



## Estimativas da digestibilidade e consumo de matéria seca em ovinos alimentados com feno de aveia e concentrado em resposta ao método de administração de alceno externo C<sub>32</sub>

Nelson Massaru Fukumoto<sup>1</sup>, Julio Cesar Damasceno<sup>2</sup>, Lauri Roehsig<sup>3</sup>, Cristiano Côrtes<sup>4</sup>, Makoto Matsushita<sup>5</sup>, Geraldo Tadeu dos Santos<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Doutorando em Zootecnia da UEM.

<sup>2</sup> Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, av. Colombo, 5790, Maringá, Paraná, Brasil. Pesquisador do CNPq.

<sup>3</sup> Mestrando em Zootecnia da UEM.

<sup>4</sup> Departamento de Zootecnia, UEPG.

<sup>5</sup> Departamento de Química da UEM. Av. Colombo, 5790, Maringá, PR.

**RESUMO** - Este estudo foi realizado com o objetivo de estimar a digestibilidade da MS, a produção fecal e o consumo de MS em ovinos alimentados com feno de aveia e concentrado. Os tratamentos consistiram de dois métodos de administração do *n*-alceno externo (C<sub>32</sub>): *equilíbrio*; *dose pulso*. No tratamento *equilíbrio*, durante oito dias (quatro de adaptação e cinco de coleta), os animais receberam diariamente um pélete de celulose contendo 100 mg de C<sub>32</sub>. Os animais do tratamento *dose pulso* receberam um único pélete de celulose contendo 150 mg de C<sub>32</sub>, sendo realizadas amostragens de fezes diretamente do reto dos animais, durante cinco dias a intervalos de 8 horas. A concentração de *n*-alcanos internos nos ingredientes da dieta foi baixa, inferior a 50 mg/kg de MS, sendo superior no feno de aveia. Não houve efeito dos tratamentos nas estimativas de digestibilidade da MS, mas houve diferenças entre os *n*-alcanos internos utilizados, obtendo-se o melhor valor com o alceno C<sub>33</sub> (65,01%). As estimativas de produção fecal foram menos variáveis nos animais do tratamento *equilíbrio*, embora não tenha havido diferenças entre as médias dos tratamentos. O tratamento *equilíbrio* resultou em melhores estimativas do consumo de MS pelos animais, considerando-se os desvios em relação ao observado (-1,68 vs 26,14%), sendo as estimativas obtidas nos animais do tratamento *dose pulso* consideradas inadequadas.

Palavras-chave: curva de excreção fecal, dose pulso, péletes de *n*-alcanos, produção fecal

## Estimation of digestibility and dry matter intake using different methods of administration of the external alkane C<sub>32</sub> in sheep fed oat hay and concentrate

**ABSTRACT**- This experiment was conducted to estimate DM digestibility, fecal output, and DM intake of sheep fed a diet containing oat hay and concentrate. Treatments consisted of two methods of administration of the external marker alkane (C<sub>32</sub>): equilibrium and pulse dose. In the equilibrium treatment, animals received one daily pellet of cellulose containing 100 mg of C<sub>32</sub> during eight days (four days for reach steady state conditions and five days for sample collection). Animals in the pulse dose treatment received only one pellet of cellulose containing 150 mg of C<sub>32</sub> followed by 5 days of fecal collection with 8 hours intervals between sampling. Concentrations of most of the internal *n*-alkanes in the dietary ingredients were lower than 50 mg/kg DM and were greater on oat hay compared to the concentrate. No significant differences for estimation of DM digestibility were observed between treatments. However, there were significant differences among the internal *n*-alkanes for estimation of DM digestibility. Only the alkane C<sub>33</sub> was able to estimate a value of DM digestibility that did not differ of that measured through total fecal collection. Estimates of fecal output were less variable in the equilibrium treatment but no difference was detected between treatment means. The equilibrium treatment resulted in better estimates of DM intake because of the smaller deviation (observed - estimated/observed x 100) compared to the pulse dose method (-1.68 vs. 26.14%) that was considered inadequate.

Key Words: fecal excretion curve, fecal output, *n*-alkanes pellets, pulse dose

### Introdução

O potencial dos *n*-alcanos em estudos de nutrição de ruminantes tem sido evidenciado na literatura (Mayes et al,

1986; Dove & Mayes, 1991) por permitirem, ao mesmo tempo, estimar o consumo de MS e a composição da dieta consumida quanto aos seus ingredientes orgânicos. Isto é possível combinando-se, em um mesmo estudo, *n*-alcanos

fornecidos externamente aos animais com aqueles presentes naturalmente nas forragens (Dove & Mayes, 1991).

O uso de indicadores externos, principalmente óxido de cromo, para estimar a produção fecal é comum em estudos de nutrição animal. Recentemente, os *n*-alcanos têm sido realizados para este fim em estudos de estimação de consumo, sobretudo com animais a pasto (Damasceno et al., 2001).

Como a maioria dos trabalhos com alcanos tem sido realizada com espécies forrageiras de clima temperado, várias pesquisas têm sido conduzidas no Brasil com o objetivo de avaliar a técnica em condições tropicais (Damasceno et al., 2001; Côrtes, 2002; Paine et al., 2002; Fukumoto, 2004; Fukumoto et al. 2004a; Fukumoto et al., 2004b; Fukumoto et al., 2004c; Damasceno et al., 2004).

Há evidências de que, em condições tropicais, é possível utilizar a técnica para estimar a composição de dietas para ruminantes compostas de gramíneas e leguminosas ou mesmo detectar diferentes porções da planta consumidas pelo animal (Côrtes et al., 2005a).

Estimativas do consumo, da digestibilidade da MS e da composição da dieta são sensíveis aos *n*-alcanos utilizados nos cálculos (Côrtes et al., 2005b, c; Paine et al., 2002; Fukumoto, 2004). A análise de variáveis canônicas constitui-se em um método seguro para a escolha dos *n*-alcanos a serem utilizados nos cálculos (Fukumoto, 2004). Outra fonte de variação importante que deve afetar a qualidade das estimativas é o método de preparo de péletes, como demonstrado por Fukumoto et al. (2004).

O método de fornecimento de indicadores externos aos animais também consiste em importante fonte de variação nos resultados. Em alguns estudos, são fornecidas diariamente quantidades constantes de indicador aos animais com o objetivo de estabelecer uma condição de equilíbrio das concentrações do indicador no trato digestório e nas fezes dos animais (Fukumoto, 2004). Em outros, é utilizada apenas uma dose, denominada *dose pulso*, e são realizadas amostragens de fezes a intervalos de tempo curtos, normalmente de 3 a 4 horas, durante 5 a 7 dias, compondo posteriormente a curva de excreção do indicador nas fezes (Galyean, 1993; Detmann et al., 2001). Com esta curva, é possível calcular a excreção fecal diária do indicador e parâmetros da cinética da fase sólida no trato digestório dos animais (Galyean, 1993).

O objetivo neste estudo foi estudar a qualidade das estimativas da digestibilidade da MS, a produção fecal e o consumo de MS em ovinos alimentados com feno de aveia e concentrado em resposta ao método de administração de *n*-alcano externo.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado no setor de Ovinocultura e Caprinocultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá (UEM/Maringá-PR).

Foram comparadas duas formas de administração do *n*-alcano externo aos animais, compondo os tratamentos *equilíbrio* e *dose pulso*. No tratamento *equilíbrio*, os animais receberam diariamente péletes de celulose impregnados com 100 mg do alcano C<sub>32</sub> (dotriacontano 97% - Acros Organics), garantindo-se o equilíbrio das concentrações do indicador no trato digestório e nas fezes dos animais. No tratamento *dose pulso*, os animais receberam um único pélete de celulose contendo 150 mg de C<sub>32</sub> e, em seguida, procedeu-se à amostragem de fezes.

Foram utilizados dez ovinos machos, sem raça definida e com 24,59 ± 2,78 kg de PV, em delineamento experimental inteiramente casualizado. A dieta fornecida aos animais foi composta de feno de aveia (*Avena sativa* L.) grosseiramente picado e concentrado à base de milho e farelo de soja (20% da MS total diária).

Ao início do experimento, os animais foram everminados e alojados em baias individuais (piso ripado e suspenso) com livre acesso ao bebedouro e do cocho, onde receberam sal mineral à vontade.

O período experimental foi de 18 dias. Os animais do tratamento *equilíbrio* foram mantidos em adaptação à dieta, sem administração do alcano externo, durante nove dias (quatro para estabilização do *n*-alcano externo no trato e cinco para coleta de fezes). O período de fornecimento de alcanos aos animais deste tratamento foi iniciado no 10º dia, sendo estendido até o 18º dia do experimento. Este esquema experimental foi definido a partir dos relatos de Mayes & Dove (1999) de que as concentrações de C<sub>32</sub> já estariam equilibradas a partir do 3º dia após o início do fornecimento do alcano externo.

Os animais do tratamento *dose pulso* receberam dose única do *n*-alcano externo no 13º dia, seguido de um período de coleta de fezes de cinco dias.

Durante o período experimental, os animais foram alimentados à vontade duas vezes ao dia (às 8 e 16h), permitindo-se aproximadamente 10% de sobras. A dieta fornecida e as sobras foram devidamente pesadas por animal e por dia.

A confecção dos péletes foi feita conforme técnica descrita por Mayes et al. (1986), modificada. Folhas de celulose foram cortadas em quadrados de 17 x 17 cm e colocadas em bandeja de alumínio descartáveis. Em seguida, adicionou-se solução de *n*-heptano+C<sub>32</sub> e revolveram-se

as folhas de celulose para absorção uniforme da solução. Depois de volatilizado todo o heptano, as folhas foram retiradas da bandeja e secas no interior da capela. Depois de secas, foram colocadas por 5 minutos em estufa a 105°C para melhor impregnação do alcano na celulose. Após o resfriamento, foram peletizadas com auxílio de uma prensa de formato cilíndrico 1,5 x 2,0 cm (diâmetro x altura) para facilitar a dosagem ao animal.

No tratamento dose *equilíbrio*, os péletes foram administrados aos animais oralmente uma vez ao dia (às 8h), enquanto, no tratamento *dose pulso*, foi administrada apenas uma cápsula durante toda a coleta.

As fezes foram coletadas, no tratamento *dose pulso*, diretamente do reto dos animais três vezes ao dia, em intervalos de 8 horas (8, 16 e 0 h) nos três primeiros dias e duas vezes ao dia (8 e 16 h) nos últimos dois dias de coleta, totalizando cinco dias. As diferenças nos intervalos entre as amostragens não seria um problema, tendo em vista o método de integração utilizado. Além disso, as porções mais sensíveis da curva de excreção contaram com amostragens mais frequentes (Galyean, 1993; Giraldez et al., 2004).

Todos os animais foram equipados com sacolas para coleta total de fezes. As sacolas eram esvaziadas e o conteúdo pesado e amostrado duas vezes ao dia. As quantidades coletadas diretamente do reto dos animais ao longo do dia eram pesadas e consideradas no cálculo da produção fecal diária.

Durante o período de coleta de fezes, foram coletadas diariamente amostras do feno e do concentrado fornecidos. As amostras de fezes, de feno e do concentrado foram armazenadas em *freezer* a -10°C para posteriores análises dos *n*-alcanos. Posteriormente, foram secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, sendo moídas em peneira de 1 mm.

Nos animais do tratamento *equilíbrio*, foram obtidas amostras compostas de fezes, do feno e do concentrado referentes aos cinco dias de coleta por animal.

A extração dos *n*-alcanos foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (DZO) da UEM. Para análise dos *n*-alcanos, utilizou-se a técnica descrita por Vulich et al. (1995) modificada, que se baseia no processo de saponificação direta das amostras. Amostras de 1,5 g de feno, 3 g de concentrado e 0,5 g de fezes foram pesadas em balança analítica e moídas em peneira de 1 mm. Nos frascos de 50 mL, com tampa de rosca, adicionou-se a cada amostra 0,3016 mg de tetratriacontano 99,97% (C<sub>34</sub>H<sub>70</sub> – Sigma Aldrich) diluído em 4 mL de *n*-heptano 95% (C<sub>7</sub>H<sub>16</sub>) como padrão interno. Evaporado *on*-heptano, acrescentaram-se 14 mL de solução alcoólica de hidróxido de potássio (KOH a 1,5 M). A mistura foi incubada em banho-maria a 90°C sob agitação durante 4,5 horas e resfriada à temperatura

ambiente. Em seguida, foram adicionados 20 mL de heptano e 10 mL de água destilada, mantendo-se a mistura a 60°C, sob agitação vigorosa, durante 15 minutos. Após a decantação (aproximadamente 1 hora), o sobrenadante foi coletado com uma pipeta de *pasteur* em tubos de ensaios e parcialmente evaporado. O conteúdo foi purificado em colunas de sílica-gel (200 – 400 *mesh* - Acros Organics) e suspenso em heptano com volume de leito de 10 mL. A mistura heptano + *n*-alcanos foi recuperada em balões de 50 mL e todo o heptano foi evaporado à temperatura ambiente, mantendo-se somente os hidrocarbonetos sólidos aderidos. Posteriormente, os *n*-alcanos foram rediluídos em microtubos de 2 mL com 1,5 mL de *n*-heptano 95% (C<sub>7</sub>H<sub>16</sub>).

A identificação dos *n*-alcanos das amostras foi realizada por cromatografia gasosa no Laboratório de Alimentos do Departamento de Química (DQI) da UEM. Utilizou-se cromatógrafo a gás SHIMADZU 14, com coluna capilar de sílica fundida (OV-5 de 30 m x 0,32 mm e 0,25 µm de espessura de filme) e detector de ionização de chama (FID). Os fluxos dos gases ultrapuros (White Martins) foram de 1,2 mL.min<sup>-1</sup> para o gás de arraste (H<sub>2</sub>), 30 mL.min<sup>-1</sup> para o gás auxiliar (Make-up) (N<sub>2</sub>) e 30 e 300 mL.min<sup>-1</sup> para os gases de chama, H<sub>2</sub> e ar sintético, respectivamente.

As temperaturas do injetor (INLET) e do detector (FID) foram de 300 e 315°C, respectivamente. A coluna foi operada com temperatura inicial de 220°C por 2 minutos, com aumento na razão de 5°C/minuto até 297°C. O modo de injeção foi Split (1:100) com amostra injetada (3,0 µL), manualmente, com microseringa de 10 µL.

As áreas dos picos cromatográficos correspondentes a cada *n*-alcano foram determinadas por meio de um Integrador-Processador CG-300, no qual a identificação dos *n*-alcanos de comprimento de cadeia C<sub>24</sub> a C<sub>36</sub> baseou-se na comparação com padrão (Acros Organics), pelo tempo de retenção médio, contendo os alcanos tetracosano (C<sub>24</sub>H<sub>50</sub>), hexacosano (C<sub>26</sub>H<sub>54</sub>), dotriacontano (C<sub>32</sub>H<sub>66</sub>), tetratriacontano (C<sub>34</sub>H<sub>70</sub>) e hexatriacontano (C<sub>36</sub>H<sub>74</sub>). Posteriormente, as quantidades de *n*-alcanos foram convertidas por referência ao padrão interno C<sub>34</sub>H<sub>66</sub> (0,3016 mg/amostra) e calculadas para quilograma de MS para a amostra considerada.

No tratamento *equilíbrio*, o cálculo do consumo médio diário por animal foi realizado da seguinte forma (Mayes et al., 1986):

$$\text{Consumo (gMS/dia)} = \frac{(IF \times ED)}{[(IP \times EF) - (IF \times EP)]}$$

em que: IF = alcano interno presente nas fezes (mg/kg de MS); ED = alcano externo dosado (mg/dia); IP = alcano interno presente no feno (mg/kg de MS); EF = alcano

externo presente nas fezes (mg/kg de MS); EP = alcano externo presente no feno (mg/kg de MS).

Para os animais que receberam uma única dose de *n*-alcano C32 (*dose pulso*), o consumo diário foi calculado como a seguir:

$$\text{Consumo (gMS/dia)} = \left\{ \frac{\text{produção fecal}}{[1 - (\text{digestibilidade da MS}/100)]} \right\}$$

A produção fecal foi obtida calculando-se a área da curva (concentração do indicador C32 x tempo) por meio do modelo algébrico proposto por Galyean (1993):

$$\text{Área sob a curva } [(\mu\text{g de C32/g MS de fezes}) \cdot \text{horas}] = \frac{\sum (c_i + c_p)}{2 \cdot (t_i - t_p)}$$

em que:  $c_i$  = concentração na hora  $i$  ( $\mu\text{g de C32/g MS de fezes}$ );  $c_p$  = concentração na hora de coleta prévia ( $\mu\text{g de C32/g MS de fezes}$ );  $t_i$  = tempo (horas) de coleta  $i$ ;  $t_p$  = tempo de coleta prévio (horas).

A produção fecal por hora foi calculada como a dose de C32 fornecida ao animal (150 mg) dividida pela área sob a curva. Segundo Galyean (1993), este método permite esquemas de amostragens de fezes mais espaçados, sem prejudicar a qualidade das estimativas.

A digestibilidade aparente da MS ( $\text{CDMS}_{\text{AP}}$ ) foi determinada da seguinte forma:

$$\text{CDMS}_{\text{AP}} (\%) = \left[ \frac{\text{MS}_i - \text{MSe}}{\text{MS}_i} \right] \times 100,$$

em que  $\text{CDMS}_{\text{AP}}$  = coeficiente de digestibilidade aparente da MS;  $\text{MS}_i$  = MS ingerida;  $\text{MSe}$  = MS excretada.

Na digestibilidade da MS estimada pelos alcanos, foi utilizada a equação proposta por Mayes & Lamb (1984), utilizando-se as seguintes combinações de *n*-alcanos internos: C29, C31, C33 e C35 (1); C29, C31 e C33 (2); C29, C31 (3); C31, C33 e C35 (4); C31 e C33 (5); C33 e C35 (6); C29 (7); C31 (8); C33 (9); C35 (10).

$$\text{CDMS}_{\text{Alcano}} (\%) = [1 - (\text{ID}/\text{IF})] \times 100,$$

em que:  $\text{CDMS}_{\text{Alcano}} (\%)$  = coeficiente de digestibilidade da MS;  $\text{ID}$  = alcano interno presente na dieta (mg/kg MS);  $\text{IF}$  = alcano interno presente nas fezes (mg/kg MS).

Os efeitos dos tratamentos sobre as estimativas da digestibilidade da MS, da produção fecal e do consumo de MS foram estudados mediante análise de variância utilizando-se o programa computacional SAEG 5.0 - Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (Euclides, 1983), considerando-se um delineamento completamente casualizado com cinco repetições por tratamento, conforme o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij},$$

em que:  $Y_{ij}$  = resposta observada no animal  $j$  do método de

administração de *n*-alcano externo  $i$ ;  $T_i$  = efeito do método de administração de *n*-alcano externo  $i$  ( $i = 1, 2$ );  $e_{ij}$  = erro aleatório associado a cada observação.

As médias foram comparadas pelo teste F e pelo teste  $t$  a 5% de significância.

## Resultados e Discussão

O feno de aveia, para todos os *n*-alcanos, apresentou as maiores concentrações comparadas ao concentrado (Tabela 1). Os *n*-alcanos ímpares apresentaram concentrações superiores às dos pares. O perfil das concentrações de *n*-alcanos encontrados nos alimentos utilizados esteve de acordo com os relatos da literatura (Mayes et al., 1986; Oliveira et al., 1997; Côrtes, 2002). Os alcanos ímpares, principalmente C<sub>29</sub>, C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub>, foram os encontrados em maiores concentrações. A magnitude dos valores encontrados é considerada baixa, inferior ao valor mínimo desejável, de 50 mg/kg de MS, para que os erros analíticos sejam minimizados (Laredo et al., 1991). Esta situação agrava quando se considera que 20% da dieta foi composta de concentrado, cujos teores de *n*-alcanos foram insignificantes.

Esses resultados evidenciaram que forragens conservadas apresentam menores concentrações de *n*-alcanos, se comparadas à sua forma natural, visto que espécies forrageiras possuem, normalmente, concentrações superiores a 100 mg/kg MS para os alcanos ímpares, individualmente, com concentrações totais de *n*-alcanos, superando, muitas vezes, 500 mg/kg de MS (Damasceno et al., 2001). Ressalta-se que erros associados ao uso dos *n*-alcanos em estudos de nutrição animal são minimizados quanto maior as concentrações na dieta e quanto maior a molécula (Laredo et al., 1991). Oliveira & Salatino (2000) comentaram que os *n*-alcanos são componentes da cera cuticular das plantas, estrutura superficial relacionada à redução das perdas de água da planta pela respiração cuticular, sensível às condições ambientais. Portanto, considerando o estágio de maturação no momento do corte e o próprio processo de fenação, modificações no perfil de *n*-alcanos poderiam ocorrer. No entanto, Oliveira et al. (1997) destacaram que a biossíntese dos compostos formadores das ceras naturais ainda permanece muito especulativa, sendo necessários mais estudos para elucidar as vias bioquímicas das ceras naturais na maior parte dos organismos.

Na Tabela 2 são apresentadas as concentrações médias dos principais *n*-alcanos encontrados nas fezes dos animais experimentais. Os valores obtidos para a razão entre alcanos os *n*-alcanos internos (ímpares) foram semelhantes

Tabela 1 - Perfil de *n*-alcanos (mg/kg de MS) nos alimentos utilizadosTable 1 - Profile of *n*-alkanes (mg/kg DM) of the dietary feeds

<i>n</i> -alcano <i>n</i> -alkane	Alimento <i>Feed</i>	
	Feno de aveia <i>Oat hay</i>	Concentrado <i>Concentrate</i>
C <sub>24</sub>	18,23A	10,39B
C <sub>25</sub>	21,42A	3,89B
C <sub>26</sub>	10,50A	1,20B
C <sub>27</sub>	15,43A	0,39B
C <sub>28</sub>	11,40A	6,59B
C <sub>29</sub>	74,02A	1,32B
C <sub>30</sub>	3,32A	0,38B
C <sub>31</sub>	31,55A	1,53B
C <sub>32</sub>	2,10A	n.d. <sup>2</sup>
C <sub>33</sub>	17,01A	3,82B
C <sub>35</sub>	6,23A	n.d.

<sup>1</sup> Médias nas linhas seguidas de letras distintas diferem (P<0,05) pelo teste F.

<sup>1</sup> Means within a row followed by different letters differ (P<0.05) by F test.

<sup>2</sup> n.d.: não detectado.

<sup>2</sup> n.d. not detected.

Tabela 2 - Concentração média de *n*-alcanos nas fezes<sup>1</sup>Table 2 - Average concentration of *n*-alkanes in feces

Animais <i>Animals</i>	<i>n</i> -alcanos (mg/kg MS) <i>n</i> -alkanes (mg/kgDM)				
	C <sub>29</sub>	C <sub>31</sub>	C <sub>32</sub>	C <sub>33</sub>	C <sub>35</sub>
	Dose pulso <sup>2</sup> <i>Pulse dose</i>				
1	47,06	35,00	146,80	37,67	13,21
3	62,06	42,34	165,02	40,61	12,37
5	69,95	43,28	110,04	35,92	10,56
8	68,38	40,37	124,03	36,33	12,32
9	57,49	35,09	90,46	33,66	11,58
Média	60,99	39,22	127,27	36,84	12,01
<i>Average</i>					
	Equilíbrio <i>Equilibrium</i>				
2	40,71	54,10	433,41	53,11	n.d. <sup>3</sup>
4	36,70	48,45	432,59	44,10	11,80
6	38,68	41,35	228,54	38,82	7,95
7	33,99	41,35	344,01	49,01	13,55
10	43,69	49,35	496,41	51,22	11,68
Média	38,75	46,92	386,99	47,25	9,00
<i>Average</i>					

<sup>1</sup> Não-corrigidos para recuperação fecal.

<sup>2</sup> Média de cinco dias de colheita.

<sup>3</sup> n.d.: não-detectado.

<sup>1</sup> Not corrected for fecal recovery.

<sup>2</sup> Mean of five collected days.

<sup>3</sup> n.d. not detected.

entre os tratamentos, enquanto, para *on*-alcano C<sub>32</sub>, foram superiores para o método *equilíbrio*, o que era esperado, pois os animais do tratamento *dose pulso* receberam uma única dose de 150 mg de *n*-alcano C<sub>32</sub> e tiveram suas fezes amostradas nos cinco dias subsequentes.

Como não houve efeito dos tratamentos sobre as estimativas da digestibilidade da MS utilizando-se os *n*-alcanos internos da planta, os valores apresentados na Tabela 3 referem-se às médias dos tratamentos. Para os cálculos de digestibilidade, a excreção fecal dos *n*-alcanos foi corrigida para as taxas de recuperação fecal (Fukumoto, 2004), como a seguir: 73,67; 84,98; 89,45 e 92,70%, para os *n*-alcanos C<sub>29</sub>, C<sub>31</sub>, C<sub>33</sub> e C<sub>35</sub>, respectivamente. Estes valores são semelhantes ao relatados por Mayes et al. (1986) para ovinos.

O único *n*-alcano que resultou em digestibilidade da MS semelhante à obtida pelo método de coleta total de fezes foi o C<sub>33</sub> (65,01 vs 67,78%).

A melhor estimativa de digestibilidade quando se utilizou o *n*-alcano C<sub>33</sub> se deve, em parte, ao comprimento da cadeia da molécula e à concentração na dieta. Os alcanos C<sub>29</sub> e C<sub>31</sub>, embora em maiores concentrações, resultaram em estimativas de baixa qualidade. O maior comprimento de cadeia do alcano C<sub>35</sub>, comparado ao alcano C<sub>33</sub>, não foi suficiente para compensar sua menor concentração na dieta, o que, segundo Fukumoto (2004), evidencia a necessidade de se definir critérios seguros para a escolha dos *n*-alcanos a serem utilizados nos cálculos de digestibilidade da MS. Segundo esse autor, para estimativas de digestibilidade da MS, deve-se dar preferência *an*-alcanos de cadeias mais longas, que são recuperados nas fezes em maior taxa e são mais estáveis nas análises laboratoriais.

Como demonstrado nas Figuras 1 a 3, o melhor método de cálculo da digestibilidade utilizando-se os *n*-alcanos internos foi quando se utilizou o *n*-alcano C<sub>33</sub> isoladamente, que resultou em menores valores de desvios entre o valor observado e o estimado.

Tabela 3 - Estimativas da digestibilidade (MS) utilizando-se diferentes *n*-alcanos internos nos cálculosTable 3 - Estimation of DM digestibility using different combinations of intern *n*-alkanes

	<i>n</i> -alcanos <i>n</i> -alkanes	Digestibilidade (% MS) <i>Digestibility (% DM)</i>
1	C <sub>29</sub> , C <sub>31</sub> , C <sub>33</sub> e C <sub>35</sub>	48,18d
2	C <sub>29</sub> , C <sub>31</sub> e C <sub>33</sub>	44,40e
3	C <sub>29</sub> e C <sub>31</sub>	19,96g
4	C <sub>31</sub> , C <sub>33</sub> e C <sub>35</sub>	56,59c
5	C <sub>31</sub> e C <sub>33</sub>	62,13b
6	C <sub>33</sub> e C <sub>35</sub>	55,79c
7	C <sub>29</sub>	24,41g
8	C <sub>31</sub>	39,63f
9	C <sub>33</sub>	65,01a
10	C <sub>35</sub>	56,32c
Observado		67,78a
<i>Observed</i>		

Médias, nas colunas, seguidas de letras distintas diferem (P<0,05) pelo teste T.

Means, within a column, followed by different letters differ (P<0.05) by T test.

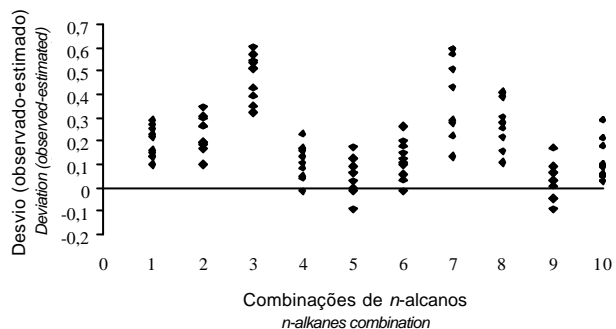


Figura 1 - Desvios percentuais da digestibilidade da MS (observado-estimado), em função das diferentes combinações dos n-alcenos internos utilizadas nos cálculos: 1 - C<sub>29</sub>, C<sub>31</sub>, C<sub>33</sub> e C<sub>35</sub>; 2 - C<sub>29</sub>, C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub>; 3 - C<sub>29</sub>, C<sub>31</sub>; 4 - C<sub>31</sub>, C<sub>33</sub> e C<sub>35</sub>; 5 - C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub>; 6 - C<sub>33</sub> e C<sub>35</sub>; 7 - C<sub>29</sub>; 8 - C<sub>31</sub>; 9 - C<sub>33</sub>; 10 - C<sub>35</sub>.

Figure 1 - Deviations (observed-estimated) of DM digestibility according to different combinations of intern n-alkanes used in the calculation: 1 - C<sub>29</sub>, C<sub>31</sub>, C<sub>33</sub> and C<sub>35</sub>; 2 - C<sub>29</sub>, C<sub>31</sub> and C<sub>33</sub>; 3 - C<sub>29</sub> and C<sub>31</sub>; 4 - C<sub>31</sub>, C<sub>33</sub> and C<sub>35</sub>; 5 - C<sub>31</sub> and C<sub>33</sub>; 6 - C<sub>33</sub> and C<sub>35</sub>; 7 - C<sub>29</sub>; 8 - C<sub>31</sub>; 9 - C<sub>33</sub>; 10 - C<sub>35</sub>.

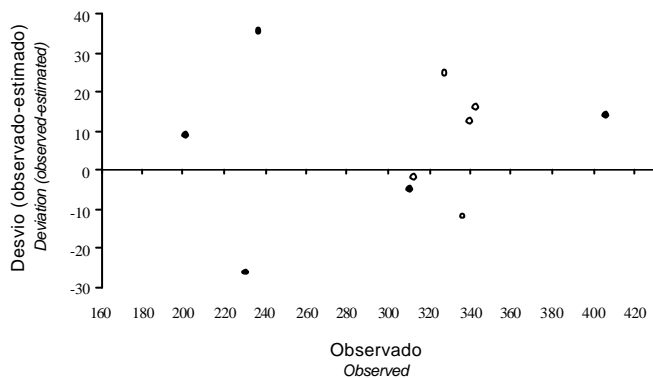


Figura 2 - Desvios da produção fecal [(% do observado)/observado x 100] para os tratamentos *Dose pulso* (símbolos fechados) e *Equilíbrio* (símbolos abertos).

Figure 2 - Fecal output deviations [% of observed/observed x 100] for the pulse dose (closed symbols) and equilibrium (open symbols) treatments.

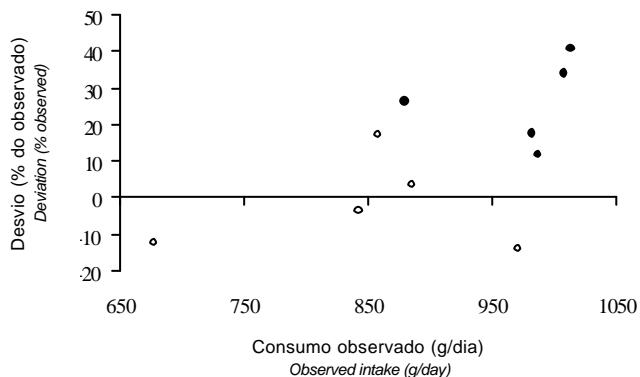


Figura 3 - Desvios do consumo de MS [(observado-estimado)/observado x 100] nos tratamentos *dose pulso* (símbolos fechados) e *equilíbrio* (símbolos abertos).

Figure 3 - DM intake deviations [observed-estimated/observed x 100] for the pulse dose (closed symbols) and equilibrium (open symbols) treatments.

A escolha dos alcanos a serem utilizados nos cálculos pode levar a erros grosseiros nas estimativas. A qualidade das estimativas parece muito sensível à inclusão do *n*-alcano C<sub>29</sub>. Alcanos de cadeias mais curtas tendem a comprometer a qualidade das estimativas em estudos de consumo, composição e digestibilidade de dietas, pois são mais instáveis no trato digestório dos animais e durante as análises laboratoriais (Fukumoto et al., 2004a).

A partir do alcano externo fornecido (C<sub>32</sub>), foi possível estimar a excreção fecal dos animais (Tabela 4 e Figura 2). Não houve diferença entre os tratamentos quanto à produção fecal observada e a estimada, embora a produção fecal nos animais do tratamento *dose pulso* tenha sido mais variável (Figura 2).

Como representado na Tabela 5 e na Figura 3, o consumo de MS observado dos animais do tratamento *dose pulso* foi superior ao daqueles do tratamento *equilíbrio*, enquanto o consumo estimado, no entanto, não diferiu entre tratamentos (P>0,05).

O melhor resultado para os desvios entre os valores observados e os estimados foi obtido com o tratamento *equilíbrio*. O tratamento *dose pulso* resultou em consumo de MS subestimado (figura 3) e em valores de desvios, em relação aos consumos observados (reais), considerados excessivos.

Embora não tenha havido efeito dos tratamentos na estimativa da digestibilidade da MS com alcanos internos, o método *equilíbrio* propiciou as melhores estimativas para o consumo de MS pelos animais, indicando que o cálculo de consumo, considerando os alcanos externo e interno adjacentes (C<sub>32</sub> e C<sub>33</sub>), sem correção para a taxa de recuperação fecal seria o método menos sujeito a erros de

Tabela 4 - Valores médios da produção fecal observada, estimada a partir do *n*-alcano C<sub>32</sub>, e dos desvios entre produção fecal observada e estimada

Table 4 - Mean values of observed (total collection) and estimated (*n*-alkane C<sub>32</sub>) fecal output and deviations between observed and estimated values

	Dose pulso (n = 5) <i>Pulse dose</i>	Equilíbrio (n = 5) <i>Equilibrium</i>	Coefficiente de variação (%) <i>Coefficient of variation</i>
Observada <sup>1</sup> (g/dia) <i>Observed (g/day)</i>	331,88	277,24	19,36
Estimada (g/dia) <i>Estimated (g/day)</i>	305,33	260,67	24,95
Desvio <sup>2</sup> (%)	7,90	5,43	-
<i>Deviation</i>			

<sup>1</sup> Produção total de fezes obtida por meio das bolsas coletoras.

<sup>2</sup> Desvio = (observado-estimado)/observado x 100.

<sup>1</sup> Total collection of feces.

<sup>2</sup> Deviation = (observed-estimated)/observed x 100.

Tabela 5 - Valores médios dos consumos de MS observado e estimado e desvio entre produção fecal observada e estimada em resposta ao método de administração de alcanos externo aos animais

Table 5 - Mean values of observed and estimated DM intake and deviation between observed and estimated values according to the method of administration of the external alkane C<sub>32</sub>

	Dose pulso (n = 5) <i>Pulse dose</i>	Equilíbrio (n = 5) <i>Equilibrium</i>	Coefficiente de variação (%) <i>Coefficient of variation</i>
Observado (g/dia) <i>Observed (g/day)</i>	973,76a	846,52b	9,27
Estimada (g/dia) <i>Estimated (g/day)</i>	776,82	870,85	14,95
Desvio <sup>2</sup> (%) <i>Deviation</i>	26,14a	-1,68b	99,8

Médias, nas linhas, seguidas de letras distintas diferem significativamente (P<0,05) pelo teste F.

Means, within a row, followed by different letters differ (P<0.05) significantly by F test.

<sup>1</sup> Desvio = (observado-estimado)/observado x 100.

<sup>2</sup> Deviation = (observed-estimated)/observed x 100.

estimação, como proposto por Mayes et al. (1986). Dove & Mayes (1991) destacaram que uma das vantagens do uso dos *n*-alcanos em relação ao óxido de cromo é que somente com as concentrações dos alcanos internos e externos nas fezes e na dieta dos animais e com as quantidades de alcano externo dosado é possível estimar o consumo sem a necessidade da determinação da digestibilidade da MS. Isto faz com que a variabilidade associada à estimação da digestibilidade não seja adicionada às estimativas de consumo.

Importantes fontes de variação podem comprometer o uso de *n*-alcanos em estudos de nutrição de ruminantes. Além das baixas concentrações de alcanos na dieta, valores incorretos de recuperação fecal e a variação da quantidade de C<sub>32</sub> nos péletes fornecidos aos animais constituem-se importantes fontes de variação. Fukumoto et al. (2004b) demonstraram os efeitos dos métodos de preparo de péletes de celulose impregnada com C<sub>32</sub> na variabilidade da concentração entre péletes. O método de preparo dos péletes utilizados neste experimento seria um dos mais variáveis, indicando que, em estudos futuros, maior cuidado na confecção dos péletes garantiria resultados mais satisfatórios, principalmente no tratamento *dose pulso*, em que se usa uma única dosagem de C<sub>32</sub>.

## Conclusões

A estimativa da digestibilidade da MS não depende do método de fornecimento de *n*-alcano externo (C<sub>32</sub>), mas é muito sensível aos *n*-alcanos internos utilizados. As melhores estimativas são obtidas com o alcano C<sub>33</sub>.

O fornecimento do *n*-alcano externo em dose única (*dose pulso*) resulta em estimativas inadequadas do consumo de MS, motivo pelo qual o método indicado para alcance do equilíbrio das concentrações do *n*-alcano no trato digestório dos animais é o fornecimento diário do referido *n*-alcano.

## Literatura Citada

- CÔRTEZ, C. **Perfil e potencial discriminatório em cinco espécies e frações de plantas forrageiras tropicais**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2002. 64p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, 2002.
- CÔRTEZ, C.; DAMASCENO, J.C.; FUKUMOTO, N.M. et al. Potencial discriminatório dos *n*-alcanos em plantas forrageiras tropicais por análises multivariadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1079-1087, 2005a.
- CÔRTEZ, C.; DAMASCENO, J.C.; PAINE, R.C. et al. Uso de *n*-alcanos na estimativa da composição botânica em amostras com diferentes proporções de *Brachiaria brizantha* e *Arachis pintoi*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1468-1474, 2005b.
- CÔRTEZ, C.; DAMASCENO, J.C.; BECHET, G. et al. Species composition in ryegrass (*Lolium perenne*)/tall fescue (*Festuca arundinacea*) mixtures using various combinations of *n*-alkanes. **Grass and Forage Science**, v.60, p.254-261, 2005c.
- DAMASCENO, J.C.; CÔRTEZ, C.; SANTOS, G.T. et al. Estimação do consumo em ruminantes alimentados com dietas suplementadas, com o uso da técnica de *n*-alcanos. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 1., 2001, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.286-299.
- DAMASCENO, J.C.; FUKUMOTO, N.M.; QUEIROZ, M.F.S. et al. Digestibilidade da matéria seca determinada pelos *n*-alcanos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2004]. CD-ROM.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1600-1609, 2001.
- DOVE, H.; MAYES, R.W. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition herbivores: a review. **Australian Journal of Agriculture Research**, v.42, p.913-952, 1991.
- FUKUMOTO, N.M.; DAMASCENO, J.C.; CÔRTEZ, C. et al. Uso da técnica de *n*-alcanos para estimar a composição botânica em ovinos alimentados com diferentes proporções de *Brachiaria decumbens* e *Arachis pintoi*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2004c] CD-ROM.
- FUKUMOTO, N.M. **Uso de *n*-alcanos para estimar o consumo da matéria seca e composição da dieta em ovinos alimentados com fenos de *Brachiaria decumbens* e *Arachis pintoi***. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2004. 50p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, 2004.
- FUKUMOTO, N.M.; DAMASCENO, J.C.; ROEHSIG, L. et al. Uso de *n*-alcanos para estimar o consumo da matéria seca em ovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2004a]. CD-ROM.

- FUKUMOTO, N.M.; QUEIROZ, M.F.S.; DAMASCENO, J.C. et al. Avaliação de diferentes matrizes de veiculação de alcano externo C32. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2004b]. CD-ROM.
- GALYEAN, M.L. An algebraic method for calculating fecal output from a pulse dose of an external marker. **Journal of Animal Science**, v.71, p.3466-3469, 1993.
- LAREDO, M.A.; SIMPSON, D.J.; ORPIN, C.G. The potential for using *n*-alkanes in tropical forages as a marker for the determination of dry matter by grazing ruminants. **Journal Agricultural Science**, v.117, p.355-361, 1991.
- MAYES, R.W.; LAMB, C.S. The possible use of *n*-alkanes in herbage as indigestible faecal markers. **Production Nutritional Society**, v.49, 1984.
- MAYES, R.W.; LAMB, C.S.; GOLGROVE, P.M. The use of herbage *n*-alkanes as markers for the determination of herbage intake. **Journal Agricultural Science**, v.107, p.161-170, 1986.
- MAYES, R.W.; DUNCAN, A.J. New developments in the use of plant-wax markers to determine intake. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM NUTRITION OF HERBIVORES, 5., 1999, San Antonio, Texas. **Anais...** San Antonio: 1999. (CD-ROM).
- PAINÉ, R.C.; MANARA JR., J.; RÊGO, F.C.A. et al. Perfil de *n*-alcanos em diferentes proporções de *Brachiaria brizantha* e *Arachis pintoi*. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 11., 2002, Maringá, **Anais...** Maringá: PIBIC/CNPq, [2002]. CD-ROM.
- OLIVEIRA, D.E.; PRATES, E.R.; PERALBA, M.C.R. Identificação de *n*-alcanos presentes nas ceras de plantas forrageiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, p.881-886, 1997.
- OLIVEIRA, F.; SALATINO, A. Major constituents of the foliar epicuticular waxes of species from the Caatinga and Cerrado. **Zeitschrift für Naturforschung**, v.55, p.688-692, 2000.
- EUCLYDES, R.F. **Manual de utilização do programa SAEG (Sistema de Análise Estatística e Genética)**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1983. 59p.
- VULICH, S.A.; HANRAHAN, J.P.; CROWLEY, B.A. Modification of the analytical procedures for the determination of herbage and fecal *n*-alkanes used in the estimation of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, v.124, p.71-77, 1995.

---

Recebido: 04/05/05  
Aprovado: 17/07/06