

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

Diretor: Prof. Dr. João Soares Veiga

ESTUDO PRELIMINAR SÔBRE A APLICABILIDADE DO MÉTODO DOS INDICADORES — ÓXIDO CRÔMICO E LIGNINA — PARA A AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE APARENTE NO COELHO

(PRELIMINARY STUDY ON THE APPLICABILITY OF THE CHROMIC OXIDE AND LIGNIN METHODS IN DETERMINING THE APPARENT DIGESTIBILITY IN BABBIT)

FERNANDO ANDREASI
Assistente-Doc-Liv.

Comparados a outras espécies de interesse econômico, restritos são os conhecimentos acêrca da nutrição e fisiologia no coelho.

De exploração bem limitada, no nosso meio, o coelho é, contudo, transformador eficiente das forragens de pequenas áreas, em alimento útil para o homem.

Na literatura ao nosso alcance, é reduzido o número de trabalhos atinentes ao uso das substâncias índices para a avaliação da digestibilidade aparente, no coelho, maximé no que se relaciona aos métodos da lignina e do óxido crômico.

CRAMPTON e MAYNARD (1938) e LOOSLI e MAYNARD (1940) concluíram que a lignina dietética não é apreciavelmente metabolizada no organismo do coelho.

DRUCE e WILLCOX (1949) estudaram, nesta espécie, diferentes indicadores e verificaram que o método químico proposto por CRAMPTON e MAYNARD, para a obtenção da lignina, oferece resultados mais elevados em confronto com o de NORMAN e JENKINS (1934a).

HUANG e col. (1954) utilizando celhos adultos, assinalaram valores satisfatórios quando o óxido crômico é usado para estudos da digestibilidade.

O presente trabalho* foi empreendido com o escôpo de obter esclarecimentos sôbre a aplicabilidade dos métodos do óxido crômico e lignina no coelho e colocá-la em cotejo com o convencional clássico.

MATERIAL E MÉTODO

1 — Animais e Gaiolas:

Para êste estudo, empregamos coelhos da raça Silver Marten — dois machos e duas fêmeas — a idade dos quais era de sessenta e três dias.

Os animais foram colocados em gaiolas especiais, cujo piso de tela permitia a passagem das fezes, as quais eram recebidas em bandeja situada inferiormente. Esta última, de forma afunilada, orientava a urina para recipiente colocado sob a gaiola. Desta maneira, fezes e urina eram separadas.

2 — Ração:

Os celhos foram alimentados com mistura balanceada, comercialmente conhecida pela denominação de "Dog Meal".

A composição da ração é apresentada na tabela I.

TABELA I
COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO SOBRE A MATÉRIA SECA (%)

M. S.	Prot. Bruta	Extracto etéreo	Celulose	Lignina	"Outros Carboidratos" (+)	Carboidratos totais	Matéria Orgânica	Calorias	Cinzas	Cr ₂ O ₃
92,4	29,0	16,0	4,2	1,3	40,8	46,3	91,3	453,9	8,7	0,5

(+) "Outros Carboidratos" = 100 - (proteína + extracto etéreo + celulose + lignina + cinzas).

* Parte do trabalho foi realizada no Departamento de Bioquímica, da Universidade de Cornell (Ithaca).

3 — Preparo e administração da ração:

Durante o período de ajustamento — quatro dias — os animais foram alimentados “ad libitum”, com o fito de os habituar à nova dieta. Em seguida, o óxido crômico (Cr_2O_3) foi acrescentado à ração, observadas as normas seguintes:

- 1) Colcamos amostra da mistura, em estufa a 103°C durante vinte e quatro horas e inferimos o conteúdo de matéria seca, cujo valor médio foi de 92,4%.
- 2) Pesamos seis quilogramas da mistura úmida — Dog Meal — à qual adicionamos 27,7 g de óxido crômico de sorte a fornecer teor equivalente de 0,5% de óxido crômico à matéria seca.
- 3) O óxido crômico foi uniformemente distribuído à ração à custa de um misturador elétrico (Hobart Mixer Model S-601).
- 4) Transferimos a mistura resultante para recipiente de vidro, munido de rosca.

Dêste modo, preparamos a mistura provida do indicador, para alimentar os animais no decorrer dos períodos preliminar e de colheita. Durante esta última fase, amostras diárias da ração foram reunidas para análise posterior.

Água destilada foi oferecida aos animais “ad libitum”.

A administração da mistura contendo o óxido crômico foi feita a partir do período preliminar — três dias — findo o qual inaugurou-se a fase de colheita que durara sete dias.

4 — Fezes:

As fezes, no decorrer da colheita, eram cuidadosamente transferidas para recipientes individuais, no interior dos quais vertia-se mistura — álcool a 70% e ácido clorídrico — em quantidade necessária para cobrir as fezes. Esse material era conservado em geladeira.

Ao término da colheita, foram levadas à estufa e, em seguida, moídas em almofariz de louça, até obtenção de amos-

tra fina e homogênea. Finalmente, ficaram expostas à temperatura ambiente, durante quarenta e oito horas, para estabelecer-se o equilíbrio com a umidade do ar.

Na tabela II figuram os dados referentes à composição das fezes.

TABELA II

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FEZES SOBRE A MATÉRIA SECA (%)

Coelho n.º	M. S.	Prot. bruta	Extracto Etéreo	Celulose	Lignina	"Outros Carbs."	Carbs. totais	Matéria Orgânica	Calorias	Cinzas	Oxido Crômico
1	87,1	35,1	21,0	13,5	6,7	7,5	27,7	83,8	431,9	16,2	2,1
2	86,9	37,3	25,9	11,3	7,6	1,2	20,1	83,3	423,1	16,7	1,8
3	89,2	34,8	21,4	12,0	10,4	5,3	27,7	83,9	453,9	16,1	2,2
4	85,6	31,7	23,6	13,6	13,1	0,3	27,0	82,3	438,1	17,7	2,3

MÉTODOS ANALÍTICOS

As determinações da matéria sêca, nitrogênio, extracto etéreo e cinzas foram executadas segundo os métodos oficiais A.O.A.C. (1945). A celulose foi obtida empregando-se o método de Matrone e col. (1946), tendo, contudo, a amostra sido submetida a um pré-tratamento, conforme técnica descrita por FORBES e HAMILTON (1952).

A lignina foi determinada pelo método de ELLIS e col. (1946), com modificações sugeridas por FORBES e HAMILTON (1952) e THACKER (1954).

Os carboidratos totais e outros carboidratos foram calculados por diferença.

SCHÜRCH e col. (1950) forneceram o método para a determinação do óxido crômico.

Finalmente, as calorias foram conhecidas usando a bomba calorimétrica, modelo Berthelot.

RESULTADOS:

Os coeficientes de digestibilidade aparente obtidos através do emprêgo dos métodos convencional, óxido crômico e lignina, estão contidos na tabela III.

A análise estatística dos resultados — teste t — aplicada aos valores calculados através da conversão das porcentagens (coeficientes originais) em ângulos [Snedecor (1953)],

$$\text{ângulo} = \text{arco seno } \sqrt{\text{porcentagem}}$$

revelou que as diferenças entre médias dos métodos do óxido crômico e lignina, foram significantes ao nível de P 0,01 apenas para a celulose e calorias.

Por outro lado, as diferenças observadas entre as médias obtidas pelos métodos convencional e do óxido crômico, foram significantes ao nível de P 0,05 apenas para a celulose.

No seu conjunto, o coeficiente de variabilidade (C. V. %), consignado para os diferentes nutrientes, apresentou amplitude de variação da ordem de 11,3% para as cinzas, e de 1,1% para os carboidratos totais.

DISCUSSÃO

a) Óxido Crômico:

A simples inspeção da tabela III, mostra-nos que os valores concernentes ao método do óxido crômico são, sistematicamente, mais baixos em relação aos outros dois métodos estudados. Por outro lado, exceção feita a “outros carboidratos”, o método da lignina, comparado aos demais, evidenciou resultados mais elevados.

TABELA III
COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE APARENTE DOS NUTRIENTES
DA RAÇÃO (SOBRE MATERIA SECA, EM PORCENTAGEM)

	Conv.	Óxido crômico	Lignina	Conv.	Óxido crômico	Lignina	Conv.	Óxido crômico	Lignina
	Matéria Sêca			Proteína			Extracto Etéreo		
1	79,3	77,6	81,7	75,1	71,2	76,5	73,1	68,7	74,5
2	75,7	73,9	83,9	68,9	64,3	78,0	60,9	55,0	72,3
3	80,2	78,1	87,9	76,3	72,7	85,0	73,8	69,6	83,3
4	85,4	79,9	90,8	84,2	76,2	89,1	78,6	67,9	85,4
Média	80,1	77,4	86,1	76,1	71,1	82,1	71,6	65,3	78,9
	Celulose			"Outros Carboidratos"			Carboidratos totais		
1	33,3	23,5	37,6	96,2	95,6	96,4	87,8	85,8	88,4
2	33,3	25,3	54,0	99,1	91,8	95,0	89,5	88,0	92,6
3	44,4	35,1	64,3	97,3	97,0	98,4	88,2	86,4	92,5
4	50,0	29,6	67,9	100,0	98,4	99,3	91,6	87,3	94,2
Média	40,2	28,4	55,9	98,1	95,7	97,3	89,3	86,9	91,9
	Cinzas			Matéria Orgânica			Calorias		
1	60,8	55,7	63,9	81,2	78,1	82,2	80,3	77,3	81,5
2	54,0	46,7	67,2	77,9	74,7	84,4	77,4	74,1	84,1
3	64,3	57,9	76,9	81,8	79,1	88,5	80,2	77,3	87,5
4	71,0	55,8	79,8	87,0	80,4	91,1	85,9	79,0	90,4
Média	62,5	54,0	71,9	82,0	78,1	86,5	80,9	76,9	85,9

HUANG e col. estudando o emprêgo do óxido crômico em coelhos, verificaram também resultados mais elevados — matéria seca e proteína — para o método convencional, muito embora as diferenças não fôsem significantes ac nível de P 0,01.

Com o objetivo de apurar o grau de recuperação do óxido crômico, procedemos ao cálculo do mesmo, o qual figura na tabela IV.

TABELA IV
PROVA DE RECUPERAÇÃO DO ÓXIDO CRÔMICO

Coelho n.º	M. S. consumida diária (g)	M. S. excretada diária (g)	Óxido Crômico		
			Ingestão diária (g)	Excreção diária (g)	Recupera- ção (%)
1	58,4	12,1	0,29	0,25	86,2
2	57,7	14,0	0,29	0,25	86,2
3	64,2	12,7	0,32	0,28	87,5
4	43,9	6,4	0,22	0,15	68,2

A diferença computada entre a porcentagem de recuperação média — 82,0% — e o teórico esperado — 100,0% — foi, estatisticamente, significativa.

ANDREASI (1955), administrando a mesma ração — Dog Meal — a ratos, obteve 92,0% de recuperação do óxido crômico, média esta que confrontada com o teórico, determinou diferenças também significantes.

Ainda HUANG e col. trabalhando com coelhos adultos, da mesma raça e, usando ração comercial suplementada com 1% de óxido crômico, indicam que a excreção da substância índice alcança nível uniforme, a partir do quinto dia do início de sua administração. Todavia, os citados autores não fazem referência alguma quanto ao nível de recuperação obtido. Difícil, neste particular, fazer-se confronto entre os nossos dados e os exibidos por HUANG e col., muito embora sejamos levados a admitir que, concentrações reduzidas do

indicador no alimento determinam variações mais acentuadas do mesmo, nas fezes.

Por seu turno, fatores inerentes à própria constituição da ração, poderiam também explicar a eliminação deficiente da substância índice, maximé se lembrarmos que a dieta utilizada era provida de baixos teores de celulose e lignina, as quais têm a função precípua de ativar o peristaltismo intestinal.

b) Lignina:

O método da lignina de cuja aplicação, em coelhos, não encontramos referências na literatura consultada, deve merecer algumas considerações no que concerne à sua aplicabilidade.

Assinalamos que a comparação feita entre os métodos convencional e da lignina, mostrou diferenças não significantes. Entretanto, os coeficientes registrados para a lignina, foram sistematicamente mais elevados, em confronto com os obtidos nos demais métodos (tabela III).

A prova de recuperação da lignina, apresentada na tabela V, oferece dados que necessitam algumas observações.

TABELA V
PROVA DE RECUPERAÇÃO DA LIGNINA

Coelho n.º	M. S. consumida diária (g)	M. S. excretada diária (g)	Lignina		
			Ingestão diária (g)	Excreção diária (g)	Recupera- ção (%)
1	58,4	12,1	0,76	0,81	106,6
2	57,7	14,0	0,75	1,06	141,3
3	64,2	12,7	0,83	1,32	159,0
4	43,9	6,4	0,57	0,84	147,4

Na tabela acima, verificamos que a média de recuperação — 138,3% — cotejada com o teórico esperado — 100,0% — revela diferença considerada, estatisticamente, significativa. Este resultado inesperado, poderia ser atribuído, possi-

velmente, às falhas imputadas ao método de determinação da lignina, que constitui substância de estrutura química não fixa e que responde diferentemente ao tratamento químico, de acôrdo com vários fatores — maturidade da forragem, técnica de dessecação [CRAMPTON (1956)] — assim como variações qualitativa e quantitativa entre espécies e entre partes da mesma planta [VALLENTINE (1956)].

CRAMPTON e MAYNARD que estudaram o método químico de determinação da lignina, obtiveram, em experimentos com coelhos, recuperação média de 97,8%. Fazem, contudo, observação categórica de que, no caso das forragens e fezes, o método encerra um problema concernente à separação da proteína sem a remoção simultânea de parte da lignina.

A elevada porcentagem de recuperação, verificada no presente experimento, poderia ser explicada, admitindo-se a possível incorporação à fração lignina, de resíduos de proteína, conforme comprovam NORMAN e JENKINS (1934b) e FORBES e HAMILTON. Dada ainda a riqueza de carboidratos na ração por nós empregada, ocasionando extremas dificuldades no desenrolar das filtrações, a presença de certos açúcares, principalmente, poderia formar resíduo insolúvel ao entrar em contacto com o ácido sulfúrico a 72% e assim aumentar o teor de lignina [NORMAN e JENKINS (1934a)].

As falhas existentes neste particular do método químico de ELLIS e col. (1946), explicam a obtenção do coeficiente de digestibilidade de —10% a 30% descrita na literatura [VALLENTINE, FORBES e HAMILTON].

Os nossos dados, embora limitados, comprovam estes achados.

Estudos ulteriores, em maior escala, darão palavra definitiva sobre o valor dos dois métodos.

Os confrontos feitos, na literatura, entre os diferentes métodos de avaliação da digestibilidade dos alimentos, nas várias espécies, destacam a eficiência do método convencional, que apesar das críticas a êle atribuídas, continua a servir de padrão a outros métodos propostos.

SUMMARY

Using the Silver Marten strain of two-month-old rabbits study was carried out upon the applicability of chromic oxide and lignin methods in determining the digestibility of a commercial ration (Dog Meal).

The chromic oxide and lignin methods in amounts of 0.5% and 1.3%, respectively, on a dry matter basis, checked by the conventional method, showed statistically no significant differences for all the nutrients except for the cellulose nutrient (P 0.05) in the chromic oxide method.

However, it was found that the results of the lignin method were higher in relation to both other ones and that the chromic oxide method disclosed the lowest values.

Further, recovery tests referring to both methods were discussed in order to explain the data obtained in this study.

BIBLIOGRAFIA

- ANDREASI, F. — 1955 — *Rev. Fac. Med. Vet. São Paulo*, 5(3): 375
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS — 1945 — Official and Tentative Methods of Analysis, 6th ed. Washington, George Banta Publishing, Co.
- CRAMPTON, E. W. and MAYNARD, L. A. — 1938 — *J. Nutrition*, 15(4): 383
- CRAMPTON, E. W. — 1956 — Applied Animal Nutrition. The Use of Feedstuffs in the Formulation of Livestock Rations: 60 1st ed. San Francisco, London. Bailey Bros. & Swinfen Ltd.
- DRUCE, E. and WILLCOX, J. S. — 1949 — *Empire J. Exp. Agric.*, 17(67): 188
- ELLIS, G. H. — MATRONE, G. and MAYNARD, L. A. — 1946 — *J. Animal Sci.*, 5(2): 285
- FORBES, R. M. and HAMILTON, T. S. — 1952 — *J. Animal Sci.*, 11(3): 480
- HUANG, T. G. — ULRICH, H. E. and McCAY, C. M. — 1954 — *J. Nutrition*, 54(4): 621
- LOOSLI, J. K. and MAYNARD, L. A. — 1940 — *J. Ass. Off. Agric. Chem.*, 23(1): 156

- MATRONE, G. — ELLIS, G. H. and MAYNARD, L. A. — 1946 —
J. Animal Sci., 5(3): 306
- NORMAN, A. G. and JENKINS, S. H. — 1934a — *Biochem. J.*, 28(2):
2148 — *J. Animal Sci.*, 5(3): 306
- 1934b — *Biochem. J.*, 28(2): 2160
- SCHURCH, A. F. — LLOYD, L. E. and CRAMPFON, E. W. — 1950
— *J. Nutrition*, 41(4): 629
- SNEDECOR, G. W. — 1953 — *Statistical Methods*: 447. 4th ed., 5th
Printing Ames, Iowa State College Press
- THACKER, E. J. — 1954 — *J. Animal Sci.*, 13(2): 501
- VALLENTINE, J. F. — 1956 — *J. Range Management*, 9(5): 235