição do marcador nas fezes (Dove e Mayes, 2003).

A produção fecal pode ser então calculada através da seguinte equação:

$$PF = (Q_j / C_j)$$

**Equação 6.2**

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

### Legenda:

PF – Produção fecal em kg MS/dia.

Qj – Quantidade do marcador administrado em mg/dia.

Cj – Concentração do marcador nas fezes em mg/kg MS.

Um marcador ideal deve ser inerte no tracto digestivo, ou seja, deve ser quantitativamente recuperado nas fezes, deve ter um comportamento e uma taxa de passagem, no tubo digestivo, semelhante ao dos nutrientes presentes, não deve ser tóxico para os animais em estudo, deve poder ser analisado por métodos químicos e/ou físicos expeditos, deve ser de fácil identificação e análise e deve estar presente em pequenas quantidades na dieta (Dove e Mayes, 1991; Hanson e Owens, 1992). É reconhecido que não existe nenhuma entidade química que preencha todos os atributos de marcador ideal, os atributos requeridos podem diferir de acordo com o propósito com que o marcador é utilizado (Dove e Mayes, 2003).

O óxido de crómio ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ), o óxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) e o sulfato de bário ( $\text{BaSO}_4$ ) são exemplos de marcadores fecais usados para determinar a excreção fecal dos animais. O óxido de crómio foi durante muito tempo o marcador mais utilizado para estimar a produção fecal devido à sua elevada recuperação fecal (Dove e Mayes, 2005), no entanto o seu uso tem sido criticado por não resultar numa distribuição homogénea nos conteúdos intestinais (Dove e Mayes, 1991) e por ser carcinogénico, provocando problemas nos animais em que são administrados e nos operadores que o manuseiam (Dove e Mayes, 2000). O titânio por se encontrar presente no solo e não ser absorvido pelas plantas foi utilizado para estimar a quantidade de solo ingerida pelos animais na estimativa da ingestão. Outros elementos presentes no solo, como o Itérbio (Yb), foram também utilizados como marcadores fecais por apresentarem recuperações fecais elevadas (Dove e Mayes, 2000).

Substâncias indigestíveis como a lenhina, as fibras insolúveis em detergente ácido (ADF) e as ceras cuticulares das plantas (alcanos, álcoois de cadeia longa, ácidos gordos de cadeia longa, etc), que são uma mistura complexa de componentes de lípidos alifáticos sintetizados pelos tecidos da parede celular da planta, foram estudadas como marcadores

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

fecais. No entanto, quer a lenhina quer as fibras insolúveis em detergente ácido, apresentaram resultados pouco satisfatórios, levando a recuperações fecais inconsistentes e consequentemente a estimativas de digestibilidade e ingestão errôneas (Dove e Mayes, 2003).

Outra finalidade do uso de marcadores fecais é a estimativa da taxa de passagem da digesta ao longo do tracto digestivo. As fases líquida e sólida da digesta têm taxas de passagens diferentes, e por isso diferentes marcadores que seguem as duas fases têm sido estudados (Dove e Mayes, 2003).

A variação da concentração fecal diária apresentada por alguns marcadores externos constitui uma fonte de erro nas estimativas da excreção fecal que pode levar à obtenção de resultados pouco fiáveis e a posteriores estimativas de ingestão incorrectas (Dove e Mayes, 1991).

### **6.2.2.2 - Utilização de marcadores internos para estimar a digestibilidade**

Como já foi referido anteriormente, um dos métodos para estimar a digestibilidade é aquele que o realiza recorrendo a marcadores internos. Marcadores internos são substâncias naturalmente presentes na dieta e que por serem indigestíveis e/ou apresentarem recuperações fecais elevadas são usados para a determinação da digestibilidade (Mayes *et al.*, 1995). Assim, a digestibilidade pode ser calculada segundo a equação 6.3:

$$D = [1 - (C_i / C_j)] * 100$$

**Equação 6.3**

#### **Legenda:**

D – Digestibilidade (%).

C<sub>i</sub> – Concentração marcador na dieta (mg/kg MS).

C<sub>j</sub> – Concentração marcador fezes (mg/kg MS).

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

À medida que o alimento avança no tracto gastrointestinal, a sua concentração aumenta progressivamente devido à remoção de outros constituintes do alimento pela digestão e absorção. O aumento da concentração é proporcional à digestibilidade e esta pode ser calculada a partir da concentração do marcador nas fezes (Rodríguez *et al.*, 2008). Empregando marcadores internos é possível determinar a digestibilidade da dieta na sua totalidade, desde que se conheça a concentração do marcador nessa mesma dieta (Mendes, 2005).

Como já foi referido no ponto 6.2.1.2, muitas substâncias das dietas têm sido consideradas como marcadores internos para estimar a digestibilidade, mas nenhuma tem sido inteiramente satisfatória, pelo facto de nenhuma preencher todos os requisitos de marcador ideal, tal como acontece com os marcadores externos (Kotb e Luckey, 1972 citados por Dove e Mayes, 2005). Têm sido apontadas críticas ao uso de marcadores internos em diversos aspectos, nomeadamente: sobre a incerteza de que o composto medido nas fezes corresponde exactamente ao que foi medido na dieta; ao uso de muitas substâncias utilizadas como marcadores internos apresentarem recuperações fecais inconstantes e relativamente às baixas recuperações fecais obtidas em alguns estudos, que levantam dúvidas sobre a verdadeira causa da obtenção de resultados antagónicos (Mendes, 2005). Na tabela 6.9 são apresentados alguns exemplos de substâncias que têm sido utilizadas como marcadores internos e algumas das suas características enquanto marcadores na estimativa da digestibilidade.



**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

**Tabela 6.9 - Exemplos de marcadores internos usados para estimar a digestibilidade em herbívoros e suas principais características.**

<b>Marcador</b>	<b>Tipo</b>	<b>Análise</b>	<b>Recuperação</b>	<b>Fase da digesta</b>	<b>Outras utilizações</b>
<b>Lenhina</b>	Fracção da fibra	Extracção residual (empírica)	Variável	Sólida	Taxa de passagem da digesta*
<b>ADF indigestível</b>	Fracção da fibra	Extracção residual (empírica)	Variável	Sólida	-
<b>NDF indigestível</b>	Fracção da fibra	Extracção residual (empírica)	Variável	Sólida	Taxa de passagem da digesta*
<b>Celulose</b>	Fracção da fibra	Extracção residual (empírica)	Variável	Sólida	-
<b>Silica</b>	Componentes silícios	Várias (discreta)	Elevada	Sólida	-
<b>Crómio</b>	Pigmentos das plantas	Colorimetria (discreta)	Variável	Incerta	-
<b>Ácidos gordos de cadeia longa</b>	Ceras cuticulares das plantas	Cromatografia gasosa (discreta)	Elevada	Maioritariamente sólida	-
<b>N-alcenos de cadeia longa</b>	Ceras cuticulares das plantas	Cromatografia gasosa (discreta)	Média/elevada	Maioritariamente sólida	Ingestão, composição da dieta, taxa de passagem da digesta*

\* Formas radioactivas têm sido usadas para estimar a taxa de passagem da digesta.

**Adaptado de:** Dove e Mayes, 2000.

As estimativas da digestibilidade da dieta estão sujeitas a erros maiores do que as estimativas de excreção fecal porque os animais em pastoreio têm um comportamento alimentar selectivo e as espécies vegetais consumidas diferem em muito da totalidade das espécies presentes na pastagem (Mayes *et al.*, 1995). A maior limitação que se prende com a obtenção de uma estimativa da digestibilidade exacta é o facto de ser difícil obter uma amostra representativa da dieta consumida pelos animais (Dove e Mayes, 2005).

### 6.2.3 - Utilização de compostos das ceras cuticulares das plantas para estimar a digestibilidade e a produção fecal

As ceras da superfície externa das plantas (ceras cuticulares ou epicuticulares) são misturas complexas de lípidos alifáticos, constituídos por alcanos, álcoois, cetonas, ésteres de cadeia longa e ácidos gordos de cadeia longa. A sua composição química difere, grandemente, entre as espécies vegetais e também entre as diferentes partes das plantas (Dove e Mayes, 2005). Na tabela abaixo apresentada pode-se observar a ocorrência de diferentes componentes das ceras cuticulares em gramíneas:

**Tabela 6.10 - Componentes comuns da cera cuticular insaponificada das plantas. \***

Componentes	Ocorrência	Níveis típicos nas <i>Poacea</i> (% da cera)
<b>N-alcanos</b>	Comum, menor a maior	3-40
<b>Monoésteres</b>	Comum, menor a maior	5-20
<b>Álcoois primários</b>	Comum, menor a maior	2-70
<b>Ácidos gordos de cadeia longa</b>	Comum, menor	Usualmente < 10
<b>Álcoois e cetonas secundários</b>	Comum, menor a maior	-
<b>B-dicetonas</b>	Comum, menor a maior	5-70
<b>Hidróxi ou oxo-<math>\beta</math>-dicetonas</b>	Incomum, menor a maior	3-50

**\*Adaptado de:** Tulloch, 1976.

**Fonte:** Oliveira e Prates, 2000.

As vantagens do uso das ceras cuticulares das plantas como marcadores explicam-se pelo facto de serem relativamente inertes e por serem componentes discretos e de fácil análise (Dove e Mayes, 2006).

**6.2.3.1 – N-alcenos e álcoois de cadeia longa como marcadores na estimativa da ingestão e digestibilidade**

Os n-alcenos, também chamados de parafinas, são hidrocarbonetos alifáticos saturados (ligações simples), de fórmula geral  $C_nH_{2n+2}$ . Estes apresentam-se em cadeias lineares ou ramificadas, são predominantemente formados por cadeias ímpares entre 21 a 37 átomos de carbono e a sua concentração é, geralmente, mais elevada nas folhas do que nos caules, na maioria das espécies de plantas. São relativamente estáveis devido às ligações C-H, são apolares, praticamente insolúveis em água e menos densos que esta. Por serem altamente indigestíveis são usados como marcadores internos para estimar a digestibilidade (Dove e Mayes, 1991). Na tabela 6.11 encontram-se discriminadas as concentrações de n-alcenos e álcoois de cadeia longa em várias espécies vegetais.

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

**Tabela 6.11 – Concentrações de n-alcenos e de álcoois de cadeia longa na cera cuticular de várias espécies vegetais (mg/kg MS).**

Espécies vegetais	N-alcenos						Álcoois de cadeia longa				
	C <sub>25</sub>	C <sub>27</sub>	C <sub>29</sub>	C <sub>31</sub>	C <sub>33</sub>	C <sub>35</sub>	1-C <sub>24</sub> -OH	1-C <sub>26</sub> -OH	10-C <sub>29</sub> -OH	1-C <sub>28</sub> -OH	1-C <sub>30</sub> -OH
<b>Dicotiledóneas:</b>											
<i>Brassica oleracea</i>	2	6	456	136	5	0	23	142	196	25	29
<i>Calluna vulgaris</i>	13	63	160	636	458	14	363	167	14	260	298
<i>Fagus sylvatica</i>	18	361	13	3	3	0	191	89	7	3	39
<i>Lotus corniculatus</i> cv. <i>Goldie</i>	14	38	38	34	33	0	13	2154	0	905	1015
<i>Lotus pedunculatus</i> cv. <i>Maku</i>	15	151	212	55	37	1	28	2463	0	1327	1285
<i>Picea sitchensis</i>	2	3	8	4	2	0	85	18	2065	14	20
<i>Pinus sylvestris</i>	13	28	21	1	10	4	81	58	1853	13	114
<i>Trifolium glomeratum</i>	11	35	313	267	36	0	48	124	0	73	1199
<i>Trifolium repens</i>	9	35	108	124	15	4	18	143	0	61	1297
<i>Trifolium subterraneum</i>	4	16	250	74	10	-	193	408	0	281	4709
<i>Trifolium striatum</i>	10	48	990	68	8	0	37	214	0	444	1259
<b>Monocotiledóneas:</b>											
<i>Austrodanthonia racemosa</i>	8	17	73	613	625	13	45	66	-	126	455
<i>Austrodanthonia richardsonii</i>	19	26	58	90	11	0	66	435	0	171	131
<i>Bothriochloa macra</i>	22	132	65	111	34	4	61	44	-	285	221
<i>Bromus catharticus</i>	6	15	116	60	34	4	13	85	17	4052	84
<i>Chloris gayana</i>	12	89	180	243	137	32	64	56	-	187	149
<i>Cynodon dactylon</i>	0	11	30	66	91	58	31	25	-	-	0
<i>Digitaria dactyla</i>	5	24	55	96	126	42	88	76	-	-	0
<i>Festuca arundinacea</i>	24	42	129	216	59	2	27	639	10	101	58
<i>Lolium perenne</i>	10	33	77	103	84	11	104	2628	10	446	627
<i>Microlaena stipoides</i>	5	12	70	216	156	8	11	17	-	35	1660
<i>Paspalum dilatatum</i>	0	8	12	56	36	13	41	15	-	-	20
<i>Paspalum notatum</i>	0	0	5	35	168	308	31	9	-	-	0
<i>Pennisetum clandestinum</i>	0	7	12	79	195	204	30	9	-	-	0
<i>Phalaris aquatica</i>	27	17	21	16	7	2	19	3726	23	45	472
<i>Setaria anceps</i>	32	82	62	74	25	5	28	20	-	-	24
<i>Themeda triandra</i>	7	20	59	278	255	41	26	33	-	15	69
<i>Vulpia myuros</i>	28	41	179	184	37	3	80	901	13	42	65

**Adaptado de: Dove e Mayes, 2005.**

As vantagens permitidas pela técnica dos n-alcenos são: pode ser aplicada a animais que sejam suplementados, a estimativa da ingestão é obtida de uma forma individual em grupos de animais explorados em extensivo, a sua análise cromatográfica permite que os marcadores internos e externos sejam analisados ao mesmo tempo, o que diminui os erros analíticos e tendenciosos (Dove e Mayes, 2000) e possibilita a estimativa

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

da ingestão dos vários componentes da dieta (Dove e Mayes, 2003). Uma limitação do uso de n-alcenos como marcadores para estimar a composição de dietas é o facto de alguns alcanos apresentarem baixas concentrações (Mayes e Dove, 2000).

Os alcanos, embora não sejam os componentes presentes em maior concentração nas ceras cuticulares das plantas, têm sido muito utilizados em estudos taxonómicos e ensaios de ingestão e digestibilidade, por estarem bem distribuídos nas ceras cuticulares e por serem de fácil análise e identificação (Dove e Mayes, 1991).

Gannon (1996) demonstrou que o uso dos alcanos como marcadores realizou estimativas de ingestão fiáveis para porcos (Dove e Mayes, 2000).

A concentração de n-alcenos na dieta tradicional de porcos Alentejanos é relativamente baixa, devido principalmente à baixa concentração de n-alcenos na bolota em relação às concentrações existentes na pastagem (Ribeiro *et al.*, 2007). Ribeiro *et al.* (2007) constatou também, que na bolota as concentrações mais elevadas de n-alcenos encontram-se na casca, o que é explicado pela existência de uma camada cerosa na sua superfície. Nas tabelas seguintes encontram-se as concentrações médias dos diferentes n-alcenos em bolota em ensaios realizados para porcos Alentejanos.

**Tabela 6.12 - Concentração média dos n-alcenos constituintes da erva e bolota (mg/kg<sup>-1</sup> MS).**

Alimentos	Concentração de n-Alcanos (mg/kgMS)									
	C <sub>25</sub>	C <sub>27</sub>	C <sub>28</sub>	C <sub>29</sub>	C <sub>30</sub>	C <sub>31</sub>	C <sub>32</sub>	C <sub>33</sub>	C <sub>35</sub>	C <sub>36</sub>
Bolota Inteira	9,5	31,9	9,4	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	5,4	5,5	4,5	4,7	3,1	1,9	1,2	0,7	0,2	0,6
<i>Erva</i>	15,5	37,8	9,9	176,7	13,0	231,1	9,3	39,6	1,8	7,6

Fonte: Ribeiro *et al.*, 2007.

Tabela 6.13 - Composição da bolota em n-alcenos (mg/kg MS).

Bolota	C25	C27	C28	C29	C30	C31	C32	C33	C35	C36
Bolota inteira	17,47	46,54	16,85	80,90	8,65	9,03	5,25	5,14	0,00	3,48
Miolo de bolota	12,35	14,96	11,79	18,68	7,19	5,97	5,42	4,61	0,00	3,50
Casca de bolota	29,66	162,64	36,34	366,63	9,34	16,64	3,12	4,35	0,00	0,00

Fonte: Melo e Castro, 2009.

Os álcoois de cadeia longa (LCOH) são também constituintes das ceras cuticulares das plantas, como os n-alcenos, e ao contrário destes são maioritariamente de cadeia carbonada par (entre 32 a 64 átomos de carbono). Têm sido utilizados e validados na estimativa da composição da dieta. Estes compostos são considerados bons marcadores para determinar a composição da dieta devido à sua grande variedade em diferentes plantas e à sua elevada recuperação fecal. Utilizados em conjunto com os n-alcenos, estes compostos podem alargar o leque de componentes identificados numa dieta (Oliván e Osoro, 1997).

A discriminação da proporção das espécies de plantas correctamente classificadas dentro das categorias definidas teve mais sucesso quando se usou os n-alcenos e álcoois de cadeia longa juntos, em comparação com a utilização dos n-alcenos sem o uso dos álcoois de cadeia longa. Os resultados indicaram que os álcoois de cadeia longa providenciam informação adicional que pode ser utilizada para distinguir espécies de plantas, como parte da estimativa da composição das espécies das dietas de herbívoros (Bugalho *et al.*, 2004).

Os ácidos gordos de cadeia longa foram propostos por Grace e Body em 1981 como potenciais marcadores fecais.

Num estudo realizado por Ali *et al.* (2005) foi demonstrado que os álcoois de cadeia longa tiveram os melhores resultados para estimar a composição de dietas complexas; a pior estimativa foi a dos ácidos gordos de cadeia longa e a dos alcenos foi intermédia em relação aos outros dois tipos de marcadores.

### **6.2.3.2 – Recuperação fecal**

Os n-alcenos não são totalmente inertes no tracto digestivo dos animais e portanto a utilização da sua técnica conduz à subestimativa da digestibilidade, devido à incompleta recuperação fecal do marcador (< 100%) (Oliveira e Prates, 2000).

A produção e a recuperação fecais do marcador são expressas pelas equações 6.4 e 6.5, respectivamente:

$$EF = (Q_j / C_j)$$

**Equação 6.4**

#### **Legenda:**

EF – Excreção fecal em kg MS/dia.

Q<sub>j</sub> – Quantidade do indicador administrado em mg/dia.

C<sub>j</sub> – Concentração do indicador nas fezes em mg/kg MS.

$$RF = (Q_i / Q_j) * 100$$

**Equação 6.5**

#### **Legenda:**

RF – Recuperação fecal (%).

Q<sub>i</sub> – Quantidade excretada do marcador i nas fezes (mg).

Q<sub>j</sub> – Quantidade ingerida do marcador i (mg).

Para minimizar os erros associados com a incompleta recuperação fecal utiliza-se um n-alceno sintético (com número par de átomos de carbono) que é administrado oralmente, por cápsulas de gelatina, *pellets* de papel, bolinhos, etc.

Deste modo, obter-se-á uma equação mais complexa e precisa para estimar a ingestão:

$$I = D_j / [(F_j / F_i) \times (H_i - H_j)]$$

**Equação 6.6**

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

### Legenda:

I – Ingestão em kg MS/dia.

F<sub>j</sub> – Concentração fecal do n-alcano sintético (mg/kg MS).

F<sub>i</sub> – Concentração fecal do n-alcano natural (mg/kg MS).

D<sub>j</sub> – Dose diária administrada do n-alcano sintético (mg).

H<sub>i</sub> – Concentração do n-alcano natural da dieta (mg/kg MS).

H<sub>j</sub> – Concentração do n-alcano sintético na dieta (mg/kg MS).

Desta forma, o n-alcano natural funcionará como marcador interno para estimar a digestibilidade e o n-alcano sintético doseado serve como marcador externo para avaliar a produção fecal. Se a recuperação fecal do n-alcano natural e a do n-alcano sintético forem iguais, os erros associados com a recuperação fecal incompleta reduzem-se (Dove e Mayes, 2005). A estimativa da ingestão usando n-alcenos de comprimento de cadeia idênticos é mais exacta, porque as recuperações fecais dos n-alcenos tendem a ser semelhantes e portanto a estimativa da ingestão será mais correcta (Dove e Mayes, 2005).

Embora o alceno de cadeia par seja fornecido artificialmente, também poderá estar presente na dieta e as suas concentrações deverão ser conhecidas para que as estimativas obtidas possam ser corrigidas (Mendes, 2005).

A recuperação fecal dos alcanos sintéticos é normalmente mais elevada, não só porque é mais fácil saber a quantidade exacta administrada aos animais quando o n-alceno é doseado artificialmente, mas também pelo facto destes marcadores externos estarem associados à componente líquida da dieta, apresentando uma passagem mais rápida pelo tubo digestivo e por isso são absorvidos em menor quantidade e apresentam maior recuperação fecal (Dove e Mayes, 1991). O contrário se passa com alcanos naturais, que se encontram normalmente associados à componente sólida da dieta.

Mayes e Lamb (1984) concluíram que houve um progressivo aumento na recuperação fecal conforme o aumento do comprimento de cadeia carbonada dos n-alcenos (Oliveira e Prates, 2000) em estudos com ruminantes. A recuperação fecal de n-alcenos em monogástricos, como os cavalos e os porcos, parece não depender do tamanho da cadeia, sendo semelhante para os vários alcanos utilizados (Dove e Mayes, 1996).



## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

Na tabela 6.14 apresentam-se as recuperações fecais dos diferentes n-alcenos determinadas num estudo com suínos da raça Alentejana.

**Tabela 6.14 - Percentagens médias de recuperação fecal dos n-alcenos de cadeia ímpar e de cadeia par (%).**

n-Alcano	C <sub>25</sub>	C <sub>27</sub>	C <sub>29</sub>	C <sub>31</sub>	C <sub>32</sub>	C <sub>33</sub>	C <sub>36</sub>	EPM
Recup. Fecal (%)	13,10 <sup>a</sup>	75,06 <sup>bc</sup>	133,91 <sup>c</sup>	91,45 <sup>bd</sup>	106,77 <sup>bc</sup>	56,81 <sup>z</sup>	109,95 <sup>cd</sup>	10,7

a-c Médias com letras diferentes correspondem a diferenças estatisticamente significativas (P<0,05)

Fonte: Ribeiro *et al.*, 2007.

É necessário que os n-alcenos sintéticos sejam doseados uma ou mais vezes por dia. A quantidade diária de alceno sintético deverá ser doseada de acordo com a concentração fecal que se pretende obter com esse marcador, ou seja, de acordo com a ingestão prevista para os animais em estudo. Assim, a concentração obtida nas fezes para o alceno sintético não deverá ser significativamente diferente da obtida para o alceno natural, desta forma, os erros que poderão surgir na análise cromatográfica serão minimizados (Oliván e Osoro, 1997).

Antes de estimar a dose diária é importante conhecer os níveis dos alcenos internos na dieta, visto que, quanto mais elevado for o nível de alceno interno ingerido no alimento relativamente ao alceno externo ingerido em doses maior será o erro na estimativa da ingestão (Oliván *et al.*, 1999).

Em suma, a obtenção de estimativas de ingestão fiáveis, utilizando as concentrações fecais de n-alcenos na dieta depende de vários factores, como:

→ *A concentração do n-alceno natural na dieta:* a dieta fornecida deverá ter uma concentração mínima do marcador interno, para que este possa ser quantificado com precisão suficiente. A quantidade mínima necessária do marcador dependerá, entre outros factores da precisão das técnicas utilizadas em laboratório para a determinação da concentração do n-alceno e da exactidão da estimativa da ingestão (Oliván e Osoro, 1997);

→ *Obtenção de uma amostra representativa da dieta:* as amostras de alimento recolhidas para análise deverão ser coincidentes, no que diz respeito ao conteúdo de n-

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

alcanos, com o alimento distribuído aos animais presentes no ensaio; só assim será possível fazer uma estimativa correcta da quantidade ingerida pelos animais (Dove e Mayes, 1991);

→ *Conhecimento preciso da quantidade de n-alcano sintético administrado aos animais*: embora este alcano seja doseado, poderá também estar presente na dieta e/ou na composição dos “ingredientes” utilizados na mistura utilizada para fornecer o n-alcano aos animais. Será necessário conhecer a concentração total do n-alcano consumida pelo animal (Dove e Mayes, 1991);

→ *Doseamento dos n-alcenos sintéticos e obtenção de uma amostra representativa de fezes*: a variação na concentração fecal dos n-alcenos poderá trazer alguns problemas na estimativa da ingestão devido à obtenção de amostras com baixas concentrações do marcador. Poderá ser necessário, em alguns casos fornecer os n-alcenos duas vezes por dia, para que as variações nas concentrações fecais dos marcadores sejam diminuídas (Dove e Mayes, 1991);

→ *Escolha de um par de alcanos adjacentes com recuperações fecais semelhantes*: quanto maior e mais próxima for a recuperação fecal do par de n-alcenos escolhidos como marcadores, mais precisa será a estimativa da ingestão conseguida (Dove e Mayes, 1991);

→ *Preparação, amostras e extracção dos n-alcenos*: os métodos utilizados na preparação de amostras poderão comprometer o conteúdo e a análise da concentração dos n-alcenos. Por exemplo, normalmente são utilizados amostras liofilizadas, uma vez que ao secar as amostras em estufas a temperaturas superiores a 75-80°C, pode haver alteração de alguns dos componentes causando uma maior dificuldade na extracção dos n-alcenos e consequentemente, um erro na determinação da concentração dos mesmos (Dove e Mayes, 1991).

A técnica de extracção e doseamento de alcanos em fezes e alimentos foi proposta por Mayes *et al.* (1986) e desde então tem sofrido algumas modificações com o intuito de aumentar a precisão e diminuir o trabalho complexo envolvido neste processo (Ribeiro, 2005).

## **7 - Procedimento experimental**

### **7.1 - Material e métodos**

#### **7.1.1 - Ensaio *in vivo***

##### **7.1.1.1 – Animais e alojamento**

Durante uma semana 17 porcos Alentejanos (machos e castrados) da herdade da Mitra, estiveram em “quartelhas” individuais, equipadas com “chupetas” para fornecimento de água *ad libitum*, sendo alimentados duas vezes por dia (manhã e tarde) com luzerna desidratada e aveia, de modo a se habituarem ao primeiro alimento.

Os animais foram pesados à entrada e saída das “quartelhas”. No final da semana escolheram-se nove porcos (com peso vivo médio de  $97,64 \text{ kg} \pm 12,30$ ), de acordo com o seu comportamento e facilidade de adaptação à luzerna. Os animais foram alojados em duas salas de ensaio no ovil da herdade da Mitra e colocados, individualmente, em caixas metabólicas, previamente montadas, para que se desse início ao ensaio propriamente dito. As caixas metabólicas estavam equipadas com comedouros e “chupetas” que tinham acesso à água, para que os animais tivessem disponível água *ad libitum* ao longo de todo o ensaio.

No final do 1º período e do ensaio os animais foram novamente pesados.

UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---



**Figura 7.1 – Animais alojados nas “quartelhas”.**



**Figura 7.2 – Animais alojados nas caixas metabólicas.**

### **7.1.1.2 - Alimentos**

Os animais foram alimentados com bolota e lande que foi apanhada entre os meses de Novembro e Dezembro de sobreiros e azinheiras da herdade da Mitra e com luzerna desidratada comercial.

O alimento foi distribuído três vezes por dia, nomeadamente: às 8:30, à 13:00 e à 17:30 horas, para que a alimentação fosse o mais contínua possível e portanto se aproximasse daquela verificada em Montanha. Os suínos foram sujeitos a três regimes alimentares diferentes, correspondentes a três tratamentos diferentes. O tratamento 1 correspondeu a 5 kg de bolota no primeiro período, no entanto, nos seguintes alterou-se para 4 kg, no sentido de se ajustar a distribuição de bolota ao consumo observado e em simultâneo de se economizar bolota. No segundo tratamento os animais ingeriram 4 kg de bolota e 200g de luzerna e no terceiro a alimentação ministrada foi de 4 kg de bolota e 400g de luzerna.

A quantidade de bolota administrada foi o mais próximo possível daquilo que é ingerido quando os animais estão em Montanha.

A quantidade de alimento refugada pelos animais foi recolhida entre as refeições e contabilizada no final de cada dia de colheitas.

### **7.1.1.3 - Delineamento experimental**

O ensaio experimental realizou-se segundo o quadrado latino, ou seja, formou-se três grupos de três animais cada, onde cada grupo recebia diferentes tratamentos (T1, T2 e T3). A existência de períodos neste ensaio permitiu a mudança de tratamento nos grupos quando se mudou de período, assim todos os animais receberam todas as dietas ao longo de todo o ensaio.

#### **7.1.1.4 - Esquema do ensaio *in vivo***

O ensaio *in vivo* foi composto por três períodos, em que o primeiro período foi o mais longo (no sentido dos animais terem mais tempo para se adaptarem às caixas metabólicas), tendo de duração 15 dias; o segundo 12 dias e o último 10 dias. Entre o primeiro e o segundo período os animais tiveram um intervalo de tempo nas “quartelhas” para descansarem fora das caixas metabólicas. Em cada período, os primeiros dias tiveram como objectivo a adaptação dos animais à dieta e os últimos cinco para as recolhas de fezes totais e urinas. Para monitorização do consumo de alimento, os refugos foram colhidos um dia antes das colheitas de fezes totais e urinas e os alimentos um dia antes da recolha de refugos, de modo que os refugos correspondessem ao alimento do dia anterior e a excreção fecal da respectiva alimentação (dois dias atrás), dado que, é considerado que os alimentos têm duração de 48 horas de passagem no tracto gastrointestinal dos animais.

Nos dois primeiros dias, do primeiro e segundo períodos, foram distribuídos bolos sem alcanos aos suínos, para que se habituassem a ingeri-los e não os rejeitassem. Nos restantes dias todos os animais receberam, imediatamente antes da primeira e da última refeição do dia (manhã e tarde), dois bolinhos comerciais contendo cada um, aproximadamente, 50 mg/ml de C<sub>32</sub> e 50 mg/ml de C<sub>36</sub>. O esquema do ensaio apresenta-se na figura 7.3.

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

**1º Período**

**Adaptação** - do dia 1 ao dia 10

**Período experimental** - do dia 10 ao dia 15

Animais		
1	T1	5 kg bolota
2		
3		
4	T2	4 kg bolota + 200g luzerna
5		
6		
7	T3	4 kg bolota + 400g luzerna
8		
9		

Mais 2 doses de alcanos/dia  
C<sub>32</sub> e C<sub>36</sub>  
(do dia 3 ao dia 14)

**2º Período**

**Adaptação** - do dia 1 ao dia 7

**Período experimental** - do dia 8 ao dia 12

Animais		
1	T1	4 kg bolota
2		
3		
4	T2	4 kg bolota + 200g luzerna
5		
6		
7	T3	4 kg bolota + 400g luzerna
8		
9		

Mais 2 doses de alcanos/dia  
C<sub>32</sub> e C<sub>36</sub>  
(do dia 3 ao dia 12)

**3º Período**

**Adaptação** - do dia 1 ao dia 5

**Período experimental** - do dia 6 ao dia 10

Animais		
1	T1	4 kg bolota
2		
3		
4	T2	4 kg bolota + 200g luzerna
5		
6		
7	T3	4 kg bolota + 400g luzerna
8		
9		

Mais 2 doses de alcanos/dia  
C<sub>32</sub> e C<sub>36</sub>  
(do dia 1 ao dia 10)

**Figura 7.3 – Esquema do ensaio *in vivo*.**



### **7.1.1.5 – Colheitas de amostras do ensaio *in vivo***

Durante todo o período em que decorreu o ensaio, as caixas metabólicas e os baldes de urina foram limpos todos os dias de manhã depois da primeira refeição. No dia anterior às colheitas de cada período realizou-se uma limpeza geral às caixas metabólicas para que, no dia seguinte se iniciasse as colheitas totais de fezes. Nos dias de recolhas, de cada período, foi dispensado para os colectores de urina 40 ml por dia de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 53% para se proceder, às recolhas de amostras de urina para se efectuar o balanço de azoto<sup>1</sup> de cada animal ao longo do ensaio.

No período experimental (últimos 5 dias) foram anotados os pesos dos respectivos alimentos fornecidos e no dia seguinte o peso total dos refugos correspondentes ao alimento do dia anterior. Do peso total dos refugos foram retiradas duas amostras de 10% do peso total: uma para posterior análise laboratorial (refugos A) e uma para cálculo da percentagem de luzema e bolota no refugo de cada animal (refugos B). Para as recolhas de fezes totais foi pesada a produção total de fezes diária e retirou-se 10% dessa produção como amostra representativa para posterior análise no laboratório.

Antes da distribuição dos alimentos aos porcos retirou-se o refugo da refeição anterior para o balde do respectivo animal. Antes das refeições da manhã (8:30) e da tarde (17:30) foi administrado um bolinho a cada animal. Todos os dias de manhã foram pesados os refugos totais do dia anterior. Todos os registos de pesagens relativos às colheitas de amostras foram anotados e os sacos, tabuleiros e baldes foram previamente tarados e registados também.

Foram realizadas recolhas de fezes durante a fase de adaptação dos períodos e três vezes por dia, para se determinar o perfil de excreção dos n-alcenos. No período de colheitas houve um sub-período de três dias em que se realizaram colheitas de fezes de 2,5 em 2,5 horas (5 recolhas por dia, aproximadamente), para se determinar a variação diurna da concentração fecal dos n-alcenos<sup>2</sup>.

---

<sup>1</sup> Todas as referências às colheitas de urina e aos balanços de azoto não fazem parte do âmbito deste trabalho, no entanto, as colheitas foram efectuadas para realização de outra tese de Mestrado.

<sup>2</sup> O objectivo para o qual se recolheram estas amostras de fezes não é determinado nesta tese, mas será objecto de estudo em futuros trabalhos.



### 7.1.2 - Preparação dos bolos com alcanos

Para administrar os alcanos sintéticos, diariamente, aos animais foi necessário preparar os bolos com alcanos antes do ensaio *in vivo* se iniciar. Para tal, procedeu-se a uma mistura com n-heptano e os alcanos sintéticos C<sub>32</sub> e C<sub>36</sub>, no sentido de veicular 50 mg C<sub>32</sub>/ml e 50 mg C<sub>36</sub> /ml de solução preparada de heptano. A solução foi mantida quente a banho-maria para que não ocorresse precipitação, furou-se o centro de cada bolo e foi dispensado 1 ml de solução, com uma pipeta automática previamente amornada, no orifício de cada bolo com papel. Finalmente, os bolos foram secos numa estufa a 100°C durante uma hora, para que o heptano evaporasse, para que o C<sub>32</sub> e o C<sub>36</sub> se impregnassem nos queques e para evitar qualquer perda de alcanos.

Os bolinhos foram armazenados em sacos de papel em doses diárias (18 bolos por saco) para se administrar aos animais posteriormente.

Com o objectivo de se conhecer de uma forma precisa a quantidade de alcanos sintéticos, foram retirados doze queques (no 1º e 2º períodos) e seis queques (3º período) como amostras para doseamento do C<sub>32</sub> e do C<sub>36</sub>.



**Figura 7.4 - Bolos preparados.**

### **7.1.3 - Preparação de amostras**

Todas as amostras foram armazenadas, à medida que se colheram, numa arca congeladora a -20°C. As amostras de bolota foram descongeladas e contou-se o número existente em cada recolha diária: metade foi cortada ao meio para ser analisada como bolota inteira e a outra metade foi separada em miolo e casca, para que fossem analisados os diferentes componentes da bolota separadamente. Pesou-se e só depois deste processo é que as amostras foram liofilizadas. As amostras de fezes foram também liofilizadas e as amostras de refugos foram secas numa estufa com ventilação a 65°C durante aproximadamente, dois dias. Após a secagem/liofilização todas as amostras foram moídas num moinho “Cyclotec™ 1093” com crivo de 1 mm do laboratório de Nutrição Animal. Depois de liofilizadas e moídas foram realizadas amostras compósitas dos alimentos, nas quais foram efectuadas todas as determinações laboratoriais.

Para as colheitas de fezes totais e refugos A (fracção de refugos que se destinou à análise laboratorial), misturou-se os cinco dias de recolhas para que se obtivesse uma amostra compósita por animal, na qual foram realizadas todas as análises laboratoriais. Para as amostras individuais de fezes totais e refugos A foi apenas elaborada a análise química relativa à matéria seca (MS), para que fosse possível calcular a quantidade diária de fezes e refugos reportada à matéria seca.

Os refugos B foram separados em casca e luzerna, de modo a que se procedesse ao cálculo da quantidade refugada, por parte dos animais, de luzerna e bolota individualmente.

## **7.2 - Análise laboratorial**

Foram efectuadas análises laboratoriais aos seguintes parâmetros: matéria seca, cinzas totais, proteína bruta, fibras (NDF, ADF e ADL), alcanos e álcoois de cadeia longa. A matéria seca e as cinzas foram determinadas para todas as amostras compósitas (fezes totais, refugo A e alimento) e para as amostras individuais de fezes e refugos A. As análises laboratoriais referentes à proteína bruta, à fracção NDF das fibras, aos alcanos e aos álcoois de cadeia longa foram determinadas para todas as amostras compósitas (fezes, refugos A e

alimento). As frações ADF e ADL das fibras só foram determinadas para as amostras compósitas de alimento.

### 7.2.1 – Determinação de matéria seca e cinzas totais

Para se determinar a matéria seca (MS) pesou-se 3 g de amostra para um cadinho de alumínio, previamente tarado, anotou-se e deixou-se na estufa a 100°C durante, aproximadamente 24 horas. No dia seguinte pesou-se novamente o cadinho e calculou-se o valor de matéria seca residual a partir da fórmula:

$$MS (\%) = [((\text{Peso do cadinho} + \text{amostra em seco}) - (\text{Tara do cadinho})) / (\text{Peso da amostra em verde})] * 100$$

Para se calcular o valor de cinzas totais usaram-se os cadinhos que resultaram da determinação da matéria seca e colocaram-se num queimador durante alguns minutos.

De seguida, os cadinhos foram incinerados numa mufla a 550°C durante 3 horas e quando arrefeceram foram pesados. Para se determinar o valor de cinzas totais utilizou-se a seguinte fórmula:

$$CT (\%) = [((\text{Peso do cadinho} + \text{amostra incinerada}) - (\text{Tara do cadinho})) / (\text{Peso da amostra seca})] * 100$$

### 7.2.2 - Determinação de azoto total e proteína total

O teor de azoto nas amostras foi determinado pelo método de combustão (990.03 – AOAC, 1990), num sistema da LECO (FP 528), sendo o teor de proteína bruta, o resultado da percentagem de azoto total (% NT) existente nas amostras, multiplicado pelo factor de conversão 6,25 (considerando que a proteína tem 16% de azoto).

### **7.2.3 - Determinação de fibras insolúveis - NDF, ADF e ADL**

A determinação de fibras, nomeadamente NDF (fibra insolúvel em detergente neutro), ADF (fibra insolúvel em detergente ácido) e ADL (lenhina em detergente ácido) foram realizadas segundo o método desenvolvido por Goering e Van Soest (1970) modificado por Van Soest e Robertson (1980). As análises das fracções ADF e ADL só foram realizadas para as amostras de alimento.

### **7.2.4 – Doseamento de n-alcenos nos bolos**

O doseamento de alcanos nos queques foi realizado para conhecer de forma precisa a quantidade de alcanos externos doseada em cada bolinho aos animais.

Queques inteiros congelados de peso conhecido foram descongelados e moídos individualmente numa picadora e determinou-se a matéria seca residual de cada um.

Pesou-se de forma precisa um tubo previamente identificado com tampa de rosca com revestimento em PTFE (para o solvente não evaporar, dado que o heptano é muito volátil), introduziu-se cerca de 4 g de amostra no tubo, fechou-se e pesou-se novamente. Adicionou-se 20 ml de heptano, fechou-se o tubo e introduziu-se num banho de ultra-sons a cerca de 60°C durante 60 minutos. Após este tempo retirou-se o tubo do banho, agitou-se e pesou-se de novo.

Retirou-se uma alíquota de 0,5 ml da solução de heptano, introduziu-se num vial de 4 ml com tampa previamente identificado e pesado e pesou-se. Adicionou-se 1,2 ml de uma solução padrão interno (C<sub>34</sub> em heptano) ao vial, fechou-se e pesou-se novamente. Após agitação do vial, retirou-se um alíquota de 0,4 ml para um vial de GC, evaporou-se no concentrador de amostras e diluiu-se em 0,4 ml de dodecano.

### 7.2.5 - Método de extracção de n-alcenos e álcoois de cadeia longa

As amostras de alimento, refugos e fezes foram submetidas a extracção de alcanos e álcoois de cadeia longa, de acordo como método proposto por Dove e Mayes (2006). O método consiste numa saponificação das amostras seguida de uma extracção líquido/líquido e purificação utilizando colunas de sílica gel. Os álcoois de cadeia longa foram obtidos na sequência da extracção dos alcanos, através de uma purificação utilizando colunas de aminopropyl. De seguida é descrito todo o processo de extracção de n-alcenos e álcoois de cadeia longa.

Pesou-se de amostra 0,4 g para miolo e bolota inteira e 0,2 g para casca, luzerna, fezes e refugos em tubos de vidro com tampa de rosca revestida em PTFE. Adicionou-se a cada tubo padrão interno: 0,11 g C<sub>22</sub> em C<sub>34</sub> em decano para os alcanos e 0,15 g C<sub>27</sub> ol em heptano/etanol para os álcoois de cadeia longa.

Adicionaram-se 2 ml de KOH etanólico (de concentração 1 M) para todas as amostras e colocou-se no bloco de aquecimento (Selecta P<sup>®</sup>, Multiplaces) a 90°C durante uma noite para que ocorresse a saponificação. No dia seguinte arrefeceram-se os tubos a 50-60°C e adicionaram-se 2 ml de n-heptano, fecharam-se, agitaram-se suavemente e colocaram-se novamente no bloco. Adicionou-se 0,6 ml de água destilada, fecharam-se os tubos, agitaram-se vigorosamente num agitador (IKA<sup>®</sup>, MS2 Minishaker) e colocaram-se de novo no bloco de aquecimento a 50-60°C.

Após separação em duas fases, transferiu-se a fase orgânica (não aquosa) para um vial de 4 ml (V<sub>1</sub>) com uma pipeta de Pasteur de plástico. De seguida adicionaram-se 2 ml de heptano, fecharam-se os tubos, agitaram-se e colocaram-se no bloco. Repetiu-se a extracção da fase orgânica para o vial V<sub>1</sub> e colocaram-se os viais (V<sub>1</sub>) no bloco de aquecimento a 60°C com um concentrador de amostras (Techne<sup>T</sup>, Sample concentrator) ligado a um compressor de ar, para evaporação até secagem completa dos V<sub>1</sub>. Redissolveram-se os extractos (V<sub>1</sub>) em 0,3 ml de n-heptano, fecharam-se os viais e aqueceram-se a 60°C, rolando até dissolução completa dos extractos presos às paredes. Prepararam-se as colunas de polietileno com enchimento de sílica gel (volume residual = 1ml), usando cerca de 1,7 ml de mistura (suspensão de sílica gel em heptano). As colunas

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

foram colocadas numa unidade de extracção com vácuo e debaixo de cada coluna foi colocado um novo vial ( $V_2$ ). Adicionaram-se os extractos dos  $V_1$  ao topo da coluna utilizando pipetas de Pasteur. Foram adicionados 2 x 1 ml de n-heptano aos  $V_1$ , tendo o cuidado de os manter quentes ( $60^\circ\text{C}$ ) e transferiram-se por duas vezes para a coluna de sílica gel. Adicionou-se 0,5 ml de heptano directamente no topo da coluna e colocaram-se os  $V_2$  no concentrador de amostras a  $60^\circ\text{C}$  para evaporação total do solvente.

Para análise em GC – cromatografia gasosa – redissolveram-se os extractos em  $V_2$  em 300  $\mu\text{l}$  (para amostras de miolo adicionaram-se 100  $\mu\text{l}$ ), de dodecano, fecharam-se os viais ( $V_2$ ), rolaram-se e aqueceram-se a  $60^\circ\text{C}$  para dissolução completa dos extractos presos às paredes. Finalmente transferiu-se o conteúdo dos  $V_2$  para viais de GC (para amostras de miolo de bolota, transferiu-se para *inserts* de 100  $\mu\text{l}$  em viais de GC), para posterior análise no cromatógrafo.

A substituição do heptano pelo dodecano para a diluição final dos extractos a injectar no cromatógrafo é feita para maximizar a resolução dos picos dos alcanos nos cromatogramas, visto que o dodecano é menos volátil que o heptano (Dove e Mayes, 2003).

Para obtenção dos álcoois de cadeia longa utilizou-se um solvente de polaridade mais elevada (n-heptano:acetato de etilo 80:20), para tal colocaram-se debaixo de cada coluna de sílica gel (da anterior extracção de alcanos), viais de 4 ml ( $V_3$ ) e adicionaram-se ao topo da coluna 2 x 1,5 ml de n-heptano:acetato de etilo (80:20). Esperou-se que parasse de pingar entre as duas adições e removeu-se o solvente do  $V_3$  no concentrador de amostras a  $60^\circ\text{C}$  e ressuspendeu-se em 0,5 ml de n-heptano a quente.

Preparou-se as colunas de aminopropyl (pré-condicionamento) adicionando ao topo 1 ml de n-heptano. De seguida transferiram-se 50  $\mu\text{l}$  dos extractos dos viais  $V_3$  para o topo da coluna e adicionou-se 0,95 ml de heptano ao topo da coluna e ligou-se o vácuo, deixando o eluído correr para um vial de desperdício. Colocou-se um novo vial ( $V_4$ ) por baixo de cada coluna e adicionou-se 0,9 ml de heptano:acetato de etilo (95:5) e ligou-se o vácuo. Adicionou-se também, 0,9 ml de heptano:acetato de etilo (90:10) e ligou-se de novo o vácuo, recolhendo o eluído para o mesmo vial ( $V_4$ ). Colocaram-se os  $V_4$  no concentrador de amostras a  $60^\circ\text{C}$  até evaporação completa do solvente para posterior derivatização dos

álcoois.

Para derivatizar os álcoois redissolveu-se em 200 µl de heptano:etanol (50:50) os extractos dos vias  $V_4$  e transferiu-se para vias de GC. Após a evaporação total do solvente dos vias GC adicionaram-se 250 µl de solução de derivatização - BSTFA:TMCS:piridina:dodecano (9,9:0,1:40:50) e colocaram-se os vias num banho de areia a 90°C durante 45 minutos, de modo a formar-se TMS (trimetilsilil) para ser mais fácil a sua análise cromatográfica. A derivatização nos álcoois de cadeia longa é realizada porque estes compostos são polares, graças ao grupo hidroxilo (OH), e por isso os seus picos nos cromatogramas apareciam disformes devido a problemas de adsorção na coluna (Noronha). Este problema é resolvido derivatizando os álcoois antes da sua análise por GC. Ao derivatizar pretende-se substituir os átomos de hidrogénio activos por TMS (trimetilsilil).

### **7.2.6 – Análise de n-alcenos e álcoois de cadeia longa por cromatografia gasosa (GC)**

A cromatografia é um método de separação das diversas substâncias na base das suas diferenças de partição, absorção, reacção química reversível ou crivagem molecular com a fase estacionária. A separação dá-se porque os compostos passam através da chamada fase estacionária a velocidades diferentes, consoante as suas características moleculares ou iónicas.

Na cromatografia gasosa a fase móvel é um gás não reactivo e a estacionária consiste numa pequena quantidade de líquido absorvida pela superfície de partículas de um pó fino inserido no interior de uma serpentina tubular (coluna) instalada num forno. A amostra é injectada e dissolvida no fluxo de gás arrastador (hélio) imediatamente antes de entrar na coluna cromatográfica. A fase móvel deve ter como características: ser inerte, ou seja, não interagir nem com a amostra nem com a fase estacionária, deve apenas transportar a amostra através da coluna; deve ser pura (estar isenta de impurezas que possam contaminar a amostra e ser compatível com o detector). A fase estacionária deve ter características próximas das dos solutos a separar; ter selectividade, deve ser um bom

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

solvente diferencial dos componentes da amostra; deve ser quimicamente inerte relativamente à amostra; deve ter volatilidade baixa; ter estabilidade térmica; ser pouco viscosa e ser pura (Cerdeira, 2003).

À medida que as diferentes substâncias dissolvidas na fase móvel passam através da fase estacionária, algumas são atraídas pela fase estacionária e, por isso, deslocam-se mais lentamente. Outras são mais atraídas pela fase móvel e deslocam-se mais rapidamente. As substâncias podem ser separadas na base das suas diferentes solubilidades no líquido, permanecendo algumas na fase gasosa e das suas diferentes velocidades de deslocação e podem ser identificadas pela medição das velocidades a que se movem sob condições específicas. Um detector no final da coluna identifica os componentes à medida que emergem da coluna através de impulsos eléctricos proporcionais à quantidade de material separado. Os sinais do detector são transcritos por um registador que elabora um cromatograma e este toma a forma de uma série de picos que representam as concentrações dos vários componentes da amostra. O detector deve ter como características: ter resposta rápida e linear; ser altamente sensível; ter boa estabilidade durante grandes intervalos de tempo e responder a uma grande variedade de compostos (Morgan, 1996).

Esta técnica é muito poderosa, pois permite a separação e a análise de quantidades muito pequenas de substâncias.

A coluna capilar utilizada para a análise das amostras no cromatógrafo foi uma Rtx@ - 1 (restek 10140) com revestimento 100% dimetilpolisiloxano, com 30 m de comprimento, 0,53 mm de diâmetro interno e espessura de revestimento de 0,5 µm. O volume injectado de todas as amostras foi de 1 µl. A temperatura do injector foi de 280°C, o fluxo de hélio na coluna foi de 4 ml/min, a temperatura inicial do forno foi de 170°C durante 4 minutos, a primeira rampa 30°C/minuto até 215°C (1 minuto) e segunda rampa 6°C/minuto até 300°C (três minutos). A temperatura no detector foi de 340°C.

As colunas capilares têm as seguintes vantagens comparativamente às colunas de enchimento: têm maior eficiência, dado que têm maior comprimento; permitem a separação de misturas complexas; a análise de substâncias é mais rápida e permitem maior separação. As desvantagens são: capacidade de processamento de amostra inferior, a saturação ocorre mais rapidamente e a quantidade de amostra a analisar é menor.



## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

Foram injectados dois padrões externos em cada dez viais de amostras injectados, quer para os alcanos quer para os álcoois. Os padrões externos dos alcanos eram constituídos por uma mistura de treze alcanos ( $C_{22}$ ,  $C_{23}$ ,  $C_{25}$ ,  $C_{27}$ ,  $C_{28}$ ,  $C_{29}$ ,  $C_{30}$ ,  $C_{31}$ ,  $C_{32}$ ,  $C_{33}$ ,  $C_{34}$ ,  $C_{35}$  e  $C_{36}$ ) e os padrões externos dos álcoois de cadeia longa eram constituídos por uma mistura de seis álcoois ( $C_{22}OH$ ,  $C_{24}OH$ ,  $C_{26}OH$ ,  $C_{27}OH$ ,  $C_{28}OH$  e  $C_{30}OH$ ). A injeção dos padrões externos juntamente com as amostras tem como objectivo a identificação dos alcanos e dos álcoois pretendidos através do seu tempo de retenção. O uso de padrões externos serve também para calcular o factor de resposta de cada alcano ou álcool, no sentido de corrigir variações na resposta do detector, erros de fraccionamento (no caso dos alcanos) (Dove e Mayes, 2003).

Utilizaram-se também padrões internos (IS) que são pesados juntamente com a amostra antes da extracção de alcanos e álcoois (ver ponto 7.2.5) e servem para calcular as concentrações dos outros alcanos e álcoois que se encontram presentes nas amostras. O padrão interno deve ser um alcano ou álcool ausente ou praticamente inexistente no alimento e nas fezes. Quando se utilizam dois padrões internos, como  $C_{22}$  e o  $C_{34}$ , no caso dos alcanos, pode-se calcular o factor de fraccionamento (FF). O fraccionamento é um fenómeno indesejável que causa a sub-estimativa ou a sobre-estimativa das concentrações dos alcanos à medida que o tamanho da cadeia carbonada aumenta. O uso de dois IS's é por isso preferível, corrigindo erros associados ao fraccionamento. É considerado que o fraccionamento ocorre proporcionalmente ao aumento do tamanho da cadeia carbonada e que deve estar próximo da unidade (Dove e Mayes, 2003).

Na cromatografia gasosa os n-alcanos são identificados pelos seus tempos de retenção por comparação com os padrões externos e quantificados através da razão da área dos seus picos e do padrão interno, corrigidos pelo factor de resposta de cada alcano (Ribeiro, 2005).

## 8 – Equações utilizadas

### 8.1 - Equações utilizadas para determinar ingestão, digestibilidade e recuperação fecal

A produção fecal foi determinada com base no peso total de fezes em matéria seca durante os cinco dias do período experimental e a ingestão real calculada com base na diferença entre a quantidade de alimento distribuído e quantidade refugada de alimento, em matéria seca, durante os cinco dias do ensaio. Ao aplicar a equação 8.1.1 chegou-se ao valor da digestibilidade real para cada animal.

$$D = [(I - PF) / I] * 100$$

**Equação 8.1.1**

#### **Legenda:**

D - Digestibilidade real (%).

I - Ingestão (kg MS).

PF - Produção fecal (kg MS).

Para se saber quais os melhores n-alcenos a utilizar no cálculo na ingestão de acordo com a técnica dos alcanos, foi necessário determinar-se a recuperação fecal de cada um, e para tal, utilizou-se a equação 8.1.2:

$$RF = (Q_i / Q_j) * 100$$

**Equação 8.1.2**

#### **Legenda:**

RF – Recuperação fecal (%).

Q<sub>i</sub> – Quantidade excretada do marcador i nas fezes (mg).

Q<sub>j</sub> – Quantidade ingerida do marcador i (mg).

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

Para se calcular a digestibilidade segundo o método dos alcanos usou-se a seguinte equação (corrigida com a recuperação fecal do alcano considerado):

$$D = [1 - ((C_i / C_j) * (RF / 100))] * 100$$

**Equação 8.1.3**

### **Legenda:**

D – Digestibilidade (%).

C<sub>i</sub> – Concentração marcador na dieta (mg/kg MS).

C<sub>j</sub> – Concentração marcador fezes (mg/kg MS).

RF – Recuperação fecal (%).

Finalmente, a ingestão segundo a técnica dos alcanos pôde ser determinada usando a equação 8.1.4 para os pares de alcanos considerados (corrigida para as recuperações fecais do par de alcanos em questão):

$$I = D_j / [(F_j / F_i) * (RF_i / RF_j) * (H_i - H_j)]$$

**Equação 8.1.4**

### **Legenda:**

I – Ingestão em kg MS /dia.

F<sub>j</sub> – Concentração fecal do n-alcano sintético (mg/kg MS).

F<sub>i</sub> – Concentração fecal do n-alcano natural (mg/kg MS).

D<sub>j</sub> – Dose diária administrada do n-alcano sintético (mg).

H<sub>i</sub> – Concentração do n-alcano natural da dieta (mg/kg MS).

H<sub>j</sub> – Concentração do n-alcano sintético na dieta (mg/kg MS).

RF<sub>j</sub> – Recuperação fecal do alcano sintético (%).

RF<sub>i</sub> – Recuperação fecal do alcano natural (%).

## **8.2 - Equações utilizadas para o cálculo das concentrações dos n-alcenos e dos álcoois de cadeia longa**

Foi calculado o factor de resposta para cada alceno e álcool através desta fórmula:

$$FR = (\% \text{ Área alceno/álcool} * \text{ peso alceno/álcool padrão interno}) / (\text{ área alceno/álcool padrão interno} * \text{ peso alceno/álcool})$$

**Equação 8.2.1**

No caso dos alcanos foi também calculado o factor de fraccionamento. Para o C<sub>22</sub> (padrão interno) o factor de fraccionamento é calculado da seguinte forma:

$$FF C_{22} = ((\% \text{ Área } C_{22} \text{ na amostra}) / (FR C_{22})) / (100 * C_{22} : C_{34} \text{ no IS})$$

**Equação 8.2.2**

Para os outros alcanos (i = alceno i) o factor de fraccionamento foi determinado a partir da seguinte equação:

$$FF C_i = (i-22) * ((1 - FF C_{22}) / 12) + FF C_{22}$$

**Equação 8.2.3**

## 9 - Análise estatística

Para validar os objectivos propostos, foram realizadas análises de variâncias univariadas com vários factores (tratamento, período e porcos), no programa SPSS - versão 17.0, para averiguar o efeito do tratamento nas variáveis pretendidas (taxas de recuperação fecal, digestibilidade e ingestão). Comparou-se os resultados obtidos *in vivo* com as estimativas, quer para a ingestão quer para a digestibilidade. Foram também realizadas análises de variância univariadas para comparar as recuperações fecais entre si.

Quando se observou efeito do tratamento ou de existência de diferenças significativas dos resultados ( $p \leq 0,05$ ) foram efectuados testes de comparação de médias - Tukey e Scheffe - para se conhecer as diferenças existentes.

Foi também calculado a correlação, através do coeficiente de Pearson, existente entre a concentração ingerida de  $C_{31}$  e a sua recuperação fecal, realizou-se o mesmo para o  $C_{33}$ .

É de salientar que, para obter resultados fiáveis com estas análises de variância foi necessário validar os pressupostos da ANOVA (normalidade, independência e igualdade de variâncias). Para a determinação *in vivo* da ingestão não foi validado o pressuposto da normalidade, possivelmente porque houve diferenças na quantidade de bolota administrada aos animais do tratamento 1 (só bolota) no primeiro período - 5 kg - em relação aos outros períodos.

## 10 - Apresentação e discussão de resultados

### 10.1 - Animais

O peso médio dos animais quando iniciaram a adaptação à luzerna desidratada era de 98,98 kg  $\pm$  12,19.

A variação de peso dos animais ao longo do tempo é apresentada no gráfico 10.1, onde a 1ª e 2ª pesagens corresponderam às pesagens efectuadas à entrada e saída das “quartelhas” (habituação inicial à luzerna desidratada); a 3ª pesagem foi realizada no final do 1º período e a 4ª pesagem no final do 3º período (final do ensaio). As datas das referidas pesagens encontram-se na legenda do gráfico 10.1.

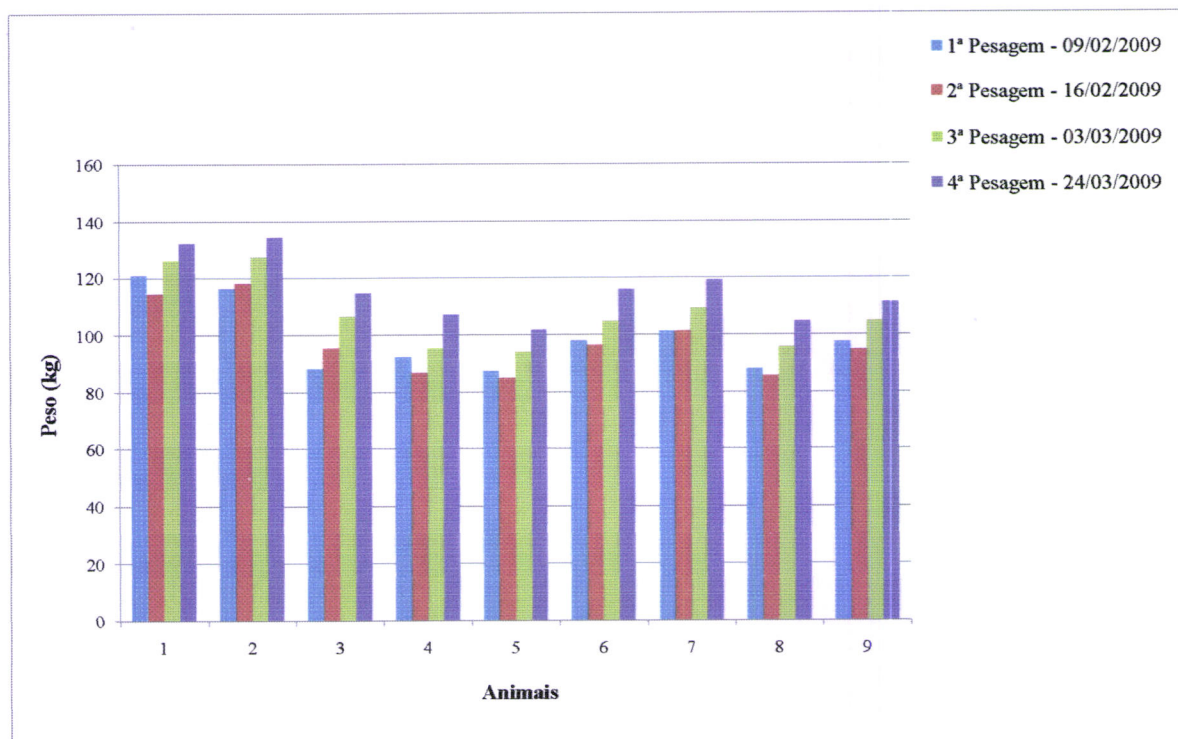
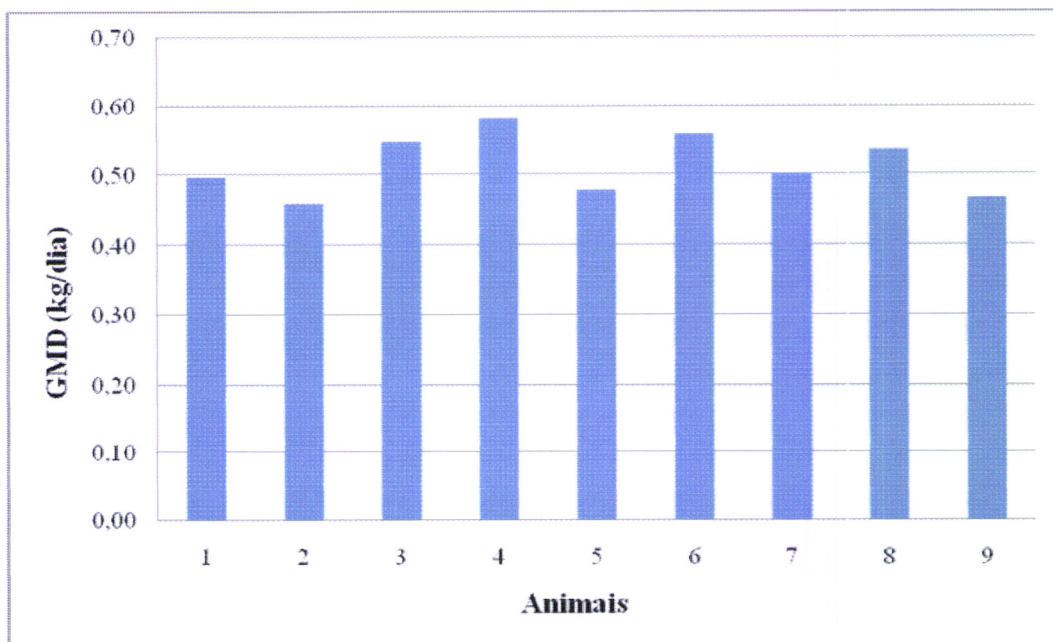


Gráfico 10.1 – Variação do peso vivo dos animais ao longo do tempo.

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

Pela observação do gráfico pode constatar-se que na segunda pesagem seis animais diminuíram de peso, o que é explicado pela diminuição da ingestão devido à mudança de dieta que os porcos sofreram quando estiveram em adaptação à luzerna desidratada nas “quartelhas”. Nas seguintes pesagens verificou-se o esperado: que todos os animais tiveram um progressivo aumento de peso devido à ingestão de bolota e lande ao longo do ensaio nas caixas metabólicas.

No gráfico 10.2 é observável o ganho médio diário de cada animal ao longo do período de tempo em que decorreu o ensaio *in vivo* (entre a 2<sup>a</sup> e a 4<sup>a</sup> pesagens).



**Gráfico 10.2 – Ganho médio diário dos animais durante o ensaio *in vivo*.**

Os suínos ganharam, em média, 515,24 g/dia  $\pm$  43,47 durante o ensaio *in vivo*. O ganho médio diário verificado é menor do que aquele observado quando os animais se encontram em Montanheira (650-1000g, Freitas *et al.*, 2004). Em Montanheira, os animais que apresentam mais de 90 kg de peso vivo consomem, aproximadamente, 9 kg/dia de bolota (Freitas, 2006), o que pode explicar os ganhos médios diários mais baixos do que aqueles verificados em situações normais de Montanheira. Uma vez que não foi realizada uma pesagem entre o 2<sup>o</sup> e o 3<sup>o</sup> período, não foi avaliada qualquer correlação entre o regime



## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

alimentar e os ganhos médios diários dos animais. O controlo de peso dos animais, além de outras observações, foi realizado com o objectivo de “vigiar” o seu estado de saúde ao longo do ensaio.

### **10.2 - Alimentos**

Apresenta-se de seguida, na tabela 10.1, a composição química dos alimentos (bolota e luzerna desidratada) administrados ao longo do ensaio:

**Tabela 10.1 - Composição química média dos alimentos administrados aos animais ao longo do ensaio *in vivo* (% MS).**

Amostra de alimento	% Matéria seca	% MS Cinzas totais	% MS Proteína total	% MS NDF	% MS ADF	% MS ADL
Bolota inteira	94,14	2,05	3,91	22,65	14,27	5,44
Miolo de bolota	93,82	2,21	4,46	5,93	2,72	0,59
Casca de bolota	94,82	1,50	2,97	71,02	52,97	22,36
Luzerna	93,44	12,66	9,92	45,34	34,27	7,16

Os teores de proteína na luzerna são elevados comparativamente com os da bolota, como era esperado, dado que a luzerna é uma leguminosa. Os teores de proteína da luzerna desidratada usada neste ensaio são, no entanto, mais baixos do que o esperado, que seria entre 15-20% de proteína (Andrieu *et al.*, 1988). O teor de proteína de cerca de 10% (tabela 10.1) indicia uma luzerna de baixa qualidade, o que provavelmente esteve na origem das baixas ingestões observadas para este ingrediente da dieta.

Este ensaio só se iniciou em Fevereiro, o que afectou, consideravelmente o teor em matéria seca da bolota, obtendo-se assim, valores mais elevados em relação aos verificados por Mendes *et al.* (2005) e outros autores que corresponderam a cerca de 60% (ver tabelas 6.3 e 6.4).

O teor em cinzas totais da bolota é semelhante ao obtido por Rodríguez-Estévez *et al.*, (2008).

Os teores em NDF da casca da bolota são mais elevados do que os de miolo, o que



**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

se deve ao facto de a celulose, hemicelulose e lenhina estarem maioritariamente presentes na casca da bolota.

Amostras de bolota dos três períodos de ensaio foram contadas e pesadas para obtenção do peso médio por bolota, e a casca separada do miolo para obtenção da percentagem relativa de miolo e casca em cada amostra. Na tabela 10.2 apresentam-se o peso médio da bolota e a composição em casca/miolo utilizadas neste ensaio.

**Tabela 10.2 - Peso médio / 100 bolotas (g) e relação casca:miolo na bolota (% em matéria fresca).**

<b>% Casca na bolota</b>	<b>% Miolo na bolota</b>	<b>Peso médio de 100 bolotas (g)</b>
$\approx 23,91 \pm 0,74645$	$\approx 72,85 \pm 1,549335$	$\approx 364,03 \pm 14,29162565$

Pode-se supor que o peso médio de uma bolota era de, aproximadamente, 3,64 g. Garcia *et al.* (2007) num estudo sobre as características da bolota, calcularam o peso médio destas e obtiveram um peso individual de 6,9 g em matéria fresca, valor este muito superior ao que se estimou neste ensaio.

As concentrações dos diferentes n-alcenos e álcoois de cadeia longa dos alimentos que foram distribuídos aos porcos Alentejanos encontram-se nas tabelas 10.3 e 10.4, respectivamente.

**Tabela 10.3 - Concentrações médias dos n-alcenos presentes na bolota e na luzerna (mg/kg MS).**

<b>Tipo de amostras</b>	<b>C<sub>23</sub></b>	<b>C<sub>25</sub></b>	<b>C<sub>27</sub></b>	<b>C<sub>28</sub></b>	<b>C<sub>29</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>	<b>C<sub>31</sub></b>	<b>C<sub>32</sub></b>	<b>C<sub>33</sub></b>	<b>C<sub>35</sub></b>	<b>C<sub>36</sub></b>
Bolota inteira	2,23	5,38	21,58	6,54	61,50	2,81	4,14	0,59	1,25	0,00	0,00
Miolo de bolota	2,75	4,14	4,89	4,17	5,46	2,54	2,00	1,14	1,97	0,46	0,31
Casca de bolota	4,79	14,39	71,19	17,07	222,37	6,80	11,90	2,02	3,50	0,00	0,00
Luzerna	6,22	13,44	32,30	13,10	146,06	23,61	351,00	26,01	102,02	23,24	0,00

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

Observando a tabela 10.3 pode-se verificar que os alcanos predominantes na luzerna são o C<sub>29</sub>, C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub>. Na bolota inteira e na casca o C<sub>27</sub> e o C<sub>29</sub> são os alcanos que existem em maiores concentrações e no miolo predominam o C<sub>25</sub>, C<sub>27</sub>, C<sub>28</sub> e o C<sub>29</sub>. É notório que no miolo da bolota, as concentrações dos n-alcanos são bastante mais baixas que na casca, na qual se encontram as concentrações mais elevadas de alcanos da bolota, devido à existência de uma camada serosa na sua superfície (Ribeiro *et al*, 2007). As concentrações de n-alcanos das diferentes fracções da bolota aqui apresentados são semelhantes às determinadas por Ribeiro *et al*. (2007) e Mendes *et al*. (2007). Ao contrário do que acontece para a bolota inteira, casca e luzerna, no miolo não existe uma prevalência de alcanos de cadeia carbonada ímpar em relação aos de cadeia com número par de carbonos (tabela 10.3). A prevalência de alcanos de cadeia ímpar de carbonos em relação aos de cadeia par, na maior parte das plantas, foi já reconhecida por vários autores (Dove e Mayes, 1991).

Na tabela 10.4 são apresentadas as concentrações médias calculadas para os álcoois de cadeia longa para os alimentos administrados aos suínos.

**Tabela 10.4 - Concentrações médias dos álcoois de cadeia longa presentes na bolota e na luzerna (mg/kg MS).**

Tipo de amostras	C <sub>22</sub> OH	C <sub>24</sub> OH	C <sub>26</sub> OH	C <sub>28</sub> OH	C <sub>30</sub> OH	Pico x*
Bolota inteira	0	90,64	18,55	15,96	21,31	192,68
Miolo de bolota	0	36,21	13,41	8,56	0	210,47
Casca de bolota	0	283,36	45,77	50,49	80,78	446,81
Luzerna	0	65,48	151,39	228,45	870,24	451,42

\* Os valores apresentados não são concentrações, dado que não se pôde calcular o factor de resposta para este componente.

Para os álcoois de cadeia longa pode-se realçar que na luzerna as concentrações mais altas são referentes aos álcoois C<sub>28</sub>OH e C<sub>30</sub>OH, enquanto na bolota inteira é o C<sub>24</sub>OH que ocorre em concentrações mais elevadas. No caso do miolo e da casca da bolota predomina o álcool C<sub>24</sub>OH. Tal como evidenciado e comprovado nos n-alcanos, também os álcoois estão maioritariamente presentes na casca da bolota. Assim como os alcanos, os álcoois também fazem parte da constituição da cutícula da parede celular de diversas partes

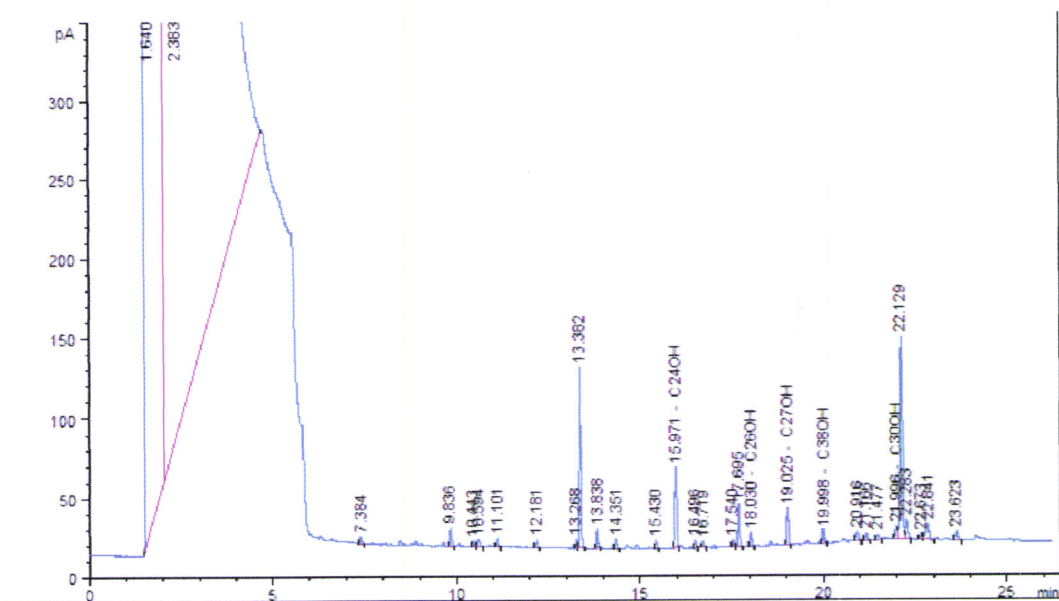
## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

das plantas, que serve de suporte e protecção a estas, e por isso é normal que a deposição destas duas substâncias seja maior na casca que no miolo da bolota. Ao contrário do que acontece com os n-alcenos, os álcoois que tendem a predominar são os que apresentam número par na cadeia carbonada.

Os cromatogramas dos extractos dos álcoois de cadeia longa nos alimentos, refugos e fezes, revelaram a presença de um pico com um tempo de retenção de, aproximadamente, 13, 37 minutos, que não foi identificado por não se dispor de nenhum padrão com um tempo de retenção semelhante. As áreas destes picos, o qual se designou “pico x”, apresentaram valores consideráveis, o que revela bastante interesse em aprofundar o estudo desta substância para sua identificação e eventual utilização como marcador na estimativa da ingestão e digestibilidade em porcos Alentejanos.

É importante referir que não existe na literatura nenhum estudo sobre a determinação de álcoois na bolota, sendo este o primeiro trabalho a realizá-la.

A seguir está representado um cromatograma de álcoois de cadeia longa para uma amostra de bolota inteira, no qual está presente o “pico x” aos 13,382 minutos.



**Figura 10.1 – Cromatograma de álcoois de cadeia longa para uma amostra de bolota inteira.**



### 10.3 – Refugos

De seguida apresentam-se os resultados referentes à composição química dos refugos recolhidos:

**Tabela 10.5 – Composição química média dos refugos recolhidos por tratamento ao longo do ensaio *in vivo* ± desvio padrão (% MS).**

Tratamento	% Matéria seca	Cinzas totais (% MS)	Proteína total (% MS)	NDF (% MS)
1	59,62±3,46	1,20±0,07	2,65±0,3	34,51±2,35
2	58,45±3,45	1,46±0,33	2,76±0,38	35,17±5,09
3	60,69±5,51	1,71±0,51	2,82±0,48	35,41±5,28

1- 4 kg de bolota.

2- 4 kg de bolota e 200 g de luzerna.

3- 4 kg de bolota e 400 g de luzerna.

Os refugos eram, essencialmente compostos por casca de bolota e luzerna, devido ao comportamento alimentar selectivo verificado para estes animais. É de notar, que os animais rejeitar muita luzerna desidratada. Na figura mostram-se os refugos relativos a um animal do tratamento 3.

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**



**Figura 10.2 – Refugos dos animais.**

Nas tabelas 10.6 e 10.7 encontram-se as concentrações dos n-alcenos e dos álcoois de cadeia longa para os refugos, respectivamente.

**Tabela 10.6 – Concentração média dos n-alcenos presentes nos refugos por tratamento  $\pm$  desvio padrão (mg/kg MS).**

<b>Tratamento</b>	<b>C<sub>23</sub></b>	<b>C<sub>25</sub></b>	<b>C<sub>27</sub></b>	<b>C<sub>28</sub></b>	<b>C<sub>29</sub></b>	<b>C<sub>30</sub></b>	<b>C<sub>31</sub></b>	<b>C<sub>32</sub></b>	<b>C<sub>33</sub></b>	<b>C<sub>35</sub></b>	<b>C<sub>36</sub></b>
1	5,24 $\pm$ 0,29	13,92 $\pm$ 0,47	61,17 $\pm$ 4,36	17,78 $\pm$ 1,1	190,48 $\pm$ 18,03	8,08 $\pm$ 1,26	13,36 $\pm$ 2,69	2,38 $\pm$ 0,53	5,20 $\pm$ 1,63	0,00	0,00
2	5,28 $\pm$ 0,22	13,65 $\pm$ 0,68	56,76 $\pm$ 4,93	17,04 $\pm$ 0,56	181,44 $\pm$ 10,31	9,82 $\pm$ 1,12	63,09 $\pm$ 11,51	6,32 $\pm$ 0,82	19,75 $\pm$ 4,26	4,37 $\pm$ 1,01	0,00
3	5,35 $\pm$ 0,24	13,47 $\pm$ 0,23	52,09 $\pm$ 3,31	17,00 $\pm$ 0,7	172,93 $\pm$ 7,82	11,81 $\pm$ 1,17	107,27 $\pm$ 14,59	9,69 $\pm$ 1,39	32,69 $\pm$ 4,38	7,46 $\pm$ 1,05	0,00

UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

**Tabela 10.7 – Concentração média dos álcoois de cadeia longa presentes nos refugos por tratamento  $\pm$  desvio padrão (mg/kg MS).**

Tratamento	C <sub>22</sub> OH	C <sub>24</sub> OH	C <sub>26</sub> OH	C <sub>28</sub> OH	C <sub>30</sub> OH	Pico x
1	1,61 $\pm$	257,28 $\pm$	40,77 $\pm$	37,27 $\pm$	67,62 $\pm$	544,04 $\pm$
	3,2	28,59	3,89	4,55	7,45	50,28
2	0,85 $\pm$	239,25 $\pm$	60,23 $\pm$	67,27 $\pm$	204,81 $\pm$	547,23 $\pm$
	2,7	21,53	5,74	8,53	36,47	46,73
3	0,87 $\pm$	213,21 $\pm$	75,19 $\pm$	92,52 $\pm$	316,43 $\pm$	579,78 $\pm$
	2,6	16,02	5,97	9,93	35,32	71,8

#### 10.4 – Fezes totais

De seguida é apresentada a composição química das fezes totais para cada tratamento.

**Tabela 10.8 – Composição química média das fezes totais por tratamento ao longo do ensaio *in vivo*  $\pm$  desvio padrão (% MS).**

Tratamento	% Matéria seca	Cinzas totais (% MS)	% Proteína total (% MS)	NDF (% MS)
1	28,14 $\pm$ 1,75	2,08 $\pm$ 0,14	5,87 $\pm$ 0,43	9,57 $\pm$ 1,81
2	28,06 $\pm$ 2,51	2,19 $\pm$ 0,5	5,15 $\pm$ 1,4	10,61 $\pm$ 3,32
3	27,46 $\pm$ 1,96	2,26 $\pm$ 0,88	5,21 $\pm$ 1,55	9,92 $\pm$ 4,1

1- 4 kg de bolota.

2- 4 kg de bolota e 200 g de luzerna.

3- 4 kg de bolota e 400 g de luzerna.

As concentrações médias dos n-alcenos e dos álcoois de cadeia longa são apresentadas nas tabelas 10.9 e 10.10, respectivamente.

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

**Tabela 10.9 – Concentração média dos n-alcenos presentes nas fezes por tratamento ± desvio padrão (mg/kg MS).**

Tratamento	C <sub>23</sub>	C <sub>25</sub>	C <sub>27</sub>	C <sub>28</sub>	C <sub>29</sub>	C <sub>30</sub>	C <sub>31</sub>	C <sub>32</sub>	C <sub>33</sub>	C <sub>35</sub>	C <sub>36</sub>
1	5,12±	11,38±	36,77±	13,11±	112,73±	7,79±	10,27±	144,77±	5,74±	0,00	189,47±
	0,29	0,54	5,84	0,69	17,75	1,15	1,56	37,27	1,79		50,37
2	4,68±	10,32±	33,51±	12,09±	106,55±	8,20±	34,51±	108,97±	12,76±	2,17±	139,10±
	0,32	0,67	5,94	1,42	18,53	1,66	10,76	25,52	3,5	2,12	29,44
3	5,26±	11,67±	37,64±	13,56±	119,85±	9,73±	49,83±	132,33±	17,78±	4,17±	167,68±
	0,51	1,25	7,06	1,71	24,54	2,22	17,87	24,62	5,96	2,05	30,91

**Tabela 10.10 – Concentração média dos álcoois de cadeia longa presentes nas fezes por tratamento ± desvio padrão (mg/kg MS).**

Tratamento	C <sub>22</sub> OH	C <sub>24</sub> OH	C <sub>26</sub> OH	C <sub>29</sub> OH	C <sub>30</sub> OH	Pico x
1	4,58±	149,02±	44,71±	43,33±	94,28±	566,88±
	6,24	14,3	2,99	7,91	14,36	32,95
2	4,71±	146,38±	50,83±	61,13±	167,22±	581,11±
	6,3	32	8,14	9,64	33,55	33,11
3	2,69	139,80±	53,75±	66,06±	195,02±	566,75±
	±4,04	30,81	10,24	15,62	49,96	50,49

## **10.5 - Recuperações fecais**

### **10.5.1 - Recuperações fecais dos alcanos**

Na tabela 10.6 são apresentadas as recuperações fecais médias para cada alcano em cada tratamento. Foi realizada uma análise de variância univariada para verificar se existia efeito do tratamento nas recuperações fecais de cada n-alcano. Quando se verificou diferenças significativas para o efeito do tratamento ( $p \leq 0,05$ ) foi efectuado um teste de comparação de médias (Tukey HSD), para se conhecer quais os tratamento que apresentavam diferenças significativas entre si.



UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

Tabela 10.11 - Recuperações fecais médias (%) dos n-alcenos para os três tratamentos considerados (n=9).

N-alcenos	Recuperação fecal (%)			N	EPM	Significância	
	T1	T2	T3			Tratamento	Período
C <sub>23</sub>	58,45	57,88	55,51	9	1,846	0,509	0,000
C <sub>25</sub>	61,02	57,89	56,97	9	2,276	0,439	0,000
C <sub>27</sub>	54,13	53,25	53,14	9	2,166	0,939	0,014
C <sub>28</sub>	59,61	59,90	63,24	9	1,752	0,296	0,000
C <sub>29</sub>	65,72	61,66	60,98	9	2,1	0,258	0,701
C <sub>30</sub>	98,64 <sup>a</sup>	73,33 <sup>b</sup>	69,24 <sup>b</sup>	9	6,329	0,011	0,000
C <sub>31</sub>	90,50	59,17	55,82	9	39,158	0,791	0,818
C <sub>32</sub>	97,88	92,40	94,35	9	1,909	0,158	0,001
C <sub>33</sub>	56,49	86,76	84,62	9	39,199	0,833	0,116
C <sub>36</sub>	105,94	101,12	102,50	9	1,92	0,223	0,000

<sup>a-b</sup> Médias com letras diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ).

Significância – p-value ou sig.

T1 - Tratamento 1 (4 kg bolota).

T2 - Tratamento 2 (4 kg bolota e 200 g luzerna).

T3 - Tratamento 3 (4 kg e 400 g luzerna).

EPM – Erro padrão associado à média.

As recuperações fecais obtidas para a generalidade dos alcanos naturais, são consideravelmente mais baixas do que as obtidas para o C<sub>32</sub> e C<sub>36</sub> (ver tabela 6.4).

O efeito do período nas taxas de recuperação fecal foi significativo para quase todos os alcanos, excepto para o C<sub>29</sub>, C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub> como se pode observar na tabela 10.6. Não se encontrou, à partida, uma explicação para este efeito, de notar no entanto, que seria desejável que não houvesse efeito do período para que a utilização das recuperações fecais obtidas neste ensaio fosse aplicável em quaisquer circunstâncias. As diferenças significativas foram encontradas entre todos os períodos para todos os alcanos, excepto para o C<sub>27</sub>, em que apenas se encontrou diferenças significativas entre o primeiro e o terceiro período.

Existiu efeito do tratamento apenas na recuperação fecal do alcano C<sub>30</sub>, sendo o tratamento 1 (só bolota), significativamente diferente dos tratamentos 2 (bolota e 200 g de luzerna) e 3 (bolota e 400 g de luzerna). Por esta razão este alcano foi excluído das estimativas da ingestão e da digestibilidade, já que um dos requisitos para aplicar a técnica dos alcanos, é ser possível utilizá-la independentemente dos componentes da dieta em



**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

causa.

Os alcanos C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub> apresentaram recuperações fecais muito variáveis tal como é demonstrado pelo erro padrão da média que lhes está associado (tabela 10.11), comprometendo o seu uso para estimar a digestibilidade e a ingestão. O problema do uso destes dois alcanos prende-se, provavelmente, com o facto da sua concentração no alimento ingerido ser muito baixa (ver tabela 10.12), e portanto o eventual erro analítico associado às baixas concentrações no miolo (principalmente no C<sub>33</sub>), e em particular no T1 onde os animais ingerem exclusivamente bolota, pode ser o suficiente para explicar a variabilidade nos resultados obtidos.

As concentrações médias dos alcanos naturais ingeridos para cada tratamento são apresentadas na tabela 10.12.

**Tabela 10.12 - Concentrações médias dos alcanos naturais ingeridos (mg/kg MS) para cada tratamento ± desvio padrão.**

Alcanos	Concentração no alimento ingerido (mg/kg MS) ± desvio padrão		
	T1	T2	T3
C <sub>23</sub>	1,13±0,37	1,68±0,22	1,98±0,42
C <sub>25</sub>	3,16±0,71	3,39±0,44	3,79±0,49
C <sub>27</sub>	11,32±2,54	13,26±1,51	12,59±1,75
C <sub>29</sub>	28,25±5,5	36,37±5,07	34,81±6,59
C <sub>31</sub>	1,73±1,2	12,33±3,26	16,12 ±4,27
C <sub>33</sub>	0,12±0,64	2,41±1,16	5,12±1,13

T1 – Tratamento 1 (4 kg bolota).

T2 – Tratamento 2 (4 kg bolota e 200 g luzerna).

T3 – Tratamento 3 (4 kg bolota e 400 g luzerna).

Foram realizadas correlações bivariadas entre as variáveis concentração ingerida e taxa de recuperação fecal para estes dois alcanos (C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub>). Nos dois casos foram constatadas fortes correlações entre as duas variáveis. Em relação ao C<sub>31</sub> foi observado um coeficiente de Pearson muito próximo de -1, o que significa que existe uma associação negativa (quando uma variável aumenta a outra diminui e vice-versa) entre a recuperação fecal do C<sub>31</sub> e a concentração ingerida do mesmo alcano. Para o alcano C<sub>33</sub> foi constatada uma associação positiva com um coeficiente de Pearson perto de 1, ou seja, quando uma

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

variável aumenta, a outra por conseguinte, também aumenta. Quando a concentração do C<sub>31</sub> na dieta ingerida foi baixa, no tratamento 1 (só bolota, a qual apresenta pouca concentração deste alcano) a taxa de recuperação fecal foi bastante mais alta, o caso contrário se verificou para o alcano C<sub>33</sub>. Estes testes de correlação vêm apoiar e fortalecer o facto de se rejeitar o uso de marcadores com baixas concentrações na dieta ingerida pelos suínos (como o C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub>) para realizar estimativas.

Para os alcanos em que não se verificou efeito significativo do tratamento e que evidenciaram ser passíveis de serem utilizados para efectuar estimativas, foram calculadas as recuperações fecais médias. Foi executada uma análise de variância univariada para verificar se existia diferenças significativas entre as recuperações fecais dos alcanos e quando se confirmou essa diferença, foram realizados os testes de comparação de médias (Tukey HSD e Scheffe), para se conhecer quais os alcanos que diferiam entre si em termos de taxas de recuperação fecal. As recuperações fecais médias para cada alcano podem ser observadas na tabela 10.13.

**Tabela 10.13 - Recuperações fecais médias para os diferentes n-alcanos (%).**

	C <sub>23</sub>	C <sub>25</sub>	C <sub>27</sub>	C <sub>28</sub>	C <sub>29</sub>	C <sub>32</sub>	C <sub>36</sub>	n	EPM	Significância		
										Alcano	Período	Tratamento
<b>Recuperação fecal média (%)</b>	57,28 <sup>a</sup>	58,63 <sup>a</sup>	53,51 <sup>a</sup>	60,91 <sup>a</sup>	62,79 <sup>a</sup>	94,88 <sup>b</sup>	103,19 <sup>c</sup>	27	1,534	0,000	0,000	0,069

EPM - Erro padrão da média.

<sup>a-c</sup> Médias com letras diferentes correspondem a diferenças significativas (p≤0,05).

As recuperações fecais médias dos n-alcanos naturais obtidas neste ensaio foram relativamente baixas, quando comparadas com as obtidas para ruminantes. Já para os alcanos sintéticos (C<sub>32</sub> e C<sub>36</sub>) as recuperações fecais foram significativamente (p≤0,05) mais altas do que as dos n-alcanos naturais e muito próximas de 100%. Não se observou qualquer relação entre o número de carbonos dos alcanos e a sua recuperação fecal, como tem sido evidenciado para os ruminantes (Dove and Mayes, 1991). A ausência de correlação entre o tamanho da cadeia carbonada e a respectiva recuperação fecal de alcanos foi também observada por Sehested *et al.* (1999) e Wilson *et al.* (1999) em porcas adultas

reprodutoras e por Ribeiro *et al.* (2007) em porcos Alentejanos.

Neste trabalho verificou-se, para o alcano C<sub>25</sub>, uma recuperação mais elevada do que aquelas que foram determinadas por Ferraz-de-Oliveira *et al.* (2005) e por Ribeiro *et al.* (2007); para o alcano C<sub>27</sub> uma recuperação fecal mais baixa do que as obtidas no ensaio de Ribeiro *et al.* (2007); para alcano C<sub>29</sub> foi observada uma recuperação fecal um pouco mais baixa que a verificada por Wilson *et al.* (1999) e muito semelhante à observada por Ferraz-de-Oliveira *et al.* (2005). Os alcanos sintéticos (C<sub>32</sub> e C<sub>36</sub>) tiveram taxas de recuperação fecal praticamente completas (tabela 10.8) e foram semelhantes em relação às obtidas por Ribeiro *et al.* (2007), mas mais elevadas com as verificadas por Ferraz-de-Oliveira *et al.* (2005).

Num estudo realizado com suínos (porcas gestantes) na Escócia, Wilson *et al.* (1999) obtiveram recuperações fecais médias mais elevadas do que as observadas neste trabalho, principalmente para os alcanos com número ímpar de átomos de carbono (C<sub>23</sub>, C<sub>25</sub>, C<sub>27</sub> e C<sub>29</sub>). Wilson *et al.* (1999) concluíram, relativamente ao mesmo estudo, que não existia evidência de uma relação entre o tamanho da cadeia carbonada dos alcanos com número ímpar de átomos de carbono e as suas taxas de recuperação fecal. Num outro ensaio realizado em porcas gestantes na Dinamarca, Sehested *et al.* (1999) obtiveram recuperações fecais para os alcanos C<sub>25</sub> a C<sub>36</sub> muito próximas de 100% (95-115%).

Estas variações observadas nas taxas de recuperação fecal dos alcanos nos diferentes ensaios sugerem que possa haver um efeito da raça e do estado fisiológico do animal no comportamento dos n-alcanos no tubo digestivo dos suínos. Ao contrário do que acontece para ruminantes, existem ainda, muito poucos ensaios de validação da técnica dos n-alcanos em suínos, o que dificulta o esclarecimento da ocorrência destas variações.

O facto da recuperação fecal dos dois alcanos sintéticos ser significativamente mais elevada do que a de qualquer dos n-alcanos naturais medidos, implica que seja fundamental fazer sempre a correcção para a taxa de recuperação fecal de cada alcano quando é feita a sua utilização como marcadores fecais.

### 10.5.2 - Recuperações fecais dos álcoois de cadeia longa

Na tabela 10.14 são apresentadas as taxas de recuperação fecal para os álcoois de cadeia longa para cada tratamento. Tal como nos alcanos, também nos álcoois de cadeia longa foi executada uma análise de variância univariada para averiguar o efeito do tratamento nas suas recuperações fecais. Quando se verificou efeito significativo, realizou-se um teste de comparação de médias (Tukey HSD) para verificar as diferenças entre tratamentos.

**Tabela 10.14 - Recuperações fecais médias (%) dos álcoois de cadeia longa para os três tratamentos considerados (n=9).**

Álcoois de cadeia longa	Recuperação fecal (%)			n	EPM	Significância	
	T1	T2	T3			Tratamento	Período
C <sub>24</sub> OH	51,5400	54,3522	55,2022	9	2,222	0,493	0,214
C <sub>26</sub> OH	57,0444	57,5056	55,2444	9	1,637	0,599	0,009
C <sub>28</sub> OH	68,2911	68,3611	62,5056	9	3,203	0,360	0,411
C <sub>30</sub> OH	176,7689 <sup>a</sup>	109,9756 <sup>b</sup>	97,6667 <sup>b</sup>	9	15,427	0,006	0,790

<sup>a-b</sup> Médias com letras diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ).

Significância – p-value ou sig.

T1 - Tratamento 1 (4 kg bolota).

T2 - Tratamento 2 (4 kg bolota e 200 g luzerna).

T3 - Tratamento 3 (4 kg bolota e 400 g luzerna).

EPM – Erro padrão da média.

As recuperações fecais dos álcoois de cadeia longa foram incompletas para o C<sub>24</sub>OH, C<sub>26</sub>OH e C<sub>28</sub>OH, tendo sido anormalmente elevadas (176%) para o C<sub>30</sub>OH nos animais alimentados exclusivamente com bolota. Não se conseguiu encontrar uma explicação para tal anomalia ter ocorrido com o álcool C<sub>30</sub>OH.

Para o álcool C<sub>30</sub>OH foi observado efeito do tratamento na sua recuperação fecal e para o álcool C<sub>26</sub>OH foi verificado efeito do período na sua taxa de recuperação fecal, existindo diferenças significativas entre o período 1 e 2 (ver tabela 13.9 dos anexos). O tratamento 1 (4 kg de bolota) é significativamente diferente ( $p \leq 0,05$ ) dos tratamentos 2 (4 kg de bolota e 200 g de luzerna) e 3 (4 kg de bolota e 400 g de luzerna). Para os outros

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

álcoois de cadeia longa não foi verificado efeito significativo do tratamento sobre as suas recuperações fecais. O álcool de cadeia longa que apresentou uma taxa de recuperação fecal mais elevada foi o C<sub>28</sub>OH, o que pode revelar bastante relevância para a sua utilização na estimativa da composição de dieta.

Foi realizada, à semelhança do que se efectuou com os alcanos, uma análise de variância para averiguar eventuais diferenças significativas entre taxas de recuperação fecal dos álcoois de cadeia longa, quando foram verificadas executaram-se os testes de comparação de médias (Tukey e Scheffe) para evidenciar essas diferenças. As recuperações fecais médias dos álcoois de cadeia longa são apresentadas na tabela 10.15.

**Tabela 10.15 - Recuperações fecais médias dos álcoois de cadeia longa (%) (n=27).**

Recuperação fecal média (%)	C <sub>24</sub> OH	C <sub>26</sub> OH	C <sub>28</sub> OH	n	EPM	Significância		
						Álcoois	Período	Tratamento
	53,70 <sup>a</sup>	56,60 <sup>a</sup>	66,39 <sup>b</sup>	27	1,562	0,000	0,247	0,802

EPM - Erro padrão associado à média.

<sup>a-b</sup> Médias com letras diferentes correspondem a diferenças significativas (p≤0,05).

É de salientar que, é a primeira vez que se determinam recuperações fecais de álcoois de cadeia longa para porcos Alentejanos, o que revela a lacuna existente neste tipo de animais para esta área. Bugalho *et al.* (2004) e Ali *et al.* (2005) estudaram os álcoois de cadeia longa como marcadores na estimativa da composição das dietas juntamente com os alcanos e concluíram que o uso destes componentes é satisfatório, mostrando bastante interesse na sua aplicação.

### 10.6 – Digestibilidade

Na tabela 10.16 são apresentados os resultados obtidos relativamente à digestibilidade determinada *in vivo* (utilizando a equação 8.1.1) e às estimativas da digestibilidade (utilizando a equação 8.1.3), para cada tratamento, usando vários alcanos de cadeia carbonada ímpar (naturais) que não apresentaram problemas no cálculo das

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

recuperações fecais, nomeadamente: o C<sub>23</sub>, C<sub>25</sub>, C<sub>27</sub> e o C<sub>29</sub>. Os alcanos C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub> foram excluídos para estimar a digestibilidade pelas razões já apresentadas no ponto 10.5.1.

**Tabela 10.16 - Digestibilidade determinada *in vivo* e estimada a partir de alcanos naturais para cada tratamento considerado (%) (n=9).**

	Digestibilidade (%)			n	EPM	Significância	
	T1	T2	T3			Período	Tratamento
Determinada <i>in vivo</i>	83,73 <sup>a</sup>	81,02 <sup>b</sup>	82,11 <sup>c</sup>	9	0,003	0,753	0,000
Estimada pelo C <sub>23</sub>	87,22 <sup>a</sup>	81,56 <sup>b</sup>	78,56 <sup>b</sup>	9	0,012	0,003	0,000
Estimada pelo C <sub>25</sub>	83,89 <sup>a</sup>	80,78 <sup>b</sup>	81,89 <sup>ab</sup>	9	0,006	0,000	0,005
Estimada pelo C <sub>27</sub>	83,89 <sup>a</sup>	80,97 <sup>b</sup>	82,36 <sup>ab</sup>	9	0,04	0,003	0,04
Estimada pelo C <sub>29</sub>	84,24 <sup>a</sup>	81 <sup>b</sup>	82,5 <sup>ab</sup>	9	0,007	0,115	0,007

<sup>a-c</sup> Médias com letras diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamentos.

EPM - Erro padrão da média.

Significância - p-value para o efeito do tratamento e do período.

T1 - Tratamento 1 (4 kg bolota).

T2 - Tratamento 2 (4 kg bolota e 200 g luzerna).

T3 - Tratamento 3 (4 kg bolota e 400 g luzerna).

Pela observação da tabela 10.16 conclui-se que houve efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ) para o tratamento, quer para a digestibilidade determinada *in vivo*, quer para as digestibilidades estimadas a partir dos alcanos naturais. Para a digestibilidade real todos os tratamentos diferiram entre si, sendo a digestibilidade mais elevada a do tratamento 1 e a mais baixa a do tratamento 2; para a estimativa da digestibilidade usando o alcano C<sub>23</sub> o tratamento 1 apresentou diferenças significativas em comparação com os outros dois tratamentos e para os restantes alcanos, existiram diferenças significativas entre os tratamentos 1 e 2, no entanto, o tratamento 3 não apresenta diferenças em relação aos outros dois tratamentos. Verificou-se o efeito indesejável do período nas estimativas da digestibilidade, exceptuando para o alcano C<sub>29</sub>. Parece existir um efeito na digestibilidade quando se aumenta a quantidade de luzerna na dieta, o que corrobora o facto de a erva ter um efeito positivo na digestibilidade da dieta dos porcos Alentejanos.

Quando se realizou a análise de variância univariada para averiguar as diferenças entre os valores da digestibilidade determinada *in vivo* com a estimada utilizando alcanos naturais, concluiu-se não existir qualquer diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ). Todos os alcanos naturais permitiram estimativas de digestibilidade fiáveis para todos os tratamentos.

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

Os alcanos que estiveram na origem de estimativas de digestibilidade mais próximos do valor da digestibilidade determinada *in vivo* foram o C<sub>25</sub> e o C<sub>27</sub> (ver tabela 10.12). Estas conclusões estão em concordância com as obtidas por Ribeiro *et al.* (2007) num ensaio com porcos Alentejanos.

### **10.7 - Ingestão**

A ingestão foi medida *in vivo* através da contabilização do alimento distribuído e dos refugos produzidos ao longo dos 5 dias de período experimental e foi estimada através da técnica dos n-alcanos utilizando pares de alcanos (natural:sintético) de acordo com a equação 8.1.4.

Os resultados obtidos para a ingestão total determinada *in vivo* e as estimativas usando pares de alcanos encontram-se na tabela 10.17.

**Tabela 10.17 - Ingestão total determinada *in vivo* e estimada a partir de pares de alcanos para cada tratamento considerado (kg MS).**

	Ingestão (kg MS)			N	EPM	Significância	
	T1	T2	T3			Período	Tratamento
Determinada <i>in vivo</i>	14,34	14,16	13,99	9	0,203	0,604	0,497
Estimada pelo C <sub>25</sub> :C <sub>32</sub>	14,76	18,03	18,36	9	0,985	0,001	0,040
Estimada pelo C <sub>25</sub> :C <sub>36</sub>	14,56	14,45	13,89	9	0,498	0,000	0,606
Estimada pelo C <sub>27</sub> :C <sub>32</sub>	14,05	15,03	14,66	9	0,465	0,000	0,347
Estimada pelo C <sub>27</sub> :C <sub>36</sub>	14,12	14,57	14,12	9	0,474	0,000	0,738
Estimada pelo C <sub>29</sub> :C <sub>32</sub>	14,49	14,24	13,60	9	0,319	0,000	0,162
Estimada pelo C <sub>29</sub> :C <sub>36</sub>	14,63	14,38	13,78	9	0,365	0,001	0,270

EPM - Erro padrão da média.

Significância - p-value para o efeito do tratamento e do período.

T1 - Tratamento 1 (4kg bolota).

T2 - Tratamento 2 (4 kg bolota e 200 g luzerna).

T3 - Tratamento 3 (4 kg bolota e 400 g luzerna).

Não foi evidenciado efeito significativo do tratamento para nenhuma estimativa da ingestão ( $p \geq 0,05$ ), a não ser para a estimativa pelo par de alcanos C<sub>25</sub>:C<sub>32</sub>, em que o tratamento 1 é diferente relativamente aos restantes. Observa-se o efeito do período para todas as estimativas da ingestão. As ingestões obtidas são referentes aos cinco dias de período experimental (ingestão total).

UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

Na tabela seguinte estão visíveis as estimativas das ingestões totais médias para cada par de alcano e a ingestão real total média em kg MS.

**Tabela 10.18 - Ingestão total determinada *in vivo* e ingestão estimada a partir de pares de alcanos (kg MS).**

Ingestão total média (kg MS)	<i>In vivo</i>	Estimada						n	EPM	Significância		
		C <sub>25</sub> :C <sub>32</sub>	C <sub>25</sub> :C <sub>36</sub>	C <sub>27</sub> :C <sub>32</sub>	C <sub>27</sub> :C <sub>36</sub>	C <sub>29</sub> :C <sub>32</sub>	C <sub>29</sub> :C <sub>36</sub>			I.	P.	T.
	14,16 <sup>a</sup>	17,05 <sup>b</sup>	14,30 <sup>a</sup>	14,58 <sup>a</sup>	14,27 <sup>a</sup>	14,11 <sup>a</sup>	14,26 <sup>a</sup>	27	0,367	0,000	0,000	0,251

EPM – Erro padrão da média.

<sup>a-b</sup> Médias com letras diferentes correspondem a diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ).

I. – Ingestão.

P. – Período.

T. – Tratamento.

O par de alcanos que mais se aproximou da determinação *in vivo* da ingestão foi o par C<sub>29</sub>:C<sub>32</sub>, seguindo-se do par C<sub>29</sub>:C<sub>36</sub>. Mais uma vez, existe unanimidade entre resultados, em relação a trabalhos desenvolvidos anteriormente com suínos da raça Alentejana por Ferraz-de-Oliveira *et al.* (2007). Sehested *et al.* (1999) também obteve resultados satisfatórios para o par de alcanos C<sub>29</sub>:C<sub>32</sub> (Pereira, 2008).

A ingestão real média diária foi de 2,832 kg MS/dia.

A única estimativa de ingestão que apresentou diferenças significativas em relação à ingestão determinada pelo método *in vivo* foi a que utilizou o par de alcanos C<sub>25</sub>:C<sub>32</sub>. Ferraz-de-Oliveira *et al.* (2007) tiraram análogas ilações acerca das comparações entre estimativas de ingestão e a determinação *in vivo* da ingestão. Estes autores chegaram à conclusão que o único par de alcanos que não apresenta valores próximos do determinado *in vivo* é o C<sub>27</sub>:C<sub>32</sub>, o que não sucedeu neste ensaio.

Como neste trabalho não se conseguiu determinar taxas de recuperação fecal elevadas para os alcanos naturais e evidenciar semelhanças entre as taxas dos alcanos naturais com as dos sintéticos, o cálculo das ingestões estimadas a partir dos pares de alcanos em questão, foi sempre corrigido para suas as taxas de recuperação fecal (os valores das recuperações fecais não se anulavam).



## 11 – Conclusões e perspectivas futuras

A elaboração deste ensaio permitiu validar a técnica dos n-alcenos para altos níveis de ingestão na estimativa da ingestão e digestibilidade. Permitiu ainda, cumprir o objectivo de se calcular pela primeira vez, em porcos Alentejanos, as taxas de recuperações fecais de álcoois de cadeia longa. No entanto, as taxas de recuperação fecal determinadas foram relativamente baixas e algumas foram afectadas pelo período.

A grande limitação do uso desta técnica em suínos da raça Alentejana é a baixa concentração de n-alcenos no miolo da bolota, que é o constituinte da bolota que estes animais ingerem. Este aspecto é notoriamente visível quando se determinaram as recuperações fecais dos alcanos  $C_{31}$  e  $C_{33}$  e se compararam entre tratamentos.

Todos os pares de alcanos, excepto o par  $C_{25}:C_{32}$ , utilizados para efectuar estimativas de ingestão não apresentaram diferenças significativas em comparação com o valor real da ingestão, calculado *in vivo*, confirmando a validação do seu uso para estimar a ingestão. Os pares de alcanos que melhor estimaram a ingestão foram, respectivamente, o par  $C_{29}:C_{32}$  e o par  $C_{29}:C_{32}$ , como esperado. A estimativa da ingestão que não se aproximou da ingestão determinada *in vivo* foi a do par  $C_{25}:C_{32}$ . As estimativas de ingestão foram sempre calculadas com uma correcção para as recuperações fecais do par de alcanos, visto que, as recuperações fecais dos alcanos naturais foram significativamente diferentes das dos sintéticos.

Em termos de estimativa da digestibilidade os alcanos naturais que mais se aproximaram da digestibilidade real foram o  $C_{25}$  e o  $C_{27}$ , como expectável. O alcano que permitiu a pior estimativa da digestibilidade foi o  $C_{23}$ . Nenhum alcano natural apresentou valores de digestibilidade com diferenças significativas em relação à digestibilidade calculada pelo método *in vivo*. Neste trabalho não se conseguiu efectuar estimativas usando os alcanos naturais  $C_{31}$  e  $C_{33}$  (alcenos que em alguns estudos em ruminantes mostraram relevância para realizarem estimativas de ingestão, digestibilidade e composição da dieta), porque estes apresentaram concentrações no alimento ingerido muito baixas, o que conseqüentemente levou a cálculos das taxas de recuperação fecais pouco fiáveis. Confirma-se, novamente, a dificuldade inerente à determinação de estimativas de

## UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

ingestão e digestibilidade em porcos Alentejanos, pelo seu comportamento alimentar altamente selectivo. Este ensaio foi uma tentativa de simulação, o mais próximo possível, do comportamento alimentar dos animais em Montanheira, no entanto, os animais rejeitaram a luzema desidratada, ingerindo-a em doses muito mais baixas do que o esperado, o que poderá explicar ganhos médios diários muito aquém daquilo que é expectável em situações reais para suínos em fase de acabamento com pesos semelhantes.

Os álcoois de cadeia longa apresentaram taxas de recuperação fecal aceitáveis, excepto o  $C_{30}OH$ , sendo o valor mais elevado o do álcool  $C_{28}OH$ , o que significa que poderá ser um bom marcador para realizar estimativas da composição de dietas. Foi, também verificado neste trabalho, uma substância desconhecida (poderá ou não, ser um álcool), que revelou ser promissor por apresentar boas características para ser usado como marcador: está presente em todas as amostras recolhidas e em quantidades consideráveis. No entanto, por este ser o primeiro trabalho a estudar as recuperações fecais dos álcoois de cadeia longa para suínos da raça Alentejana, é necessário e imprescindível realizar outros estudos para aprofundar e esclarecer melhor a possível importância destes componentes das ceras cuticulares das plantas na estimativa da composição da dieta destes animais.

Salienta-se ainda, a importância em continuar o trabalho desenvolvido nesta área, principalmente, na realização de outros ensaios com altos níveis de ingestão em porcos Alentejanos, na tentativa de se explicar certos resultados em que não se conseguiram apontar possíveis causas. A realização deste trabalho foi de extrema importância porque para eventuais ensaios futuros este trabalho funcionará como suporte para elaborar comparações e complementar certos aspectos que ficaram pouco esclarecidos.

## 12 - Referências bibliográficas

• **Ali, H. A. M.; Hector, B. L.; Mayes, R. W. & Ørskov E. R. 2005.** Assessment of n-alkanes, long-chain fatty alcohols and long-chain fatty acids as diet composition markers: The concentrations of these compounds in rangeland species from Sudan. *Animal Feed Science and Technology* **121**, 257-271. *Elsevier*.

• **Ali, H. A. M.; Hector, B. L.; Mayes, R. W.; Ørskov E. R. & Verma, A. K. 2005.** The possible use of n-alkanes, long-chain fatty alcohols and long-chain fatty acids as markers in studies of botanical composition of the diet of free-ranging herbivores. *Journal of Agriculture Science* **143**, 85-95. Cambridge University.

• **Almeida, J. A. 1986.** *Influência dos taninos de frutos de Quercus ilex L. e Quercus suber L. sobre a fermentação retículo-ruminal e a digestão enzimática das proteínas.* Tese de Doutoramento. Universidade de Évora.

• **Almeida, J. A.; Marinho, A. A. & Baptista, M. E. 1991.** *Bolota de azinho e sobro: I – Caracterização morfológica e química.* Congresso Internacional de Zootecnia. Évora. 3 – 6 Abril.

• **Andrieu, J.; Demarquilly, C. & Sauvant, D. 1988.** Tables de la valeur nutritive des aliments. In Jarrige, R. (ed). *Alimentation des Bovins, Ovins & Caprins.* INRA, Paris.

• **Baker, R. D. 1982.** Estimating herbage intake from animal performance. In: *Herbage Intake Handbook.* Ed. J. D. Leaver. The British Grassland Society. pp.77-93.

• **Bovolenta, S.; Malossini, F. & Piasentier, E. 1994.** *N-alkanes as markers in feeding trials.* Department of Animal Production Science. University of Udine. Italy.

UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

• **Branco, A.; Cecato, U; Côrtes, C; Damasceno, J.; Fukumoto, N.; Rego, F. & Roehsig, L. 2007.** Uso de n-alcenos na estimativa da composição botânica da dieta em ovinos alimentados com diferentes proporções de *Brachiaria decumbens* Stapf e *Arachis pintoi* Koprov e Gregory. *Revista Brasileira Zootecnia*, vol. 36, nº 4, pp.1147-1154, (supl.).

• **Bugalho, M.; Dove, H. & Kelman, W. 2003.** Cuticular wax alkanes and alcohols used as markers to estimate diet composition of sheep (*Ovis aries*). *Biochemical Systematics and Ecology* 31, 919-927. *Pergamon*.

• **Bugalho, M.; Dove, H.; Kelman, Mayes, R.; W. & Wood, J. T. 2004.** Plant wax alkanes and alcohols as herbivore diet composition markers. *Journal of Range Management* 57, 259-268.

• **Campaniço, L. F. C. 2005.** *Influência dos frutos de “Quercus rotundifolia” e “Quercus suber” sobre as performances produtivas de ácidos gordos da gordura subcutânea em suínos da raça Alentejana.* Trabalho final do curso em Engenharia Zootécnica. Universidade de Évora.

• **Cancela d’Abreu, M. 1992.** *Valor alimentar de três pastagens anuais para ovinos.* Tese de Doutoramento. Universidade de Évora.

• **Cerdeira, R. 2003.** Cromatografia gasosa. Métodos experimentais em energia e ambiente. Instituto Superior Técnico, disponível em <http://in3dem.ist.utl.pt/labcombustion/EMEEcourse/presentations/pres3.pps>

• **Dentinho, T.; Navas, D. & Potes, J. 2005.** Avaliação química e nutritiva de complementos alimentares para pecuária extensiva em zonas de montado de azinho. *Pastagens e forragens*, vol. 26, 27, 2005/06, pp. 41-46.

UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

• **Dove, H. & Mayes, R. 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**, 913-52.

• **Dove, H. & Mayes, R. 1996.** Plant Wax Components: A New Approach to Estimating Intake and Diet Composition in Herbivores. *Journal of Nutrition* **126**, 13-26.

• **Dove, H. & Mayes, R. 2000.** Measurement of dietary nutrient intake in free-ranging mammalian herbivores. *Nutrition Research Reviews* **13**, 107-138.

• **Dove H. & Mayes, R. 2003.** Analysis of n-alkanes – Extraction of faeces and herbage. *Satellite Meeting: wild and domestic herbivore diet characterization*, 17-19 Outubro 2003, pp.10.

• **Dove, H. & Mayes, R. 2005.** Using n-alkanes and other plant wax components to estimate intake, digestibility and diet composition of grazing/browsing sheep and goats. Review article. *Small Ruminant Research. Elsevier.*

• **Dove, H. & Mayes, R. 2006.** Protocol for the analysis of n-alkanes and other plant-wax compounds and for their use as markers for quantifying the nutrient supply of large mammalian herbivores. *Nature Protocols*, vol.1, nº3, pp.1-18.

• **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.

• **Ferraz-de-Oliveira, M. I.; Mendes, C.; Ribeiro, T. & Cancela d'Abreu, M. 2007.** Study for the validation of the n-alkanes technique to estimate intake and digestibility of acorns and pasture by Alentejano pigs. *Annual Congress of the British Society of Animal Science.* Southport (Reino Unido): 207.

UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

• **Ferraz-de-Oliveira, M.I.; Trigo, A. P.; Neves, J. A. & Cancela d'Abreu, M. 2005.** Validation of the n-alkanes technique to measure intake and digestibility in Alentejano pigs under "Montanheira". *In: Sandoval-Castro, C. A., Hovell, D., Acosta, F. T. & Ayala-Burgos, A. (eds), Herbivores, The assesment of intake, digestibility and the roles og secondary compounds.* Nottingham University Press, UK.

• **Ferreira, D. 2001.** Evolução da paisagem de montado no Alentejo interior ao longo do século XX. Dinâmica e incidências ambientais. *Finisterra*, XXXVI 72, pp. 179-193.

• **Freitas, A. 1998.** *Influência do regime alimentar em pré-acabamento sobre o crescimento e desenvolvimento do porco Alentejano e suas repercussões sobre o acabamento em montanheira e com alimento comercial.* Tese de Doutoramento. Universidade de Évora.

• **Freitas, A. 2001.** Passado, presente e futuro da raça suína Alentejana. Universidade de Évora, ICAM. Évora.

• **Freitas, A. 2005.** Utilização do montado pelo porco de raça Alentejana. Universidade de Évora, ICAM. Évora. *Melhoramento*, 40: 146-151.

• **Freitas, A. 2006.** Alimentação em regime extensivo: Raça suína Alentejana. IV *Jornadas Internacionais de Suinicultura.* UTAD. Vila Real.

• **Freitas, A.; Neves, J.; Nunes, J. & Martins, J. 2004.** O sistema agro-silvo-pastoril da raça suína Alentejana. Universidade de Évora, ICAM. Évora.

• **Gannon, M. A. 1996.** *The energy balance of pigs outdoors.* University of Nottingham.

UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

- **Garcia, A.; Gómez, A. G. & Rodríguez-Estévez, V. 2007.** Characteristics of the acorns selected by free range Iberian pigs during the *montanera* season (Abstract). *ScienceDirect*. Departamento de Producción Animal, Campus Universitario de Rabanales, Córdoba.
- **Greenhalgh, J. F. D. 1982.** An introduction to herbage intake measurements. In: *Herbage Intake Handbook*. Ed. J. D. Leaver. The British Grassland Society. pp.1-10.
- **Hanson, C. F. & Owens, F. N. 1992.** Symposium external and internal markers. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. *Journal of Dairy Science*, vol. 75, nº 9, pp.2605-2617.
- **Lopez-Bote, C.J. 1998.** *Sustained utilization of the Iberian Pig Breed*. Elsevier Science, Ltd.
- **McDonald, P.; Edwards. R. A.; Greenhalgh, J. F. D. e Morgan, C. A. 1999.** *Nutrición animal*. 5ª edición. Editorial Acribia S. A. Zaragoza.
- **Melo e Castro, F. 2009.** *Efeito dos taninos da bolota na digestibilidade da proteína bruta de dietas de porcos Alentejanos de Montanheira*. Tese de Mestrado. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa.
- **Mendes, C. 2005.** *Utilização de n-alcenos para estimar a ingestão e digestibilidade de erva e bolota em porcos Alentejanos*. Trabalho final do curso em Engenharia Zootécnica. Universidade de Évora.
- **Mendes, C.; Ferraz-de-Oliveira, M.I.; Ribeiro, T. & Cancela d'Abreu, M. 2007.** Estimativa da ingestão e digestibilidade de erva e bolota em porcos Alentejanos pela técnica dos n-alcenos. *Revista de Ciências agrárias*, vol. 30, nº1, pp. 198-204.

UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

- **Morgan, N. 1996.** *A nova enciclopédia das Ciências. A Química.* Círculo de Leitores. Companhia editora do Minho, S.A.
- **Noronha, J. P.** Cromatografia gás-líquido. Preparação da amostra. Derivatização. Universidade Nova de Lisboa, disponível em <http://www.dq.fct.unl.pt/cadeiras/tc/main/TC.2006-IX-X-Web-B&W.pdf>
- **Nunes, J. L. T. 1993.** *Contributo para a reintegração do porco Alentejano no montado.* Tese de Doutoramento. Universidade de Évora.
- **Nunes, J. L. T. 2007.** Produção pecuária no montado: suínos. *Revista de Ciências Agrárias*, vol.30, nº 1, pp. 251-259.
- **Oliván, M. & Osoro, K. 1997.** Utilización de la técnica de los n-alcenos en estúdios de ingestión y selección de dieta de los ruminantes en pastoreo: revisión; *Itea*, vol. 93ª, nº3, pp. 193-208.
- **Oliván, M., Dove, H.; Mayes, R. W. & Hoebee, S. E. 1999.** Other plant wax components to estimate intake and diet composition in herbivores. *Revista Portuguesa de Zootecnia*, 6: 1-26.
- **Oliveira, D. & Prates, E. 2000.** *Utilização dos componentes da cera das plantas, em especial os n-alcenos, em estudos de nutrição de ruminantes.* Ciência Rural, Santa Maria, vol. 30, nº3, pp.549-557.
- **Pereira, C. 2008.** *Influência do tipo de pastagem na ingestão e digestibilidade da dieta de porcos Alentejanos em Montanheira.* Trabalho final do curso em Engenharia Zootécnica. Universidade de Évora.



UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

---

• **Ribeiro, T. 2005.** *Validação da técnica dos n-alcenos para a estimativa da ingestão e da digestibilidade em porcos Alentejanos.* Trabalho final do curso de Engenharia Zootécnica. Universidade de Évora.

• **Ribeiro, T.; Ferraz-de-Oliveira, M.I.; Mendes, C. & Cancela d'Abreu, M. 2007.** Estudo para a validação da técnica dos n-alcenos para estimativa da ingestão e da digestibilidade em porcos Alentejanos. *Revista de Ciências agrárias*, vol. 30, nº1, pp. 296-302.

• **Rodríguez-Estévez, V., et al.,** Foraging of Iberian fattening pigs grazing natural pasture in the dehesa, *Livest. Sci.* (2008), doi:10.1016/j.livsci.2008.05.006.

• **Serras, M. 2009.** Benefícios da carne do porco Alentejano. *Revista Agros.*

• **Tejeda, J. F., Garcia, C.; Petrón, M. J.; Andrés, A. I.; Antequera, T. 2001.** N-alkane content of intramuscular lipids of Iberian fresh ham from different feeding systems and crossbreeding. *Meat Science*, 57:371-377.

• **UNIAPRA.** O porco de raça Alentejana. Características morfológicas, dados produtivos, dados reprodutivos, disponível em <http://209.161.110.175//uniapra/home.asp>

• **Wilson, H., Sinclair, A. G.; Hovell, D.; Mayes, R. W. & Edwards, S. A. 1999.** Validation of the n-alkane technique for measuring herbage intake in sows. *Proceedings of the British Society of Animal Science*, pp. 177. UK.

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

### 13 – Anexos

**Tabela 13.1 - Composição química dos alimentos administrados aos animais para todos os períodos (% MS).**

Período	Amostra	% Matéria seca	Cinzas totais (%MS)	Proteína total (%MS)	NDF (%MS)	ADF (%MS)	ADL (%MS)
1º Período	Bolota inteira	77,21	1,63	3,38	17,32	11,42	4,23
	Miolo de bolota	77,61	1,76	4,09	5,03	2,43	0,43
	Casca de bolota	79,68	1,30	2,70	59,71	43,02	17,90
2º Período	Luzerna	93,50	12,90	9,88	48,04	34,12	7,03
	Bolota inteira	79,48	1,76	3,09	19,18	11,96	4,56
	Miolo de bolota	79,38	1,95	3,58	4,68	2,35	0,58
	Casca de bolota	81,73	1,25	2,54	62,45	45,03	18,73
	Luzerna	93,38	12,59	9,81	48,15	33,59	6,85
3º Período	Bolota inteira	81,05	1,77	3,39	20,77	12,69	4,97
	Miolo de bolota	84,03	1,97	3,75	5,53	2,19	0,51
	Casca de bolota	79,58	1,27	2,33	58,38	46,57	20,20
	Luzerna	93,43	12,49	10,09	39,82	35,08	7,60

**Tabela 13.2 - Concentrações médias dos n-alcenos presentes na bolota e na luzerna para todos os períodos (mg/kg MS).**

Tipo de amostra	Período	C <sub>23</sub>	C <sub>25</sub>	C <sub>27</sub>	C <sub>28</sub>	C <sub>29</sub>	C <sub>30</sub>	C <sub>31</sub>	C <sub>32</sub>	C <sub>33</sub>	C <sub>35</sub>	C <sub>36</sub>
Bolota inteira	1º	2,37	5,84	22,36	6,70	59,67	2,87	4,23	0,58	1,34	0,00	0,00
Bolota miolo	1º	2,88	4,16	4,99	4,17	5,34	2,44	1,86	1,02	1,89	0,17	0,00
Bolota casca	1º	5,01	14,88	73,65	16,67	233,17	7,16	12,04	2,61	3,44	0,00	0,00
Luzerna	1º	6,35	13,62	32,42	13,78	144,40	24,12	350,40	26,17	102,83	23,81	0,00
Bolota inteira	2º	2,19	5,31	21,41	6,61	62,70	2,84	4,40	0,52	1,38	0,00	0,00
Bolota miolo	2º	2,64	4,02	4,85	4,07	5,48	2,51	2,28	1,37	1,79	0,18	0,58
Bolota casca	2º	5,17	15,58	78,21	19,27	241,83	7,31	12,35	1,66	3,94	0,00	0,00
Luzerna	2º	6,08	13,26	32,19	12,42	147,71	23,09	351,60	25,84	101,22	22,68	0,00
Bolota inteira	3º	2,12	4,99	20,98	6,31	62,11	2,71	3,79	0,66	1,03	0,00	0,00
Bolota miolo	3º	2,74	4,24	4,83	4,26	5,55	2,68	1,86	1,03	2,22	1,03	0,36
Bolota casca	3º	4,20	12,72	61,72	15,27	192,10	5,92	11,33	1,79	3,12	0,00	0,00
Luzerna	3º	6,22	13,44	32,30	13,10	146,06	23,61	351,00	26,01	102,02	23,24	0,00

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

**Tabela 13.3 - Concentrações médias dos álcoois de cadeia longa presentes na bolota e na luzerna para todos os períodos (mg/kg MS).**

<b>Tipo de amostra</b>	<b>Período</b>	<b>C<sub>22</sub>OH</b>	<b>C<sub>24</sub>OH</b>	<b>C<sub>26</sub>OH</b>	<b>C<sub>28</sub>OH</b>	<b>C<sub>30</sub>OH</b>	<b>Pico x*</b>
Bolota inteira	1º P	0	90,82	18,91	15,78	20,03	191,48
Bolota miolo	1º P	0	35,20	14,66	9,46	322,67	214,33
Bolota casca	1º P	0	287,52	45,80	54,56	83,57	455,34
Luzerna	1º P	0	73,83	158,36	236,51	891,17	523,33
Bolota inteira	2º P	0	91,98	17,68	15,50	21,35	182,64
Bolota miolo	2º P	0	36,19	12,47	7,58	309,50	210,35
Bolota casca	2º P	0	313,24	47,08	50,72	76,55	443,00
Luzerna	2º P	0	64,28	153,20	233,72	865,23	427,44
Bolota inteira	3º P	0	89,12	19,07	16,60	22,56	203,92
Bolota miolo	3º P	0	37,24	13,12	8,65	293,52	206,72
Bolota casca	3º P	0	249,32	44,44	46,18	82,21	442,08
Luzerna	3º P	0	58,34	142,61	215,11	854,34	403,47

\* Os valores apresentados não são concentrações.

UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.

Tabela 13.4 - Composição química dos refugos recolhidos ao longo do ensaio *in vivo* (% MS).

Período	Animal	Tratamento	% Matéria seca	Cinzas totais (% MS)	Proteína total (% MS)	NDF (% MS)
1°	1	T1	57,11	1,24	3,20	33,59
	2	T1	56,68	1,17	2,83	35,13
	3	T1	59,94	1,21	2,56	38,95
	4	T2	62,30	2,72	3,45	39,85
	5	T2	61,39	2,20	3,38	40,35
	6	T2	59,66	2,17	3,15	39,02
	7	T3	57,47	3,11	3,93	36,25
	8	T3	60,12	3,17	3,94	36,69
	9	T3	57,41	2,85	3,49	29,52
2°	1	T3	55,65	3,30	4,34	22,14
	2	T3	62,62	3,34	4,32	28,83
	3	T3	55,14	2,75	3,47	29,46
	4	T1	57,33	1,19	2,47	32,96
	5	T1	536,06	10,50	22,75	318,11
	6	T1	60,25	1,21	2,49	34,99
	7	T2	50,71	1,71	3,02	29,04
	8	T2	57,74	1,83	2,68	32,84
	9	T2	60,11	1,83	2,93	33,81
3°	1	T2	56,67	2,45	3,98	27,61
	2	T2	57,36	2,26	3,48	27,70
	3	T2	60,14	2,29	3,40	32,38

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

**Tabela 13.5 - Composição química das fezes totais ao longo do ensaio *in vivo* (% MS).**

Período	Animal	Tratamento	% Matéria seca	Cinzas totais (% MS)	Proteína total (% MS)	NDF (% MS)
1°	1	T1	31,88	2,09	6,34	13,00
	2	T1	27,64	1,82	6,28	8,73
	3	T1	28,28	2,17	6,39	9,02
	4	T2	26,30	2,12	5,33	9,76
	5	T2	26,21	2,02	4,52	10,14
	6	T2	28,11	2,35	5,67	10,27
	7	T3	26,29	2,04	4,81	9,48
	8	T3	25,13	1,88	5,05	8,28
	9	T3	24,39	2,22	5,21	8,62
2°	1	T3	29,43	2,08	4,76	12,30
	2	T3	29,06	2,48	5,29	9,69
	3	T3	29,97	2,27	5,38	12,80
	4	T1	25,89	1,94	5,43	9,46
	5	T1	27,61	1,96	5,22	11,40
	6	T1	29,46	2,16	5,90	9,17
	7	T2	26,37	2,08	4,77	10,72
	8	T2	26,49	2,17	5,20	8,82
	9	T2	25,26	2,13	4,61	8,32
3°	1	T2	31,15	2,14	5,04	13,25
	2	T2	31,63	2,42	5,46	12,92
	3	T2	30,99	2,28	5,71	11,29

**Tabela 13.6 - Correlação entre a recuperação fecal do alcano C<sub>31</sub> e a sua concentração no alimento ingerido.**

		RfC31	ConcIngC31
RfC31	Pearson Correlation	1	-,986
	Sig. (2-tailed)		,108
	N	3	3
ConcIngC31	Pearson Correlation	-,986	1
	Sig. (2-tailed)	,108	
	N	3	3

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

**Tabela 13.7 - Correlação entre a recuperação fecal do alcano C<sub>33</sub> e a sua concentração no alimento ingerido.**

		RfC33	ConcIngC33
RfC33	Pearson Correlation	1	,805
	Sig. (2-tailed)		,405
	N	3	3
ConcIngC33	Pearson Correlation	,805	1
	Sig. (2-tailed)	,405	
	N	3	3

**Tabela 13.8 - Peso médio / 100 bolotas (g) e relação casca:miolo na bolota (%).**

	<b>% Casca na bolota</b>	<b>% Miolo na bolota</b>	<b>Peso de 100 bolotas (g)</b>
<i>1º Período</i>	≈ 24,39	≈ 71,81	≈ 376,49
<i>2º Período</i>	≈ 23,05	≈ 74,63	≈ 367,16
<i>3º Período</i>	≈ 24,28	≈ 72,12	≈ 348,43

**UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS E ÁLCOOIS DE CADEIA LONGA PARA ESTIMAR A INGESTÃO E A DIGESTIBILIDADE EM PORCOS ALENTEJANOS.**

**Tabela 13.9 – Teste de comparação de médias para o álcool de cadeia longa C<sub>26</sub>OH para o efeito período.**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: RfC26OH

	(I) Período	(J) Período	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	1	2	-8,4089*	2,31566	,007	-14,4696	-2,3482
		3	-4,7289	2,31566	,139	-10,7896	1,3318
	2	1	8,4089*	2,31566	,007	2,3482	14,4696
		3	3,6800	2,31566	,282	-2,3807	9,7407
	3	1	4,7289	2,31566	,139	-1,3318	10,7896
		2	-3,6800	2,31566	,282	-9,7407	2,3807

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 24,130.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.