

# Digestibilidade de dietas peletizadas e extrusadas para o pacu: quantificação do óxido de cromo<sup>1</sup>

*Digestibility of pelleted and extruded pacu feed: chrome oxide quantification*

Claucia Aparecida Honorato<sup>[a]</sup>, Cleujosi da Silva Nunes<sup>[b]</sup>, Luciana Cristina de Almeida<sup>[c]</sup>, Elma Neide Vasconcelos Martins Carrilho<sup>[d]</sup>, Gilberto Moraes<sup>[e]</sup>

<sup>[a]</sup> Zootecnista, doutora em Ciências Fisiológicas, professora do curso de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Engenharia (FAEN), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS - Brasil, e-mail: clauciahonorato@yahoo.com.br

<sup>[b]</sup> Zootecnista, doutora em Ciências Fisiológicas, Laboratório de Bioquímica Adaptativa, Departamento de Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP - Brasil, e-mail: cleujosi@yahoo.com.br

<sup>[c]</sup> Bióloga, doutora em Genética e Evolução, pós-doutoranda do Laboratório de Bioquímica Adaptativa, Departamento de Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP - Brasil, e-mail: lu\_ufscar@hotmail.com

<sup>[d]</sup> Doutora em química, professora da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Centro de Ciências Agrárias, Araras, SP - Brasil, e-mail: elma.carrilho@gmail.com

<sup>[e]</sup> Biomédico, professor titular em Bioquímica do Departamento de Genética e Evolução, Laboratório de Bioquímica Adaptativa, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP - Brasil, e-mail: gil@ufscar.br

## Resumo

O objetivo deste trabalho foi comparar o método de quantificação de óxido de cromo pelo método espectrofotometria de absorção visível e pelo método espectrofotometria de absorção atômica nas dietas e nas fezes de pacu para determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente de dietas extrusadas ou peletizadas. O ensaio de digestibilidade foi realizado com 180 pacus ( $69,6 \pm 17,9$  g). Os peixes foram alimentados com as dietas contendo 26% de proteína bruta e 4022,3 Kcal.kg<sup>-1</sup> de energia, sendo um lote desta dieta peletizadas e outro extrusadas, acrescidas de 0,5% de Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> em sua formulação. Amostras dos ingredientes, dietas-teste e fezes foram analisadas quanto à sua composição bromatológica e energia bruta. A digestão das amostras foi realizada com ácido nítrico e ácido perclórico. As leituras em espectrofotômetro foram realizadas em densidade ótica de 350 nm. As leituras realizadas em espectrofotômetro de absorção atômica com chama foi operado com taxa de fluxo de acetileno de 2,9 L.min<sup>-1</sup>, taxa de fluxo de ar de 13,5 L.min<sup>-1</sup>; altura do queimador de 16,2 mm; velocidade de fluxo de amostra de 5 mL.Min<sup>-1</sup> e comprimento de onda do cromo de 357,9 nm. Pode-se inferir que ambos os métodos para

<sup>1</sup>Parte da tese de doutorado da primeira autora, Projeto financiado pela Fapesp – Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de São Paulo – 04/07081-7



quantificação laboratorial de óxido de cromo são sensíveis e confiáveis para utilização dos ensaios de digestibilidade com baixa concentração de óxido de cromo para o pacu. A taxa de recuperação do cromo pela espectrofotometria de absorção atômica teve os menores coeficientes de variação, sendo assim adotado como ideal para o estudo de coeficiente de digestibilidade da fração proteica e da energia em dietas peletizadas ou extrusadas.

**Palavras-chave:** Óxido de cromo. *Piaractus mesopotamicus*. Absorção atômica.

### Abstract

*The objective of this study was to compare the method of chrome oxide quantification through visible absorption spectrophotometry method and atomic absorption spectrophotometry in the diets and feces of pacu to determine the apparent digestibility coefficients of extruded and pelleted diets. The digestibility test was performed with 180 pacus ( $69.6 \pm 17, 9$ ). The fish were fed with diets containing 26% of protein and 4022.3 Kcal. kg<sup>-1</sup> of energy, where a batch was formed by pelleted diet and another batch of extruded diet, both with addition of 0.5% of Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> in its formulation. Ingredient, diet and feces samples were analyzed considering their chemical composition and raw energy. Digestion of the samples was carried out with nitric acid and perchloric acid. The spectrophotometer readings were held at optical density of 350 nm. The readings performed in flame atomic absorption spectrophotometer were operated with acetylene flow rate of 2.9 L. min<sup>-1</sup>, air flow rate of 13.5 L. min<sup>-1</sup>, height of 16.2 mm; sample flow speed of 5 mL.min<sup>-1</sup> and wavelength 357.9 nm chrome. In conclusion, we can infer that both methods for quantification of laboratory chromium oxide are sensitive and reliable to be used in digestibility trials with low concentration of chromium oxide for pacu. The rate of chrome recovery by atomic absorption spectrophotometry had the lowest coefficient of variation, and can be adopted as ideal for the study of digestibility coefficient for protein fraction and energy in pelleted or extruded diets.*

**Keywords:** *Chromic oxide. Piaractus mesopotamicus. Atomic absorption.*

### Introdução

Os processos de extrusão e peletização são utilizados na confecção de dietas com o objetivo de aglomerar os alimentos e diminuir as perdas no arraçamento de organismos aquáticos (ONO; OLIVEIRA, 2008). Esses processamentos utilizados nas dietas e em alimentos modificam a estrutura das moléculas, principalmente a do amido, resultando em diferenças na digestibilidade dos nutrientes e da energia (ANDRIGUETTO et al., 1985).

A extrusão consiste em uma combinação de umidade, pressão, temperatura e atrito mecânico, que resulta em alterações físico-químicas como redução da partícula do ingrediente, gelatinização do amido e inativação dos fatores antinutricionais (ZONGJILA; HARDY-RONALD, 2003). Esses fatores distinguem a extrusão dos outros processamentos de dietas como a peletização (O'CONNOR, 1987). O processo de peletização consiste em compactar

mecanicamente a dieta, por meio do aquecimento pelo atrito mecânico durante a prensagem dos alimentos pelos rolos compressores contra a matriz (MILLAN, 1987), provocando baixos percentuais de gelatinização do amido (HONORATO et al., 2010).

Tais modificações ocorridas durante o processamento das dietas provocam alterações como complexação e desnaturação de proteína, destruição de vitaminas e quelação de minerais (KAUSHIK; OLIVATELESS, 1985). As mudanças estruturais nas moléculas dos alimentos extrusados requerem análises específicas para identificação de seus nutrientes.

A identificação dos nutrientes é uma etapa imprescindível para o estudo de aproveitamento alimentar dos animais. Uma das formas mais preconizadas de determinação do valor nutritivo é o coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes. Sua estimativa baseia-se na relação entre a quantidade de nutriente ingerido e da quantidade de nutriente remanescente nas fezes (ANDRIGUETTO et al., 1985).

Para o estudo da digestibilidade em organismos aquáticos, graças à dificuldade de determinar a quantidade de material ingerido e eliminado, preconiza-se a utilização do método de determinação indireta que envolve o uso de marcador inerte na dieta (BREMER NETO et al., 2003; SALLUM et al., 2002). Dentre os marcadores inertes, o óxido de cromo (Cr2O3) é o mais utilizado no estudo de indicador fecal (MACHADO, 2011). Sua predileção está associada a características como inércia química em sistema digestório, baixo custo, incorpora facilmente a dieta e é analisado com facilidade (TITGEMEYER, 1997). A inclusão do óxido de cromo varia entre 0,5% e 1,0% de Cr2O3 nas dietas experimentais com limitações no que abrange a sua quantificação por meio de análises laboratoriais (BOWEN, 1978).

Diversos estudos de digestibilidade utilizando o método de espectrofotometria de absorção visível (EAV) foram desenvolvidos para peixe como tilápia (FURUYA et al., 2001), matrinxã (SALLUM et al., 2002), pacu (ABIMORAD; CARNEIRO, 2004), piavuçu (BREMER NETO et al., 2003) e pintado (GONÇALVES; CARNEIRO, 2003). No entanto, a Association of American Feed Control Officials (AAFCO, 2004) recomenda o método de absorção atômica quando da determinação de cromo, para que não haja nenhuma inferência analítica.

O método de espectrofotometria de absorção visível (EAV), descrito por Fenton e Fenton (1979), apresenta características que o tornam muito prático, uma vez que o cromo no material analisado é determinado por espectrofotometria visível, em que se utiliza um equipamento de baixo custo e que pode ser facilmente encontrado em laboratórios (KOZLOSKI et al., 1998). No entanto, ressalta-se que algumas substâncias apresentam a mesma cor que o óxido de cromo, podendo interferir na precisão do método.

Associado a limitação dos métodos mais empregados para a identificação do óxido de cromo (EAV) estão as possíveis mudanças estruturais provocadas pelo processo de extrusão das dietas. Modificações ocorridas durante o processamento podem alterar os tipos de análises a serem empregadas para verificar os teores de nutrientes em dietas e ingredientes extrusados. Durante o processamento de extrusão podem ser formados complexos, o que supostamente reduz a identificação de alguns nutrientes e compostos (BHATNAGAR; HANNA, 1994).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi comparar o método espectrofotometria de absorção visível (EAV) com a espectrofotometria de absorção atômica (EAA)

para a quantificação do óxido de cromo contido em dietas e nas fezes de pacu para determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de dietas extrusadas ou peletizadas.

## Materiais e métodos

### Dietas experimentais

A dieta experimental foi formulada para atender as exigências de proteína para o pacu segundo Fernandes et al., (2000). A dieta-teste utilizada para a determinação dos coeficientes de digestibilidade foi confeccionada em duas etapas, sendo um lote submetido ao processo de peletização e outro ao processo de extrusão (Tabela 1).

**Tabela 1** - Composição bromatológica das dietas experimentais

Ingredientes (%)	Dieta
Farinha de peixe	10,4
Farelo de soja	25,5
Soja integral tostada	7,5
Milho	25,5
Amido de milho	8,9
Farelo de trigo	9,0
Farinha de trigo	2,6
Quirera de arroz	8
Celulose microfina	1,1
Óxido de cromo	0,5
Mistura mineral - vitamínico*	1
Composição química analisada	
Matéria seca	88,7
Proteína bruta	26,1
Lípido	4,1
Matéria mineral	5,3
Carboidrato	50,0
Energia bruta (kcal/kg)	4022,3

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: \*ROVIMIX PEIXE – Roche © Suplemento mineral e vitamínico, níveis de garantia por Kg do produto: Vitamina A 500.000 UI; Vitamina D3 200.000 UI; Vitamina E 5000 UI; Vitamina K3 15000 mg; Vitamina B1 1500 mg; Vitamina B2 4000 mg; Vitamina B6 1500 mg; Vitamina C 1500 mg; Ácido Fólico 500 mg; Ácido Pantotênico 4000 mg; Ácido Nicotínico 7000 mg; Biotina 50000 mcg; Inositol 1000 mg; Colina 40000 mg; Cobalto 10 mg; Cobre 500 mg; Ferro 5000 mg; Iodo 50 mg; Manganês 1500 mg; Selênio 10 mg; Zinco 5000 mg e Antioxidante 12500 mg.

O processamento de extrusão foi realizado em equipamento Extrutec de rosca simples, com capacidade nominal de 10 kg/hora. O processamento por peletização ocorreu em peletizadora modelo de laboratório (*Califórnia Pellet Mill*). Os pellets das dietas peletizadas e extrusadas foram confeccionados com diâmetro entre 1,2 e 1,5 mm e comprimento entre 1,5 e 3,0 mm.

#### Ensaio de digestibilidade

O ensaio de digestibilidade das dietas experimentais foi realizado em um período de três semanas. As fezes foram coletadas pelo sistema de Guelph modificado, constituído de incubadoras de fibra de vidro de 80 L (ABIMORAD; CARNEIRO, 2004).

Foram utilizados 180 juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) pesando  $69,6 \pm 17,9$  g, distribuídos em nove caixas de fibro-cimento com capacidade de 1000 L com aeração e fluxo contínuo de água. A temperatura ( $29^\circ\text{C}$ ) e o oxigênio dissolvido ( $5,6 \pm 0,42$  mg.L<sup>-1</sup>) foram monitorados diariamente; o pH ( $7,4 \pm 0,1$ ), a alcalinidade ( $5,6 \pm 0,42$  mg.L<sup>-1</sup>) e a condutividade ( $190,5 \pm 1,5$   $\mu\text{S.cm}^{-1}$ ), semanalmente.

Os peixes foram alimentados com as dietas experimentais acrescidas de 0,5 % de Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> por um período de sete dias. Posteriormente, os exemplares foram transferidos para as incubadoras, nas quais se procedeu à coleta de fezes a intervalos de 30 minutos por um período de 12 horas. O material foi recolhido em tubos plásticos, congelado e as fezes foram secas em estufa com circulação de ar a  $65^\circ\text{C}$ , até peso constante. As dietas e as fezes foram analisadas quanto aos teores de proteína e energia (AOAC, 2000).

A análise de cromo segundo Furukawa e Tsukahara (1976) consiste em pesar 0,1 g de amostra (fezes ou dieta) digerida com 5 mL de ácido nítrico P. A em bloco digestor a  $250^\circ\text{C}$  por 30 minutos. Após esfriar adiciona-se 3 mL de ácido perclórico P. A e reaquece até que a cor verde mude para amarelo, laranja ou vermelho. Após resfriamento dos tubos, o digerido foi transferido para balão volumétrico de 100 mL, acertando o volume com água destilada.

A leitura em espectrofotômetro de absorção visível (EAV) foi realizada em densidade ótica de 350 nm. A equação linear correlacionando concentração de óxido de cromo e leituras em absorbância, foram realizadas com a concentração de 10; 5; 2,5; 1,25;

0,625; 0,312; 0,156 mg/100 mL. Foi realizada a análise de regressão polinomial estabelecendo a equação da reta do tipo  $y = a + bx$  em que  $x = \text{teor de óxido de cromo}$  e  $y = \text{leitura de absorbância}$ .

As leituras realizadas em espectrofotômetro de absorção atômica (EAA) com chama foi operado com taxa de fluxo de acetileno de  $2,9$  L.min<sup>-1</sup>, taxa de fluxo de ar de  $13,5$  L.min<sup>-1</sup>; altura do queimador de 16,2 mm; velocidade de fluxo de amostra de  $5$  mL.min<sup>-1</sup> e comprimento de onda do cromo de 357,9 nm.

Os coeficientes de digestibilidade foram calculados de acordo com a fórmula:

$$D_a = 100 - 100 * \left[ \frac{\% \text{ indicador no alimento}}{\% \text{ indicador nas fezes}} * \frac{\% \text{ nutriente nas fezes}}{\% \text{ nutriente no alimento}} \right]$$

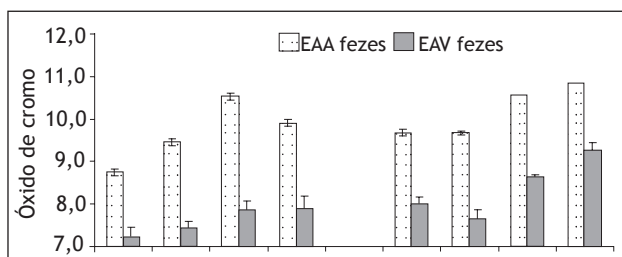
#### Delineamento experimental

Para verificar o efeito dos tratamentos (métodos de quantificação do óxido de cromo) nos diferentes processamentos (peletização ou extrusão) foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $2 \times 2$  com seis repetições. Quando a análise de variância mostrou diferenças significativas entre tratamentos ( $p < 0,05$ ), as médias foram comparadas pelo teste Tukey.

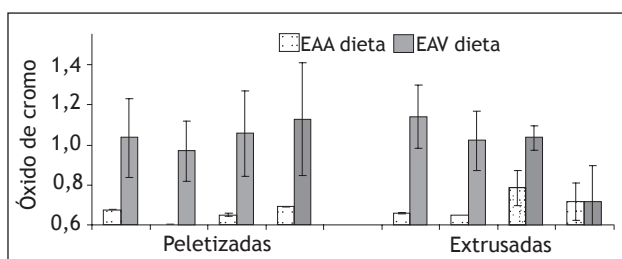
#### Resultados

As médias de óxido de cromo presente nas dietas e fezes analisadas por EAV e EAA não apresentaram diferenças significativas (Gráficos 1 e 2). Concentrações de óxido crômico determinada pelo EAV correspondem a 37% superior nas dietas peletizadas e 28% nas dietas extrusadas em relação aos EAA. O método EAA apresentou menor variação quando comparado com o EAV independente do processamento aplicado à dieta.

A Tabela 2 apresenta os dados de coeficiente de digestibilidade da matéria seca (CDA MS), digestibilidade da fração proteica (CDA PB) e coeficiente de digestibilidade fração energética (CDA EB) obtidos com as leituras no EAV e EAA. Não foi observada interação entre as variáveis analisadas (processamento de dietas e métodos de quantificação do óxido de cromo). Os coeficientes de digestibilidade obtidos pelos métodos estudados não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ).



**Gráfico 1** - Média das concentrações de óxido de cromo (%) e desvio padrão nas fezes obtidas pela leitura em espectrofotômetro de absorção visível (EAV) e espectrofotômetro de absorção atômica (EAA)  
Fonte: Dados da pesquisa.



**Gráfico 2** - Média das concentrações de óxido de cromo (%) e desvio padrão nas dietas e obtidas pela leitura em espectrofotômetro de absorção visível (EAV) e espectrofotômetro de absorção atômica (EAA)  
Fonte: Dados da pesquisa.

## Discussão

A determinação de óxido de cromo nas dietas peletizadas e nas extrusadas apresentaram comportamento muito semelhante, revelando que os resultados de Cr2O3 obtidos pelo EAV são numericamente maiores em comparação aos obtidos por EAA. Os dados corroboram o estudo realizado por Kozloski et al. (1998), que atribuem esses resultados à presença de compostos de mesmo espectro de coloração que o óxido de cromo, que consequentemente interferem na quantificação desse composto utilizado EAV. Portanto, as diferenças observadas neste estudo com relação à quantificação do óxido de cromo não estão associadas ao processamento aplicado à dieta.

Por outro lado, Carciofi et al. (2007) não observaram diferença na quantificação do óxido de cromo comparando-se os mesmos métodos em dietas para cães. Essas diferenças podem estar associadas à quantidade de óxido de cromo acrescidas à dieta, que foi de 3,5% Cr2O3. Cabe ressaltar que vários fatores podem interferir na quantificação de óxido de cromo e, dentre eles, o percentual acrescido na dieta é um dos mais significativos (BREMER NETO et al., 2003). Sallum et al. (2002), estudando níveis de inclusão de óxido de cromo em dietas para o *Brycon cephalus*, observaram que o uso de dose reduzida

**Tabela 2** – Coeficiente de digestibilidade aparente das dietas peletizadas e extrusadas

	Dietas Peletizadas	Dietas Extrusadas
<b>Coeficiente de digestibilidade da matéria seca (%)</b>		
EAV	77,67±3,85	79,54 ± 3,76
EAA	81,97±1,11	82,48 ± 0,88
<b>Coeficiente de digestibilidade da proteína bruta (%)</b>		
EAV	86,96±0,77	89,12 ± 1,92
EAA	89,17±0,79	90,67 ± 0,49
<b>Coeficiente de digestibilidade da energia bruta (%)</b>		
EAV	79,75±1,24	81,08 ± 2,62
EAA	83,60±0,84	83,72 ± 1,58

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: Valores expressos em médias ± desvio padrão.



(0,1% Cr2O3) interfere na análise, provocando menor consistência dos resultados. No entanto, preconiza-se a utilização de baixo percentual de cromo na dieta, pois, em doses elevadas, este pode interferir no tempo de trânsito gastrointestinal.

O processo de extrusão altera consideravelmente uma série de eventos como gelatinização do amido e inativação dos fatores antinutricionais (ZONGJILA; HARDY-RONALD, 2003), podendo formar complexos amilose-lipídeos (BHATNAGAR; HANNA, 1994), desnaturação de proteínas, quelação de minerais e destruição de vitaminas (KAUSHIK; OLIVA-TELESS 1985). Porém, neste estudo, as diferenças encontradas entre os coeficientes de digestibilidade entre as dietas peletizadas e extrusadas foram mínimas.

Em geral, as diferenças obtidas entre os métodos (EAV e EAA) não alteraram de forma significativa os resultados do coeficiente de digestibilidade das dietas. O uso da quantificação do cromo por espectrofotometria de absorção atômica para o *B. cephalus* foi preconizado por Sallum et al. (2002) quando se utilizou baixa concentração do mineral como indicador inerte. No presente estudo com o pacu, utilizou-se 0,5% de Cr2O3 percentual preconizado para peixes, que usualmente são observados resultados consistentes de digestibilidade com baixo desvio.

A comparação entre métodos para determinação de Cr2O3 em dietas com diferentes processamentos para peixes não foi encontrado na literatura. Para peixes foi encontrado o estudo em matrinxã (*B. cephalus*) com níveis de inclusão de Cr2O3 utilizando EAA (SALLUM et al., 2002). A comparação entre métodos de determinação do Cr2O3 foi verificada em bovinos (KOZLOSKI et al., 1998) e em suínos (SAHA; GILBREATH, 1991); e, em ambos, observaram-se melhores respostas ao se utilizar a espectrofotometria de absorção atômica, atribuída à maior sensibilidade deste para a determinação de cromo. Contrariamente, em estudo com cães, não foi verificada diferença entre os métodos EAV e EAA (CARCIOFI et al., 2007). O presente estudo com dietas de diferentes processamentos para o pacu não apresentou diferença significativa na comparação dos métodos EAV e EAA, corroborando os resultados de que ambos são adequados para o estudo de digestibilidade.

Os métodos de EAV e EAA apontaram baixa variabilidade entre as réplicas, com desvio padrão para as dietas de 0,173 e 0,025, respectivamente.

No entanto, o método EAA apresentou menor variação quando comparado com o EAV, sugerindo maior confiabilidade do método. Carciofi et al. (2007) observaram desvio padrão de 1,79 EAV e 1,66 EAA em dietas para cães, considerando que apesar da baixa variação, os resultados de EAA são mais precisos. Yakoulaki, Papadoyannis e Nastis (1997) encontraram desvio padrão de 5,36 na determinação de óxido crômico por EAA, afirmando que seus resultados foram confiáveis. Nesse contexto, os resultados observados neste estudo podem ser considerados precisos uma vez que apresentaram valores inferiores aos demais trabalhos.

## Conclusão

De acordo com os resultados obtidos pode-se inferir que ambos os métodos para quantificação laboratorial de óxido de cromo são sensíveis e confiáveis para a utilização dos ensaios de digestibilidade com baixa concentração (0,5% Cr2O3) para o pacu. A taxa de recuperação do cromo pela espectrofotometria de absorção atômica teve os menores desvios-padrão, sendo assim adotado como ideal para o estudo de coeficiente de digestibilidade da fração proteica e da energia em dietas peletizadas e extrusadas.

## Referências

- ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J. Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração proteica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 5, p.1101-1109, 2004.
- ANDRIGUETTO, J. M. et al. Digestibilidade e balanços nutricionais. **Nutrição animal**. 5. ed. São Paulo: Nobel, 1985. p. 71-79. v. 1.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of Analysis**. 15 ed. Arlington, 2000.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS – AAFCO. **Dog and cat nutrient profiles**. Official Publication of the Association of American Feed Control Officials Incorporated. AAFCO, Oxford, 2004.

- BHATNAGAR, S.; HANNA, M. A. Amylose – lipid complex formation during single-screw extrusion of various corn starches. **Cereal Chemistry Journal**, v. 71, p. 582-587, 1994.
- BOWEN, S. H. Chromic acid in assimilation studies: a caution. **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v. 107, n. 5, p. 755-756, 1978.
- 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.
- CARCIOFI, A. C. et al. Chromic oxide as a digestibility marker for dogs: a comparison of methods of analysis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 134, p. 273-282, 2007.
- FENTON, T. W.; FENTON, M. An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. **Canadian Journal Animal Science**, v. 59, p. 631-634, 1979.
- FERNANDES, J. B. K.; CARNEIRO, D. J.; SAKOMURA, N. K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 3, p. 646-653, 2000.
- FURUKAWA, A. E.; TSUKAHARA, H. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. **Bulletin of the Japanese Society Scientific Fisheries**, v. 32, p. 502-506, 1976.
- FURUYA, W. M. et al. 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, 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.
- HONORATO, C. A. et al. Effects of processing on physical characteristics of diets with distinct levels of carbohydrates and lipids: the outcomes on the growth of pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 16, n. 1, p. 91-99, 2010.
- KAUSHIK, S. J.; OLIVA-TELES, A. Effect of digestible energy on nitrogen and energy balance in rainbow trout. **Aquaculture**, v. 50, p. 89-101, 1985.
- KOZLOSKI, G. V; FLORES, E. M. M; MARTINS, A. F. Use of chromium oxide in digestibility studies: variations of the results as a function of the measurement method. **Journal Science Food Agriculture**, v. 76, p. 373-376, 1998.
- MACHADO, A. S. et al. Utilização de óxido crômico e LIPE® como indicadores externos na estimativa de digestibilidade em ruminantes. **PUBVET**, v. 5, n. 20, 2011.
- MILLAN, L. M. Tecnologia de fabricación de piensos para la acuicultura. In: MONTEROS, J. E. de los; LABARTA, U. **Alimentacion en acuicultura**. Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, p. 131-166, 1987.
- O'CONNOR, C. Product development services available from extruder manufactures. In: O'CONNOR, C. **Extrusion technology for the food industry**. New York: Elsevier Applied Science, 1987. p. 71-75.
- ONO, E. A.; OLIVEIRA, S. R. Rações para a aquicultura brasileira: os problemas e as possíveis soluções. **Panorama da Aquicultura**, n. 106, v. 18, p. 20-30, 2008.
- SAHA, D. C., GILBREATH, R. L. Analytical recovery of chromium from diet and faeces determined by colorimetry and atomic absorption spectrophotometry. **Journal Science Food Agriculture**, v. 55, p. 433-446, 1991.
- 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 agrotécnica**, n. 1, v. 26, p. 188-196, 2002.
- TITGEMEYER, E. C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. **Journal Animal Science**, v. 75, p. 2235-2247, 1997.
- YAKOULAKI, M. D., PAPADOYANNIS, I. N., NASTIS, A. S. Determination of marker chromic oxide in feces of grazing goats on Mediterranean shrublands by AAS. **Animal Feed Science and Technology**, v. 67, p. 163-168, 1997.
- ZONGJILA, J. C.; HARDY-RONALD, W. Effects of extrusion processing of feed ingredients on apparent digestibility coefficients of nutrients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 9, n. 2, p. 77-83, 2003.

Recebido: 15/08/2012  
Received: 08/15/2012

Aprovado: 07/11/2012  
Approved: 11/07/2012