

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

USO DOS N-ALCANOS EM COMPARAÇÃO AO MÉTODO
CONVENCIONAL PARA DETERMINAR A
DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES DE FENOS EM
EQUINOS

Autor: Leonir Bueno Ribeiro
Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Furtado

M A R I N G Á
Estado do Paraná - Brasil
Dezembro de 2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

USO DOS N-ALCANOS EM COMPARAÇÃO AO MÉTODO
CONVENCIONAL PARA DETERMINAR A
DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES DE FENOS EM
EQUINOS

Autor: Leonir Bueno Ribeiro
Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Furtado

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual de Maringá – Área de Concentração: Produção Animal.

M A R I N G Á
Estado do Paraná - Brasil
Dezembro de 2008

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

R484u	<p>Ribeiro, Leonir Bueno</p> <p> Uso dos <i>n</i>-alcanos em comparação ao método convencional para determinar a digestibilidade de nutrientes de fenos em eqüinos / Leonir Bueno Ribeiro. -- Maringá : [s.n.], 2008. 63 f. : figs., tabs.</p> <p> Orientador : Prof. Dr. Carlos Eduardo Furtado. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-graduação em Zootecnia, 2008.</p> <p> 1. Cavalos. 2. Eqüinos - Digestibilidade. 3. Eqüinos - Nutrição. 4. Eqüinos - <i>n</i>-alcanos. 5. Eqüinos - Indicador interno. I. Furtado, Carlos Eduardo, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-graduação em Zootecnia. III. Título.</p> <p>CDD 21.ed. 636.1085</p>
-------	---



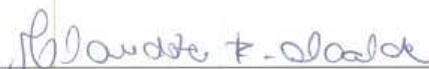
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

USO DOS N-ALCANOS EM COMPARAÇÃO AO MÉTODO
CONVENCIONAL PARA DETERMINAR A
DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES DE FENOS EM
EQUINOS


Autor: Leonir Bueno Ribeiro
Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Furtado

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 19 de Dezembro de 2008.


Prof.^a Dr.^a Claudete Regina Alcalde


Prof.^a Dr.^a Roberta Ariboni Brandi


Prof. Dr. Carlos Eduardo Furtado
(Orientador)

“Meus olhos sabem dizer o que estou sentindo;

*E o silêncio dos meus lábios é parceiro dos
ouvidos; Que absorvem as palavras mal
medidas; Às vezes ditas sem querer ou sem
motivo; Presto atenção, escuto muito e pouco
falo; Quando me calo é que aprendo o que
preciso; Toda quietude revela sabedoria; Não
tem valia a pretensão de se dizer; Pois cada
um melhora um pouco a cada dia; E a gente
sempre vai ter coisas pra aprender; Se nessa
vida, uma palavra mal medida; É sempre um
ponto de partida pra se pôr tudo a perder;
Bem ao contrário, a vivência nos ensina; Se
ver no espelho é dar asas ao saber; Meus
lábios sábios dão lugar aos meus ouvidos;
Feito aprendizes, sabem quando se calar;
Pois vem dos braços todo esforço que preciso
Está nos olhos o que tenho que fala;
Para entender o que absorvem meus ouvidos;
Mirem no fundo da expressão do meu olhar;
Já que a experiência corre em todos os
sentidos; Me paro quieto e convido o coração
pra conversar...”*

Zeca Alves / Érlon Péricles

**À minha mãe Cleusa Araldi Ribeiro
Ao meu pai Nicanor Bueno Ribeiro**

Pela dedicação, amor, apoio, confiança para
realização de mais uma meta de vida

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que nas noites mais difíceis trouxe conforto e calma ao meu espírito, para que a cada dia conseguisse superar minhas etapas e provações.

Aos meus pais, Nicanor Bueno Ribeiro e Cleusa Araldi Ribeiro, os quais, tenho imenso amor e respeito, possibilitado a realização de mais esta meta em minha vida, depositando amor e confiança nas decisões difíceis.

Ao orientador professor e amigo Dr. Carlos Eduardo Furtado, pela dedicada orientação, pela confiança, apostando e trazendo apoio.

A todos os amigos que de uma forma ou outra ajudaram na formação e realização deste trabalho.

Aos demais professores e funcionários do departamento de Zootecnia, que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

LEONIR BUENO RIBEIRO, filho de Nicanor Bueno Ribeiro e Cleusa Araldi Ribeiro, nasceu no dia 30 do mês de novembro de 1979, na cidade de Céu Azul, Estado do Paraná, onde residiu até o ano de 2001.

Deste muito cedo começou a demonstrar gosto pelas coisas de campo, primeiramente acompanhando a rotina e os acontecimentos de uma casa agropecuária, na qual seu pai era proprietário.

Depois com a idade de 13 anos começou a participar de decisões em propriedade rural pertencente a sua família, onde passou a ajudar no manejo de bovinos de corte, ovinos e equinos; aprendeu a montar e trabalhar com cavalos.

Iniciou as atividades no curso de Zootecnia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná UNIOESTE, em fevereiro de 2001, onde passou a despertar ainda mais o interesse e busca por novos conhecimentos relacionados aos animais; concluindo a graduação em dezembro de 2005, e iniciando o mestrado pela Universidade Estadual Maringá UEM em 2006.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO	13
LITERATURA CITADA.....	20
OBJETIVO GERAL	23
VIABILIDADE DE USO DO <i>N</i> -ALCANOS COMO INDICADORES INTERNOS EM EQUINOS	24
RESUMO.....	24
ABSTRACT.....	25
INTRODUÇÃO	26
MATERIAS E MÉTODOS	28
RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
CONCLUSÕES	44
LITERATURA CITADA.....	45

COMPARATIVO DE DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL COM USO DE N-ALCANOS E OUTROS INDICADORES INTERNOS.....	49
RESUMO.....	49
ABSTRACT.....	50
INTRODUÇÃO	51
MATERIAL E MÉTODOS	53
RESULTADO E DISCUSSÃO	55
CONCLUSÃO	60
LITERATURA CITADA.....	61

LISTA DE TABELAS

VIABILIDADE DE USO DO *N*-ALCANOS COMO INDICADORES INTERNOS EM EQUINOS

	Página
Tabela 1. Composição química - bromatológica dos alimentos usados nas dietas experimentais expressos em porcentagem de Matéria Seca (% MS).....	29
Tabela 2. Concentração de <i>n</i> -alcanos (mg/kgMS) em amostras <i>Cynodon dactylon</i> cv. Tifton 85 e <i>Medicago Sativa</i> e suas respectivas misturas fornecidas para equinos.....	32
Tabela 3. Médias para a recuperação fecal dos <i>n</i> -alcanos C ₂₄ a C ₃₆ em equinos alimentados com fenos de <i>Cynodon dactylon</i> cv. Tifton 85 e <i>Medicago Sativa</i>	33
Tabela 4. Valores de coeficiente de digestibilidade aparente total da matéria seca e suas estimadas com uso dos <i>n</i> -alcanos	35
Tabela 5. Valores de coeficiente de digestibilidade aparente total da proteína bruta e suas estimadas com uso dos <i>n</i> -alcanos.....	38
Tabela 6. Valores de coeficiente de digestibilidade aparente total da fibra em detergente neutro e suas estimadas com uso dos <i>n</i> -alcanos.....	39
Tabela 7. Valores de coeficiente de digestibilidade aparente total da fibra em detergente ácido e suas estimadas com uso dos <i>n</i> -alcanos.....	41
Tabela 8. Valores de coeficiente de disponibilidade aparente total da matéria mineral e suas estimadas com uso dos <i>n</i> -alcanos	42

COMPARATIVO DE DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL COM USO DE *N*-ALCANOS E OUTROS INDICADORES INTERNOS

Tabela 1. Composição química - bromatológica dos alimentos usados nas dietas experimentais expressos em porcentagem de Matéria Seca (% MS).....	54
Tabela 2. Coeficientes de digestibilidade obtidos pelos métodos de coleta total e <i>n</i> -alcanos.....	56
Tabela 3. Indicadores internos e respectivas taxas de recuperação.....	59

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Comportamento dos coeficientes de digestibilidade dos nutriente das dietas experimentais para os diferentes tratamentos	57

RESUMO

Objetivou-se verificar a viabilidade de uso de *n*-alcanos como indicador interno em equinos. Foram utilizados seis cavalos machos adultos em delineamento quadrado latino (6x6) alojados em gaiolas de metabolismo. Os tratamentos foram constituídos por níveis de inclusão de Feno de Tifton 85 e Feno de Alfafa, sendo: 100% Feno Tifton + 0% de Feno de Alfafa (100T), 80% Feno Tifton + 20% de Feno de Alfafa (80T:20A), 60% Feno Tifton + 40% de Feno de Alfafa (60T:40A), 40% Feno Tifton + 60% de Feno de Alfafa (40T:60A), 20% Feno Tifton + 80% de Feno de Alfafa (20T:80A) e 0% Feno Tifton + 100% de Feno de Alfafa (100A). Posteriormente, foram determinados os coeficientes de digestibilidade aparente (CD_{Ap}), coeficiente de digestibilidade com uso de *n*-alcanos (CD_{alc}) e coeficiente de digestibilidade com uso de *n*-alcanos corrigidos para recuperação fecal (CD_{alcxC}). Observou-se predomínio ($p > 0,05$) dos alcanos de maior comprimento de cadeias carbônicas e dos números ímpares em relação aos pares. Para o percentual de recuperações fecais dos *n*-alcanos, observou-se que os alcanos, C₃₀, C₃₁, C₃₂, C₃₃, C₃₅ e C₃₆, apresentaram os valores mais elevados ($p < 0,05$). Para a digestibilidade dos nutrientes, observou-se diferenças ($p < 0,05$) entre as comparações das médias com relação à escolha do alcanos. Nos equinos a recuperação fecal dos *n*-alcanos, aumentou com o aumento do comprimento da cadeia carbônica ($p < 0,05$), porém a recuperação fecal não foi completa indicando possivelmente que os *n*-alcanos sofressem degradação ao longo do trato gastrointestinal, recomendando-se desta forma a correções para realizar as estimações. Os *n*-alcanos superestimam os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes de dietas a base de forrageiras. A qualidade nutricional da dieta pode influenciar no resultado com uso desta técnica. A técnica de *n*-alcano, por apresentar reduzida taxa de recuperação e elevado custo, não se mostrou viável para utilização em testes com equinos.

Palavras chaves: Cavalos, Indicador Interno, Metodologia

ABSTRACT

The objective was to verify the viability use of *n* alkanes as internal markers in horses. There were used six adult males horses in a Latin square design (6x6) housed in cages of metabolism. The treatments consisted of levels of inclusion of Tifton 85 Hay and Alfalfa Hay, of which 100% Hay Tifton + 0% alfalfa hay (100T), 80% Hay Tifton + 20 % alfalfa hay (80T:20A), 60% Tifton Hay + 40% alfalfa hay (60T:40A); 40% Tifton Hay + 60% alfalfa hay (40T:60A), 20% Tifton Hay + 80% alfalfa hay (20T:80A) Tifton Hay and 0% + 100% alfalfa hay (100A). Later, there were evaluated the apparent digestibility coefficients (CD_{Ap}), digestibility coefficient with the use of *n* alkanes (CD_{alc}) and digestibility coefficient with the use of *n*-alkanes corrected for fecal recovery (CD_{alc}NC). There was a predominance of alkanes with greater length of carbon chains and the odd numbers in relation to even. For the percentage of fecal recoveries of *n*-alkanes it is observed that the alkanes, C₃₀, C₃₁, C₃₂, C₃₃, C₃₅ and C₃₆, showed the highest values (P <0.05). For nutrients digestibility there are significant differences for means comparison considering the choice of alkanes (P < 0.05).. In the equine the fecal recovery of *n*-alkanes, increased with increasing the length of chain carbonic (P < 0.05), but the fecal recovery was not complete possibly indicating that the *n*-alkanes degradation throughout the gastrointestinal tract, then recommending the correction to achieve the estimative The digestibility calculus were done using the total collect data and *n*-alkanes technique. The *n*-alkane technique overestimates the roughages nutrient diets digestibility coefficient. The nutrition diet quality could influence in the result using this technique. The *n*-alkane technique do not shown viability to utilization in equine tests, because of the reduced recovery tax and the elevate cost.

Key words: Horses, markers, methodology,

INTRODUÇÃO

A indústria equina envolve enorme leque de atividades na zona rural e urbana, que podem ser assim discriminadas: criação de animais (haras), proprietários, empresas agropecuárias, associações de raças, nutrição e alimentação (englobando a indústria de concentrados e premix, técnicos e propriedades produtoras de feno), provas hípcas e lazer envolvendo os *jockey* clubes, hípcas, hotéis e federações esportivas, a indústria farmacêuticas e de medicamentos, direcionados para as áreas sanitárias, a indústria do couro e de equipamentos voltados para os cavalos, prestadores de serviços especializados, os leilões e marketing e as atividades de importação e exportação, assim como a pesquisa (Furtado, 2004; CNA, 2004).

De acordo com Ribeiro (2005) as criações de equinos com finalidades distintas têm buscado melhorar cada vez mais os equinos para as mais diversas atividades sócio econômicas desenvolvidas em nosso país, procurando expressar o máximo potencial genético através de estratégias nutricionais adequadas.

A caracterização dos alimentos e avaliação de dietas é fundamental para que se tenha êxito na utilização adequada dos mesmos na alimentação dos animais. No processo de caracterização dos alimentos é importante conhecer quanto a composição química bromatológica o qual podem utilizar metodologias como propostas pela AOAC (1990) e Silva (2002), bem como quanto a presença de fatores antinutricionais ou outras características que possam limitar o uso do ingrediente na alimentação animal.

No processo de caracterização é avaliada também a capacidade que os alimentos têm em disponibilizar seus nutrientes para os processos metabólicos do organismo animal. Isto é feito, em princípio, através da determinação da digestibilidade dos nutrientes, bem como da energia. Além disso, outro ponto muito importante refere-se a avaliação da ingestão dos diferentes alimentos pelos animais, devido a caracterização

morfofisiológica do trato gastrointestinal de cada espécie, na qual os equinos são considerados não ruminantes de ceco e cólon funcionais, de hábito alimentar de pastejo contínuo, de estômago restrito o que faz com que a alimentação deva ser contínua. Assim apresentam preferência por gramíneas tenras e rasteiras (Furtado, et al. 1999).

Neste contexto, estudos sobre indicadores internos e externos têm sido realizados em ensaios de digestibilidade com equinos sob o objetivo de tornar as estimativas de digestibilidade aparente de nutrientes mais práticas e econômicas (Stein et al 2006). Existem variações qualitativas e quantitativas das dietas consumidas por herbívoros em pastejo, pois, além das plantas forrageiras estarem em constantes variações botânicas e nutritivas em função do seu estágio fisiológico, existe o fator da seletividade de pastejo (Côrtes, et al. 2005 a, b). Portanto, estimar acuradamente os recursos alimentares disponíveis e participantes das dietas, como espécies e frações de plantas, é tarefa bastante complexa, porém, fundamental em estudos de nutrição animal (Dove, 1992).

Uma correta caracterização da qualidade e quantidade de forragem consumida pelos herbívoros domésticos, obtendo-se estimativa da composição botânica e da digestibilidade, constitui relevante informação para gerenciamentos dos programas nutricionais e de produção animal, permitindo explicar as interações entre o animal e a pastagem, seja ela homogênea ou consorciada (Dove & Mayes, 1991; Lopes, et al. 2001). A digestibilidade *in vivo* é influenciada por efeitos associativos como nível de consumo, taxa de passagem e interações destes fatores; por isso, frequentemente é difícil reproduzir essas condições *in vitro* (Cochran et al., 1986). Nessas condições, a estimativa da digestibilidade por intermédio de indicadores internos pode ser desejável, pois se apresentam como constituintes das dietas (Van Soest, 1994; Byrd, 2003).

Alguns constituintes naturais das dietas que apresentam baixa digestibilidade têm sido utilizados como possíveis indicadores. Os indicadores internos apresentam a vantagem de já estarem presentes no alimento, satisfazendo alguns requerimentos para um bom indicador e, de modo geral, permanecerem uniformemente distribuídos na digesta durante o processo de digestão e excreção, os quais possibilitam a avaliação do consumo e digestibilidade de nutrientes em condições de pastejo, por exemplo.

Segundo Stein et al. (2006) algumas substâncias que estão sendo avaliadas como indicadores internos para avaliação de digestibilidade aparente com equinos são os componentes da parede celular, como fibra em detergente neutro indigestíveis (FDNi), fibra em detergente ácido indigestíveis (FDAi), cinza insolúvel em ácido (CIDA), lignina em detergente ácido (LDA). E, mais recentemente como alternativa, análises de

quantificação dos *n*-alcanos presente nas forragens e fezes de equinos (McLean, et al. 1996; Gudmundsson & Thorhallsdottir, 1998; O’Keefe e McMeniman, 1998; Ordakowski, et al. 2001; Byrd, 2003). O método dos *n*-alcanos permite a estimação da composição botânica de pastagens e, conseqüentemente, da dieta dos animais a partir de procedimentos laboratoriais relativamente simples em amostras de fezes e de forragem. No entanto, é imprescindível que a forragem amostrada (dieta) seja representativa (Lee & Nolan, 2003).

A metodologia de *n*-alcanos é relativamente nova. Em equinos, considerando a literatura consultada, existem poucos estudos realizados utilizando esta técnica determinar a digestibilidade dos nutrientes e composição das dietas, porém em condições diferentes das encontradas em nosso país (McLean, et al. 1996; Gudmundsson & Thorhallsdottir, 1998; O’Keefe e McMeniman, 1998; Ordakowski, et al. 2001; Byrd, 2003). Desta forma mostra-se importante investigar a viabilidade e a eficiência da metodologia de uso dos *n*-alcanos em pesquisas com equinos no Brasil, utilizando-se volumosos de clima tropical.

***N*-alcanos presentes na cera cuticular usados como indicadores**

Dentre os constituintes da cera cuticular das plantas, diversas substâncias foram mencionadas como potencial de utilização como indicadores internos, um exemplo são os ácidos graxos de cadeia longa (Grace & Body, 1981) e os mais utilizados, os hidrocarbonetos alifáticos saturados denominados de *n*-alcanos (Mayes & Lamb, 1984).

Os *n*-alcanos pertencem a uma série homóloga, onde cada membro difere do próximo por uma quantidade constante, que no caso CH_2 . Assim, os *n*-alcanos são hidrocarbonetos alifáticos saturados ($\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$), de cadeia longa e parcialmente indigestíveis; no qual o prefixo *n* significa “normal” e é usado para os alcanos com cadeia de átomos de carbono alifática, sem ramificações. Nas plantas, são encontrados na cera cuticular em perfil, de cadeias ímpares e pares, com a predominância das concentrações das cadeias ímpares. Em temperatura ambiente (25°C), os primeiros quatro *n*-alcanos da série são gases (CH_4 a C_4H_{10}), os treze seguintes são líquidos (C_5H_{12} a $\text{C}_{17}\text{H}_{36}$) e os que possuem 18 ou mais átomos de carbono são sólidos (Lopes, 2007).

Os *n*-alcanos de cadeia ímpar são utilizados como indicadores internos, enquanto de cadeia par, são usados como indicadores externos, preferencialmente; fornecidos aos animais em concentrações conhecidas (Fukumoto, 2004).

Através da análise da composição (perfil) de alcanos dos alimentos ingeridos pelos animais e das fezes produzidas por estes, pode-se estimar a ingestão, composição da dieta e digestibilidade do alimento (Damasceno et al., 2001; Fukumoto, 2004; Côrtes, et al. 2005 a, b).

Dove & Mayes (1991) citado por Fukumoto (2004) propuseram que os diferentes perfis de concentrações dos *n*-alcanos em diferentes plantas (espécies) poderiam ser considerados como espécie de “impressão digital”, ou seja, existe um perfil diferente de *n*-alcanos para cada espécie vegetal. Como há diferença no perfil de concentração dos *n*-alcanos entre plantas e mesmo entre frações da planta (folhas, bainha, base da haste, haste e inflorescência), observa-se o grande potencial de estimação da composição botânica das dietas (Dove & Mayes, 1991; Newman et al., 1995; Dove et al., 1996). Chen, et al. (1998), recomendam que, para uma estimação adequada da ingestão, faz-se necessário uma concentração superior a 50 mg/kg de MS do alcano natural (ímpar) utilizado.

A técnica dos *n*-alcanos é eficiente e possível para prever a composição de dietas em situações controladas e determinar a digestibilidades de forrageiras (Damasceno et al., 2001; Lewis et al., 2003), através do uso de sistemas de equações (Newman et al., 1995; Dove & Moore, 1995) ou métodos iterativos de cálculos (Hameleers & Mayes, 1998; Duncan et al., 1999), a partir de amostras de fezes e das espécies forrageiras consideradas.

O uso de *n*-alcanos presentes na cutícula das plantas como indicador fecal foram sugeridos primeiramente por Grace e Body (1981), que observaram recuperações fecais quantitativas e das cadeias de ácidos graxos alifáticos da planta. Os *n*-alcanos da planta foram usados originalmente como indicadores na obtenção da digestibilidade (Mayes e Lamb, 1984) junto com alcanos artificiais ou sintéticos de liberação controlada, como indicadores de consumo (Mayes et al. 1986). Mais tarde, os testes de diferentes padrões dos alcanos das plantas foram explorados para permitir a composição botânica da dieta com possibilidade de ser mensurado (Dove e Mayes, 1991).

Damasceno et al. (2001) destaca que em caso da concentração do alcano natural sejam baixas, em determinado componente da dieta, como concentrados, algumas alternativas podem ser utilizadas para contornar o problema como a pulverização de *n*-

alcanos sobre o alimento pode ser empregada em alguns casos, assim como o fornecimento de *n*-alcanos impregnado a pequenas quantidades de alimento (Hameleers & Naves, 1998; Duncan et al., 1999).

Taxa de recuperação dos *n*-alcanos e suas implicações

Fukumoto (2004), trabalhando com pequenos ruminantes encontrou taxas de recuperação fecal, para os alcanos de principais comprimentos de cadeia (C_{31} a C_{36}) entre 84% a 94%. Segundo Newman et al. (1995), a incompleta recuperação fecal dos *n*-alcanos ocasiona subestimativa da digestibilidade e, nestes casos, são necessárias correções nas análises para taxa de recuperação fecal encontrada. Esses autores relatam que *n*-alcanos com número próximo de carbonos na cadeia possuíam taxas de recuperação fecais muito semelhantes, provavelmente por se comportarem similarmente durante a passagem pelo trato gastrintestinal, e essa característica é fundamental para aplicação e acurácia da técnica, para estimativas de consumo e digestibilidade.

Eventuais diferenças na recuperação fecal de *n*-alcanos de acordo com a idade, estado fisiológico e espécie animal devem ser consideradas. Outro aspecto abordado refere-se às concentrações dos *n*-alcanos nas forragens e variações advindas entre espécies forrageiras, estágio de crescimento, partes da planta (Lopes et al. 2001). Ainda são necessários estudos a respeito do sítio de desaparecimento dos *n*-alcanos no trato gastrintestinal de ruminantes e animais de ceco colón funcional, bem como eventual síntese ou secreção desses.

Recuperações fecais médias incompletas dos *n*-alcanos, tendo aumento na taxa de recuperação fecal correlacionado com aumento do comprimento de sua cadeia carbonada, foram relatadas primeiramente por Mayes et al. (1986). Dentro deste contexto, Oliveira et al. (2000) citaram alguns fatores que podem ocasionar erros nos cálculos da recuperação fecal, entre eles, o processo de amostragem das fezes e da dieta fornecida, erros laboratoriais e variação individual na absorção parcial dos alcanos pelo trato digestivo do animal, principalmente em ruminantes devido aos processos envolvidos no sistema rúmen retículo.

Fukumoto (2004) relatou que o uso dos alcanos corrigidos para recuperação fecal possibilitou valores mais acurados, no entanto, o uso do alcano C_{33} corrigido resultou em estimativas com menor coeficiente de variação, indicando provavelmente

que, embora possa ser utilizado qualquer um dos alcanos, desde que corrigidos para recuperação fecal.

Uso dos *n*-alcanos como indicador interno na determinação da digestibilidade aparente

A digestibilidade aparente das dietas é obtida a partir da concentração do alcano interno na dieta e nas amostras de fezes, seguindo o mesmo procedimento utilizado com outros indicadores internos (Fukumoto, 2004).

Mayes et al. (1986) relata que os *n*-alcanos podem prever a digestibilidade, porque há um aumento progressivo da recuperação fecal dos *n*-alcanos, principalmente para os alcanos com maior comprimento de cadeia carbônica ímpares, os quais são os mais desejáveis.

De acordo com Lopes (2007) a principal vantagem do método dos *n*-alcanos reside em sua capacidade de retratar diferenças, em nível individual, na digestibilidade da dieta, respondendo as variações na ingestão de matéria seca, bem como o efeito dos suplementos concentrados no consumo e na digestão da forragem. No entanto, a acurácia na estimativa da digestibilidade de forragem e/ou dietas a partir do método dos *n*-alcanos, está condicionada a recuperação fecal, no qual, pode ser incompleta, requerendo correções para evitar ocorrências de valores subestimados (Damasceno et al. 2001).

A recuperação fecal dos *n*-alcanos melhora com aumento o comprimento da cadeia carbônica, no qual o alcano de tritriacontane ($C_{33}H_{68}$) é utilizado geralmente para estimar a digestibilidade (Mayes et al. 1986).

Tritriacontane e o pentriacontane ($C_{35}H_{72}$) não estão presentes em algumas espécies de forragem tropical (Laredo et al. 1991). Entretanto, há uma evidência que cadeias de *n*-alcanos longas podem desaparecer durante a passagem gastrintestinal (Mayes et al. 1986). Em estudos com ruminantes (Mayes et al., 1986) recuperações incompletas dos alcanos podem ser associadas com o estômago complexo do ruminante, devido as recuperações fecais serem similares em estudos com não ruminantes de ceco cólon funcionais (O' Keefe & McMeniman, 1998; Ordakowski et al., 2001).

A escolha do *n*-alcanos para cálculo da digestibilidade está condicionada a sua concentração na forragem e/ou dieta (Lopes et al., 2001). Segundo Damasceno et al. (2001), deve ser preferencialmente, elevada, visando redução de potenciais erros nos procedimentos laboratoriais de amostragem e de análises.

Segundo Byrd (2003), estudos relataram estimativas exatas de digestibilidade de matéria seca, usando alcanos como indicadores internos e externos, em diversas espécies animais, principalmente com equinos, porém em condições de fornecimento de forragens de clima temperado.

LITERATURA CITADA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS AOAC. **Official Methods of Analysis**. 15. ed., Arlington Virginia, 1990. 1117p.
- BYRD, B. M. **Alkanes as Internal and External Markers in Horses and the Digestibility of a High Fat Cereal By Product**. Thesis submitted to the Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg Virginia. 2003.
- CHEN, W.; SCOTT, J.M; BLAIR, G.J.; et al. Using plant cuticular alkanes to study plant animal interaction on pastures. **Canadian Journal of Animal Science**, v.79, n.4, p.553-556, 1999.
- COCHRAN R.C., D.C. ADAMS, WALLACE, J.D. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. *Journal Animal Science*. v.63,p. 1476-1483. 1986.
- CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL CNA. **Estudo do Complexo do Agronegócio Cavalos** / Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. Brasília: CNA, 2004. 68 p. – (Coletânea Estudos Gleba; 39)
- 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, 2005 (a).
- 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, 2005 (b).
- 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, 2001, Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.286-299.
- DOVE, H. Using the *n* alkanes of plant cuticular wax to estimate the species composition of herbage mixtures. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.43, p.1711-1724, 1992.

- DOVE, H. and R.W. MAYES. The use of plant waxes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. **Australian Journal of Agriculture Research**, v.42, p.913-952. 1991.
- DOVE, H.; MAYES, R.W.; FREER, M. Effects of species, plant part, and plant age on the *n* alkanes concentration in the cuticular wax of pasture plants. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.47, p.1333- 1347, 1996.
- DOVE, H.; MOORE, A.D. Using a least squares optimization procedure to estimate botanical composition based on the alkanes of cuticular wax. **Australian Journal of Agriculture Research**. v.46, p.1535- 44, 1995.
- DUNCAN, A.J.; MAYES, R.W.; LAMB, C.S. et al. The use of naturally occurring and artificially applied *n* alkanes as markers for estimation of short term diet composition and intake in sheep. **Journal of Agriculture Science Cambridge**, v.132, p.233- 246, 1999.
- FUKUMOTO, N.M. **Uso de *n*-alcanos para estimar o consumo, a composição da dieta e a digestibilidade da matéria seca em ovinos.** / Nelson Massaru Fukumoto. Maringá, 2004. Dissertação (mestrado) – Departamento de Zootecnia. Universidade estadual de Maringá, 2004.
- FURTADO, C.E. **Perspectivas da equinocultura no Brasil.** IN: ZOOTECA2004, 28 a 31 de maio de 2004 – Brasília, DF. ABZ, AZOO DF, FACULDADES UPIS, 2004.
- GRACE, N. D.; BODY, D. R. The possible use of long chain (C₁₉ C₃₂) fatty acids in herbage as an indigestible faecal marker. **Journal of Agriculture Science Cambridge**, v.97, p.743 745, 1981.
- GUDMUNDSSON, O.; THORHALLSDOTTIR, A.G. Evaluation of *n*-alkanes for intake and digestibility determination in horses. Techniques for investigating intake and ingestive behaviour by farm animals. **9^o th European Intake Workshop**, IGER, North Wyke, Devon, UK. 1998
- HAMELEERS, A.; MAYES, R.W. **Grass and Forage Science**. v.53, n.9, p.164, 1998.
- LEE, G.J.; NOLAN, J.V. Source of variation in *n*-alkane concentrations in cuticular wax of two species of pasture plants. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.54, p.21 26, 2003.
- LEWIS, R.M, MAGADLELA, A.M.; JESSOP, N.S. et al. Testing the ability of the *n* alkane technique to estimate intake and diet composition in sheep. **Animal Science**. v.77, p.319-328. 2003.
- LOPES, F. C. F. Determinação do consumo de forrageiras tropicais por vacas em lactação em condições de pastejo. **Caderno Técnico Veterinário e Zootecnia**, v.52, p.1 116, 2007.
- LOPES, F. C. F.; RODRIGUEZ, N. M.; AROEIRA, L. J. M. et al. Uso dos *n*-alcanos em estimativas de consumo de ruminantes sob pastejo. **Veterinária Notícias**, v. 7, n. 2, p.165-175, 2001.

- MAYES, R.W; LAMB, C.S; GOLGROVE, P.M. et al. The use of herbage *n*-alkanes as markers for the determination of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, v.107, p.161 170, 1986.
- MCLEAN, B. L., MAYES, R.W.; DEB, F. D. et al. The use of *n* alkanes for estimating pasture intake and passage rate in horses. In: **Production Society Animal Science.**, Scarborough, U.K. p 98 (Abstr.). 1996.
- NEWMAN, J.A., W.A. THOMPSON, P.D. PENNING, and R.W. MAYES. et al. Least squares estimation of diet composition from *n* alkanes in herbage and feces using matrix mathematics. **Australian Journal Agriculture Research** . v.46, p.793-805. 1995.
- OLIVEIRA, D. E.; PRATES, E. R.; PERALBA, M.C.R. et al. Digestibilidade determinada pelo método indireto usando o *n* alceno C₃₅. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.848 852, 2000.
- O'KEEFE, N. M., AND N. P. MCMENIMAN. The recovery of natural and dosed *n* alkanes from the horse. **Animal Production Australian**. 22:337 (Abstr.). 1998.
- ORDAKOWSKI, A.L., KRONFELD, D.S.; HOLLAND, J.L.; et al. Alkanes as internal markers to estimate digestibility of hay or hay plus concentrate diets in horses. **Journal Animal Science**. v.79(6),p.1516 1522. 2001.
- RIBEIRO, L.B. **Avaliação de subprodutos agroindustriais na alimentação de equinos: consumo e digestibilidade**. Marechal Cândido Rondon, 2005. vi, 26 p.Monografia (Graduação) Curso de Zootecnia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2005.
- SILVA, J.D. **Análises de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. 3 . ed. Imprensa Universitária, Viçosa, UFV, 2002. 235 p.
- STEIN R.B.S.; TOLEDO, L.R.A.; ALMEIDA, F.Q. et al. Estimativa da digestibilidade aparente da matéria seca por meio de indicadores internos em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.504 511, 2006.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

OBJETIVO GERAL

Avaliar a metodologia de *n*-alcanos para equinos utilizando dietas compostas por feno de Tifton e Alfafa, através da avaliação da digestibilidade aparente de nutrientes em comparação ao uso de *n*-alcanos como indicador interno.

Avaliar a eficiência do *n*-alcano (C_{31}) como indicador interno para estimar a digestibilidade dos nutrientes de dietas em equinos em comparação aos métodos de coleta total de fezes e demais indicadores internos.

VIABILIDADE DE USO DO *N*-ALCANOS COMO INDICADORES INTERNOS EM EQUINOS

RESUMO: Objetivou-se verificar a viabilidade de uso de *n*-alcanos como indicador interno em equinos. Foram utilizados seis cavalos machos adultos em delineamento Quadrado Latino (6x6) alojados em gaiolas de metabolismo. Os tratamentos foram constituídos por níveis de inclusão de Feno de Tifton 85 e Feno de Alfafa, sendo: 100% Feno Tifton + 0% de Feno de Alfafa (100T), 80% Feno Tifton + 20% de Feno de Alfafa (80T:20A), 60% Feno Tifton + 40% de Feno de Alfafa (60T:40A), 40% Feno Tifton + 60% de Feno de Alfafa (40T:60A), 20% Feno Tifton + 80% de Feno de Alfafa (20T:80A) e 0% Feno Tifton + 100% de Feno de Alfafa (100A). Posteriormente, foram determinados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA_p), coeficiente de digestibilidade com uso de *n*-alcanos (CD_{alc}) e coeficiente de digestibilidade com uso de *n*-alcanos corrigidos para recuperação fecal (CD_{alcxC}). Observou-se predomínio ($p > 0,05$) dos alcanos de maior comprimento de cadeias carbônicas e dos números ímpares em relação aos pares. Para o percentual de recuperações fecais dos *n*-alcanos, observou-se que os alcanos, C₃₀, C₃₁, C₃₂, C₃₃, C₃₅ e C₃₆, apresentaram os valores mais elevados ($p < 0,05$). Para a digestibilidade dos nutrientes, observou-se diferenças ($p < 0,05$) entre as comparações das médias com relação à escolha do alcanos. Nos equinos a recuperação fecal dos *n*-alcanos, aumentou com o aumento do comprimento da cadeia carbônica ($p < 0,05$), porém a recuperação fecal não foi completa indicando possivelmente que os *n*-alcanos sofressem degradação ao longo do trato gastrintestinal, recomendando-se desta forma a correções para realizar as estimações.

Palavras chaves: Cavalos, Indicador Interno, Metodologia

N-ALKANES VIABILITY USE AS INTERNAL MARKER IN EQUINES

ABSTRACT: The objective was to verify the viability use of *n* alkanes as internal markers in horses. There were used six adult males horses in a Latin square design (6x6) housed in cages of metabolism. The treatments consisted of levels of inclusion of Tifton 85 Hay and Alfalfa Hay, of which 100% Hay Tifton + 0% alfalfa hay (100T), 80% Hay Tifton + 20 % alfalfa hay (80T:20A), 60% Tifton Hay + 40% alfalfa hay (60T:40A); 40% Tifton Hay + 60% alfalfa hay (40T:60A), 20% Tifton Hay + 80% alfalfa hay (20T:80A) Tifton Hay and 0% + 100% alfalfa hay (100A). Later, there were evaluated the apparent digestibility coefficients (CDAp), digestibility coefficient with the use of *n* alkanes (CDalc) and digestibility coefficient with the use of *n*-alkanes corrected for fecal recovery (CDalcNC). There was a predominance of alkanes with greater length of carbon chains and the odd numbers in relation to even. For the percentage of fecal recoveries of *n*-alkanes it is observed that the alkanes, C₃₀, C₃₁, C₃₂, C₃₃, C₃₅ and C₃₆, showed the highest values (P <0.05). For nutrients digestibility there are significant differences for means comparison considering the choice of alkanes (P < 0.05).. In the equine the fecal recovery of *n*-alkanes, increased with increasing the length of chain carbonic (P < 0.05), but the fecal recovery was not complete possibly indicating that the *n*-alkanes degradation throughout the gastrointestinal tract, then recommending the correction to achieve the estimative

Key words: Horses, markers, methodology,

INTRODUÇÃO

O método de coleta total de fezes é considerado o mais exato e o mais indicado para determinação da digestibilidade, desta forma, estudos sobre indicadores internos têm sido realizados em ensaios de digestibilidade com equinos com o objetivo de tornar as estimativas de digestibilidade aparente de nutrientes mais práticas e econômicas. Dentro deste contexto, para se estimar a digestibilidade dos nutrientes por meio de indicadores, pode-se optar por constituintes naturais das dietas que apresentam baixa digestibilidade, indicadores internos, que ocorrem naturalmente nos alimentos, ou por indicadores externos, que são adicionados a dietas ou fornecidos diretamente ao animal (Araújo et al. 2000; Ramos, 2003; Stein et al 2006).

Algumas substâncias que estão sendo avaliadas como indicadores internos para avaliação de digestibilidade com equinos são os componentes da parede celular, como fibra em detergente neutro indigestíveis (FDNi), fibra em detergente ácido indigestíveis (FDAi), cinza insolúvel em ácido (CIA), lignina em detergente ácido (LDA) e mais recentemente como alternativa, análises dos *n*-alcanos presente nas forragens e nas fezes (McLean, et al. 1996; Gudmundsson & Thorhallsdottir, 1998; O'Keefe e McMeniman, 1998; Ordakowski, et al. 2001; Byrd, 2003).

Os *n*-alcanos, são hidrocarbonetos saturados alifáticos de cadeia longa presentes naturalmente nas cutículas das plantas, vêm sendo utilizados como indicadores em experimentos de animais herbívoros em pastejo, por serem altamente indigestíveis, podem ser designados, analogamente, como espécie de impressão digital das plantas e de fácil determinação com uso de cromatografia gasosa (Dove & Mayes, 1991; Oliveira et al. 2000; Damasceno et al. 2001; Côrtes, et al. 2005 a, b).

Desta forma, o objetivo do presente trabalho é avaliar o uso de *n*-alcanos como indicador interno na determinação da digestibilidade aparente dos nutrientes das dietas em comparação ao método convencional de coleta total de fezes.

MATERIAS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de Equideocultura da Universidade Estadual de Maringá UEM. Utilizou-se seis equinos machos, com idade média de nove anos e peso vivo de $361,16 \pm 12$ kg, alojados em gaiolas de metabolismo segundo modelo preconizado por Furtado et al. (2000).

O período experimental teve duração total de 66 dias, sendo sete dias de adaptação às dietas e quatro dias para coleta de fezes. Durante o período de adaptação os animais permanecerem em baias individuais (9 m^2), e no período de coleta os animais ficaram alojados em gaiolas de metabolismo em período integral.

As dietas foram compostas por diferentes porcentagens de Feno de Tifton 85 e Feno de Alfafa, nas seguintes proporções: 100% Feno de Tifton (100T), 80% Feno de Tifton + 20% de Feno de Alfafa (80T:20A), 60% Feno de Tifton + 40% de Feno de Alfafa (60T:40A), 40% Feno de Tifton + 60% de Feno de Alfafa (40T:60A), 20% Feno de Tifton + 80% de Feno de Alfafa (20T:80A), 100% de Feno de Alfafa (100A). O arraçoamento foi realizado três vezes ao dia, sendo fornecido total de 2,5% do peso vivo dos animais, em base de matéria seca, o que representa cerca de 8,9 kg de dieta.

As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Paraná, e a Energia digestível foi utilizada segundo fórmula descrita por Pagan et al (1998).

Para determinação da digestibilidade, as fezes foram coletadas direto do reto (200 gramas) seis vezes ao dia, em intervalo de 4 horas (9h, 13h, 17h, 21h, 01h e 05h), durante quatro dias, feita uma amostra composta, retirada uma alíquota de 10%. As fezes foram acondicionadas em sacos plásticos identificados, pesados e então congeladas em “*freezer*” para posterior processamento e análise.

Tabela 1. Composição química das dietas experimentais expressos em base de Matéria Seca

Nutrientes ¹	Tratamentos/ Treatment					
	100T	80T:20 ^a	60T:40A	40T:60A	20T:80A	100A
Matéria Seca	91,10	91,02	90,94	90,86	90,78	90,69
Matéria Orgânica	86,87	86,21	85,56	84,91	84,25	83,60
Extrato Etéreo	1,01	1,02	1,02	1,03	1,04	1,05
Proteína Bruta	4,93	7,34	9,75	12,16	14,58	16,99
FDN	73,87	68,31	62,76	57,20	51,64	46,09
FDA	37,10	36,05	35,00	33,95	32,91	31,86
Matéria Mineral	4,35	4,90	5,45	6,01	6,56	7,12
Energia Digestível (Mcal/kg) ²	1,434	1,461	1,469	1,488	1,506	1,524

1. Análise realizada no laboratório de Nutrição Animal e Alimentação do Curso de Zootecnia – UEM

2. Estimado segundo NRC (2007)

As análises químicas das amostras de alimentos e fezes foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Alimentação Animal (LANA) do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Paraná. As análises realizadas foram: teores de Matéria Seca (MS), Proteína Bruta (PB), Extrato Etéreo (EE), teores Matéria Mineral (MM), segundo a metodologia descrita por Silva (2002) e Fibra em Detergente Neutro (FDN), Fibra em Detergente Ácido (FDA) metodologia descrita por Van Soest, et al. (1994).

Para realização da análise de quantificação dos *n*-alcanos, amostras foram encaminhadas para o laboratório de alimentos do Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá – Paraná, e foi utilizada a metodologia descrita por Vulich et al. (1995) adaptado por Oliveira (2004) e descrito por Fukumoto (2004), no qual as áreas dos picos cromatográficos correspondentes a cada *n*-alcanos foram determinados por intermédio de um Integrador Processador CG-300, sendo a identificação dos *n*-alcanos baseada na comparação com padrão internos (Acros Organics), pelo tempo de retenção médio, contendo os alcanos tetracosano (C₂₄H₅₀), hexacosano (C₂₆H₅₄), octacosano (C₂₈H₅₈), triacontano (C₃₀H₆₂), dotriacontano (C₃₂H₆₆), tetratriacontano (C₃₄H₇₀) e hexatriacontano (C₃₆H₇₄), e posteriormente, convertidas as quantidades de *n*-alcanos por referência ao padrão interno C₃₄H₆₆ (0,3016 mg/amostra) e calculados para quilograma de matéria seca para a amostra considerada. Extrações dos *n*-alcanos dos matérias utilizados (fontes de fenos), sem

adição de padrão interno (C_{34}), foram realizadas para verificar a presença do mesmo nas dietas.

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes para coleta total foram determinados pelas fórmulas descritas por Martin Rosset et al (1984) e para os *n*-alcanos foram determinadas pelas fórmulas descritas por Mayes & Lamb (1984).

A escolha das cadeias de *n*-alcanos para realização da estimativa da digestibilidade foi realizada com parâmetro da taxa de recuperação, na qual utilizou-se apenas os alcanos que apresentaram valores significativos ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey, para taxa de recuperação fecal dos alcanos (C_{24} a C_{36}). Para os cálculos dos coeficientes de digestibilidade estimados com uso dos *n*-alcanos foram feitos de duas formas, uma através da obtenção de fator de indigestibilidade com taxas de recuperações encontradas (CD_{alcX}) e outra utilizando taxas de recuperações corrigidas para 100% (CD_{alcXC}).

Com relação às concentrações dos alcanos em função das proporções de Feno de Alfafa nas dietas, foram realizadas análise de regressão. Porém utilizou-se Teste de Tukey ($P < 0,05$) para comparar as concentrações entre os alcanos independente das dietas.

Para análise do alcano utilizado para estimativa da digestibilidade, foi utilizado a análise de variância e foram realizadas comparações múltiplas (padrão versus cada indicador) por meio do teste de Dunnett ao nível de 5% de significância, comparando as médias observadas com os estimados pelos alcanos, e considerando diferenças das estimativas (real menos estimado) e o coeficiente de variação (Willians, 1993; Detmann et al., 2001).

O delineamento estatístico utilizado foi Quadrado Latino (6x6) sendo os tratamentos, sendo a comparação entre as médias dos testes realizada utilizando-se teste de Tukey a 5% de significância. Para realização das análises estatísticas utilizou-se o programa computacional, Statistical Analysis System – 9.0 (SAS, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Possivelmente devido a qualidade das fontes de fenos utilizadas no presente trabalho, principalmente para os tratamentos contento feno de Tifton, no qual o mesmo apresentou em sua composição química bromatológicas aspectos de um feno de baixa qualidade (PB e FDN), os resultados não comportaram valores considerados bons para digestibilidade, o que podem ter afetado também nos valores estimados com uso dos *n*-alcanos. Este problema foi identificado antes do início do experimento e possivelmente afetaria os resultados, porém optou-se em dar continuidade aos trabalhos com esta fonte de feno, no intuito de ver qual o comportamento dos *n*-alcanos e suas estimativas, sob estas condições. Outro fato importante a ser considerado em relação ao observado no decorrer do presente estudo, relaciona-se com os tratamentos e a forma como foram fornecidas as dietas, no qual, optou-se em não realizar a moagem e/ou trituração das fontes de volumoso, evitando que os animais viessem a alimentar-se rapidamente, ficando um tempo maior ocioso, o que torna propicio ao surgimento de vícios devido ao acúmulo de estresse afetando o bem-estar dos animais (Lewis, 2000). Dentro deste contexto, os fenos foram apenas desfiados e misturados, porém ao tratar-se de equinos considerado uma espécie altamente seletiva, acredita-se que as possíveis variações nas estimativas da digestibilidades dos nutrientes, possam estar envolvidas ao consumo desigual das fontes de volumoso devido a maior aceitação pelo feno de Alfafa, destorcendo os valores do real obtido através da metodologia padrão, desta forma, a estimativa da digestibilidade com uso dos *n*-alcanos pode ter sido superiores e/ou mesmo inferiores.

As extrações das amostras de fenos utilizados nas dietas, sem adição do padrão interno (C₃₄) constataram que o alcano em questão não foi identificado nas análises, desta forma, não houve a necessidade de correção deste alcano, das amostras com o uso

do padrão interno. O perfil das concentrações dos *n*-alcanos C₂₄ a C₃₆ das dietas fornecidas aos equinos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Concentração de *n*-alcanos (mg/kg MS) em amostras das dietas utilizadas

<i>N</i> -alcanos ¹	Tratamentos						CV (%) ²	R ² /Efeito ³	Média ⁴
	100T	80T:20A	60T:40A	40T:60A	20T:80A	100A			
C ₂₄	17,19	28,44	39,37	46,33	55,37	63,65	39,87	0,906 ^{Lin}	41,73 ^a
C ₂₅	14,68	34,09	54,80	70,23	88,72	106,01	52,67	0,947 ^{Lin}	61,42 ^a
C ₂₆	27,82	83,15	143,99	191,21	246,63	298,80	57,99	0,955 ^{Lin}	165,27 ^c
C ₂₇	26,32	63,10	102,56	132,15	167,48	200,56	53,48	0,948 ^{Lin}	115,36 ^b
C ₂₈	20,81	38,57	56,60	69,03	84,52	98,85	45,23	0,928 ^{Lin}	61,40 ^a
C ₂₉	75,80	117,61	156,70	179,80	211,07	239,39	36,13	0,884 ^{Lin}	163,40 ^c
C ₃₀	30,11	39,56	46,79	49,04	53,61	57,39	23,34	0,692 ^{Lin}	46,08 ^a
C ₃₁	38,17	79,10	121,90	152,79	190,39	225,41	49,34	0,939 ^{Lin}	134,63 ^{bc}
C ₃₂	34,94	47,56	57,85	62,06	69,17	75,27	26,45	0,768 ^{Lin}	57,81 ^a
C ₃₃	64,73	106,97	147,96	174,02	207,92	238,93	39,81	0,906 ^{Lin}	156,76 ^{bc}
C ₃₅	130,29	178,65	218,54	235,48	263,42	287,54	27,07	0,779 ^{Lin}	218,99 ^d
C ₃₆	271,96	345,98	397,96	407,23	435,97	458,20	20,37	0,580 ^{Lin}	386,22 ^e

¹Alcano C₃₄ não identificado nas amostras extraídas sem o padrão interno

²CV (%) = coeficiente de variação.

³R² = Coeficiente de Regressão; Efeito = LIN (Linear), NS (não significativo)

⁴Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem entre si (P<0,05) pelo teste Tukey

Com relação aos dados apresentados na Tabela 3, verifica-se que os mesmos encontram-se em acordo e com possibilidade de utilização nas equações propostas por Mayes et. al. (1986), assim como na estimativa da digestibilidade aparente dos nutrientes, segundo a literatura consultada (Oliveira et al., 1997; Chen et al., 1998; Paine et al. 2002, Fukumoto, 2004). Pois de acordo com Chen et al (1999) o alcano a ser utilizado, deve apresentar uma concentração mínima de 55 mg/kg de MS.

Observou-se um predomínio dos alcanos de maior comprimento de cadeias carbônicas e dos números ímpares em relação aos pares, no qual, as concentrações dos alcanos de cadeia longa, C₂₆, C₂₇, C₂₉, C₃₁, C₃₃, C₃₅ e C₃₆, apresentam maiores concentrações (P<0,05) em relação à proporção de inclusão de feno de alfafa na dieta. Em todos os alcanos analisados, observou-se efeito linear (P<0,05) para as concentrações dos alcanos com o aumento de feno de alfafa na dieta.

Na Tabela 3, estão apresentados os valores em percentual de recuperações fecais dos *n*-alcanos C₂₄ a C₃₆, e a comparação das médias de recuperação fecal pelo teste de Tukey.

Tabela 3 – Médias para a recuperação fecal dos *n*-alcanos C₂₄ a C₃₆ em equinos alimentados com fenos de *Cynodon dactylon* cv. Tifton 85 e *Medicago Sativa*

N-alcanos ¹	Recuperação fecal (%) ²
C ₂₄	28,23 ^c
C ₂₅	28,38 ^c
C ₂₆	30,98 ^c
C ₂₇	22,71 ^c
C ₂₈	23,60 ^c
C ₂₉	55,18 ^{bc}
C ₃₀	73,05 ^{ab}
C ₃₁	88,69 ^a
C ₃₂	91,30 ^a
C ₃₃	92,72 ^a
C ₃₅	90,73 ^a
C ₃₆	92,03 ^a
EP (SE) ³	13,20
⁴ r	0,910

1. Alcano C₃₄ utilizado como padrão interno

2. Efeito linear ($Y = 8,64 + 7,87X$), $R^2 = 0,84$

3. EP = erro padrão (n=12)

4. r = coeficiente de correlação, significativo ($P < 0,05$)

5. Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste Tukey

Observou-se efeito para recuperação fecal ($P < 0,05$), em função do aumento da cadeia carbônica dos *n*-alcanos, apresentando um coeficiente de correlação ($r = 0,910$), no qual pode-se considerar elevado, o qual comprova que à medida que aumenta o comprimento da cadeia carbônica, aumenta o percentual de recuperação fecal. Ainda dentro deste contexto, observa-se que os alcanos, C₃₀, C₃₁, C₃₂, C₃₃, C₃₅ e C₃₆, apresentaram ($P < 0,05$) os valores mais elevados de recuperação fecal entre os alcanos estudados. Mayes et al. (1986) e Fukumoto (2004), trabalhando com ovinos alimentados com fontes de fenos, encontraram valores semelhantes para os alcanos, principalmente no comprimento de cadeia C₃₀ e nos subsequentes, C₃₁, C₃₂, C₃₃, C₃₅ e C₃₆.

No presente trabalho observou-se que a porcentagem da recuperação fecal do *n*-alcanos, seja considerada no mesmo nível que Gudmundsson e Thorhallsdottir (1998) e Ordakowski et al. (2001), desta forma, o uso de *n*-alcanos para determinar a digestibilidade de nutrientes em cavalos não é precisa, devido aos valores de desvio padrão e conseqüentemente de coeficiente de variação serem muito elevado, em relação

ao obtido pelo método de coleta total de fezes, assim, o método dos *n*-alcanos pode ser proposto para cavalos quando a coleta total de fezes é impossível.

Para tal, os autores Gudmundsson e Thorhallsdottir (1998) e Ordakowski et al. (2001) sugeriram selecionar *n*-alcanos com altas e elevadas concentrações de recuperação fecal. Devido as recuperações fecais incompletas, desvio padrão e coeficiente de variação elevado, podendo explicar o motivo de possíveis diferenças significativas entre valores.

Nos equinos os *n*-alcanos a recuperação fecal pareceu ser independente do comprimento da cadeia de carbono, porém o observado no presente estudo, não se confirmou, no qual observou-se a maior percentual recuperação fecal com aumento do comprimento da cadeia carbônica ($P < 0,05$), semelhante a estudos anteriores realizados em bovinos (Brosh et al., 2003) e também em outras espécies ruminantes como ovelhas (Elwert et al., 2004) e caprinos (Ferreira et al., 2005), indicando possivelmente que os *n*-alcanos apresentam comportamento diferente no trato gastrintestinal de ruminantes e não-ruminantes de ceco cólon funcional, o que sugere o desaparecimento dos alcanos durante a passagem do compartimentos fermentativos.

As recuperações fecais obtidas poderia ser resultado de uma dispersão desigual desses alcanos nas diferentes fases da digesta. Mayes et al. (1988) sugeriu que entre 30% 40% dos alcanos permaneceram associados com a fase líquida, podendo estar relacionados com o nível desta associação entre as dietas e a absorção dos alcanos com a fase que apresentam esta associação com líquidos. A composição dieta sobre o efeito da recuperação de alcanos nas fezes é ainda pouco evidente (Ferreira et al. 2005; Dove e Mayes, 1991).

Incompletas recuperações fecais dos alcanos de cadeia ímpar (C_{25} a C_{33}) em cavalos alimentados com forragem e dietas compostas de forragem mais concentrado, indicam que cavalos são capazes de degradar os *n*-alcanos, durante a passagem no trato gastrintestinal. Desta forma, os alcanos naturais para serem utilizados como indicadores internos na obtenção de estimativas precisas da digestibilidade da matéria seca e outros nutrientes, pode ser necessário ajustar inicialmente para recuperações fecais de 100% (O'Keefe e McMeniman, 1998).

Os valores médios da digestibilidade aparente dos nutrientes (coleta total de fezes) e da digestibilidade aparente estimada pelos *n*-alcanos, com seus desvios padrão e coeficientes de variação, são apresentados nas tabelas seguintes, para tal encontramos

na Tabela 4, o Coeficiente de digestibilidade aparente total da Matéria Seca e suas estimadas com uso dos *n*-alcanos.

O coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca pelo método convencional de coleta total de fezes é considerado padrão para determinação da digestibilidade aparente e o uso de indicadores pode ser uma alternativa rápida e econômica (Almeida, et al. 1998 a e b).

Tabela 4 – Valores de Coeficiente de digestibilidade aparente total da Matéria Seca e suas estimadas com uso dos *n*-alcanos

Coeficientes	Tratamentos					
	100T	80T:20A	60T:40A	40T:60A	20T:80A	100A
² CD _{AP}	46,47	44,88	46,33	51,99	50,95	60,64
CD _{alc31}	¹ 58,88*	48,75	59,16*	62,01	67,33*	61,98
CD _{alc31C}	66,39*	54,96*	66,7*	69,91*	75,91*	54,97
CD _{alc33}	57,91*	43,88	32,82*	39,07*	67,8*	71,69
CD _{alc33C}	62,45*	47,33	30,43*	36,22*	62,87*	66,47
CD _{alc35}	43,73	41,64	31,31*	45,75	69,97*	58,73
CD _{alc35C}	48,20	45,90	28,41*	42,77	63,49*	64,74
CD _{alc36}	42,18	41,53	35,18*	33,85*	30,58*	27,16*
CD _{alc36C}	45,84	45,12	38,23*	36,78*	33,23*	29,51*
³ Desvio padrão	10,83	10,83	10,74*	10,94	10,65	8,62
⁴ CV%	20,66	20,57	20,76	21,45	21,62	18,34

¹Médias dos tratamentos não diferem estatisticamente do controle (CD_{AP}) pelo teste Dunnett ao nível de 5% de significância

²CD_{AP} = coeficiente de digestibilidade da matéria seca aparente, CD_{alc31} = coeficiente de digestibilidade da matéria seca com C₃₁, CD_{alc31C} = coeficiente de digestibilidade da matéria seca com C₃₁ corrigido para recuperação fecal, CD_{alc33} = coeficiente de digestibilidade da matéria seca com C₃₃, CD_{alc33C} = coeficiente de digestibilidade da matéria seca com C₃₃ corrigido para recuperação fecal, CD_{alc35} = coeficiente de digestibilidade da matéria seca com C₃₅, CD_{alc35C} = coeficiente de digestibilidade da matéria seca com C₃₅ corrigido para recuperação fecal, CD_{alc36} = coeficiente de digestibilidade da matéria seca com C₃₆, CD_{alc36C} = coeficiente de digestibilidade da matéria seca com C₃₆ corrigido para recuperação fecal,

³ Desvio Padrão

⁴CV (%) = coeficiente de variação

Observou-se diferenças ($P < 0,05$) entre as comparações das médias com relação ao comprimento de cadeias dos alcanos. Para a dieta contendo 100% Feno Tifton + 0% de Feno de Alfafa (100T), observou-se diferenças ($P < 0,05$) entre o padrão de coleta total de fezes em comparação aos coeficientes estimados, no qual o CD_{alc31}, CD_{alc31C}, CD_{alc33} e CD_{alc33C}, apresentaram valores elevados sendo 14,93% superior ao padrão, os demais não diferenciaram significativamente ao padrão, no qual pode ser considerado um valor bastante preciso em relação ao padrão.

Ao observar a comparação entre as médias obtidas para o Coeficiente de digestibilidade da matéria seca pela coleta total e pela estimativa com os *n*-alcanos em relação ao tratamento 80T:20A, verifica-se que houve diferença entre as mesmas apenas para a estimativa (CD_{alc31C}), com valor de 54,96% superestimando a determinação da digestibilidade aparente da MS. Para o tratamento 60T:40A, verifica-se diferenças significativas entre todas as comparação de médias, mostrando com estimativas não confiáveis ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação ao tratamento 40T:60A, houve diferença na comparação entre médias obtidas, em relação a coleta total e o uso de *n*-alcanos, no qual CD_{alc31C} (superior em 17,92%) com valor de 69,91% e para CD_{alc33} , CD_{alc33C} , CD_{alc36} e CD_{alc36C} , (inferior em 15,51%) com valor médio de 36,48%. Ao verificar se no tratamento 20T:80A, há diferenças quando realizado e comparado entre médias estimadas pelos *n*-alcanos em relação ao padrão, no qual todas as estimativas apresentaram diferenças significativas, e obteve-se valor de 67,89% médio (superior em 16,94%) ao padrão para as estimativas com CD_{alc31} , CD_{alc31C} , CD_{alc33} , CD_{alc33C} , CD_{alc35} e CD_{alc35C} .

Para o tratamento 100A, observou-se que apenas as estimativas obtidas pelo CD_{alc36} e CD_{alc36C} , diferenciaram estatisticamente do padrão, mostrando aos demais possível a utilização dos mesmos, para estimativa da digestibilidade aparente.

Os resultados apresentados acima, estão de acordo com dados obtidos por Ordakowski, et al. (2001), no qual trabalhou com cavalos alimentados com volumosos (*Festuca arundinacea* e *Medicago sativa*) e obteve valor médio de 54,2 % de digestibilidade da matéria seca, utilizando o método padrão e os C_{31} e C_{33} . Da mesma forma, ao comparar diversas forma de estimativa de digestibilidade da matéria seca para equinos, Gudmundsson e Thorhallsdottir (1998) observaram que a forma mais precisa para tal foi com uso do C_{31} . Segundo Byrd (2003) valores semelhantes foram obtidos com a digestibilidade aparente da matéria seca (54,06%) com uso do método padrão e das cadeias de C_{31} e C_{33} alimentando cavalos com volumosos do gênero *Dactylis* sp. e *Festuca* sp.

Oliveira et al. (2000) comparando os métodos da digestibilidade aparente pela coleta total, em três espécies forrageiras, obteve subestimativa da digestibilidade em 4,68% (sem correção para recuperação fecal) com o uso do alcano C_{35} .

Mayes (1999) citado por Fukumoto (2004) recomenda utilizar alcano C_{35} ou de cadeia maior como indicador da digestibilidade, em casos em que a recuperação fecal dos alcanos seja desconhecida, no entanto, diversas espécies forrageiras tropicais

apresentam concentrações baixas desse alcano e, neste caso, recomenda-se utilizar alcanos de cadeia menor (C_{29} , C_{31} e C_{33}), corrigindo para a recuperação fecal. Ainda dentro deste contexto, Newman et al. (1995) e Oliveira et al. (2000) comentam em seus trabalhos que a incompleta recuperação fecal dos *n*-alcanos e fatores que levem a erros nos cálculos da recuperação fecal, nos quais o processo de amostragem das fezes e da dieta fornecida, erros laboratoriais e da variação individual na absorção parcial dos alcanos pelo trato digestório do animal e espécie em questão afetam os valores finais de estimativa da digestibilidade.

A literatura é bastante escassa para uso dos *n*-alcanos para estimar a digestibilidade aparente de nutrientes. E, somente para MS, foi possível realizar comparações. Assim a avaliação e comparação da digestibilidade aparente total da Proteína Bruta e suas estimadas com uso dos *n*-alcanos estão apresentados na Tabela 6, na qual podem ser observadas diferenças ($P < 0,05$) entre médias obtidas nos tratamentos utilizados na alimentação de equinos.

Com relação aos *n*-alcanos Gudmundsson e Thorhallsdottir (1998), utilizando *n*-alcanos internos e externos, constataram que os *n*-alcanos C_{29} e C_{31} estavam presentes em quantidades consideravelmente mais elevadas que em comparação aos demais *n*-alcanos, o mesmo foi observado no presente estudo para os alcanos com cadeia carbônica superior a C_{31} ($P < 0,05$). Podemos supor que, ambos C_{29} e C_{31} são os alcanos que normalmente deveriam ser escolhidos para realização dos cálculos devido a sua fácil disponibilidade.

Ordakowski et al. (2001) obteve novamente resultados semelhantes a partir de digestibilidade de matéria seca pelo método de coleta total utilizando diferentes alcanos, concluindo que a utilização destes compostos podem ser utilizados ao estudar a digestibilidade de animais em sistema de livre pastejo.

Com relação a Tabela 5, apresentada abaixo, verificou-se diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as comparações das médias para a dieta contendo 100T, no qual as estimativas dos coeficientes obtidos pelo CD_{alc31} , CD_{alc31C} , CD_{alc33} e CD_{alc33C} , apresentaram valores elevados (média de 52,35%) 15,23% superior ao padrão; para os demais coeficientes não houve diferenças significativas em relação ao padrão, obtendo média de 38,33%, com valores bastante preciso em relação ao padrão.

Para a comparação realizada entre as médias obtidas para o coeficiente de digestibilidade da proteína bruta pelo método de coleta total pela estimativa com os *n*-

alcanos em relação ao tratamento 80T:20A, verificou-se que não houve diferença entre as mesmas.

Tabela 5 – Valores de Coeficiente de digestibilidade aparente total da Proteína Bruta e suas estimadas com uso dos *n*-alcanos

Coeficientes	Tratamentos					
	100T	80T:20A	60T:40A	40T:60A	20T:80A	100A
² CD _{AP}	37,12	56,77	58,7	63,68	60,98	67,66
CD _{alc31}	50,25*	60,06	77,01*	82,64*	84,16*	75,87
CD _{alc31C}	56,65*	67,72	86,83*	93,18*	94,89*	67,29
CD _{alc33}	49,33*	54,06	42,72	52,04	85,78*	87,55*
CD _{alc33C}	53,20*	58,3	39,61*	48,25	79,54*	81,18
CD _{alc35}	37,19	51,53	40,85*	61,09	88,19*	71,97
CD _{alc35C}	40,99	56,8	37,06*	56,96	80,02*	79,33
CD _{alc36}	36,02	51,56	45,86*	45,03*	38,65*	33,32*
CD _{alc36C}	39,14	56,02	49,83	48,93	42,01*	36,20*
³ Desvio Padrão	9,55	10,95	11,26	11,32	11,29	9,76
⁴ CV%	21,50	22,83	22,56	21,99	21,21	17,96

¹Médias dos tratamentos não diferem estatisticamente do controle (CD_{AP}) pelo teste Dunnett ao nível de 5% de significância

²CD_{AP} = coeficiente de digestibilidade da Proteína Bruta aparente, CD_{alc31} = coeficiente de digestibilidade da Proteína Bruta com C₃₁, CD_{alc31C} = coeficiente de digestibilidade da Proteína Bruta com C₃₁ corrigido para recuperação fecal, CD_{alc33} = coeficiente de digestibilidade da Proteína Bruta com C₃₃, CD_{alc33C} = coeficiente de digestibilidade da Proteína Bruta com C₃₃ corrigido para recuperação fecal, CD_{alc35} = coeficiente de digestibilidade da Proteína Bruta com C₃₅, CD_{alc35C} = coeficiente de digestibilidade da Proteína Bruta com C₃₅ corrigido para recuperação fecal, CD_{alc36} = coeficiente de digestibilidade da Proteína Bruta com C₃₆, CD_{alc36C} = coeficiente de digestibilidade da Proteína Bruta com C₃₆ corrigido para recuperação fecal,

³ Desvio Padrão

⁴CV (%) = coeficiente de variação

Para o tratamento 60T:40A, verificou-se diferenças significativas entre as comparação de médias, no qual apenas os coeficientes obtidos com CD_{alc33}, e CD_{alc36C} não diferenciaram do padrão, os demais apresentaram valores superiores (CD_{alc31}, CD_{alc31C}) ou inferiores (CD_{alc33C}, CD_{alc35}, CD_{alc35C} e CD_{alc36}) ao método de coleta total.

Com relação ao tratamento 40T:60A, houve diferença na comparação entre médias obtidas, em relação ao padrão, no qual CD_{alc31C} e CD_{alc31C} apresentaram valores superiores em 18,96% e 29,50% respectivamente, e apenas o CD_{alc36}, apresentou valor inferior em 18,65% .

Para o tratamento 20T:80A, observou-se diferenças quando realizado a comparado entre médias estimadas pelos *n*-alcanos em relação ao método de coleta total

de fezes, no qual todas as estimativas apresentaram diferenças significativas, obtendo valores superiores de 79,54% a 94,89% e inferiores de 42,01% a 38,65 %.

Para o tratamento 100A, observou-se que apenas as estimativas obtidas para coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta pelo CD_{alc33} , diferenciou estatisticamente do método de coleta total com valor superior de 19,89%, e que os coeficientes obtidos de CD_{alc36} e CD_{alc36C} apresentou valores inferiores de 33,32 e 36,20%, respectivamente.

A avaliação e comparação da digestibilidade aparente total da fibra em detergente neutro e suas estimadas com uso dos *n*-alcanos podem ser observadas na Tabela 7, na qual, observa-se que coeficientes diferenciaram ($P < 0,05$) entre as médias obtidas.

Na Tabela 6, observa-se diferenças ($P < 0,05$) para o tratamento 100T, no qual o CD_{alc31} , CD_{alc31C} , CD_{alc33} e CD_{alc33C} , apresentaram valores superiores de 55,78; 62,89; 54,92 e 59,24%, respectivamente; os demais coeficientes estimados não diferenciaram significativamente do método de coleta total de fezes.

Tabela 6 – Valores de Coeficiente de digestibilidade aparente total da Fibra em Detergente Neutro e suas estimadas com uso dos *n*-alcanos

Coeficientes	Tratamentos					
	100T	80T:20A	60T:40A	40T:60A	20T:80A	100A
² CD_{AP}	43,56	40,95	35,34	39,73	42,73	45,84
CD_{alc31}	55,78*	44,02	51,82*	49,41*	51,76	45,11
CD_{alc31C}	62,89*	49,64	58,43*	55,71*	58,36*	40,01
CD_{alc33}	54,92*	39,61	28,68	31,11*	52,01*	52,20*
CD_{alc33C}	59,24*	42,72	26,59	28,85*	48,22	48,4
CD_{alc35}	41,46	37,57	27,43	36,47	53,66*	42,77
CD_{alc35C}	45,70	41,41	24,88*	34,14	48,69	47,13
CD_{alc36}	39,99	37,43	30,77	26,98*	23,47*	19,77*
CD_{alc36C}	43,45	40,68	33,44	29,32*	25,50*	21,48*
³ Desvio Padrão	10,30	10,41	10,39	10,57	10,54	8,36
⁴ CV%	20,74	21,01	21,44	22,18	23,11	19,54

¹Médias dos tratamentos não diferem estatisticamente do controle (CD_{AP}) pelo teste Dunnett ao nível de 5% de significância

³ CD_{AP} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Neutro aparente, CD_{alc31} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Neutro com C_{31} , CD_{alc31C} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Neutro com C_{31} corrigido para recuperação fecal, CD_{alc33} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Neutro com C_{33} , CD_{alc33C} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Neutro com C_{33} corrigido para recuperação fecal, CD_{alc35} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Neutro com C_{35} , CD_{alc35C} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Neutro com C_{35} corrigido para recuperação fecal, CD_{alc36} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Neutro com C_{36} , CD_{alc36C} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Neutro com C_{36} corrigido para recuperação fecal,

³ Desvio Padrão

⁴CV (%) = coeficiente de variação

Observou-se na comparação entre as médias obtidas para o coeficiente de digestibilidade da fibra em detergente neutro pela forma padrão e pela estimativa com o uso dos *n*-alcanos em relação ao tratamento 80T:20A, que não houve diferenças significativas entre as comparações. Porém para o tratamento 60T:40A, verificou-se diferenças significativas entre as comparação de médias, no qual CD_{alc31} e CD_{alc31C} , apresentaram valores superiores em 16,48 e 23,09% respectivamente; e ainda o CD_{alc35C} inferior em 10,46% comparado ao método de coleta total.

Com relação ao tratamento 40T:60A, houve diferença na comparação entre médias obtidas, em relação ao padrão, no qual CD_{alc31C} , CD_{alc31C} apresentaram valores superiores de 49,41% e 55,71%, e para CD_{alc33} , CD_{alc33C} , CD_{alc36} e CD_{alc36C} , valores inferiores de 31,11; 28,85; 26,98 e 29,32%, respectivamente. Para o tratamento 20T:80A, observou-se diferenças quando realizado a comparado entre médias estimadas pelos *n*-alcanos em relação ao método de coleta total de fezes, no qual CD_{alc33} e CD_{alc33C} , superestimaram os valores com 58,36 e 52,01% respectivamente; e ainda os coeficientes CD_{alc36} e CD_{alc36C} , subestimaram com valores de 23,47 e 25,50%, respectivamente.

Para o tratamento, 100A observou-se que as estimativas obtidas pelo CD_{alc33} apresentou superior em 6,36% em comparação ao valor obtido com o padrão e que CD_{alc36} e CD_{alc36C} , apresentaram inferiores em 26,07 e 24,36%, respectivamente.

Na Tabela 7, observou-se valores de digestibilidade aparente da fibra em detergente ácido das dietas e suas estimativas com uso dos *n*-alcanos, no qual houve diferenças ($P < 0,05$) entre médias obtidas nos tratamentos utilizados na alimentação de equinos, para tal as médias para o tratamento 100T, as estimativas dos coeficientes obtidos pelo CD_{alc31} , CD_{alc31C} , CD_{alc33} e CD_{alc33C} , apresentaram valores superiores em relação a coleta total, sendo de 50,90; 57,39; 50,10 e 54,04% respectivamente, os demais coeficientes não diferenciaram significativamente em relação a coleta total.

O coeficiente de digestibilidade da fibra em detergente ácido pelo método de coleta total e pela estimativa com uso dos *n*-alcanos em relação ao tratamento 80T:20A, verificou-se que apenas a estimativa obtida pelo CD_{alc31} apresentou diferença significativa de 41,51% ou 3,95% superior em relação ao padrão (CD_{AP}).

Verificou-se diferenças significativas entre as comparação de médias para o tratamento 60T:40A, no qual os coeficientes obtidos com CD_{alc31} , CD_{alc31C}

apresentaram valores de 45,40 e 51,19%, respectivamente. Com relação ao tratamento 40T:60A, houve diferença na comparação entre médias obtidas, em relação a coleta total, no qual CD_{alc31C} e CD_{alc31C} apresentou valores superiores em 12,30 e 17,78% respectivamente, para os demais não houve diferenças significativas.

Tabela 7 – Valores de Coeficiente de digestibilidade aparente total da Fibra em Detergente Ácido e suas estimadas com uso dos *n*-alcanos

Coeficientes	Tratamentos					
	100T	80T:20A	60T:40A	40T:60A	20T:80A	100A
² CD_{AP}	38,04	37,56	30,54	30,72	24,87	38,68
CD_{alc31}	50,90*	41,51*	45,40*	43,02*	44,05*	39,97
CD_{alc31C}	57,39*	46,81	51,19*	48,50*	49,66*	35,45
CD_{alc33}	50,10*	37,42	25,16*	27,10	44,35*	46,19*
CD_{alc33C}	54,04*	40,35	23,32*	25,13	41,12*	42,83
CD_{alc35}	37,75	35,45	23,99*	31,77	45,80*	37,92
CD_{alc35C}	41,61	39,07	21,76*	29,70	41,55*	41,79
CD_{alc36}	36,53	35,35	26,95	23,50	19,99*	17,49*
CD_{alc36C}	39,7	38,41	29,28	25,54	21,72	19,01*
³ Desvio Padrão	9,57	9,75	9,63	9,75	9,71	7,78
⁴ CV%	21,21	21,77	21,71	22,32	22,93	19,33

¹Médias dos tratamentos não diferem estatisticamente do controle (CD_{AP}) pelo teste Dunnett ao nível de 5% de significância

² CD_{AP} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Ácido aparente, CD_{alc31} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Ácido com C_{31} , CD_{alc31C} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Ácido com C_{31} corrigido para recuperação fecal, CD_{alc33} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Ácido com C_{33} , CD_{alc33C} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Ácido com C_{33} corrigido para recuperação fecal, CD_{alc35} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Ácido com C_{35} , CD_{alc35C} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Ácido com C_{35} corrigido para recuperação fecal, CD_{alc36} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Ácido com C_{36} , CD_{alc36C} = coeficiente de digestibilidade da Fibra em Detergente Ácido com C_{36} corrigido para recuperação fecal,

³ Desvio Padrão

⁴CV (%) = coeficiente de variação

Para o tratamento 20T:80A, observou-se diferenças quando realizada a comparação entre médias estimadas pelos *n*-alcanos em relação ao método de coleta total de fezes, na qual todas as estimativas apresentaram diferenças significativas, exceto para a estimativa obtida pelo CD_{alc36C} .

Para o tratamento 100A, observou-se que apenas as estimativas obtidas para coeficiente de digestibilidade aparente da fibra em detergente ácido obtido pelo CD_{alc33} diferenciou estatisticamente do padrão com valores superior em 7,51%, e para os

coeficientes obtidos de CD_{alc36} e CD_{alc36C} valores inferiores em 21,19 e 19,67%, respectivamente.

A avaliação e comparação da digestibilidade aparente total da matéria mineral e suas estimadas com uso dos *n*-alcanos podem ser observadas na Tabela 8, na qual, pode-se observar que da mesma forma alguns coeficientes diferenciaram ($P < 0,05$) entre médias obtidas nos tratamentos, para tal o tratamento 100T, apresenta diferenças, no qual os CD_{alc31} , CD_{alc31C} , CD_{alc33} e CD_{alc33C} , apresentaram valores superiores em 14,47; 20,44; 13,66 e 17,27%, respectivamente, os demais não diferenciaram significativamente a método de coleta total.

No tratamento 80T:20A, verificou-se que houve diferença entre as mesmas, apenas para a estimativas dos CD_{alc31} e CD_{alc31C} , apresentando valores de 37,96 e 42,80%, respectivamente.

Tabela 8 – Valores de Coeficiente de Disponibilidade aparente total da Matéria Mineral e suas estimadas com uso dos *n*-alcanos

Coeficientes	Tratamentos					
	100T	80T:20A	60T:40A	40T:60A	20T:80A	100A
² CD_{AP}	32,32	29,21	33,52	38,25	40,53	48,96
CD_{alc31}	46,79*	37,96*	47,73*	48,66*	49,93*	48,16
CD_{alc31C}	52,76*	42,80*	53,82*	54,86	56,30	42,71
CD_{alc33}	45,98*	34,18	26,59*	30,73	49,38	55,64
CD_{alc33C}	49,59*	36,86	24,66*	28,5	45,79	51,59
CD_{alc35}	34,75	32,50	25,36*	35,83	51,19	45,54
CD_{alc35C}	38,30	35,83	23,01*	33,37	46,44	50,19
CD_{alc36}	33,39	32,38	28,53	26,54*	22,37*	21,10*
CD_{alc36C}	36,28	35,19	31,00	28,84	24,30*	22,93*
³ Desvio Padrão	9,61	9,46	9,21	9,45	9,14	7,73
⁴ CV%	23,37	22,67	22,63	23,62	23,68	21,17

¹Médias dos tratamentos não diferem estatisticamente do controle (CD_{AP}) pelo teste Dunnett ao nível de 5% de significância

³ CD_{AP} = coeficiente de Disponibilidade da Matéria Mineral aparente, CD_{alc31} = coeficiente de digestibilidade da Matéria Mineral com C_{31} , CD_{alc31C} = coeficiente de digestibilidade da Matéria Mineral com C_{31} corrigido para recuperação fecal, CD_{alc33} = coeficiente de digestibilidade da Matéria Mineral com C_{33} , CD_{alc33C} = coeficiente de digestibilidade da Matéria Mineral com C_{33} corrigido para recuperação fecal, CD_{alc35} = coeficiente de digestibilidade da Matéria Mineral com C_{35} , CD_{alc35C} = coeficiente de digestibilidade da Matéria Mineral com C_{35} corrigido para recuperação fecal, CD_{alc36} = coeficiente de digestibilidade da Matéria Mineral com C_{36} , CD_{alc36C} = coeficiente de digestibilidade da Matéria Mineral com C_{36} corrigido para recuperação fecal,

³ Desvio Padrão

⁴CV (%) = coeficiente de variação

Para o tratamento 60T:40A, verificou-se diferenças significativas entre todas as comparação de médias, exceto para as estimativas dos CD_{alc36} e CD_{alc36C} .

Com relação ao tratamento 40T:60A, houve diferença na comparação entre médias obtidas, em relação a coleta total, no qual CD_{alc31} apresentou valores superiores em 10,41% e CD_{alc36} e com valores inferiores em 11,71%, as demais estimativas de coeficientes não diferenciaram da forma padrão. Semelhante, o tratamento 20T80A, observou-se diferenças, no qual CD_{alc31} , apresentou valor superior de 49,93% e os coeficientes CD_{alc36} e CD_{alc36C} valores inferiores 22,37 e 24, 30%, respectivamente.

Para o tratamento 100A, observou-se que apenas as estimativas obtidas pelo CD_{alc36} e CD_{alc36C} , diferenciaram estatisticamente do padrão, com valores inferiores de 21,10 e 22,93%, respectivamente.

CONCLUSÕES

Os valores de digestibilidade da forrageira ficaram comprometidos devido a qualidade nutricional (PB e FDN) das fontes de feno, principalmente com a inclusão do Feno de Tifton. Devido a alta seletividade para consumo de alimentos e partículas, que os equinos apresentam; as concentrações de alcanos nas fezes pode não ser representativa com relação as concentrações de alcanos oriundos das dietas, distorcendo as estimativas dos valores de digestibilidade. A taxa de recuperação fecal dos alcanos, não foi completa, devido a possível degradação ao longo do trato gastrointestinal, e com este fato, os valores podem ficar superestimados ou subestimados, desta forma, existe a necessidade de mais estudos a respeito do uso de n-alcanos para digestibilidade de alimentos com equinos.

LITERATURA CITADA

- ALMEIDA, F.Q.; FILHO, S.C.V.; QUEIROZ, A.C. et al. Digestibilidade Aparente Pré cecal e Total da Proteína em Dietas com Diferentes Níveis Protéicos em Equinos **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.3, p.521-529, 1998 (a)
- ALMEIDA, F.Q.; FILHO, S.C.V.; LEÃO, M.I. et al. Digestibilidade Aparente Pré cecal, Pós ileal e Total da Proteína do Milho e do Farelo de Soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.3, p.530-537, 1998 (b)
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis**. 15. ed., Arlington Virginia, 1990. 1117p.
- ARAÚJO, K.V.; LIMA, J.A.F.; FIALHO, E.T. et al. Comparação entre Indicadores Internos e o Método de Coleta Total na Determinação da Digestibilidade dos Nutrientes de Alimentos Volumosos em Equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol. 29, n.03, p.745-751. 2000 (a)
- ARAÚJO, K.V.; LIMA, J.A.F.; FIALHO, E.T. et al. Comparação da Técnica de Saco de Nylon Móvel com o Método de Coleta Total para Determinar a Digestibilidade dos Nutrientes de Alimentos Volumosos em Equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol. 29, n.03, p.752-761. 2000 (b)
- BROSH, A., HENKIN, Z., ROTHMAN, S.J., et al. Effects of faecal n-alkane recovery in estimates of diet composition. **Journal Agriculture Science**. v.140, p.93-100. 2003.
- BYRD, B. M. **Alkanes as Internal and External Markers in Horses and the Digestibility of a High Fat Cereal By Product**. Thesis submitted to the Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg Virginia. 2003.
- CHEN, W.; SCOTT, J.M.; BLAIR, G.J. et al. Using plant cuticular alkanes to study plant animal interaction on pastures. **Canadian Journal of Animal Science**, v.79, n.4, p.553-556, 1999.
- COCHRAN, W. G., COX, G. M.. **Experimental Design (2nd Ed.)**. John Wiley and Sons, Inc., New York. 1991.

- 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, 2005 (a).
- 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, 2005 (b).
- 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**, 2001, Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.286 299.
- 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. and R.W. MAYES. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. **Australian Journal of Agricultural Research**. v.42, p.913 952. 1991.
- DOVE, H., MAYES, R.W. Using n-alkanes and other plant wax components to estimate intake, digestibility and diet composition of grazing/browsing sheep and goats. **Small Ruminants Research**. v.59, p.123–139. 2005.
- ELWERT, C.; KLUTH, H.; RODEHUTSCORD, M. et al. Effect of variable intake of alfalfa and wheat on faecal alkane recoveries and estimates of roughage intake in sheep. **Journal of Agricultural Science, Cambridge**. v.142, p.213–223. 2004.
- FERREIRA, L.M.M., OLIVÁN, M., RODRIGUES, M.A.M., et al. Validation of the alkane technique to estimate diet selection of goats grazing heather gorse vegetation communities. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.85, p.1636–1646. 2005.
- FERREIRA, L.M.M.; GARCIA, U.; RODRIGUES, M.A.M.; et al. Estimation of feed intake and apparent digestibility of equines and cattle grazing on heathland vegetation communities using the n alkane markers. **Livestock Science**. 110, 46–56. 2007.
- FUKUMOTO, N.M. Uso de *n-alcanos* para estimar o consumo, a composição da dieta e a digestibilidade da matéria seca em ovinos. / Nelson Massaru Fukumoto. Maringá, 2004. Dissertação (mestrado) – Departamento de Zootecnia. Universidade Estadual de Maringá, 2004.
- FURTADO, C.E.; TOSI, H.; VITTI, D.M.S.S. Gaiola de Metabolismo para Equinos. **Acta Scientiarum**, v.22, n.03, p.813 816, 2000.
- GUDMUNDSSON, O.; and THORHALLSDOTTIR, A.G. Evaluation of *n* alkanes for intake and digestibility determination in horses. Techniques for investigating intake and ingestive behaviour by farm animals. **9th European Intake Workshop.**, IGER, North Wyke, Devon, UK. 1998

- HAMELEERS, A.; MAYES, R.W. **Grass and Forage Science**. v.53, n.9, p.164, 1998.
- LEWIS, L.D. **Nutrição Clínica Equina: Alimentação e Cuidados**. São Paulo, Ed. Roca, 2000. 710p.
- MAYES, R.W.; DUNCAN, A.J. New developments in the use of plant wax markers to determine intake. In: satellite meeting of the vth international symposium nutrition of herbivores, San Antonio, Texas 1999. **Anais Texas**, 1999.
- MAYES, R.W; LAMB, C.S; GOLGROVE, P.M. et al. The use of herbage *n*-alkanes as markers for the determination of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, v.107, p.161 170, 1986.
- MAYES, R.W; LAMB, C.S; GOLGROVE, P.M. et al. The use of herbage *n* alcanes as markers for the determination of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, v.107, p.161 170, 1986.
- MCLEAN, B.L., MAYES, R.W.; DEB, F.D. et al. The use of *n* alkanes for estimating pasture intake and passage rate in horses. In: **Production Society Animal Science**., Scarborough, U.K. p 98 (Abstr.). 1996.
- NEWMAN, J.A., THOMPSON, W.A.; PENNING, P.D.; et al. Least squares estimation of diet composition from *n* alkanes in herbage and feces using matrix mathematics. **Australian Journal Agriculture Research**. v.46, p.793 805. 1995.
- OLIVEIRA, D. E.; PRATES, E. R.; PERALBA, M.C.R. et al. Digestibilidade determinada pelo método indireto usando o *n* alcano C₃₅. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.848 852, 2000.
- OLIVEIRA, E. D. **Determinação de Alcanos. Manual de extração e análise cromatográfica em forragens, concentrados e fezes**. Piracicaba: FEALQ, 2004.
- OLIVEIRA, D. E.; PRATES, E. R.; PERALBA, M.C.R. et al. Identificação de *n*-alcanos presentes nas ceras de plantas forrageiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.5, p.881 886, 1997.
- O'KEEFE, N. M., MCMENIMAN, N.P. The recovery of natural and dosed *n* alkanes from the horse. **Animal Production Australian**, v. 22 p.337 (Abstr.). 1998.
- ORDAKOWSKI, A.L., KRONFELD, D.S.; HOLLAND, J.L.; et al. Alkanes as internal markers to estimate digestibility of hay or hay plus concentrate diets in horses. **Journal Animal Science**, v. 79(6)p.1516 1522. 2001.
- RAMOS, S.C. **Comparação de diferentes indicadores com método de coleta total para determinação de digestibilidade aparente de diferentes dietas para equinos**. Silvio Couto Ramos. – Pirassununga/ Dissertação (mestrado) Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2003.

- SAS Institute Inc. **Statistical Analysis System user's guide**. Version 9.0. ed. Cary: SAS Institute, USA, 2008.
- SILVA, J.D. **Análises de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. 3 . ed. Imprensa Universitária, Viçosa, UFV, 2002. 235 p.
- STEIN R.B.S.; TOLEDO, L.R.A.; ALMEIDA, F.Q. et al. Estimativa da digestibilidade aparente da matéria seca por meio de indicadores internos em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.504 511, 2006.
- PAINÉ, R. C.; JUNIOR, J. M.; REGO, F. C. 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.Ciências Agrárias.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, n.74, 3583 3597, 1991.
- VULICH, S.A.; HANRAHAN, J.P.; CROWLEY, B.A. et al. Modification of the analytical procedures for the determination of herbage and faecal n alkanes used in the estimation of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, v.124, p.71 77, 1995.
- WILLIAMS, J. C. An empirical model for the lactation curva of white British dairy goats. **Animal Production**, v.57, p.91 97, 1993.
- WOLTER, R. **Alimentacion del Caballo**. Zaragoza, Acribia, 1975. 172p.

COMPARATIVO DE DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL COM USO DE N-ALCANOS E OUTROS INDICADORES INTERNOS

RESUMO: Avaliou-se a eficiência do alcano (C_{31}) como indicador interno para estimar a digestibilidade dos nutrientes de dietas em equinos em comparação aos métodos de coleta total de fezes. Foram utilizados seis equinos, idade média de nove anos e peso vivo de $361,16 \pm 12$ kg, alojados em gaiolas de metabolismo, alimentados com dietas compostas por diferentes porcentagens de feno de Tifton e Alfafa, para ingestão média de 2,5% do peso vivo em base de matéria seca. O experimento teve duração total de 66 dias, sendo sete dias de adaptação às dietas e quatro dias de coleta de fezes, para cada um dos seis diferentes tratamentos. O delineamento estatístico utilizado foi quadrado latino (6×6) sendo os tratamentos e a comparação entre as médias dos testes realizados, utilizando-se teste de Tukey a 5% de significância. Os cálculos de digestibilidade foram feitos utilizando-se a coleta total e a técnica de *n*-alcanos. Os *n*-alcanos superestimam os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes de dietas à base de forrageiras. A qualidade nutricional da dieta pode influenciar no resultado com uso desta técnica. A técnica de *n*-alcano, por apresentar reduzida taxa de recuperação e elevado custo, não se mostrou viável para utilização em testes com equinos.

Palavras chave: cavalos, marcador interno, volumoso,

COMPARATIVE OF TOTAL APPARENT DIGESTIBILITY USING N-ALKANES AND OTHER INTERNAL MARKERS

ABSTRACT: The aim of this study was to verify the *n*-alkane as internal marker to estimate the diet nutrients digestibility in horses comparing to total feces collect. Six equines, average ages of nine years, weighing 361.16 ± 12 kg, allotted in metabolic cages, receiving diets with different percentages of Tifton and alfalfa hay, totaling 2.5% of dry matter intake. The experimental period lasted 66 days, being seven adaptation days and four feces collect days, for each one of the six treatments. The was used a 6x6 latin square design, and the mean comparison test was done using Tukey Test with 5% significance. The digestibility calculus were done using the total collect data and *n*-alkanes technique. The *n*-alkane technique overestimates the roughages nutrient diets digestibility coefficient. The nutrition diet quality could influence in the result using this technique. The *n*-alkane technique do not shown viability to utilization in equine tests, because of the reduced recovery tax and the elevate cost.

Key words: horses, internal marker, roughages

INTRODUÇÃO

O conhecimento do valor nutricional de ingredientes de dietas para equinos é de suma importância para formulações. O estudo aprofundado da digestibilidade das forrageiras nacionais se faz necessário para correta recomendação e associação. Costumeiramente utiliza-se a técnica de coleta total de fezes (Furtado et al, 1999; Oliveira et al 2003, Araújo et al 2001). Porém esta técnica se torna onerosa e trabalhosa, uma vez que os animais devem ser contidos em gaiolas de metabolismo visando controle máximo da ingestão e excreção. Estudos sobre indicadores internos e externos têm sido realizados em ensaios de digestão com equinos com o objetivo de tornar as estimativas de digestibilidade aparente de nutrientes mais práticas e econômicas (Stein et al 2006).

Atualmente, tem-se utilizado como indicador interno de digestibilidade Cinza insolúvel em detergente ácido (CIDA), Cinza Insolúvel em HCl (CIA) e lignina (LIG) , Oliveira et al (2003), Araújo et al (2000); Fibra em Detergente ácido indigestível (FDAi), Fibra em detergente Neutro indigestível (FDNi), Celulose indigestível (CELi), Oliveira et al (2003). Surge recentemente a utilização de *n*-alcanos para estimar a digestibilidade em equinos (Ordakowski, et al 2001), técnica inédita no Brasil para equinos.

Segundo Lopes (2007) os *n*-alcanos são hidrocarbonetos alifáticos saturados (C_nH_{2n+2}), de cadeia longa e parcialmente indigestíveis; no qual o prefixo *n* significa “normal” e é usado para os alcanos com cadeia de átomos de carbono alifática, sem ramificações. Nas plantas, são encontrados na cera cuticular em perfil, de cadeias ímpares e pares, com a predominância das concentrações das cadeias ímpares. Os *n*-alcanos da planta foram usados originalmente como indicadores na obtenção da digestibilidade por Mayes e Lamb em 1984. Estudos recentes com equinos foram realizados por (McLean, et al. 1996; Gudmundsson & Thorhallsdottir, 1998; O’Keefe e

McMeniman, 1998; Ordakowski, et al. 2001; Byrd, 2003). Segundo Chen et al (1999), para que o ingrediente seja analisado por esta técnica, deve-se verificar a concentração mínima de 55 mg/kg de MS do alcano utilizado como indicador.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do *n*-alcano (C₃₁) como indicador interno para estimar a digestibilidade dos nutrientes de dietas em equinos em comparação aos métodos de coleta total de fezes.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de Equideocultura da Universidade Estadual de Maringá-UEM. Utilizou-se seis equinos machos, com idade média de nove anos e peso vivo de $361,16 \pm 12$ kg, alojados em gaiolas de metabolismo segundo modelo preconizado por Furtado et al. (2000).

O período experimental teve duração total de 66 dias, sendo sete dias de adaptação às dietas e quatro dias para coleta de fezes. Durante o período de adaptação os animais permanecerem em baias individuais (9 m^2) e no período de coleta os animais ficaram alojados em gaiolas de metabolismo em período integral.

As dietas foram compostas por diferentes porcentagens de Feno de Tifton 85 e Feno de alfafa, nas seguintes proporções: 100% Feno de Tifton (100T), 80% Feno de Tifton + 20% de Feno de Alfafa (80T:20A), 60% Feno de Tifton + 40% de Feno de Alfafa (60T:40A), 40% Feno de Tifton + 60% de Feno de Alfafa (40T:60A), 20% Feno de Tifton + 80% de Feno de Alfafa (20T:80A), 100% de Feno de Alfafa (100A). O arraçoamento foi realizado três vezes ao dia, sendo fornecido total de 2,5% do peso vivo dos animais, em base de matéria seca, o que representa cerca de 8,9 kg de dieta.

As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Paraná, e a Energia digestível foi utilizada segundo fórmula descrita por Pagan et al (1998).

Para determinação da digestibilidade, as fezes foram coletadas direto do reto (200 gramas) seis vezes ao dia, em intervalo de 4 horas (9h, 13h, 17h, 21h, 01h e 05h), durante quatro dias, feita uma amostra composta, retirada uma alíquota de 10%. As fezes foram acondicionadas em sacos plásticos identificados, pesados e então congeladas em “freezer” para posterior processamento e análise.

Tabela 1. Composição química das dietas experimentais expressos em base de Matéria Seca

Nutrientes ¹	Tratamentos					
	100T	80T:20 ^a	60T:40A	40T:60A	20T:80A	100A
Matéria Seca	91,10	91,02	90,94	90,86	90,78	90,69
Matéria Orgânica	86,87	86,21	85,56	84,91	84,25	83,60
Extrato Etéreo	1,01	1,02	1,02	1,03	1,04	1,05
Proteína Bruta	4,93	7,34	9,75	12,16	14,58	16,99
FDN	73,87	68,31	62,76	57,20	51,64	46,09
FDA	37,10	36,05	35,00	33,95	32,91	31,86
Matéria Mineral	4,35	4,90	5,45	6,01	6,56	7,12
Energia Digestível (Mcal/kg) ²	1,434	1,461	1,469	1,488	1,506	1,524

1. Análise realizada no laboratório de Nutrição Animal e Alimentação do Curso de Zootecnia – UEM

2. Estimado segundo NRC (2007)

As análises químicas das amostras de alimentos e fezes foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Alimentação Animal (LANA) do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Paraná. As análises realizadas foram: teores de Matéria Seca (MS), Proteína Bruta (PB), Extrato Etéreo (EE), teores Matéria Mineral (MM), segundo a metodologia descrita por Silva (2002) e Fibra em Detergente Neutro (FDN), Fibra em Detergente Ácido (FDA) metodologia descrita por Van Soest, et al. (1994).

Para realização da análise de quantificação dos *n*-alcanos, amostras foram encaminhadas para o laboratório de alimentos do Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá – Paraná, e foi utilizada a metodologia descrita por Vulich et al. (1995) adaptado por Oliveira (2004) e descrito por Fukumoto (2004).

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes para coleta total foram determinados pelas fórmulas descritas por Martin Rosset et al (1984) e para os *n*-alcanos foram determinadas pelas fórmulas descritas por Mayes & Lamb (1984).

O delineamento estatístico utilizado foi Quadrado Latino (6x6) sendo os tratamentos, a comparação entre as médias através de teste de Tukey a 5% de significância. Utilizou-se o programa computacional, Statistical Analysis System – 9.0 (SAS, 2008).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Na tabela 1, estão presentes os coeficientes de digestibilidade aparentes pelos métodos de coleta total e n-alcanos (C_{31}). Em experimento paralelo realizado por esta mesma equipe, determinou-se que o alcano C_{31} seria o mais adequado para utilização em experimentos de digestibilidade em equinos, dados que concordam com Pieretti et al (2006) e a literatura, que é bastante escassa, cita a utilização do alcano (C_{31}) para equinos (Ordakowski, et al. 2001) e desta forma, a comparação entre os métodos levava em consideração o alcano C_{31} .

Foram observados no presente experimento, baixos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta FDN e FDA para o feno de Tifton, dados semelhantes aos obtidos por Moretini (2004), utilizando feno de Tifton, diferindo apenas na digestibilidade da PB, atribuída a maior porcentagem de PB observada no feno utilizado pelos citados pesquisadores; Perali et al (2001) e Araújo (2000), ambos utilizando feno de capim Coast-Cross, superiores aos obtidos por Figueiredo et al (1999) utilizando capim-elefante (*Pennisetum purpureum*). Furtado et al (1999) trabalhando com feno de Tifton, observou valores de coeficientes de digestibilidade superiores para respectivamente MS, PB, FDN e FDA (59,00; 58,75; 62,50 e 55,75). Tal variação pode ser atribuída à composição química do feno, sendo que o feno utilizado no presente trabalho apresenta porcentagem de PB inferior e FDA superior ao apresentado por Furtado et al (1999), sendo respectivamente 13,92 e 20,43. Considerando que a FDA é composta por hemicelulose e ligninina, pode-se então comprovar que o feno utilizado no presente experimento apresenta qualidade inferior, constatado pelo baixo valor de proteína bruta, o que pode ter acarretado ao animal déficit de esqueletos de carbono para a formação da microflora bacteriana e com isso ter deprimido os valores de digestibilidade.

Tabela 2. Coeficientes de digestibilidade obtidos pelos métodos de coleta total e *n*-alcanos

Variáveis	Tratamentos					
	100 T	80T :20 A	60T:40 A	60A:40T	80A:20T	100A
CDaMS	46,47	44,88	46,33	51,99	50,95	60,64
CDaMS31	58,88*	48,75	59,16*	62,01	67,33*	61,98
CV(%)	17,58	11,06	15,46	12,92	19,53	8,48
CDaPB	37,12	56,77	58,7	63,68	60,98	67,66
CDaPB31	50,25*	60,06	77,01*	82,64*	84,16*	75,87
CV (%)	22,40	8,36	18,21	18,30	19,25	12,87
CDaFDN	43,56	40,95	35,34	39,73	42,73	45,84
CDaFDN31	55,78*	44,02	51,82*	49,41*	51,76	45,11
CV (%)	17,96	13,39	25,04	15,21	17,85	8,87
CDaFDA	38,04	37,56	30,54	30,72	24,87	38,68
CDaFDA31	50,90*	41,51*	45,40*	43,02*	44,05*	39,97
CV (%)	21,38	12,58	22,73	20,72	35,90	12,42
CDaMM	32,32	29,21	33,52	38,25	40,53	48,96
CDaMM31	46,79*	37,96*	47,73*	48,66*	49,93*	48,16
CV (%)	26,80	18,69	20,79	19,35	23,14	12,81

CDaMS- coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca pelo método de coleta total e CDaMS 31- coeficiente de digestibilidade aparente da Matéria seca pelo método de *n*-alcanos; CDaPB- coeficiente de digestibilidade aparente da Proteína Bruta pelo método de coleta tota; CDaPB 31- coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta pelo método de *n*-alcanos; CDaFDN- coeficiente de digestibilidade aparente da Fibra em Detergente Neutro pelo método de coleta total e CDaFDN 31- coeficiente de digestibilidade aparente da Fibra em Detergente Neutro pelo método de *n*-alcanos; CDaFDA- coeficiente de digestibilidade aparente da Fibra em Detergente ácido pelo método de coleta total e CDaFDA 31- coeficiente de digestibilidade aparente da Fibra em Detergente ácido pelo método de *n*-alcanos; CDaMM- coeficiente de digestibilidade aparente da matéria mineral pelo método de coleta total e CDaMM 31- coeficiente de digestibilidade aparente da matéria mineral pelo método de *n*-alcanos CV: coeficiente de variação.

Para o feno de alfafa, os valores de digestibilidade obtidos no presente experimento, são semelhantes aos obtidos por Perali (2001), superiores aos obtidos por Almeida et al (1999) e semelhante a Furtado et al (1999) para MS (59,75) e PB (67,25) e inferiores para FDN (52,75) e FDA (53,00). Avaliando-se a composição química dos fenos de ambos os trabalhos, pode-se observar que o feno de Alfafa do presente trabalho apresenta menor percentual de FDN (46,06) e maior percentual de FDA (31,86), enquanto Furtado et al (1999) obteve FDN (57,33) e FDA (23,75). Tal variação implica em inferior qualidade do feno de Alfafa do presente experimento, uma vez que o percentual de hemicelulose é diminuto e sabe-se que esta fração é mais facilmente fermentada (Van Soet, 1994). Tal situação pode explicar os coeficientes de

digestibilidade inferiores da fração fibra (FDN e FDA) observados no presente experimento.

Pode-se também observar que à medida que o feno de Alfafa foi acrescido a dieta, as concentrações de FDN e FDA diminuíram (Tabela 1), o que pode ter contribuído para a maior digestibilidade dos nutrientes observadas, dados que corroboram com Frappe (2008) que cita que à medida que a porcentagem de FDN aumenta existe queda no consumo e na digestibilidade dos nutrientes da dieta e Kienzle & Optiz (2002) que citam interação negativa entre a quantidade de fibra e a digestibilidade de nutrientes para equinos.

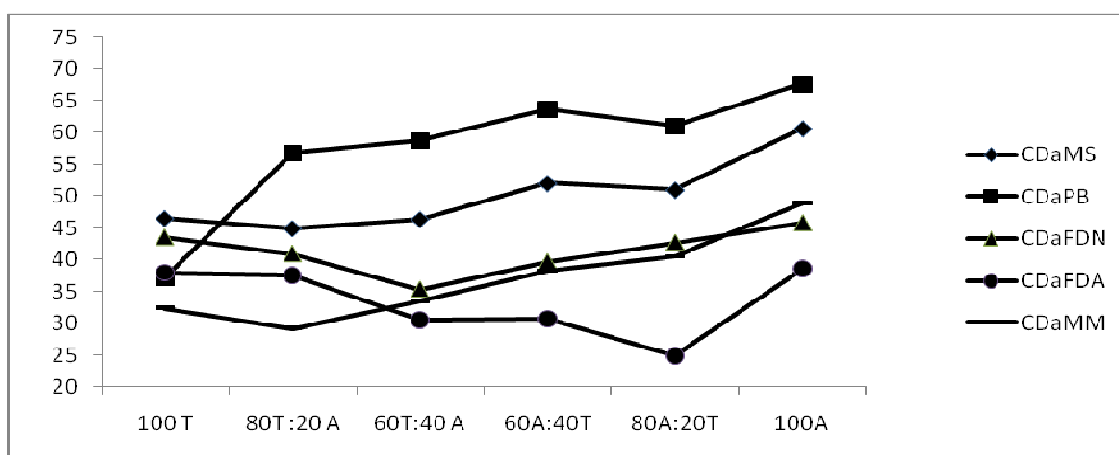


Figura 1: Comportamento dos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes das dietas experimentais para os diferentes tratamentos

A melhora da qualidade nutricional das dietas deste experimento, advinda do incremento do feno de Alfafa na dieta pode ter produzido efeito associativo positivo, favorecendo a digestibilidade dos nutrientes, situação semelhante à descrita por Kienzle & Optiz (2002), acrescentando concentrado a dieta contendo feno de má qualidade, atribuiu a melhora a maior capacidade dos microrganismos em digerir as fibras.

Quando se comparou os métodos da coleta total com o método de *n*-alcanos (C_{31}), observou-se que os valores obtidos por esta técnica são na maioria dos casos, superiores aos obtidos pelo método de coleta total (Tabela 1). As maiores diferenças ($p < 0,05$) entre as técnicas foram observados para o feno de Tifton, seguidos pelos tratamentos 60T:40A, 60A:40T e 80A:20T, respectivamente. Menores valores foram observados nos tratamentos 80T:20A e 100A. Tal variação pode sugerir que a técnica de *n*-alcanos seja mais apropriada para fenos de melhor qualidade nutricional (alfafa) e pouco

apropriada para dietas compostas por dois tipos de volumosos. Ribeiro (2008) em experimento paralelo obteve as respectivas concentrações de *n*-alcanos (C_{31}) em mg/kg de MS, para os tratamentos: 100T (38,17), 80T :20 A (79,10), 60T:40 A (121,90), 60A:40T (152,79), 80A:20T (190,39), 100A (225,41), situação inversa a taxa de recuperação 100T (123,82), 80T:20A (92,88), 60T:40A (80,85), 60A:40T (76,09), 80A:20T (91,33), 100A (67,15) e uma recuperação média de 88,69%. As concentrações de *n*-alcanos foram superiores as preconizadas por Chen et al (1999) para uso da técnica de *n*-alcanos, 55 mg/ kg MS. A baixa concentração observada para o feno de Tifton pode ter contribuído para os valores baixos de digestibilidade da mesma forma que as elevadas concentrações observadas no feno de Alfafa podem ter contribuído para os maiores valores de digestibilidade observados para esta fonte. Ordakowski et al. (2001) trabalhando com *n*-alcanos em equinos, obteve semelhante taxa de recuperação para o *n*-alcano C_{31} ($87,7 \pm 3,81$ e $82,4 \pm 2,96$) para duas dietas compostas por misturas de gramíneas e leguminosas. A concentração do *n*-alcano (C_{31}) forma superiores as observadas no presente experimento, $218,1 \pm 8,82$ e $257,0 \pm 3,24$. Discordando com o observado no presente trabalho, os valores de digestibilidade pelos métodos de coleta total e *n*- alcanos forma bastante semelhantes.

Oliveira et al (2003) utilizando como indicadores internos a Fibra em Detergente ácido indigestível (FDAi), Celulose indigestível (CEL), Lignina (LIG) e Cincas Insolúveis em detergente ácido (CIDA) e trabalhando com dietas à base de feno de Coast-cross e Croast-cross acrescido de concentrado, também observou concentrações de indicadores internos variáveis conforme as dietas experimentais, porém com variação muito menor do que a observada no presente experimento. Araújo et al (2000) utilizando como indicador interno a LIG, Cinza Insolúvel em HCL (CIA) e CIDA, Observou maior concentração de lignina (aproximadamente 9,6%) e baixas de CIA e CIDA (1,1%), para dietas à base de feno de Coast-cross e dieta à base de feno de Coast-cross e capim-elefante.

Quando observou-se a taxa de recuperação dos indicadores internos (tabela 2) verificou-se que a taxa de recuperação do *n*-alcano C_{31} poder ser considerada baixo, sendo o valor mais próximo a taxa de recuperação da lignina, valor este tido como baixo por Araujo et al (2000) e Oliveira et al (2003). Segundo Côrtes et al (2005) o alcano C_{31} é bastante presente em gramíneas da família do *Cynodon Dactylon*, apresentado maiores concentrações na lamina foliar e colmo superior, o que nos leva a

inferir que o feno do presente experimento apresentou baixas contribuições destas regiões da planta.

Segundo Araujo et al (2000) os métodos de CIA e CIDA, são viáveis para a determinação da digestibilidade em equinos, dados que discorda de Oliveira et al (2003) que cita como inadequada a metodologia de CIDA. Os resultados são bastante controversos e ainda necessitam de maiores pesquisas, pois não foram padronizadas as dietas, em relações a volumoso e concentrado, entre outros fatores, fazendo com que os resultados sejam diferentes.

Tabela 3: Indicadores internos e respectivas taxas de recuperação

Indicadores internos	Taxa de recuperação (%)	Autores
<i>n</i> -alcano 31	88,69	Ribeiro (2008)
FDAi	98,75	Oliveira et al (2003)
CELi	101,72	Oliveira et al (2003)
Lignina	75,81	Oliveira et al (2003)
CIDA	168,65	Oliveira et al (2003)
Lignina	81,36±2,03	Araújo et al (2000)*
CIA	100,12±1,51	Araújo et al (2000)*
CIDA	99,66±1,24	Araújo et al (2000)*
Lignina	89,46±1,41	Araújo et al (2000)**
CIA	101,32±1,20	Araújo et al (2000)**
CIDA	96,33±2,28	Araújo et al (2000)**

*Dieta à base de Feno de Coast-cross

** Dieta à Base de feno de Coast-cross e de capim-elefante

O mesmo ocorre com a técnica de *n*-alcanos. Esta é uma técnica muito dispendiosa e difícil de ser realizada, seguindo metodologia complexa de extração e recuperação do *n*-alcanos.

CONCLUSÃO

Os *n*-alcanos superestimam os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes de dietas à base de forrageiras. A qualidade nutricional da dieta pode influenciar no resultado com uso de *n*-alcanos, sendo sugerido emprego da técnica em dietas de melhor qualidade nutricional. A técnica do uso de *n*-alcanos por apresentar reduzida taxa de recuperação e elevado custo não se mostrou viável para utilização em testes com equinos.

LITERATURA CITADA

- ALMEIDA, M.I.V.; FERREIRA, W.M.; ALMEIDA, F.Q. et al. Valor nutritivo do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum), do feno de alfafa (*Medicago sativa*, L.) e do feno de capim *coast-cross* (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) para eqüinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.4, p.743-752, 1999.
- ARAÚJO, K.V.; LIMA, J.A.F.; FIALHO, E.T. et al. Comparação dos indicadores internos com o método de coleta total para determinar a digestibilidade dos nutrientes de dietas mistas em eqüinos. **Ciência Agrotécnica**, v.24, n.4, p.1041-1048, 2000.
- ARAÚJO, K.V.; LIMA, J.A.F.; FIALHO, E.T. et al. Comparação entre Indicadores Internos e o Método de Coleta Total na Determinação da Digestibilidade dos Nutrientes de Alimentos Volumosos em Eqüinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol. 29, n.03, p.745-751. 2000 (a)
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis**. 15. ed., Arlington - Virginia, 1990. 1117p.
- BYRD, B. M. **Alkanes as Internal and External Markers in Horses and the Digestibility of a High Fat Cereal By-Product**. Thesis submitted to the Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg Virginia. 2003.
- CHEN, W.; SCOTT, J.M; BLAIR, G.J.; et al. Using plant cuticular alkanes to study plant-animal interaction on pastures. **Canadian Journal of Animal Science**, v.79, n.4, p.553-556, 1999.
- 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, 2005 (a).
- FRAPE, D. **Nutrição & alimentação de eqüinos**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2008. 602 p.
- FUKUMOTO, N.M. **Uso de *n*-alcanos para estimar o consumo, a composição da dieta e a digestibilidade da matéria seca em ovinos**. / Nelson Massaru Fukumoto. Maringá, 2004. Dissertação (mestrado) – Departamento de Zootecnia. Universidade estadual de Maringá, 2004.

- FURTADO, C.E.; CABRERA, L.; FONSECA, N.A.N. et al. Avaliação da digestibilidade aparente de fenos de gramíneas e de leguminosa para eqüinos, **Acta Scientiarum**. v21(3), p.651-655, 1999.
- FURTADO, C.E.; TOSI, H.; VITTI, D.M.S.S. Gaiola de Metabolismo para Eqüinos. **Acta Scientiarum**, vol.22, n.03, p.813-816, 2000.
- GUDMUNDSSON, O.; THORHALLSDOTTIR, A.G. Evaluation of *n*-alkanes for intake and digestibility determination in horses. Techniques for investigating intake and ingestive behaviour by farm animals. **9^o th European Intake Workshop**., IGER, North Wyke, Devon, UK. 1998
- KIENZLE, E.; FEHRLE, S.; OPITZ, B. Interactions between the Apparent Energy and Nutrient Digestibilities of a Concentrate Mixture and Roughages in Horses^{1,2}, American Society for Nutritional Sciences. **Journal Nutrition**. v.132: p.1778S–1780S, 2002.
- LOPES, F. C. F. **Determinação do consumo de forrageiras tropicais por vacas em lactação em condições de pastejo**. Caderno Técnico Veterinária e Zootecnia., v.52, p.1-116, 2007.
- MARTIN ROSSET, W.; ANDRIEU, J.; VERMOREL, M. et al. **Valeur nutritive des aliments pour le cheval**. In: Jarrige, R.; Martin-Rosset, W., (eds). Le cheval. Paris: Inra, 1984. p.209-238,
- MAYES, R.W; LAMB, C.S; GOLGROVE, P.M. et al. The use of herbage *n*-alkanes as markers for the determination of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, v.107, p.161-170, 1986.
- MCLEAN, B. L., R. W. MAYES, AND F. D. DEB. HOVELL. et al. The use of *n*-alkanes for estimating pasture intake and passage rate in horses. In: **Production Society Animal Science**, Scarborough, U.K. p 98 (Abstr.). 1996.
- MORETINI, C.A.; LIMA, J.A.F.; FIALHO, E.T. et al. Avaliação nutricional de alguns alimentos para eqüinos por meio de ensaios metabólicos, **Ciência Agrotécnica**., Lavras, v. 28, n. 3, p. 621-626, Maio/Jun., 2004
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Horses**. (6th revised ed.) Washington - DC. 2007,p.341 .
- O’KEEFE, N. M., AND N. P. MCMENIMAN. The recovery of natural and dosed *n*-alkanes from the horse. **Animal Production Australian**,v. 22, p. 337 (Abstr.). 1998.
- OLIVEIRA, C.A.A.; ALMEIDA, F.Q.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Estimativa da Digestibilidade Aparente de Nutrientes em Dietas para Eqüinos, com o Uso de Óxido Crômico e Indicadores Internos, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1681-1689, 2003 (Supl. 1)

- OLIVEIRA, D. E.; PRATES, E. R.; PERALBA, M.C.R. Digestibilidade determinada pelo método indireto usando o *n*-alcano C₃₅. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.848-852, 2000.
- ORDAKOWSKI, A.L., KRONFELD, D.S.; HOLLAND, J.L. et al. Alkanes as internal markers to estimate digestibility of hay or hay plus concentrate diets in horses. **Journal Animal Science**. v.79(6) p.1516-1522. 2001.
- PAGAN, J. D. Measuring the digestible energy content of horse feeds. In: **Advances in Equine Nutrition** - Nottingham, UK, Nottingham University Press. pg71-76, 1998
- PEIRETTI, P.G., MEINER, G., MIRAGLIA, N., et al. Intake and apparent digestibility of hay or hay plus concentrate diets determined in horses by the total collection of feces and *n*-alkanes as internal markers. **Livestock Science**, v.100, p.189-194, 2006
- PERALI, C.; LIMA, J.A.F.; FIALHO, E.T., et al. Valores Nutricionais De Alimentos Para Equinos, **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.25, n.5, p.1216-1224, Set./Out., 2001
- SAS Institute Inc. **Statistical Analysis System user's guide**. Version 9.0. ed. Cary: SAS Institute, USA, 2008.
- SILVA, J.D. **Análises de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. 3 . ed. Imprensa Universitária, Viçosa, UFV, 2002. 235 p.
- STEIN R.B.S.; TOLEDO, L.R.A.; ALMEIDA, F.Q. et al. Estimativa da digestibilidade aparente da matéria seca por meio de indicadores internos em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.504-511, 2006.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, n.74, p. 3583-3597, 1991.