

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Efeito do alginato de sódio na determinação da
digestibilidade aparente em rações comerciais
para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

Hothon Trioni

Jaboticabal, São Paulo
2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

Efeito do alginato de sódio na determinação da digestibilidade aparente em rações comerciais para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Hothon Trioni

Orientador: Prof. Dr. João Batista Kochenborger Fernandes

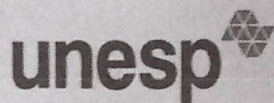
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Jaboticabal, São Paulo
2024

T834e	Trioni, Hothon Efeito do alginato de sódio na determinação da digestibilidade aparente em rações comerciais para Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) / Hothon Trioni. -- Jaboticabal, 2024 30 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal Orientador: João Batista Kochenborger Fernandes 1. Aquicultura. 2. Peixe alimentação e rações. 3. Tilápia-do-nilo. 4. Alginatos. 5. Nutrição animal. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Unidade Complementar - Jaboticabal

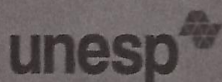
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Efeito do alginato de sódio na determinação da digestibilidade aparente em rações comerciais para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

AUTOR: HOTHON TRIONI

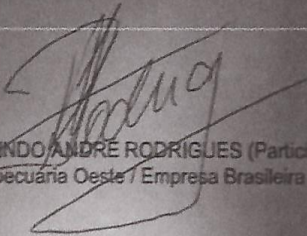
ORIENTADOR: JOÃO BATISTA KOCHENBORGER FERNANDES

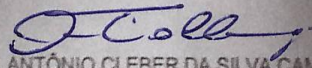
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências, área de Aquicultura, pela Comissão Examinadora:



Assinado de forma digital por João
Batista Kochenborger
Fernandes:26621860030
Dados: 2024.06.10 16:32:38 -03'00'

Prof. Dr. JOÃO BATISTA KOCHENBORGER FERNANDES (Participação Virtual)
Laboratório de Peixes Ornamentais / Centro de Aquicultura da UNESP, CAUNESP, Jaboticabal-SP


Prof. Dr. LAURINDO ANDRÉ RODRIGUES (Participação Virtual)
Embrapa Agropecuária Oeste / Empresa Brasileira Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA Dourados-MS


Prof. Dr. ANTÔNIO CLEBER DA SILVA CAMARGO (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal / Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana-RS

Jaboticabal, 29 de maio de 2024

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, expresso minha profunda gratidão a Deus, cujo amor eterno iluminou cada passo deste caminho.

À minha querida família, cujo apoio incondicional e carinho foram a força motriz por trás de todas as minhas realizações.

Aos colaboradores do Centro de Nutrição em Aquicultura da ADM - Aurélio, Dalila, Junior, Henrique e Ivan - cujo suporte desempenhou um papel fundamental na execução desta pesquisa.

À FUNEP, por facilitar a parceria entre a ADM e a UNESP, tornando possível a realização deste trabalho.

Ao meu orientador, Dr. João Batista Kochenborger Fernandes, por confiar no trabalho e viabilizá-lo, a seus ensinamentos e orientações. À sua orientada, Thaís da Silva Oliveira, pela sua colaboração essencial a este trabalho.

APOIO FINANCEIRO

À Archer Daniels Midland Company (ADM do Brasil) pelo apoio financeiro via Instrumento Particular de Desenvolvimento em Pesquisa n.º 1.088/2022 firmado com a Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão – Funep.

RESUMO

Conhecer o coeficiente de digestibilidade é de grande importância para empresas formuladoras de ração animal e favorece as boas práticas de manejo e a sustentabilidade na aquicultura. Nos peixes, a digestibilidade é avaliada por um método indireto, que consiste na adição de um marcador inerte à mistura durante o processo de fabricação da ração, antes de esta ser peletizada ou extrusada. Contudo, esses marcadores não são incorporados nas formulações de rações comerciais, limitando as análises de digestibilidade a rações de caráter experimental. Para contornar essa limitação, desenvolvemos duas formulações de rações que imitam as comerciais destinadas a tilápias na fase de recria. A diferença entre as rações reside no fato de uma delas ser extrusada com a adição do marcador óxido de cromo III (Cr_2O_3), funcionando como controle positivo, enquanto a outra não contém o marcador, servindo como dieta base. Seis dietas experimentais foram produzidas a partir da ração base, utilizando o alginato de sódio em diferentes concentrações e protocolos para aglutinar o óxido de cromo na ração, reticulados ou não com uma solução de 0,5% de cloreto de cálcio. Foi realizado um experimento de digestibilidade delineados em DIC com 4 repetições, utilizando 336 tilápias de $102,3 \pm 4,18$ g distribuídas em 28 tanques de alimentação com 300 L. Verificou-se que o uso de revestimento (top-coating) superestima a digestibilidade, não sendo recomendado. O uso do alginato em concentração de 0,8%, reticulados ou não com 0,5% de cloreto de cálcio, para incorporação do marcador óxido de cromo III demonstra-se como uma estratégia promissora para a análise de digestibilidade aparente de macronutrientes pelo método indireto em rações comerciais destinadas à Tilápia do Nilo.

Palavras-chave: Biopolímero, Cromo, Nutrição, Piscicultura

ABSTRACT

Knowing the digestibility coefficient is of great importance for animal feed formulation companies and favors good management practices and sustainability in aquaculture. In fish, digestibility is assessed using an indirect method, which consists of adding an inert marker to the mixture during the feed manufacturing process, before it is pelleted or extruded. However, these markers are not incorporated into commercial feed formulations, limiting digestibility analyzes to experimental feeds. To overcome this limitation, we developed two feed formulations that imitate commercial ones intended for tilapia in the rearing phase. The difference between the diets lies in the fact that one of them is extruded with the addition of the marker chromium III oxide (Cr_2O_3), functioning as a positive control, while the other does not contain the marker, serving as a base diet. Six experimental diets were produced from the base feed, using sodium alginate in different concentrations and protocols to bind the chromium oxide to the feed, cross-linked or not with a 0.5% solution of calcium chloride. A digestibility experiment designed in DIC was carried out with 4 replications, using 336 tilapia weighing 102.3 ± 4.18 g distributed in 28 feeding tanks with 300 L. It was found that the use of top-coating overestimates the digestibility, not recommended. The use of alginate at a concentration of 0.8%, cross-linked or not with 0.5% calcium chloride, to incorporate the chromium III oxide marker proves to be a promising strategy for analyzing the apparent digestibility of macronutrients using the method indirect in commercial feed intended for Nile Tilapia.

Key-words: Biopolymer, Chromium, Nutrition, Fish farming

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 - Variação percentual entre cromo na dieta e fezes.	23
Tabela 1- Formulação das rações base e controle em g.kg-1 do total da dieta.	13
Tabela 2 - Composição química analisada como g.kg-1 da dieta total (MN).....	16
Tabela 3- Parâmetros de qualidade da água.....	17
Tabela 4- Coeficiente de Digestibilidade da MS, P, PB e energia não ajustados.	21
Tabela 6 - Coeficiente de Digestibilidade Aparente do extrato etéreo.	22

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA).....	18
Equação 4 - Variação percentual entre marcador na dieta e fezes	18

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
3 OBJETIVO GERAL	12
3.1 Objetivos específicos	12
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	13
4.2 Análises químicas	15
4.3 Teste de Digestibilidade	16
4.4 Cálculos e estatísticas.....	17
4.4.2 Recuperação de óxido de cromo na dieta e fezes	18
4.5 Análise estatística	18
5. RESULTADOS	19
5.2 Coeficiente de Digestibilidade Aparente.....	19
5.4 Recuperação de óxido de cromo nas fezes	22
7 DISCUSSÃO	24
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
9 REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, as normativas vigentes estabelecem que os rótulos de rações para animais apresentem os níveis de garantia dos nutrientes, refletindo a quantidade total destes, sem destacar a porcentagem digestível. A divulgação exclusiva da quantidade bruta dos nutrientes pode ocultar a real qualidade nutricional da ração, particularmente no que se refere à digestibilidade e, conseqüentemente, à disponibilidade dos nutrientes para os animais. Nesse sentido a digestibilidade dos nutrientes e a relação entre eles, particularmente entre proteína e energia, é um critério de qualidade importante para mensurar o aproveitamento alimentar dos animais. Apesar dos custos envolvidos nas análises laboratoriais, os testes de digestibilidade podem ser aplicados em conjunto com os testes de desempenho zootécnico. Embora os testes de digestibilidade ainda não sejam amplamente aplicáveis aos produtores, instituições de pesquisa e empresas de nutrição animal consideram os estudos de digestibilidade fundamentais para novas dietas.

A digestibilidade é a capacidade do animal de digerir nutrientes e energia contidos nos alimentos. Essa medida é expressa pela fração do alimento consumido que é absorvida no trato digestivo e não encontrada nas fezes, sendo, portanto, a diferença entre os nutrientes ingeridos e os excretados. O cálculo dessa fração é feito através de coeficientes de digestibilidade (ANDRIGUETO *et al.*, 1982). Em sistemas experimentais para peixes, essa avaliação é comumente realizada pelo método indireto. Este método emprega um marcador inerte adicionado à ração, facilitando da digestibilidade. No método indireto, os coeficientes de digestibilidade aparente são calculados com base na diferença entre as concentrações de um marcador indigestível e dos nutrientes presentes tanto no alimento quanto nas fezes. Dessa forma, não é preciso coletar todas as fezes para realizar a análise (MAYNARD *et al.*, 1969). O uso do marcador é crucial, já que o ambiente aquático dificulta a coleta total de fezes e a quantificação precisa do alimento ingerido.

A lixiviação pode ser altamente significativa no método indireto por decantação tanto do alimento ofertado, quanto das fezes devido à distância que os excrementos teriam de percorrer na água antes de serem recolhidos (PEZZATO *et al.*, 2002). Além de um método de coleta de fezes adequado, a escolha de um bom marcador também

é fundamental para uma boa análise de digestibilidade. Características como inércia química em sistema digestório, custo, incorporação na dieta e facilidade de análise devem ser consideradas.

A coleta de fezes para avaliar a digestibilidade em peixes pode ser realizada por diversos métodos, como extrusão manual, sucção anal, dissecação do intestino e decantação da saída de água, como no método de Guelph (CHO, 1979). Cada método apresenta vantagens e desvantagens, particularmente quanto à representatividade das amostras coletadas. Além disso, a avaliação da digestibilidade em rações comerciais por meio do método indireto enfrenta desafios adicionais. Marcadores externos, como regra, não integram as formulações dietéticas padrão, e sua inclusão em escala industrial é inviável por razões econômicas e ambientais.

Uma das alternativas adotadas pelas empresas de nutrição é fazer a ração teste em fábricas menores de unidades de pesquisa ou em parcerias com universidades. Outras possibilidades para analisar a digestibilidade de rações comerciais incluem a utilização de marcadores internos, ou seja, marcadores do próprio alimento, como fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e celulose (BOTELHO *et al.*, 2012). Ou ainda, a inclusão do marcador já na ração pronta (RODRIGUES *et al.*, 2017).

Entre as tentativas para adicionar marcadores de digestibilidade em rações comerciais para salmão, Hillestad *et al.* (1999) revestiram o óxido de ítrio (Y_2O_3) com uma pequena quantidade de óleo de peixe em um misturador de concreto, mas concluíram que a perda de ítrio (Y) para a água era muito alta. O método recomendado foi moer a ração seca e misturar no marcador antes de fazer uma dieta úmida a base de água e aglutinante.

Hatlen *et al.* (2015) estudou a possibilidade de avaliar a digestibilidade de rações comerciais por meio do marcador óxido de ítrio (Y_2O_3) disperso em óleo de peixe revestidas a vácuo (vacuum coating). O método de coleta de fezes para este experimento foi o de dissecação do intestino. O autor encontrou que o ítrio (Y) disperso em óleo por vacuum coating foi evacuado do estômago junto com os lipídios pouco tempo após a ingestão, enquanto a evacuação da proteína foi mais tarde. A tendência do marcador ser evacuado mais rápido se manteve durante o período de passagem pelo intestino médio e diminuiu na parte distal. Os autores perceberam que as medições de digestibilidade podem ser tendenciosas pelas diferenças nas taxas de

evacuação gastrointestinal entre nutrientes e marcadores. Por fim, concluíram que a adição de óxido de ítrio por vacuum coating é um método promissor para avaliação da digestibilidade em rações comerciais, onde o marcador inerte não foi adicionado no processo de produção mas que, como pré-requisito, quando as fezes são coletadas por extração, é exigido alimentação frequente ou que a extração seja feita no momento ideal. Uma outra opção que não foi explorada pelos autores para aumentar confiabilidade dos dados seria utilizar o método de Guelph para coletar as fezes através da decantação.

Neste sentido, o presente trabalho busca investigar se a digestibilidade dos nutrientes de dietas comerciais para Tilápia do Nilo pode ser determinada incluindo o marcador utilizando o alginato de sódio como aglutinante. O desafio de nosso estudo foi manter a estabilidade das dietas em água, haja vista que os processos de lixiviação acontecem de forma rápida, provocando a liberação de nutrientes e marcador para a água, bem como levando a desagregação dos pellets e, consequentemente, diminuindo a disponibilidade de captura por parte dos animais.

Em função da sua inércia química em sistemas digestórios, o óxido de cromo (III) é frequentemente utilizado como marcador biológico em estudos de digestibilidade (PARIZI, 2012), apresentando a vantagem de ser barato e facilmente incorporado à dieta.

O alginato de sódio devido a características como a ação gelificante e espessante, biodegradabilidade, biocompatibilidade e ausência de toxidez, o torna um material de interesse para nosso estudo (GARCIA-CRUZ *et al.*, 2008). Suas aplicações englobam principalmente a produções de géis devido ao processo de gelificação no qual as cadeias do alginato participam de reticulação intermolecular na presença de íons multivalentes, como cátions Ca^{2+} , ou na presença de outros agentes reticulantes (GARCIA-CRUZ *et al.*, 2008). Em sua estrutura, o alginato é constituído por copolímeros lineares contendo blocos de ácido α -L-gulurônico (G) e ácido β -D-manurônico (M), os quais constroem a estrutura pela formação de blocos G-G, G-M e M-M (CAVALLARO *et al.*, 2013).

Os estudos sobre alginato de sódio na aquicultura destacam sua ampla aplicabilidade. Hue *et al.* (2023) demonstraram o uso de nanopartículas de alginato de sódio para encapsular vacinas orais de DNA. Em seguida, Rodriguez *et al.* (2018) utilizaram microcápsulas de alginato para entrega de enzimas exógenas à tilápia do

Nilo. Yin *et al.* (2018) desenvolveram cápsulas de alginato com ágar, carregadas com indometacina, cuja liberação foi controlada pelo pH. Além disso, a reticulação do alginato de sódio, que pode ser realizada com cátions bi e trivalentes, influencia as propriedades mecânicas e solubilidade em água do biopolímero (Remuñán-López & Bodmeier, 1997).

Duis K. *et al.* (1995) investigaram a reticulação de alginato com cloreto de cálcio (CaCl_2) e óleo de fígado de bacalhau em rações, visando reduzir a lixiviação de oxitetraciclina e amoxicilina. Ledesma *et al.* (2012) aplicaram alginato de sódio reticulado com CaCl_2 para desenvolver cápsulas contendo probióticos para administração oral em pescados. Cejko *et al.* (2023) exploraram soluções de alginato de sódio e CaCl_2 para armazenar espermatozoides testiculares de truta arco-íris (*O. mykiss*). Finalmente, Veja-Carranza *et al.* (2021) investigaram a encapsulação de probióticos em micropartículas de alginato e CaCl_2 , avaliando sua liberação controlada.

3 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi avaliar a inclusão de um marcador externo em dietas comerciais de tilápia (*O. niloticus*) para determinação da digestibilidade.

3.1 Objetivos específicos

- Avaliar se o reprocessamento da ração extrusada afeta a digestibilidade dos nutrientes;
- Avaliar se a adição de alginato de sódio como aglutinante afeta a digestibilidade dos nutrientes;
- Avaliar o efeito da reticulação do alginato de sódio com cloreto de cálcio na digestibilidade de nutrientes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Preparo das dietas

Desenvolvemos uma formulação (tabela 1) que atendesse às necessidades nutricionais das tilápias durante a fase de recria, utilizando o conceito de proteína ideal descrito por Furuya *et al.* (2010), Quadros *et al.* (2009), Do Nascimento *et al.* (2020), contendo 26% de proteína bruta e energia bruta de 4100 kcal.kg⁻¹.

Tabela 1- Formulação e Composição Aminoacídica das rações base e controle em g.kg⁻¹ do total da dieta.

<i>Formulação da dieta basal, g.kg⁻¹</i>		<i>Aminoácidos essenciais, g.kg⁻¹</i>	
Farinha de peixe	138,60	Arginina ²	14,48
Glúten de milho	82,17	Histidina ²	5,48
Farelo de soja	138,60	Isoleucina ²	9,73
Quirera de arroz	19,80	Leucina ²	22,45
Farelo de trigo	178,20	Lisina ²	14,79
Amido de Milho	159,09	Metionina ²	5,34
Celulose purificada	4,16	Fenilalanina ²	11,72
Milho	217,80	Treonina ²	12,17
Óleo de soja	19,80	Valina ²	11,37
L-lisina	4,85	Triptofano ³	2,97
DL-metionina	0,20		
L-treonina	3,37	<i>Aminoácidos não essenciais, g.kg⁻¹</i>	
L-isoleucina	0,30	Alanina ⁴	13,83
L-phenilalanina	0,20	Ácido aspártico ⁴	18,76
L-triptofano	0,59	Ácido glutâmico ⁴	24,98
L-ac glutâmico	5,94	Cistina ⁴	6,63
Sal Comum	4,95	Glicina ⁴	11,63
Calcário	2,97	Prolina ⁴	16,77
antifungico	2,97	Serina ⁴	10,46
BHT antioxidante	0,50	Tirosina ⁴	8,31
Suplemento mineral e vitamínico ¹	4,95		
Óxido de Crômio	10,00		

1 Agromix, Premix para peixes, Jaboticabal-SP. Composição por kg do produto: vit. A = 1200.000 UI; vit. D3 = 200.000 UI; vit. E = 12.000 mg; vit. K3 = 2.400 mg; vit. B1 = 4.800 mg; vit. B2 = 4.800 mg; vit. B6 = 4.000 mg; vit. B12 = 4.800 mg; ác. fólico (folic acid) = 1.200 mg; pantotenato de Ca (calcium pantothenic) = 12.000 mg; vitamina C (vitamin C) = 48.000 mg; biotina (biotin) = 48 mg; colina (choline) = 65.000 mg; niacina (niacin) = 24.000 mg; Fe = 10.000 mg; Cu = 600 mg; Mg = 4.000 mg; Zn = 6.000 mg; I = 20 mg; Co = 2 mg e Se = 20 mg

2 Valores calculados de acordo com Furuya *et al.* (2010)

3 Valores calculados de acordo com Rostagno *et al.* (2017)

Dessa formulação, produzimos duas dietas em uma extrusora Manzoni modelo MEX-250, capacidade 250 kg/h. O objetivo foi fabricar duas rações extrusadas onde toda matéria prima e demais condições do processo fabril seriam iguais, exceto que uma possuiria o marcador. Para fabricar essas rações, criou-se duas misturas separadamente. Para garantir que não houvesse contaminação de cromo na mistura que deveria ser isenta do marcador, primeiro moemos metade dos ingredientes sem adicionar o óxido de cromo III (Cr_2O_3), e em seguida moemos a outra metade adicionando 1% (m/m) de Cr_2O_3 no misturador junto aos ingredientes. A ração extrusada originada da mistura sem o marcador (ração base) foi utilizada para produzir as rações testes, enquanto a ração extrusada com o óxido de cromo se tornou nossa ração controle (CP). No total, oito dietas tratamento foram produzidas para o experimento.

. Em cinco dietas o marcador foi incorporado a partir do reprocessamento da ração base em péletes de 4mm: A08 (0,8% alginato, 0% cloreto de cálcio, 60% água, 1% marcador), A08CL (0,8% alginato, 0,5% cloreto de cálcio, 60% água, 1% marcador), A18 (1,8% alginato, 0% cloreto de cálcio, 60% água, 1% marcador), A18CL (1,8% alginato, 0,5% cloreto de cálcio, 1% marcador) e CN (0% alginato, 0% cloreto de cálcio, 60% água, 1% marcador).

Duas dietas tiveram o marcador incluídos por revestimento (top coating): ACOAT08 (0,8% alginato, 0,5% cloreto de cálcio, 60% água, 1% marcador) e ACOAT18 (1,8% alginato, 0,5% cloreto de cálcio, 60% água, 1% marcador).

O alginato foi solubilizado em água destilada em agitador magnético por 6 horas até formar uma suspensão biopolimérica. Para os tratamentos sem cloreto de cálcio, A08 e A18, adicionou-se respectivamente 8 g e 18 g de alginato em 600 ml de água

Para os tratamentos que utilizar-se-ia a etapa de reticulação, A08CL e 08COAT, A18CL e 18COAT, 8 g e 18g de alginato, respectivamente, foram solubilizados em 400 ml de água destilada por 6 horas em agitador magnético, reservando o restante de água para a solução de cloreto de cálcio, composta por 200 ml de água destilada, 5 g de cloreto de cálcio e 20 ml de ácido acético a 5%. Dessa

forma, o teor de água em todas as dietas foi ajustado para aproximadamente 60% (m/v).

Para fabricar as dietas peletizadas, a ração base foi moída em pequenas partículas utilizando triturador forrageiro modelo TRF 400F. Acrescentou-se à cada suspensão biopolimérica, uma mistura contendo 990 g da ração moída e 10 g do marcador. Após uma mistura vigorosa da massa, as dietas contendo a etapa adicional de reticulação tiveram a solução de cloreto de cálcio incluída, promovendo o efeito de blindagem das rações. As massas úmidas foram então processadas em um moedor manual de carne equipado com uma matriz de 4 mm, cortadas em péletes e secas em estufa com ventilação forçada a 55°C por 24 horas.

Por fim, para o tratamento de inclusão do marcador por revestimento, adicionou-se 10 g de óxido de cromo a 990 g da ração base íntegra, e misturou-se por 5 minutos até que o marcador se distribuísse de maneira homogênea pela superfície das dietas. Adicionou-se às rações as suspensões de alginato, novamente misturando-as. Por fim, a blindagem foi realizada borrifando a solução de cloreto de cálcio.

Posteriormente, realizou-se a análise centesimal das dietas (% matéria natural), no Laboratório de Química Geral e Analítica do Departamento de Biotecnologia Agropecuária e Ambiental da FCAV UNESP, conforme a AOAC INTERNATIONAL (2016), como demonstrado na tabela 2.

4.2 Análises químicas

As análises químicas dos macronutrientes e do marcador indicam uma pequena variação entre as dietas (Tabela 3), apresentando coeficiente de variação menor que 10% para os macronutrientes e matéria seca, com exceção do extrato etéreo das rações revestidas (CV=17,93).

Tabela 2 - Composição química analisada como g.kg-1 da dieta total (MN)

Composição química	CP	CN	A18	A8	A18CL	A08CL	A18COAT	A08COAT	CV (%)
Cr ₂ O ₃ (g.kg-1)	9,8	9,7	9,5	9,6	9,8	9,7	9,3	9,3	1,96
Fósforo ² (g.kg-1)	8,6	8,6	8,6	8,3	8,6	8,7	8,6	8,6	1,22
Proteína bruta ² (g.kg-1)	252,3	258,0	249,7	247,1	253,4	254,2	246,6	252,2	1,41
Matéria seca ² (g.kg-1)	92,0	90,7	92,0	90,2	92,0	91,5	91,0	91,1	0,69
Energia ² (kcal/g)	4,168	4,133	4,175	4,059	4,135	4,111	4,068	4,098	0,97
Extrato etéreo ² (g.kg-1)	2,6	2,6	2,5	3,2	2,6	2,8	1,9	1,8	17,83
Fibra ³ (g.kg-1)	2,9	2,7	2,7	2,5	2,6	2,3	2,9	2,8	7,27

A08 = 0,8% de alginato e 0% cloreto de cálcio; A08CL = 0,8% de alginato e 0,5% de cloreto de cálcio; A18 = 1,8% de alginato; A18CL = 1,8% de alginato de sódio e 0,5% de cloreto de cálcio e CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; A18COAT = 1,8% de alginato e 0,5% de cloreto de cálcio coating; ACOAT08 = 0,8% de alginato e 0,5% de cloreto de cálcio coating.

¹ Analysis done by the high-performance liquid chromatography - HPLC technique (Biochrom, Cambridge, UK).

² Analysis of nutritional composition done according to the Association of Official Analytical Chemists - AOAC International (2016)

³ Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal. 2017. Métodos Analíticos. Método n.18 p. 90-92.

4.3 Teste de Digestibilidade

Para a análise de digestibilidade, 336 tilápias de $102,3 \pm 4,18$ g foram distribuídos em 28 tanques de alimentação com 300 L (12 tilápias/tanque) em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições para cada dieta. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia até a saciedade às 10h e 15h. Após 1h do último trato, os peixes eram transferidos para tanques coletores de fezes equipados com sistema Guelph modificado, abastecidos com fluxo contínuo de água proveniente de poço artesiano e aeração contínua. As fezes eram decantadas em tubos falcon (imersos em gelo) e coletadas às 7h do dia seguinte e congeladas. Após esse procedimento as fezes foram secas em estufa de ventilação forçada a 55 graus por 72h, e analisadas em duplicata quanto à matéria seca, nitrogênio, extrato etéreo, marcadores óxido de cromo III, fósforo e energia bruta.

Medições de temperatura, oxigênio dissolvido e pH foram realizadas duas vezes ao dia em seis tanques, selecionados de forma aleatória a partir do conjunto total de tanques. Para essas análises, foi utilizado um multiparâmetro Hanna modelo HI98196. Além disso, a água do biofiltro foi coletada para análises de alcalinidade, amônia, nitrito e pH, realizadas a cada três dias ou diariamente quando os níveis se aproximavam dos limites aceitáveis. Ajustes na alcalinidade e nos níveis de amônia e

nitrito foram feitos conforme necessário, utilizando bicarbonato de sódio e troca de água, respectivamente.

Os animais foram mantidos sob condições apropriadas de qualidade de água, conforme evidenciado pelos parâmetros apresentados na Tabela 3, que se mantiveram dentro dos limites recomendados para cultivo de tilápia (BOYD; TUCKER, 1998). Notadamente, a alcalinidade registrou $69,7 \pm 18,7$ mg/L, valor este, ainda que dentro da faixa aceitável de 50-150 mg/L para tilápia, próximo ao limite inferior, exigindo ajustes regulares com bicarbonato de sódio.

Tabela 3- Parâmetros de qualidade da água.

Parâmetro	Manhã	Tarde
OD (mg/L)	$7,2 \pm 0,4$	$6,9 \pm 0,6$
Temperatura (°C)	$26,8 \pm 0,8$	$28,3 \pm 0,6$
pH	$7,2 \pm 0,3$	$7,1 \pm 0,4$
Alcalinidade	$69,7 \pm 18,7$	NM
Amônia (mg/L)	$0,1 \pm 0,1$	NM
Nitrito (mg/L)	0,0	NM

4.4 Cálculos e estatísticas

4.4.1 Coeficiente de Digestibilidade Aparente

O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) foi calculado segundo Nose (1966), apresentado na equação 1.

$$CDA_{(n)} = 100 - \left[100 \left(\frac{(\% \text{ marcador ração})}{(\% \text{ marcador fezes})} \right) \times \left(\frac{(\% \text{ Nutriente fezes})}{(\% \text{ Nutriente ração})} \right) \right] \quad (1)$$

4.4.2 Recuperação de óxido de cromo na dieta e fezes

Com o objetivo de verificar a influência dos protocolos de inclusão do marcador na recuperação de cromo nas fezes, realizou-se o cálculo da variação percentual entre eles, conforme a equação abaixo:

$$VP (\%) = \left(\frac{(\text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ fezes} - \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ ração})}{\text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ ração}} \right) \times 100 \quad (2)$$

4.5 Análise estatística

Verificado os pressupostos de normalidade com o teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) e homoscedasticidade pelo teste de Bartlett ($p > 0,05$), os coeficientes de digestibilidade (CDAs) foram submetidos à análise de variância pela ANOVA de uma via ($\alpha = 0,01$) e post hoc com o teste de Dunnett a 5% ($p < 0,05$) e 10% ($p < 0,10$) utilizando a dieta controle (CP) como testemunha. Para dados de CDA que não seguem uma distribuição paramétrica, realizou-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido por um teste post-hoc utilizando o Teste Conover-Iman. Dentro das múltiplas comparações geradas pelo Teste Conover-Iman, selecionou-se os resultados emparelhados com a dieta controle. Para realizar o teste de médias da variação porcentual entre óxido de cromo na dieta e fezes utilizou-se o Teste SNK (Student-Newman-Keuls) a 5% de significância ($p < 0,05$). Para a análise estatística dos dados foi utilizado o programa estatístico RStudio na versão 4.2.1.

5. RESULTADOS

5.2 Coeficiente de Digestibilidade Aparente

Fósforo apresentou o maior coeficiente de variação experimental na ANOVA de uma via e o extrato etéreo apresentou dados não paramétricos nas estatísticas aplicadas. Dados assim diminuem a sensibilidade estatística e podem mascarar resultados.

O controle negativo (CN) não possui alginato de sódio e cloreto de cálcio, apenas água e o marcador. Quando comparado ao controle, apresentou diferença significativa ao nível de 1% da digestibilidade de proteína bruta ($p < 0,01$). Apresentou significância a 10% ($p < 0,1$) para a matéria seca (MS) e energia bruta (EB).

O CDA do fósforo foi o único nutriente a não apresentar diferença significativa de CP em todas as rações reprocessadas em péletes. Por outro lado, as rações com o marcador incluído por revestimento (top coating) apresentou diferença a 1% ($p < 0,01$).

Diferente dos resultados obtidos para as rações peletizadas, quando se incluiu o marcador por revestimento (top-coating), os CDAs são superestimados, sendo estatisticamente significativo ($p < 0,05$) para todos os macronutrientes avaliados, exceto A08COAT na digestibilidade de extrato etéreo.

Para Matéria Seca, Energia e Fósforo, a adição de cloreto de cálcio não resultou em alterações nos resultados estatísticos. Tanto para o tratamento A18 e A08, quanto para seus equivalentes reticulados A18CL e A08CL. Embora não comprometa a digestibilidade desses nutrientes, os resultados sugerem pouca efetividade na reticulação com cloreto de cálcio.

Com exceção da Proteína Bruta ($p = 0,043$), observa-se que as rações peletizadas com alginato na concentração de 0,8% de alginato de sódio, reticulados ou não, deixou os CDAs próximos ao controle ($p\text{-valor} > 0,05$) para todos os demais parâmetros.

De forma contrária, os grupos das rações revestidas apresentaram os maiores desvios. A18COAT apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) do controle para todas as análises de CDA, indicando que, dentre todos os tratamentos, esse pode ser

considerados o menos eficiente para estimar os CDAs. Não muito atrás está A08COAT, que apenas não diferiu de CP ($p < 0,05$) na análise de digestibilidade do extrato etéreo (tabela 7).

Tabela 4- Coeficiente de Digestibilidade da MS, P, PB e energia.

Grupos	Matéria seca			Fósforo			Proteína bruta			Energia		
	CDA		Sig.	CDA		Sig.	CDA		Sig.	CDA	Sig.	
CP	79,62	± 0,63	0,000	42,44	± 3,39	0,000	91,34	± 0,29	0,00	83,49	± 0,27	0,000
CN	77,63	± 0,75	0,089	40,33	± 1,55	0,921	88,77	± 0,71	0,008**	81,73	± 0,80	0,082
A18	76,07	± 0,62	p<0,001***	43,02	± 4,25	1,000	86,89	± 0,51	p <0,001***	80,45	± 0,68	p<0,001***
A08	78,60	± 1,59	0,663	42,38	± 2,68	1,000	89,29	± 1,77	0,043*	82,60	± 1,3	0,656
A18CL	76,12	± 0,77	0,001**	40,57	± 6,04	0,953	88,35	± 0,83	0,002**	80,76	± 0,42	0,003**
A08CL	78,50	± 1,35	0,574	42,59	± 2,52	1,000	89,60	± 1,38	0,108	82,42	± 1,31	0,477
A18COAT	85,47	± 1,39	p<0,001***	62,75	± 3,56	p<0,001***	93,64	± 1,16	0,02*	88,49	± 1,27	p<0,001***
A08COAT	84,56	± 1,28	p<0,001***	55,95	± 1,48	p<0,001***	93,58	± 0,41	0,023*	88,00	± 0,93	p<0,001***
CV (%)	1,40			7,52			1,11			1,16		
p-valor	<0,001			<0,001			<0,001			p<0,001		

A08 = 0,8% de alginato e 0% cloreto de cálcio; A08CL = 0,8% de alginato e 0,5% de cloreto de cálcio; A18 = 1,8% de alginato; A18CL = 1,8% de alginato de sódio e 0,5% de cloreto de cálcio e CN = Controle negativo; CP = Controle positivo; A18COAT = 1,8% de alginato e 0,5% de cloreto de cálcio coating; ACOAT08 = 0,8% de alginato e 0,5% de cloreto de cálcio coating..

Sig: Significância e códigos para o teste de Dunnet: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05. p-valor: valor de significância da ANOVA.

CDA: Coeficiente de digestibilidade aparente (%). CV (%): Coeficiente de variação experimental

Tabela 5 - Coeficiente de Digestibilidade Aparente do extrato etéreo.

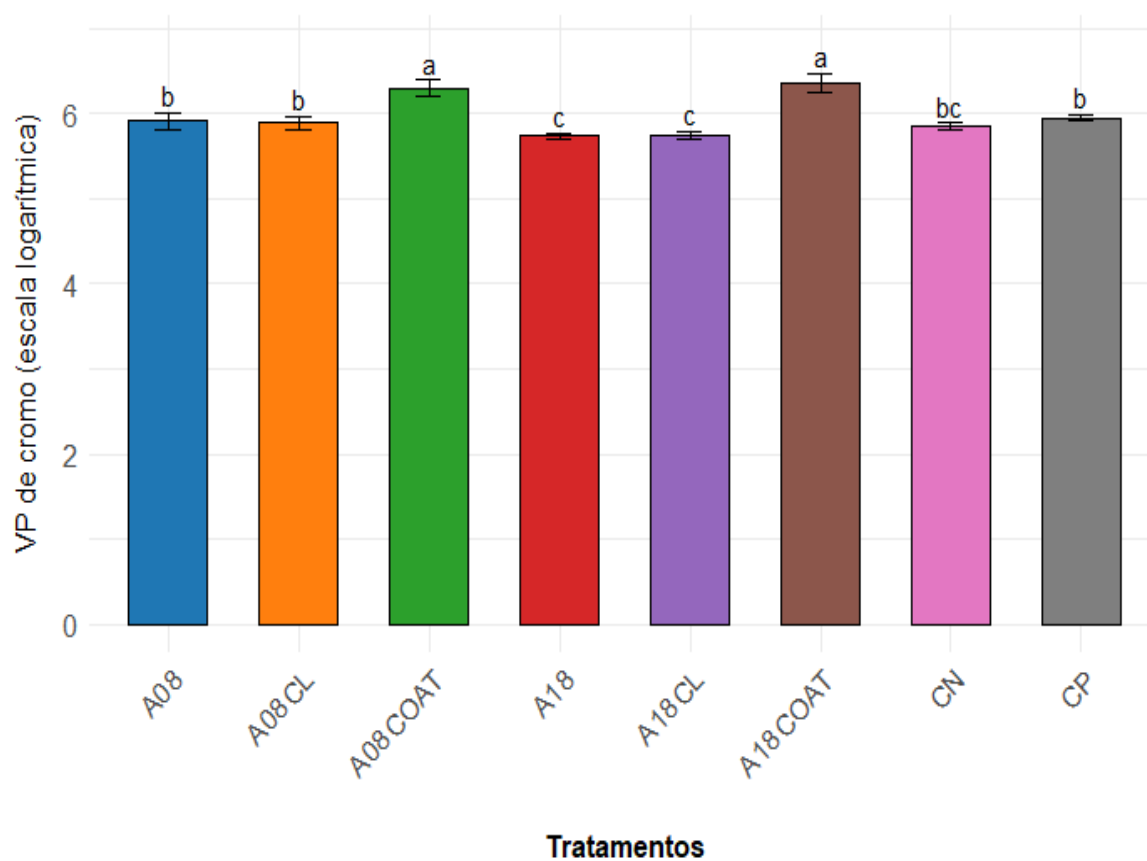
Extrato etéreo		
CDA	Sig.	
CP	90,4 ± 0,55	
CN	87,51 ± 1,28	0,918
A18	84,17 ± 2,08	0,291
A08	94,37 ± 2,91	0,957
A18CL	88,4 ± 4,6	0,993
A08CL	83,7 ± 1,35	0,207
A18COAT	80,74 ± 2,09	0,023*
A08COAT	84,7 ± 7,13	0,608
Kruskal-Wallis		
p-valor	0,012	

Sig = Significância ao Teste Conover-Iman com ajuste single-step: '*' 0.05. p-valor: valor de significância para o teste de para Teste de Kruskal-Wallis.

5.4 Recuperação de óxido de cromo nas fezes

Utilizou-se o cálculo de variação percentual (VP) entre o marcador na dieta e nas fezes como métrica para analisar a recuperação do marcador. O protocolo de inclusão do marcador tem um efeito significativo em sua recuperação nas dietas (figura 2). Especificamente, uma maior concentração do marcador nas fezes se traduz em valores mais elevados de CDA, independentemente dos macronutrientes avaliados. Deste modo, as dietas revestidas registraram maior recuperação do marcador, influenciando na superestimação dos Coeficientes de Digestibilidade.

Figura 1- Variação porcentual entre cromo na dieta e fezes.



Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste SNK no nível de 5% de significância.

7 DISCUSSÃO

A inclusão do marcador por revestimento em todas as concentrações de alginato diferiram estatisticamente ($p < 0,01$) do controle positivo para todos os nutrientes avaliados, superestimando os CDAs. Hillestad *et al.* (1999) obteve os mesmos resultados quando tentou adicionar o marcador Óxido de ítrio (Y_2O_3) nas rações extrusadas por revestimento, atribuindo o efeito a lixiviação de ítrio (Y) para a água durante a alimentação. Em seu experimento, aproximadamente 20% do Y adicionado pelo revestimento desapareceu da ração para a água 30 segundos após a alimentação. No entanto, a lixiviação da ração na água não foi analisada no presente trabalho

De acordo com a equação para definição da digestibilidade pelo método indireto (Nose, 1966), a recuperação do marcador nas fezes afeta diretamente os CDAs. Se a quantidade de marcador recuperado não ocorrer na mesma taxa de recuperação dos nutrientes na fezes, os resultados de CDAs podem subestimados ou superestimados. As dietas revestidas com cromo (ACOAT18 e ACOAT08) apresentaram maior quantidade do marcador das fezes em relação aos demais tratamentos (figura 2). Esse aumentando da concentração de cromo nas fezes resultou na superestimação dos CDAs das rações revestidas. Provavelmente, a concentração de todo o marcador e alginato de sódio apenas na superfície da ração, sem nenhuma inclusão interna, ocasionou na coleta antecipada de Cr_2O_3 nos tubos de decantação, visto que o alginato aumenta o conteúdo de umidade nas fezes e afeta a taxa de passagem pelo trato digestivo (PHILIP N. JUST *et al.* 2024, STOREBAKKEN, 1985). No trabalho de Hatlen *et al.* (2015), o marcador incluído por revestimento foi transportado através do trato gastrointestinal mais rapidamente do que o óxido de ítrio adicionado antes da extrusão. Os autores analisaram a adição de óxido de ítrio por revestimento a vácuo (vacuum coating) em rações comerciais para salmão, concluindo ser eficaz em reter o marcador na ração, minimizando a perda de marcador na água durante a alimentação.

Com exceção da digestibilidade do fósforo nos tratamentos A18 e A08CL, todas as demais digestibilidades das rações peletizadas são menores que a ração controle

(CP). Isto provavelmente está relacionado a uma ligação preferencial do cálcio em comparação ao fósforo, visto que existe uma relação antagônica na absorção dos dois minerais (Maynard e Loosli, 1969).

Alguns estudos indicam que diferentes métodos de processamento de alimentos afetam a digestibilidade. Ma *et al.* (2015) avaliaram os efeitos da extrusão, moagem e peletização de rações comerciais para *O. niloticus* e *O. aureus*, e encontraram que a extrusão melhora a utilização de proteínas, amido e polissacarídeos não amiláceos, devido a alteração das propriedades físicas dos ingredientes, promovendo a ruptura de ligações dissulfeto covalentes em proteínas e a hidrólise de proteínas e amido. Segundo o autor, a extrusão também promoveu a hidrólise de celulose, aumentando o teor de fibra solúvel e a ingestão de alimentos, reduzindo os fatores antinutricionais e melhorando a digestibilidade dos nutrientes.

Os resultados obtidos por Hillestad *et al.* (1999), que procurou um método aplicável para determinar a digestibilidade de nutrientes em rações comerciais para salmão, estão alinhados com nossos dados. Neste caso, o autor atribuiu as diferenças nos Coeficientes de Digestibilidade Aparente (CDAs) entre as rações extrusada e a úmida ao efeito da inclusão de alginato. Ele menciona que estudos anteriores, como os de Storebakken e Austreng (1987), relataram CDAs mais baixos de nitrogênio (N), gordura e cinzas quando 5% de alginato foi adicionado às rações para truta arco-íris. Além disso, Storebakken (1985) indicou que níveis de alginato tão baixos quanto 2% podem deprimir a digestibilidade de gordura e nitrogênio para a mesma espécie.

Analogamente, a adição de 1,8% de alginato proporcionou efeito deletério altamente significativo sobre a digestibilidade dos nutrientes analisados. A digestibilidade de matéria seca, energia e extrato etéreo foram afetadas em todas as situações com essa concentração. Paralelamente, o aglutinante na concentração de 0,8% para tilápia não apresentou esses efeitos negativos, visto que foi o único protocolo eficaz para todos os CDAs avaliados, deixando-os próximos ao controle positivo ($p > 0,05$). O estudo de Spyridakis *et al.* (1989) explorou o papel dos alginatos como ligantes na digestibilidade de alimentos em European sea bass, concluindo que eles não tinham um impacto significativo na digestibilidade da proteína bruta e do extrato etéreo. No entanto, um estudo anterior de Storebakken (1985) com truta arco-íris encontrou resultados distintos, indicando que o alginato de sódio e a goma guar

de fato diminuíram a digestibilidade aparente dessas frações nutricionais e aumentaram a umidade fecal. Cantelmo *et al.* (1999) estudou o efeito da inclusão de diferentes aglutinantes, entre eles o alginato, na digestibilidade aparente da matéria seca e da proteína no pacu (*Piaractus mesopotamicus*), comparando-os com uma dieta comercial isenta de aglutinantes. A concentração utilizada foi de 2,5% de alginato. Encontrou diferença significativa ($p < 0,05$) para proteína bruta, mas não para matéria seca.

Esta variável torna-se ainda mais complexa quando considerou-se que diferentes nutrientes, como proteína e energia, podem ter taxas de lixiviação distintas. Um caminho para abordar essa complexidade é através da análise das relações entre os CDAs de diferentes nutrientes, em vez de olhar para cada nutriente de forma isolada. Se a lixiviação dos nutrientes e seus marcadores correspondentes forem consistentes entre diferentes rações, a relação entre os CDAs poderá ser mantida, mesmo quando os valores absolutos diferem do controle.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inclusão do marcador óxido de cromo por meio do reprocessamento da ração extrusada em péletes, associada ao aglutinante alginato de sódio na concentração de 0,8%, permitiu mensurar a digestibilidade dos nutrientes sem prejuízos em relação ao método tradicional de inclusão do marcador, ou seja, antes da extrusão.

9 REFERÊNCIAS

- ADESHINA, Ibrahim *et al.* Interactive effects of dietary phosphorus and microbial phytase on growth performance, intestinal morphometry, and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on low-fishmeal diets. **Aquaculture**, v. 563, p. 738995, 2023.
- AOAC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 20. ed. Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists, 2016.
- BOTELHO, R. M. *et al.* Marcadores internos como alternativa ao oxido de cromio-III na determinacao da digestibilidade aparente em tilapia do Nilo. *Veterinária e Zootecnia*, v. 19, n. 4, p. 539-547, 2012.
- BOYD, C. E.; QUEIROZ, J. F.; McNEVIN, A. Perspectives on the responsible aquaculture movement. **World Aquaculture**, v. 44, n. 4, p. 14-21, 2013.
- CANTELMO, O.A.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; RIBEIRO, M.A.R. Influência de diferentes aglutinantes na digestibilidade aparente da matéria seca e da proteína, no pacu (*Piaractus mesopotamicus*) arraçoado com rações elaboradas sem ou com vapor. *Acta Scientiarum* 21 (2), 277-282, 1999.
- CAVALLARO, G., *et al.* Alginate gel beads filled with halloysite nanotubes. **Applied clay science**, 2013, 72: 132-137.
- CEJKO, Beata Irena *et al.* Application of sodium alginate solution for short-term storage of different volumes of sex-reversed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) testicular sperm. **Aquaculture**, v. 560, p. 738491, 2022.
- CHO, C. Y. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. **Finfish nutrition and fishfeed technology**, 1979.
- DO NASCIMENTO, Thiago MT *et al.* Determination of the optimum dietary essential amino acid profile for growing phase of Nile tilapia by deletion method. **Aquaculture**, v. 523, p. 735204, 2020.
- DUIS, K. *et al.* Leaching of four different antibacterials from oil-and alginate-coated fish-feed pellets. **Aquaculture Research**, v. 26, n. 8, p. 549-556, 1995.

FURUYA, Wilson Massamitu *et al.* Coeficientes de digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alguns ingredientes pela tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus* (L.)(linhagem tailandesa). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 23, p. 465-469, 2001.

FURUYA, W. M. Níveis de proteína e fitase em rações de terminação para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 8, n. 1, 2005.

FURUYA, Wilson Massamitu *et al.* Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. Toledo: GFM, 2010.

JUST, Philip N. *et al.* Effects of two delivery matrix components, alginate and polyethylene glycol, on the intestinal tract and inflammatory response of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 55, n. 1, p. 202-222, 2024.

MA, Fei *et al.* Effects of extruded and pelleted diets with differing protein levels on growth and nutrient retention of tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. **Aquaculture International**, v. 23, p. 1341-1356, 2015.

MAYNARD, Leonard Amby *et al.* Animal nutrition. **Animal nutrition.**, n. 6th ed, 1969.

MORALES, Gabriel A. *et al.* Effect of different inorganic phosphorus sources on growth performance, digestibility, retention efficiency and discharge of nutrients in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 495, p. 568-574, 2018.

PARIZI, José Luiz Santos. Avaliação do potencial genotóxico do 51Cr2O3, marcador de digestibilidade, por meio da frequência de anormalidades nucleares em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). 2012.

PERES, H. *et al.* Growth performance and metabolic responses of Nile tilapia fed diets with different protein to energy ratios. **Aquaculture**, v. 547, p. 737493, 2022.

PEZZATO, Luiz Edivaldo *et al.* Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 1595-1604, 2002.

HATLEN, Bjarne *et al.* Addition of yttrium oxide as digestibility marker by vacuum coating on finished pellets—A method for assessing digestibility in commercial salmon feeds?. *Aquaculture*, v. 435, p. 301-305, 2015.

HILLESTAD, Marie; ÅSGÅRD, Torbjørn; BERGE, Gerd Marit. Determination of digestibility of commercial salmon feeds. ***Aquaculture***, v. 179, n. 1-4, p. 81-94, 1999.

HUO, Xingchen *et al.* Oral pcDNA3. 1-VP4/VP56-FlaC DNA vaccine encapsulated by chitosan/sodium alginate nanoparticles confers remarkable protection against GCRV infection in grass carp. ***Aquaculture***, v. 577, p. 739996, 2023.

QUADROS, Moisés *et al.* Crude protein reduction and digestible methionine+ cystine and threonine to digestible lysine ratios in diets for Nile tilapia fingerlings. ***Revista Brasileira de Zootecnia***, v. 38, p. 1400-1406, 2009.

RODRIGUES, A. P. O. *et al.* Qualidade de rações comerciais utilizadas na alimentação do pirarucu *Arapaima gigas* em cativeiro. 2017.

RODRIGUEZ, Yamila E. *et al.* Exogenous enzymes in aquaculture: Alginate and alginate-bentonite microcapsules for the intestinal delivery of shrimp proteases to Nile tilapia. ***Aquaculture***, v. 490, p. 35-43, 2018.

ROSTAGNO, H S. *et al.* Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos - Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. Viçosa : Departamento de Zootecnia, UFV, 2017.

SHIPTON, T. A.; BRITZ, P. J. An assessment of the use of chromic oxide as a marker in protein digestibility studies with *Haliotis midae* L. ***Aquaculture***, v. 203, n. 1-2, p. 69-83, 2001.

SPYRIDAKIS, P.; METAILLER, R.; GABAUDAN, J. Studies on nutrient digestibility in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): 2. Effect of sodium alginate on protein and lipid digestibility. ***Aquaculture***, v. 77, n. 1, p. 71-73, 1989.

STOREBAKKEN, Trond; AUSTRENG, Erland. Binders in fish feeds: II. Effect of different alginates on the digestibility of macronutrients in rainbow trout. ***Aquaculture***, v. 60, n. 2, p. 121-131, 1987.

STOREBAKKEN, Trond. Binders in fish feeds: I. Effect of alginate and guar gum on growth, digestibility, feed intake and passage through the gastrointestinal tract of rainbow trout. **Aquaculture**, v. 47, n. 1, p. 11-26, 1985.

TACON, Albert GJ; METIAN, Marc. Feed matters: satisfying the feed demand of aquaculture. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, v. 23, n. 1, p. 1-10, 2015.

VEGA-CARRANZA, Ana S. et al. Alginate microcapsules as delivery and protective systems of *Bacillus licheniformis* in a simulated shrimp's digestive tract. **Aquaculture**, v. 540, p. 736675, 2021.

YIN, Zi-Chen; WANG, Yan-Ling; WANG, Kun. A pH-responsive composite hydrogel beads based on agar and alginate for oral drug delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 43, p. 12-18, 2018.