

Universidade de Évora



Efeito do teor proteico da dieta na digestibilidade da bolota em porcos Alentejanos

**Dissertação para obtenção
de grau de Mestre:**
Marta Guerreiro nº 19370

Orientador:
Prof. Manuel Cancela d'Abreu

Co-orientado:
Prof. Amadeu Freitas

“Esta dissertação não inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri.”

Évora, 02 de Novembro de 2009.

Universidade de Évora



Efeito do teor proteico da dieta na digestibilidade da bolota em porcos Alentejanos



**Dissertação para obtenção
de grau de Mestre:** 17133
Marta Guerreiro n° 19370

Orientador:
Prof. Manuel Cancela d'Abreu

Co-orientado:
Prof. Amadeu Freitas

“Esta dissertação não inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri.”

Évora, 02 de Novembro de 2009.

Resumo

O objectivo do presente ensaio é avaliar o efeito do teor proteico da dieta na digestibilidade da bolota em porcos Alentejanos. Para tal, nove animais foram seccionados e colocados em caixas metabólicas onde as dietas foram distribuídas aleatoriamente, segundo o Modelo de Quadrado Latino 3 x 3. O ensaio *in vivo* foi assim dividido em três períodos, durante os quais se recolheram amostras de alimento, refugos fezes e urina para posterior análise em laboratório. Foi determinada a composição química do alimento e calculada a digestibilidade e balanço de azoto dos três tratamentos. Também foi determinado o conteúdo em compostos fenólicos e taninos da bolota pelo método do Folin-Ciocalteu, taninos condensados pelo método do Butanol-HCl e a capacidade complexante dos taninos pelo método da Difusão Radial. Devido à reduzida capacidade dos taninos complexarem as proteína e à baixa ingestão da luzerna não foi possível verificar diferenças na proteína ingerida entre os tratamentos testados.

The effect of protein content in diet digestibility of oak acorn in Alentejano pigs.

Abstract

The aim of present experiment is to evaluate the effect of protein content in diet digestibility of oak acorn in Alentejano pigs. For that, nine animals were selected and housed in metabolic cages where diets were given randomly, in a Latin Square model 3 x 3. The *in vivo* experiment was divided in three periods, during which were collected feed, refusals, feces and urine samples for subsequent laboratory analyses. Chemical feed composition was determinate and calculated the digestibility and nitrogen balance in three treatments. It was also determinate the amount of phenolic compounds and tannins on oak acorn by Folin-Ciocalteu assay, condensed tannins by Butanol-HCl assay and the availability to form complex with protein by Radial Diffusion assay. It was observed a reduced availability of tannins to bind proteins and a low Lucerne intake, so it wasn't possible to verify differences on protein intake, between tested treatments.

Agradecimentos

À Universidade de Évora e a todos aqueles (docentes e funcionários) que colaboraram na montagem e execução do ensaio *in vivo*.

À minha colega e amiga Cláudia Gomes que foi uma importante colaboradora em todas as etapas do ensaio. Por todas as horas que passámos juntas neste último ano, pelos desabafos e pela motivação, que em conjunto, tentámos sempre manter.

Ao Prof. Cancela d'Abreu, Prof.^a Isabel Ferraz e Prof. Amadeu Freitas pela ajuda durante o ensaio *in vivo* e pelos esclarecimentos prestados ao longo do tempo.

À Eng. Graça Machado pela integração no laboratório e pelo tempo dispendido na explicação de métodos e resolução de dúvidas inerentes ao laboratório. Também à Margarida Romão e colega Fernanda pela ajuda no trabalho de laboratório no processamento das amostras e determinações laboratoriais necessárias.

À minha família que me permitiu chegar até aqui e que esteve sempre do meu lado em todos os momentos da minha vida.

Ao Nuno Lopes pela paciência, carinho e dedicação que foram fundamentais durante esta fase. “Ainda bem que tu existes”.

À Catarina, Filipa, Gigi, Marlene e Núria que me acompanharam (uma durante a semana, outras no fim-de-semana) durante esta temporada, obrigado por me proporcionarem bons momentos de descontração. A Carlota e a Li embora menos presentes são também elementos de peso.

E a todos os meus amigos que estiveram comigo de uma forma ou de outra que apesar de não serem mencionados não foram esquecidos.

Índice:

Resumo:	5
Abstract:	7
1. Introdução:	9
2. Objectivos:	11
3. Revisão Bibliográfica:	
3.1. Enquadramento Histórico	12
3.2. Situação Actual.....	13
3.3. Raça Suína Alentejano.....	15
3.4. O montado e os seus recursos alimentares	17
3.4.1. Bolota.....	18
3.4.2. Erva e outros recursos disponíveis	20
3.5. Digestibilidade	22
3.6. Taninos	24
3.6.1. Métodos utilizados para estimar taninos	28
3.6.1.1. Método de Difusão Radial.....	29
3.6.1.2. Método do Folin-Ciocalteu	29
3.6.1.3. Método do Butanol-HCl.....	30
4. Procedimento Experimental:	
4.1. Ensaio in vivo.....	31
4.1.1. Materiais e Métodos.....	31
4.1.1.1 Colheita de amostra de alimento.....	34
4.1.1.2 Colheita de refugos.....	34
4.1.1.3. Colheita de fezes.....	35
4.1.1.3. Colheita de urina.....	35

4.2. Análises Laboratoriais	
4.2.1. Processamentos de amostras	
4.2.1.1. Alimento.....	36
4.2.1.2. Refugos.....	36
4.2.1.3. Fezes.....	37
4.2.1.4. Urina.....	37
4.2.2. Análises laboratoriais	
4.2.2.1. Matéria Seca e Cinzas Totais.....	38
4.2.2.2. Fibras.....	38
4.2.2.3. Proteína Bruta e Cinzas Totais.....	39
4.2.2.4. Taninos	
4.2.2.4.1. Método de Difusão Radial.....	39
4.2.2.4.2. Método do Folin-Ciocalteu.....	42
4.2.2.4.3. Método do Butanol-HCl.....	44
5. Delineamento Experimental.....	46
6. Tratamento Estatístico.....	46
7. Resultados	
7.1. Composição dos alimentos.....	47
7.2. Taninos.....	49
7.3. Ingestão, Digestibilidade e Balanço de Azoto.....	51
7.3.1. Ingestão.....	51
7.3.2. Digestibilidade.....	53
7.3.3. Balanço de Azoto.....	54
7.3.4. Digestibilidade do Azoto.....	55
8. Conclusão.....	57
9. Bibliografia.....	59

Índice de quadros

Quadro 1 – Evolução do efectivo de fêmeas de raças autóctones.....	14
Quadro 2 – Composição nutricional da bolota.....	19
Quadro 3 – Evolução da composição química da bolota (% fruto inteiro).....	19
Quadro 4 – Composição de ácidos gordos presentes na bolota.....	20
Quadro 5 – Valor nutritivo e composição da vegetal herbácea.....	21
Quadro 6 – Modelo definido para o ensaio <i>in vivo</i>	32
Quadro 7 – Volumes de ácido tânico e solução de acetona/água (70:30) utilizados para preparar os padrões de ácido tânico.....	41
Quadro 8 – Preparação da curva de calibração do Método do Folin-Ciocalteu.....	43
Quadro 9 – Delineamento Experimental do ensaio <i>in vivo</i>	46
Quadro 10 – Composição química da bolota (inteira, miolo e casca) e da luzerna.....	47
Quadro 11 – Concentração de taninos presentes na bolota inteira, miolo e casca por diferentes métodos.....	50
Quadro 12 – Valores médios obtidos para as variáveis em estudo nos três tratamentos (g/dia).....	56

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Curva padrão do ácido tânico pelo método de Difusão Radial.....	42
Gráfico 2 – Curva de calibração de ácido tânico pelo método do Folin-Ciocalteu.....	44
Gráfico 3 – Evolução do peso vivo dos animais ao longo do período de ensaio	48
Gráfico 4 – Médias das variáveis em análise por tratamento (Kg)	52
Gráfico 5 – Digestibilidade por tratamento (%).....	53
Gráfico 6 – Composição azotada dos intervenientes para o cálculo do balanço e digestibilidade de N (g/dia).....	54
Gráfico 7 – Balanço de N versus Digestibilidade de N (g/dia).....	56

Índice de Figuras:

Figura 1 – Estrutura dos taninos condensados.....	25
Figura 2,3 – Animais confinados em parques para selecção do grupo que ia integrar o ensaio.....	31
Figura 4,5 – Caixas metabólicas utilizadas no ensaio <i>in vivo</i> com comedouros, bebedouros, tabuleiros para a recolha de fezes e baldes para a recolha de urina.....	32
Figura 6,7 – Separação de Refugos B.....	37
Figura 8 – Aspecto das placas de petri após incubação dos padrões durante 96h.....	41

Resumo:

O presente estudo tem como objectivo avaliar a digestibilidade aparente e balanço de azoto da bolota em três dietas com diferentes incorporações de luzerna desidratada. Nove porcos de raça alentejana foram seleccionados para o ensaio *in vivo*, após um período de adaptação de 7 dias. Os animais apresentavam pesos vivos de $100\text{Kg} \pm 10\text{Kg}$ e foram confinados em caixas metabólicas durante 35 dias, equivalente a três períodos. As dietas foram distribuídas aleatoriamente pelos animais segundo o modelo do Quadrado Latino 3×3 . A água foi fornecida *ad libitum*. Durante o ensaio foram recolhidas amostras de alimento, refugo, fezes e urina. Em laboratório procedeu-se à determinação de MS, Cinzas, NDF, ADF, ADL e NT para conhecer a composição das dietas fornecidas e para posterior determinação da digestibilidade aparente e balanço de azoto das dietas. De acordo com os resultados obtidos, verifica-se que as digestibilidades das dietas não apresentaram diferenças significativas entre elas ($p > 0,05$). T1 apresentou maior digestibilidade que as restantes (0,837) enquanto T3 foi a dieta que apresentou melhor digestibilidade (0,822) quando comparada com T2 (0,81). Também não se verifica qualquer efeito da inclusão de luzerna sobre a ingestão de proteína. O único efeito que a luzerna exerceu, incidiu sobre o balanço de azoto dos tratamentos, uma vez que o que não tinha qualquer incorporação de luzerna foi o único que apresentou um balanço de azoto negativo (-0,94g/dia). Em T2 e T3 verificou-se um balanço de azoto mais equilibrado (0,24g/dia e 0,04g/dia respectivamente). No entanto apenas se verificou a existência de diferenças significativas entre T1 e T2 ($p < 0,05$). Utilizou-se o método do Folin-Ciocalteu para determinar a quantidade de compostos fenólicos totais presentes na bolota e taninos após a adição de PVP. Verificou-se que a casca apresenta uma concentração de compostos fenólicos superior à encontrada no miolo (17,0g/Kg e 8,7g/Kg respectivamente). Também os taninos apresentam maior concentração na casca (16,5g/Kg) que o miolo (2,2g/Kg). Os taninos condensados foram

quantificados através do Método do Butanol-HCl e obteve-se valores um pouco mais elevados que o método anterior, no entanto os resultados obtidos são concordantes onde a apresenta casca também apresenta maior concentração de taninos condensados (18g/Kg) comparativamente ao miolo (2,7g/kg). Pelos dois últimos métodos verificou-se que a concentração de taninos presentes nas fracções da bolota era baixa particularmente no miolo, o que pode também ter conduzido à redução do efeito anti-nutritivo dos taninos sobre a digestibilidade das dietas. Mediu-se também a actividade biológica dos taninos presentes na bolota através do Método de Difusão Radial. Através do método de difusão radial e verificou-se que a capacidade complexante dos taninos também era reduzida, logo a digestibilidade da proteína da dieta não foi muito afectada pela presença de taninos na bolota. Em conclusão nem os diferentes níveis de luzerna incorporados, nem a quantidade de taninos presentes na bolota afectaram a digestibilidade da mesma.

Palavras-chave: Bolota; Porco Alentejano; Digestibilidade; Balanço de Azoto; Taninos.

Abstract:

The aim of this study is to evaluate the apparent digestibility and nitrogen balance of oak acorn in three diets with different portions of dehydrated Lucerne. One of those was 100% of oak acorn (T1), while in the others were included 200g and 440g of dehydrated Lucerne. Nine Alentejano pigs were selected for the *in vivo* experiment after an adjustment period of 7 days. The animals had $100\text{Kg} \pm 10\text{Kg}$ live weigh and were housed in metabolic cages for 35 days, equivalent to three periods. Diets were given randomly to animals in Latin Square Model 3 x 3. Along the experiment were collected feed, refusals, feces and urine samples. In laboratory were analyzed dry matter, ashes, NDF, ADF, ADL and TN to determinate diets compositions, apparent digestibility and nitrogen balance. The results show that there's no evidence of differences between the three diets ($p > 0,05$). T1 had better digestibility (0,837) than the other diets. However, T3 showed a better digestibility (0,822) when compared with T2 (0,81). There's no evidence that the inclusion of Lucerne in diets had any effects in protein ingestion. The Lucerne inclusion seems to have had some effects on nitrogen balance in different treatments because it was observed that T1 had a negative nitrogen balance (-0,94g/dia) and the others showed a more equilibrated nitrogen balance (0,24g/dia e 0,04g/dia respectively). It seems there are significant differences between T1 and T2 ($p < 0,05$). The amount of phenolic compounds was measured by Foli-Ciocalteu assay and the amount of tannins was calculated after addition of PVP. The hulls present a higher concentration of phenolic compounds compared with kernel (17,0g/Kg e 8,7g/Kg respectively). Tannins also had a higher concentration in hulls (16,5g/Kg) than kernel (2,2g/Kg). Condensed Tannins were measured in feed samples by Butanol-HCl assay. In this assay the concentrations are higher than Folin-Ciocalteu assay but the values are similar. The hulls still had a higher concentration of tannins (18g/Kg) when compared with kernels (2,7g/kg). On these two assays the concentration of tannins in oak acorn fractions

was low, particularly in kernel, which could cause a reduction of antinutritive effects of tannins in diets digestibility. Biological activity of tannins present in oak acorn was measured by Radial Diffusion assay and it was observed that tannins had a reduced capacity of binding proteins, so the protein digestibility wasn't also affected by tannins present in oak acorn. In conclusion the various levels of Lucerne incorporated, nor the amount of tannins in oak acorn affects the digestibility of it.

Key-words: Oak Acorn; Alentejano Pig; Digestibility; Nitrogen Balance; tannins

1. Introdução:

A exploração da raça suína alentejana em regime extensivo/ semi-intensivo, não só contribui para a manutenção e preservação do património genético como também actua como agente modelador da paisagem do Montado. Os alimentos disponibilizados pelos montados desempenham um papel fundamental para a economia das empresas suinícolas uma vez que possibilitam a redução substancial de encargos associados à alimentação dos animais durante o período de montanha. Também as reformas da PAC evoluíram no sentido de beneficiar os produtores de raças autóctones que se desenvolvem de forma sustentável e com reduzido impacto ambiental. O aumento do consumo de produtos de Porco Alentejano deve-se essencialmente ao reconhecimento da carne de porco Alentejano como um produto de qualidade e às preocupações dos consumidores associadas ao bem-estar animal e manutenção do equilíbrio ecológico do ambiente.

Durante os meses de Outubro/Novembro a Janeiro/Fevereiro, a bolota constitui a principal fonte de alimentação para os animais, enquanto a erva e outros alimentos que encontrem à sua disposição (cogumelos, raízes...) adquirem o papel de fonte secundária, mas não menos importante que a bolota, uma vez que a complementam em alguns nutrientes, nomeadamente em proteínas.

A composição nutricional da bolota e da erva é variável ao longo do período de engorda em montanha. A bolota é caracterizada por apresentar baixo teor proteico e elevado teor de lípidos e amido que lhe conferem alta densidade energética. Já o seu conteúdo em taninos pode ser considerado por vezes indesejável, na medida em que complexa as proteínas da dieta e endógenas deixando de ser passíveis de serem absorvidas pelo organismo animal. O facto de os animais descascarem a bolota pode indicar um comportamento adaptativo que os suínos desenvolveram de forma a ingerirem menores quantidades de taninos (uma vez que a casca é a fracção que apresenta maior

concentração), que se podem ligar às proteínas, permitindo que haja maior quantidade de proteína disponível para o animal – amenização do efeito anti-nutritivo. O efeito dos taninos pode conduzir à redução da capacidade de ingestão e digestibilidade da dieta, e gerar um balanço de azoto negativo. A erva é um elemento essencial na medida em que complementa os baixos teores proteicos da bolota e promove um maior aporte de proteínas disponíveis para formar complexos com os taninos e para a absorção evitando transtornos para o trato gastrointestinal e sem afectar a digestibilidade dos alimentos. Importa conhecer bem estes mecanismos e a composição da dieta que face aos mesmos expresse melhores performances produtivas, optimizando o sistema de produção.

A determinação da ingestão e digestibilidade *in vivo* através do método de colheitas totais, onde os animais permanecem confinados em caixas metabólicas, apresenta vantagens e desvantagens como todos os outros métodos. Apesar de ser um método não invasivo e permitir a quantificação dos refugos, fezes e urina produzidos, a principal limitação reside na ausência de exercício físico proporcionado pelos sistemas de exploração extensivos e na manipulação/inibição do comportamento alimentar natural dos animais. Outra dificuldade é a variada composição das componentes herbáceas ingeridas, uma vez que não se conhece quais são as espécies mais apreciadas pelos animais.

Em suma, importa conhecer as necessidades alimentares dos animais de acordo com o seu estado de desenvolvimento, as disponibilidades alimentares dos montados e em que medida suprimem as necessidades dos animais, com o objectivo de tornar todo o sistema de produção mais eficiente.

2. Objectivos:

O presente trabalho tem como objectivo avaliar o efeito da inclusão de quantidades crescentes de luzerna desidratada na dieta sobre a digestibilidade da bolota. Pretende-se também verificar o balanço de azoto gerado pelas três dietas testadas no ensaio, de forma a avaliar qual delas expressa melhores resultados e conduz a efeitos menos depreciativos sobre a digestibilidade da bolota e azoto nos animais.

Realizou-se um ensaio com nove porcos de raça alentejano castrados, confinados em caixas metabólicas e distribuí-se aleatoriamente as dietas pelos animais durante três períodos de forma a obter um maior número de réplicas.

A distribuição das refeições três vezes ao dia tal como a remoção das cascas de bolota dos comedouros tinham como objectivo tentar estimular a ingestão de luzerna desidratada, que devido à sua composição e ao comportamento selectivo que os animais mostraram, poderia indicar aparentemente baixos níveis de ingestão.

Por último pretende-se determinar a quantidade de compostos fenólicos e taninos presentes nas fracções da bolota (miolo, casca e bolota inteira), bem como o seu poder complexante sobre a proteína da dieta e eventual redução da digestibilidade de proteína bruta.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Enquadramento Histórico

Os montados por disponibilizarem recursos alimentares renováveis de baixo custo estão historicamente relacionados com a exploração tradicional de suínos de raça Alentejana, tornando-se num elemento fundamental para a sua subsistência. Até aos anos 50 do século passado, a produção de suínos em Portugal baseava-se na exploração de duas raças autóctones: Bísara nas regiões a norte do Tejo e Alentejana a sul. A raça Bísara era explorada de forma familiar, os animais permaneciam estabulados e eram alimentados com subprodutos da exploração agrícola e restos de cozinha. A sul, em particular nas regiões de montados, predominava a raça suína Alentejana, explorada em regime extensivo e integrada num sistema agro-silvo-pastoril bem definido (Póvoas Janeiro, 1944; Baptista, 1993).

A produção de suínos Alentejanos destinava-se ao abastecimento das populações em carne fresca, salgada e às oficinas artesanais de transformação. A engorda industrial com alimentos e resíduos industriais adquiridos no mercado também tinha alguma expressão em anos de montanheiras pouco produtivas (Bettencourt, 1984; Póvoas Janeiro, 1944). Com o aparecimento da peste suína, a alteração dos hábitos alimentares dos consumidores que começaram a privilegiar carnes mais magras, e o reduzido interesse da indústria salsicheira foram factores determinantes para a diminuição dramática dos efectivos. Por outro lado, também o forte êxodo rural, o aumento dos salários dos trabalhadores rurais, o aumento das áreas cultivadas com cereais e a mecanização, foram decisivos para essa redução que consequentemente conduziu ao abandono da vasta área de montados (Nunes, 1993).

Na década de 90, com as reformas da Política Agrícola Comum, em 1992, foram introduzidas políticas que valorizavam o desenvolvimento sustentável das explorações, apoiando as que praticavam sistemas de exploração menos intensivos e que primavam pela

protecção ambiental, manutenção da biodiversidade e da paisagem rural. Esta actividade tornou-se então mais aliciante para os produtores uma vez que valorizavam a utilização de raças autóctones e o aproveitamento dos recursos alimentares naturais para obtenção de produtos de elevada qualidade, considerados um importante contributo para a economia dessas regiões.

Os consumidores por sua vez sensibilizados com as práticas do regime intensivo, preocupados com o bem-estar animal e com a protecção ambiental, ao readquirirem poder de compra começaram a exigir maior qualidade dos produtos adquiridos, possibilitando assim a evolução da raça suína Alentejana (Casabianca, 1996)

Para além do novo quadro de apoio às raças autóctones e a sistemas de produção extensivos, outros factores foram determinantes para o aumento do número de produtores de porco de raça Alentejana, como a organização de produtores em associações (ACPA e ANCPA) e à união das associações (UNIAPRA), a certificação de produtos (DOP, IGP) e o desenvolvimento da indústria salsicheira e de presuntos (Freitas, 1998).

3.2. Situação Actual

Actualmente as raças autóctones fazem parte do meio rural onde desempenham um importante papel na fixação de populações, equilíbrio ecológico (uma vez que são exploradas de forma extensiva) e são parte integrante do património histórico e cultural do país. Apesar de em alguns casos apresentarem menores níveis produtivos, têm a capacidade de tirar partido de condições adversas e restritas, nas quais outras raças teriam dificuldade em o fazer de forma tão eficiente.

Ao serem concedidos os apoios financeiros aos produtores, decorrentes da reforma da PAC, afastou-se definitivamente o perigo de extinção da raça uma vez que estas medidas visavam a manutenção/melhoria dos montados e a reintrodução de porcos de montanha. Esta reforma permitiu por outro lado, a expansão e consolidação da fileira do porco Alentejano, permitindo que a produção de porco de raça Alentejana se tornasse numa actividade organizada e vocacionada para a produção de carne e produtos transformados de qualidade (Freitas *et al.*, 2003).

Como é possível observar na Tabela I, a raça Alentejana é a raça que mais se tem destacado e aumentado no mercado, comparativamente às restantes raças autóctones de suínos. Este aumento evidencia uma forte mudança na procura destes produtos que se reflecte no aumento do efectivo de porcas reprodutoras.

Quadro 1: Evolução do Efectivo de Fêmeas de Raças Autóctones de Suínos

	Suínos			
	Raça	1999	2003	2007
Autóctones	Alentejana	6 060	7 000	10 000
	Bísaro	720	980	1 916
	Malhado de Alcobaça			173

Fonte: DGV

unidade: fêmea

Segundo a Direcção Geral de Veterinária, em 2006 as fêmeas autóctones aumentaram 58% em relação ao ano 1999. No ano de 2007, o efectivo de fêmeas apenas aumentou 424 animais comparativamente a 2006. Refere também que a raça suína Alentejana é a mais representativa, correspondendo a 83% do efectivo de fêmeas de raças

autóctones. No entanto, relativamente ao ano de 2006 o efectivo de fêmeas de raça suína alentejana recuou cerca de 3%.

Os principais objectivos da produção de porco Alentejano são o abastecimento de matéria-prima das indústrias transformadoras (presunto e enchidos) e produção de carne para consumo em fresco. Com o surgimento da certificação de produtos, a raça suína alentejana ganhou maior expressão no mercado, uma vez que assegurava ao consumidor a genuidade do produto e características específicas da carne. Em 2007 já existiam 27 produtos certificados, 4 com Denominação de Origem e 23 com Identificação Geográfica. (Fernandes *et al*, 2008).

3.3. Raça Suína Alentejana

O porco Alentejano é uma raça mediterrânea, relacionada com o Porco Ibérico. Acredita-se que chegou à Península Ibérica com as civilizações que invadiram a Península vindos da Bacia do Mediterrâneo (Delgado *et al*, 2001).

Relativamente às características morfológicas da raça, os animais apresentam pele preta ardósia, com poucas cerdas finas e de cor preta ou ruiva; corpulência média-pequena, grande rusticidade e temperamento vivo. Apresentam uma cabeça comprida e fina de ângulo fronto-nasal pouco acentuado, orelhas pequenas e finas, dirigidas para a frente. Relativamente ao tronco apresenta a região dorso lombar pouco arqueada, garupa comprida e oblíqua, ventre descaído, cauda fina de média inserção com um tufo de cerdas na porção terminal. É caracterizado também por apresentar andamentos ágeis e elásticos (Nunes, 1993).

Actualmente nas explorações encontramos ainda muitas características semelhantes ao sistema de produção tradicional como a engorda de porcos em montanha associada e exploração de porcas reprodutoras. Contudo ao longo do tempo foi-se introduzindo

alterações no sentido de rentabilizar o sistema de produção através pela utilização massiva de alimentos compostos e pelo encurtamento dos ciclos de produção (Fernandes *et al.*; 2008).

De acordo com a Uniapra o ciclo de produção pode ter uma duração variável de acordo com as características do produto final. O ciclo encontra-se dividido em três fases: cria, recria e engorda. Os leitões nascem com um peso que ronda 1 – 1,3kg são amamentados até aos 45 – 60 dias até atingirem pesos na ordem dos 10 – 14kg e entram na fase de recria aqueles que não se destinam ao comércio do leitão para assar. A fase de recria dos porcos pode ser dividida noutras duas fases: após o desmame até os animais atingirem cerca de 25kg de peso vivo e fase de crescimento que no final os animais devem de atingir pesos compreendidos entre os 90 – 100kg. A fase de pré-montanheira coincide com o final da fase da recria ocorrendo entre os meses de Julho a Outubro. No final desta fase os animais que se destinam ao comércio em carne fresca são encaminhados para o matadouro, e os que se destinam principalmente para a indústria transformadora seguem para a montanheira iniciando-se a fase de engorda/acabamento.

Na fase de engorda os animais são alimentados principalmente de bolota, mas também aproveitam outros recursos como a erva que o montado disponibiliza. Em anos de montanheiras pouco produtivas os animais deverão de ser suplementados com alimentos alternativos produzidos pela própria exploração ou adquiridos no mercado. No final desta fase os animais deverão apresentar pesos aproximados a 150 – 160kg e destinam-se essencialmente à indústria de transformação.

A qualidade dos produtos obtidos deve-se à ingestão de bolota que pela sua composição favorece a deposição de gordura intramuscular e perfil de ácidos gordos responsáveis pelas características organolépticas da carne e adaptação à transformação (Neves, 1998). As carcaças destes animais apresentam espessuras de gordura maiores, tal

como maior percentagem de peças gordas e lípidos, e menores percentagens de peças magras e proteínas quando comparados com animais abatidos com pesos semelhantes e engordados com compostos comerciais (Freitas, 1998; Neves *e Col.*; 2001).

A produção extensiva de suínos apresenta algumas vantagens relativamente à produção intensiva tanto para produtores, consumidores e ambiente. Estas vantagens residem nos factos de ser um sistema que causa pouco problemas ambientais devido à baixa densidade animal, maior bem-estar animal e redução de doenças por contacto. Propicia o exercício físico que se reflecte no aumento da produção de leite nas fêmeas, aumento de vigor reprodutivo nos machos e benefícios da qualidade da carne para obtenção de produtos de elevada qualidade. Já o produtor reduz os custos em alimentos energéticos e proteicos, consegue racionalizar melhor a mão-de-obra disponível, tem maior facilidade na mobilidade e rotação das cabanas para outras zonas, os investimentos de capital necessários para instalações e equipamentos são menores e aproveita terras não próprias para culturas cerealíferas (pastagens ou pousios) (Freitas, 1998).

Só com o porco – *essa excelente máquina recolectora e transformadora de bolota* – se poderá otimizar a utilização do montado (Aparício Macarro, 1992).

3.4. O montado e seus recursos alimentares

O montado é um sistema agro-silvo-pastoril que possui um coberto arbóreo relativamente aberto geralmente dominado por sobreiros (*Quercus suber*) ou azinheiras (*Quercus rotundifolia*), e uma pastagem de pousio onde surgem com frequência arbustos (por exemplo. *Cistus sp*, *Erica sp*, *Lavandura sp*, *Ulex sp*) que são artificialmente, pelo pastoreio ou mecanicamente, mantidos em baixa densidade (Fonseca, 2005).

De entre todas as regiões portuguesas, os sobreiros são mais comumente associados à paisagem do Alentejo, onde efectivamente se desenvolvem em larga escala. Na realidade, para além da exploração de cortiça e das lenhas, o montado também apresenta grande interesse económico dado que é uma importante fonte de recursos alimentares que as várias espécies ruminantes e monogástricos (principalmente suínos) ali encontram. Tais recursos são diversificados, pois consistem em pastagens herbáceas e arbustivas, restolhos e palhas de cereais, a bolota das azinheiras e sobreiros e ainda os ramos tenros e folhas das árvores (Crespo, 2005).

Desde de tempos remotos que o porco Alentejano é explorado em regime extensivo, onde a montanha, engorda intensiva dos animais nos montados de azinho e sobre, decorre entre o final de Outubro, princípios de Novembro (Carvalho, 1964 citado por Nunes, 1993), quando os animais têm cerca de 9 a 15 meses até meados de Fevereiro. Os animais são abatidos com pesos vivos compreendidos entre os 130Kg para a venda de carne fresca e 160Kg para a transformação de produtos (Freitas, 1998).

O acabamento em montanha constitui um elemento estratégico da fileira produtiva porque para além de apresentar a vantagem económica para os produtores através redução de custos associados à alimentação, também afecta de forma determinante a composição da carcaça e dos tecidos adiposos subcutâneos tomando-se num factor importante para a qualidade da carne e dos produtos transformados (Freitas, 2006).

3.4.1. – Bolota

A composição dos frutos de montado é muito variável. Estes frutos caracterizam-se por um lado, pelo elevado teor energético com um perfil específico de ácidos gordos com destaque para o elevado teor de ácido oleico, e baixo teor em proteína bruta, aminoácidos

essenciais e minerais (quadro 2). O teor de lípidos e amido vai aumentando com a maturidade do fruto, enquanto que o teor de taninos vai diminuindo (Almeida *e Col.*; 1992).

Quadro 2 – Composição nutricional da bolota (g/100g MS)

Autor	MS	PB	Gordura	FB	Cinzas	Carboidratos
Rey et al 1997	67.0	4.7	6.3	5.7	1.75	-
Nieto et al 2002 ¹	59.3	4.8	12.1	-	1.5	81.5
Nieto et al 2002 ²	55.5	6.2	7.6	-	1.7	84.3
Canella et al 2003	-	5.0	7.0	3.2	2.0	-
González e Tejada 2007	56.7	5.1	7.3	2.6	1.7	83.3
Garcial-Valverde et al. 2007	67.6	5.4	10.4	-	2.2	72.8

(1) *Quercus rotundifolia*

(2) *Quercus suber*

Outro aspecto de grande relevância está na evolução da composição da bolota, uma vez que com a maturação dos frutos (Vázquez e Doncel, 2002). No quadro 3 Almeida Marinho citado por Nunes (1993) e Freitas (1998) mostram esta evolução.

Quadro 3: Evolução da composição química da bolota (% fruto inteiro)

Mês de Colheita	MS (%)	PB	EE	Açúcares Solúveis	Amido	Fenóis Totais	Taninos
Setembro	46,36	3,16	5	9,41	17,98	7,32	9,76
Outubro	53,43	3,26	7,7	10,2	51,64	7,94	7,35
Novembro	58,32	3,69	8,5	13,43	57,29	4,9	2,94

Fonte: Almeida Marinho (1991), citado por Nunes (1993) e Freitas (1998).

A presença de taninos na composição da bolota pode afectar negativamente a ingestão voluntária, a palatabilidade e a digestibilidade dos alimentos, podendo em alguns casos gerar alguma toxicidade devido à ingestão de elevados teores. Contudo o porco não ingere a bolota na sua totalidade retirando a casca (Tejada e González, 2001) contomando assim maiores transtornos digestivos uma vez que a casca de bolota é muito rica em taninos e

fibra. Esta toxicidade também pode ser contrariada pela ingestão de erva neutralizando o efeito dos taninos e compensando a falta de proteína na bolota.

A bolota apresenta elevados teores de ácidos gordos monoinsaturados (ácido oleico C18:1). O perfil de ácidos gordos presentes na bolota (Quadro 4) conferem aos produtos de porco Alentejano aroma e qualidades organolépticas específicas que se deve à ingestão destas substâncias voláteis (Campaniço e Tirapicos Nunes, 2005).

Quadro 4 – Composição de ácidos gordos presentes na bolota

Ác. Gordos	Freitas (1998)	Cava et al. (1997)	Oliveira (2000)	Tejeda et al. (2002)
Saturados	17.88	18.15	16.58	18.7
Monoinsaturados	63.70	63.96	64.7	62.6
Polinsaturados	17.21	16.83	17.52	18.7

Adaptado de Campaniço 2005

3.4.2. – Erva e outros recursos disponíveis

Nos montados podem existir pastagens naturais, normalmente de fraca qualidade e quantidade “com predominância de espécies herbáceas anuais, sobretudo gramíneas” (Fernandes, 1999) com produções muito irregulares tanto em quantidade como em qualidade (Cancela de Abreu, 1992), ou pastagem semeada e/ou melhoradas, com vista a uma produção mais elevada e mais homogénea qualitativa e quantitativamente. A pastagem é importante nos meses de montanha, embora a produção no início seja muito baixa. É uma importante fonte proteica e o final da fase de acabamento coincide com a altura em que a produção de erva é maior (Freitas, 1998).

A produção de erva durante a montanha depende em grande medida das condições climáticas do Outono, sobretudo da pluviosidade e frequência de geadas que reduzem o ritmo de crescimento.

Quadro 5 – Valor nutritivo e composição da vegetação herbácea expressos em % de MS

Autor	Cava et al. (2000)	Isabel et al. (2000)	Tejeda et al. (2002)	Estévez et al. (2004)	Daza et al. (2005)
Matéria Seca (%)	-	23.8	27.4	10.76	24.4
Fibra	22.2	20.8	22.9	-	21.0
Lípidos	6.3	5.8	2.6	6.3	6.7
Proteínas	13.7	14.7	13.8	4.3	14.8
Carboidratos	50.5	52.1	50.3	-	50.2
Cinzas	7.3	6.6	10.4	0.9	7.3

Adaptado de Campaniço, 2005

A erva tem um papel importante na dieta uma vez que complementa o baixo teor proteico da bolota, podendo também reduzir o efeito anti-nutritivo dos taninos. O porco como animal omnívoro que é, também tem a capacidade de aproveitar outros recursos que existem no montado como raízes tenras, cogumelos, vermes, pequenos roedores, larvas, restos ou detritos de cadáveres de animais e ovos (Freitas, 1998), que enriquecem e diversificam as fontes proteicas da dieta.

É do domínio corrente que os porcos engordam mais quando dispõem de erva abundante e que, quando chove no Outono, a bolota é lavada não provocando efeitos nefastos nos animais. Nestas situações a produção de erva é maior e a sua proteína contribui para a redução da toxicidade dos taninos da bolota e a neutralização parcial da adstringência, permitindo maiores níveis de ingestão e ganhos de pesos mais elevados (Almeida, 1986).

3.5. Digestibilidade

Nos últimos anos tem-se assistido ao aumento da produtividade dos animais, devido ao progresso genético, e a associação aos novos sistemas de produção baseados no reduzido impacto ambiental. Acompanhando esta tendência também o desenvolvimento de estratégias nutricionais que visem a obtenção de produtos de alta eficiência e qualidade, de baixo custo e cuja produção não seja agressiva para o meio ambiente, têm aumentado de forma significativa.

Estima-se que o consumo diário de bolota seja de cerca de 5 a 6kg , entre os 50 e 70kg de peso vivo, de 8kg entre os 70 e 90kg de peso vivo e de cerca de 9kg a partir dos 90kg de peso vivo. É correctamente aceite dizer que o porco Alentejano ingere cerca de 10kg para ganhar 1kg de peso vivo (Aparício Macarro, 1987). A disponibilidade de erva melhora biologicamente a qualidade da proteína da dieta, tal como os restantes alimentos disponibilizados pelo montado de elevada qualidade, possibilitando assim uma maior absorção de aminoácidos (Frame et al., 1998). As proteínas diferem consideravelmente umas das outras no seu valor nutricional. Encontra-se bem definido que a qualidade da proteína depende principalmente da sua composição e disponibilidade de aminoácidos especialmente os essenciais. O conceito de proteína ideal está associados ao adequado balanço de aminoácidos (essenciais e não essenciais) necessários para crescimento e manutenção dos animais reduzindo assim as perdas azotadas devido ao excesso de aminoácidos (Fuller and Wang, 1990) otimizando a utilização da proteína (Heger et al., 1998).

Existem vários métodos para estimar a ingestão, no método de colheitas totais, os animais encontram-se normalmente confinados em caixas metabólicas onde são conhecidas as quantidades de alimento distribuído e a produção fecal dos animais ao longo do dia.

Quando se pretende estimar o balanço de azoto também é medido o volume de urina excretada. No mínimo deve-se utilizar três animais por dieta (Khan et al.,2003).

- **Estimativa da Ingestão**

Equação 1

$$\text{Ingestão (g/MS)} = \frac{\text{Produção Fecal (g/MS)}}{1 - \text{Digestibilidade(g/MS)}}$$

O plano nutricional é um dos muitos factores que afectam a digestibilidade dos nutrientes presentes nos alimentos. O valor da digestibilidade irá indicar a quantidade de alimento que não é excretado sob a forma de fezes e que é absorvido pelo animal para a constituição dos vários tecidos (Macdonald et al.,2002). A excreção fecal é a responsável pela maior quantidade de proteína excretada em níveis baixos de proteína.

- **Estimativa da Digestibilidade**

Equação 2

$$\text{Digestibilidade (g/MS)} = \frac{\text{Ingestão(g/MS)} - \text{Excreção(g/MS)}}{\text{Ingestão(g/MS)}}$$

Para além da digestibilidade da proteína ser influenciada pelo nível de proteína na dieta, a bolota apresenta um conteúdo significativo de taninos condensados que estão presentes particularmente na casca. Segundo Jansman, 1993, dietas ricas em taninos resultam numa redução aparente da digestibilidade do azoto, aminoácidos e em última instância de energia resultando na redução da eficiência de ganho de peso. A ingestão também parece afectada uma vez que elevado teor em taninos pode causar adstringência devido à complexação dos taninos com as proteínas da saliva reduzindo a sua

palatibilidade. Os taninos também podem afectar o processo de digestão por meio da complexação de enzimas secretadas e proteínas endógenas (Silanikove et al., 2001).

Bellego et al. (2001) verificaram que a alimentação dos animais com baixos níveis de proteína resulta numa melhor utilização energética e que a adequada suplementação com aminoácidos reduz a excreção azota sem afectar a performance animal. Indicam também que a frequência da distribuição das refeições não tem qualquer efeito na utilização de azoto e energia em dietas com baixo teor proteico, quando as refeições são distribuídas pelo menos duas vezes ao dia.

Dadas as características da bolota que apresenta grande teor em amido, elevado grau de em ácidos gordos insaturado (particularmente o ácido oleico com cerca de 62% contra os 16% do ácido linoleico (Aparício Macarro, 1987) e taninos que se ligam às proteínas, o défice de proteínas na dieta pode conduzir a situações de balanço azotado negativo. Nieto et al. (2002), apresentam coeficientes de digestibilidade aparente de azoto baixos e perdas na sua retenção de 5,1g em média por dia em compostas por bolota. O azoto essencial ingerido é o maior factor de maior influência na sua retenção, de acordo com as necessidades dos animais. O nível total de azoto pode ter um grande impacto na optimização do rácio de azoto Essencial:Total (Heger et al., 1998).

3.6. Taninos

Os taninos encontram-se normalmente nos vacúolos das células onde não interferem com metabolismo principal da planta, agindo apenas em caso de ruptura das células, que pode ser causada por algum choque mecânico, como a mastigação (Min et al., 2003).

Os taninos podem ser definidos como um complexo heterogéneo de polifenóis com peso molecular e número grupos hidroxilos suficientes para se ligarem com outras

moléculas, solúveis em água (Haslam, 1989) e que diferem de outros compostos fenólicos pela sua capacidade de precipitar proteína, iões metálicos, aminoácidos e polissacarídeos, formando complexos insolúveis (Makkar, 2003). Podem também desempenhar um importante papel de antioxidantes prevenindo ou abrandando a oxidação responsável pela alteração das características sensoriais, nutricionais e pela formação de compostos nocivos para a saúde (Moure et al, 2001; Kehrer, 1993). Dividem-se em dois grupos principais: hidrolisáveis e condensados, embora ressalte a existência de taninos que apresentem compostos de ambos os grupos. A estrutura dos taninos condensados ou proantocianidinas (Figura 1) baseia-se na repetição de unidades flavonóides (Hemingway,1996). Os taninos condensado que se enquadram neste grupo são flavan-3-ol (catequina) ou flavan-3,4-ol (leucoantocianidinas) e seus derivados (proantocianidinas) (Jansman, 1993). A estrutura molecular favorece a interacção com proteínas podendo envolver sobretudo ligações hidrofóbicas e ligações de hidrogénio (Haslam, 1989), sendo as ligações iónicas menos importantes.

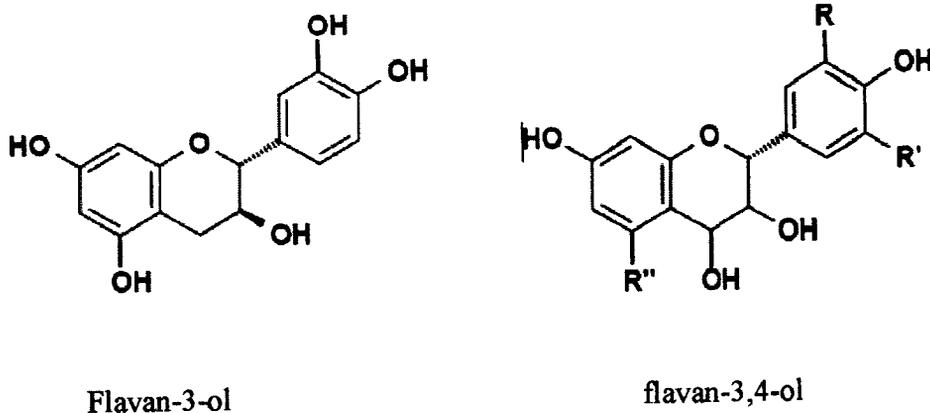


Figura 1 – Estrutura dos taninos condensados

Os taninos hidrolisáveis são caracterizados por apresentar um carboidrato como núcleo central (D-glucose). Os grupos hidroxilos destes carboidratos são esterificados

pelos ácidos polifenólicos que o envolvem. Este grupo é mais susceptível de à hidrólise enzimática e não enzimática que os taninos condensados (Haslam, 1989).

O grau e a força da interacção entre os taninos e as proteínas são determinados tanto pela natureza do tanino como da proteína (Hagerman & Butler, 1989). Os taninos ligam-se às proteínas pela interacção dos seus grupos hidroxilos reactivos e os grupos carbonilos das proteínas. As ligações de hidrogénio e as interacções hidrofóbicas parecem ser as principais ligações envolvidas (Jansman, 1993). A precipitação das proteínas por taninos parece ser máxima para um número de proteínas com um valor de pH próximo do seu ponto isoeléctrico (Hagerman & Butler, 1989). O pH parece possuir um papel fundamental na formação do complexo tanino-proteína, sendo favorável em pH entre 3,5 a 7,0. Em caso de pH superior a 8,0, o complexo tende ser desfeito rapidamente e, em pH 1,0 a 3,0 cerca de 90% da proteína está na forma livre (Leinmüller et al. 1991). Estas ligações podem ser reversíveis, dependendo do pH em que os complexos se encontram (Min et al., 2003)

O efeito dos taninos na performance animal é variável e depende de vários factores tais como idade e espécie animal, fase de produção; concentração de taninos na dieta; duração do período de experimentação e a composição da dieta, nível de ingestão e eficiência na conversão alimentar. O seu consumo pode conduzir à perda de peso, diminuição da produção de leite, diminuição do consumo dos alimentos e diminuição da digestibilidade dos alimentos. Podem tornar os alimentos menos digestíveis por se ligarem a componentes desses mesmos alimentos ou por inibirem as enzimas da digestão. Como os taninos são factores antinutritivos principalmente para animais monogástricos, a intoxicação devido aos taninos está normalmente associada à ingestão de grandes quantidades destes compostos (Hemingway et al., 1996). Também Frutos et al.2002, refere que quando ingeridos em alta quantidade (6% a 12% MS), os taninos podem ocasionar efeito depressivo sobre a ingestão voluntária e redução da eficiência do processo digestivo e produtividade.

Por outro lado, alguns taninos podem ter efeitos positivos nos animais ruminantes através da redução da quantidade de proteína digerida no rúmen, aumentando assim a quantidade de proteína disponível para absorção no intestino delgado (Muller-Harvey, 2006) e por serem considerados um antioxidante biológico (Hagerman, 1998). Portanto atribuir aos taninos apenas efeitos anti-nutricionais pode conduzir a interpretações erróneas, uma vez que esses compostos podem apresentar vantagens quando fornecidos a ruminantes (Oliveira & Berchielli, 2007).

Os compostos fenólicos apresentam grande afinidade por proteínas e péptidos ricos em prolina (Hagerman & Butler, 1981). A prolina presente na proteína salivar de alguns mamíferos, pode ser considerado como um mecanismo de adaptação que reduz a quantidade de taninos disponíveis para se complexarem com outros nutrientes, diminuindo assim o seu efeito anti-nutritivo (Austin et al., 1989). Este fenómeno pode ser vantajoso pois reduz o potencial efeito tóxico dos taninos no sistema gastrointestinal, e por outro lado, do ponto de vista nutricional é mais vantajoso perder proteínas salivares do que as proteínas da dieta, que contêm maiores níveis de aminoácidos essenciais (Skopec et al., 2004; Shimada 2006).

Segundo Jansman 1993, inúmeros estudos têm sido conduzidos para mostrar o efeito dos taninos presentes nos alimentos na performance do animal. Alguns têm sido efectuados com taninos que são isolados dos alimentos e outros são taninos comerciais como o ácido tânico, que se pensa que mais se assemelha aos taninos presentes nos alimentos. Estes estudos permitiram obter algumas considerações sobre taninos:

- 1) Não se consegue demonstrar concretamente que os taninos encontrados nas dietas convencionais possam reduzir a capacidade de ingestão em animais monogástricos.
- 2) As dietas que têm taninos geralmente reduzem o ganho de peso e prejudicam a eficiência da conversão alimentar nos animais em crescimento

- 3) Os taninos reduzem a digestibilidade aparente do azoto, aminoácidos e em última instância energia.
- 4) E os diversos factores já acima enumerados que podem determinar a forma como os taninos podem afectar os animais.

Nieto et al. (2002), verificaram que a variabilidade da absorção de aminoácidos pode ser atribuída a diferenças em relação à afinidade e capacidade de ligação dos taninos presentes na bolota da dieta à proteína endógena do trato intestinal dos porcos. Esta selectividade de ligação com proteínas da dieta e endógena foi sugerida por Jansman (1993) para explicar diferenças existentes na absorção de aminoácidos no intestino de porcos alimentados com dietas contendo taninos condensados.

3.6.1. Métodos utilizados para estimar taninos

Devido à complexa natureza dos taninos vários métodos foram desenvolvidos no sentido de estimar a quantidade de taninos presentes nas plantas. Cada método mede diferentes tipos de taninos baseados na reacção química entre taninos/fenóis (de acordo com os reagentes utilizados). Normalmente os métodos mais utilizados são os químicos e de complexação proteica, contudo existem outros como os gravimétricos e biológico (Makkar, 2003) que não foram tidos em conta para o presente trabalho.

3.6.1.1. Método da difusão radial

É um método que permite determinar a actividade biológica dos taninos. Cada tipo de proteína dá uma resposta diferente tal como diferentes fontes de taninos. É de evidenciar que os taninos têm uma tendência para formar complexos insolúveis com as proteínas, que são influenciados tanto pelas características dos taninos (peso molecular, heterogeneidade estrutural) como pela fonte proteica (composição em aminoácidos, peso molecular) e as condições de reacção (pH, temperatura, tempo de reacção) como foi referido anteriormente.

Métodos baseados na precipitação de proteínas são muitas vezes citados por serem mais realistas para estimar a capacidade complexante dos taninos (Martin, 1982; Hagerman, 1987). O método da difusão radial é um método que depende da formação de complexos de taninos e BSA em agarose (Hagerman, 1987). O extracto da planta é depositado num poço, feito com uma sonda na agarose, que permite a difusão ao longo da mesma. Se os taninos estiverem presentes no extracto, um círculo opaco em volta do poço indicará a formação do complexo. O diâmetro do círculo será proporcional com a quantidade de taninos presentes no extracto.

3.6.1.2. Método do Folin-Ciocalteu

O método de Folin-Ciocalteu é usado para a medição de compostos fenólicos totais devido à sua sensibilidade e reprodutibilidade. Os compostos fenólicos reagem com reagentes de oxidação-redução específicos, formando um complexo de coloração azul, passível de ser quantificado por espectrofotometria no visível, contudo a reacção não é específica para os taninos. Uma forma de contornar essa falta de especificidade é retirar os taninos do meio mediante adsorção dos substratos proteicos e o teor da fracção polifenólica não adsorvida. Para tal é utilizada uma matriz sólida de PVPP, polivinil-polipirrolidone, sendo uma porção do extracto tratada com o mesmo. Este método assume que os

compostos fenólicos que precipitam proteínas são os mesmos que precipitam o PVPP. Os taninos têm uma grande afinidade com o PVPP e que quando adicionado forma um precipitado. A diferença entre os valores dos fenóis antes e depois da adição do PVPP corresponde à quantidade de taninos (Makkar et al.,1993).

3.6.1.2.Método do Butanol-HCl

O método do Butanol-HCl é um método utilizado para determinar os taninos condensados (proantocianidinas), baseado na despolimerização oxidativa das subunidades flavonóides dos polímeros. As subunidades dos polímeros de flavonóides sofrem clivagem oxidativa que origina antocianidininas e desenvolve uma coloração rosa/avermelhada a uma temperatura de cerca de 95°C. Este método foi posteriormente alterado através da inclusão de uma fonte de ferro no reagente Butanol-HCl. Esta adição de ferro foi considerada uma vez que melhora a sensibilidade e reprodutibilidade do método (Porter et al.1986).

Os métodos de precipitação proteica dão uma boa indicação da capacidade de ligação dos taninos às proteínas enquanto os métodos colorimétricos são mais úteis para a quantificação dos mesmos.

4. Procedimento Experimental

4.1. Ensaio *in vivo*

4.1.1. Materiais e Métodos

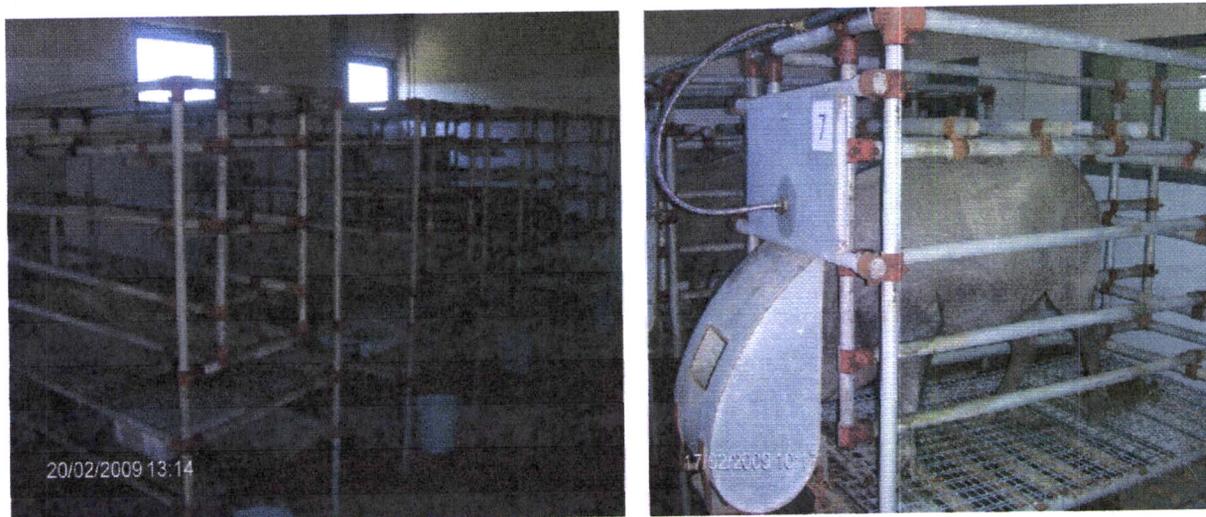
Colocaram-se 17 porcos de raça Alentejana em parques individuais com o objectivo de seleccionar os 9 animais necessários para a realização do ensaio. Os animais seleccionados apresentavam pesos vivos compreendidos entre os 100Kg±10Kg, exibiram maior receptividade à luzerna distribuída e facilidade na adaptação ao maneo realizado durante um período de sete dias (do 1º ao 7º dia de ensaio).

Figura 2.3 – Animais confinados em parques para selecção do grupo que ia integrar o ensaio.



Os animais foram pesados e colocados em caixas metabólicas, numa sala no pólo da Mitra da Universidade de Évora. As caixas metabólicas eram constituídas por comedouros, bebedouros, tabuleiros para recolha de fezes e chão inclinado que permitiu a recolha da urina para baldes.

Figura 4,5 – Caixas metabólicas utilizadas no ensaio *in vivo* com comedouros, bebedouros, tabuleiros para a recolha de fezes e baldes para a recolha de urina



Nos meses de Outubro a Dezembro apanhou-se bolota de sobreiro e azinheira suficiente para assegurar a alimentação dos animais durante todo o período de ensaio, ficando armazenada até a sua utilização.

O ensaio era constituído por três períodos (P1, P2 e P3) onde cada animal foi submetido a um tratamento (T1, T2 ou T3) por período. Assim, no final do ensaio todos animais foram submetidos a todos os tratamentos segundo o modelo do Quadrado Latino.

No quadro seguinte encontra-se esquematizada a distribuição dos animais pelos tratamentos em cada período.

Quadro 6 – Modelo definido para o ensaio *in vivo*

	T1	T2	T3
1º Período	Animal: 1,2,3	Animal: 4,5,6	Animal: 7,8,9
2º Período	T3 Animal: 1,2,3	T1 Animal: 4,5,6	T2 Animal: 7,8,9
3º Período	T2 Animal: 1,2,3	T3 Animal: 4,5,6	T1 Animal: 7,8,9

A diferença entre os tratamentos utilizados residia na quantidade de luzerna distribuída aos animais, onde:

- T1: dieta exclusiva de bolota 5 kg de bolota no primeiro período
4 kg de bolota nos segundo e terceiro períodos
- T2: dieta constituída por 4 kg de bolota e 200g de luzerna desidratada
- T3: dieta constituída por 4kg de bolota e 400g de luzerna desidratada.

Os animais foram alimentados três vezes ao dia (primeira refeição distribuída às 8h30, a segunda às 13h e a terceira às 17h30) com bolota e luzerna desidratada previamente pesadas. Todos os dias era recolhida uma amostra dos alimentos distribuídos. Antes da distribuição de cada refeição, as cascas de bolota eram removidas dos comedouros e depositadas num balde previamente tarado e individualmente identificado. Os animais dispunham de água *ad libitum*.

Os refugos eram removidos na sua totalidade pela manhã e posteriormente distribuída a primeira porção do alimento.

As colheitas de fezes e urinas eram feitas até as dez horas de cada dia enquanto as amostras de refugos eram as últimas a ser pesadas e recolhidas.

No primeiro período, a fase de adaptação às dietas teve a duração de 10 dias (do 8º ao 18º dia de ensaio) e a fase de colheitas 5 dias (do 18º ao 22º dia de ensaio).

4.1.1.1. Colheita de amostras de Alimento

À medida que se pesavam os alimentos a distribuir aos animais para baldes recolheu-se pequenas amostras de bolota e de luzerna desidratada para sacos devidamente identificados e tarados.

4.1.1.2. Colheita de amostras de Refugos

Do total de refugos produzidos foram recolhidas duas amostras diárias por animal:

i) Refugos A

Colheu-se 10% do refugo total diário produzido por cada animal. Ao longo do período de colheitas as amostras foram recolhidas e armazenadas individualmente em sacos devidamente tarados e identificados. Estas amostras foram utilizadas para as determinações de matéria seca individual e constituição da amostra compósita referente a determinado animal por período.

ii) Refugos B

No início do período de colheitas de refugos, identificaram-se e tararam-se previamente os sacos referentes a cada animal. Todos os dias durante esse período eram adicionados 10% de refugos obtidos para esse saco. Esta amostra foi processada com o objectivo de estimar a quantidade de alimento ingerido, tanto de bolota como de luzerna.

4.1.1.3. Colheita de amostras de fezes

As fezes produzidas foram pesadas até as 10 horas durante o período de colheita. Do peso total recolheu-se uma amostra de 10% para sacos de plástico devidamente tarados e identificados.

4.1.1.4. Colheita de urina

Quanto às urinas estas foram recolhidas até as 10 horas também. O volume obtido por animal foi medido com uma proveta e recolheu-se uma amostra de 10% para uma garrafa e todos os dias durante esse período foram adicionados 10% do volume diário obtido. Após as colheitas, em cada balde, adicionou-se 40 ml de H₂SO₄.

Todas as amostras depois de devidamente quantificadas foram congeladas até serem processadas em laboratório.

Em P2 o período de adaptação foi reduzido para 5 dias, os animais foram pesados e voltaram novamente para os parques de forma a evitar danos na sua condição física devido ao longo período de tempo do ensaio. A colheita de amostras de alimentos iniciou-se no 26º dia e terminaram no 30º dia de ensaio. Os refugos foram recolhidos desde o 27º dia de e terminaram ao 31º dia de ensaio. As colheitas de fezes e de urina iniciaram-se no 28º dia e terminaram ao 32º dia de ensaio.

Quanto a P3 os animais foram mantidos nas caixas metabólicas durante todo o período. A colheita de alimentos iniciou-se ao 36º dia tendo terminado ao 40º dia de ensaio, a colheita de refugos teve início no dia seguinte (37º dia) e terminou um dia de depois (41º dia). As amostras de fezes e urina foram colhidas entre o 38º dia e o 42º dia de ensaio. Os procedimentos da recolha de amostras no segundo e terceiro períodos foram iguais aos realizados no primeiro. No último dia do ensaio todos os animais voltaram a ser pesados.

4.2. Análises Laboratoriais

4.2.1. Processamento de amostras

4.2.1.1 Alimento

No laboratório descongelou-se as amostras de alimentos, procedeu-se à contagem do número de bolotas presentes em cada saco e dividiu-se em duas metades. As bolotas foram cortadas ao meio e enquanto uma das metades representou a bolota inteira, na outra o miolo e a casca foram separados e representados individualmente. As amostras foram colocadas em sacos devidamente identificados, congeladas e posteriormente liofilizadas. Seguidamente foram moídas e constituídas as amostras compósitas de bolota inteira, miolo e casca por período, para posteriores análises.

4.2.1.2. Refugos

As amostras de refugos A foram secas individualmente em tabuleiros devidamente tarados numa estufa com ventilação a 65°C durante 2 dias aproximadamente. Depois de secas as amostras foram pesadas, moídas e guardadas em sacos. Após a determinação das MS individuais diárias constituiu-se as amostras compósitas por animal para cada período. Já as amostras de refugos B foram secas em tabuleiros numa estufa com ventilação a 65°C durante 5 dias uma vez que o volume de amostra era substancialmente maior. No final desses 5 dias as amostras foram retiradas da estufa, deixou-se equilibrar a temperatura dos tabuleiros com a temperatura ambiente e procedeu-se à pesagem das amostras. Seguidamente procedeu-se à separação das cascas de bolota da luzerna desidrata com o objectivo de averiguar principalmente as quantidades de luzerna ingerida pelos animais.

Para o efeito foram utilizados pincéis e pinças para facilitar a remoção da luzerna que secou agarrada às cascas.

Figura 6,7 – Separação dos refugos B



À medida que se separavam os alimentos estes eram colocados em sacos devidamente identificados e tarados para posterior pesagem.

4.2.1.3 Fezes

As amostras de fezes recolhidas foram liofilizadas, pesadas e posteriormente moídas. Após a determinação da MS individual diária constituiu-se as amostras compósitas por animal para cada período.

4.2.1.4. Urina

As amostras de urina apenas foram descongeladas 24 horas antes da sua utilização no Leco.

Todas as amostras de alimento, refugo e fezes foram moídas pelo moinho de facas CyclotecTM 1093 no Laboratório de Nutrição Animal, com um crivo de 1mm e reservadas em sacos devidamente identificados até à sua utilização nas determinações de matéria seca individual.

4.2.2. Análises Laboratoriais

4.2.2.1. Matéria Seca e Cinzas Totais

Todas as amostras foram sujeitas à determinação de matéria seca. Para o efeito pesou-se 3g de amostra para os cadinhos previamente tarados e colocou-se na estufa a 100°C durante 24h. Após a determinação das MS individuais das amostras de refugo e fezes, constituiu-se a amostra compósita de cada animal por período.

$$\%MS = \frac{\text{Cadinho + amostra (g)} - \text{Tara cadinho (g)}}{\text{Peso da amostra (g)}} \times 100$$

Voltou-se a determinar a MS das amostras compósitas (alimento, refugo e fezes) e na sua sequência as cinzas totais. As amostras foram queimadas no queimador e colocadas na mufla onde foram incineradas a 550°C durante 3h. A matéria orgânica das amostras foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\%CT = \frac{\text{Cadinho + cinzas (g)} - \text{Tara cadinho (g)}}{\text{Peso amostra (g)}} \times 100$$

4.2.2.2. Fibras

A fibra insolúvel em detergente neutro (NDF), em detergente ácido (ADF) e lenhina (ADL) foram determinadas segundo Goering e Van Soest (1970) modificado por Van Soest e Robertson (1980). O ADL apenas foi determinado para as amostras compósitas dos alimentos.

4.2.2.3. Proteína e Azoto Total

O azoto total foi determinado pelo método de combustão (990,03 –AOAC,1990) num sistema da Leco (FP528), sendo o seu teor em proteína bruta multiplicado pelo factor de conversão de 6,25 (considerando que a proteína tem 16% de azoto) para se proceder à determinação da proteína total (%PT). As amostras sólidas foram pesadas para folhas de papel de estanho enquanto para as amostras líquidas foi necessário pipetar o volume de urina que enchia a totalidade da cápsula, registando-se de seguida o peso da amostra.

É de referir que todas as análises foram realizadas em duplicado.

4.2.2.4. Taninos

i) **Método de Difusão Radial**

Método descrito por Hagerman (1986) para determinar a actividade biológica dos taninos, neste caso na bolota inteira, miolo e casca. É um método bastante específico para taninos, de fácil execução e que permite avaliar a actividade biológica destes compostos fenólicos que se difundem por um gel de agarose enriquecido com uma proteína específica (BSA). À medida que ocorre a precipitação da proteína a formação de um halo toma-se cada vez mais evidente com o decorrer do período de incubação. No final deste período o diâmetro do halo pode facilmente ser medido com uma régua. Este método não permite quantificar o conteúdo total em taninos, mas a sua capacidade de complexar proteínas.

Para a preparação das placas pesou-se para um copo 2,5g de agarose e adicionou-se 250ml de uma solução tampão de acetato 0,05M a pH 5,0. Introduziu-se a barra de agitação e colocou-se a solução sobre a placa de aquecimento com agitação magnética, deixando-se a solução entrar em ebulição mas com o cuidado de não deixar ferver em cachão. Quando a solução se tomou completamente translúcida e com uma tonalidade amarelada considerou-

se que este processo estava concluído. Deixou-se arrefecer a solução em banho-maria a uma temperatura de 45°C.

Quando a temperatura da solução atingiu os 45°C, adicionou-se 250mg de BSA e com uma vareta agitou-se a solução até a proteína estar completamente dissolvida. Tentou-se manter a temperatura constante para que fosse possível dispensar facilmente a solução de agarose nas placas de petri e sob pena de desnaturar a proteína por elevação da temperatura.

Seguidamente dispensou-se 10ml de solução de agarose enriquecida em BSA em cada placa de petri. As placas de petri e a pipeta utilizadas foram previamente aquecidas de forma a evitar que a solução gelatinizasse tanto na pipeta, levando à obstrução da mesma, como nas placas verificando-se a formação de grumos.

Depois de solidificadas, as placas de petri foram envolvidas em película aderente de forma a prevenir contaminações exteriores e reservadas à temperatura ambiente até a sua utilização (dia seguinte). Em cada placa foram feitos seis poços com o auxílio de uma sonda. Estes poços estavam equidistantes para que aquando da formação dos halos, não existissem regiões coincidentes.

Para a extração dos taninos pesou-se cerca de 200mg de amostra em duplicados para tubos de centrífuga e adicionou-se 2ml de solução de acetona/água (70:30). Colocou-se os tubos no ultra-som durante 20min e seguidamente na centrífugadora a 2500rpm durante 10min. De cada tudo retirou-se uma alíquota de 30µl de extracto e dispensou-se de uma só vez em cada poço devidamente identificado.

Cada amostra foi feita em duplicado e incubadas em estufa a 30°C durante 96 horas. No final do período de incubação as placas foram retiradas da estufa e procedeu-se à medição dos diâmetros dos halos formados, sendo que a quantidade de taninos presente nas amostras é proporcional ao quadrado do diâmetro (d^2) do halo.



Figura 8 – Aspecto das placas de petri após incubação dos padrões durante 96h

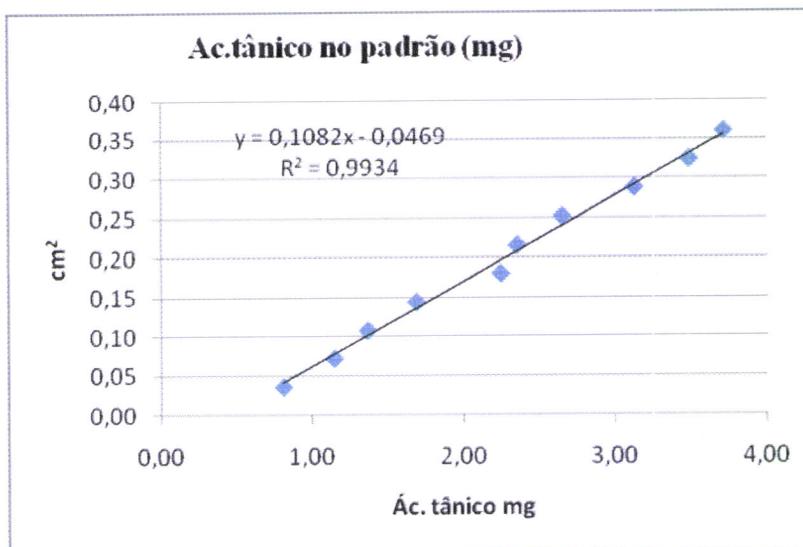
Realizou-se a curva padrão com concentrações crescentes de uma solução de ácido tânico, cuja concentração inicial foi de 4g por 100ml de solução de acetona/água (70:30). Tal como para as amostras, dispensou-se 30µl de padrão em cada poço, mas em triplicado. Assim a quantificação dos taninos nas amostras é feita em equivalente ácido tânico (padrão).

Quadro 7 – Volumes de ácido tânico e solução de acetona/água (70:30) utilizados para preparar os padrões de ácido tânico.

Padrão	Ácido tânico (4g/100ml)	Solução acetona/água (70:30)	Ác. Tânico no padrão dispensado (mg)
Padrão 1	0,75	24,25	0,036
Padrão 2	1,50	23,50	0,072
Padrão 3	2,25	22,75	0,108
Padrão 4	3,00	22,00	0,144
Padrão 5	3,75	21,25	0,180
Padrão 6	4,50	20,50	0,216
Padrão 7	5,25	19,75	0,252
Padrão 8	6,00	19,00	0,288
Padrão 9	6,75	28,25	0,324
Padrão 10	7,25	17,75	0,360

A curva padrão obtida pelo método de difusão radial foi utilizada para determinar a quantidade de taninos presente nas amostras de bolota inteira, miolo e casca, expressa em ácido tânico equivalente.

Gráfico 1 – Curva padrão do ácido tânico pelo método de Difusão Radial



ii) Método do Folin-Ciocalteu

O método de Folin-Ciocalteu é usado para a medição de fenóis totais devido à sua sensibilidade e reprodutibilidade (Makkar et al.,1993).

Neste método, a extração de taninos foi executada da mesma forma que para a difusão radial contudo o volume do solvente foi aumentado para 10ml. Estas alterações foram feitas para ajustar a coloração das amostras à coloração dos padrões. O PVPP também foi substituído por PVP.

Análise de compostos fenólicos totais

Retirou-se uma alíquota de 0,02ml de extracto de tanino das amostras em duplicado para tubos de centrífuga e perfez-se o volume de 0,5ml com água destilada. Adicionou-se 0,25ml de reagente Folin-Ciocalteu e 1,25ml de solução de carbonato de sódio. Colocou-se os tubos no vortex e passados 40min leu-se a absorvância a 725nm.

Calculou-se a quantidade de compostos fenólicos totais em ácido tânico equivalente de acordo com a curva de calibração obtida. O conteúdo de compostos fenólicos totais é expresso em MS.

Remoção de taninos do extracto de taninos da amostra

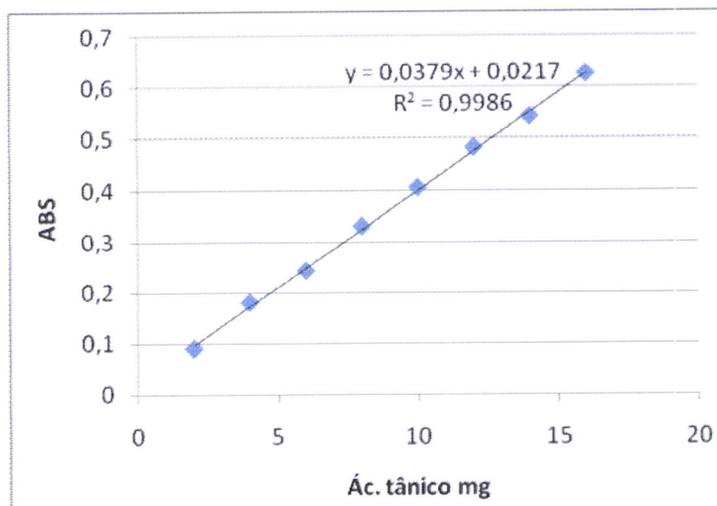
Pesou-se 100mg de PVP para tubos de centrífuga. Adicionou-se 1,0ml de água destilada e 1,0ml de extracto de taninos. Colocou-se os tubos no vortex e refrigerou-se a 4°C durante 15min. Voltou-se a colocar os tubos no vortex e de seguida foram centrifugados a 5000 rpm durante 10min. Recolheu-se o sobrenadante que apenas continha compostos fenólicos que não taninos e registou-se a absorvância a 725nm.

Quadro 8 – Preparação da curva de calibração do Método do Folin-Ciocalteu

Padrões	Solução de ácido tânico (0,1 mg/ml) (ml)	Água destilada (ml)	Reagente Folin-Ciocalteu (ml)	Carbonato de sódio (ml)	Absorvância 725nm	Ácido tânico (µg)
Padrão 1	0,02	0,48	0,25	1,25	0,09	2
Padrão 2	0,04	0,46	0,25	1,25	0,18	4
Padrão 3	0,06	0,44	0,25	1,25	0,243	6
Padrão 4	0,08	0,42	0,25	1,25	0,331	8
Padrão 5	0,1	0,40	0,25	1,25	0,406	10
Padrão 6	0,12	0,38	0,25	1,25	0,483	12
Padrão 8	0,14	0,36	0,25	1,25	0,543	14
Padrão 9	0,16	0,34	0,25	1,25	0,627	16

A curva de calibração obtida pelo método do Folin-Ciocalteu permite quantificar os compostos fenólicos totais presentes no extracto da amostra e distinguir a fracção tanante dos restantes compostos fenólicos, assumindo que os taninos têm capacidade de se complexar com o PVP.

Gráfico 2 – Curva de calibração de ácido tânico pelo método do Folin-Ciocalteu



iii) Método do Butanol-HCl

O método do Butanol-HCl é um método utilizado para determinar os taninos condensados (proantocianidinas), baseado na despolimerização oxidativa dos taninos.

Em tubos de vidro pipetou-se 0,50ml extracto de taninos das amostras diluído em acetona 70%. A quantidade de acetona deve de ser suficiente para prevenir que a absorvância a 550nm seja superior a 0,6 apesar de também depender da quantidade de taninos condensados presente na amostra. Adicionou-se para os tubos 3,0ml de Butanol-HCl e 0,1ml de reagente de ferro. Colocaram-se os tubos no vortex e seguidamente no bloco de aquecimento a uma temperatura de 97-100°C durante 60min. Deixou-se arrefecer os tubos por 10min e leu-se a absorvância a 550nm. Subtraiu-se o valor do branco que normalmente é lido sem passar pelo aquecimento no bloco. Os taninos condensados (em %MS) equivalentes a leucocianidina são calculados de acordo com a seguida formula:

• Equação 3

$$E = \frac{A_{550nm} \times 78,26 \times \text{factor de diluição}}{\% \text{ MS}}$$

Quando é adicionada acetona a 70% o factor de diluição é 0,5ml/ (volume do extracto), neste caso igual a 1.

5. Delineamento Experimental

Para o ensaio foram utilizados 9 machos castrados de raça suína Alentejana e foram testadas 3 dietas durante 3 períodos. Todos os animais foram submetidos às 3 dietas mas em períodos diferentes segundo o Modelo de Quadrado Latino 3 x 3 (Quadro8).

Quadro 9 – Delineamento Experimental do ensaio *in vivo*

Quadrado	1			2			3		
Animal	1	4	7	2	5	8	3	6	9
1º Período	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
2º Período	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2
3º Período	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1

6. Tratamento Estatístico

O tratamento estatístico deste ensaio foi feito no software SPSS¹⁷, onde se realizou a análise de variância, ANOVA, adequada ao delineamento experimental do ensaio *in vivo*. Todas as variáveis dependentes foram tratadas independentemente (Digestibilidade, Digestibilidade de Azoto, Luzerna Ingerida) e validados os pressupostos de Normalidade, Igualdade de variância e Independência. Apenas foram correlacionadas as variáveis de interesse. Foi utilizado o teste de comparação múltipla de Tukey^b, sendo o animal considerado como uma variável aleatória. As amostras foram testadas a um nível de significância inferior a 5%.

7. Resultados:

7.1. Composição dos alimentos

A composição química da bolota é variável ao longo do período de montanha. Como já foi referido anteriormente a bolota é caracterizada por apresentar um baixo teor proteico e consequentemente baixo teor azotado e elevado conteúdo de amido e ácidos gordos os quais não foram determinados para o presente ensaio. As bolotas recolhidas e distribuídas durante o ensaio *in vivo* são provenientes de um montado misto de sobre e azinho e como tal as determinações laboratoriais (Quadro 9) são reportadas à mistura e não a uma das espécies em específico.

Quadro 10 – Composição química da bolota (inteira, miolo e casca) e luzerna

Determinações	B. Inteira	Miolo	Casca	Luzerna
MSI (%)	84,0	85,4	84,6	
MSr (%)	94.1	93.8	94.8	93.44
Cinzas (%)	2.17±0.05	2.36±0.09	1.59±0.06	13.55±0.22
NT (%)	0.664±0.04	0.760±0.07	0.502±0.04	1.70±0.02
PB (%)	4.15±0.25	4.75±0.45	3.13±0.23	10.62±0.15
NDF (%)	24.06±1.60	6.31±0.37	74.90±1.50	48.52±5.12
ADF (%)	15.16±0.44	2.9±0.27	55.87±2.36	36.67±0.80
ADL (%)	5.78±0.33	0.628±0.09	23.59±1.57	7.66±0.42

A bolota e suas fracções apresentam %MS superiores a composições sugeridas por outros autores (Tirapicos Nunes, 1993; González e Tejeda) que pode dever-se ao avançado estado de maturação da bolota ao longo do ensaio. Esta situação ocorreu por impossibilidade de congelar a bolota durante o ensaio, tendo de ser armazenada em local arejado e fresco como forma de reduzir a degradação da mesma ao longo do tempo. Relativamente aos restantes teores apresenta valores semelhantes. Já a luzerna apresenta

uma composição um pouco diferente da vegetação herbácea apresentando valores de proteína bruta mais baixo e elevado teor de fibra. A luzerna não apresentava as características da rotulagem que sugeria uma composição com teores de proteína superior e fibra inferior, à posteriormente determinada.

Durante o ensaio *in vivo* foram realizadas quatro pesagens aos animais (Gráfico 3). É possível verificar que houve uma redução de peso entre a primeira e segunda pesagem uma vez que neste intervalo de tempo os animais dispunham essencialmente de luzerna desidratada e aveia com o objectivo de adaptar os animais à luzerna. No entanto quando começou o ensaio propriamente dito, os animais eram alimentados à base de bolota e luzerna verificando-se um aumento considerável do peso vivo dos animais. Ao longo dos 35 dias de ensaio os animais apresentaram um ganho médio diário de $0,515\text{Kg} \pm 0,04\text{Kg}$.

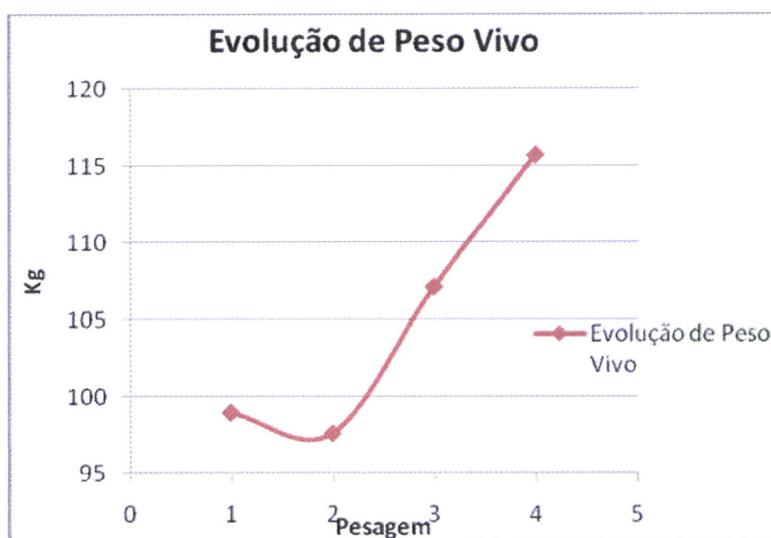


Gráfico 3 – Evolução do peso vivo dos animais ao longo do período de ensaio.
1ª pesagem – 1º dia de adaptação; 2ª pesagem – 1º dia de ensaio propriamente dito;
3ª pesagem – último dia do 1º período; 4ª pesagem – último dia de ensaio

7.2. Taninos

Relativamente à determinação de taninos pelo método de difusão radial (Quadro 10) é possível verificar que a fracção que apresenta maior actividade biológica no primeiro período é a casca (12,8g/KgMS). No segundo período a concentração de taninos são relativamente superiores, que podem estar associadas com a maturidade do fruto, a concentração de taninos presente na bolota inteira e casca são muito semelhantes (17,7 e 17,6g/KgMS respectivamente). Já no terceiro período de ensaio as concentrações superiores de taninos presentes na bolota encontram-se no miolo e na casca de bolota (10,8 e 10,6 g/KgMS respectivamente). Estes valores para além de serem inferiores aos obtidos por Castro (2009) que afirma que a fracção de bolota que apresenta maior concentração de taninos é o miolo de bolota (45,71g/KgMO) enquanto a casca a que apresenta valores mais baixos (25,93g/KgMO), apresentam alguma discrepância entre os períodos. A fracção que apresenta maiores concentrações de taninos é a casca corroborado pelos restantes métodos, enquanto a fracção que apresenta menor quantidade de taninos é o miolo de bolota também verificada pelos restantes métodos. A variação da concentração de taninos nos frutos pode estar associada à espécie e ao grau de maturidade do fruto que no início da montanha apresentam maior concentração de taninos, no entanto com o decorrer deste período o fruto amadurece e a sua concentração diminui. É de evidenciar que a maior quantidade de taninos com poder complexante se encontra sobretudo na casca da bolota, contudo não geram qualquer efeito sobre a ingestão e digestibilidade da dieta uma vez que os animais não ingerem a casca e as pequenas quantidades que ingerem são insuficientes para exercer algum efeito. Importa então ter atenção em particular a quantidade de taninos presente no miolo. A determinação dos compostos fenólicos no miolo de bolota pelo método de Folin-Ciocalteu apresenta valores compreendidos entre 9,6g/Kg a 11,6g/Kg ligeiramente superiores apresentados por González e Tejeda 2006 que obteve 9,0g/kg de compostos fenólicos presentes na bolota. No entanto este autor refere que os seus valores são superiores aos obtidos por Cantos et al. (2003) que obteve 1,4 a 2,2mg/kg evidenciando que

estas diferenças podem estar associadas aos diferentes métodos utilizados para a mesma determinação. Através dos resultados obtidos no presente estudo verifica-se que a fracção que apresenta maior concentração de compostos fenólicos é casca que varia entre 16,4g/kg e 17,4g/kg, enquanto o miolo é a fracção que apresenta menores concentrações (8,4 a 9,2g/kg). Relativamente à concentração de taninos, os diferentes métodos (Folin-Ciocalteu e Butanol-HCl) revelam concentrações semelhantes com excepção da bolota inteira no terceiro período que apresentam maior discrepância. Estes valores são inferiores aos obtidos por Nieto et al. (2002) que obteve valores de 2,53g/100gMS no miolo e 9,72g/100gMS na casca. Estas diferenças não só podem dever-se aos diferentes métodos utilizados mas também estar associadas ao grau de maturação da bolota que apesar de ter sido recolhida em meados de Novembro/Dezembro apenas foi utilizada nos finais de Fevereiro, podendo este facto ter sido determinante na redução da concentração de taninos presentes na bolota.

Quadro 11 – Concentração de taninos presentes na bolota inteira, miolo e casca por diferentes métodos.

		Concentração de Taninos (g/Kg MS) ^a	Concentração Compostos Fenólico (g/Kg MS) ^b	Concentração de Taninos (g/KgMS) ^b	Concentração de Taninos Condensados (g/KgMS) ^c
1° Período	Bolota Inteira	10,7	11,6	7,7	8,6
	Miolo	9,8	9,2	2,3	2,5
	Casca	12,8	16,4	16,2	17,4
2° Período	Bolota Inteira	17,7	9,6	5,8	8,4
	Miolo	15,1	8,6	2,6	3,1
	Casca	17,6	17,4	17,0	18,2
3° Período	Bolota Inteira	8,4	11,4	4,3	9,2
	Miolo	10,8	8,4	1,7	2,5
	Casca	10,6	17,1	16,4	18,4

a- Método de Difusão Radial; b – Método Folin-Ciocalteu; c – Método Butanol-HCl

7.3. Ingestão, Digestibilidade e Balanço de Azoto

Relativamente à ingestão, digestibilidade e balanço de azoto não existem diferenças significativas entre períodos $p > 0,05$ que reforça a intenção de que o efeito Período (tempo) não afectou as variáveis em estudo, não sendo assim este efeito contemplado na análise de resultados. Todas as variáveis de interesse apresentam diferenças significativas inerentes aos animais $p < 0,05$ uma vez que o metabolismo animal apresenta grande variabilidade entre animais não só por apresentarem diferenças no comportamento alimentar uma vez que não se encontravam em contexto natural, mas por também estarem condicionados e sob stress que pode conduzir a alterações desse comportamento. Essas diferenças também não foram tidas em conta para o presente estudo uma vez que o que se quer verificar é o efeito dos tratamentos (T1, T2 e T3) nos animais.

7.3.1. Ingestão

Na ingestão total não se observa diferenças significativas entre os tratamentos, no entanto, a ingestão de bolota apresentou diferenças entre os tratamentos $p < 0,05$ que permitiu verificar que o tratamento é um efeito efluente na quantidade de bolota ingerida. O tratamento 1, que era constituído unicamente por bolota apresenta maior ingestão 2867gMS/dia enquanto T3 apresenta uma ingestão média mais baixa de 2797gMS/dia. T1 também apresentou maior ingestão porque no primeiro período foram distribuídos 5Kg de bolota por dia enquanto nos restantes tratamentos apenas 4Kg. Era esperado que ingestão de luzerna (factor que varia de tratamento para tratamento) melhorasse a ingestão e digestibilidade da bolota e que esse efeito fosse significativo. Contudo a ingestão de luzerna foi muito baixa como já se suspeitava. No tratamento 3 os animais ingeriram em média 112gMS/dia de luzerna enquanto no tratamento 2 os animais ingeriram cerca de

68gMS/dia. Estes valores também sugerem que quanto maior a quantidade de bolota ingerida, menor é a quantidade de luzerna que os animais ingerem. De acordo com as proporções de luzerna desidratada distribuída nos tratamentos, em T2 os animais ingeriram mais luzerna que em T3 eventualmente por terem maior dificuldade em separar os dois alimentos. O tratamento composto por maior quantidade de luzerna desidratada também é o tratamento que apresenta maior quantidade de luzerna no refugo $p < 0,000$. O tratamento 3 apresenta em média 0,264Kg MS de luzerna desidratada no refugo enquanto o tratamento 2 apresenta em média 0,121Kg MS. Neste ensaio a presença de luzerna não revelou qualquer efeito sobre a ingestão de bolota, uma vez que os animais rejeitavam a luzerna apresentando consequentemente uma baixa ingestão. Uma vez que a luzerna também complementava a bolota a nível proteico também a ingestão de proteína não foi afectada pelo tratamento.

No gráfico 4 é possível observar as médias das variáveis em estudo associadas à ingestão.

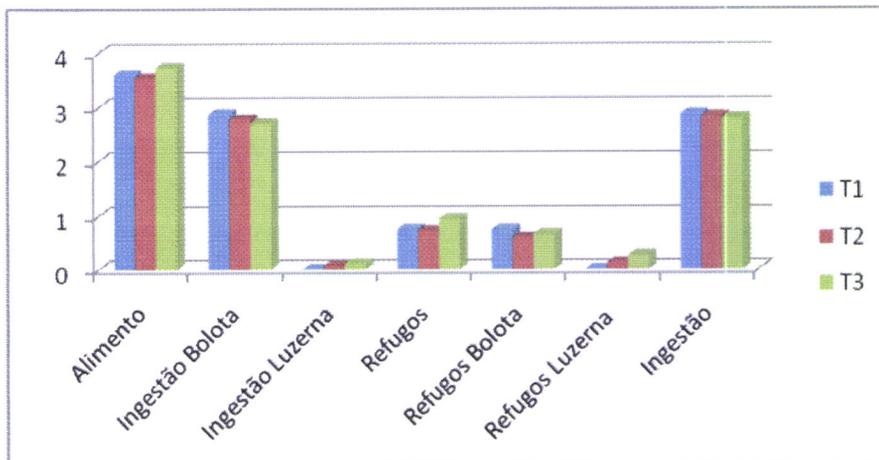


Gráfico 4 – Médias das variáveis em análise por tratamento (Kg)

7.3.2. Digestibilidade

A digestibilidade apresenta diferenças significativas entre tratamentos $p < 0,01$. Os animais com a dieta constituída por 100% de bolota apresentaram melhor digestibilidade que os restantes tratamentos (83,7%) enquanto a dieta que tinha 200g de luzerna desidratada foi a dieta que expressou pior digestibilidade (81%). A elevada digestibilidade (Gráfico 5) verificada pode estar associada mais uma vez, ao estado maturação da bolota, que por apresentar uma baixa concentração de taninos não é afectou a digestibilidade como seria de esperar. Nieto et al (2002) também obtiveram valores de digestibilidade iguais (83%) com dieta exclusivo de bolota. A baixa ingestão de luzerna desidratada também não melhorou a digestibilidade entre o tratamento exclusivo de bolota e os tratamentos com incorporação de luzerna. No entanto comparando T2 e T3 verifica-se que o tratamento 3 apresenta uma digestibilidade de 82,1%, superior a T2 (81%), o que pode sugerir que o pequeno aumento da ingestão de luzerna possa ter melhorado a digestibilidade do tratamento, contudo não existem evidências estatísticas que permitam tirar esta conclusão.

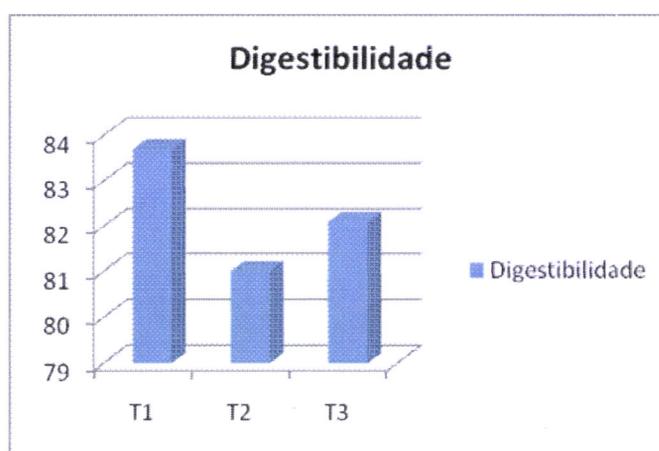


Gráfico 5 – Digestibilidade por tratamento (%)

7.3.3. Balanço de Azoto

Relativamente às características azotadas do alimento (Gráfico 6), todos os tratamentos são diferentes uns dos outros apresentando T3 (28,7g/dia) maior quantidade de azoto total em relação aos restantes tratamentos (T1 24,1g/dia e T2 25,5g/dia). Também os refugos em T3 apresentam maior de azoto total (9,82g/dia) uma vez que os animais ingeriam pouca luzerna comparativamente a T1 em que não era distribuída luzerna aos animais apresentando nos refugos 5,29g/dia de azoto total. Já o azoto excretado pelas fezes não apresenta diferenças significativas entre os tratamentos enquanto o azoto excretado pela urina apresenta diferenças significativas entre tratamentos apresentando T2 menor quantidade (3,15g/dia) e T1 maior (4,13g/dia). Bellego et al. (2001), confirma também uma redução progressiva na excreção de azoto em dietas com baixos níveis de proteína foram associados a baixas perdas de azoto urinário.

Através do gráfico 6 é possível verificar que os animais que ingerem menor quantidade de azoto apresentam maior quantidade de azoto excretado pela urina. T3 apesar de apresentar maior quantidade de N no alimento também apresenta maior N nos refugos devido à baixa ingestão de luzerna, responsável pelo suposto acréscimo de N ingerido, que não se verificou. Nieto et al. (2002) confirmaram que o miolo da bolota apresenta um elevado conteúdo energético e que existe uma forte influência negativa das cascas sobre a digestibilidade da fracção proteica da bolota e balanço de N.

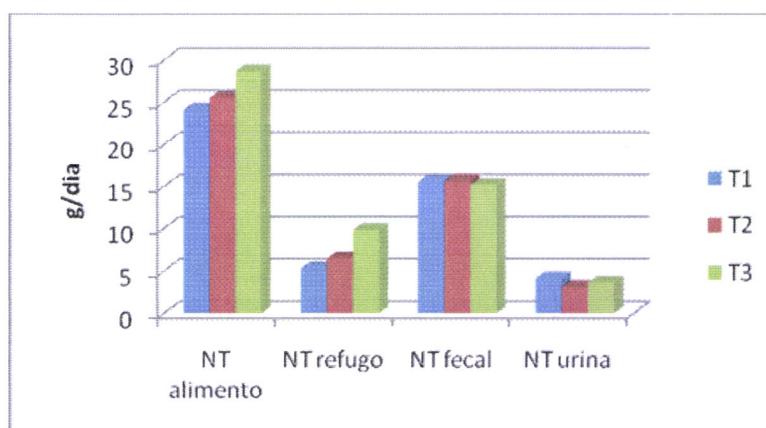


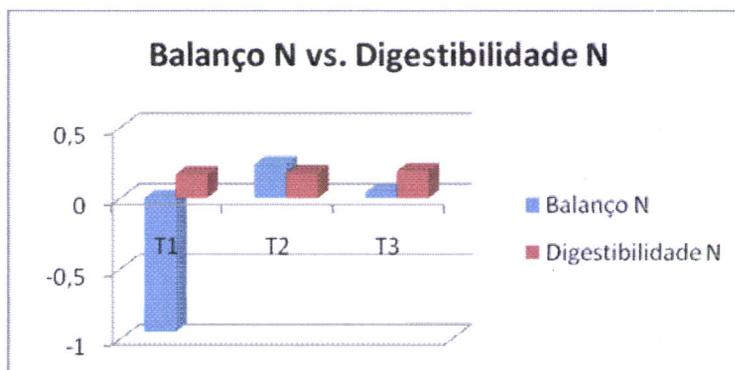
Gráfico 6 – composição azotada dos intervenientes para o cálculo do balanço e digestibilidade de N (g/dia)

O balanço de azoto foi calculado pela diferença entre o azoto ingerido e o azoto excretado (fecal e urinário). Os únicos tratamentos que diferem significativamente são T1 e T2 com $p < 0,05$. O balanço de azoto expresso em g/dia está muito próximo do equilíbrio embora o tratamento exclusivo de bolota apresente o balanço negativo $-0,95\text{g/dia}$. Relativamente ao balanço azotado gerado pelos tratamentos 2 e 3 ($0,24$ e $0,04$ respectivamente) estes apresentam um balanço de azoto mais equilibrado e positivo não existindo diferenças significativas entre eles. A diferença verificada entre T1 e T2 também pode estar relacionada com a presença dos taninos, uma vez que durante o primeiro período foram distribuídos de 5Kg de bolota, logo estes animais ingeriram maior quantidade de taninos que nos restantes tratamentos podendo conduzir a um balanço de azoto mais negativo. Nieto et al. (2002) verificaram que os animais apresentavam digestibilidade e balanço de N negativo registando perdas azotadas médias de $5,1\text{g/dia}$, muito inferior ao registado no presente ensaio. Garcia-Valverde et al. (2007) obtiveram um balanço de N negativo mas próximo das suas necessidades de manutenção, apresentando uma retenção azotada de $-0,84\text{g/dia}$.

7.3.4. Digestibilidade de N

Quanto à digestibilidade do azoto não se verificam diferenças significativas entre tratamentos. No entanto todos os tratamentos apresentam digestibilidade de N baixas, onde T1 apresenta uma digestibilidade de $16,8\%$, T2 de $17,7\%$ e T3 de $19,3\%$. Uma vez que a digestibilidade de N se correlaciona positivamente com o balanço de azoto $p < 0,05$, quanto maior for o balanço de azoto maior também a digestibilidade de N (Gráfico 7). Também a ingestão de proteína não apresentou diferenças significativas entre tratamentos. Era de esperar que os animais que apresentavam maiores quantidades de proteínas disponíveis (T3) que tivessem uma ingestão de proteína superior aos outros tratamentos. Contudo uma vez que os animais registaram uma baixa ingestão de luzerna não se traduzindo num

aumento de proteína ingerida mas num aumento de refugo produzido. Assim todos os animais obtiveram valores de ingestão de proteína muito semelhantes independentemente do tratamento em causa.



No quadro 11 estão representadas todas as variáveis em estudo neste ensaio in vivo, que permite observar os valores médios obtidos em todos os tratamentos

Quadro 12 – Valores médios obtidos para as variáveis em estudo nos três tratamentos (g/dia)

	T1	T2	T3	Erro	p
Alimento	3609	3552	3739	75,85	*
Ingestão Bolota	2867	2772	2705	53,81	0,05
Ingestão Luzerna	0	68	112	8,22	0,01
Refugos	741	720	941	28,29	0,01
Refugos Bolota	741	590	658	31,21	0,01
Refugos Luzerna	0	121	264	8,31	0,01
Prod.Fecal	468	501	538	9,88	0,01
Ingestão	2867	2832	2798	57,29	*
Digestibilidade	83,7	81	82,1	0,004	0,01
NT alimento	24,1	25,5	28,7	0,799	0,05
NT refugo	52,9	6,46	9,82	0,039	0,01
NT fecal	15,58	15,68	15,19	0,46	*
NT urina	4,13	3,15	3,64	0,156	0,01
Balanço N	-0,95	0,24	0,04	0,383	0,05
Digestibilidade N	16,9	17,7	19,3	0,016	*
PB ingerida	117	118	119	3,08	*

*Não existem diferenças significativas entre os tratamentos

Conclusão:

A bolota é um alimento excepcional que é aproveitado para o acabamento de porcos Alentejanos em Montanheira. Devido à sua composição característica os animais complementam as suas necessidades proteicas através da ingestão de erva.

Ao aproximar as condições de ensaio às condições naturais de montanheira, seria de esperar que ao aumentar a quantidade de proteína disponível na dieta, que melhorasse a ingestão e transformação da bolota (melhor eficiência na conversão alimentar). Ao mesmo tempo, a ingestão de maior quantidade de fonte proteica traduzir-se-ia em maior quantidade de proteína ingerida consequentemente mais positivo seria o balanço de azoto daí resultante, evitando que o animal sofresse perdas endógenas como forma de compensar as suas necessidades. No entanto, verificou-se que a ingestão de luzerna desidratada foi muito baixa não afectando a ingestão de bolota. Como tal, a digestibilidade obtida e o balanço de azoto também não foram afectados pelos dois níveis de inclusão de luzerna.

A inclusão de luzerna desidratada também teve como objectivo de atenuar o efeito dos taninos sobre a ingestão e digestibilidade da bolota, contudo uma vez que a bolota apresentava baixa concentração de taninos, eventualmente pelo avançado estado de maturação da mesma, também não se verificou qualquer efeito associado à presença de taninos. Dado que a ingestão de luzerna foi tão baixa, se os taninos ainda tivessem uma capacidade complexante razoável, seria de esperar digestibilidades mais baixas e balanços de azoto mais negativos, uma vez que estes ligar-se-iam às proteínas da bolota, ficando ainda menos proteína disponível para absorção.

De acordo com os dados discutidos anteriormente, verifica-se que quanto maior a quantidade de alimento distribuído maior é a quantidade de bolota ingerida, refugo produzido e a ingestão. No entanto quanto maior a quantidade de bolota presente na dieta

menor é o balanço de azoto gerado como se verifica em T1. À medida que aumenta a quantidade de luzerna ingerida maior o balanço de azoto gerado.

Relativamente aos tratamentos aplicados verifica-se que apesar de T1 apresentar maior ingestão digestibilidade apresenta menor digestibilidade de N, balanço de azoto e proteína bruta ingerida.

No tratamento 2 apesar de os animais ingerirem alguma quantidade luzerna desidratada não é suficiente para melhorar a digestibilidade da dieta, nem a digestibilidade de N e balanço de N, no entanto este tratamento é o que reflecte melhor balanço azotado.

O tratamento 3 apresenta maior ingestão de luzerna, mas também apresenta maior refugo produzido o que evidencia que a maior parte da luzerna não foi aproveitada pelo animal. Dos tratamentos dois tratamentos testados constituídos por luzerna, é o que apresenta melhor digestibilidade de N e proteína bruta ingerida. No entanto tanto o balanço de N, a digestibilidade de N e a proteína ingerida não apresentam diferenças significativas nestes tratamentos.

Nos três tratamentos testados não se verifica que tenham ocorrido melhorias na ingestão de proteína, não que esta tenha sido afectada pela inclusão de luzerna.

8. Bibliografia

- ALMEIDA, J.A.A. (1986). *Influência dos taninos de frutos de Quercus Ilex L. e Quercus Suber sobre a fermentação retículo-ruminal e a digestão enzimática das proteínas*. Tese de Doutoramento. Universidade de Évora. 322pp.
- APARICIO MACARRO, J. B. (1987). El cerdo Ibérico. Premio de Investigación convocado por Sánchez Romero Carbajal, Jabugo, S.A. Huelva, Industrias Gráficas gaditanas, S.A. Cadiz, Espanha.
- APARÍCIO MACARRO, J. B. (1992). *La Montanera e el Cerdo Ibérico*. In: *El Cerdo Ibérico la Naturaleza la Dehesa*. pp.169-186. Ed.MAPA.
- AUSTIN, P.J.; SUCHAR, L.A., ROBBINS, C.T.; HAGERMAN, A.E. (1989). *Tannin-Binding proteins in saliva of deer and their absence in saliva of sheep and cattle*. Journal Chemistry Ecological 15, 1335
- BAPTISTA, F. O. (1993). *A política agrária do Estado Novo*. Coleção Textos/22. Ed. Afrontamento. Porto.
- CAMPANIÇO, L.F.C. (2005). *Influência dos frutos de Quercus rotundifolia e Quercus suber sobre as performances produtivas e perfil de ácidos gordos da gordura subcutânea em suínos de raça Alentejano*. Trabalho de Fim de Curso. Universidade de Évora 100pp.
- CANCELA D'ABREU, M.O. (1992). *Valor Alimentar de Três Pastagens Anuais para Ovinos*. Tese de Doutoramento. Universidade de Évora.
- CASABIANCA, F. (1996). *Optimization des Systèmes d'élevage Traditionnels du Porc Méditerranéen*. *Produzione Animale*, IX, III SERIE – Numero Special, 51-59.
- CRESPO, D.G. (2005) *Melhoramento de Pastagens no Montado*. Dehesa bueno. Fertiprado. cp.3. pp. 155-164.

ESPARRAGO, F.; VAZQUEZ, F.M. & PEREZ, M.C. (1992). *Factores que influyen en la producción de Quercus Rotundifolia Lam.* In: II Coloquios sobre el cerdo Ibérico 25-27 Março. Badajoz.

FERNANDES, L.S. *Campos do Sul: da história e agro-economia do porco Alentejano ao desenvolvimento sustentável da sua agricultura.* Tese de Doutoramento. Universidade de Évora. 1999.

FERNANDES, L.S.; FREITAS, A.B.; ABREU, M.C.; *Evolução dos sistemas de produção de porco Alentejano e efeitos do aumento de preço dos alimentos compostos na viabilidade económica das explorações.* (2008) ICAM. Universidade de Évora. In: Revista de Suinicultura, nº 78, pp. 54-63.

FONSECA, M.P. (2006). *Montados e Biodiversidade.* Dehesa Bueno Universidade Évora. Évora. Portugal. Cp.2. pp.99-104

FRAME, J. CHARLTON, J.F.L.; LAIDLAW, A.S., (1998) *Temperate forage legumes.* CAB International Wallingford, Oxon.

FREITAS, A.B. (2006) *Alimentação em Regime Extensivo: Raça Suína Alentejana.* IV Jornadas Internacionais de Suinicultura. UTAD. Vila Real. 12-13 Maio

FREITAS, A.B. (2005). *Utilização do montado pelo porco de raça alentejana.* in: Melhoramento nº 40, pp 146-151.

FREITAS, A.B.; Neves, J.; Nunes, J.; Martins, J.M. (2006). *O Sistema Agro-Silvo-Pastoril da Raça Suína Alentejana.* ICAM. Universidade de Évora.

FRUTOS, P.; HERVÁS, G.; RAMOS, G.; GIRÁLDEZ, F.J.; MANTECÓN, A.R. (2002) *Condensed tannin content of several scrub species from mountain in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value.* Animal Feed Science and Technology, 92, p. 215-226.

FULLER, M.F.; MCWILLIAM, R. WANG T.C.; Giles L.R. (1989). *The optimum dietary amino acid pattern for growing pigs. 2. Requirements for maintenance and for tissue protein accretion.* British Journal of Nutrition 62. pp. 255-267.

GARCIA-VALVERDE,R.; NIETO, R.; LACHIRA,M.; AGUILERA,J.F. *Effects of herbage ingestion on digestion site and nitrogen balance in heavy Iberian pigs fed on acorn-based diet*. Granada. Espanha In: Livestock Science. Janeiro 2007. pp.63-77.

GONZÁLEZ, E.; TEJEDA, J.F. (2006). *Effects of dietary incorporation of different antioxidant extracts and free-range on fatty acid composition and lipid oxidation of Iberian pig meat*. Animal 1:7 pp 1060-1067

HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G.:(1981). *Specify of Proanthocyanidin-Protein interactions*. Journal of Biology Chemistry, 256, 4494.

HASLAM, E. (1989). *Plant Polyphenols, vegetable tannins revisited*. Chemistry and Pharmacology of Natural Products. pp. 1-13.

HEGER, J.; MENGESHA, S.; VODEHNAL, D. (1998). *Effect of essential:total ratio on protein utilization in the growing pig*. British Journal of Nutrition 80. pp. 537 – 544.

HEMINGWAY, R.W. (1996) *Exploring the conformation of polyflavanoids- An approach to understanding the significance of tannins..* Ed. INRA, Paris

JANSMAN, A. J. M. (1993). *Tannins in feedstuffs for simple-stomached animals*. Nutrition Research Reviews 6, pp.209-236.

KHAN, M.A.; MAHR-UN-NISA; SARWAR, M. (2003). *Review Techniques Measuring Digestibility for the nutritional evaluation of feeds*. International Journal of Agriculture & Biology

LE BELLEGO,L.; MILGEN, J.; DUBOIS, S.; NOBLET,J. (2001). *Energy utilization of low-protein diets in growing pigs*. J. Anim. Sci. 79, pp. 1259 – 1271.

LEINMULLER, E.; STEINGASS, H.; PALMER, B. (1996). *Changing perception of the effect of plant phenolics on nutrient supply in the ruminant*. Australian Journal of Agricultural Research 49, pp.829-842.

MAKKAR, H.P.S. (2003) *Quantification of tannins in tree and shrub foliage: a laboratory manual*. Kluwer Academic Publishers

MCDONALD,P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D; MORGAN, C. A.(2002) *Animal nutrition*, 6ª ed.

MIN, B.R.; BARRY, T.N; ATTWOOD, G.T.; MCNABB, W.C. (2003). *The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review*. *Animal Feed Science and Technology* 106, pp. 3-19.

MOURE, A.; CRUZ, J.M.; FRANCO, J.M; DOMINGUEZ, J.; SINEIRO, H. DOMINGUEZ, M.J, NUNEZ &PARAJÓ, J.C. (2001). *Natural antioxidants from residual sources*. *Food Chemistry* 72, pp. 145-171

MUELLER-HARVEY, I. (2001). *Analysis of hydrolysable tannins*. *Animal Feed Science and Technology* 91, p. 3-20.

NEVES, J.; BENTO, P.; FARINHA,N.; FREITAS, A.B. (2001). *Influência da dieta de engorda e do peso ao abate sobre as características da carcaça do porco Alentejano. Resultados preliminares*. *Revista Portuguesa de Zootecnia*. Ano VIII, nº1, 258-262.

NEVES, J.A.F.M. (1998). *Influência da dieta de engorda e do peso de abate sobre as características bioquímicas e tecnológicas da matéria-prima e do presunto curado do porco Alentejano*, Tese de Doutoramento. Universidade de Évora.

NIETO,R.; RIVIERA,M.; GARCÍA, Mª.A.; AGUILERA, J.F. (2002). *Amino acid availability and energy value of acorn in the Iberian pig*.Granada. Espanha. In: *Livestock Production Science* 77. pp. 227 – 239.

NUNES J.L.T. *Contributo para a reintegração do porco Alentejano no montado*. Tese de Doutoramento. Universidade de Évora. 1993

OLIVEIRA, S.G.; BERCHIELLI, T.T. (2007). *Potencialidades da utilização de taninos na conservação de forragens e nutrição de ruminantes- revisão*. *Archives of Veterinary Science* 12, pp. 1-9.

Oliveira, T. *Validação da Técnica dos n-alcanos para a estimativa da ingestão e da digestibilidade em Porcos Alentejanos*. Trabalho de fim de curso. Universidade de Évora. Évora. 2005

Otto, E.R.; Yokoyama, P.K; Ames, N.K.; Trottier, N.L. *Nitrogen balance and ileal amino acid digestibility in growing pigs fed diets reduced in protein concentration*. J. Anim. Sci. 81. pp. 1743 – 1753. 2003.

PÓVOAS JANEIRO, J. (1944). *A Suinicultura em Portugal*. Boletim Pecuário, Ano XII, nº 2: 4-192.

RODRIGUEZ-ESTÉVEZ, V.; MARTINEZ A.G.; MORENO, C.M.; MUNÓZ, J.M.P; CASTRO, A.G.G. (2008) *Dimensiones y Características nutritivas de las Bellotas de los Quercus de la Dehesa*. Arch.Zootec. 57. pp.1-12

Roxo, M.J.; Casimiro, P.C.; Sousa, (2006) *T:As características de montado no Alentejo e as características físicas do território*. Dehesa bueno. Universidade Nova de Lisboa. Lisboa. Portugal. Cp.1. pp. 35-42. 2006

Schneider, B.H; Flatt, E.P. *The evaluation of feeds through Digestibility Experiments*. University of Georgia Press. Athens. 1975

SILANIKOVE, N. PEREVOLOTSKY, A.; PROVENZA, F.D. (2001). *Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants*. Animal Feed Science and Technology, 91, pp. 69-81.

Tirapicos Nunes, J.L. *El Cerdo Alentejano. Situación Actual. I Jornadas sobre el Cerdo Ibérico y sus Productos*. Salamanca. 1999

VÁZQUEZ, F.; DONCEL, E. (2002). *Aproximación al conocimiento de la alimentación del cerdo Ibérico com bellotas*. Sólo Cerdo Ibérico, 2. pp.87-93

Boletim Estatístico 2006, nº 12; Direcção Geral de Veterinária, Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.

Boletim Estatístico 2007, nº13; Direcção Geral de Veterinária, Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.

