

UTILIZAÇÃO DO MÉTODO DE ESPECTRO DE ABSORÇÃO ATÔMICA NO AJUSTE DO INDICADOR ÓXIDO DE CRÔMIO III EM ESTUDOS DE DIGESTIBILIDADE COM O MATRINCHÃ (*Brycon cephalus*)

WILLIBALDO BRÁS SALLUM¹
ANTÔNIO GILBERTO BERTECHINI²
OSMAR ÂNGELO CANTELMO³
PRISCILA VIEIRA ROSA LOGATO²
ÉDISON JOSÉ FASSANI⁴

RESUMO – Foram realizados dois ensaios no Laboratório Úmido do Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais - CEPTA, objetivando ajustar a metodologia de utilização do óxido de crômio III como indicador para estudos nutricionais com o matrinhã (*Brycon cephalus*, Günther 1869) (Teleostei, Characidae). No primeiro ensaio, foram comparados os diferentes níveis de inclusão 0,1%; 0,6%, 1,1%, 1,6% e 2,1% de óxido de crômio III à dieta isoproteica (28% PB) e isoenergética (2700 Kcal ED/kg). Utilizou-se o delineamento em blocos casualiza-

dos com 475 exemplares com peso inicial médio de 42,5g. No segundo ensaio, foram comparadas as variabilidades dos coeficientes de digestibilidades aparente dos nutrientes em função do dia de coleta, utilizando-se as dietas experimentais do ensaio anterior. Foram usados 500 exemplares com peso médio de 26,9g, num delineamento em blocos casualizados em estrutura fatorial. Pelos resultados, verificou-se maior consistência quando utilizaram-se os níveis de inclusão de 0,6%; 1,1%; 1,6% e 2,1% de Cr₂O₃, com coleta fecal a partir do 3º dia de alimentação.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Matrinhã, *Brycon cephalus*, óxido de crômio III, nutrição.

UTILIZATION OF THE EXTERNAL INDICATOR CHROMIUM OXIDE III, FOR THE MATRINCHÃ (*Brycon cephalus*, GÜNTHER 1869) (TELEOSTEI, CHARACIDAE)

ABSTRACT – Two assays were carried in order to adjust the methodology of the use of the oxide of chrome as indicator for nutritional studies is with matrinhã (*Brycon cephalus*). In the first assay the different levels of inclusion 0.1% were compared; 0.6%; 1.1%; 1.6% and 2.1% of oxide of chrome to the isoprotein (28% CP) and isoenergetical (2700 Kcal DE/kg) diets. The randomized blocks design was used in casual blocks with 475 samples with an average initial

weight of 42.5g. In the second assay, the variabilities of the coefficients of apparent digestibility of the nutrients were compared in function of the day of collection, the experimental diets of the previous assay being used 500 samples were used with average weight of 26.9g in a randomized blocks design in factorial structure. The results showed larger consistence with the use of the levels of inclusion of 0.6%; 1.1%; 1.6% and 2.1% Cr₂O₃.

INDEX TERMS: Matrinhã, *Brycon cephalus*, chromium oxide III, nutrition.

1. Doutor em Zootecnia. Estação de Hidrobiologia e Piscicultura de Três Marias, CODEVASF, Caixa Postal 11, 39205.000 - Três Marias.

2. Professores da UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS (UFLA), Caixa Postal 37 – 37200.000 - Lavras, MG.

3. Pesquisador do CEPTA/IBAMA, Pirassununga, SP

4. Zootecnista, Doutorando pela UFLA.

INTRODUÇÃO

Em qualquer avaliação da digestibilidade de um alimento e/ou nutriente, é necessário um registro quantitativo do material ingerido pelo animal e do que foi eliminado nas fezes e essas devem ser representativas do material ingerido. Com os animais terrestres, os métodos direto e indireto para a determinação da digestibilidade são utilizados respeitando-se as peculiaridades de cada classe. Pesquisas têm constatado uma estreita consonância entre os resultados obtidos por esses métodos, concluindo sobre os resultados satisfatórios dessas técnicas com pequenas vantagens de umas sobre as outras.

Entretanto, o meio aquático representa grande empecilho aos estudos sobre a exata quantificação do material ingerido e eliminado nas fezes. Assim, o método indireto, com utilização de substâncias indigeríveis, facilita sobremaneira a condução desses estudos, principalmente em organismos aquáticos, uma vez que o percentual de digestibilidade do alimento e/ou nutriente pode ser avaliado sem a necessidade de determinar o material ingerido e eliminado. Pela literatura, constata-se que o óxido de cromo III, é o indicador mais utilizado nas determinações de digestibilidade; entretanto, para organismos aquáticos, o seu nível de inclusão às dietas experimentais ainda não está padronizado, diferentemente do que ocorre com os animais terrestres.

Desde 1918, quando Edin propôs o emprego do óxido de cromo III como marcador, essa substância vem sendo exaustivamente utilizada como indicador fecal em estudos nutricionais (Kotb & Luckey, 1972).

Para organismos aquáticos, mais recentemente tem-se intensificado o interesse pelos indicadores dietéticos, em função das dificuldades impostas pelo meio aquático à coleta dos produtos excretados. Com a utilização do indicador, torna-se desnecessária a difícil quantificação da dieta total ingerida e da coleta total das fezes.

Para peixes, Bowen (1978) questionou a sua utilização em função da sua maior densidade específica em relação ao alimento, com conseqüente trânsito mais lento pelo trato digestório. Entretanto, Noüe et al. (1980) investigaram as condições necessárias para obtenção de coeficientes de digestibilidade acurados e verificaram que, a partir do terceiro dia experimental, os coeficientes de digestibilidade alcançaram valores definitivos.

A maioria dos trabalhos consultados apresentou níveis de inclusão de 0,5% e 1,0% de Cr_2O_3 nas dietas experimentais, embora níveis de 0,8% (Vens-Cappell, 1984); 1,3% (Ferraris et al., 1986); 1,5% (Noüe & Choubert, 1986); 2,0% (Fauconneau et al., 1983; Tacon & Rodrigues, 1984; Rodrigues, 1985; Shiau & Chen, 1993;

Shiau & Liang, 1995) e 3% (Silva & Perera, 1984) são reportados na literatura. No entanto, Tacon & Rodrigues (1984) e Rodrigues (1985) encontraram em trutas arco-íris (*Salmo gairdneri*) coeficientes de digestibilidade aparente de nutrientes significativamente maiores, com o nível de 2,0% de óxido de cromo III, em relação a 0,5 e 1,0%.

Em estudos comparativos entre indicadores, Buddington (1980), em truta arco-íris e três espécies de tilápia (*Oreochromis aureus*, *O. mossambica* e *O. nilotica*), concluiu que Matéria Orgânica Resistente à Hidrólise (HROM) é mais eficiente e acurada que Cr_2O_3 e cinza. Para Lied et al. (1982), o óxido de cromo III e o óxido de titânio IV foram equivalentes em "Atlantic cod" (*Gadus morhua*). Tacon & Rodrigues (1984) e Rodrigues (1985) compararam indicadores externos e internos para truta arco-íris e verificaram que o óxido de cromo III e fibra bruta apresentaram as melhores repetibilidades dos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes em relação ao polietileno e "cinza insolúvel em ácido". Em 1990, Silva et al. não encontraram diferença significativa para os coeficientes de digestibilidade quando foram comparados os indicadores óxido de cromo III e a fibra bruta em *Oreochromis aureus*. Também Shahat (1993) comparou o uso de indicadores externo (óxido de cromo III) e internos (fibra bruta e cinza) para determinações da digestibilidade aparente da proteína e energia em "catfish" (*Clarias lazera*). Embora os dados tenham mostrado maiores valores de coeficientes de digestibilidade obtidos pelo uso do óxido de cromo III, seguido por cinza, concluiu aquele autor que o Cr_2O_3 pode ser considerado o mais adequado. Entretanto, a cinza mostrou ser adequada sob condições práticas.

Como nos demais indicadores internos e externos, o emprego do óxido de cromo III também apresenta limitações, como a sua quantificação por meio de análises laboratoriais, densidade específica (Bowen, 1978), etc; entretanto, esse indicador é o mais amplamente utilizado em peixes (Inaba et al., 1962; Smith & Lovell, 1973; Austreng, 1978; NRC, 1983; Silva & Perera, 1984; Tytler & Calow, 1985; Hephher, 1988; Smith, 1988; Silva, 1989; Silva & Anderson, 1995).

No presente estudo, objetivou-se padronizar o nível de inclusão do indicador externo óxido de cromo III às dietas experimentais para as pesquisas nutricionais com o matrinhã (*Brycon cephalus*, Günther 1869) (Teleostei, Characidae), utilizando-se o método de análise da espectrofotometria de absorção atômica. Um segundo objetivo foi verificar a influência do dia da coleta fecal

sobre a variabilidade dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes para essa espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório Úmido do Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais - CEPTA. Foram realizados dois ensaios com o objetivo de comparar as variabilidades dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca e proteína bruta, utilizando-se o método da espectrofotometria de absorção atômica, em relação ao nível de inclusão do óxido de cromo III nas dietas experimentais e da influência do dia da coleta fecal.

No primeiro ensaio, os tratamentos foram constituídos dos níveis de inclusão de 0,1%; 0,6%; 1,1%; 1,6% e 2,1% de óxido de cromo III às dietas experimentais, para determinar a variabilidade dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca e proteína bruta. Com finalidade semelhante em relação à matéria seca, o segundo ensaio foi executado utilizando-se a estrutura fatorial mista, em que os níveis foram a inclusão do indicador Cr₂O₃ (0,1%, 0,6%, 1,1%, 1,6% e 2,1%), e cada dia de coleta fecal (1^o, 2^o, 3^o, 4^o, 5^o, 6^o e 7^o dia consecutivo a partir do primeiro dia de oferecimento da dieta experimental). As dietas experimentais de ambos os ensaios estão apresentadas na Tabela 1.

Os alevinos de matrinhã (*Brycon cephalus*) utilizados neste experimento foram obtidos de reprodução artificial efetuada em dezembro de 1996, no CEPTA. O

primeiro ensaio foi conduzido nos meses de fevereiro e março de 1997, no qual foram utilizados 475 exemplares de matrinhã com peso médio inicial de 26,9 g e comprimento padrão médio de 11,2 ± 1,2 cm e total médio de 12,7 ± 1,3 cm. No segundo ensaio, executado nos meses de setembro e outubro daquele mesmo ano, foram utilizados 500 exemplares, com peso médio inicial de 42,5 g e comprimento padrão médio de 13,5 ± 1,7 cm e total médio de 15,2 ± 1,9 cm, que foram distribuídos aleatoriamente em cinco tanques de digestibilidade. Logo após o transporte dos peixes do viveiro ao Laboratório Úmido e da biometria, utilizando a solução tranquilizante 0,5 ml de quinaldina/20litros de água, foi feito o tratamento preventivo com solução verde de malaquita (4g) e formol (1000ml). Quando os peixes de todos os tanques de digestibilidade passavam a se alimentar com a ração-padrão, os tratamentos foram sorteados para o início da fase pré-experimental de três dias, seguido por quatro dias de coleta de fezes. Após o período de coleta fecal de cada bloco, os peixes receberam a ração padrão por 96 horas, tempo suficiente para a completa passagem da digesta pelo trato digestório, quando era efetuado novo sorteio dos tratamentos para o início do período de coleta fecal do bloco seguinte. Nesses dois ensaios, os animais eram arraçoados até próximo à saciedade, logo após a coleta de fezes às 8 horas de manhã e também às 11, 14 e 17 horas.

TABELA 1 – Composição percentual das dietas experimentais.

Ingrediente	Tratamento - Nível de óxido de cromo III				
	0,1%	0,6%	1,1%	1,6%	2,1%
Milho	40,5	40,5	42,3	41,3	41,3
Farelo de trigo	4,0	3,0	1,2	1,0	1,0
Farelo de soja	16,0	16,0	16,0	16,0	15,5
Farelo de algodão-35%PB	16,5	16,5	15,5	15,5	15,2
Farinha de peixe	18,0	18,5	19,0	19,7	20,0
Óleo de soja	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Suplemento min/vit. ¹	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Goma guar	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Óxido de cromo III	0,1	0,6	1,1	1,6	2,1
TOTAL	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
PB (%)	27,8	27,9	27,7	27,9	27,8
ED (kcal/kg)	2726	2716	2713	2700	2690

¹Quantidade recomendada pelo fabricante. Níveis de garantia por kg de produto - ácido fólico 250 mg, ácido pantotênico 5.000 mg, antioxidante 0,25g, cobalto 24,999mg, cobre 1.999,9mg, ferro 11.249,7mg, iodo 106,2 mg, manganês 3.749,9 mg, niacina 3.750 mg, selênio 75,5 mg, vitamina A 1.000.000 ui, vitamina B1 250mg, vitamina B12

2.500mcg, vitamina B2 1.750 mg, vitamina B6 875mg, vitamina C 12.500 mg, vitamina D3 600.000 ui, vitamina e 12.500 ui, vitamina K 315 mg, zinco 17.499,6 mg, veículo q.s.p

As dietas experimentais isoenergéticas (2700 kcal ED/kg) e isoprotéicas (28% PB) foram manufaturadas, iniciando-se pela moagem dos ingredientes, separadamente, pelo moinho a martelo em peneira fina (2 mm de diâmetro). O indicador óxido de crômio III foi peneirado em peneira de abertura 0,59 mm de diâmetro para ser incorporado à mistura, durante a homogeneização de 20 minutos no misturador. Na prensagem sem vapor das dietas experimentais, utilizou-se uma mini peletizadora com anel de 4 mm de diâmetro, com posterior secagem ao sol.

O sistema utilizado para a determinação da digestibilidade neste experimento foi o de Cho et al. (1985) e Cho (1987), modificado por Cantelmo (1998), que consta basicamente de tanques em fibra de vidro com formato interno cilíndrico-cônico e capacidade aproximada de 310 litros d'água, com vazão aproximada 0,07 litro/segundo, interligado individualmente ao coletor de fezes com o mesmo formato interno e capacidade de 20 litros d'água.

Na rotina diária de funcionamento, após 45 minutos da última refeição (às 17 horas), era efetuada a limpeza do sistema, visando a eliminar os restos de dietas, fezes e resíduos (escamas e pedaços de nadadeiras) pela retirada de 60-70% do volume d'água do tanque de digestibilidade, pela mangueira acoplada ao fundo e que o interliga ao coletor de fezes. Toda a água era então drenada para a limpeza interna, ficando o sistema preparado para a coleta de fezes na manhã do dia seguinte.

As fezes livres caracterizavam-se por pequenos grânulos, porém, quando decantadas no coletor, apresentaram-se amorfas, sendo coletadas diariamente e centrifugadas a 4200 rpm/8 minutos a 20-22°C. Após a pré-secagem em estufa a 65°C durante aproximadamente 28 horas, eram trituradas em gral e peneiradas para retirada de impurezas, formação de amostra composta por tratamento (ensaio 1) ou por dia de coleta (ensaio 2), sendo então acondicionadas, identificadas e armazenadas em freezer para posteriores análises efetuadas no Laboratório de Pesquisa Animal da UFLA. Para determinação do Cr₂O₃ nas dietas e fezes, utilizou-se a metodologia proposta por Silva (1998), com leituras da concentração de crômio em espectrofotômetro de absorção atômica.

As amostras d'água para as determinações das análises químicas realizadas uma vez por semana e as medições diárias de temperatura e oxigênio dissolvido foram obtidas nos coletores de fezes de cada tratamento, sendo também recolhida uma amostra d'água de abaste-

cimento na entrada do tanque de digestibilidade. As análises de pH, dureza, alcalinidade, amônia e condutividade foram realizadas no Laboratório de Limnologia do CEPTA, sendo as medições de temperatura e oxigênio dissolvido feitas diariamente às 7 h30 e 16 h30, por meio de oxigêniometro. A água de abastecimento do sistema era filtrada pela manhã (7 horas) e à tarde (16 horas).

A iluminação artificial no Laboratório Úmido obedeceu ao horário de 6 as 18 horas, sendo controlada por cronômetro elétrico. Os Coeficientes de Digestibilidade Aparente (CDA,%) da proteína bruta das dietas experimentais foram calculados pela fórmula proposta por Maynard & Loosly (1966):

$$CDA (\%) = 100 - \left(100 \frac{\% \text{ indicador dieta}}{\% \text{ indicador fezes}} \times \frac{\% \text{ nutriente fezes}}{\% \text{ nutriente dieta}} \right)$$

A fórmula utilizada para a determinação do Coeficiente de Digestibilidade Aparente da matéria seca foi: CDA (%) = 100 - (% indicador dieta / indicador fezes) x 100, conforme Silva & Anderson (1995).

No primeiro ensaio, os valores dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca e proteína bruta foram comparados pelo delineamento em blocos casualizados, com cinco tratamentos (níveis de inclusão 0,1%; 0,6%; 1,1%; 1,6% e 2,1% de óxido de crômio III) e quatro repetições. O modelo estatístico utilizado foi:

$$y_{ij} = \mu + t_i + b_j + E_{(ij)}$$

sendo: i = níveis de inclusão de 0,1%, 0,6%, 1,1%, 1,6% e 2,1% do indicador Cr₂O₃;

j = períodos 1, 2, 3 e 4;

y_{ij} = coeficiente de digestibilidade aparente do nutriente da parcela que recebeu o tratamento i no período j;

μ = média geral;

t_i = efeito do tratamento i;

b_j = efeito do período j;

E_(ij) = erro aleatório associado a cada observação, que, por hipótese, tem distribuição normal, média zero e variância σ.

No segundo ensaio, os valores dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes foram comparados, sendo os tratamentos dispostos numa estrutura fatorial mista, com quatro repetições em blocos. Os fatores em estudo foram os níveis de inclusão do indicador óxido crômico (0,1%, 0,6%, 1,1%, 1,6% e 2,1%) e do dia de coleta fecal (1^o; 2^o; 3^o; 4^o; 5^o; 6^o e 7^o dia consecutivo a partir do primeiro dia de oferecimento da dieta experimental). O modelo estatístico utilizado foi:

$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \delta_k + E_{(ij)k}$,
 sendo, i = níveis de inclusão de 0,1%, 0,6%, 1,1%, 1,6% e 2,1% do indicador Cr₂O₃;
 j = 1^o; 2^o; 3^o; 4^o; 5^o; 6^o e 7^o dia de coleta de fezes;
 k = períodos 1, 2, 3 e 4;
 y_{ijk} = coeficiente de digestibilidade aparente dos níveis i e j dos fatores % de inclusão do indicador e dia de coleta fecal no período k;
 μ = média geral;
 α_i = efeito do nível i do fator % de inclusão do indicador;
 β_j = efeito do nível j do fator dia de coleta fecal;
 $(\alpha\beta)_{ij}$ = efeito da interação dos fatores % de inclusão do indicador e dia da coleta fecal;
 δ_k = efeito do período k;
 $E_{(ij)k}$ = erro aleatório associado a cada observação que, por hipótese, tem distribuição normal, média zero e variância σ .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 estão presentes os resultados dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca da dieta experimental. Observa-se a existência de diferença significativa ($P < 0,05$) entre os períodos ou repetições experimentais, representado por 4 dias consecutivos de coleta fecal, tendo o período 1 apresentado maior coeficiente em relação aos demais, o que indica que o fator bloqueado tempo influenciou a digestibilidade para

esse nutriente. Entre os tratamentos, o nível de inclusão 0,6% de Cr₂O₃ apresentou maior coeficiente de digestibilidade aparente da dieta ($P < 0,05$). Entretanto, os erros padrões da média foram menores nos tratamentos 0,6%; 1,6% e 2,1% de Cr₂O₃.

Os resultados dos coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta da dieta experimental encontram-se na Tabela 3. Os períodos apresentam-se com diferenças significativas ($P < 0,05$), e o período 1 mostra maior coeficiente de digestibilidade, seguido do período 2. Os períodos 3 e 4 foram os que apresentaram os menores coeficientes de digestibilidade aparente, mostrando de forma análoga ao nutriente matéria seca a influência do tempo sobre a digestibilidade da fração protéica. Com relação aos tratamentos, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os coeficientes de digestibilidade, com o nível de 0,6% de Cr₂O₃ apresentando o maior coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta da dieta em semelhança à matéria seca. Os tratamentos 1,1%; 1,6% e 2,1% de Cr₂O₃ mostraram coeficientes de digestibilidade aparente superior em relação ao nível de 0,1% de Cr₂O₃ ($P < 0,05$). Contudo, os menores erros padrões observados foram para os níveis de inclusão de 0,6%, 1,1%, 1,6% de Cr₂O₃. Muito embora Furukawa & Tsukahara (1966) tenham sugerido os níveis de inclusão do indicador Cr₂O₃ variando de 1,0% a 6,0% na dieta experimental, a maioria de trabalhos com peixes presentes na literatura utiliza os níveis de 0,5% a 1,0% de Cr₂O₃.

TABELA 2 – Efeito dos níveis de inclusão de óxido crômico (%) na dieta experimental sobre o coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca para o matrinhã (*Brycon cephalus*).

Nível de Cr ₂ O ₃ (%)	Período				Média ¹
	1	2	3	4	
0,1	75,50 (1,13) ³	61,84 (1,83)	47,98 (5,26)	44,91 (3,73)	57,59^b (4,05)
0,6	79,44 (0,29)	64,24 (3,37)	74,04 (0,53)	68,71 (2,04)	71,61^a (1,91)
1,1	71,16 (1,98)	67,41 (1,81)	60,53 (2,60)	57,55 (3,19)	64,16^b (3,46)
1,6	67,49 (1,71)	62,15 (4,37)	56,14 (3,14)	61,43 (0,47)	61,80^b (1,34)
2,1	59,87 (1,03)	64,96 (3,27)	58,23 (2,58)	63,16 (3,82)	61,55^b (0,88)
Média²	70,69	64,12	59,38	59,15	63,34
	(1,87)	(1,29)	(2,57)	(2,34)	
	A	B	B	B	

^{1,2} Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna e por maiúsculas na linha diferem pelo teste SNK ($P < 0,05$)

³ Erro padrão da média

Tacon & Rodrigues (1984) e Rodrigues (1985) encontraram em trutas arco-íris (*Salmo gairdneri*) coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca e da fração proteína bruta das dietas significativamente superiores pela utilização do nível de 2,0% de Cr₂O₃ em relação aos níveis de 0,5% e 1,0%, corroborando com os resultados desta pesquisa. Percebe-se também que somente o nível de inclusão de 0,1% de Cr₂O₃ apresentou menor consistência dos coeficientes de digestibilidade por meio dos altos erros padrões obtidos na determinação dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca e proteína bruta.

Porém, em relação à coleta fecal nos períodos diurno e noturno em alevinos de tilápia (*Oreochromis aureus*), Silva et al. (1990) não encontraram diferenças nos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes por meio dos indicadores Cr₂O₃ e fibra bruta com coleta fecal por meio de sifonagem.

A análise de variância dos dados deste ensaio mostra que houve significância entre os níveis de inclusão do indicador, dias de coleta fecal e entre os períodos. A insignificância estatística observada na interação entre nível de inclusão do indicador e dia de coleta de fezes indica não haver relacionamento entre esses fatores. Os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca da dieta experimental em relação ao nível de inclusão do indicador Cr₂O₃ e do dia de coleta fecal estão presentes na Tabela 4, na qual observa-se a existência da

tendência crescente destes a partir do primeiro dia de coleta fecal no período estudado, independente do nível de inclusão do indicador. As maiores médias dos coeficientes de digestibilidade aparente da dieta experimental (P<0,05) apresentam-se após o segundo dia (inclusive) de coleta fecal. Entretanto, a tendência observada quanto aos menores erros padrões acontecem a partir do terceiro dia (inclusive) de coleta fecal, indicando menor variação do acaso, portanto, maior precisão dos coeficientes de digestibilidade aparente. Esses resultados concordam com Noüe et al. (1980), os quais obtiveram valores de coeficientes de digestibilidade mais acurados e definitivos para a truta arco-íris (*Salmo gairdneri*), a partir do terceiro dia de coleta de fezes.

No período estudado, considerando-se a recomendação metodológica de Cho (1987) em relação à coleta fecal mínima de três dias e à tendência observada na regularidade dos menores erros padrões da média, verifica-se a maior consistência desses em relação às médias dos coeficientes de digestibilidade aparente para o nível de inclusão de 1,6% de Cr₂O₃ no período de coleta fecal do 5^o ao 7^o dia (inclusive). Em seguida, a maior consistência é verificada para os níveis de inclusão de 0,6% e 1,1% do indicador, nos respectivos períodos de coleta fecal do 3^o ao 7^o dia (inclusive) e do 4^o ao 6^o dia (inclusive), e finalmente, para o nível de inclusão de 2,1%, o período de coleta fecal no 3^o e 4^o dia de alimentação.

TABELA 3 – Efeito dos níveis de inclusão de óxido crômico (%) na dieta experimental sobre o coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta, para o matrinhã (*Brycon cephalus*)*.

Nível de Cr ₂ O ₃ (%)	Período				Média ¹
	1	2	3	4	
0,1	90,31(0,34) ³	85,84 (0,84)	61,77 (1,82)	75,30 (1,58)	78,30^c(3,66)
0,6	92,07 (0,31)	85,72 (1,07)	89,35 (0,42)	85,75 (0,40)	88,23^a(0,88)
1,1	88,55 (1,38)	82,11 (2,40)	81,91 (2,14)	78,97 (2,29)	82,88^b(1,17)
1,6	85,60 (1,09)	84,06 (1,90)	78,07 (1,77)	80,77 (3,73)	82,13^b(0,97)
2,1	66,50 (6,02)	81,86 (3,54)	81,69 (0,84)	82,52 (0,87)	82,21^b(2,24)
Média²	84,61	83,92	78,56	80,66	82,75
	(3,35)	(0,94)	(2,52)	(1,23)	
	A	B	C	C	

*Na base da matéria seca

^{1,2} Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna e por maiúsculas na linha diferem pelo teste SNK (P<0,05)

³ Erro padrão da média**TABELA 4** – Coeficiente de digestibilidade aparente (%) da matéria seca da dieta experimental considerando o nível de inclusão do indicador e o dia da coleta fecal para o matrinhã (*Brycon cephalus*).

Nível de Cr ₂ O ₃ (%)	Dia de coleta fecal						
	1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o	6 ^o	7 ^o
0,10	45,87 (10,03) ²	63,53 (18,15)	59,89 (5,00)	75,16 (7,66)	65,66 (2,09)	77,37 (9,99)	76,94 (7,70)
0,60	47,10 (6,12)	43,15 (3,25)	38,57 (5,59)	45,32 (6,07)	36,92 (7,95)	46,56 (7,92)	46,70 (10,40)
1,10	21,54 (6,46)	29,75 (10,79)	30,38 (10,77)	31,38 (5,60)	27,41 (5,82)	32,29 (7,76)	37,01 (10,37)
1,60	27,03 (12,81)	32,45 (14,16)	40,67 (11,36)	41,48 (7,35)	47,12 (5,44)	56,45 (4,00)	48,04 (5,20)
2,10	19,35 (11,00)	38,65 (13,42)	53,60 (3,10)	54,41 (3,48)	57,24 (5,95)	63,08 (1,06)	58,37 (6,45)
Média¹	32,18 (5,40)	41,51 (4,94)	44,62 (4,12)	49,55 (3,98)	46,87 (4,26)	55,14 (4,32)	53,41 (4,53)
	C	B	AB	AB	AB	A	AB

¹ Médias seguidas por letras diferentes diferem pelo teste SNK (P<0,05)² Erro padrão da média

Dessa forma, a menor consistência dos coeficientes de digestibilidade aparente foi observada pela inclusão de 0,1% de óxido crômico à dieta experimental. Cabe salientar, entretanto, que essa conclusão somente é válida para a metodologia contida em Silva (1998), com leitura através do espectrofotômetro de absorção atômica, pois, em outros métodos de análise, como o da S – difenilcarbazida, no qual utilizam-se níveis abaixo de 0,1% de Cr₂O₃ com precisão.

Muito embora pesquisadores como Maynard & Loosly (1966), Silva et al. (1968), Kotb & Lukey (1972) e Silva & Leão (1979) tenham apresentado como uma das condições ideais do indicador a passagem uniforme pelo trato digestório, Silva et al. (1968) verificaram a desuniformidade da passagem do óxido crômico pelo trato digestório de caprinos, principalmente nos primeiros dias do oferecimento desse indicador, corroborando com as observações de Bowen (1978) e Leavitt (1985) sobre as diferentes densidades do Cr₂O₃ e da digesta verificada em peixe e lagosta, respectivamente.

CONCLUSÕES

Nas condições em que foi desenvolvida esta pesquisa com a espécie *Brycon cephalus*, pode-se concluir que:

a) os níveis de inclusão de 0,6%, 1,1%, 1,6% e 2,1% do indicador óxido de cromo III são os mais eficientes em estudos de digestibilidade;

b) as coletas de fezes devem ser feitas a partir do terceiro dia de alimentação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUSTRENG, E. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. **Aquaculture**, Amsterdam, v.13, p.265-272, 1978.

BOWEN, S.H. Chromic acid in assimilation studies - a caution. **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v.107, n.5, p.755-756, 1978.

BUDDINGTON, R.K. Hydrolysis-resistant organic matter as a reference for measurement of fish digestive efficiency. **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v.109, p.653-656, 1980.

- CANTELMO, O.A. **Características físicas e avaliação biológica de rações para peixes confeccionadas com diferentes aglutinantes e técnicas de processamento.** 1998. 65 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- CHO, C.-Y. La energía en la nutrición de los peces. In: MONTEROS, J.E. de los; LABARTA, U. (Ed.). **Nutrición en acuicultura II.** Madrid: Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, 1987. p. 197-243.
- CHO, C.-Y.; COWEY, C. B.; WATANABE, T. **Finfish nutrition in Asia: methodological approaches to research and development.** Ottawa: IDRC, 1985. 154 p.
- FAUCONNEAU, B.; CHOUBERT, G.; BLANC, D.; BREQUE, J.; LUQUET, P. Influence of environmental temperature on flow rate of foodstuffs through the gastrointestinal tract of rainbow trout. **Aquaculture**, Amsterdam, v.34, p.27-39, 1983.
- FERRARIS, R.P.; CATAcutAN, M.R.; MABELIN, R.L.; JAZUL, A.P. Digestibility in milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal): effects of protein source, fish size and salinity. **Aquaculture**, Amsterdam, v.59, p.93-105, 1986.
- FURUKAWA, A.; TSUKAHARA, H. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. **Bulletin of the Japanese Society of the Scientific Fisheries**, Hakodate, v.32, n.6, p.503-506, 1966.
- HEPHER, B. **Nutrition of pond fishes.** Cambridge: Cambridge University Press, 1988. 388 p.
- INABA, D.; OGINO, C.; TAKAMATSU, C.; SUGANO, S.; HATA, H. Digestibility of dietary components in fishes. I. Digestibility of dietary proteins and starch in rainbow trout. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, Hakodate, v.28, n.3, p.367-371, 1962.
- KOTB, A.R.; LUCKEY, T.D. Markers in nutrition. **Nutrition Abstracts & Reviews: Series B. Livestock Feed and Feeding**, Aberdeen, v.43, n.3, p.813-845, Mar. 1972.
- LEAVITT, D.F. An evaluation of gravimetric and inert marker techniques to measure digestibility in the american lobster. **Aquaculture**, Amsterdam, v.47, p.131-142, 1985.
- LIED, E.; JULSHAMN, K.; BRAEKKAN, O.R. Determination of protein digestibility in Atlantic cod (*Gadus morhua*) with internal and external indicators. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa, v.39, p.854-861, 1982.
- MAYNARD, L.A.; LOOSLY, J.K. **Nutrição animal.** Rio de Janeiro: MacGraw Hill, 1966. 550 p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of fish.** Washington: National Academy Press, 1983. 102 p.
- NOÛE, J. de la; CHOUBERT, G. Digestibility in rainbow trout: comparison of the direct and indirect methods of measurement. **The Progressive Fish-Culturist**, Bethesda, v.48, p.190-195, 1986.
- NOÛE, J. de la; CHOUBERT, G.; PAGNIEZ, B.; BLANC, J.M.; LUQUET, P. Digestibilité chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) lors de l'adaptation à un nouveau régime alimentaire. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa, v.37, p.2218-2224, 1980.
- RODRIGUES, A.M.P. Uso de óxido crômico, fibras, poli-etileno e "cinzas insolúveis em ácido" como marcadores na avaliação dos coeficientes de digestibilidade aparente em truta arco-íris (*Salmo gairdneri* R.). In: JORNADAS SOBRE NUTRIÇÃO EM AQUACULTURA, 1985, Lisboa. **Publicações anexas...** Lisboa: Instituto Nacional de Investigações das Pescas, 1985. p.63-72.
- SHAHAT, T.M. Digestibility determination in Nile catfish fingerlings using internal and external markers. **Veterinary Medical Journal Giza**, Cairo, v.41, n.3, p.83-91, 1993.
- SHIAU, S.-Y.; CHEN, M.-J. Carbohydrate utilization by tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) as influenced by different chromium sources. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.123, n.10, p.1747-1753, Oct. 1993.
- SHIAU, S.-Y.; LIANG, H.-S. Carbohydrate utilization and digestibility by tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. are affected by chromic oxide inclusion in the diet. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.125, n.4, p.976-982, Apr. 1995.
- SILVA, D.J. **Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos.** Viçosa: UFV - Imprensa Universitária, 1998. 116 p.
- SILVA, J.F.C. da; CAMPOS, J.; CONRAD, J.H. Uso do óxido crômico na determinação da digestibilidade. **Experimentiae**, Viçosa, v.8, n.1, p.1-23, 1968.

SILVA, J.F.C. da; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição de ruminantes**. Piracicaba: Livroceres, 1979. 384 p.

SILVA, S.S. de. Fish nutrition research in Asia. In: ASIAN FISH NUTRITION NETWORK MEETING, 3., 1989. **Proceedings...** Manila: Asian Fisheries Society, 1989. 166 p. (Asian Fisheries Society Special Publication, 4).

SILVA, S.S. de; ANDERSON, T.A. **Fish nutrition in aquaculture**. London: Chapman & Hall, 1995. 319 p.

SILVA, S.S. de; PERERA, M.K. Digestibility in *Sarotherodon niloticus* fry: effect of dietary protein level and salinity with further observations on variability in daily digestibility. **Aquaculture**, Amsterdam, v.38, p.293-306, 1984.

SILVA, S.S. de; SHIM, K.F.; ONG, A.K. An evaluation of the method used in digestibility estimations of a dietary ingredient and comparisons on external and internal markers, and time of faeces collection in digestibility studies in the fish *Oreochromis aureus* (Steindachner). **Reproduction, Nutrition, Development**, Paris, v.30, p.215-226, 1990.

SMITH, B.W.; LOVELL, R.T. Determination of apparent protein digestibility in feeds for channel catfish. **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v.102, n.4, p.831-835, 1973.

SMITH, R.R. Nutritional energetics. In: HALVER, J.E. (Ed.). **Fish nutrition**. Washington: Academic Press, 1988. p.1-29.

TACON, A.G.J.; RODRIGUES, A.M.P. Comparison of chromic oxide, crude fibre, polyethylene and acid-insoluble ash as dietary markers for the estimation of apparent digestibility coefficients in rainbow trout. **Aquaculture**, Amsterdam, v.43, p.391-399, 1984.

TYTLER, P.; CALOW, P. **Fish energetics new perspectives**. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1985. 349 p.

VENS-CAPPELL, B. The effects of extrusion and pelleting of feed for trout on the digestibility of protein, amino acids and energy and on feed conversion. **Aquacultural Engineering**, Oxford, v.3, p.71-89, 1984.