

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**INDICADORES INTERNOS COMO ALTERNATIVA AO ÓXIDO
DE CRÔMIO-III NA DETERMINAÇÃO DOS COEFICIENTES DE
DIGESTIBILIDADE APARENTE PELA TILÁPIA DO NILO**

RAFAEL LOPES DA SILVA

Tese apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Zootecnia como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Doutor.

BOTUCATU – SP
Novembro – 2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**INDICADORES INTERNOS COMO ALTERNATIVA AO ÓXIDO
DE CRÔMIO-III NA DETERMINAÇÃO DOS COEFICIENTES DE
DIGESTIBILIDADE APARENTE PELA TILÁPIA DO NILO**

RAFAEL LOPES DA SILVA
Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato

Tese apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Zootecnia como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Doutor.

BOTUCATU – SP
Novembro – 2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA
- LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Silva, Rafael Lopes da, 1983-
S586i Indicadores internos como alternativa ao óxido de
 crômio-III na determinação dos coeficientes de digestibili-
 dade aparente pela Tilápia do Nilo / Rafael Lopes da Silva.
- Botucatu : [s.n.], 2015
 xi , 71 f. : il., grafs., tabs.

 Tese (Doutorado)- Universidade Estadual Paulista, Facul-
 dade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2015
 Orientador: Luiz Edivaldo Pezzato
 Inclui bibliografia

 1. Tilápia (Peixe)- Alimentação e rações. 2. Peixe -
 Criação. 3. Nutrição animal. I. Pezzato, Luiz Edivaldo. II.
 Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
 (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e
 Zootecnia. III. Título.

DEDICATÓRIA

À Deus;

Aos meus pais José Dário da Silva Irmão e Rosângela de Fátima Lopes da Silva pelo exemplo de caráter, conduta, humildade e dedicação;

À minha irmã Aline Lopes da Silva Coelho e meu cunhado Loelmo Coelho por constante apoio e amizade;

À minha namorada Débora Nunes Scudeler e família pelo apoio, amizade e bons momentos compartilhados;

Ao meu muito amado sobrinho Lucas Lopes Coelho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato pela orientação, ensinamentos, amizade e paciência;

À Profa. Dra. Margarida Maria Barros pela oportunidade dada, ensinamentos e amizade;

À Profa. Dra. Edma Carvalho de Miranda pelos ensinamentos, amizade e incentivo profissional;

À Profa. Dra. Maria Márcia Pereira Sartori pelo auxílio na realização das análises estatísticas;

Aos Profs. Dr. Fábio Bittencourt, Dr. Hamilton Hisano, Dr. Paulo Roberto de Lima Meirelles, Dr. Pedro de Magalhães Padilha e Dr. Wilson Rogério Boscolo pela valiosa contribuição para enriquecimento desta tese;

À Gisele Setznagl do Laboratório de Bromatologia da FMVZ–UNESP/Botucatu pela amizade e auxílio nas análises bromatológicas;

Aos amigos e colegas do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos – AquaNutri: Ademir Calvo Fernandes Junior, Caroline Pelegrina Teixeira, Eric Portilho de Araújo, Érica Fernanda Paris Martins, Felipe Tenório Cintra, Flavia Mota Damasceno, Graciela Pessoa Martins, Guilherme Eduardo Sassi, Hinglidj de Carvalho Müller, Igor Simões Tiagua Vicente, Jakeline Marcela Azambuja de Freitas, João Fernando Albers Koch, Juliana Mara Costa, Lara Wichr Genovez, Leonardo Seiji Sato, Mariucha Karina Honório Ribeiro Rocha, Paula Kern Novelli, Paula Monteiro de Lima, Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho, Rafael Fogaça, Renan de Mattos Botelho, Rosangela do Nascimento Fernandes e Vivian Gomes dos Santos;

Aos amigos das repúblicas Pinga Pura, Ressaca, Biozona e Vila Velha pela amizade e grandes momentos compartilhados;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudo e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, processo 2014/16484–0, pelo apoio financeiro.

“Riobaldo, a colheita é comum, mas o capinar é sozinho...”

João Guimarães Rosa

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Composição das dietas experimentais.....	34
Tabela 2. Valor total (VT), coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) calculados pelo emprego do óxido de crômio–III como indicador de digestibilidade e valores digestíveis (VD) da matéria seca, energia, nutrientes e aminoácidos essenciais e não essenciais, das dietas experimentais.....	35
Tabela 3. Conteúdo de indicadores nas dietas e fezes.	36
Tabela 4. Coeficientes de digestibilidade aparente (%) da matéria seca, energia e nutrientes da dieta teste contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal obtidos pelo emprego do indicador padrão óxido de crômio–III (Cr_2O_3) e indicadores internos fibra bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose e lignina.	37
Tabela 5. Coeficientes de digestibilidade aparente (%) da matéria seca, energia e nutrientes da dieta teste contendo ingredientes de origem animal e vegetal obtidos pelo emprego do indicador padrão óxido de crômio–III (Cr_2O_3) e indicadores internos fibra bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose e lignina.....	38

CAPÍTULO III

Table 1 Composition of the basal diet.....	58
Table 2 Proximate composition and amino acid content (% dry matter) of basal and test diets	59
Table 3 Indicator contents in diets and feces (dry matter basis)	60
Table 4 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr_2O_3), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose and cellulose as indicator in Nile tilapia fed basal diet.....	61
Table 5 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr_2O_3), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose and cellulose as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% fish meal	62

Table 6 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr_2O_3), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose and cellulose as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% meat and bone meal	63
Table 7 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr_2O_3), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose, cellulose and lignin as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% cottonseed meal	64
Table 8 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr_2O_3), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose, cellulose and lignin as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% peanut meal	65
Table 9 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr_2O_3), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose and cellulose as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% soybean meal	66
Table 10 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr_2O_3), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose and cellulose as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% corn	67
Table 11 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr_2O_3), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose, cellulose and lignin as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% rice bran	68
Table 12 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr_2O_3), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose, cellulose and lignin as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% wheat bran	69

LISTA DE ABREVIATURAS

AAE – Aminoácidos essenciais
AANE – Aminoácidos não essenciais
CDA – Coeficiente de digestibilidade aparente
CDV – Coeficiente de digestibilidade verdadeiro
CHR – Cinza resistente à hidrólise
CIA – Cinza insolúvel em ácido
CIDA – Cinza insolúvel em detergente ácido
 Cr_2O_3 – Óxido de cromo–III
EB – Energia bruta
EE – Extrato etéreo
ENN – Extrativo não nitrogenado
FB – Fibra bruta
FDN – Fibra em detergente neutro
FDA – Fibra em detergente ácido
MM – Matéria mineral
MO – Matéria orgânica
MORH – Matéria orgânica resistente a hidrólise
MS – Matéria seca
P – Fósforo
PB – Proteína bruta
 SiO_2 – Dióxido de silício

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
1.1 Ensaios de digestibilidade	2
1.2 Indicadores utilizados em ensaios de digestibilidade	3
1.3 Utilização do óxido de cromo–III em ensaios com peixes	4
1.4 Indicadores internos na determinação dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, energia e nutrientes de dietas pelos peixes	7
1.5 Indicadores internos na determinação dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, energia e nutrientes de ingredientes pelos peixes	9
2. REFERÊNCIAS	12

CAPÍTULO II

Indicadores internos na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes de dietas práticas balanceadas para tilápia do Nilo	19
Resumo	19
Abstract	20
Introdução	21
Material e Métodos.....	22
Resultados e Discussão	25
Conclusões	29
Referências	29

CAPÍTULO III

Indicadores internos como alternativa ao óxido de cromo–III na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente para tilápia do Nilo	40
Resumo	40
Abstract	41
1. Introdução	42
2. Material e Métodos.....	43
2.1. Local	43
2.2. Peixes	43
2.3. Dietas experimentais.....	44

2.4. Estrutura experimental	44
2.5. Procedimento experimental	45
2.6. Cálculo dos coeficientes de digestibilidade aparente	45
2.7. Análises químicas	46
2.8. Análise estatística	47
3. Resultados	47
3.1. Teor de indicadores presentes nas dietas e fezes	47
3.2. Coeficiente de digestibilidade aparente da MS, EB e nutrientes da dieta controle	47
3.3. Coeficiente de digestibilidade aparente da MS, EB e nutrientes das dietas contendo ingredientes de origem animal	48
3.4 Coeficiente de digestibilidade aparente da MS, EB e nutrientes das dietas contendo ingredientes proteicos de origem vegetal.....	48
3.5. Coeficiente de digestibilidade aparente da MS, EB e nutrientes das dietas contendo ingredientes energéticos	48
4. Discussão	49
5. Referências	52
CAPÍTULO IV	
IMPLICAÇÕES	71

CAPÍTULO I

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Ensaios de digestibilidade

Em peixes, os coeficientes de digestibilidade *in vivo* de um ingrediente e/ou uma dieta podem ser calculados pelo método direto, obtido pela diferença entre a quantidade de nutriente/energia presente no alimento e a quantidade presente nas fezes (LOVELL, 1998), ou pelo método indireto, obtido pela coleta parcial de fezes marcadas com indicador não digestível. Por este método, o coeficiente de digestibilidade, definido aparente, uma vez que não considera a contribuição do material de origem endógena e metabólica (NRC, 2011), é estimado pela diferença da concentração do indicador e do nutriente/energia presentes no alimento e nas fezes. Este método apresenta como vantagem, frente ao método direto, utilizar um grande número de peixes por repetição, o que reduz o efeito do indivíduo sobre o resultado (AUSTRENG, 1978).

Embora a técnica da coleta parcial com a utilização de um indicador não digestível se apresente como o melhor método para avaliação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) pelos peixes (AUSTRENG, 1978), a determinação destes é ainda dependente da metodologia de coleta empregada, dos fatores biológicos e ambientais (espécie utilizada, tamanho e peso, temperatura da água), dos erros experimentais (condições experimentais subótimas, erros analíticos, lixiviação dos nutrientes, erros de cálculo, entre outros) e diferenças no processamento e composição química dos ingredientes (perdas por superaquecimento, fatores anti-nutricionais, entre outros) (CHO; BUREAU, 2001).

De acordo com Belal (2005), a metodologia empregada na coleta de fezes é a principal fonte de sub ou super estimativa dos coeficientes de digestibilidade aparente. Desta maneira, diversas metodologias de coleta de fezes foram desenvolvidas e tem sido utilizadas, como: câmara metabólica (SMITH; PETERSON; ALLRED, 1980); compressão abdominal (ABIMORAD; CARNEIRO, 2004; ALLAN et al., 1999; HAJEN et al., 1993; STOREBAKKEN et al., 1998); dissecação (AUSTRENG, 1978; FERRARIS et al., 1986); filtragem contínua (CHOUBERT; DE LA NOÛE; LUQUET, 1979, 1982); pipetagem (WATANABE; OHTA, 1995), sistema Guelph (CHO; SLINGER, 1979), sistema Guelph modificado (PEZZATO et al., 2002) e sucção anal

(BROWN; STRANGE; ROBBINS, 1985; HAJEN et al., 1993; PERCIVAL; LEE; CARTER, 2001; WINDELL; FOLTZ; SAROKON, 1978). Entretanto, todas possuem particularidades que podem interferir no resultado final de CDA. De acordo com Bureau, Kaushik e Cho (2002), as metodologias que envolvem a coleta forçada do material fecal (pressão abdominal, sucção anal e dissecação) podem resultar em contaminação das amostras com fluídos fisiológicos e por células do epitélio intestinal, o que acarretaria em subestimação dos CDA. Com relação a coleta de fezes por sedimentação, pode ocorrer superestimação (lixiviação de nutrientes) (SPYRIDAKIS et al., 1989) ou subestimação dos dados de CDA (lixiviação do indicador) (ABIMORAD; CARNEIRO, 2004). Segundo De Silva e Anderson (1995), todas as metodologias empregadas para determinação dos CDA em peixes estão sujeitas a erro, sendo recomendado, independentemente do método de coleta escolhido, rigor em sua execução (ABIMORAD; CARNEIRO, 2004).

1.2 Indicadores utilizados em ensaios de digestibilidade

Os indicadores empregados em estudos para determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) em animais são classificados em internos (ocorrência natural nos alimentos) e externos (adicionados à dieta) (OWENS; HANSON, 1992).

Para que uma substância possa vir a ser utilizada como indicador de digestibilidade, ela deve atender aos seguintes pré-requisitos: 1) não interferir no metabolismo digestível ou na microflora intestinal; 2) não ser absorvível ou metabolizada; 3) passar uniformemente através do aparelho digestório (MAYNARD; LOOSLI, 1969); 4) ter fácil e rápida determinação pelos métodos analíticos (OWENS; HANSON, 1992); e 5) não ser tóxica (DE SILVA; ANDERSON, 1995).

Dentre os indicadores externos, o óxido de cromo-III (Cr_2O_3) se destaca como o mais utilizado quando da avaliação da digestibilidade, total ou parcial, de um ingrediente e/ou uma dieta pelos peixes. Entretanto, não existe padrão na literatura que estipule a quantidade ideal a ser utilizada e, desta maneira, estudos preconizam diferentes níveis do indicador: 0,01% (m/m) (BREMER NETO et al., 2003); 0,1% (m/m) (BORGUESI; DAIRIKI; CYRINO, 2009; GUIMARÃES; PEZZATO; BARROS, 2008); 0,5% (m/m) (ABIMORAD; CARNEIRO, 2004; GONÇALVES;

CARNEIRO, 2003; VIDAL et al., 2015; XAVIER et al., 2014); 0,7% (m/m) (ANDERSON et al., 1992); 0,8% (m/m) (VENS-CAPPELL, 1984); 1,0% (m/m) (ABIMORAD; SQUASSONI; CARNEIRO, 2008; AUSTRENG, 1978); 1,3% (m/m) (FERRARIS et al., 1986); 1,5% (m/m) (DE LA NOÛE; CHOUBERT, 1986); 2,0% (m/m) (SHIAU; LIANG, 1995; TACON; RODRIGUES, 1984); 3,0% (m/m) (DE SILVA; PERERA; MAITPE, 1984) e 6,0% (m/m) (BOWEN, 1978).

Dentre os indicadores internos, algumas substâncias têm sido empregadas, como a fibra bruta (DE SILVA; DENG; RAJENDRAM, 1997; DE SILVA; PERERA, 1983; DE SILVA; SHIM; KHIM ONG, 1990; MORALES et al., 1999; TACON; RODRIGUES, 1984; VIDAL JR. et al., 2004), fibra em detergente neutro (FURUYA et al., 2004), fibra em detergente ácido (VIDAL JR. et al., 2004), celulose (BUDDINGTON, 1979), matéria orgânica resistente à hidrólise (BOWEN, 1981; BUDDINGTON, 1980; DE SILVA; PERERA, 1983; DE SILVA; PERERA; MAITPE, 1984), cinza insolúvel em ácido (ATKINSON; HILTON; SLINGER, 1984; GODDARD; MCLEAN, 2001; KABIR; WEE; MAGUIRE, 1998; VIDAL JR. et al., 2004), cinza insolúvel em detergente ácido (VIDAL JR. et al., 2004), dióxido de silício (SiO_2) (ARGENTIM, 2012) e os minerais cálcio, ferro e zinco (LIED; JULSHAMN; BRAEKKAN, 1982).

1.3 Utilização do óxido de crômio–III em ensaios com peixes

Para condução de ensaio de digestibilidade, de uma dieta e/ou um ingrediente específico, assume-se que o Cr_2O_3 adicionado é inerte, ou seja, não é absorvível e tampouco interfere no metabolismo da espécie em estudo. Entretanto, esta afirmação contradiz alguns resultados disponíveis na literatura.

Bowen (1978), com tilápia *Sarotherodon mossambicus*, Dabrowski e Dabrowska (1981) com truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* e Ramsay et al. (2000), com “winter flounder” *Pleuronectes americanus*, questionaram a utilização do Cr_2O_3 em ensaios de digestibilidade, em função de seu trânsito mais lento pelo trato digestivo. No sentido de corrigir este provável fator de erro, De la Noüe et al. (1980) verificaram, em ensaio conduzido com truta arco-íris, as condições necessárias para correta aplicação do Cr_2O_3 como indicador. Os autores concluíram que a coleta das fezes, quando realizada a partir

do terceiro dia de alimentação, proporciona valores definitivos de CDA. Observação semelhante foi relatada para “atlantic cod” *Gadus morhua* (LIED; JULSHAMN; BRAEKKAN, 1982) e para matrinxã *Brycon cephalus* (SALLUM et al., 2002).

Com o intuito de verificar possível influência do período de coleta de fezes sobre o CDA obtido, em função da diferença existente entre o volume de fezes excretado, De Silva, Shim e Khim Ong (1990), em ensaio conduzido com tilápia áurea *Oreochromis aureus*, verificaram a inexistência de diferenças estatísticas nas estimativas dos CDA da matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) com base no material coletado entre os períodos diurno e noturno.

Quanto à possibilidade de existir influência do nível de Cr_2O_3 incorporado à dieta sobre o CDA obtido, Shiau e Liang (1995), com tilápia híbrida *O. niloticus* $\times$ *O. aureus*, avaliaram o efeito da suplementação de Cr_2O_3 (0,5 e 2,0%) (m/m) em dietas contendo glicose ou amido de milho como fonte de carboidratos. Os autores observaram alteração, responsivas aos níveis de Cr_2O_3 empregados, dos valores de CDA da MS, PB, extrato etéreo (EE) e carboidratos. Resultados semelhantes foram descritos para truta arco-íris (TACON; RODRIGUES, 1984), tilápia do Nilo *O. niloticus* (SADIKU; JAUNCEY, 1995), “goldfish” *Carassius auratus* (DE SILVA; DENG; RAJENDRAM, 1997) e “gilthead sea bream” *Sparus aurata*, quando da avaliação do CDA da matéria mineral (MM), cálcio e fósforo (FERNANDEZ et al., 1999).

Neste sentido, Bremer Neto et al. (2003), em ensaio de digestibilidade conduzido com piauçu *Leporinus macrocephalus*, avaliaram a inclusão de níveis de Cr_2O_3 (0,01; 0,02; 0,03; 0,05; 0,1 e 0,2%) (m/m) na dieta, com o objetivo de verificar se o CDA obtido seria afetado pela variação do teor do indicador. Não foi observada diferença para o CDA da PB para nenhum dos níveis avaliados. Resultado semelhante foi relatado para tilápia híbrida, quando da inclusão de Cr_2O_3 em níveis de 0,0002 a 0,5% (m/m) da dieta (SHIAU; SHY, 1998).

Entretanto, Lied, Julshamn e Braekkan (1982) verificaram que o Cr_2O_3 nem sempre é totalmente recuperado, necessitando ser incluído em altas concentrações (0,5 a 1,0%) (m/m) para conduzir a resultados de CDA homogêneos. Todavia, altos níveis de Cr_2O_3 na dieta podem prejudicar o metabolismo dos nutrientes pelos peixes. De fato, Ringø (1993), em ensaio conduzido com “Artic charr” *Salvelinus alpinus*, verificou que

os peixes alimentados com dieta suplementada com 1,0% (m/m) de Cr_2O_3 apresentaram aumento da concentração de gordura nas fezes e alteração da flora bacteriana intestinal.

Shiau e Chen (1993) avaliaram os efeitos da inclusão de cloreto de cromo (III) hexa-hidratado ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), cromato de sódio tetra-hidratado ($\text{Na}_2\text{CrO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ou óxido de cromo-III (Cr_2O_3) sobre a utilização dos carboidratos pela tilápia híbrida *O. niloticus* $\times$ *O. aureus*. Duas dietas controle, isentas de cromo e contendo glicose ou amido de milho como fonte de carboidrato foram utilizadas. Os autores não observaram diferença, responsivas ao tipo de cromo incluído, quando da utilização de amido de milho como fonte de carboidrato. Entretanto, os peixes alimentados com a dieta suplementada com 2,0% (m/m) de Cr_2O_3 apresentaram alteração da atividade da enzima glicose-6-fosfatase. Os peixes alimentados com dieta contendo glicose como fonte de carboidrato suplementada com 2,0% (m/m) de Cr_2O_3 apresentaram maior ganho em peso, alteração da composição centesimal da carcaça (MS e EE) e atividade das enzimas fosfofrutoquinase e glicose-6-fosfatase (enzimas envolvidas no metabolismo de carboidratos).

Posteriormente, Shiau e Shy (1998) avaliaram a influência da suplementação de Cr_2O_3 (0; 0,0002; 0,001; 0,005; 0,01; 0,03; 0,1; 0,5%) (m/m) na dieta da tilápia híbrida *O. niloticus* $\times$ *O. aureus* contendo glicose como fonte de carboidrato. Os autores verificaram que os peixes alimentados com as dietas contendo 0,01 e 0,03% (m/m) de Cr_2O_3 apresentaram maior ganho em peso e melhores taxas de conversão alimentar e de eficiência proteica. Relataram ainda que os peixes submetidos aos maiores níveis de inclusão de Cr_2O_3 (0,01; 0,03; 0,1 e 0,5%) (m/m) apresentaram maior deposição de cinzas na carcaça.

Ng e Wilson (1997) avaliaram a inclusão de níveis de Cr_2O_3 (0; 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; 0,1; 0,5 e 1,0%) (m/m) em dietas purificadas para bagre do canal *Ictalurus punctatus*, contendo glicose como fonte de carboidrato. Uma dieta purificada, sem a suplementação de Cr_2O_3 e com dextrina como fonte de carboidrato foi utilizada como controle. Não foram observadas diferenças nos índices de desempenho produtivo (ganho em peso, conversão alimentar, taxa de retenção proteica), composição centesimal da carcaça (MS, PB, EE e MM) e concentração de cromo na carcaça. Desta maneira, os autores concluíram que o Cr_2O_3 pode ser utilizado como substância indicativa de digestibilidade para esta espécie.

Constatação semelhante foi relatada por Baldan (2004) que, em ensaio conduzido com o intuito de avaliar os efeitos da suplementação de Cr_2O_3 (0, 0,001, 0,005, 0,01, 0,03 e 0,1%) (m/m) na dieta sobre o metabolismo energético (glicose plasmática, proteína total, triglicerídeos e colesterol séricos) e desempenho produtivo (ganho em peso, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica) do pacu *Piaractus mesopotamicus*, alimentado com dietas contendo milho como a principal fonte de amido, não verificou diferença para nenhum dos parâmetros analisados, sugerindo assim que o Cr_2O_3 não interfere na utilização do carboidrato pela espécie. Resultado semelhante, quando da avaliação dos parâmetros sanguíneos (glicose, colesterol total, triglicerídeos, proteína total, albumina, globulina e relação albumina/globulina), foi relatado por Magzoub et al. (2009) quando da inclusão de 0,0001 ou 0,0002% (m/m) de Cr_2O_3 em dietas para a tilápia híbrida *O. niloticus* × *O. aureus*.

De acordo com Pan et al. (2003), a divergência nos resultados dos estudos supracitados pode ser atribuída aos sistemas de cultivo utilizados. Os estudos que mostraram efeito significativo da suplementação de Cr_2O_3 sobre a utilização dos carboidratos (SHIAU; CHEN, 1993; SHIAU; SHY, 1998) foram realizados em sistema fechado de recirculação de água, o que poderia resultar em bioacumulação do crômio na água nos peixes. Entretanto, Sakita et al. (2015) demonstraram, em ensaio conduzido com tilápia do Nilo, não haver absorção do radiomarcador $^{51}\text{Cr}_2\text{O}_3$ pelo trato gastrointestinal, pelas brânquias e/ou outra possível via de absorção advinda das condições ambientais as quais os peixes foram submetidos. Desta maneira, comprovaram que este indicador é adequadamente inerte e seguro para utilização em ensaios de nutrição e digestibilidade.

1.4 Indicadores internos na determinação dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, energia e nutrientes de dietas pelos peixes

Buddington (1980) avaliou a utilização da matéria orgânica resistente à hidrólise (MORH; composta basicamente por celulose e quitina) e MM como indicadores de digestibilidade alternativos ao Cr_2O_3 em dietas para a truta arco-íris e três espécies de tilápia (*O. aureus*, *O. mossambicus* e *O. niloticus*). O autor observou que a MORH proporcionou valores de CDA semelhantes aos obtidos com o uso de Cr_2O_3 . Entretanto,

relatou que pequenas frações da MORH foram absorvidas pela truta arco-íris e pela tilápia mossambica.

Tacon e Rodrigues (1984) avaliaram os indicadores externos Cr_2O_3 , cinza insolúvel em ácido (CIA) e polietileno, incluídos em três níveis (0,5, 1,0 e 2,0%) (m/m), e o indicador interno fibra bruta (FB) na tentativa de estimar os valores de CDA da MS, PB, MM e matéria orgânica (MO) de uma dieta fornecida durante 14 dias para a truta arco-íris. Não foi observada diferença quando do emprego do Cr_2O_3 e FB como indicadores de CDA. Entretanto, a utilização de CIA e polietileno subestimaram e propiciaram resultados inconsistentes. Resultados semelhantes, quando da utilização de CIA como indicador, inerente e adicionada (1,0%) (m/m) à dieta, foram relatados para “red drum” *Sciaenops ocellatus* (LI; WEBB; GATLIN III, 2008). Resultado contrário é descrito por Kabir, Wee e Maguire (1998) que, em ensaio conduzido com truta arco-íris, verificaram valores de CDA das frações PB e MS, obtidas pela utilização da CIA inerente à dieta, superiores aos proporcionados pelo uso do Cr_2O_3 (1,0%) (m/m).

Em ensaio de digestibilidade desenvolvido com truta arco-íris, Morales et al. (1999) verificaram a utilização dos indicadores FB (inerente à dieta) e CIA (0,5%) (m/m) como alternativa ao Cr_2O_3 (0,5%) (m/m) na determinação dos CDA da MS, PB, extrativo não nitrogenado (ENN) e energia de uma dieta referência (DR) e cinco dietas teste obtidas pela mistura da DR e dos alimentos proteicos glúten de milho (GM), farinha de tremço (FT) e os farelos de algodão (FA), soja (FS) e girassol (FG). Os autores observaram que a FB presente na DR e nas dietas teste contendo GM, FT ou FA proporcionaram valores de CDA semelhantes aos obtidos com o uso de Cr_2O_3 . Entretanto, os valores de CDA obtidos com a utilização de FB das dietas contendo FS ou FG revelaram-se inferiores, indicando que os resultados de CDA obtidos foi condicionado ao tipo de FB da dieta. Quanto à utilização de CIA como indicador, foi observada diferença para todas as variáveis (MS, PB, ENN e energia) analisadas.

Goddard e McLean (2001), em ensaio de digestibilidade desenvolvido com tilápia áurea, verificaram a utilização da CIA (inerente à dieta) e adicionada (0,5 e 1,0%) (m/m) como alternativa ao Cr_2O_3 (0,5%) (m/m). Os autores observaram que o CDA das frações MS, nitrogênio e energia obtidos com a utilização da CIA foram semelhantes aos obtidos com a utilização do Cr_2O_3 . Ressaltaram ainda que a adição de 0,5 e 1,0% (m/m) de CIA à dieta gerou resultados de CDA mais consistentes

(coeficiente de variação = 5,6; 2,1 e 1,3, respectivamente). Resultados semelhantes foram descritos para truta arco-íris (ATKINSON; HILTON; SLINGER, 1984). Entretanto, resultados contrários foram observados por Li, Webb e Gatlin (2008), que relataram valores de CDA da PB e MO inferiores aos obtidos com a utilização de Cr_2O_3 (0,5%) (m/m), quando do aumento da inclusão de CIA de 1,0 para 1,5% (m/m) em dieta para “hybrid striped bass” *Morone chrysops* $\times$ *M. saxatilis*.

Argentim (2012) verificou a utilização do dióxido de silício (SiO_2) inerente à dieta como alternativa ao Cr_2O_3 (0,1%) (m/m) na determinação dos CDA da MS e PB pelo jundiá *Rhamdia quelen* alimentado com duas dietas contendo níveis de PB (28 e 32%) e fornecidas sob diferentes regimes alimentares (três ou 24 vezes ao dia). Apesar do autor relatar diferença entre os CDA obtidos pelo uso do SiO_2 entre os diferentes regimes alimentares, não houve diferença entre estes valores determinados e os CDA obtidos pelo emprego do Cr_2O_3 . Apesar de promissor, mais ensaios comparativos utilizando o SiO_2 como indicador de digestibilidade devem ser conduzidos.

1.5 Indicadores internos na determinação dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca, energia e nutrientes de ingredientes pelos peixes

De Silva e Perera (1983) avaliaram a utilização da MORH, FB e cinza resistente à hidrólise (CRH) como indicadores internos na tentativa de estimar o CDA total, da PB e EE da macrófita *Hydrilla verticellata* pelo ciclídeo africano *Etroplus suratensis*. Não foi observada diferença para as frações MORH e FB, entretanto, a fração CRH, quando utilizada como indicador, propiciou resultados de CDA subestimados e inconsistentes. De modo semelhante, Buddington (1979), por meio da fração celulose, estimou o CDA total e da EB, PB, MO e EE da macrófita *Najas guadalupensis* pela *Tilápia zillii*, enquanto Furuya et al. (2004) avaliaram os CDA da EB e PB da silagem de sorgo, variedades baixo e alto tanino, pela tilápia do Nilo, utilizando a fração fibra em detergente neutro (FDN) como indicador interno de digestibilidade.

Vidal Jr. et al. (2004) compararam os coeficientes de digestibilidade verdadeiro (CDV) da MS e PB do fubá de milho (FM) e farelo de soja (FS) pelo tambaqui *Colossoma macropomum*, obtidos por meio da coleta total de fezes, pela utilização dos indicadores externos Cr_2O_3 (1,0%) (m/m) e carbonato de bário (0,5%) (m/m) e pelos

indicadores internos FB, fibra em detergente ácido (FDA), CIA e cinza insolúvel em detergente ácido (CIDA). Os autores verificaram que a FB e a FDA subestimaram os CDV da MS e PB dos dois alimentos avaliados, devido a baixa recuperação destes indicadores nas fezes (81,24 e 82,24% para FB e 85,47 e 84,52% para FDA, respectivamente). Observaram ainda que as frações CIA e CIDA inerentes ao FM propiciaram valores de CDV da MS e PB inferiores aos obtidos pelo uso do Cr_2O_3 , resultado este atribuído à baixa concentração destas substâncias no alimento (0,91 e 0,94%, respectivamente), o que refletiu em menor taxa de recuperação destes indicadores (88,21 e 87,64%). Em contrapartida, não foi observada diferença nos CDA da MS e PB do FS calculados por estes indicadores e o Cr_2O_3 . Desta maneira, os autores concluíram que a CIA e a CIDA somente devem ser empregadas como indicadores de digestibilidade quando presentes em teores superiores a 3,8 e 3,1%, respectivamente. De modo semelhante, Bureau; Harris e Cho (1999), com a truta arco-íris, verificaram que a CIA somente deverá ser adotada como indicador quando em quantidade superior a 2,5% da dieta.

Com base no exposto, este estudo propôs avaliar os indicadores internos como alternativa ao indicador externo padrão óxido de crômio–III na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, energia bruta e nutrientes pela tilápia do Nilo.

O capítulo II, intitulado **“Indicadores internos na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes de dietas práticas balanceadas para tilápia do Nilo”**, teve por objetivo validar, mediante comparação dos dados obtidos frente ao indicador externo padrão Cr_2O_3 , um ou mais indicadores internos que possam ser empregados na avaliação dos coeficientes de digestibilidade aparente, total ou parcial de dietas experimentais e/ou comerciais, não marcadas com indicador externo. A redação deste capítulo foi realizada conforme normas de publicação da **Pesquisa Agropecuária Brasileira**.

O capítulo III, intitulado **“Indicadores internos como alternativa ao óxido de crômio–III na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente pela tilápia do Nilo”**, teve por objetivo verificar, face a incorporação dos diferentes ingredientes proteicos de origem animal (farinhas de carne e ossos e de peixe), proteicos de origem vegetal (farelos de algodão, amendoim e soja) e energéticos (milho e farelos

de arroz e de trigo) à uma dieta controle, a influência dos referidos ingredientes na determinação dos indicadores internos pelo método gravimétrico e sua consequente influência na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente pela tilápia do Nilo. A redação deste capítulo foi realizada de acordo com as normas de publicação da **Aquaculture**.

2. REFERÊNCIAS

- ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J. Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração protéica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 5, p. 1101–1109, 2004.
- ABIMORAD, E. G.; SQUASSONI, G. H.; CARNEIRO, D. J. Apparent digestibility of protein, energy, and amino acids in some selected feed ingredients for pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture Nutrition**, v. 14, n. 4, p. 374–380, 2008.
- ALLAN, G. L. et al. Nutrient digestibility for juvenile silver perch *Bidyanus bidyanus*: development of methods. **Aquaculture**, v. 170, n. 2, p. 131–145, 1999.
- ANDERSON, J. S. et al. Apparent and true availability of amino acids from common feed ingredients for atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in sea water. **Aquaculture**, v. 108, n. 1–2, p. 111–124, 1992.
- ARGENTIM, D. **Frequência alimentar e níveis de energia e proteína no desempenho de *Rhamdia quelen* e na digestibilidade determinada com marcador interno e externo**. 2012. 45 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.
- ATKINSON, J. L.; HILTON, J. W.; SLINGER, S. J. Evaluation of acid-insoluble ash as an indicator of feed digestibility in rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 41, n. 9, p. 1384–1386, 1984.
- AUSTRENG, E. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. **Aquaculture**, v. 13, n. 3, p. 265–272, 1978.
- BALDAN, A. P. **Suplementação de cromo na dieta, utilização de carboidrato e desempenho produtivo do pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. 2004. 47 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.
- BELAL, I. E. H. A review of some fish nutrition methodologies. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 4, p. 395–402, 2005.
- BORGUESI, R.; DAIRIKI, J. K.; CYRINO, J. E. P. Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for dourado *Salminus brasiliensis*. **Aquaculture Nutrition**, v. 15, n. 5, p. 453–458, 2009.
- BOWEN, S. H. Chromic acid in assimilation studies—A Caution. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 107, n. 5, p. 755–756, 1978.
- BOWEN, S. H. Digestion and assimilation of periphytic detrital aggregate by *Tilapia mossambica*. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 110, n. 2, p. 239–245, 1981.

BREMER NETO, H. et al. Diminuição do teor de óxido de cromo (III) usado como marcador externo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 2, p. 249–255, 2003.

BROWN, P. B.; STRANGE, R. J.; ROBBINS, K. R. Protein digestibility coefficients for yearling channel catfish fed high protein feedstuffs. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 47, n. 2, p. 94–97, 1985.

BUDDINGTON, R. K. Digestion of an aquatic macrophyte by *Tilapia zillii* (Gervais). **Journal of Fish Biology**, v. 15, n. 4, p. 449–455, 1979.

BUDDINGTON, R. K. Hydrolysis-resistant organic matter as a reference for measurement of fish digestive efficiency. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 109, n. 6, p. 653–656, 1980.

BUREAU, D. P.; HARRIS, A. M.; CHO, C. Y. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 180, n. 3–4, p. 345–358, 1999.

BUREAU, D. P.; KAUSHIK, S. J.; CHO, C. Y. Bioenergetics. In: **Fish nutrition**. [s.l.] Academic Press Elsevier Science USA, New York, 2002. v. 3p. 1–59.

CHO, C. Y.; BUREAU, D. P. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. **Aquaculture Research**, v. 32, p. 349–360, 2001.

CHOUBERT, G.; DE LA NOÛE, J.; LUQUET, P. Continuous quantitative automatic collector for fish feces. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 41, n. 2, p. 64–67, 1979.

CHOUBERT, G.; DE LA NOÛE, J.; LUQUET, P. Digestibility in fish: Improved device for the automatic collection of feces. **Aquaculture**, v. 29, n. 1–2, p. 185–189, 1982.

DABROWSKI, K.; DABROWSKA, H. Digestion of protein by rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) and absorption of amino acids within the alimentary tract. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 69, n. 1, p. 99–111, 1981.

DE LA NOÛE, J. et al. 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**, v. 37, n. 12, p. 2218–2224, 1980.

DE LA NOÛE, J.; CHOUBERT, G. Digestibility in rainbow trout: Comparison of the direct and indirect methods of measurement. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 48, n. 3, p. 190–195, 1986.

DE SILVA, S. S.; ANDERSON, T. A. **Fish nutrition in aquaculture**. [s.l.] Springer, 1995.

DE SILVA, S. S.; DENG, D. F.; RAJENDRAM, V. Digestibility in goldfish fed diets with and without chromic oxide and exposed to sublethal concentrations of cadmium. **Aquaculture Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 109–114, 1997.

DE SILVA, S. S.; PERERA, M. K. Digestibility of an aquatic macrophyte by the cichlid *Etroplus suratensis* (Bloch) with observations on the relative merits of three indigenous components as markers and daily changes in protein digestibility. **Journal of Fish Biology**, v. 23, n. 6, p. 675–684, 1983.

DE SILVA, S. S.; PERERA, M.; MAITIPE, P. The composition, nutritional status and digestibility of the diets of *Sarotherodon mossambicus* from nine man-made lakes in Sri Lanka. **Environmental Biology of Fishes**, v. 11, n. 3, p. 205–219, 1984.

DE SILVA, S. S.; SHIM, K. F.; KHIM ONG, A. 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**, v. 30, n. 2, p. 215–226, 1990.

FERNANDEZ, F. et al. Dietary chromic oxide does not affect the utilization of organic compounds but can alter the utilization of mineral salts in gilthead sea bream *Sparus aurata*. **The Journal of Nutrition**, v. 129, n. 5, p. 1053–1059, 1999.

FERRARIS, R. P. et al. Digestibility in milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal): Effects of protein source, fish size and salinity. **Aquaculture**, v. 59, n. 2, p. 93–105, 1986.

FURUYA, W. M. et al. Coeficientes de digestibilidade aparente da energia e proteína da silagem de sorgo com alto e baixo tanino pela tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1213–1217, 2004.

GODDARD, J. S.; MCLEAN, E. Acid-insoluble ash as an inert reference material for digestibility studies in tilapia, *Oreochromis aureus*. **Aquaculture**, v. 194, n. 1–2, p. 93–98, 2001.

GONÇALVES, E. G.; CARNEIRO, D. J. Coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e energia de alguns ingredientes utilizados em dietas para o pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 4, p. 779–786, 2003.

GUIMARÃES, I. G.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M. Amino acid availability and protein digestibility of several protein sources for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Nutrition**, v. 14, n. 5, p. 396–404, 2008.

HAJEN, W. E. et al. Digestibility of various feedstuffs by post–juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in sea water. 1. Validation of technique. **Aquaculture**, v. 112, n. 4, p. 321–332, 1993.

KABIR, N. M. J.; WEE, K. L.; MAGUIRE, G. Estimation of apparent digestibility coefficients in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using different markers. **Aquaculture**, v. 167, n. 3–4, p. 259–272, 1998.

LI, P.; WEBB, K. A.; GATLIN III, D. M. Evaluation of acid-insoluble ash as an indicator for digestibility determination with red drum, *Sciaenops ocellatus*, and hybrid striped bass, *Morone chrysops* × *M. saxatilis*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 39, n. 1, p. 120–125, 2008.

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**, v. 39, n. 6, p. 854–861, 1982.

LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. 2. ed. Boston: Springer Science & Business Media, 1998.

MAGZOUN, M. B. et al. The effect of source and level of dietary chromium supplementation on humoral antibody response and blood chemical parameters in hybrid tilapia fish (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). **Research Journal of Biological Science**, v. 4, n. 7, p. 821–827, 2009.

MAYNARD, L. A.; LOOSLI, J. K. **Animal nutrition**. New York: McGraw–Hill, 1969.

MORALES, A. et al. Re-evaluation of crude fibre and acid-insoluble ash as inert markers, alternative to chromic oxide, in digestibility studies with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 179, n. 1–4, p. 71–79, 1999.

NG, W.-K.; WILSON, R. P. Chromic oxide inclusion in the diet does not affect glucose utilization or chromium retention by channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **The Journal of Nutrition**, v. 127, n. 12, p. 2357–2362, 1997.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrients Requirements of Fishes and Shrimp**. Washington: DC. National Academic Press, 2011. 376 p.

OWENS, F. N.; HANSON, C. F. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 9, p. 2605–2617, 1992.

PAN, Q. et al. The effect of chromium picolinate on growth and carbohydrate utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*. **Aquaculture**, v. 225, n. 1–4, p. 421–429, 2003.

PERCIVAL, S. B.; LEE, P. S.; CARTER, C. G. Validation of a technique for determining apparent digestibility in large (up to 5 kg) Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seacages. **Aquaculture**, v. 201, n. 3–4, p. 315–327, 2001.

PEZZATO, L. E. et al. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 4, p. 1595–1604, 2002.

RAMSAY, J. M. et al. Effects of fecal collection methods on estimation of digestibility of protein feedstuffs by winter flounder. **North American Journal of Aquaculture**, v. 62, n. 3, p. 168–173, 2000.

RINGØ, E. Does chromic oxide (Cr_2O_3) affect faecal lipid and intestinal bacterial flora in Arctic charr. *Salvelinus alpinus* (L.)? **Aquaculture Research**, v. 24, n. 6, p. 767–776, 1993.

SADIKU, S. O. E.; JAUNCEY, K. Digestibility, apparent amino acid availability and waste generation potential of soybean flour: poultry meat meal blend based diets for tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. **Aquaculture Research**, v. 26, n. 9, p. 651–657, 1995.

SAKITA, G. Z. et al. Chromium oxide ($^{51}\text{Cr}_2\text{O}_3$) used as biological marker was not absorbed by fish. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 3, p. 755–762, 2015.

SALLUM, W. B. et al. Utilização do método de espectro de absorção atômica no ajuste do indicador óxido de cromo III em estudos de digestibilidade com o matrinhã (*Brycon cephalus*). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 1, p. 188–196, 2002.

SHIAU, S. Y.; CHEN, M. J. Carbohydrate utilization by tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) as influenced by different chromium sources. **The Journal of Nutrition**, v. 123, n. 10, p. 1747–1753, 1993.

SHIAU, S. Y.; LIANG, H. S. Carbohydrate utilization and digestibility by tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, are affected by chromic oxide inclusion in the diet. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 4, p. 976–982, 1995.

SHIAU, S. Y.; SHY, S. M. Dietary chromic oxide inclusion level required to maximize glucose utilization in hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. **Aquaculture**, v. 161, n. 1–4, p. 357–364, 1998.

SMITH, R. R.; PETERSON, M. C.; ALLRED, A. C. Effect of leaching on apparent digestion coefficients of feedstuffs for salmonids. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 42, n. 4, p. 195–199, 1980.

SPYRIDAKIS, P. et al. Studies on nutrient digestibility in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v. 77, n. 1, p. 61–70, 1989.

STOREBAKKEN, T. et al. The apparent digestibility of diets containing fish meal, soybean meal or bacterial meal fed to Atlantic salmon (*Salmo salar*): evaluation of different faecal collection methods. **Aquaculture**, v. 169, n. 3–4, p. 195–210, 1998.

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**, v. 43, n. 4, p. 391–399, 1984.

VENSCAPPELL, 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**, v. 3, n. 1, p. 71–89, 1984.

VIDAL JR., M. V. et al. Determinação da digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta do fubá de milho e do farelo de soja para tambaqui (*Colossoma macropomum*), utilizando-se técnicas com uso de indicadores internos e externos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 2193–2200, 2004.

VIDAL, L. V. O. et al. Apparent protein and energy digestibility and amino acid availability of corn and co-products in extruded diets for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 46, n. 2, p. 183–190, 2015.

WATANABE, T.; OHTA, M. Digestible and metabolizable energy of various diets for carp and rainbow trout. **Fisheries Science**, v. 61, n. 2, p. 215–222, 1995.

WINDELL, J. T.; FOLTZ, J. W.; SAROKON, J. A. Methods of fecal collection and nutrient leaching in digestibility studies. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 40, n. 2, p. 51–55, 1978.

XAVIER, T. O. et al. Apparent protein and energy digestibility and amino acid availability of commercial meat and bone meal for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 45, n. 4, p. 439–446, 2014.

CAPÍTULO II

Indicadores internos na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes de dietas práticas balanceadas para tilápia do Nilo

Resumo – Objetivou-se avaliar diferentes metodologias para determinação de digestibilidade para tilápia do Nilo utilizando duas dietas práticas balanceadas contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal ou ingredientes de origem animal e vegetal. As metodologias avaliadas foram: fibra bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose e lignina. Óxido de crômio-III (Cr_2O_3 ; 0,1%) foi adicionado em ambas dietas e utilizado como indicador externo padrão. Grupos de dez juvenis de tilápia do Nilo ($80,3 \pm 1,0$ g) foram alojados em seis tanques-rede cilíndricos (80 L), inseridos em seis tanques circulares (250 L) de alimentação onde foram alimentados até saciedade aparente oito vezes ao dia. Uma hora após a última refeição, os tanques-rede foram transferidos e mantidos durante a noite em seis tanques cilíndricos (300 L) utilizados para coleta de fezes por meio de coletores acoplados ao fundo destes tanques. Os peixes foram alimentados em um sistema independente do sistema de coleta de fezes de forma a evitar a contaminação das fezes com sua respectiva ração. Os CDA da matéria seca (MS), energia e nutrientes (proteína bruta, fósforo e aminoácidos essenciais e não essenciais) foram obtidos pela diferença no teor dos indicadores internos presentes nas dietas e fezes e comparados aos obtidos pelo uso de Cr_2O_3 pelo teste de Dunnett. A dieta contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal retornou CDA superiores para MS, energia e nutrientes ($P < 0,05$). A utilização da FB, FDN, FDA, hemicelulose e lignina como indicadores de CDA mostraram-se ineficientes para todas as variáveis analisadas para a dieta contendo ingredientes de origem animal e vegetal ($P < 0,05$). Entretanto, para a dieta contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal, as frações FDA e celulose foram similares ao Cr_2O_3 na determinação dos CDA da MS, energia e nutrientes. Desta maneira, estas frações são indicadas para averiguação de CDA pela tilápia do Nilo alimentada com dietas contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal.

Termos para indexação: *Oreochromis niloticus*, marcadores internos, nutrição de peixes.

Internal indicators in determining the apparent digestibility coefficients of nutrients by Nile tilapia fed practical balanced diets

Abstract – The objective of this study was to evaluate different methods of measuring digestibility in Nile tilapia fed two diets containing only plant origin ingredients or animal and plant origin ingredients. The methods evaluated were: crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose, cellulose and lignin. Chromic oxide (Cr_2O_3 ; 0,1%) was added in both diets and used as standard external indicator. Groups of 10 juveniles of Nile tilapia ($80,3 \pm 1,0$ g) were allocated in six 80 L–cylindrical net cage, housed in six 250 L–circular feeding tanks and hand–fed to apparent satiation eight times a day. One hour after the last feeding, the cages were transferred and kept overnight into six 300 L–cylindrical conical feces collection tanks coupled to collectors. Fish were feed in an independent system from feces collection system in order to avoid the presence of feed in the feces samples. The ADC of dry matter (DM), energy and nutrients (crude protein, phosphorus and amino acids essentials and non essentials) were obtained by the difference in the level of internal indicators present in the diets and feces and compared to those obtained by the use of Cr_2O_3 by Dunnett's test. The diet containing only plant origin ingredients had a higher ADC of DM, energy and nutrients ($P < 0,05$). The utilization of CF, NDF, ADF, hemicellulose and lignin fraction as indicators were inefficient in all analyzed variable in animal and plant origin ingredients diet ($P < 0,05$). However, in the diet containing only plant origin ingredients the fractions ADF and cellulose were similar to Cr_2O_3 to determine ADC of DM, energy and all nutrients. Therefore, these fractions are indicated for investigation of ADC by Nile tilapia fed diets containing only plant origin ingredients.

Index Terms: *Oreochromis niloticus*, internal markers, fish nutrition.

Introdução

Em sistemas intensivos, as rações são a principal ou exclusiva fonte de nutrientes para os peixes, representando até 70% dos custos de produção (Lovell, 1998). No entanto, a utilização de rações desbalanceadas reduzem a absorção dos nutrientes pelos peixes, resultando em excesso de matéria orgânica nos sistemas de produção. Em condições tropicais, esta matéria orgânica é mineralizada rapidamente, ficando prontamente disponível para o florescimento do fitoplâncton, com consequente diminuição da transparência e alteração da qualidade da água. Como resultado, têm-se a redução da concentração do oxigênio dissolvido, especialmente no período noturno, acarretando estresse respiratório e bioquímico que induzem a sérios riscos à saúde dos peixes e possíveis perdas no sistema de produção (Cyrino et al., 2010).

No Brasil, a indústria de rações certifica-se da qualidade destas por meio das respostas zootécnicas obtidas, principalmente ganho de peso e conversão alimentar aparente. Infelizmente, o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes não é determinante na escolha destas, seja pela ausência destes valores como regra, seja pela dificuldade de se obter tais valores sem reprocessar estas rações para inclusão do indicador externo de digestibilidade.

Neste sentido, algumas substâncias promissoras têm sido avaliadas como indicadores internos de digestibilidade para os peixes, incluindo as tilápias, como a fibra bruta (De Silva et al., 1990; Vidal Jr. et al., 2004), fibra em detergente neutro (Furuya et al., 2004), fibra em detergente ácido (Vidal Jr. et al., 2004), celulose (Buddington, 1979), cinza insolúvel em detergente ácido (Vidal Jr. et al., 2004), matéria orgânica resistente à hidrólise (Buddington, 1980; De Silva et al., 1984) e cinza insolúvel em ácido (Goddard & Mclean, 2001). De acordo com Vidal Jr. et al. (2004), a utilização destes indicadores resultaria, frente ao método que utiliza a inclusão de indicador externo padrão, em menor interferência sobre o resultado obtido. Entretanto, Dourado et al. (2010) salientam que a utilização destes indicadores é dependente da composição da dieta avaliada, uma vez que podem ocorrer alterações na taxa de passagem da digesta e interações do indicador com componentes da dieta.

Com base no exposto, este estudo objetivou avaliar os indicadores internos fibra bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA),

hemicelulose, celulose e a lignina na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, energia bruta e nutrientes proteína bruta (PB), fósforo (P), aminoácidos essenciais (AAE) e não essenciais (AANE) de duas dietas práticas balanceadas pela tilápia do Nilo. Para validação dos dados obtidos, utilizou-se como indicador externo padrão o óxido de crômio-III (Cr_2O_3).

Material e Métodos

O estudo foi conduzido na Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Laboratório de Nutrição e Saúde de Peixes – AquaNutri, Campus de Botucatu, segundo procedimentos de experimentação aprovados pelo Comitê de Ética da instituição (protocolo nº 132/2014 CEUA).

De forma a atender as exigências nutricionais da tilápia do Nilo (Furuya et al., 2010), duas dietas práticas balanceadas, a primeira contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal e a segunda contendo ingredientes de origem animal e vegetal (Tabela 1), foram formuladas. Óxido de crômio-III (0,1%) (m/m) foi adicionado em ambas às dietas e utilizado como indicador externo padrão.

Para preparo das rações, todos os ingredientes foram moídos (0,4 mm de diâmetro), pesados e homogeneizados. Após adição de água a 55°C (20% do peso total), as misturas foram submetidas ao processo de extrusão (Exteec[®], Ribeirão Preto, SP, Brasil). Após resfriamento, as rações foram secas em estufa (55°C durante 24 horas), acondicionadas em embalagens plásticas identificadas e então armazenadas em câmara fria (5°C) até utilização. A composição químico-bromatológica e o teor de Cr_2O_3 e demais indicadores internos avaliados nas dietas experimentais encontram-se nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Para a coleta de fezes, foi empregada a metodologia descrita por Pezzato et al. (2002), onde os peixes são alimentados em sistema independente do sistema coletor de fezes, evitando a contaminação do material colhido com sua respectiva ração. Para alimentação, seis tanques de fibra de vidro de formato circular (250 L), conectados a um filtro físico-biológico e sistema de recirculação contínua de água, foram utilizados. Para coleta das fezes, foram utilizados seis tanques de fibra de vidro de formato cilíndrico e fundo cônico (300 L), providos de filtro físico-biológico e sistema de recirculação

superficial individual de água. O monitoramento dos parâmetros físicos e químicos da água foi realizado utilizando-se sonda multi parâmetros YSI 556[®] (YSI Environmental, Yellow Spring, OH, USA). Semanalmente foram determinados o pH ($6,66 \pm 0,04$), oxigênio dissolvido ($6,23 \pm 0,22 \text{ mg L}^{-1}$), condutividade elétrica ($0,26 \pm 0,02 \text{ mS cm}^{-1}$), sólidos totais dissolvidos ($0,18 \pm 0,03 \text{ g L}^{-1}$) e amônia tóxica ($0,002 \pm 0,000 \text{ ppm}$ – kit Labcon[®]). A temperatura foi medida diariamente ($25,3 \pm 0,5^\circ\text{C}$). As variáveis mantiveram-se dentro das condições de conforto para a espécie estudada (Boyd & Tucker, 2012). O fotoperíodo foi mantido em 12h luz: 12h escuro, pelo uso de lâmpadas fluorescentes.

Juvenis masculinizados de tilápia do Nilo ($80,3 \pm 1,0 \text{ g}$) foram alojados em seis tanques-rede ($n=10$) de formato cilíndrico (120 L), confeccionados em tela plástica (malha de 1,5 cm entre nós), inseridos dentro dos aquários de alimentação. Estes tanques-rede foram utilizados para abrigar os peixes e facilitar o manejo entre os aquários de alimentação e de coleta de fezes. Durante sete dias, os peixes permaneceram nos aquários de alimentação para adaptação ao manejo e às dietas, fornecidas até saciedade aparente, quatro vezes ao dia (08h00, 11h00, 14h00 e 17h00).

Após o período de adaptação, a alimentação foi intensificada (08h00 às 17h00) sendo, ao final do dia (18h00), os peixes transferidos aos aquários de coleta de fezes, onde permaneceram até a manhã do dia subsequente (08h00), quando retornavam aos respectivos aquários de alimentação e a coleta de fezes foi realizada pelo uso de tubos coletores (200 mL) acoplados ao fundo dos aquários de coleta. Este procedimento foi realizado durante 14 dias, o que permitiu a obtenção de volume representativo de fezes para a realização das análises químicas (três replicatas por aquário). As fezes coletadas foram desidratadas em estufa ($55,0^\circ\text{C}/48 \text{ h}$), moídas e armazenadas a $-20,0^\circ\text{C}$.

O cálculo dos coeficientes de digestibilidade aparente da MS, energia e nutrientes (PB, P, AAE e AANE) das dietas experimentais, empregando o indicador externo padrão Cr_2O_3 e os indicadores internos propostos (FB, FDN, FDA, hemicelulose, celulose e lignina) foram realizados utilizando as equações (1 e 2) descritas por Maynard & Loosli (1969):

$$1. \quad \text{CDA}_{\text{MS}} = 100 \times \left[1 - \left(\frac{I_d}{I_f} \right) \right]$$

Em que:

CDA_{MS} = coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca; I_d = percentagem de indicador na dieta; I_f = percentagem de indicador nas fezes.

$$2. \quad CDA_N = 100 \times \left[1 - \left(\frac{I_d}{I_f} \right) \times \left(\frac{N_f}{N_d} \right) \right]$$

Em que:

CDA_N = coeficiente de digestibilidade aparente; I_d = percentagem de indicador na dieta; I_f = percentagem de indicador nas fezes; N_f = percentagem de nutriente (ou kcal kg⁻¹ de energia bruta) nas fezes; N_d = percentagem de nutriente (ou kcal kg⁻¹ de energia bruta) na dieta.

As análises químico–bromatológicas das rações e fezes foi realizada no Laboratório de Bromatologia da FMVZ–UNESP/Botucatu, segundo padrões da AOAC (2000). O teor de matéria seca foi obtido após secagem das amostras em estufa a 105,0°C até peso constante. Nitrogênio (N) obtido pelo método Kjeldahl e proteína bruta calculada por $N \times 6,25$. Extrato etéreo determinado após extração com éter de petróleo pelo método de Soxhlet. Energia bruta estimada pela combustão das amostras em bomba calorimétrica (C200, IKA, Staufen, BW, Alemanha) e fósforo quantificado pelo método espectrofotométrico do ácido vanadomolibdicofosfórico (Williams, 1979). A determinação dos aminoácidos foi realizada por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), em colunas de resina de troca catiônica e derivação pós–coluna com ninhidrina, em auto–analisador. Para quantificação, as amostras foram hidrolisadas com HCl 6 mol/L durante 22 horas a 110°C (Moore & Stein, 1948). A análise de aminoácidos foi realizada pelo Laboratório CBO Assessoria & Análise (Campinas, SP, Brasil).

Com relação aos indicadores avaliados, a fibra bruta foi determinada pelo método de Weende e a fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, hemicelulose, celulose e lignina foram aferidas conforme metodologia sequencial descrita por Van Soest et al. (1991). A análise do teor de óxido de crômio–III foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Bremer Neto et al. (2005).

Foi adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado com duas dietas, sete indicadores e três repetições. Os dados foram previamente analisados quanto à sua normalidade (Shapiro–Wilk) e, atendida esta premissa, submetidos à técnica de análise de variância para o modelo com um fator ($P < 0,05$). Para comparação das médias

de CDA entre rações, obtidas pelo emprego de Cr_2O_3 , foi aplicado o teste de Tukey. As diferenças entre a média dos CDA dos aminoácidos e da proteína bruta foram comparadas pelo teste t , a 5% de probabilidade. Para comparação das médias de CDA obtidas pela utilização dos diferentes indicadores internos empregados com as obtidas pela utilização do indicador externo padrão Cr_2O_3 , foi aplicado o teste de Dunnett. As análises foram realizadas utilizando-se o pacote estatístico Minitab® 16.1.1.0 (Minitab Inc. 2010).

Resultados e Discussão

Pode-se verificar que a dieta contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal apresentou CDA superiores ($P<0,05$) aos obtidos para a dieta contendo ingredientes de origem animal e vegetal (Tabela 2), confirmando a capacidade desta espécie em utilizar as fontes proteicas convencionais e alternativas de origem vegetal (Furuya et al., 2001; Gonçalves et al., 2009). De fato, Furuya et al. (2004), em ensaio conduzido com a tilápia do Nilo, afirmaram que uma dieta prática com base em proteína de farelo de soja, formulada de acordo com o conceito de proteína ideal e suplementada com aminoácidos cristalinos e fosfato bicálcico, poderia substituir, sem qualquer efeito adverso aos índices zootécnicos e composição centesimal da carcaça, dietas formuladas contendo a farinha de peixe como fonte de proteína.

Com relação aos valores digestíveis obtidos, pode-se observar que ambas às dietas atenderam a exigência nutricional em energia, proteína digestível e fósforo disponível determinada para as espécies de tilápias (NRC, 2011). Entretanto, verificou-se, para ambas dietas, valores digestíveis dos aminoácidos essenciais histidina, isoleucina, metionina e valina inferiores ao preconizado (1,00; 1,00; 0,70 e 1,50%, respectivamente), possivelmente ocasionados pela utilização de valores compilados (Furuya et al., 2010) quando da formulação destas.

Pelo teste t , constatou-se diferença entre os resultados de CDA médio dos aminoácidos e da proteína ($P<0,05$). Apesar de Furuya et al. (2001) relatarem alta correlação entre a digestibilidade média dos aminoácidos e a digestibilidade da proteína pela tilápia do Nilo, este resultado sugere que o CDA da proteína não deve ser utilizado

como indicativo da digestibilidade média dos aminoácidos. Constatação semelhante é descrita por Guimarães et al. (2008) e Vidal et al. (2015).

Com relação aos indicadores internos avaliados (Tabela 3), a dieta teste contendo ingredientes de origem animal e vegetal apresentou, de modo imprevisto, maior porcentagem de FB, FDN, FDA, hemicelulose e celulose em relação à dieta contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal. Embora a inclusão da farinha de vísceras de aves e farinha carne e ossos tenha sido realizada em níveis inferiores ao máximo preconizado para a espécie (Faria et al., 2002; Abimorad et al., 2014), estas possivelmente, motivadas pela presença de tecidos conectivos, alto teor de extrato etéreo e/ou cinzas, tenham influenciado na determinação analítica destas frações nesta dieta. De fato, Furuya et al. (2001a) relataram, quando da análise da composição químico-bromatológica da farinha de peixe, valor traço de fibra bruta (0,46%; base na matéria seca) para este ingrediente.

Com relação à avaliação dos indicadores internos, verificou-se que a fibra em detergente ácido, confrontada com os valores obtidos pelo emprego do indicador externo padrão Cr_2O_3 , propiciou adequada aferição do CDA da MS, energia e nutrientes (PB, P, AAE e AANE) da dieta contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal (Tabela 4). Resultado contrário, onde a FDA proporciona valores de CDA que diferem aos obtidos com Cr_2O_3 , é relatado para tambaqui (*Colossoma macropomum*), quando da avaliação dos coeficientes de digestibilidade verdadeiro (CDV) da MS e PB do fubá de milho e do farelo de soja (Vidal Jr. et al., 2004). Entretanto, os autores relatam possível digestão da FDA por esta espécie, baseados na taxa de recuperação deste indicador inferior a 100%, possivelmente em decorrência do tempo de permanência do alimento no trato digestório. De fato, é relatado para algumas espécies de peixes, como a carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*), presença e atividade de enzima celulase de origem bacteriana (Das & Tripathi, 1991).

De modo semelhante à utilização da FDA, o emprego da celulose como indicador de digestibilidade propiciou, comparado aos valores proporcionados pelo uso do indicador externo padrão Cr_2O_3 , CDA semelhantes para MS, energia e nutrientes avaliados da dieta contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal (Tabela 4). Resultado similar foi descrito para a matéria orgânica resistente a hidrólise (composta basicamente por celulose e quitina, quando presente) como indicador de digestibilidade

na avaliação do CDA total de uma dieta prática marcada com 1,0% (m/m) de Cr_2O_3 ofertada para três espécies de tilápias (*O. aureus*, *O. mossambicus* e *O. niloticus*) e para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Buddington, 1980).

Com relação ao emprego da FDA e celulose na avaliação dos CDA da dieta teste contendo ingredientes de origem animal e vegetal, a primeira propiciou valores que diferiram aos obtidos pelo uso de Cr_2O_3 , para todos os nutrientes ($P < 0,05$) (Tabela 5), enquanto a segunda proporcionou valores inferiores somente para a PB e para os AAE fenilalanina e valina ($P < 0,05$) (Tabela 5). A fibra em detergente ácido é constituída quase em sua totalidade por celulose e lignina (Van Soest et al., 1991), sendo utilizada basicamente como material pré-extraído para a determinação da lignina pelos métodos lignina detergente ácido (LDA) (Van Soest, 1963) ou lignina permanganato de potássio (LPE) (Van Soest & Wine, 1968). Apesar de estudos relatarem o isolamento de cepas de bactérias com atividade de celulase a partir do intestino de tilápias (Bairagi et al., 2002; Saha et al., 2006), os CDA obtidos pelo uso da FDA e celulose para a dieta contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal nesta pesquisa indicam que não houve degradação destas frações. Possivelmente, a subestimação dos CDA obtidos pelo emprego da FDA e celulose (PB e AAE fenilalanina e valina) como indicadores para a dieta teste contendo ingredientes de origem animal seja decorrente do provável erro na determinação destas frações, motivadas pela presença dos ingredientes farinha de vísceras de aves e farinha de carne e ossos.

A utilização da fibra bruta resultou, confrontada com os dados obtidos pela utilização do indicador externo padrão Cr_2O_3 , em CDA superestimados para a MS, energia e nutrientes, para ambas as dietas ($P < 0,05$) (Tabelas 4 e 5). Resultado semelhante foi descrito para a tilápia áurea (*Oreochromis aureus*) (De Silva et al., 1990), enquanto resultado positivo de sua utilização como indicador é descrito para truta arco-íris (Tacon & Rodrigues, 1984).

Com esta mesma espécie, Morales et al. (1999) relataram, quando da avaliação dos CDA da MS, PB, extrativo não nitrogenado e energia de dietas práticas contendo os farelos de girassol ou soja, valores subestimados em relação aos obtidos pelo indicador externo padrão Cr_2O_3 , inferindo, desta maneira, que a utilização deste composto como indicador seja dependente do tipo de fibra da dieta. A fibra bruta não representa um grupo homogêneo de substâncias sendo composta, basicamente, pelos polissacarídeos

não amiláceos (PNA). De acordo com Krogdhal et al. (2005), a fração PNA pode ser classificada, conforme sua solubilidade em água, em insolúvel (celulose e hemicelulose) e solúvel (pectinas, gomas e mucilagens), sendo esta última passível de digestão durante sua passagem pelo trato digestório. De fato, Amirkolaie et al. (2005) relataram, em ensaio conduzido com a tilápia do Nilo, digestibilidade ($20,8 \pm 7,2\%$) da fração PNA de uma dieta prática (base em farinha de peixe, farelo de soja e milho) contendo 8,0% de goma guar. No entanto, os autores relatam, para a dieta prática controle (sem inclusão de goma guar) valor desprezível de CDA ($1,7 \pm 5,1\%$). Nesta pesquisa, não foi verificado o CDA da fração PNA, entretanto, baseados nos valores de CDA propiciados pela utilização da fibra bruta como indicador, supõe-se que esta não tenha sofrido degradação.

Resultado contrário à utilização da fibra bruta foi verificado quando do emprego da fibra em detergente neutro e hemicelulose como indicadores de digestibilidade. De fato, a utilização destas frações proporcionou, quando comparadas ao indicador padrão externo Cr_2O_3 , CDA subestimados para MS, energia e nutrientes, para ambas as dietas ($P < 0,05$) (Tabelas 4 e 5). Este resultado parece estar associado à solubilização da pectina pela solução detergente neutro (Van Soest et al., 1991). A pectina constitui, juntamente com os carboidratos estruturais (celulose e hemicelulose) e a lignina, a parede celular das plantas (Silva & Queiroz, 2002), sendo descrita, de acordo com Brito et al. (2008), como não digestível pelos animais monogástricos. Como esta constitui porcentagem relevante da parede celular do farelo de soja (Queiroz et al., 2010), e este corresponde a base proteica de ambas as dietas, a sua solubilização possivelmente tenha influenciado na determinação dos CDA por este método. Com relação a hemicelulose, sua determinação também pode ter sido influenciada pela solubilização da pectina, uma vez que esta é componente significativo da fibra em detergente ácido (Queiroz et al., 2008). Como a hemicelulose é determinada pela subtração da FDN pela FDA, possíveis erros de análise destas frações induz a erro de sua estimativa.

De modo semelhante ao ocorrido com a utilização da FDN e a hemicelulose, o emprego da lignina como indicador de digestibilidade resultou, para ambas as dietas, em CDA subestimados, para a MS, energia e nutrientes (PB, P, AAE e AANE), quando comparada ao indicador externo padrão Cr_2O_3 ($P < 0,05$) (Tabelas 4 e 5). Este resultado pode estar relacionado ao seu baixo teor nas dietas avaliadas (Tabela 3). De fato,

Vasconcellos et al. (2007) demonstraram, em ensaio de digestibilidade conduzido com gatos domésticos, que a utilização deste composto como indicador é dependente da quantidade presente na dieta. Relatos semelhantes são descritos para os indicadores internos cinza insolúvel em ácido (Bureau et al., 1999) e cinza insolúvel em detergente ácido (Vidal Jr. et al., 2004).

Conclusões

1. A efetividade dos indicadores internos de digestibilidade é dependente da composição da dieta.
2. A fibra em detergente ácido e celulose são efetivas na avaliação dos coeficientes de digestibilidade aparente da tilápia do Nilo alimentada com dietas contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal.
3. A celulose é efetiva na avaliação dos coeficientes de digestibilidade aparente de dieta contendo ingredientes de origem animal e vegetal.
4. A utilização da fibra bruta, fibra em detergente neutro, hemicelulose e lignina não são eficazes para estimativa dos coeficientes de digestibilidade aparente, independente da composição da dieta.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the AOAC International**. 17th ed. Arlington: AOAC, 2000.

ABIMORAD, E. G.; CASTELLANI, D.; GONÇALVES, G. S.; ROMERA, D. M.; GARCIA, F.; NASCIMENTO, T. M. T. Substituição parcial do farelo de soja pela farinha de carne e ossos em dietas para juvenis de tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 11, p. 836–843, 2014.

AMIRKOLAIE, A. K.; LEENHOUWERS, J. I.; VERRETH, J. A. J.; SCHRAMA, J. W. Type of dietary fibre (soluble versus insoluble) influences digestion, faeces characteristics and faecal waste production in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture Research**, v. 36, n. 12, p. 1157–1166, 2005.

BAIRAGI, A.; GHOSH, K.; SEN, S.; RAY, A. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. **Aquaculture International**, v. 10, n. 2, p. 109–121, 2002.

BOYD, C. E.; TUCKER, C. S. **Pond aquaculture water quality management**. [s.l.] Springer Science & Business Media, 2012.

BREMER NETO, H.; GRANER, C. A. F.; PEZZATO, L. E.; PADOVANI, C. R. Determinação de rotina do crômio em fezes, como marcador biológico, pelo método espectrofotométrico ajustado da 1,5–difenilcarbazida. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 691–697, 2005.

BRITO, M. S.; FRANKLIN, C. F. S.; SILVA, T. R. G.; LIMA, R. B.; MORAIS, S. N.; SILVA, J. H. V. Polissacarídeos não–amiláceos na nutrição de monogástricos – Revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, n. 4, p. 111–117, 2008.

BUDDINGTON, R. K. Digestion of an aquatic macrophyte by *Tilapia zillii* (Gervais). **Journal of Fish Biology**, v. 15, n. 4, p. 449–455, 1979.

BUDDINGTON, R. K. Hydrolysis–resistant organic matter as a reference for measurement of fish digestive efficiency. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 109, n. 6, p. 653–656, 1980.

BUREAU, D. P.; HARRIS, A. M.; CHO, C. Y. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 180, n. 3–4, p. 345–358, 1999.

CYRINO, J. E. P.; BICUDO, Á. J. de A.; SADO, R. Y.; BORGHESI, R.; DAIRIK, J. K. A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 68–87, 2010.

DAS, K. M.; TRIPATHI, S. D. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). **Aquaculture**, v. 92, p. 21–32, 1991.

DE SILVA, S. S.; PERERA, M.; MAITIPE, P. The composition, nutritional status and digestibility of the diets of *Sarotherodon mossambicus* from nine man–made lakes in Sri Lanka. **Environmental Biology of Fishes**, v. 11, n. 3, p. 205–219, 1984.

DE SILVA, S. S.; SHIM, K. F.; KHIM ONG, A. 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**, v. 30, n. 2, p. 215–226, 1990.

DOURADO, L. R. B.; SIQUEIRA, J. C.; SAKOMURA, N. K.; PINHEIRO, S. R. F.; MARCATO, S. M.; FERNANDES, J. B. K.; SILVA, J. H. V. Poultry feed metabolizable energy determination using total or partial excreta collection methods. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 12, n. 2, p. 129–132, 2010.

FARIA, A. C. E. A.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M. Farinha de vísceras de aves em rações para alevinos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 812–822, 2002.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; BOSCOLO, W. R.; CYRINO, J. E. P.; FURUYA, V. R. B.; FEIDEN, A. **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo: GFM, 2010.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; PEZZATO, A. C.; FURUYA, V. R. B.; MIRANDA, E. C. Use of ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in fish–meal–free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture Research**, v. 35, n. 12, p. 1110–1116, 2004a.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. C.; FURUYA, V. R. B.; BARROS, M. M. Coeficientes de digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alguns ingredientes pela tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus* (L.) (linhagem tailandesa). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 465–469, 2001a.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; PEZZATO, A. C.; BARROS, M. M.; MIRANDA, E. C. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 4, p. 1143–1149, 2001b.

FURUYA, W. M.; SILVA, L. C. R.; NEVES, P. R.; BOTARO, D.; HAYASHI, C.; FURLAN, A. C.; SANTOS, V. G. Coeficientes de digestibilidade aparente da energia e proteína da silagem de sorgo com alto e baixo tanino pela tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1213–1217, 2004b.

GODDARD, J. S.; MCLEAN, E. Acid-insoluble ash as an inert reference material for digestibility studies in tilapia, *Oreochromis aureus*. **Aquaculture**, v. 194, n. 1–2, p. 93–98, 2001.

GONÇALVES, G. S.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; ROCHA, D. F.; KLEEMAN, G. K.; SANTA ROSA, M. J. Energia e nutrientes digestíveis de alimentos para a tilápia do Nilo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 35, n. 2, p. 201–213, 2009.

GUIMARÃES, I. G.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M. Amino acid availability and protein digestibility of several protein sources for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Nutrition**, v. 14, n. 5, p. 396–404, 2008.

KROGDAHL, Å.; HEMRE, G.-I.; MOMMSEN, T. P. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. **Aquaculture Nutrition**, v. 11, n. 2, p. 103–122, 2005.

LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. 2. ed. Boston: Springer Science & Business Media, 1998.

MAYNARD, L. A.; LOOSLI, J. K. **Animal nutrition**. New York: McGraw–Hill, 1969.

MOORE, S.; STEIN, W. H. Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. **Journal of Biological Chemistry**, v. 176, n. 1, p. 367–388, 1948.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrients Requeriments of Fishes and Shrimp**. Washington: DC. National Academic Press, 2011. 376 p.

MORALES, A. E.; CARDENETE, G.; SANZ, A.; HIGUERA, M. Re-evaluation of crude fibre and acid-insoluble ash as inert markers, alternative to chromic oxide, in digestibility studies with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 179, n. 1–4, p. 71–79, 1999.

PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. C.; BARROS, M. M.; PINTO, L. G. Q.; FURUYA, W. M.; PEZZATO, A. C. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 4, p. 1595–1604, 2002.

QUEIROZ, M. A. A.; FUKUSHIMA, R. S.; GOMIDE, C. A.; BRAGA, M. R. Substitution of crude cell wall for neutral detergent fibre in the equations of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System that predict carbohydrate fractions: application to sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Animal**, v. 2, n. 7, p. 1087–1092, 2008.

QUEIROZ, M. A. A.; SUSIN, I.; PIRES, A. V.; FERREIRA, E. M.; MENDES, C. Q.; MOURÃO, G. B. Características físico-químicas de fontes proteicas e suas interações sobre a degradação ruminal e a taxa de passagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 7, p. 1587–1594, 2010.

SAHA, S.; ROY, R. N.; SEN, S. K.; RAY, A. K. Characterization of cellulase-producing bacteria from the digestive tract of tilapia, *Oreochromis mossambica* (Peters) and grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes). **Aquaculture Research**, v. 37, n. 4, p. 380–388, 2006.

SILVA, D.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2002.

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**, v. 43, n. 4, p. 391–399, 1984.

VAN SOEST, P. J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds . II . A rapid method for the determination of fiber and lignin. **Journal of the Association of Official Agricultural Chemists**, v. 46, n. 5, p. 829–835, 1963.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of dairy science**, v. 74, n. 10, p. 3583–3597, 1991.

VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. **Journal of the Association of Official Agricultural Chemists**, v. 51, n. 4, p. 780–785, 1968.

VASCONCELLOS, R. S.; CARCIOFI, A. C.; OLIVEIRA, L. D.; PRADA, F.; PEREIRA, G. T. Utilização de indicadores para estimar a digestibilidade aparente em gatos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 466–472, 2007.

VIDAL JR., M. V.; DONZELE, J. L.; ANDRADE, D. R.; SANTOS, L. C. Determinação da digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta do fubá de milho e do farelo de soja para tambaqui (*Colossoma macropomum*), utilizando-se técnicas com uso de indicadores internos e externos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 2193–2200, 2004.

VIDAL, L. V. O.; XAVIER, T. O.; MICHELATO, M.; MARTINS, E. N.; PEZZATO, L. E.; FURUYA, W. M. Apparent protein and energy digestibility and amino acid availability of corn and co-products in extruded diets for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 46, n. 2, p. 183–190, 2015.

WILLIAMS, W. J. **Handbook of anion determination**. London: Butterworth–Heinemann, 1979.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	Dietas	
	DTPOV ¹	DTPOA ¹
Farelo de Soja	48,10	43,62
Glúten de Milho	4,50	–
Farinha de Carne e Ossos	–	4,00
Farinha de Visceras	–	6,00
Milho	33,96	33,96
Farelo de Trigo	10,00	10,00
Óleo de Soja	0,19	0,11
L–Lysine ³	0,22	0,02
DL–Methionine ³	0,31	0,26
L–Threonine ³	0,33	0,31
Fosfato Bicálcico ⁴	1,63	0,96
NaCl	0,10	0,10
Premix mineral e vitaminico ⁵	0,50	0,50
Vitamina C ⁶	0,04	0,04
BHT ⁷	0,02	0,02
Óxido de crômio (Cr ₂ O ₃) ⁸	0,10	0,10

¹Dieta teste prática contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal.

²Dieta teste prática contendo ingredientes de origem animal e vegetal.

³Ajinomoto Biolatina Inc., Valparaíso, SP, Brasil.

⁴Tortuga Inc., Mairinque, SP, Brasil.

⁵Premix vitamínico e mineral (Kg⁻¹ premix): vitamina A, 1000000 UI; vitamina D₃, 500000 UI; vitamina E, 20000 UI; vitamina K₃, 500 mg; vitamina B₁, 1900 mg; vitamina B₂, 2000 mg; vitamina B₆, 2400 mg; vitamina B₁₂, 3500 mcg; vitamina C, 25 g; niacina, 5000 mg; ácido pantotênico, 4800 mg; ácido fólico, 200 mg; biotina, 40 mg; manganês, 7500 mg; zinco, 25,0 g; ferro, 12,5 g; cobre, 2000 mg; iodo, 200 mg; selênio, 70 mg; antioxidante, 300 mg.

⁶Vitamina C Rovimix® Stay–35, DMS Nutritional Products, Suíça.

⁷Antioxidante (Butil Hidroxi Tolueno).

⁸Vetec Química Fina Ltda, Duque de Caxias, RJ, Brasil.

Tabela 2. Valor total (VT), coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) calculados pelo emprego do óxido de cromo–III como indicador de digestibilidade e valores digestíveis (VD) da matéria seca, energia, nutrientes e aminoácidos essenciais e não essenciais, das dietas experimentais (n = 3; % na matéria seca).

Nutrientes (%)	Dietas					
	DTPOV ¹			DTPOA ²		
	VT	CDA (%)	VD	VT	CDA (%)	VD
Matéria seca	94,36	76,77a	72,44	93,98	74,67b	70,17
Energia bruta (kcal kg ⁻¹)	4390	81,31a	3569	4338	79,14b	3433
Extrato Etéreo	3,29	–	–	4,18	–	–
Fósforo	0,80	51,23a	0,41	1,10	55,13a	0,61
Aminoácidos essenciais (%)						
Arginina	2,26	97,39a	2,20	2,43	96,55b	2,35
Histidina	0,74	97,93a	0,72	0,97	97,02b	0,94
Isoleucina	0,95	92,35a	0,88	0,85	87,74b	0,75
Leucina	2,84	95,94a	2,72	2,50	92,92b	2,32
Lisina	1,99	96,27a	1,92	1,97	94,14b	1,85
Fenilalanina	1,47	95,13a	1,40	1,39	92,12b	1,28
Metionina	0,52	99,51a	0,52	0,61	99,09b	0,60
Treonina	1,13	94,47a	1,07	1,31	93,49b	1,22
Triptofano	0,28	96,74a	0,27	0,23	89,30a	0,21
Valina	0,93	92,18a	0,86	0,96	88,09b	0,85
Aminoácidos não essenciais (%)						
Alanina	1,67	94,04a	1,57	1,76	91,32b	1,61
Ácido aspártico	3,14	98,61a	3,10	3,18	97,71b	3,11
Cistina	0,67	94,63a	0,63	0,45	87,45b	0,39
Glicina	1,77	92,92a	1,64	2,49	91,73b	2,28
Ácido glutâmico	6,09	98,34a	5,99	5,84	97,44b	5,69
Prolina	2,79	95,68a	2,67	2,88	93,99b	2,71
Serina	1,66	95,62a	1,59	1,62	93,72b	1,52
Tirosina	0,74	94,14a	0,70	0,74	91,33b	0,68
Média	31,64	95,66aA	30,27	32,18	93,03bA	29,94
Proteína bruta	31,76	94,79aB	30,11	32,18	92,38bB	29,73

¹Dieta teste prática contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal.

²Dieta teste prática contendo ingredientes de origem animal e vegetal.

Médias seguidas por letras minúsculas nas linhas diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Médias seguidas por letras maiúsculas nas colunas diferem entre si, pelo teste t, a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Conteúdo de indicadores nas dietas e fezes (média $\pm$ EMP, n = 3; base na matéria seca).

Componente (%)	DTPOV ¹	DTPOA ²
Dietas		
Óxido de cromo-III	0,10 $\pm$ 0,00	0,10 $\pm$ 0,00
Fibra bruta	4,33 $\pm$ 0,17	4,46 $\pm$ 0,19
Fibra em detergente neutro	19,19 $\pm$ 0,22	21,56 $\pm$ 0,10
Fibra em detergente ácido	6,78 $\pm$ 0,28	8,61 $\pm$ 0,22
Hemicelulose	12,41 $\pm$ 0,32	12,95 $\pm$ 0,29
Celulose	5,00 $\pm$ 0,25	6,25 $\pm$ 0,40
Lignina	0,87 $\pm$ 0,22	0,80 $\pm$ 0,11
Fezes		
Óxido de cromo-III	0,43 $\pm$ 0,00	0,41 $\pm$ 0,01
Fibra bruta	24,47 $\pm$ 0,33	23,09 $\pm$ 0,97
Fibra em detergente neutro	69,69 $\pm$ 0,78	69,44 $\pm$ 0,83
Fibra em detergente ácido	28,17 $\pm$ 0,36	25,99 $\pm$ 0,58
Hemicelulose	41,52 $\pm$ 0,75	43,46 $\pm$ 0,91
Celulose	21,90 $\pm$ 0,19	21,90 $\pm$ 0,76
Lignina	2,93 $\pm$ 0,03	2,10 $\pm$ 0,07

¹Dieta teste prática contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal.

²Dieta teste prática contendo ingredientes de origem animal e vegetal.

Tabela 4. Coeficientes de digestibilidade aparente (%) da matéria seca, energia e nutrientes da dieta teste contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal obtidos pelo emprego do indicador padrão óxido de crômio–III (Cr_2O_3) e indicadores internos fibra bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose e lignina¹.

	Cr_2O_3	FB	FDN	FDA	Hemicelulose	Celulose	Lignina
Matéria seca	76,77 ± 0,24a	82,30 ± 0,24b	72,46 ± 0,31b	75,93 ± 0,31a	70,09 ± 0,55b	77,17 ± 0,20a	70,33 ± 0,35b
Energia bruta	81,31 ± 0,19a	85,75 ± 0,19b	77,83 ± 0,25b	80,63 ± 0,25a	75,93 ± 0,44b	81,63 ± 0,16a	76,12 ± 0,28b
Proteína bruta	94,79 ± 0,11a	96,03 ± 0,05b	93,83 ± 0,07b	94,61 ± 0,02a	93,30 ± 0,14b	94,88 ± 0,02a	93,35 ± 0,13b
Fósforo	51,23 ± 0,83a	62,81 ± 1,02b	42,18 ± 0,53b	49,44 ± 1,16a	37,23 ± 0,26b	52,05 ± 0,90a	37,72 ± 0,33b
Aminoácidos essenciais							
Arginina	97,39 ± 0,04a	98,01 ± 0,07b	96,91 ± 0,10b	97,29 ± 0,11a	96,64 ± 0,11b	97,43 ± 0,09a	96,67 ± 0,08b
Histidina	97,93 ± 0,02a	98,42 ± 0,02b	97,54 ± 0,03b	97,85 ± 0,03a	97,33 ± 0,05b	97,96 ± 0,02a	97,36 ± 0,03b
Isoleucina	92,35 ± 0,01a	94,17 ± 0,13b	90,93 ± 0,18b	92,07 ± 0,20a	90,15 ± 0,22b	92,48 ± 0,16a	90,23 ± 0,13b
Leucina	95,94 ± 0,02a	96,91 ± 0,08b	95,19 ± 0,11b	95,79 ± 0,12a	94,78 ± 0,12b	96,01 ± 0,09a	94,82 ± 0,08b
Lisina	96,27 ± 0,11a	97,16 ± 0,04b	95,58 ± 0,07b	96,14 ± 0,02a	95,20 ± 0,12b	96,34 ± 0,03a	95,24 ± 0,12b
Fenilalanina	95,14 ± 0,06a	96,29 ± 0,12b	94,23 ± 0,17b	94,95 ± 0,18a	93,73 ± 0,18b	95,21 ± 0,15a	93,79 ± 0,13b
Metionina	99,51 ± 0,00a	99,62 ± 0,01b	99,42 ± 0,01b	99,49 ± 0,01a	99,37 ± 0,01b	99,52 ± 0,01a	99,37 ± 0,01b
Treonina	94,47 ± 0,15a	95,78 ± 0,20b	93,44 ± 0,28b	94,26 ± 0,29a	92,88 ± 0,30b	94,56 ± 0,25a	92,94 ± 0,24b
Triptofano	96,74 ± 0,30a	97,53 ± 0,18a	96,15 ± 0,29a	96,64 ± 0,23a	95,82 ± 0,34a	96,81 ± 0,23a	95,84 ± 0,35a
Valina	92,18 ± 0,01a	94,04 ± 0,14b	90,72 ± 0,18b	91,89 ± 0,20a	89,93 ± 0,22b	92,31 ± 0,16a	90,01 ± 0,13b
Aminoácidos não essenciais							
Alanina	94,04 ± 0,04a	95,45 ± 0,12b	92,93 ± 0,17b	93,82 ± 0,18a	92,32 ± 0,19b	94,14 ± 0,15a	92,38 ± 0,12b
Ácido aspártico	98,61 ± 0,08a	98,94 ± 0,08a	98,35 ± 0,12a	98,56 ± 0,12a	98,21 ± 0,13a	98,63 ± 0,11a	98,23 ± 0,12a
Cistina	94,63 ± 0,05a	95,91 ± 0,06b	93,63 ± 0,08b	94,44 ± 0,08a	93,09 ± 0,13b	94,72 ± 0,06a	93,14 ± 0,08b
Glicina	92,92 ± 0,36a	94,59 ± 0,38a	91,59 ± 0,56a	92,64 ± 0,54a	90,87 ± 0,58b	93,02 ± 0,48a	90,95 ± 0,51a
Ácido glutâmico	98,34 ± 0,02a	98,73 ± 0,04b	98,03 ± 0,06b	98,28 ± 0,06a	97,86 ± 0,06b	98,37 ± 0,05a	97,88 ± 0,05b
Prolina	95,68 ± 0,07a	96,71 ± 0,12b	94,88 ± 0,17b	95,52 ± 0,17a	94,44 ± 0,18b	95,75 ± 0,15a	94,49 ± 0,13b
Serina	95,62 ± 0,10a	96,66 ± 0,14b	94,80 ± 0,20b	95,45 ± 0,20a	94,35 ± 0,21b	95,69 ± 0,18a	94,40 ± 0,16b
Tirosina	94,14 ± 0,15a	95,53 ± 0,20b	93,04 ± 0,29b	93,91 ± 0,29a	92,44 ± 0,30b	94,23 ± 0,26a	92,51 ± 0,24b

¹Média ± erro médio padrão (n = 3) seguidos de letras distintas na linha diferem em relação ao óxido de crômio–III pelo teste de Dunnett (P < 0,05).

Tabela 5. Coeficientes de digestibilidade aparente (%) da matéria seca, energia e nutrientes da dieta teste contendo ingredientes de origem animal e vegetal obtidos pelo emprego do indicador padrão óxido de crômio-III (Cr_2O_3) e indicadores internos fibra bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose e lignina¹.

	Cr_2O_3	FB	FDN	FDA	Hemicelulose	Celulose	Lignina
Matéria seca	74,67 ± 0,60a	80,62 ± 0,84b	68,94 ± 0,37b	66,83 ± 0,75b	70,17 ± 0,64b	71,39 ± 1,03a	61,88 ± 1,27b
Energia bruta	79,14 ± 0,49a	84,04 ± 0,69b	74,43 ± 0,31b	72,69 ± 0,61b	75,44 ± 0,52b	76,44 ± 0,85a	68,61 ± 1,04b
Proteína bruta	92,38 ± 0,08a	94,18 ± 0,17b	90,66 ± 0,14b	90,03 ± 0,08b	91,02 ± 0,26b	91,40 ± 0,20b	88,53 ± 0,47b
Fósforo	55,13 ± 1,82a	65,66 ± 2,00b	45,03 ± 1,46b	41,27 ± 2,26b	47,21 ± 1,49a	49,32 ± 2,53a	32,55 ± 2,46b
Aminoácidos essenciais							
Arginina	96,55 ± 0,03a	97,36 ± 0,04b	95,76 ± 0,11b	95,48 ± 0,03b	95,93 ± 0,16b	96,10 ± 0,06a	94,79 ± 0,27b
Histidina	97,02 ± 0,02a	97,72 ± 0,04b	96,35 ± 0,09b	96,10 ± 0,02b	96,49 ± 0,14b	96,64 ± 0,05a	95,51 ± 0,23b
Isoleucina	87,74 ± 0,12a	90,63 ± 0,14b	84,96 ± 0,42b	83,95 ± 0,14b	85,54 ± 0,59b	86,17 ± 0,20a	81,52 ± 0,97b
Leucina	92,92 ± 0,04a	94,58 ± 0,12b	91,31 ± 0,18b	90,72 ± 0,03b	91,65 ± 0,29b	92,00 ± 0,14a	89,32 ± 0,50b
Lisina	94,14 ± 0,04a	95,52 ± 0,08b	92,81 ± 0,18b	92,33 ± 0,05b	93,09 ± 0,27b	93,39 ± 0,10a	91,17 ± 0,44b
Fenilalanina	92,12 ± 0,08a	93,97 ± 0,18b	90,33 ± 0,15b	89,68 ± 0,09b	90,71 ± 0,27b	91,10 ± 0,21b	88,12 ± 0,49b
Metionina	99,09 ± 0,02a	99,31 ± 0,03b	98,89 ± 0,01b	98,81 ± 0,03b	98,93 ± 0,02b	98,98 ± 0,04a	98,64 ± 0,05b
Treonina	93,49 ± 0,05a	95,02 ± 0,13b	92,02 ± 0,15b	91,48 ± 0,04b	92,33 ± 0,24b	92,65 ± 0,15a	90,20 ± 0,43b
Triptofano	89,30 ± 2,94a	91,74 ± 2,44a	87,01 ± 3,35a	86,00 ± 3,88a	87,59 ± 3,07a	87,86 ± 3,51a	84,21 ± 3,78a
Valina	88,09 ± 0,21a	90,89 ± 0,33b	85,39 ± 0,17b	84,41 ± 0,25b	85,97 ± 0,34b	86,55 ± 0,40b	82,07 ± 0,65b
Aminoácidos não essenciais							
Alanina	91,32 ± 0,06a	93,36 ± 0,12b	89,35 ± 0,26b	88,63 ± 0,06b	89,76 ± 0,38b	90,20 ± 0,16a	86,91 ± 0,64b
Ácido Aspártico	97,71 ± 0,08a	98,25 ± 0,10b	97,19 ± 0,05b	97,00 ± 0,10b	97,30 ± 0,06b	97,41 ± 0,12a	96,56 ± 0,10b
Cistina	87,45 ± 0,95a	90,43 ± 0,56a	84,55 ± 1,45a	83,56 ± 1,26a	85,13 ± 1,55a	85,85 ± 0,97a	80,97 ± 2,15b
Glicina	91,73 ± 0,14a	93,68 ± 0,06b	89,85 ± 0,36b	89,18 ± 0,18b	90,24 ± 0,47a	90,67 ± 0,14a	87,52 ± 0,74b
Ácido Glutâmico	97,44 ± 0,02a	98,04 ± 0,04b	96,86 ± 0,08b	96,65 ± 0,02b	96,98 ± 0,11b	97,11 ± 0,05a	96,14 ± 0,19b
Prolina	94,00 ± 0,05a	95,41 ± 0,12b	92,64 ± 0,13b	92,14 ± 0,04b	92,93 ± 0,22b	93,22 ± 0,14a	90,96 ± 0,39b
Serina	93,72 ± 0,15a	95,21 ± 0,05b	92,29 ± 0,34b	91,78 ± 0,20b	92,59 ± 0,41a	92,92 ± 0,14a	90,52 ± 0,63b
Tirosina	91,33 ± 0,11a	93,37 ± 0,21b	89,37 ± 0,15b	88,65 ± 0,12b	89,78 ± 0,28b	90,21 ± 0,25b	86,94 ± 0,52b

¹Média ± erro médio padrão (n = 3) seguidos de letras distintas na linha diferem em relação ao óxido de crômio-III pelo teste de Dunnett (P < 0,05).

CAPÍTULO III

Indicadores internos como alternativa ao óxido de crômio–III na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente para tilápia do Nilo

Resumo: Esta pesquisa teve por objetivo verificar, face a incorporação dos diferentes ingredientes proteicos de origem animal (farinhas de carne e ossos e de peixe), proteicos de origem vegetal (farelos de algodão, amendoim e soja) e energéticos (milho e farelos de arroz e de trigo) à uma dieta prática controle, a influência dos referidos ingredientes sobre a determinação dos indicadores internos fibra bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose e lignina pelo método gravimétrico e sua influência na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca (MS), energia e nutrientes pela tilápia do Nilo. Para obtenção das dietas testes, os ingredientes foram incorporados à dieta controle na relação 7:3. Óxido de crômio–III (0,1%) foi utilizado como indicador externo padrão. Os CDA da MS, energia e nutrientes foram obtidos pela diferença no teor dos indicadores internos presentes nas dietas e fezes e comparados aos obtidos pelo uso de Cr_2O_3 pelo teste de Dunnett. As dietas contendo ingredientes proteicos de origem animal apresentaram teor de FDN, FDA, hemicelulose e celulose superior aos obtidos para a dieta controle. A alta variabilidade nos valores obtidos de lignina não justificou seu emprego como substância indicadora. Para todas as dietas, quando a FDN e a hemicelulose foram utilizadas como indicador, os resultados de CDA da MS, energia e nutrientes foram inferiores ($P < 0,05$) aos obtidos com o uso do Cr_2O_3 , enquanto os resultados baseados na utilização da FB, excetuando-se a dieta controle e as dieta contendo farinha de peixe ou farelo de arroz, foram superiores ($P < 0,05$). Todos os CDA obtidos para a dieta controle e para as dietas testes contendo os farelos de algodão, amendoim, soja, arroz e trigo calculados com pelo emprego da FDA como indicador foram similares aos obtidos com o uso de Cr_2O_3 . Resultado semelhante, exceção feita à dieta contendo milho, foi observado para celulose. Baseados nestes resultados, a FDA é um indicador adequado para dietas com base em produtos de origem vegetal em estudos de digestibilidade com a tilápia do Nilo. Com relação a celulose, os resultados sugerem que esta substância pode ser um indicador interno eficaz, entretanto atenção deve ser dada ao seu nível presente na dieta.

Palavras-chave: marcadores internos, nutrição de peixes, *Oreochromis niloticus*

Internal indicators as alternative to chromic oxide to determine apparent digestibility coefficients in Nile tilapia

Abstract: This research aimed to verify influence of different ingredients on determination of internal indicators, such as: crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose, cellulose, and lignin, by gravimetric method. In addition, this study evaluated the influence of these parameters on determination of apparent digestibility coefficients (ADC) of dry matter (DM), energy and nutrients for Nile tilapia. The ingredients assayed in this study were: animal by-products (fish meal and meat and bone meal), plant protein ingredients (cottonseed meal, peanut meal and soybean meal), and cereal grain products/by-products (corn, rice bran and wheat middlings). These ingredients were incorporated into a basal diet for at a 7:3 ratio, and chromic oxide (0.1%) was used as the external marker. The ADC of dry matter, energy and nutrients were obtained by the difference between the presence of the internal indicators present in the diets and feces, and compared to those obtained by the use of Cr_2O_3 by Dunnett test. Diets containing animal by-products presented higher NDF, ADF, hemicellulose and cellulose than the basal diet. The high variability of the lignin concentration did not justify its use as an internal indicator. In all diets, when NDF and hemicellulose were used as the indicator, results for the ADC for DM, energy and nutrients were lower ($P < 0.05$) than those based on Cr_2O_3 . Whereas, all results based on CF were higher, except the basal diet, fish meal and rice bran diets ($P < 0.05$). All ADC of the basal, cottonseed meal, peanut meal, soybean meal, corn, rice bran and wheat middlings diets were calculated with ADF as the indicator, and presented similar results to those based on Cr_2O_3 . The cellulose presented similar result as an internal indicator, except for the corn diet. Based on these results, the ADF is an appropriate indicator for diets based in plant ingredients in digestibility studies for Nile tilapia. Regarding cellulose, results suggest that this substance can be effective internal indicator, although attention should be given to their present level in the diets.

Keywords: fish nutrition, internal markers, *Oreochromis niloticus*

1. Introdução

Em peixes, os coeficientes de digestibilidade *in vivo* de uma dieta e/ou ingrediente específico são preferencialmente calculados pelo método indireto, obtido pela coleta parcial de fezes marcadas com indicador não digestível. Por este método, o coeficiente de digestibilidade, definido aparente, uma vez que não considera a contribuição do material de origem endógena e metabólica (NRC, 2011), é estimado pela diferença da concentração do indicador e do nutriente/energia presentes na dieta e nas fezes (Belal, 2005). Para ser efetivo, o indicador empregado não deve interferir no metabolismo ou na microbiota intestinal, não ser absorvível ou metabolizado, passar uniformemente pelo aparelho digestivo, ter fácil e rápida determinação pelos métodos analíticos e não ser tóxico (De Silva e Anderson, 1995).

O indicador externo mais utilizado, quando da realização de ensaio de digestibilidade com a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), têm sido o óxido de cromo–III (Guimarães et al., 2012; Vidal et al., 2015; Xavier et al., 2014; Zhou e Yue, 2012). No entanto, sua utilização é restrita a dietas experimentais e sua determinação exige complicados procedimentos analíticos (Li et al., 2008). Alguns estudos ainda questionam a validade deste composto como indicador, uma vez que este pode apresentar trânsito mais lento pelo trato digestivo (Bowen, 1978; Hanley, 1987), alterar o coeficiente de digestibilidade aparente obtido conforme nível de inclusão (Sadiku e Jauncey, 1995; Shiau e Liang, 1995) e interferir no metabolismo dos nutrientes (Shiau e Chen, 1993; Shiau e Shy, 1998).

Neste sentido, alguns componentes de ocorrência natural na dieta têm sido utilizados como indicadores internos de digestibilidade para as tilápias, como a fibra bruta (De Silva et al., 1990), fibra em detergente neutro (Furuya et al., 2004), celulose (Buddington, 1979), matéria orgânica resistente à hidrólise (Buddington, 1980; De Silva et al., 1984) e a cinza insolúvel em ácido (Goddard e McLean, 2001). No entanto, a composição da dieta, como níveis de minerais e fibras, podem influenciar na estimativa destes coeficientes, devido à alterações na taxa de passagem e interações do indicador com componentes da dieta (Dourado et al., 2010), sinalizando, desta maneira, a importância de se avaliar diversas dietas, com a inclusão de diferentes ingredientes, no estudo dos indicadores internos (Vasconcellos et al., 2007).

Com base no exposto, este estudo propôs verificar, face a incorporação dos diferentes ingredientes: proteicos de origem animal (farinhas de carne e ossos e de peixe), proteicos de origem vegetal (farelos de algodão, amendoim e soja) e energéticos (milho e farelos de arroz e de trigo) à uma dieta prática controle, a influência dos referidos ingredientes sobre a determinação dos indicadores internos fibra bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose e lignina pelo método gravimétrico e sua consequente influência na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca (MS), energia e nutrientes: proteína bruta (PB), fósforo (P) e aminoácidos essenciais (AAE) e não essenciais (AANE) pela tilápia do Nilo. Para validação dos valores de CDA obtidos, empregou-se o óxido de cromo-III (Cr_2O_3) como indicador externo padrão.

2. Material e Métodos

2.1. Local

O estudo foi conduzido na Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Laboratório de Nutrição e Saúde de Peixes – AquaNutri, Campus de Botucatu. Os procedimentos adotados na condução deste experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética da instituição (protocolo nº 132/2014 CEUA).

2.2. Peixes

Mil alevinos masculinizados de tilápia do Nilo (peso médio ± 15 g), adquiridos junto a Piscicultura Fernandes (Palmital, SP, Brasil) foram distribuídos e aclimatizados as condições laboratoriais em quatro aquários circulares (1000 L). Os peixes foram alimentados, quatro vezes ao dia, com dieta prática (26,81% de proteína digestível e 12,71 kJ de energia digestível g^{-1}) produzida neste laboratório até atingirem peso médio ideal (± 100 g) para realização do ensaio.

2.3. Dietas experimentais

De forma a atender as exigências nutricionais da tilápia do Nilo (Furuya et al., 2010), uma dieta controle, formulada com base em proteína de farelo de soja, foi confeccionada (Tabela 1). Para obtenção das dietas teste, procedeu-se a mistura de 70% da dieta controle e 29,9% do ingrediente a ser incorporado (farinha de peixe, farinha de carne e ossos, farelo de algodão, farelo de amendoim, farelo de soja, milho, farelo de arroz e farelo de trigo) (McGoogan e Reigh, 1996). Óxido de crômio–III (0,1%) (m/m) foi adicionado e utilizado como indicador externo padrão (Bremer Neto et al., 2003). A composição química e os valores energéticos das dietas avaliadas encontram-se na Tabela 2.

Para o preparo das rações, os ingredientes foram moídos em partículas com diâmetro inferior a 0,42 mm. Após pesagem e homogeneização, as misturas foram umedecidas com água a 55°C (20% do peso total) e submetidas ao processo de extrusão (Exteec[®], Ribeirão Preto, SP, Brasil), obtendo-se péletes com aproximadamente 4 mm de diâmetro. Após resfriamento, as rações foram desidratadas em estufa (55°C por 24 h), acondicionadas em embalagens plásticas identificadas e então armazenadas em câmara fria (5°C) até utilização.

2.4. Estrutura experimental

Nove aquários de formato cilíndrico (250 L), conectados a um filtro físico–biológico e sistema de recirculação contínua de água foram utilizados para alimentação, e nove aquários de formato cilíndrico e fundo cônico (300 L), providos de filtro biológico e sistema de recirculação contínua de água individuais, foram utilizados para coleta de fezes por sedimentação. A temperatura ($25,8 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$) e o oxigênio dissolvido ($6,44 \pm 0,32 \text{ mg L}^{-1}$) da água foram mantidos, respectivamente, por meio de aquecedores conectados a termostato eletrônico e de pedras porosas acopladas a mangueiras de silicone conectadas a soprador central (3 CV). O fotoperíodo foi mantido em 12h luz: 12h escuro, pelo uso de lâmpadas fluorescentes.

2.5. *Procedimento experimental*

Para adequada utilização da estrutura experimental, o ensaio foi dividido em três etapas distintas (Etapa 1: Dieta controle e dietas contendo ingredientes de origem animal; Etapa 2: Dietas contendo ingredientes proteicos de origem vegetal; Etapa 3: Dietas contendo ingredientes energéticos).

Para realização da primeira etapa, 90 juvenis com peso médio de $103,70 \pm 1,70$ g foram alojados em nove tanques-rede de formato circular (120 L), confeccionados em tela plástica (malha de 1,5 cm entre nós), inseridos dentro dos aquários de alimentação. Estes tanques-rede foram utilizados para abrigar os peixes e facilitar o manejo entre os aquários de alimentação e de coleta de fezes. Durante sete dias, os peixes foram mantidos nestes aquários para adaptação ao manejo e às dietas, fornecidas quatro vezes ao dia (08h00, 11h00, 14h00 e 17h00), até saciedade aparente.

Ao oitavo dia, a alimentação foi intensificada a cada hora (08h00 às 17h00) sendo, ao final do dia (18h00), os peixes transferidos aos aquários de coleta de fezes. Na manhã do dia subsequente (08h00), os peixes retornaram aos respectivos aquários de alimentação e a coleta de fezes foi realizada pelo uso de coletores (200 mL) acoplados ao fundo dos aquários de coleta. Este procedimento foi realizado durante 14 dias, o que permitiu a obtenção de volume representativo de fezes (três replicatas por aquário). As fezes coletadas foram desidratadas em estufa (55°C por 48 h), moídas e armazenadas em freezer ($-20,0^{\circ}\text{C}$) para posterior análise.

Para realização da segunda e terceira etapas, foram utilizados 90 ($105,20 \pm 2,30$ g) e 90 juvenis ($101,60 \pm 3,10$ g), respectivamente, sendo o procedimento experimental adotado idêntico ao descrito anteriormente.

2.6. *Cálculo dos coeficientes de digestibilidade aparente*

Os CDA da MS, energia e nutrientes da dietas experimentais, empregando o indicador externo Cr_2O_3 e os indicadores internos FB, FDN, FDA, hemicelulose, celulose e lignina avaliados foram calculados utilizando as equações (1 e 2) descritas por Maynard e Loosli (1969):

$$1. \quad CDA_{MS} = 100 \times \left[1 - \left(\frac{I_d}{I_f} \right) \right]$$

Em que:

CDA_{MS} = coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca; I_d = percentagem de indicador na dieta; I_f = percentagem de indicador nas fezes.

$$2. \quad CDA_N = 100 \times \left[1 - \left(\frac{I_d}{I_f} \right) \times \left(\frac{N_f}{N_d} \right) \right]$$

Em que:

CDA_N = coeficiente de digestibilidade aparente; I_d = percentagem de indicador na dieta; I_f = percentagem de indicador nas fezes; N_f = percentagem de nutriente (ou kJ g^{-1} de energia bruta) nas fezes; N_d = percentagem de nutriente (ou kJ g^{-1} de energia bruta) na dieta.

2.7. Análises químicas

A análise da composição química das dietas e fezes foi realizada no Laboratório de Bromatologia da FMVZ–UNESP/Botucatu, conforme padrões da AOAC (2000). Matéria seca obtida após secagem das amostras em estufa a 105°C até peso constante. Matéria mineral por calcinação das amostras em mufla a 550°C durante 12 horas. Nitrogênio (N) pelo método Kjeldahl e proteína bruta calculada por $N \times 6,25$. Extrato etéreo determinado após extração com éter de petróleo pelo método de Soxhlet. Energia bruta pela combustão das amostras em bomba calorimétrica (C200, IKA, Staufen, BW, Alemanha). Fósforo quantificado pelo método espectrofotométrico do ácido vanadomolibdicofosfórico (Williams, 1979). Aminoácidos analisados por cromatografia líquida, em colunas de resinas de troca catiônica e derivação pós-coluna com ninhidrina, em auto analisador. Para quantificação, as amostras foram hidrolisadas com $\text{HCl } 6 \text{ mol L}^{-1}$ durante 22 horas a 110°C (Moore e Stein, 1948). Óxido de crômio–III determinado conforme metodologia descrita por Bremer Neto et al. (2005). Fibra bruta determinada pelo método de Weende. FDN, FDA e lignina quantificadas pelo método sequencial descrito por Van Soest et al. (1991), sendo a celulose quantificada pela diferença na perda de peso da FDA no passo que antecede a combustão da lignina em mufla. Hemicelulose calculada pela diferença algébrica FDN - FDA.

2.8. Análise estatística

Foi adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado com nove dietas, sete indicadores e três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade e, no caso de diferença estatística, para a comparação das médias de CDA obtidas pelo uso dos diferentes indicadores internos empregados com as obtidas pela utilização do indicador externo padrão (Cr_2O_3), foi aplicado o teste de Dunnett. As análises foram realizadas utilizando-se o pacote estatístico Minitab® 16.1.1.0 (Minitab Inc. 2010).

3. Resultados

3.1. Teor de indicadores presentes nas dietas e fezes

De modo inesperado, as dietas contendo ingredientes de origem animal (farinhas de carne e ossos ou de peixe) apresentaram teor de FDN, FDA, celulose e hemicelulose superior aos valores obtidos para a dieta controle (Tabela 3). Quanto a fração lignina, esta proporcionou valores negativos para a dieta controle e para as dietas contendo 29,9% dos ingredientes farinha de peixe, farinha de carne e ossos, farelo de soja e milho (Tabela 3).

3.2. Coeficiente de digestibilidade aparente da MS, EB e nutrientes da dieta controle

A utilização da FDA e celulose como indicadores de digestibilidade proporcionou CDA semelhantes aos obtidos pelo emprego do Cr_2O_3 (Tabela 4). Quando do emprego da FB, esta propiciou valores de CDA similares aos obtidos com Cr_2O_3 para a PB e aminoácidos essenciais e não essenciais, entretanto, demonstrou valores superestimados para a MS, energia e fósforo ($P<0,05$) (Tabela 4). Com relação aos demais indicadores, a utilização destes proporcionou resultados de CDA subestimados ($P<0,05$), em relação aos obtidos com o emprego de Cr_2O_3 , para todos os nutrientes (Tabela 4).

3.3. Coeficiente de digestibilidade aparente da MS, EB e nutrientes das dietas contendo ingredientes de origem animal

Para a dieta contendo 29,9% de farinha de peixe, a utilização da fração FB como indicador de digestibilidade propiciou valores de CDA semelhantes aos obtidos com o uso do Cr_2O_3 , para todos os nutrientes (Tabela 5). Entretanto, quando do emprego dos demais indicadores, estes proporcionaram valores de CDA subestimados ($P < 0,05$) (Tabela 5). Com relação à dieta contendo 29,9% de farinha de carne e ossos, os CDA obtidos pelo uso dos diferentes indicadores internos diferiram, para todos os nutrientes, aos valores obtidos pelo emprego do Cr_2O_3 como indicador ($P < 0,05$) (Tabela 6).

3.4 Coeficiente de digestibilidade aparente da MS, EB e nutrientes das dietas contendo ingredientes proteicos de origem vegetal

Para todas as dietas, a utilização das frações FDA e celulose como indicadores de digestibilidade proporcionou valores semelhantes aos obtidos com o uso de Cr_2O_3 , para todos os nutrientes (Tabelas 7, 8 e 9). Com relação aos demais indicadores avaliados, estes propiciaram valores que diferiram dos calculados com o uso do indicador Cr_2O_3 ($P < 0,05$) (Tabelas 7, 8 e 9).

3.5. Coeficiente de digestibilidade aparente da MS, EB e nutrientes das dietas contendo ingredientes energéticos

A utilização da fração FDA como indicador de digestibilidade proporcionou CDA semelhantes aos obtidos pelo uso do Cr_2O_3 , para todas as dietas (Tabelas 10, 11 e 12). Para a dieta contendo 29,9% de farelo de arroz, a utilização da fração FB como indicador de digestibilidade propiciou valores de CDA semelhantes aos obtidos com o uso do Cr_2O_3 , para todos os nutrientes (Tabela 11). Exceção feita à dieta contendo 29,9% de milho, o emprego da celulose como indicador de digestibilidade também proporcionou valores similares aos obtidos com o uso do Cr_2O_3 (Tabelas 11 e 12). Com

relação aos demais indicadores, estes propiciaram resultados que diferiram dos obtidos com o uso do Cr_2O_3 ($P < 0,05$) (Tabelas 10, 11 e 12).

4. Discussão

Neste estudo, os CDA mais consistentes foram os resultantes do emprego da fibra em detergente ácido e celulose como indicadores de digestibilidade. De fato, exceção feita às dietas contendo os ingredientes de origem animal e à dieta contendo 29,9% de milho (no caso da celulose), todos os CDA calculados com ambos indicadores foram similares aos obtidos pela utilização do indicador externo padrão Cr_2O_3 .

A fibra em detergente ácido é amplamente utilizada como estimativa rápida dos constituintes da parede celular (Van Soest, 1994), sendo uma metodologia que difere da determinação da fibra bruta pelo tradicional método de Weende por evitar a solubilização da lignina uma vez que não utiliza álcali para isolar a fibra (Van Soest, 1963). Constitui-se em um resíduo fibroso utilizado como passo preparatório para a determinação da celulose, lignina, nitrogênio insolúvel em detergente ácido, cinzas insolúveis em detergente ácido e sílica, sendo a primeira fração sua principal componente (Van Soest et al., 1991). Apesar de ser um método de análise rápido e de grande confiabilidade (Van Soest et al., 1991), poucos ensaios de digestibilidade utilizando esta fração como indicador são relatados para animais monogástricos (Carciofi et al., 1998; Vasconcellos et al., 2007; Zanatta et al., 2013), incluindo peixes (Vidal Jr. et al., 2004). Semelhantemente, poucos estudos empregando a celulose como indicador de digestibilidade são relatados para peixes (Buddington, 1979; De Silva e Perera, 1983), sendo o único ensaio comparativo de indicadores o conduzido por Buddington (1980), que obteve, pela utilização da matéria orgânica resistente a hidrólise (MORH; composta basicamente por celulose e quitina, quando presente), CDA total de uma dieta marcada com 1,0% (m/m) de Cr_2O_3 similar ao obtido pelo emprego do indicador externo padrão.

Para a fibra em detergente ácido, Vidal Jr. et al. (2004) relataram valores de coeficientes de digestibilidade verdadeiro (CDV) da MS e PB do fubá de milho e farelo de soja inferiores aos obtidos pela coleta total de fezes e pelo emprego do Cr_2O_3 como indicador externo padrão para o tambaqui (*Colossoma macropomum*). Baseados na taxa

de recuperação inferior a 100% deste indicador, os autores presumiram que tenha ocorrido digestão desta fração por esta espécie, possivelmente em decorrência do tempo de permanência do alimento no trato digestório. De fato, Das & Tripathi (1991) relataram, para a carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*), presença e atividade, dois terços superior, da enzima celulase de origem bacteriana em relação a de origem endógena. A celulose é composta por cadeias lineares de D-glicose, unidas por ligações β -1,4 com alto grau de polimerização (8.000 a 15.000 unidades) e elevada massa molecular (Giger-Reverdin, 1995). Sua degradação é dependente da enzima celulase, que hidroliza as ligações glicosídicas β -1,4 liberando as unidades de glicose para absorção. Apesar de Saha et al. (2006) terem relatado o isolamento de cepas de bactérias com atividade de celulase a partir do intestino de tilápias (*O. mossambica*), não foi verificado, baseado nos CDA obtidos pelo emprego da FDA e celulose como indicadores de digestibilidade, degradação desta fração.

Com relação à subestimação dos CDA advindos da utilização destes indicadores para as dietas teste contendo 29,9% de farinha de peixe ou farinha de carne e ossos, é provável que a composição química destes ingredientes (presença de tecidos conectivos, alto teor de extrato etéreo e/ou cinzas, etc.) tenha induzido a erro de estimativa destas frações (Dourado et al., 2010). De fato, Van Soest et al. (1991) citam a possível interferência de alto teor de extrato etéreo da amostra na determinação da FDA. Desta maneira, recomenda-se, para correta determinação e possível utilização destas frações como indicadores de CDA de dietas contendo ingredientes de origem animal, submeter a amostra a pré-tratamento com solvente para retirada do extrato etéreo e, especificamente para a FDA, corrigir os valores obtidos quanto ao teor de nitrogênio insolúvel em detergente ácido e cinzas (Van Soest et al., 1991).

No que diz respeito a subestimação dos CDA obtidos pelo emprego da celulose para a dieta teste contendo 29,9% de milho, este resultado indica que possivelmente a utilização desta fração esteja condicionada a quantidade presente na dieta. Relatos semelhantes são descritos para os indicadores internos cinza insolúvel em ácido (Atkinson et al., 1984; Morales et al., 1999) e cinza insolúvel em detergente ácido (Vidal Jr. et al., 2004).

A utilização da fibra bruta na estimativa dos CDA resultou, exceção feita à dieta controle e às dietas contendo 29,9% de farinha de peixe ou farelo de arroz, em CDA

superestimados para todos os nutrientes avaliados, em todas as dietas. Resultados semelhantes foram descritos para tilápia (*O. aureus*) (De Silva et al., 1990) e “goldfish” (*Carassius auratus*) (L.) (De Silva et al., 1997), quando da avaliação dos CDA da MS e PB de dieta prática marcada com 0,5% (m/m) de Cr_2O_3 . Entretanto, valores subestimados de CDA (MS, PB, ENN e energia) são descritos para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas com dietas contendo os farelos de soja ou girassol (Morales et al., 1999). A fibra alimentar não é constituída por um único grupo químico definido, mas sim por uma combinação de substâncias quimicamente heterogêneas (Goñi et al., 2009), sendo a fração polissacarídeos não amiláceos (PNA) sua principal constituinte. De acordo com Krogdahl et al. (2005), estes podem ser classificados, conforme sua solubilidade em água, em insolúvel (celuloses e hemiceluloses), não afetada pelos processos digestivos, e solúvel (pectinas, gomas e mucilagens) que pode ser afetada. No presente estudo, não foi avaliado o CDA da fração PNA. Entretanto, os CDA dos demais nutrientes, obtidos pela utilização da fibra bruta como indicador de digestibilidade, indicam que não houve degradação desta fração durante sua passagem pelo trato digestivo das tilápias submetidas às diferentes dietas. De fato, Amirkolaie et al. (2005) demonstraram, para a tilápia do Nilo alimentada com dieta prática (base em farinha de peixe, farelo de soja e milho), ínfimo CDA para esta fração.

De modo semelhante, a utilização da fração lignina resultou, para as dietas contendo 29,9% dos farelos de algodão, amendoim, arroz ou trigo, na obtenção de CDA superestimados, para todos os nutrientes. Quanto as demais dietas, a lignina não foi considerada para cálculo dos CDA, uma vez que estas apresentaram valores negativos quando de sua determinação, possivelmente ocasionados pelo baixo teor/inexistência desta fração nos diferentes ingredientes avaliados. A lignina constitui-se de polímeros condensados dos diferentes alcoóis cumarílico, coniferílico e sinapílico, além do ácido ferúlico (Grenet e Besle, 1991), unidos por ligações éter ou covalentes entre os núcleos benzênicos ou aos radicais propano (Brito et al., 2008). Sua composição é bastante variável, dependente da origem botânica, idade, região anatômica da planta e fatores ambientais, dentre outros (Silva e Queiroz, 2002). No presente estudo, a determinação desta fração foi realizada conforme o procedimento lignina detergente ácido (LDA) descrito por Van Soest (1963). De acordo com Fukushima e Hatfield (2004), este método gravimétrico nem sempre reflete o seu real teor na amostra, devido à parcial

solubilização da mesma na solução de detergente ácido (Kondo et al., 1987) ou então na solução de ácido sulfúrico 72% (v/v) (Hatfield et al., 1994), fatos estes que podem explicar, neste estudo e para as referidas amostras, a obtenção de valores negativos quando da estimativa desta fração.

Com relação a utilização da fibra em detergente neutro e da hemicelulose como indicadores de digestibilidade, os valores subestimados de CDA apresentados indicam que a solução de detergente neutro tenha influenciado estes resultados, possivelmente devido à solubilização da pectina (Van Soest et al., 1991). Os animais monogástricos não possuem capacidade enzimática de digestão deste componente (Brito et al., 2008) e, como este representa porcentagem relevante da parede celular dos farelos de oleaginosas (Queiroz et al., 2010), a sua solubilização possivelmente tenha influenciado na estimativa da parede celular pelo método FDN e, conseqüentemente, na determinação da hemicelulose.

Com base nos resultados apresentados, conclui-se que a fibra em detergente ácido e a celulose, esta possivelmente dependente de seu teor na dieta, são efetivos indicadores internos de digestibilidade para a tilápia do Nilo alimentada com dietas contendo exclusivamente ingredientes de origem vegetal. Com relação as dietas contendo ingredientes de origem animal, recomenda-se o emprego das correções analíticas mencionadas para a possível utilização destas frações como indicadores internos de digestibilidade.

5. Referências

- Amirkolaie, A.K., Leenhouwers, J.I., Verreth, J.A.J., Schrama, J.W., 2005. Type of dietary fibre (soluble versus insoluble) influences digestion, faeces characteristics and faecal waste production in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquac. Res.* 36, 1157–1166.
- AOAC, 2000. *Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists*. 17. ed. Arlington: Inc, 2000.
- Atkinson, J.L., Hilton, J.W., Slinger, S.J., 1984. Evaluation of acid-insoluble ash as an indicator of feed digestibility in rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41, 1384–1386.
- Belal, I.E.H., 2005. A review of some fish nutrition methodologies. *Bioresour. Technol.* 96, 395–402.

- Bowen, S.H., 1978. Chromic acid in assimilation studies—A Caution. *Trans. Am. Fish. Soc.* 107, 755–756.
- Bremer Neto, H., Graner, C.A.F., Pezzato, L.E., Padovani, C.R., 2005. Determinação de rotina do cromo em fezes, como marcador biológico, pelo método espectrofotométrico ajustado da 1,5–difenilcarbazida. *Ciência Rural* 35, 691–697.
- Bremer Neto, H., Graner, C.A.F., Pezzato, L.E., Padovani, C.R., Cantelmo, O.A., 2003. Diminuição do teor de óxido de cromo (III) usado como marcador externo. *Rev. Bras. Zootec.* 32, 249–255.
- Brito, M.S., Franklin, C.F.S., Silva, T.R.G., Lima, R.B., Morais, S.N., Silva, J.H. V., 2008. Polissacarídeos não–amiláceos na nutrição de monogástricos – Revisão. *Acta Vet. Bras.* 2, 111–117.
- Buddington, R.K., 1980. Hydrolysis–resistant organic matter as a reference for measurement of fish digestive efficiency. *Trans. Am. Fish. Soc.* 109, 653–656.
- Buddington, R.K., 1979. Digestion of an aquatic macrophyte by *Tilapia zillii* (Gervais). *J. Fish Biol.* 15, 449–455.
- Carciofi, A.C., Prada, F., Mori, C.S., 1998. Uso de indicadores internos na avaliação da digestibilidade aparente de alimentos para gatos: comparação de métodos. *Ciência Rural* 28, 299–302.
- Das, K.M., Tripathi, S.D., 1991. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). *Aquaculture* 92, 21–32.
- De Silva, S.S., Anderson, T.A., 1995. Fish nutrition in aquaculture, *Aquaculture Series*. Springer.
- De Silva, S.S., Deng, D.F., Rajendram, V., 1997. Digestibility in goldfish fed diets with and without chromic oxide and exposed to sublethal concentrations of cadmium. *Aquac. Nutr.* 3, 109–114.
- De Silva, S.S., Perera, M., Maitipe, P., 1984. The composition, nutritional status and digestibility of the diets of *Sarotherodon mossambicus* from nine man–made lakes in Sri Lanka. *Environ. Biol. Fishes* 11, 205–219.
- De Silva, S.S., Perera, M.K., 1983. Digestibility of an aquatic macrophyte by the cichlid *Etroplus suratensis* (Bloch) with observations on the relative merits of three indigenous components as markers and daily changes in protein digestibility. *J. Fish Biol.* 23, 675–684.
- De Silva, S.S., Shim, K.F., Khim Ong, A., 1990. 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). *Reprod. Nutr. Dev.* 30, 215–226.

- Dourado, L.R.B., Siqueira, J.C., Sakomura, N.K., Pinheiro, S.R.F., Marcato, S.M., Fernandes, J.B.K., Silva, J.H. V, 2010. Poultry feed metabolizable energy determination using total or partial excreta collection methods. *Rev. Bras. Ciência Avícola* 12, 129–132.
- Fukushima, R.S., Hatfield, R.D., 2004. Comparison of the acetyl bromide spectrophotometric method with other analytical lignin methods for determining lignin concentration in forage samples. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3713–3720.
- Furuya, W.M., Pezzato, L.E., Barros, M.M., Boscolo, W.R., Cyrino, J.E.P., Furuya, V.R.B., Feiden, A., 2010. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. GFM, Toledo.
- Furuya, W.M., Silva, L.C.R., Neves, P.R., Botaro, D., Hayashi, C., Furlan, A.C., Santos, V.G., 2004. Coeficientes de digestibilidade aparente da energia e proteína da silagem de sorgo com alto e baixo tanino pela tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Ciência Rural* 34, 1213–1217.
- Giger-Reverdin, S., 1995. Review of the main methods of cell wall estimation: interest and limits for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 55, 295–334.
- Goddard, J.S., McLean, E., 2001. Acid-insoluble ash as an inert reference material for digestibility studies in tilapia, *Oreochromis aureus*. *Aquaculture* 194, 93–98.
- Gofi, I., Díaz-Rubio, M.E., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., 2009. Towards an updated methodology for measurement of dietary fiber, including associated polyphenols, in food and beverages. *Food Res. Int.* 42, 840–846.
- Grenet, E., Besle, J.M., 1991. Microbes and fibre degradation, in: Jouany, J.-P. (Ed.), *Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion*. INRA Editions, Paris, pp. 107–129.
- Guimarães, I.G., Pezzato, L.E., Barros, M.M., Fernandes, R.N., 2012. Apparent nutrient digestibility and mineral availability of protein-rich ingredients in extruded diets for Nile tilapia. *Rev. Bras. Zootec.* 41, 1801–1808.
- Hanley, F., 1987. The digestibility of foodstuffs and the effects of feeding selectivity on digestibility determinations in tilapia, *Oreochromis niloticus* (L). *Aquaculture* 66, 163–179.
- Hatfield, R.D., Jung, H.-J.G., Ralph, J., Buxton, D.R., Weimer, P.J., 1994. A comparison of the insoluble residues produced by the Klason lignin and acid detergent lignin procedures. *J. Sci. Food Agric.* 65, 51–58.
- Kondo, T., Mizuno, K., Kato, T., 1987. Some characteristics of forage plant lignin. *Japan Agric. Res.* 21, 47–52.

- Krogdahl, Å., Hemre, G.-I., Mommsen, T.P., 2005. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquac. Nutr.* 11, 103–122.
- Li, P., Webb, K.A., Gatlin III, D.M., 2008. Evaluation of acid-insoluble ash as an indicator for digestibility determination with red drum, *Sciaenops ocellatus*, and hybrid striped bass, *Morone chrysops* × *M. saxatilis*. *J. World Aquac. Soc.* 39, 120–125.
- Maynard, L.A., Loosli, J.K., 1969. *Animal nutrition*. McGraw-Hill, New York.
- McGoogan, B.B., Reigh, R.C., 1996. Apparent digestibility of selected ingredients in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. *Aquaculture* 141, 233–244.
- Minitab, Inc: Minitab: Data analysis Software, release 16.1.1.0. State College, PA, Minitab Inc, 2010.
- Moore, S., Stein, W.H., 1948. Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. *J. Biol. Chem.* 176, 367–388.
- Morales, A.E., Cardenete, G., Sanz, A., Higuera, M., 1999. Re-evaluation of crude fibre and acid-insoluble ash as inert markers, alternative to chromic oxide, in digestibility studies with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 179, 71–79.
- National Research Council – NRC., 2011. *Nutrient Requirements of Fishes and Shrimp*. Washington: DC. National Academic Press. 376p.
- Queiroz, M.A.A., Susin, I., Pires, A.V., Ferreira, E.M., Mendes, C.Q., Mourão, G.B., 2010. Características físico-químicas de fontes proteicas e suas interações sobre a degradação ruminal e a taxa de passagem. *Rev. Bras. Zootec.* 39, 1587–1594.
- Ringø, E., 1993. Does chromic oxide (Cr₂O₃) affect faecal lipid and intestinal bacterial flora in Arctic charr. *Salvelinus alpinus* (L.)? *Aquac. Res.* 24, 767–776.
- Sadiku, S.O.E., Jauncey, K., 1995. Digestibility, apparent amino acid availability and waste generation potential of soybean flour: poultry meat meal blend based diets for tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. *Aquac. Res.* 26, 651–657.
- Saha, S., Roy, R.N., Sen, S.K., Ray, A.K., 2006. Characterization of cellulase-producing bacteria from the digestive tract of tilapia, *Oreochromis mossambica* (Peters) and grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes). *Aquac. Res.* 37, 380–388.
- Shiau, S.Y., Chen, M.J., 1993. Carbohydrate utilization by tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) as influenced by different chromium sources. *J. Nutr.* 123, 1747–1753.

- Shiau, S.Y., Liang, H.S., 1995. Carbohydrate utilization and digestibility by tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, are affected by chromic oxide inclusion in the diet. J. Nutr. 125, 976–982.
- Shiau, S.Y., Shy, S.M., 1998. Dietary chromic oxide inclusion level required to maximize glucose utilization in hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. Aquaculture 161, 357–364.
- Silva, D., Queiroz, A.C., 2002. Análise de alimentos: Métodos Químicos e Biológicos, 3rd ed. UFV, Viçosa.
- Van Soest, P.J., 1994. Nutritional ecology of the ruminant, 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca.
- Van Soest, P.J., 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds . II . A rapid method for the determination of fiber and lignin. J. Assoc. Official Agric. Chem 46, 829–835.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74, 3583–3597.
- Vasconcellos, R.S., Carciofi, A.C., Oliveira, L.D., Prada, F., Pereira, G.T., 2007. Utilização de indicadores para estimar a digestibilidade aparente em gatos. Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec. 59, 466–472.
- Vidal Jr., M.V., Donzele, J.L., Andrade, D.R. de, Santos, L.C. dos, 2004. Determinação da digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta do fubá de milho e do farelo de soja para tambaqui (*Colossoma macropomum*), utilizando-se técnicas com uso de indicadores internos e externos. Rev. Bras. Zootec. 33, 2193–2200.
- Vidal, L.V.O., Xavier, T.O., Michelato, M., Martins, E.N., Pezzato, L.E., Furuya, W.M., 2015. Apparent protein and energy digestibility and amino acid availability of corn and co-products in extruded diets for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. J. World Aquac. Soc. 46, 183–190.
- Williams, W.J., 1979. Handbook of anion determination. Butterworth–Heinemann, London.
- Xavier, T.O., Michelato, M., Vidal, L.V.O., Furuya, V.R.B., Furuya, W.M., 2014. Apparent protein and energy digestibility and amino acid availability of commercial meat and bone meal for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. J. World Aquac. Soc. 45, 439–446.
- Zanatta, C.P., Gabeloni, L.R., Félix, A.P., Brito, C.B.M., Oliveira, S.G., Maiorka, A., 2013. Metodologias para determinação da digestibilidade de dietas contendo fontes proteicas vegetal ou animal em cães. Ciência Rural 43, 696–701.

Zhou, Q.-C., Yue, Y.-R., 2012. Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*. Aquac. Res. 43, 806–814.

Table 1 Composition of the control diet

Ingredients	%
Soybean meal ¹	56.16
Corn ²	36.77
Soybean oil ³	1.42
L-Lysine ⁴	0.13
DL-Methionine ⁴	0.35
L-Threonine ⁴	0.31
Dicalcium phosphate ⁵	3.96
NaCl ⁵	0.10
Vitamin and mineral mix ⁶	0.50
Choline Chloride	0.13
Vitamin C ⁷	0.05
Antioxidant (BHT) ⁸	0.02
Chromic oxide (Cr ₂ O ₃) ⁹	0.10

¹Cargill Inc., Rio Verde, GO, Brazil.

²Mogiana Alimentos S.A., Campinas, SP, Brazil.

³Bunge Inc., Santos, SP, Brazil.

⁴Ajinomoto Biolatina Inc., Valparaíso, SP, Brazil.

⁵Tortuga Inc., Mairinque, SP, Brazil.

⁶Mineral and vitamin mix (Kg⁻¹ premix): vitamin A, 1000000 UI; vitamin D₃, 500000 UI; vitamin E, 20000 mg; vitamin K₃, 500 mg; vitamin B₁, 1900 mg; vitamin B₂, 2000 mg; vitamin B₆, 2400 mg; vitamin B₁₂, 3500 mcg; vitamin C, 25 g; niacin, 5000 mg; calcium pantothenate, 4800 mg; folic acid, 200 mg; biotin, 40 mg; manganese, 7500 mg; zinc, 25 g; iron, 12.5 g; cooper, 2000 mg; iodine, 200 mg; selenium, 70 mg; antioxidant, 300 mg.

⁷Vitamin C Rovimix® Stay-35, DMS Nutritional Products, Switzerland.

⁸Butylated hydroxytoluene.

⁹Vetec Química Fina Ltda, Duque de Caxias, RJ, Brazil.

Table 2 Proximate composition and amino acid content (% dry matter) of basal and test diets

	BD ¹	FM ²	MBM ³	CSM ⁴	PM ⁵	SBM ⁶	C ⁷	RB ⁸	WM ⁹
<i>Proximate composition</i>									
Dry matter	95.72	94.85	94.09	94.56	93.82	93.51	93.40	94.23	94.19
Gross energy (kJ g ⁻¹)	17.55	18.05	17.08	17.39	17.38	17.40	17.28	17.81	17.05
Crude lipid	2.07	5.34	5.83	1.79	2.06	2.09	1.65	5.14	2.31
Crude protein	29.40	40.73	35.79	30.91	35.62	34.91	22.63	23.96	25.85
Ash	5.04	8.02	12.84	5.15	5.76	5.43	3.67	5.50	5.02
Phosphorus	1.10	1.39	1.90	1.04	0.95	0.99	0.83	1.20	1.01
<i>Essential amino acids</i>									
Arginine	2.09	2.74	2.67	2.81	3.44	2.63	1.55	1.8	1.94
Histidine	0.75	1.11	0.75	0.80	0.79	0.83	0.57	0.58	0.63
Isoleucine	0.91	1.22	0.94	0.86	0.90	1.08	0.68	0.70	0.72
Leucine	2.31	2.99	2.51	2.25	2.48	2.72	1.88	1.86	1.94
Lysine	1.84	2.64	2.10	1.80	1.88	2.21	1.35	1.46	1.53
Phenylalanine	1.40	1.59	1.37	1.49	1.71	1.65	1.08	1.13	1.17
Methionine	0.64	0.94	0.68	0.53	0.52	0.56	0.47	0.5	0.51
Threonine	1.27	1.63	1.29	1.19	1.28	1.42	0.94	1.02	1.05
Tryptophan	0.25	0.28	0.23	0.24	0.28	0.30	0.20	0.20	0.24
Valine	0.92	1.26	1.07	0.94	1.00	1.10	0.72	0.77	0.80
<i>Non-essential amino acids</i>									
Alanine	1.62	2.74	2.42	1.59	1.87	1.84	1.27	1.37	1.43
Aspartic acid	3.04	3.85	2.85	3.05	3.92	3.73	2.23	2.46	2.52
Cystine	0.64	0.69	0.66	0.60	0.67	0.69	0.49	0.53	0.61
Glycine	1.63	4.04	4.37	1.81	2.50	2.03	1.23	1.41	1.58
Glutamic acid	5.33	6.35	5.39	5.91	6.90	6.37	4.14	4.29	4.82
Proline	2.18	3.19	3.55	2.18	2.47	2.59	1.8	1.80	2.06
Serine	1.55	1.98	1.64	1.60	1.91	1.84	1.19	1.24	1.34
Tyrosine	0.84	0.97	0.84	0.77	0.96	0.94	0.66	0.68	0.69

¹Basal diet.²Basal diet + 29.9% fish meal.³Basal diet + 29.9% meat and bone meal.⁴Basal diet + 29.9% cottonseed meal.⁵Basal diet + 29.9% peanut meal.⁶Basal diet + 29.9% soybean meal.⁷Basal diet + 29.9% corn.⁸Basal diet + 29.9% rice bran.⁹Basal diet + 29.9% wheat middlings.

Table 3 Indicator contents in diets and feces (dry matter basis)¹

Component (%)	CD ²	FM ³	MBM ⁴	CSM ⁵	PM ⁶	SBM ⁷	C ⁸	RB ⁹	WM ¹⁰
<i>Diets</i>									
Chromic oxide	0.10	0.10	0.09	0.09	0.10	0.10	0.10	0.10	0.09
Crude fiber	4.66	4.11	4.32	11.26	7.39	6.31	3.57	5.19	6.55
Neutral detergent fiber	16.61	18.84	26.38	30.19	20.44	19.71	12.50	14.57	22.53
Acid detergent fiber	7.04	7.54	6.82	15.82	9.95	8.47	5.45	6.78	9.7
Hemicellulosa	9.57	11.30	19.56	14.37	10.49	11.24	7.05	7.79	12.83
Cellulose	5.45	6.89	6.10	10.55	6.71	7.03	3.85	5.02	7.83
Lignin	-1.32	-1.34	-1.82	2.80	1.17	-1.61	-1.86	0.95	0.94
<i>Feces</i>									
Chromic oxide	0.53 ± 0.01	0.63 ± 0.02	0.39 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.43 ± 0.02	0.49 ± 0.02	0.70 ± 0.01	0.53 ± 0.02	0.33 ± 0.01
Crude fiber	26.89 ± 0.23	29.10 ± 0.22	29.96 ± 0.73	39.44 ± 0.11	38.61 ± 0.45	33.64 ± 0.22	30.15 ± 0.41	30.36 ± 0.44	31.09 ± 0.32
Neutral detergent fiber	63.64 ± 0.26	54.61 ± 0.54	65.61 ± 0.33	74.65 ± 0.11	66.02 ± 0.46	63.57 ± 0.21	56.85 ± 0.68	68.14 ± 0.77	66.63 ± 0.61
Acid detergent fiber	35.28 ± 0.22	31.99 ± 1.33	20.45 ± 0.36	46.73 ± 0.38	41.54 ± 0.50	36.81 ± 0.43	35.89 ± 0.81	35.10 ± 0.20	33.49 ± 0.54
Hemicellulose	28.36 ± 0.47	22.62 ± 1.64	45.16 ± 0.34	27.92 ± 0.32	24.48 ± 0.05	26.76 ± 0.22	20.97 ± 0.40	33.04 ± 0.96	33.14 ± 1.00
Cellulose	29.17 ± 1.17	26.22 ± 0.81	18.28 ± 0.13	32.74 ± 0.41	29.05 ± 0.09	31.58 ± 0.07	29.76 ± 0.70	26.36 ± 0.23	26.63 ± 0.34
Lignin	5.97 ± 0.49	2.20 ± 0.14	1.14 ± 0.04	11.62 ± 0.13	7.85 ± 0.63	4.27 ± 0.08	3.19 ± 0.08	8.02 ± 0.24	4.88 ± 0.08

¹Values expressed as mean (n = 3) ± standard error of the mean (SEM).²Basal diet.³Basal diet + 29.9% fish meal.⁴Basal diet + 29.9% meat and bone meal.⁵Basal diet + 29.9% cottonseed meal.⁶Basal diet + 29.9% peanut meal.⁷Basal diet + 29.9% soybean meal.⁸Basal diet + 29.9% corn.⁹Basal diet + 29.9% rice bran.¹⁰Basal diet + 29.9% wheat middlings.

Table 4 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr₂O₃), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose and cellulose as indicator in Nile tilapia fed basal diet

	Cr ₂ O ₃	CF	NDF	ADF	Hemicellulose	Cellulose
Dry matter	80.91 ± 0.28a	82.67 ± 0.15b	73.90 ± 0.11b	80.04 ± 0.13a	66.24 ± 0.57b	81.26 ± 0.72a
Energy	85.26 ± 0.31a	86.62 ± 0.07b	79.84 ± 0.11b	84.59 ± 0.15a	73.93 ± 0.42b	85.53 ± 0.49a
Crude protein	95.87 ± 0.20a	96.25 ± 0.17a	94.36 ± 0.26b	95.68 ± 0.24a	92.71 ± 0.25b	95.95 ± 0.18a
Phosphorus	65.98 ± 0.90a	69.12 ± 0.16b	53.50 ± 0.47b	64.44 ± 0.61a	39.86 ± 0.77b	66.64 ± 0.89a
<i>Essential amino acids</i>						
Arginine	97.98 ± 0.02a	98.16 ± 0.04a	97.23 ± 0.05b	97.88 ± 0.05a	96.42 ± 0.06b	98.01 ± 0.09a
Histidine	97.38 ± 0.33a	97.61 ± 0.35a	96.40 ± 0.51a	97.25 ± 0.39a	95.34 ± 0.66b	97.40 ± 0.43a
Isoleucine	94.06 ± 0.55a	94.61 ± 0.48a	91.88 ± 0.74a	93.78 ± 0.62a	89.52 ± 0.84b	94.19 ± 0.47a
Leucine	95.34 ± 0.25a	95.76 ± 0.30a	93.62 ± 0.43b	95.12 ± 0.35a	91.75 ± 0.52b	95.41 ± 0.39a
Lysine	96.13 ± 0.14a	96.48 ± 0.09a	94.71 ± 0.15b	95.95 ± 0.16a	93.16 ± 0.11b	96.21 ± 0.10a
Phenylalanine	95.42 ± 0.26a	95.83 ± 0.29a	93.72 ± 0.43b	95.20 ± 0.35a	91.89 ± 0.50b	95.49 ± 0.37a
Methionine	99.65 ± 0.05a	99.68 ± 0.05a	99.52 ± 0.07a	99.64 ± 0.05a	99.38 ± 0.10b	99.66 ± 0.06a
Threonine	95.70 ± 0.11a	96.09 ± 0.18a	94.11 ± 0.25b	95.50 ± 0.20a	92.38 ± 0.34b	95.76 ± 0.30a
Tryptophan	95.94 ± 0.19a	96.30 ± 0.24a	94.43 ± 0.35b	95.74 ± 0.28a	92.80 ± 0.44b	95.99 ± 0.34a
Valine	93.85 ± 0.17a	94.41 ± 0.24a	91.58 ± 0.33b	93.56 ± 0.29a	89.12 ± 0.39b	93.95 ± 0.37a
<i>Non-essential amino acids</i>						
Alanine	94.91 ± 0.18a	95.38 ± 0.12a	93.05 ± 0.19b	94.68 ± 0.20a	91.01 ± 0.14b	95.02 ± 0.14a
Aspartic acid	99.15 ± 0.03a	99.23 ± 0.03a	98.84 ± 0.04b	99.11 ± 0.04a	98.50 ± 0.03b	99.17 ± 0.03a
Cystine	94.89 ± 0.35a	95.35 ± 0.40a	93.00 ± 0.58a	94.64 ± 0.46a	90.95 ± 0.72b	94.96 ± 0.52a
Glycine	92.91 ± 0.34a	93.55 ± 0.41a	90.29 ± 0.59b	92.57 ± 0.48a	87.44 ± 0.72b	93.02 ± 0.56a
Glutamic acid	98.71 ± 0.05a	98.83 ± 0.06a	98.24 ± 0.08b	98.65 ± 0.07a	97.72 ± 0.09b	98.73 ± 0.08a
Proline	94.66 ± 0.07a	95.15 ± 0.13a	92.70 ± 0.18b	94.41 ± 0.16a	90.56 ± 0.23b	94.75 ± 0.26a
Serine	95.33 ± 0.30a	95.75 ± 0.36a	93.60 ± 0.52a	95.11 ± 0.40a	91.72 ± 0.67b	95.39 ± 0.49a
Tyrosine	95.01 ± 0.15a	95.46 ± 0.22a	93.16 ± 0.31b	94.77 ± 0.25a	91.16 ± 0.39b	95.09 ± 0.35a

Values expressed as mean (n = 3) ± standard error of the mean (SEM).

Means in the same row with different letters are statistically different (Dunnett test; P < 0.05).

Table 5 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr₂O₃), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose and cellulose as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% fish meal

	Cr ₂ O ₃	CF	NDF	ADF	Hemicellulose	Cellulose
Dry matter	83.84 ± 0.54a	85.88 ± 0.11a	65.49 ± 0.34b	76.35 ± 0.97b	49.52 ± 3.58b	73.67 ± 0.83b
Energy	88.03 ± 0.40a	89.54 ± 0.08a	74.44 ± 0.25b	82.48 ± 0.72b	62.60 ± 2.65b	80.50 ± 0.62b
Crude protein	94.33 ± 0.19a	95.05 ± 0.04a	87.90 ± 0.12b	91.71 ± 0.34b	82.30 ± 1.26b	90.77 ± 0.29b
Phosphorus	79.89 ± 0.67a	82.42 ± 0.14a	57.05 ± 0.43b	70.56 ± 1.21b	37.17 ± 4.46b	67.23 ± 1.04b
<i>Essential amino acids</i>						
Arginine	95.61 ± 0.15a	96.16 ± 0.03a	90.62 ± 0.09b	93.57 ± 0.26b	86.27 ± 0.97b	92.84 ± 0.23b
Histidine	96.80 ± 0.11a	97.20 ± 0.02a	93.16 ± 0.07b	95.31 ± 0.19b	89.99 ± 0.71b	94.78 ± 0.17b
Isoleucine	95.89 ± 0.14a	96.41 ± 0.03a	91.23 ± 0.09b	93.99 ± 0.25b	87.17 ± 0.91b	93.31 ± 0.21b
Leucine	94.97 ± 0.17a	95.61 ± 0.03a	89.27 ± 0.11b	92.64 ± 0.30b	84.30 ± 1.11b	91.81 ± 0.26b
Lysine	96.33 ± 0.12a	96.79 ± 0.02a	92.16 ± 0.08b	94.62 ± 0.22b	88.53 ± 0.81b	94.02 ± 0.19b
Phenylalanine	94.61 ± 0.18a	95.29 ± 0.04a	88.50 ± 0.11b	92.12 ± 0.32b	83.17 ± 1.19b	91.22 ± 0.28b
Methionine	98.19 ± 0.06a	98.42 ± 0.01a	96.15 ± 0.04b	97.36 ± 0.11b	94.36 ± 0.40b	97.06 ± 0.09b
Threonine	95.14 ± 0.16a	95.75 ± 0.03a	89.63 ± 0.10b	92.89 ± 0.29b	84.82 ± 1.08b	92.09 ± 0.25b
Tryptophan	93.07 ± 0.23a	93.95 ± 0.05a	85.21 ± 0.15b	89.86 ± 0.42b	78.36 ± 1.53b	88.72 ± 0.36b
Valine	95.00 ± 0.17a	95.63 ± 0.03a	89.32 ± 0.11b	92.68 ± 0.30b	84.37 ± 1.11b	91.85 ± 0.26b
<i>Non-essential amino acids</i>						
Alanine	95.11 ± 0.16a	95.72 ± 0.03a	89.55 ± 0.10b	92.84 ± 0.29b	84.71 ± 1.08b	92.03 ± 0.25b
Aspartic acid	98.41 ± 0.05a	98.61 ± 0.01a	96.59 ± 0.03b	97.67 ± 0.10b	95.02 ± 0.35b	97.40 ± 0.08b
Cystine	90.63 ± 0.31a	91.81 ± 0.06a	80.00 ± 0.20b	86.29 ± 0.56b	70.73 ± 2.08b	84.74 ± 0.48b
Glycine	95.00 ± 0.17a	95.63 ± 0.03a	89.32 ± 0.11b	92.68 ± 0.30b	84.38 ± 1.11b	91.85 ± 0.26b
Glutamic acid	98.12 ± 0.06a	98.35 ± 0.01a	95.98 ± 0.04b	97.24 ± 0.11b	94.12 ± 0.42b	96.93 ± 0.10b
Proline	94.83 ± 0.17a	95.48 ± 0.03a	88.97 ± 0.11b	92.44 ± 0.31b	83.86 ± 1.14b	91.58 ± 0.27b
Serine	94.45 ± 0.18a	95.15 ± 0.04a	88.15 ± 0.12b	91.88 ± 0.33b	82.66 ± 1.23b	90.96 ± 0.29b
Tyrosine	94.67 ± 0.18a	95.34 ± 0.04a	88.62 ± 0.11b	92.20 ± 0.32b	83.35 ± 1.18b	91.32 ± 0.28b

Values expressed as mean (n = 3) ± standard error of the mean (SEM).

Means in the same row with different letters are statistically different (Dunnett test; P < 0.05).

Table 6 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr₂O₃), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose and cellulose as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% meat and bone meal

	Cr ₂ O ₃	CF	NDF	ADF	Hemicellulose	Cellulose
Dry matter	75.90 ± 0.52a	85.57 ± 0.35b	59.79 ± 0.20b	66.62 ± 0.58b	56.69 ± 0.33b	66.63 ± 0.24b
Energy	83.44 ± 0.35a	90.08 ± 0.24b	72.37 ± 0.14b	77.07 ± 0.40b	70.24 ± 0.23b	77.07 ± 0.17b
Crude protein	89.03 ± 0.24a	93.43 ± 0.16b	81.70 ± 0.09b	84.81 ± 0.26b	80.29 ± 0.15b	84.81 ± 0.11b
Phosphorus	66.25 ± 0.72a	79.79 ± 0.48b	43.71 ± 0.29b	53.27 ± 0.81b	39.36 ± 0.46b	53.28 ± 0.34b
<i>Essential amino acids</i>						
Arginine	86.91 ± 0.28a	92.16 ± 0.19b	78.16 ± 0.11b	81.87 ± 0.31b	76.48 ± 0.18b	81.88 ± 0.13b
Histidine	91.64 ± 0.18a	95.00 ± 0.12b	86.06 ± 0.07b	88.43 ± 0.20b	84.98 ± 0.11b	88.43 ± 0.08b
Isoleucine	93.59 ± 0.14a	96.16 ± 0.09b	89.31 ± 0.05b	91.12 ± 0.15b	88.48 ± 0.09b	91.12 ± 0.06b
Leucine	91.36 ± 0.19a	94.82 ± 0.12b	85.58 ± 0.07b	88.03 ± 0.21b	84.47 ± 0.12b	88.03 ± 0.09b
Lysine	91.05 ± 0.19a	94.64 ± 0.13b	85.07 ± 0.08b	87.60 ± 0.21b	83.91 ± 0.12b	87.60 ± 0.09b
Phenylalanine	91.55 ± 0.18a	94.94 ± 0.12b	85.91 ± 0.07b	88.31 ± 0.20b	84.82 ± 0.11b	88.31 ± 0.08b
Methionine	95.39 ± 0.10a	97.24 ± 0.07b	92.31 ± 0.04b	93.62 ± 0.11b	91.72 ± 0.06b	93.62 ± 0.05b
Threonine	90.47 ± 0.20a	94.29 ± 0.14b	84.10 ± 0.08b	86.81 ± 0.23b	82.88 ± 0.13b	86.81 ± 0.10b
Tryptophan	89.52 ± 0.22a	93.72 ± 0.15b	82.52 ± 0.09b	85.49 ± 0.25b	81.17 ± 0.14b	85.49 ± 0.11b
Valine	91.66 ± 0.18a	95.01 ± 0.12b	86.10 ± 0.07b	88.46 ± 0.20b	85.02 ± 0.11b	88.46 ± 0.08b
<i>Non-essential amino acids</i>						
Alanine	86.25 ± 0.29a	91.77 ± 0.20b	77.07 ± 0.12b	80.97 ± 0.33b	75.30 ± 0.19b	80.97 ± 0.14b
Aspartic acid	96.36 ± 0.08a	97.82 ± 0.05b	93.93 ± 0.03b	94.96 ± 0.09b	93.46 ± 0.05b	94.96 ± 0.04b
Cystine	79.55 ± 0.44a	87.75 ± 0.29b	65.88 ± 0.17b	71.68 ± 0.49b	63.25 ± 0.28b	71.68 ± 0.21b
Glycine	80.36 ± 0.42a	88.24 ± 0.28b	67.24 ± 0.17b	72.81 ± 0.47b	64.71 ± 0.27b	72.81 ± 0.20b
Glutamic acid	95.21 ± 0.10a	97.13 ± 0.07b	92.02 ± 0.04b	93.37 ± 0.11b	91.40 ± 0.07b	93.37 ± 0.05b
Proline	83.64 ± 0.35a	90.20 ± 0.23b	72.70 ± 0.14b	77.34 ± 0.39b	70.59 ± 0.22b	77.34 ± 0.16b
Serine	87.51 ± 0.27a	92.52 ± 0.18b	79.16 ± 0.11b	82.70 ± 0.30b	77.55 ± 0.17b	82.70 ± 0.13b
Tyrosine	91.39 ± 0.18a	94.84 ± 0.12b	85.64 ± 0.07b	88.08 ± 0.21b	84.53 ± 0.12b	88.08 ± 0.09b

Values expressed as mean ± standard error of the mean.

Means in the same row with different letters are statistically different (Dunnett test; P < 0.05).

Table 7 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr₂O₃), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose, cellulose and lignin as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% cottonseed meal

	Cr ₂ O ₃	CF	NDF	ADF	Hemicellulose	Cellulose	Lignin
Dry matter	66.38 ± 0.91a	71.45 ± 0.08b	59.56 ± 0.06b	66.14 ± 0.28a	48.52 ± 0.58b	67.76 ± 0.41a	75.90 ± 0.27b
Energy	68.89 ± 0.84a	73.58 ± 0.07b	62.57 ± 0.06b	68.67 ± 0.26a	52.36 ± 0.53b	70.17 ± 0.38a	77.70 ± 0.25b
Crude protein	91.18 ± 0.24a	92.51 ± 0.02b	89.39 ± 0.02b	91.12 ± 0.07a	86.49 ± 0.15b	91.54 ± 0.11a	93.68 ± 0.07b
Phosphorus	57.65 ± 1.14a	64.04 ± 0.10b	49.06 ± 0.08b	57.35 ± 0.35a	35.15 ± 0.73b	59.39 ± 0.51a	69.65 ± 0.34b
<i>Essential amino acids</i>							
Arginine	93.90 ± 0.16a	94.82 ± 0.01b	92.66 ± 0.01b	93.85 ± 0.05a	90.66 ± 0.10b	94.15 ± 0.07a	95.63 ± 0.05b
Histidine	92.85 ± 0.19a	93.93 ± 0.02b	91.41 ± 0.01b	92.80 ± 0.06a	89.06 ± 0.12b	93.15 ± 0.09a	94.88 ± 0.06b
Isoleucine	94.14 ± 0.16a	95.02 ± 0.01b	92.95 ± 0.01b	94.09 ± 0.05a	91.02 ± 0.10b	94.38 ± 0.07a	95.80 ± 0.05b
Leucine	92.08 ± 0.21a	93.28 ± 0.02b	90.47 ± 0.01b	92.02 ± 0.07a	87.87 ± 0.14b	92.41 ± 0.10a	94.32 ± 0.06b
Lysine	90.10 ± 0.27a	91.59 ± 0.02b	88.09 ± 0.02b	90.03 ± 0.08a	84.84 ± 0.17b	90.51 ± 0.12a	92.91 ± 0.08b
Phenylalanine	93.68 ± 0.17a	94.64 ± 0.01b	92.40 ± 0.01b	93.64 ± 0.05a	90.33 ± 0.11b	93.94 ± 0.08a	95.47 ± 0.05b
Methionine	96.19 ± 0.10a	96.77 ± 0.01b	95.42 ± 0.01b	96.17 ± 0.03a	94.17 ± 0.07b	96.35 ± 0.05a	97.27 ± 0.03b
Threonine	91.52 ± 0.23a	92.80 ± 0.02b	89.80 ± 0.02b	91.46 ± 0.07a	87.02 ± 0.15b	91.87 ± 0.10a	93.93 ± 0.07b
Tryptophan	95.80 ± 0.11a	96.43 ± 0.01b	94.94 ± 0.01b	95.77 ± 0.03a	93.56 ± 0.07b	95.97 ± 0.05a	96.99 ± 0.03b
Valine	94.28 ± 0.15a	95.14 ± 0.01b	93.12 ± 0.01b	94.24 ± 0.05a	91.24 ± 0.10b	94.51 ± 0.07a	95.90 ± 0.05b
<i>Non-essential amino acids</i>							
Alanine	90.70 ± 0.25a	92.10 ± 0.02b	88.81 ± 0.02b	90.63 ± 0.08a	85.75 ± 0.16b	91.08 ± 0.11a	93.33 ± 0.07b
Aspartic acid	96.47 ± 0.10a	97.00 ± 0.01b	95.76 ± 0.01b	96.45 ± 0.03a	94.60 ± 0.06b	96.62 ± 0.04a	97.47 ± 0.03b
Cystine	85.43 ± 0.39a	87.63 ± 0.03b	82.47 ± 0.03b	85.33 ± 0.12a	77.69 ± 0.25b	86.03 ± 0.18a	89.56 ± 0.12b
Glycine	83.84 ± 0.44a	86.28 ± 0.04b	80.56 ± 0.03b	83.72 ± 0.13a	75.25 ± 0.28b	84.50 ± 0.20a	88.42 ± 0.13b
Glutamic acid	95.51 ± 0.12a	96.18 ± 0.01b	94.59 ± 0.01b	95.47 ± 0.04a	93.12 ± 0.08b	95.69 ± 0.05a	96.78 ± 0.04b
Proline	86.27 ± 0.37a	88.35 ± 0.03b	83.49 ± 0.02b	86.18 ± 0.11a	78.98 ± 0.24b	86.84 ± 0.17a	90.16 ± 0.11b
Serine	88.65 ± 0.31a	90.37 ± 0.03b	86.35 ± 0.02b	88.57 ± 0.09a	82.62 ± 0.19b	89.12 ± 0.14a	91.87 ± 0.09b
Tyrosine	92.58 ± 0.20a	93.70 ± 0.02b	91.07 ± 0.01b	92.52 ± 0.06a	88.63 ± 0.13b	92.88 ± 0.09a	94.68 ± 0.06b

Values expressed as mean ± standard error of the mean.

Means in the same row with different letters are statistically different (Dunnett test; P < 0.05).

Table 8 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr₂O₃), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose, cellulose and lignin as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% peanut meal

	Cr ₂ O ₃	CF	NDF	ADF	Hemicellulose	Cellulose	Lignin
Dry matter	76.04 ± 1.06a	80.85 ± 0.22b	69.04 ± 0.21b	76.04 ± 0.29a	57.15 ± 0.09b	76.90 ± 0.07a	84.89 ± 1.30b
Energy	80.67 ± 0.86a	84.56 ± 0.18b	75.03 ± 0.17b	80.67 ± 0.23a	65.44 ± 0.07b	81.37 ± 0.06a	87.81 ± 1.05b
Crude protein	93.99 ± 0.27a	95.20 ± 0.05b	92.24 ± 0.05b	93.99 ± 0.07a	89.26 ± 0.02b	94.21 ± 0.02a	96.21 ± 0.32b
Phosphorus	58.89 ± 1.83a	67.15 ± 0.38b	46.87 ± 0.36b	58.89 ± 0.49a	26.48 ± 0.15b	60.37 ± 0.12a	74.07 ± 2.22b
<i>Essential amino acids</i>							
Arginine	97.35 ± 0.12a	97.89 ± 0.02b	96.58 ± 0.02b	97.35 ± 0.03a	95.27 ± 0.01b	97.45 ± 0.01a	98.33 ± 0.14b
Histidine	95.15 ± 0.22a	96.12 ± 0.04b	93.73 ± 0.04b	95.15 ± 0.06a	91.32 ± 0.02b	95.32 ± 0.01a	96.94 ± 0.26b
Isoleucine	93.61 ± 0.28a	94.89 ± 0.06b	91.74 ± 0.06b	93.61 ± 0.08a	88.57 ± 0.02b	93.84 ± 0.02a	95.97 ± 0.35b
Leucine	95.17 ± 0.21a	96.14 ± 0.04b	93.76 ± 0.04b	95.17 ± 0.06a	91.36 ± 0.02b	95.34 ± 0.01a	96.95 ± 0.26b
Lysine	95.16 ± 0.22a	96.13 ± 0.04b	93.74 ± 0.04b	95.16 ± 0.06a	91.34 ± 0.02b	95.33 ± 0.01a	96.95 ± 0.26b
Phenylalanine	95.94 ± 0.18a	96.75 ± 0.04b	94.75 ± 0.04b	95.94 ± 0.05a	92.73 ± 0.01b	96.08 ± 0.01a	97.44 ± 0.22b
Methionine	98.62 ± 0.06a	98.90 ± 0.01b	98.21 ± 0.01b	98.62 ± 0.02a	97.53 ± 0.00b	98.67 ± 0.00a	99.13 ± 0.07b
Threonine	94.76 ± 0.23a	95.81 ± 0.05b	93.23 ± 0.05b	94.76 ± 0.06a	90.63 ± 0.02b	94.95 ± 0.02a	96.69 ± 0.28b
Tryptophan	95.72 ± 0.19a	96.58 ± 0.04b	94.47 ± 0.04b	95.72 ± 0.05a	92.35 ± 0.02b	95.88 ± 0.01a	97.30 ± 0.23b
Valine	93.29 ± 0.30a	94.64 ± 0.06b	91.33 ± 0.06b	93.29 ± 0.08a	88.00 ± 0.02b	93.53 ± 0.02a	95.77 ± 0.36b
<i>Non-essential amino acids</i>							
Alanine	94.23 ± 0.26a	95.39 ± 0.05b	92.55 ± 0.05b	94.23 ± 0.07a	89.69 ± 0.02b	94.44 ± 0.02a	96.36 ± 0.31b
Aspartic acid	99.08 ± 0.04a	99.27 ± 0.01b	98.82 ± 0.01b	99.08 ± 0.01a	98.36 ± 0.00b	99.12 ± 0.00a	99.42 ± 0.05b
Cystine	90.34 ± 0.43a	92.28 ± 0.09b	87.52 ± 0.09b	90.34 ± 0.12a	82.73 ± 0.03b	90.69 ± 0.03a	93.91 ± 0.52b
Glycine	91.37 ± 0.38a	93.11 ± 0.08b	88.85 ± 0.08b	91.37 ± 0.10a	84.57 ± 0.03b	91.68 ± 0.02a	94.56 ± 0.47b
Glutamic acid	98.54 ± 0.06a	98.83 ± 0.01b	98.12 ± 0.01b	98.54 ± 0.02a	97.39 ± 0.01b	98.59 ± 0.00a	99.08 ± 0.08b
Proline	91.85 ± 0.36a	93.49 ± 0.07b	89.47 ± 0.07b	91.85 ± 0.10a	85.43 ± 0.03b	92.14 ± 0.02a	94.86 ± 0.44b
Serine	94.36 ± 0.25a	95.49 ± 0.05b	92.70 ± 0.05b	94.36 ± 0.07a	89.90 ± 0.02b	94.56 ± 0.02a	96.44 ± 0.31b
Tyrosine	94.01 ± 0.27a	95.21 ± 0.05b	92.26 ± 0.05b	94.01 ± 0.07a	89.29 ± 0.02b	94.23 ± 0.02a	96.22 ± 0.32b

Values expressed as mean ± standard error of the mean.

Means in the same row with different letters are statistically different (Dunnett test; P < 0.05).

Table 9 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr₂O₃), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose and cellulose as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% soybean meal

	Cr ₂ O ₃	CF	NDF	ADF	Hemicellulose	Cellulose
Dry matter	78.75 ± 1.12a	81.24 ± 0.12b	68.99 ± 0.10b	76.98 ± 0.27a	57.99 ± 0.34b	77.74 ± 0.05a
Energy	82.72 ± 0.91a	84.74 ± 0.10b	74.78 ± 0.09b	81.28 ± 0.22a	65.82 ± 0.28b	81.89 ± 0.04a
Crude protein	95.34 ± 0.24a	95.89 ± 0.03b	93.21 ± 0.02b	94.96 ± 0.06a	90.79 ± 0.08b	95.12 ± 0.01a
Phosphorus	63.30 ± 1.93a	67.60 ± 0.21b	46.44 ± 0.18b	60.24 ± 0.47a	27.43 ± 0.59b	61.55 ± 0.08a
<i>Essential amino acids</i>						
Arginine	96.53 ± 0.18a	96.93 ± 0.02b	94.93 ± 0.02b	96.24 ± 0.04a	93.13 ± 0.06b	96.36 ± 0.01a
Histidine	97.70 ± 0.12a	97.97 ± 0.01b	96.64 ± 0.01b	97.50 ± 0.03a	95.44 ± 0.04b	97.59 ± 0.01a
Isoleucine	96.07 ± 0.21a	96.53 ± 0.02b	94.26 ± 0.02b	95.74 ± 0.05a	92.22 ± 0.06b	95.88 ± 0.01a
Leucine	97.03 ± 0.16a	97.38 ± 0.02b	95.67 ± 0.01b	96.78 ± 0.04a	94.13 ± 0.05b	96.89 ± 0.01a
Lysine	96.83 ± 0.17a	97.20 ± 0.02b	95.37 ± 0.02b	96.56 ± 0.04a	93.73 ± 0.05b	96.68 ± 0.01a
Phenylalanine	97.04 ± 0.16a	97.39 ± 0.02b	95.68 ± 0.01b	96.79 ± 0.04a	94.14 ± 0.05b	96.90 ± 0.01a
Methionine	98.86 ± 0.06a	99.00 ± 0.01b	98.34 ± 0.01b	98.77 ± 0.01a	97.75 ± 0.02b	98.81 ± 0.00a
Threonine	96.56 ± 0.18a	96.96 ± 0.02b	94.98 ± 0.02b	96.27 ± 0.04a	93.19 ± 0.06b	96.39 ± 0.01a
Tryptophan	96.46 ± 0.19a	96.87 ± 0.02b	94.83 ± 0.02b	96.16 ± 0.05a	93.00 ± 0.06b	96.29 ± 0.01a
Valine	96.33 ± 0.19a	96.76 ± 0.02b	94.64 ± 0.02b	96.02 ± 0.05a	92.74 ± 0.06b	96.16 ± 0.01a
<i>Non-essential amino acids</i>						
Alanine	94.69 ± 0.28a	95.31 ± 0.03b	92.25 ± 0.03b	94.25 ± 0.07a	89.50 ± 0.09b	94.44 ± 0.01a
Aspartic acid	98.80 ± 0.06a	98.94 ± 0.01b	98.25 ± 0.01b	98.70 ± 0.02a	97.63 ± 0.02b	98.75 ± 0.00a
Cystine	92.92 ± 0.37a	93.75 ± 0.04b	89.66 ± 0.03b	92.33 ± 0.09a	86.00 ± 0.11b	92.58 ± 0.02a
Glycine	91.00 ± 0.47a	92.05 ± 0.05b	86.86 ± 0.04b	90.25 ± 0.12a	82.20 ± 0.15b	90.57 ± 0.02a
Glutamic acid	98.30 ± 0.09a	98.50 ± 0.01b	97.52 ± 0.01b	98.16 ± 0.02a	96.64 ± 0.03b	98.22 ± 0.00a
Proline	95.08 ± 0.26a	95.65 ± 0.03b	92.82 ± 0.02b	94.67 ± 0.06a	90.27 ± 0.08b	94.84 ± 0.01a
Serine	95.27 ± 0.25a	95.82 ± 0.03b	93.09 ± 0.02b	94.87 ± 0.06a	90.64 ± 0.08b	95.04 ± 0.01a
Tyrosine	95.25 ± 0.25a	95.81 ± 0.03b	93.07 ± 0.02b	94.86 ± 0.06a	90.61 ± 0.08b	95.03 ± 0.01a

Values expressed as mean (n = 3) ± standard error of the mean (SEM).

Means in the same row with different letters are statistically different (Dunnett test; P < 0.05).

Table 10 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr₂O₃), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose and cellulose as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% corn

	Cr ₂ O ₃	CF	NDF	ADF	Hemicellulose	Cellulose
Dry matter	85.36 ± 0.10a	88.15 ± 0.16b	78.01 ± 0.26b	84.80 ± 0.35a	66.35 ± 0.66b	87.05 ± 0.30b
Energy	87.58 ± 0.08a	89.95 ± 0.14b	81.34 ± 0.22b	87.10 ± 0.30a	71.45 ± 0.56b	89.01 ± 0.26b
Crude protein	93.35 ± 0.04a	94.62 ± 0.07b	90.01 ± 0.12b	93.09 ± 0.16a	84.71 ± 0.30b	94.12 ± 0.14b
Phosphorus	66.13 ± 0.22a	72.60 ± 0.37b	49.13 ± 0.61b	64.83 ± 0.81a	22.16 ± 1.53b	70.04 ± 0.70b
<i>Essential amino acids</i>						
Arginine	95.47 ± 0.03a	96.33 ± 0.05b	93.19 ± 0.08b	95.29 ± 0.11a	89.58 ± 0.20b	95.99 ± 0.09b
Histidine	96.40 ± 0.02a	97.09 ± 0.04b	94.60 ± 0.06b	96.27 ± 0.09a	91.74 ± 0.16b	96.82 ± 0.07b
Isoleucine	89.66 ± 0.07a	91.64 ± 0.11b	84.48 ± 0.19b	89.27 ± 0.25a	76.25 ± 0.47b	90.86 ± 0.21b
Leucine	94.63 ± 0.04a	95.65 ± 0.06b	91.93 ± 0.10b	94.42 ± 0.13a	87.65 ± 0.24b	95.25 ± 0.11b
Lysine	93.71 ± 0.04a	94.91 ± 0.07b	90.55 ± 0.11b	93.47 ± 0.15a	85.54 ± 0.28b	94.44 ± 0.13b
Phenylalanine	94.58 ± 0.04a	95.61 ± 0.06b	91.85 ± 0.10b	94.37 ± 0.13a	87.54 ± 0.24b	95.20 ± 0.11b
Methionine	99.38 ± 0.00a	99.50 ± 0.01b	99.06 ± 0.01b	99.35 ± 0.01a	98.57 ± 0.03b	99.45 ± 0.01b
Threonine	93.30 ± 0.04a	94.58 ± 0.07b	89.94 ± 0.12b	93.05 ± 0.16a	84.61 ± 0.30b	94.08 ± 0.14b
Tryptophan	95.61 ± 0.03a	96.45 ± 0.05b	93.40 ± 0.08b	95.44 ± 0.11a	89.90 ± 0.20b	96.11 ± 0.09b
Valine	90.85 ± 0.06a	92.60 ± 0.10b	86.25 ± 0.16b	90.50 ± 0.22a	78.97 ± 0.41b	91.91 ± 0.19b
<i>Non-essential amino acids</i>						
Alanine	93.89 ± 0.04a	95.06 ± 0.07b	90.82 ± 0.11b	93.66 ± 0.15a	85.96 ± 0.28b	94.60 ± 0.13b
Aspartic acid	97.83 ± 0.01a	98.25 ± 0.02b	96.75 ± 0.04b	97.75 ± 0.05a	95.02 ± 0.10b	98.08 ± 0.04b
Cystine	92.23 ± 0.05a	93.71 ± 0.09b	88.33 ± 0.14b	91.93 ± 0.19a	82.14 ± 0.35b	93.13 ± 0.16b
Glycine	90.48 ± 0.06a	92.30 ± 0.10b	85.70 ± 0.17b	90.11 ± 0.23a	78.11 ± 0.43b	91.58 ± 0.20b
Glutamic acid	97.77 ± 0.01a	98.20 ± 0.02b	96.65 ± 0.04b	97.69 ± 0.05a	94.88 ± 0.10b	98.03 ± 0.05b
Proline	94.31 ± 0.04a	95.39 ± 0.06b	91.45 ± 0.10b	94.09 ± 0.14a	86.91 ± 0.26b	94.96 ± 0.12b
Serine	93.36 ± 0.04a	94.62 ± 0.07b	90.02 ± 0.12b	93.10 ± 0.16a	84.73 ± 0.30b	94.12 ± 0.14b
Tyrosine	93.34 ± 0.04a	94.62 ± 0.07b	90.00 ± 0.12b	93.09 ± 0.16a	84.70 ± 0.30b	94.11 ± 0.14b

Values expressed as mean (n = 3) ± standard error of the mean (SEM).

Means in the same row with different letters are statistically different (Dunnett test; P < 0.05).

Table 11 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr₂O₃), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose, cellulose and lignin as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% rice bran

	Cr ₂ O ₃	CF	NDF	ADF	Hemicellulose	Cellulose	Lignin
Dry matter	81.62 ± 0.77a	82.90 ± 0.24a	78.61 ± 0.25b	80.68 ± 0.11a	76.38 ± 0.71b	80.95 ± 0.16a	88.13 ± 0.35b
Energy	85.51 ± 0.61a	86.52 ± 0.19a	83.14 ± 0.19b	84.77 ± 0.09a	81.38 ± 0.56b	84.99 ± 0.13a	90.64 ± 0.28b
Crude protein	90.89 ± 0.38a	91.53 ± 0.12a	89.40 ± 0.12b	90.43 ± 0.05a	88.30 ± 0.35b	90.56 ± 0.08a	94.12 ± 0.17b
Phosphorus	65.69 ± 1.43a	68.08 ± 0.46a	60.08 ± 0.46b	63.94 ± 0.21a	55.92 ± 1.32b	64.45 ± 0.30a	77.84 ± 0.65b
<i>Essential amino acids</i>							
Arginine	93.06 ± 0.29a	93.54 ± 0.09a	91.92 ± 0.09b	92.70 ± 0.04a	91.08 ± 0.27b	92.80 ± 0.06a	95.52 ± 0.13b
Histidine	93.66 ± 0.27a	94.10 ± 0.08a	92.63 ± 0.08b	93.34 ± 0.04a	91.86 ± 0.24b	93.43 ± 0.06a	95.91 ± 0.12b
Isoleucine	93.17 ± 0.29a	93.65 ± 0.09a	92.06 ± 0.09b	92.82 ± 0.04a	91.23 ± 0.26b	92.93 ± 0.06a	95.59 ± 0.13b
Leucine	91.70 ± 0.35a	92.28 ± 0.11a	90.34 ± 0.11b	91.28 ± 0.05a	89.33 ± 0.32b	91.40 ± 0.07a	94.64 ± 0.16b
Lysine	92.82 ± 0.30a	93.32 ± 0.10a	91.65 ± 0.10b	92.46 ± 0.04a	90.78 ± 0.28b	92.56 ± 0.06a	95.37 ± 0.14b
Phenylalanine	93.01 ± 0.29a	93.49 ± 0.09a	91.86 ± 0.09b	92.65 ± 0.04a	91.01 ± 0.27b	92.75 ± 0.06a	95.48 ± 0.13b
Methionine	95.96 ± 0.17a	96.24 ± 0.05a	95.29 ± 0.05b	95.75 ± 0.02a	94.80 ± 0.16b	95.81 ± 0.04a	97.39 ± 0.08b
Threonine	91.35 ± 0.36a	91.95 ± 0.11a	89.94 ± 0.12b	90.91 ± 0.05a	88.89 ± 0.33b	91.04 ± 0.08a	94.41 ± 0.16b
Tryptophan	96.32 ± 0.15a	96.58 ± 0.05a	95.72 ± 0.05b	96.14 ± 0.02a	95.28 ± 0.14b	96.19 ± 0.03a	97.63 ± 0.07b
Valine	92.36 ± 0.32a	92.89 ± 0.10a	91.11 ± 0.10b	91.97 ± 0.05a	90.19 ± 0.29b	92.08 ± 0.07a	95.07 ± 0.15b
<i>Non-essential amino acids</i>							
Alanine	89.94 ± 0.42a	90.64 ± 0.13a	88.29 ± 0.13b	89.42 ± 0.06a	87.07 ± 0.39b	89.57 ± 0.09a	93.50 ± 0.19b
Aspartic acid	97.39 ± 0.11a	97.57 ± 0.03a	96.96 ± 0.03b	97.25 ± 0.02a	96.64 ± 0.10b	97.29 ± 0.02a	98.31 ± 0.05b
Cystine	84.74 ± 0.64a	85.80 ± 0.20a	82.24 ± 0.20b	83.96 ± 0.09a	80.39 ± 0.59b	84.19 ± 0.13a	90.14 ± 0.29b
Glycine	85.14 ± 0.62a	86.17 ± 0.20a	82.71 ± 0.20b	84.38 ± 0.09a	80.91 ± 0.57b	84.60 ± 0.13a	90.40 ± 0.28b
Glutamic acid	95.89 ± 0.17a	96.17 ± 0.05a	95.21 ± 0.05b	95.68 ± 0.02a	94.72 ± 0.16b	95.74 ± 0.04a	97.34 ± 0.08b
Proline	86.42 ± 0.57a	87.36 ± 0.18a	84.20 ± 0.18b	85.73 ± 0.08a	82.55 ± 0.52b	85.93 ± 0.12a	91.23 ± 0.26b
Serine	89.92 ± 0.42a	90.62 ± 0.13a	88.27 ± 0.13b	89.41 ± 0.06a	87.05 ± 0.39b	89.55 ± 0.09a	93.49 ± 0.19b
Tyrosine	90.27 ± 0.41a	90.95 ± 0.13a	88.68 ± 0.13b	89.77 ± 0.06a	87.50 ± 0.38b	89.92 ± 0.09a	93.72 ± 0.19b

Values expressed as mean ± standard error of the mean.

Means in the same row with different letters are statistically different (Dunnett test; P < 0.05).

Table 12 Apparent digestibility coefficients (%) of dry matter, energy and nutrients estimated using chromic oxide (Cr₂O₃), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), hemicellulose, cellulose and lignin as indicator in Nile tilapia fed basal diet + 29.9% wheat middlings

	Cr ₂ O ₃	CF	NDF	ADF	Hemicellulose	Cellulose	Lignin
Dry matter	71.50 ± 0.29a	78.93 ± 0.22b	66.18 ± 0.31b	71.02 ± 0.46a	61.22 ± 1.15b	70.58 ± 0.38a	80.74 ± 0.31b
Energy	72.69 ± 0.28a	79.81 ± 0.21b	67.59 ± 0.30b	72.23 ± 0.44a	62.84 ± 1.10b	71.81 ± 0.37a	81.54 ± 0.30b
Crude protein	89.81 ± 0.10a	92.47 ± 0.08b	87.91 ± 0.11b	89.64 ± 0.17a	86.14 ± 0.41b	89.49 ± 0.14a	93.12 ± 0.11b
Phosphorus	55.97 ± 0.45a	67.45 ± 0.33b	47.77 ± 0.48b	55.25 ± 0.71a	40.10 ± 1.77b	54.56 ± 0.59a	70.25 ± 0.48b
<i>Essential amino acids</i>							
Arginine	92.21 ± 0.08a	94.24 ± 0.06b	90.76 ± 0.08b	92.08 ± 0.13a	89.40 ± 0.31b	91.96 ± 0.10a	94.74 ± 0.08b
Histidine	95.02 ± 0.05a	96.32 ± 0.04b	94.10 ± 0.05b	94.94 ± 0.08a	93.23 ± 0.20b	94.86 ± 0.07a	96.64 ± 0.05b
Isoleucine	89.31 ± 0.11a	92.10 ± 0.08b	87.32 ± 0.12b	89.13 ± 0.17a	85.46 ± 0.43b	88.97 ± 0.14a	92.78 ± 0.12b
Leucine	92.07 ± 0.08a	94.13 ± 0.06b	90.59 ± 0.09b	91.93 ± 0.13a	89.20 ± 0.32b	91.81 ± 0.11a	94.64 ± 0.09b
Lysine	92.36 ± 0.08a	94.35 ± 0.06b	90.94 ± 0.08b	92.24 ± 0.12a	89.61 ± 0.31b	92.12 ± 0.10a	94.84 ± 0.08b
Phenylalanine	92.20 ± 0.08a	94.24 ± 0.06b	90.75 ± 0.08b	92.07 ± 0.13a	89.39 ± 0.31b	91.95 ± 0.10a	94.73 ± 0.09b
Methionine	97.76 ± 0.02a	98.35 ± 0.02b	97.35 ± 0.02b	97.73 ± 0.04a	96.96 ± 0.09b	97.69 ± 0.03a	98.49 ± 0.02b
Threonine	92.40 ± 0.08a	94.38 ± 0.06b	90.98 ± 0.08b	92.27 ± 0.12a	89.66 ± 0.31b	92.16 ± 0.10a	94.86 ± 0.08b
Tryptophan	96.44 ± 0.04a	97.37 ± 0.03b	95.77 ± 0.04b	96.38 ± 0.06a	95.15 ± 0.14b	96.32 ± 0.05a	97.59 ± 0.04b
Valine	88.95 ± 0.11a	91.83 ± 0.08b	86.90 ± 0.12b	88.77 ± 0.18a	84.97 ± 0.45b	88.60 ± 0.15a	92.54 ± 0.12b
<i>Non-essential amino acids</i>							
Alanine	88.84 ± 0.11a	91.75 ± 0.08b	86.76 ± 0.12b	88.65 ± 0.18a	84.81 ± 0.45b	88.48 ± 0.15a	92.46 ± 0.12b
Aspartic acid	96.38 ± 0.04a	97.32 ± 0.03b	95.71 ± 0.04b	96.32 ± 0.06a	95.08 ± 0.15b	96.26 ± 0.05a	97.55 ± 0.04b
Cystine	85.05 ± 0.15a	88.95 ± 0.11b	82.26 ± 0.16b	84.80 ± 0.24a	79.65 ± 0.60b	84.57 ± 0.20a	89.90 ± 0.16b
Glycine	87.19 ± 0.13a	90.53 ± 0.10b	84.80 ± 0.14b	86.98 ± 0.21a	82.57 ± 0.52b	86.78 ± 0.17a	91.35 ± 0.14b
Glutamic acid	96.63 ± 0.03a	97.51 ± 0.03b	96.00 ± 0.04b	96.57 ± 0.05a	95.41 ± 0.14b	96.52 ± 0.05a	97.72 ± 0.04b
Proline	92.11 ± 0.08a	94.17 ± 0.06b	90.64 ± 0.09b	91.98 ± 0.13a	89.27 ± 0.32b	91.86 ± 0.11a	94.67 ± 0.09b
Serine	92.13 ± 0.08a	94.18 ± 0.06b	90.66 ± 0.09b	92.00 ± 0.13a	89.29 ± 0.32b	91.88 ± 0.11a	94.68 ± 0.09b
Tyrosine	90.50 ± 0.10a	92.98 ± 0.07b	88.73 ± 0.10b	90.34 ± 0.15a	87.07 ± 0.38b	90.19 ± 0.13a	93.58 ± 0.10b

Values expressed as mean ± standard error of the mean.

Means in the same row with different letters are statistically different (Dunnett test; P < 0.05).

CAPÍTULO IV

IMPLICAÇÕES

Esta pesquisa demonstrou, baseado nos resultados obtidos nos dois ensaios conduzidos, que a fibra em detergente ácido e a celulose são efetivos indicadores de digestibilidade para dietas formuladas exclusivamente com ingredientes de origem vegetal. Entretanto, a validade da celulose como indicador pode ser dependente de nível mínimo presente na dieta.

Para avaliação de dietas contendo ingredientes de origem animal, recomenda-se a realização de estudo efetuando as correções analíticas listadas no Capítulo III para a determinação da FDA e celulose.

A fibra bruta, fibra em detergente neutro e hemicelulose mostraram-se ineficientes na averiguação dos coeficientes de digestibilidade aparente, sendo a utilização destes indicadores não recomendada.

À utilização do método gravimétrico para determinação da lignina mostrou-se impreciso, possivelmente devido ao baixo teor desta fração nas amostras analisadas. Desta maneira, recomenda-se a determinação desta fração por diferente metodologia para posterior reavaliação desta como indicador interno de digestibilidade para a tilápia do Nilo.