

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

**VALOR NUTRITIVO, PELA TILÁPIA DO NILO, DO FARELO DE
ALGODÃO SUPLEMENTADO COM FITASE**

RENAN DE MATTOS BOTELHO

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Zootecnia, como parte das
exigências para obtenção do título
de Mestre.

BOTUCATU - SP
Maio – 2012

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

**VALOR NUTRITIVO, PELA TILÁPIA DO NILO, DO FARELO DE
ALGODÃO SUPLEMENTADO COM FITASE**

RENAN DE MATTOS BOTELHO
Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Zootecnia, como parte das
exigências para obtenção do título
de Mestre.

BOTUCATU - SP
Maio – 2012

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

B748v Botelho, Renan de Mattos, 1988-
Valor nutritivo, pela tilápia do Nilo, do farelo de algodão suplementado com níveis de fitase / Renan de Mattos Botelho. - Botucatu : [s.n.], 2012
v, 51 f. : il., gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2012

Orientador: Luiz Edivaldo Pezzato

Co-orientador: Pedro de Magalhães Padilha

Inclui bibliografia

1. Aminoácidos na nutrição animal. 2. Digestão.
3. Farelo de algodão como ração. 4. Peixe - Alimentação e rações. 5. Peixe - Nutrição. 6. Tilápia (Peixe).
I. Pezzato, Luiz Edivaldo. II. Padilha, Pedro de Magalhães. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

Dedicatória

*A **DEUS** por estar sempre ao meu lado, me guiando, dando paz, saúde e forças para que eu siga meu caminho.*

“AQUELE que habita no esconderijo do Altíssimo, à sombra do Onipotente descansará.

Direi do Senhor: Ele é o meu Deus, o meu refúgio, a minha fortaleza, e nele confiarei...”

Salmo 91

*Aos meus pais, **Valdeci e Fátima**, por sempre terem acreditado em mim, pelo amor, oportunidade, compreensão, incentivo, verdadeiro exemplo de caráter e honestidade que tenho em minha vida... Muito obrigado, amo muito vocês!!!*

*À minha namorada **Julcy**, pela amizade, cumplicidade e apoio nos momentos em que precisei. Obrigado por fazer parte da minha vida, te amo!!!*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela minha vida, por ter me dado uma família maravilhosa, pelo seu infinito amor que tens por mim sempre nos amparando nos momentos mais difíceis;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudos;

À empresa M.CASSAB, pelo fornecimento da enzima fitase utilizada para realização do presente estudo;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, pela oportunidade, ensinamentos, incentivo, amizade e exemplo profissional;

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha pelos ensinamentos, amizade e incansável ajuda nas análises;

À Profa. Dra. Margarida Maria Barros, por ter me recebido como estagiário, dando oportunidade para que eu mais tarde ingressasse no Mestrado, pelo exemplo profissional, ensinamentos e amizade;

Ao Prof. Dr. Carlo Rossi Del Carratore, por ter sido a pessoa que me forneceu a base dos conhecimentos para chegar até aqui, meu primeiro “mestre”, por acreditar em mim, pelas oportunidades, incentivo, amizade e exemplo profissional;

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

Ao Prof. Dr. Heraldo César Gonçalves, pelo auxílio nas análises estatísticas;

A toda equipe do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos – AquaNutri; Rafael Lopes da Silva, Mariucha Karina H. R. Rocha, Flávia Mota Damasceno, Pedro Luiz P. F. de Carvalho, Vivian Gomes dos Santos, Rosangela do Nascimento Fernandes, Caroline Peregrina Teixeira, João Fernando A. Koch, Felipe Tenório Cintra, Ademir Calvo F. Junior, Eric (Jundiá), Mariana (Vuku), entre outros que passaram pelo laboratório, agradeço pelo apoio, ajuda e amizade.

Aos professores e funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal pelo auxílio e amizade;

Ao Prof. Dr. Dirlei Antonio Berto, pelas conversas e amizade;

Aos funcionários da Seção de Pós-graduação da FMVZ, Posto de Serviço Lageado, Seila Cristina Cassineli e Carlos Pazini Junior pela paciência, atenção e auxílios prestados;

À Gisele Setznagl do Laboratório de Bromatologia – FMVZ pela ajuda nas análises e pela amizade;

Ao Dr. Renato de Cassio Ferreira Neves, Química – IB, pela ajuda nas análises dos minerais, ensinamentos e amizade;

*A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, o meu **muito obrigado!!!***

"O animal é tão ou mais sábio do que o homem: conhece a medida da sua necessidade, enquanto o homem a ignora." (Demócrito 460 – 370 a. C.)

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO I	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	2
TILÁPIA DO NILO.....	3
CARACTERÍSTICAS GERAIS DO FARELO DE ALGODÃO	4
INCLUSÃO DO FARELO DE ALGODÃO EM DIETAS	5
FÓSFORO: FUNÇÕES E METABOLISMO	7
EXIGÊNCIA DE FÓSFORO	9
DISPONIBILIDADE DE FÓSFORO.....	10
FÓSFORO FÍTICO.....	12
CARACTERÍSTICAS DA ENZIMA FITASE	14
PROPRIEDADE ESTRUTURAL DA FITASE	16
UTILIZAÇÃO DA FITASE EM RAÇÕES DE PEIXES.....	17
REFERÊNCIAS	21
 CAPÍTULO II	 29
VALOR NUTRITIVO, PELA TILÁPIA DO NILO, DO FARELO DE ALGODÃO SUPLEMENTADO COM FITASE.....	30
Resumo.....	30
Abstract	31
Introdução.....	32
Material e Métodos	33
Resultados	36
Discussão.....	37
Conclusão	40
Referências	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das dietas.....	45
Tabela 2. Composição químico bromatológica da dieta referência e do farelo de algodão	46
Tabela 3. Valores médios dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e disponibilidade aparente dos minerais do farelo de algodão para tilápia do Nilo suplementado ou não com níveis da enzima fitase	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Dispersão e equação polinomial para coeficiente de digestibilidade aparente da matéria mineral do farelo de algodão suplementado com níveis de fitase para tilápia do Nilo	48
Figura 2 - Dispersão e equação polinomial para coeficiente de disponibilidade aparente do mineral fósforo contido no farelo de algodão suplementado com níveis de fitase para tilápia do Nilo	48
Figura 3 - Dispersão e equação polinomial para coeficiente de disponibilidade aparente do mineral manganês contido no farelo de algodão suplementado com níveis de fitase para tilápia do Nilo	49
Figura 4 - Dispersão e equação polinomial para coeficiente de disponibilidade aparente do mineral zinco contido no farelo de algodão suplementado com níveis de fitase para tilápia do Nilo.....	49
Figura 5 - Dispersão e equação polinomial para coeficiente de disponibilidade aparente do mineral cobre contido no farelo de algodão suplementado com níveis de fitase para tilápia do Nilo.....	50
IMPLICAÇÕES.....	51

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Na natureza, os peixes suprem com facilidade suas exigências nutricionais a partir dos alimentos disponíveis no ambiente. No Brasil, nestes últimos anos, a produção de peixes em tanques-rede (sistema intensivo) tem aumentado de forma expressiva, desse modo, tem sido dada maior atenção aos alimentos utilizados nesses sistemas, uma vez que a ração é o único alimento oferecido aos peixes.

As rações comerciais utilizadas para o arraçoamento dos peixes, mesmo dos onívoros tropicais, geralmente contêm algum alimento proteico de origem animal. Dentre estes alimentos, os mais empregados são as farinhas de carne, de vísceras e de penas de aves e de sangue, substituindo a farinha de peixe.

A indústria de alimentos para os animais objetiva a produção de rações balanceadas de boa qualidade com mínimo custo. Os responsáveis pela formulação utilizam alimentos energéticos e proteicos que se mostrem com qualidade, que sejam economicamente viáveis e, que sejam disponíveis durante a maior parte do ano (Pezzato et al., 2004).

Entretanto, alguns destes alimentos, por apresentarem baixo valor nutritivo, quando utilizados nas rações comerciais podem resultar em perdas elevadas de nutrientes ao ambiente. Dentre os nutrientes mais incorporados a água se destacam o nitrogênio e o fósforo, ambos com alto custo e funções imprescindíveis à fisiologia, ao desempenho produtivo e a saúde dos peixes.

Atualmente é possível a elaboração de rações balanceadas para os peixes tropicais, compostas exclusivamente por alimentos de origem vegetal, resultado do avanço da tecnologia de processamento de alimentos, engenharia genética, disponibilidade de novos pronutrientes e aditivos, além do maior número de informações acerca das exigências nutricionais dessas espécies (Pezzato et al., 2009). A utilização de rações ecologicamente corretas tem sido recomendada pelos nutricionistas, uma vez que a descarga de nutrientes em efluentes de piscicultura está diretamente associada a qualidade das rações utilizadas.

O farelo de algodão é o terceiro alimento proteico de origem vegetal mais produzido no mundo. Além de apresentar custo relativamente baixo, apresenta bom conteúdo proteico e perfil aminoacídico (FAO, 1983). Desta forma, tem sido utilizado

como fonte proteica pela indústria de alimentos para animais. O menor custo na formulação de rações tem sido a principal razão para este co-produto da indústria da extração do óleo da semente de algodão seja utilizado na alimentação de várias classes de animais (Martin, 1990).

Além do valor nutritivo dos alimentos a serem utilizados no balanceamento das rações para os peixes tropicais deve-se considerar a baixa absorção e o excesso de nitrogênio e de fósforo da dieta. Esta situação pode determinar a eutrofização do meio e comprometer a qualidade da água e, se houver domínio das cianobactérias, ocorrerá redução do desempenho produtivo dos peixes e alterações nas características organolépticas da carne (Bock et al., 2006).

O mercado consumidor sinaliza preferência por alimentos obtidos com técnicas que minimizem os impactos ambientais. Assim, é necessário promover a piscicultura intensiva com base nos princípios das boas práticas de produção. Os alimentos de origem vegetal podem conter até 81,0% dos fosfatos presentes na forma de fósforo fítico (Riche e Brown, 1996), sendo este capaz de complexar com cátions, proteínas, amido (Cheryan, 1980).

O fitato torna não digestíveis para os peixes os nutrientes da dieta de forma significativa. Isto se deve, segundo Vielma et al. (1998) ao fato da mucosa intestinal dos peixes não secretar a enzima fitase, fosfatase esta que remove o fosfato da molécula de fitato.

É de vital importância melhorar os valores digestíveis dos nutrientes dos alimentos que compõem as rações comerciais utilizadas na piscicultura intensiva. Portanto deve-se avaliar a ação e a eficiência da utilização de pronutrientes, com destaque à fitase, que pode melhorar a eficiência de utilização dos nutrientes, como a proteína e o fósforo.

TILÁPIA DO NILO

A tilápia é originária do continente Africano e apresenta distribuição cosmopolita (Philippart e Ruwet, 1982). Seu cultivo ocorre em países que apresentam climas tropical e subtropical e existem aproximadamente 70 espécies de tilápia, sendo três as de importância comercial: *Tilapia* spp, *Oreochromis* spp e *Sarotherodon* spp (Popma e Lovshin, 1996).

A tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, é a espécie mais cultivada no Brasil devido a sua rusticidade e rápido crescimento, apresenta hábito alimentar onívoro, aceita muito bem ração comercial, sua carne possui ótima qualidade, não apresenta espinhas intramusculares e seu rendimento de filé é de aproximadamente 35% (Lovshin, 1998). É facilmente reconhecida por sua coloração cinza azulada e listras verticais no corpo, possui cabeça pequena e corpo alto, podendo pesar até 5kg, no entanto, o seu peso comercial fica em torno de 350 a 600g (Lovshin, op. cit.).

A temperatura ideal para o crescimento da tilápia segundo Popma e Lovshin (1996) está em torno de $26,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$. As tilápias podem resistir a concentração de oxigênio de até 0,5 mg/L, sendo o pH ideal o neutro ou levemente alcalino.

CARACTERÍSTICAS GERAIS DO FARELO DE ALGODÃO

O farelo de algodão, alimento proteico de origem vegetal, é um dos produtos secundários do processamento do algodão (*Gossypium hirsutum*). A composição química e o valor nutricional do farelo obtido correlacionam-se com o tipo de processamento utilizado para extração do óleo.

Segundo Ezequiel (2002), para obtenção do farelo, após a colheita do algodão, realiza-se o descaroçamento por processo mecânico. A cada tonelada de algodão colhido são disponibilizadas aproximadamente 1,67 toneladas de caroços. Após a retirada das fibras longas, nesses caroços permanecem fixadas fibras celulósicas curtas denominadas *linters*. Esses caroços são submetidos à limpeza e processo mecânico para remoção do linter. Os caroços sem linters são separados em cascas e sementes oleaginosas por meio de equipamento descascador.

As sementes, então, passam por processo de extração do óleo, por prensagem mecânica, hidráulica ou extrusão, além do emprego adicional de solventes para maior extração de óleo residual. Após a extração do óleo se obtém o farelo de algodão (Ezequiel, op. cit.).

O farelo de algodão está entre os alimentos de origem vegetal mais disponível mundialmente. Este constitui a terceira fonte proteica de origem vegetal de maior produção mundial, precedido pelos farelos de soja e de canola (FAO, 1996).

Esse farelo apresenta menor preço se comparado ao farelo de soja e outras fontes proteicas. Apresenta bom conteúdo proteico (de 26,0 a 54,0%) e razoável balanço de aminoácidos (Butolo, 2002).

A palatabilidade do farelo de algodão tem sido uma das características ressaltadas por vários autores. Segundo Lovell (1982), esse farelo apresentou boa aceitação, tendo se mostrado mais apetecível que o farelo de soja, pelo salmão *chinook* (*Oncorhynchus tshawytscha*). Este fato foi também verificado com a tilápia do Nilo por Pezzato et al. (1988) e por Barros et al. (2002) com o bagre do canal.

O farelo de algodão apresenta o gossipol como o principal fator antinutricional, além dos ácidos graxos ciclopropenóicos, estercúlico e malvático. Os ácidos graxos ciclopropenóicos biologicamente ativos estão presentes em quantidades diminutas no óleo e não são prejudiciais à saúde (Liener 1980).

Nesse alimento, a proteína bruta está inversamente correlacionada com a fibra bruta e ao gossipol livre. O gossipol, que pode ser moderadamente tóxico para os animais, está presente na semente não processada na forma livre e se localiza nas glândulas pigmentares. Dependendo do processamento e extensão da ruptura dessas glândulas, parte do gossipol é extraída junto ao óleo e parte é complexada à proteína, resultando em sua forma não tóxica. Entretanto, o sítio de ligação do gossipol está localizado principalmente no ϵ -amino grupo da lisina, tornando esse aminoácido indisponível ao animal (Robinson & Li, 1995).

INCLUSÃO DO FARELO DE ALGODÃO EM DIETAS

Diversos estudos avaliaram a utilização do farelo de algodão nas dietas de diferentes espécies animais. No Brasil é uma das mais usuais fontes de proteína vegetal na alimentação de gado de leite e corte (Butolo 2010); na alimentação de peixes apresenta incremento na palatabilidade das rações, aparentemente superior a do farelo de soja (Lovell 1982; Robinson & Li 1994), além de possuir custo relativamente baixo e apresentar bom conteúdo proteico e perfil aminoacídico (FAO 1983). O menor custo na formulação de rações tem sido a principal razão para que este co-produto seja utilizado na alimentação animal (Martin 1990).

Observam-se resultados contraditórios em relação à saúde e prejuízos produtivos em função da utilização do farelo de algodão para espécies de peixes. Herman (1970)

alimentaram trutas arco-íris (*Salmo gairdnerii*) com dietas contendo 1000 ppm de gossipol livre durante 14 meses e observaram depressão do crescimento, redução do hematócrito, da hemoglobina e da proteína plasmática total, além de alterações histopatológicas no fígado, rins e cecos pilóricos; entretanto, contrariamente, Blom et al. (2001) substituíram totalmente a farinha de peixe pelo farelo de algodão em dietas para truta arco-íris, por seis meses, e observaram bom desempenho e sobrevivência. Entretanto, para que não ocorram significativos prejuízos ao ganho de peso, conversão alimentar e taxa de sobrevivência, Cheng & Hardy (2002) recomendaram a inclusão de somente 10% de farelo de algodão na dieta dessa mesma espécie.

Toko et al. (2008) recomendaram que o farelo de soja e o farelo de algodão substituam apenas parcialmente a farinha de peixe da dieta para o *Vundu catfish* (*Heterobranchus longifilis*); Lim & Lee (2008) determinaram que apenas 30% da farinha de peixe seja substituída pelo farelo de algodão suplementado com ferro e fósforo, destacando ser essa forma segura de utilização do farelo de algodão; Lim & Lee (2009) determinaram para o *parot fish* (*Oplegnathus fasciatus*) que 30% da proteína da farinha de peixe pode ser substituída por mistura em quantidades iguais de farelo de soja e farelo de algodão e com a inclusão de ferro, fitase, lisina e metionina.

Barros et al. (2002) substituíram o farelo de soja por farelo de algodão em dietas para juvenis de bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) durante dez semanas e não observaram mudanças nos valores de eritrócitos, leucócitos, hematócrito e hemoglobina desses peixes, mesmo recebendo 55% de farelo de algodão (700 ppm de gossipol livre); resultados semelhantes foram obtidos por Robinson (1991), em pesquisa com a mesma espécie, quando substituiu o farelo de soja pelo farelo de algodão com 220 ppm de gossipol livre. Após 12 semanas observou que o farelo de soja poderia ser totalmente substituído na dieta pelo farelo de algodão quando suplementada a dieta com lisina.

Li et al. (2009) demonstraram igualmente, para o bagre do canal, que a combinação normalmente disponível de alimentos vegetais (farelo de soja, milho, farelo de trigo ou farelo de soja, milho, farelo de trigo e farelo de algodão) pode prover o mesmo desempenho produtivo que a dieta contendo farinha de peixe. Robinson & Li (1994), por razões econômicas e por incrementar palatabilidade à dieta, recomendaram o farelo de algodão como fonte proteica exclusiva de dietas para o bagre do canal.

Discordantes são os resultados frente à utilização do farelo de algodão em dietas para a tilápia. Jackson et al. (1982) avaliaram fontes proteicas vegetais e níveis de inclusão, em substituição à farinha de peixe em dietas para tilápia (*Sarotherodon mossambicus*). O farelo de algodão (200 ppm de gossipol livre) se mostrou superior às demais fontes e propiciou taxa de crescimento aceitável quando da inclusão de 100%, resultado atribuído ao excelente perfil e disponibilidade dos aminoácidos.

De forma similar, El Sayed (1990) substituiu a proteína da farinha de peixe pela proteína do farelo de algodão e demonstrou que este pode ser utilizado como fonte proteica exclusiva para a tilápia do Nilo, sendo que a suplementação de lisina não melhorou o desempenho. De forma discordante, Viola e Zohar (1984) relataram que somente 50% da proteína do farelo de soja pôde ser substituída pela proteína do farelo de algodão sem prejudicar o desempenho produtivo. Yue & Zhou (2008) determinaram que 60% do farelo de soja pôde ser substituído pelo farelo de algodão, suplementado com lisina, porém a substituição total reduziu o valor nutricional da dieta. Mbahinzireki et al. (2001) substituíram a proteína da farinha de peixe, em dietas para tilápia, pela proteína do farelo de algodão verificando que a taxa de crescimento não diferiu até a substituição de 50%.

Guimarães et al. (2008) determinaram, pela tilápia do Nilo, os coeficientes de digestibilidade (CDA) da proteína e dos aminoácidos dos farelos de soja, de algodão-28, algodão-38 e, glúten de milho-60. Esses alimentos foram incorporados a uma dieta prática referência na relação 7:3 (70% de dieta referência e 30% do alimento teste). Os maiores CDA da proteína foram apresentados pelo glúten de milho-60 (91,39%) e pelo farelo de soja (92,44%), enquanto o farelo de algodão-28 apresentou o menor CDA (78,59%). O CDA médio dos aminoácidos do farelo de soja, glúten de milho, algodão-28 e algodão-38, foram respectivamente, 92,33; 89,56; 73,45 e 80,71%, similar ao valor obtido para a digestibilidade da proteína.

FÓSFORO: FUNÇÕES E METABOLISMO

Segundo Steffens (1987), o fósforo é o elemento mineral de maior importância econômica na alimentação animal, sendo o segundo mineral de importância na estrutura óssea. Dos ossos, 37% correspondem ao cálcio e 16% ao fósforo, existindo grande relação entre estes dois minerais (Steffens, op. cit.). O fósforo também se encontra nos

ácidos nucleicos, fosfolipídios e numa série de enzimas, uma vez que participa de importantes processos metabólicos (Berne et al., 2000).

O íon fosfato é de grande importância nos sistemas biológicos, é componente integrante de todos os compostos glicolíticos, desde a glicose-1P até o fosfoenolpiruvato. Faz parte da estrutura dos compostos de alta energia como o ATP e a creatinina fosfato, de cofatores como o NAD, NADP e a tiamina-pirofosfato, e de lipídios como a fosfatidilcolina. Atua ainda como moderador covalente de numerosas enzimas e é um dos principais ânions da estrutura cristalina dos ossos. As reservas de fosfato nos tecidos moles, como a massa muscular, são grandes e, a transferência entre essas reservas e o líquido extracelular, constitui fator importante na regulação minuto a minuto do fosfato plasmático (Berne et al., op. cit.).

Cerca de 80,0% do fósforo presente no corpo se localiza nos ossos, estrutura de sustentação do animal. Esse mineral é responsável, em parte, pela mineralização óssea e atua também no metabolismo do cálcio, mineral de maior participação no corpo. Nos peixes, aproximadamente de 85,0 a 90,0% do fósforo está presente nos ossos e escamas (Lovell, 1988).

Ogino & Kamizono (1975) alimentaram trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) com dietas isentas em fósforo e, após duas semanas, observaram diminuição do apetite, retardo no crescimento e anemia hipocrômica microcítica. Parte dos peixes tiveram convulsão e morte, enquanto os sobreviventes apresentaram escoliose, lordose e descamação de ossos craniais. Chow & Schell (1980) resumiram os sintomas de deficiência e as exigências de 16 minerais para diversas espécies de peixes e demonstraram que somente a deficiência de quatro deles, fósforo, magnésio, ferro e iodo produziram sinais clínicos evidentes.

Os peixes utilizam em seu metabolismo, preferencialmente o fósforo proveniente da dieta. Parte deste mineral pode ser absorvido da água, embora em quantidades insuficientes para o seu crescimento. Segundo Hepher (1993) a assimilação de fósforo do alimento é 200 vezes maior do que o absorvido da água. Assim, sua suplementação em rações para peixes se faz necessária quando se utilizam alimentos de origem vegetal, nos quais este mineral se apresenta em grande parte na forma indisponível (Miranda, 2000).

Para Steffens (1987), o fósforo inorgânico da alimentação é absorvido em considerável quantidade mediante trocas de formas não iônicas, solúveis em ácido, no canal digestivo e também mediante transporte na forma iônica através do estômago até músculos e tecidos estruturais. A maior parte do fósforo é absorvida através do intestino. O fósforo absorvido no intestino circula pelo corpo e é facilmente extraído do sangue para ser utilizado pelos ossos, podendo ainda, durante o período de escassez na dieta, ser reabsorvido destes para manter níveis normais de plasma sanguíneo. O mecanismo de transporte envolve a ação dos hormônios paratireoideanos, da calcitonina e estrógenos que atuam nos órgãos, ossos, rins e intestino (Murry et al., 1990).

EXIGÊNCIA DE FÓSFORO

O fósforo, segundo Pezzato et al. (2004), é o mineral mais importante na nutrição dos peixes, principalmente para atender ao crescimento, mineralização óssea e o metabolismo dos lipídios, sendo que sua inclusão na dieta varia entre 0,5 e 0,9%, como fósforo disponível, para a maioria dos peixes. Os níveis de inclusão de fósforo para os peixes dependem das características do sistema digestório e da fonte desse mineral, pois espécies que têm estômago, absorvem melhor os fosfatos menos solúveis (Steffens, 1987).

O fósforo orgânico é representado pelos fitatos, fosfolipídios e fosfoproteínas, enquanto o inorgânico pelos monofosfatos, bifosfatos e trifosfatos, solúveis ou não no suco gástrico dos peixes. Assim, a forma que o fósforo se apresenta, solúvel ou não no suco gástrico dos peixes, depende do alimento utilizado na dieta (Pizzolante, 2000).

Os teores de fósforo disponível nas dietas dos peixes, para as melhores respostas de crescimento e mineralização dos ossos, segundo Andrews et al. (1973), Ketola (1975) e Nose & Arai (1976), se apresenta entre 0,27 e 0,80%. Diferentemente do cálcio, a razão de absorção do fósforo da água é de apenas 0,01% em relação à do cálcio (Phillips et al., 1963), sendo os níveis de fósforo da água extremamente baixos (<0,002%), o que torna o nutriente limitante para o ambiente aquático. Assim, as exigências de fósforo para peixes necessitam ser quase exclusivamente satisfeitas pela dieta (Wilson et al., 1982). O fósforo absorvido em excesso volta a ser excretado na forma hidrossolúvel, presumivelmente com a urina (Steffens, 1987).

Watanabe et al. (1980) observaram que alevinos de tilápia do Nilo absorvem 65,0% do fósforo da farinha de peixe, valor semelhante ao absorvido pela truta arco-íris e pelo salmão. Utilizando dieta a base de farinha de peixe, estes autores observaram melhor aproveitamento do que suplementado com fosfato de sódio primário (NaH_2PO_4). Os autores concluíram que para estas espécies a exigência é menor que 0,9% da dieta.

Em pesquisa realizada com dieta a base de farinha de peixe, Shimeno et al. (1994) objetivando determinar a exigência de fósforo para *yellowtail*, concluíram que a suplementação maior que 0,68% de fósforo afetou severamente o crescimento, a conversão alimentar, e a retenção aparente de proteína da dieta. Esses resultados sugerem que o excesso de fósforo também inibe a utilização das proteínas pelos peixes. Nesse sentido, Satoh et al. (1996) desenvolveram estudo com trutas, as quais foram alimentadas com dietas semipurificadas sem adição de fósforo e com níveis crescentes de fosfato de potássio (KH_2PO_4). Estes autores concluíram que o excesso de fósforo reduziu a síntese de proteína e a disponibilidade de zinco, sugerindo que o conteúdo na ração pode ser regulado para menos que 0,15% de P_{disp} . Por outro lado, estudo realizado por Takeuchi & Kazoe (1981) revelou que para carpa comum a concentração de fósforo no alimento não deve ser inferior a 0,15% da ração.

DISPONIBILIDADE DE FÓSFORO

O fósforo está presente na maioria dos alimentos, porém sua disponibilidade varia significativamente. Além disso, seu aproveitamento para as diferentes espécies de peixes também pode ser variado (Miranda, 2000).

Os alimentos de origem vegetal têm pequena quantidade de fósforo disponível, assim, quando se utiliza em maior quantidade os alimentos de origem vegetal para se formular dietas para peixes, é necessário incorporar à mistura, algum alimento de origem animal ou uma fonte inorgânica de fósforo para suprir essa deficiência. Tal prática permite balancear rações para os peixes tropicais de hábito onívoro, com alimentos exclusivamente de origem vegetal (Gonçalves et al., 2007).

É importante o conhecimento da digestibilidade dos alimentos utilizados nas rações dos peixes (Guimarães et al., 2008), pois a partir desses resultados é possível utilizar as mais variadas fontes proteicas e/ou energéticas alternativas de origem vegetal. Isso facilita a formulação de rações para espécies de diferentes hábitos alimentares,

minimizando os custos de produção (Pezzato et al., 2009) e, além disso, permite reduzir a carga de nitrogênio e fósforo excretados em função do desbalanço da dieta (Bock et al., 2007).

Grande parte dos estudos sobre o valor nutricional de alimentos para rações de peixes visam, obter principalmente os coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e da energia. Poucos são os estudos com peixes tropicais sobre a disponibilidade dos macro e micro minerais dos alimentos não convencionais. Entretanto, segundo Miranda (2000) embora a farinha de peixe contenha altos níveis de fósforo, sua disponibilidade para a tilápia do Nilo é de apenas 27,15%, o que resulta em excesso de fósforo excretado para o meio ambiente.

A maioria dos compostos naturais de fósforo são solúveis somente em ácidos e não são hidrossolúveis. A apatita e o fosfato tricálcico presentes nos ossos somente se dissociam em ácido forte. Assim, há diferença na absorção dos minerais entre os peixes (com estômago) onde ocorre secreção ácida e aqueles que não dispõem de estômago (Hepher, 1993).

Alguns alimentos apresentam razoáveis quantidades de minerais, porém a sua disponibilidade pode ser limitada. Por exemplo, os minerais contidos no farelo de soja são menos disponíveis que aqueles contidos na caseína, devido à presença do ácido fítico o qual forma complexo (quelatos) que imobiliza os minerais e os torna indisponíveis aos peixes (Cunha, 1967).

Em pesquisa utilizando alimentos exclusivamente vegetais, tendo o farelo de soja como base proteica para o salmão, Ketola (1975) adicionou 6g de fosfato secundário (CaHPO_4)/kg à dieta e observou melhora no crescimento, na conversão alimentar e no conteúdo mineral dos ossos.

O fósforo do fosfato tricálcico é menos disponível do que dos fosfatos mono e bicálcico, uma vez que a disponibilidade do fósforo depende da solubilidade do sal envolvido (Ogino et al., 1979). Nose & Arai (1976) observaram que a porcentagem de retenção líquida de fósforo, pela truta arco-íris foi de 61,0% para o fosfato tricálcico, 51,0% para a farinha de peixe e 19,0% para o farelo de arroz; enquanto com a carpa comum foi 26,0% para o fosfato tricálcico, 3,0% para a farinha de peixe e 25,0% para o farelo de arroz.

A assimilação do fósforo a partir dos minerais da dieta mostra-se bastante elevada e pode ser em torno de 90,0 a 95,0% (Ogino et al., 1979). Entretanto, tem-se registrado valores mais baixos para o fósforo em dietas contendo alimentos de origem vegetal que segundo Steffens (1987), seria de apenas 40,0% para a carpa comum.

Segundo Watanabe (1988), embora seja elevado o teor de minerais presente em rações para peixes contendo grande quantidade de farinha de peixe, a disponibilidade destes minerais é relativamente baixa devido à interação que existe entre os minerais. Este mesmo autor relatou, nessas dietas, valores de fósforo disponível de 30,0% para o *red seabream*, 71,0% para o salmão do Atlântico e, 65,0% para a tilápia do Nilo.

A maioria dos estudos que relata a disponibilidade de fósforo em ingredientes vegetais foi realizada com peixes de clima temperado. Sugiura et al. (1998) encontraram teores de fósforo disponível (P_{disp}) no farelo de trigo de 55,3% com a truta arco íris e, de 41,0% com o salmão, enquanto que para o farelo de soja os valores foram de 22,0 e 28,0%, respectivamente. Para o bagre do canal, Lovell (1978) obteve valores entre 50,0 e 54,0% de P_{disp} para o farelo de soja, enquanto, Wilson et al. (1982) e Li & Robinson (1996) encontraram valores de P_{disp} de 29,0 e 49,0%, respectivamente.

Furuya et al. (2001) determinaram o coeficiente de disponibilidade aparente do fósforo presente na farinha de peixe, milho, farelo de trigo e farelo de soja para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e obtiveram valores de CDA de P de 49,78; 45,0; 29,51 e 47,14%, respectivamente. Em estudo realizado por Miranda (2000) para determinar a disponibilidade de fósforo em ingredientes de origem vegetal, com a tilápia do Nilo, observou-se valores de CDA de P de 7,3% para o milho, 35,1% para o farelo de soja e 30,7% para o farelo de trigo.

FÓSFORO FÍTICO

Fósforo fítico (Figura 1) é a designação dada ao fósforo que faz parte da molécula do ácido fítico (fitato), conhecido cientificamente como hexafosfato de inositol ou mio-inositol, podendo compor 81,0% do conteúdo de fosfato presente nos vegetais (Riche & Brown, 1996).

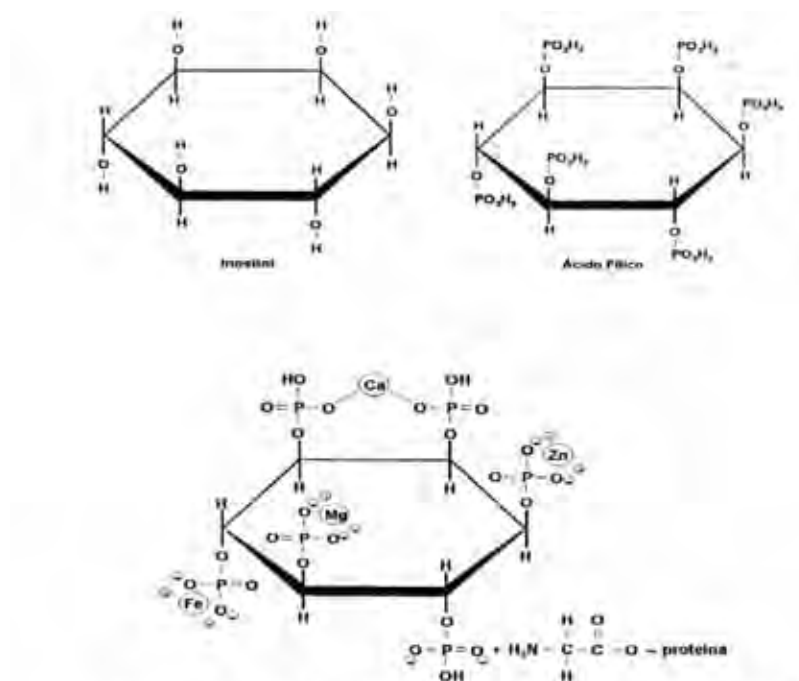


FIGURA 1. Exemplo de uma molécula completa de ácido fítico com cálcio (Ca), zinco (Zn), magnésio (Mg), ferro (Fe) e proteína.

Segundo Kornegay (1999) o fitato está presente em todos os vegetais e, de modo geral, contem alta quantidade de fósforo (28,2%), com grande capacidade de quelação com outros minerais e proteínas, o que lhe confere denominação de antinutriente (Liu et al., 1998).

Embora muitos cereais sejam ricos em proteínas e lipídeos, também apresentam alguns fatores antinutricionais que podem limitar seu uso na alimentação (Liu et al., 1998). Alimentos proteicos de origem vegetal possuem grandes quantidades de fósforo na forma de fitato, que segundo Riche & Brown (1996) seriam de 59,3% no farelo de amendoim; 63,1% no farelo de algodão; 81,7% no farelo de soja; 51,9% no glúten de milho e 56,3% na canola. O fitato presente nesses alimentos, além de se apresentar na forma de fosfato não disponível para os animais monogástricos, forma em pH neutro, grande variedade de sais insolúveis com cátions di e trivalentes como o cálcio, zinco, cobre, cobalto, manganês, ferro e magnésio (Kornegay, 1999).

Segundo Bitar & Reinhold (1972), o fitato é a forma orgânica de fósforo menos utilizada por animais monogástricos devido à baixa atividade da enzima fitase em seu intestino. Nos alimentos, sob condições naturais, o ácido fítico encontra-se carregado negativamente o que lhe confere alto potencial para complexação com moléculas carregadas positivamente como cátions e proteínas (Cheryan, 1980). O fitato pode

complexar-se com proteínas, tanto em pH ácido como alcalino (Reddy et al., 1982). Já no caso do ferro (Fe^{3+}), em pH ácido ocorre precipitação quantitativa e em pH neutro e básico isto ocorre com vários minerais (Graf, 1983). Em pH 7,4 o fitato forma complexos com metais preferencialmente na seguinte ordem decrescente: $\text{Cu}^{++} > \text{Zn}^{++} > \text{Co}^{++} > \text{Mn}^{++} > \text{Fe}^{+++} > \text{Ca}^{++}$ (Oberleas, 1973).

O fitato existe na natureza como sal mono e divalente e tem várias funções fisiológicas durante a hidratação e germinação da semente. Possui capacidade de quelatar com vários minerais formando complexos fitato-mineral ou complexos com proteínas fitato-proteína, impedindo sua absorção no trato digestório (Wang et al., 1980). O fitato inibe a ação de enzimas proteolíticas tais como pepsina e tripsina fazendo com que complexos fitato-proteína/aminoácido ou fitatomineral-proteína seja de difícil digestão (Pizzolante, 2000).

Segundo Dasgupta et al. (1996), durante a hidratação e germinação das sementes, o ácido fítico é enzimaticamente defosforilado, convertendo o ácido fítico a produtos como ácidos fosfóricos e inositol livre ou compostos intermediários incluindo inositol mono, bi, tri, tetra e pentafofato ($\text{IP}_1 - \text{IP}_5$) dependendo do grau de fosforilação. O composto hexafofato de inositol (IP_6) segundo Thorstensen & Romslo (1990) tem poderosa ação de quelatar moléculas de ferro. Em sementes de plantas, o IP_6 pode estar contido como forma de armazenamento de fosfato, fator antinutricional ou antioxidante.

Somente IP_5 e IP_6 tem efeito negativo na biodisponibilidade de minerais. O demais compostos formados têm baixa capacidade de se ligar a minerais ou são mais solúveis (Sadnberg & Anderson, 1988). A ordem de minerais com potencial de inibição da hidrólise de fitato é $\text{Zn}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$ em pH neutro, com a acidificação do meio (pH 4, 0) diminui a capacidade inibitória dos cátions bivalentes (Maenz et al., 1999).

CARACTERÍSTICAS DA ENZIMA FITASE

Atualmente, a fitase recebe destaque em alguns países da Europa e nos Estados Unidos, onde algumas enzimas exógenas têm sido incorporadas às dietas dos animais com intuito de se reduzir os níveis de fósforo dos efluentes (Bedford, 2000). As enzimas são produzidas a partir de uma fonte viva, bacteriana ou fúngica, como fungos,

bactérias, leveduras e tecidos vegetais. Segundo Nokes (1999) as enzimas diminuem a energia de ativação da reação catalisada e, portanto, aceleram a reação na ordem de 10^{10} vezes. A fitase ou mio-inositol-hexafosfato fosfohidrolase foi primeiramente descoberta por Suzuki e colaboradores em um curso de estudos com farelo de arroz, onde encontraram uma enzima que catalisava a hidrólise do ácido fítico a inositol e ácido ortofosfórico (Liu, 1998).

Os principais produtos finais da ação da fitase são os ácidos fosfóricos e o mio-inositol, mas os fosfatidil-inositol são gerados como produtos intermediários ou em alguns casos como produtos finais. Na prática, a ação da fitase (ex. *Aspergillus niger*) que é comumente comercializada, tem a função de aumentar a disponibilidade do fósforo de alimentos utilizados na alimentação animal, por meio da liberação do fosfato de seu substrato, o ácido fítico (Liu, 1998).

Dentre as várias enzimas produzidas industrialmente, a fitase é utilizada principalmente para disponibilizar o fitato presente nos vegetais, além de atuar em outros nutrientes como as proteínas, aminoácidos e minerais (Kornegay, 1999).

A fitase se mantém estável em pH entre 3,0 e 9,0 e em temperaturas menores que 90°C. No entanto, variações extremas de pH e temperatura elevada reduzem sua atividade e podem destruir a enzima. O mesmo pode ocorrer em temperaturas menores que 0°C, porém a esta temperatura a fitase não é destruída, podendo ser conservada (Pizzolante, 2000).

As enzimas quando armazenadas com produtos com características inócuas, podem continuar estáveis e serem armazenadas por até seis meses, mesmo em condições ambientais instáveis (Classen, 1996). A fitase deve ser armazenada na forma pura e em baixas temperaturas e, quando utilizada em rações, esta deverá ser misturada diretamente aos macro ingredientes ou via suplemento mineral (Pizzolante, 2000).

A fitase tem ampla distribuição nas plantas, tecido animal e microorganismos. Nas plantas a fitase ocorre em cereais, legumes e várias sementes e pólen, assim como vários microorganismos incluindo bactérias, leveduras e muitas espécies de fungos também têm alta habilidade na produção de fitase (Liu, 1998). Esta presente no arroz, milho, soja, trigo e outros, sendo que em alguns desses alimentos, a enzima tem sido purificada e caracterizada extensivamente.

Dentre as fitases, destacam-se as produzidas por bactérias (*B. subtilis*, *E. coli*, *Pseudomonas* e *Klebsiella*), fungos e leveduras onde podem ser encontradas mais de 200 fungos isolados pertencentes ao gênero *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium* e *Rhizopus*. A maioria das fitases isoladas são ativas em pH ao redor de 4,5 a 6,0 e entre 45 e 60°C, sendo que sua atividade diminui drasticamente em valores de pH menores que 3,0 e maior que 7,5 (Liu, 1998). No caso da fitase produzida a partir da cultura de fungos tais como *A. niger*, o pH ótimo pode estar entre 2,5 e 5,5; enquanto que a fitase oriunda do trigo, possui pH ótimo ao redor de 5,5. Segundo (Eechhout & De Paepe, 1996) a fitase produzida por fungos do tipo *A. niger* seria mais eficiente que aquela oriunda da planta do trigo.

Para que os animais monogástricos possam digerir e utilizar o fósforo presente na ração, segundo Maenz et al. (1999), é necessária a hidrólise do fitato pela fitase, sendo que algumas plantas tais como o trigo contém alta atividade desta enzima. O trigo, a cevada e o arroz apresentam altos níveis de fitase, ao contrario do milho e do farelo de soja (com pouca ou nenhuma atividade), justamente os mais utilizados pela indústria de alimentos para animais (Selle, 1997).

Uma unidade de fitase ativa (UFA) é definida como a quantidade de fitase que libera fósforo inorgânico do fitato de sódio (5,1 mM) a taxa de 1 $\mu\text{mol/min}$ em pH 5,5 e a temperatura de 37°C (Kornegay, 1999). O grão e o farelo de trigo apresenta grande atividade da enzima fitase 2957 e 1193 UF, respectivamente, valores estes bastante superiores aos determinados para o milho, 15 UF e para o sorgo, 24 UF (Kornegay, op. cit. 1999).

PROPRIEDADE ESTRUTURAL DA FITASE

As fitases são proteínas, enzimas formadas por um conjunto de aminoácidos, os quais diferem em quantidades dependendo da fonte. Por exemplo, a fitase obtida a partir do *A. ficuum* é uma glicoproteína, com nitrogênio ligado a manose e a galactose, cuja proteína intacta representa 27,3% do peso molecular.

A fitase, pelo fato de ser uma proteína, está sujeita a ação de proteases, podendo ser digerida antes mesmo de iniciar a hidrólise do fósforo fítico. Embora a maior parte da digestão proteica ocorra no intestino delgado e grosso, mais precisamente no delgado, a hidrólise das proteínas tem início no estômago, logo após a

ingestão, liberação de HCl, e queda no pH. Esse menor valor no pH após a ingestão de alimentos favorece a ação da enzima fitase, uma vez que está atua em meio ácido (Eechhout & De Paepe, 1996; Liu et al., 1998).

O pH estomacal de peixes como a tilápia do Nilo e a tilápia Mossambicus (*Oreochromis mossambicus*) é ao redor de 1,5 e 2,5, respectivamente (Hepher, 1993). A tilápia do Nilo tem melhores respostas a ação da fitase, quando comparada a espécies carnívoras que possuem alta atividade da enzima pepsina, o que poderia acarretar em digestão parcial da enzima fitase antes mesmo que sua ação fosse completada (Hepher, op. cit.). Entretanto, Moriarty (1973) observou baixa atividade proteolítica proveniente do pepsinogênio em estômagos de tilápia do Nilo, sendo que o processo digestivo nessa espécie se deve aos menores valores de pH.

UTILIZAÇÃO DA FITASE EM RAÇÕES DE PEIXES

Vários estudos foram realizados no sentido de se verificar a ação da fitase em relação ao desempenho, a disponibilidade de fósforo e, principalmente, quanto à retenção de minerais nos ossos. Riche & Brown (1996) avaliaram com a truta arco-íris a disponibilidade aparente e verdadeira do fósforo em alimentos proteicos de origem vegetal. Os autores suplementaram as rações com fitase (3750 UFA) e encontraram valores de disponibilidade aparente do fósforo de 56,3% para o farelo de algodão; 46,6% para o farelo de soja; 46,2% para o farelo de canola e 76,8% para o glúten de milho. Rodehutsord & Pfeffer (1995) avaliaram o efeito da suplementação da enzima fitase (1.000 UF/kg) em rações a base de farelo soja, para a mesma espécie e, observaram que a fitase melhorou a eficiência alimentar dos peixes, a disponibilidade (25,0 para 57,0%) e a utilização do fósforo (17,0 para 49,0%).

Cain & Garling (1995) observaram maior ganho de peso e melhor eficiência de retenção de nitrogênio e fósforo na carcaça, em estudo realizado com alevinos de truta arco-íris alimentados com rações contendo farelo de soja suplementada com fitase (2g/kg). Vielma et al. (1998) em estudo com juvenis (51,6g) dessa mesma espécie, alimentada com ração à base de concentrado proteico de soja contendo 1.500 UF/kg observaram que a suplementação de fitase aumentou o ganho de peso e a disponibilidade de fósforo de 44,5 para 69,7%, assim como os níveis de magnésio e zinco na carcaça. Em pesquisa também com truta arco-íris, Lanari et al. (1998)

observaram que a suplementação de fitase (1.000 UF/kg) em ração formulada com farelo de soja e farinha de sangue aumentou a disponibilidade do fósforo de 58,6 para 68,1%, permitindo com isso redução na excreção desse mineral ao ambiente.

Forster et al. (1999) estudando a digestibilidade, a degradação do ácido fítico e a disponibilidade de minerais em rações a base de farelo de canola para truta arco-íris, utilizaram diferentes níveis de fitase (0, 500, 1.500 e 4.500 UF/kg) na dieta. Esses autores observaram melhor disponibilidade do ácido fítico (4,80% para 45,40%) e, ainda, do fósforo (37,40% para 51,00%) quando utilizaram 4.500 UF. Spinelli et al. (1983) avaliaram a ação do fitato sobre o desempenho da mesma espécie e verificaram efeitos negativos do fósforo fítico na disponibilidade dos macrominerais e, menor digestibilidade da proteína.

Em estudo com o salmão do Atlântico (*Salmo salar*) com peso inicial de 108 g, Storebakken et al. (1998) não observaram efeitos da utilização de fitase (500 UFA/kg) sobre o ganho de peso, consumo e conversão alimentar, entretanto, verificaram que essa enzima aumentou a digestibilidade da proteína de 85,0 para 88,2% e a disponibilidade do fósforo de 29,7 para 48,8%, o que resultou em redução na excreção fecal de nitrogênio (8,2 para 5,9 g/kg de ganho de peso) e fósforo (8,7 para 6,3 g/kg de ganho de peso) para o ambiente.

Gatlin & Phillips (1989) estudaram com o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), o efeito de dietas contendo diferentes níveis de cálcio e de fitase sobre o metabolismo de minerais. Estes autores comprovaram os resultados obtidos por Spinelli et al. (1983), pois, ainda que não tenham observado diferenças para o ganho de peso com as rações que continham 0,5 ou 1,5% de ácido fítico, constataram menor incorporação de zinco nos ossos. Jackson et al. (1996) incorporaram a fitase (0, 500, 1.000, 2.000 e 4.000 UFA/kg) a rações contendo 0,19 % de P_{disp} (0,6% de P total) para a mesma espécie e, constataram máximo crescimento e deposição de P nos ossos com 500 UFA/kg e, redução de 33,0% na excreção de P em relação ao tratamento controle.

Schäfer et al. (1995) em estudo com a carpa comum (*Cyprinus carpio*), utilizando dois níveis de fitase 500 e 1.000 UF/kg, em dieta a base de farelo de soja, concluíram que ambos os níveis reduziram a excreção de fósforo fecal. Entretanto, não constataram diferenças em relação ao ganho de peso, digestibilidade da proteína, extrato etéreo e energia. Hughes & Soares (1998) utilizando ração a base de farelo de soja,

farelo de trigo e glúten de milho suplementada com 2.400 UFA/kg na alimentação do *striped bass* (*Morone saxatilis*), observaram melhora na disponibilidade de fósforo de 29,7 para 92,5%.

Oliva-Teles et al. (1998) utilizaram rações a base de farelo de soja e farinha de peixe em pesquisa com juvenis de seabass (*Dicentrarchus labrax*) objetivando avaliar a suplementação da enzima fitase (1.000 e 2.000 UFA/kg). Estes autores obtiveram valores de disponibilidade do fósforo de 25,2; 71,5 e 79,8% com os tratamentos controle, 1.000 UFA e 2.000 UFA/kg, respectivamente.

Massumoto et al. (2001) avaliaram com o *flounder japonês* (*Paralichthys olivaceus*) o desempenho e a disponibilidade do fósforo de uma ração a base de farelo de soja e amido de milho, suplementada com 0,335g/kg de fitase. Estes autores observaram que a suplementação com a enzima fitase aumentou a disponibilidade do fósforo de 8,9 para 87,3% e, com melhores valores de ganho de peso.

Várias pesquisas, com a tilápia do Nilo, foram desenvolvidas no sentido de determinar a ação da fitase na disponibilidade de nutrientes das dietas. Gonçalves et al. (2005) utilizaram peixes com peso médio de 100g e uma dieta referência marcada com Cr₂O₃, purificada, a base de albumina e gelatina, suplementada com 0, 1000 e 2000 UFA/kg. Nesta pesquisa, os autores determinaram a disponibilidade de alguns minerais em alimentos vegetais e concluíram que a fitase aumentou a disponibilidade do Mg, Cu, Zn e Mn e, que o nível recomendado de suplementação da enzima fitase depende do alimento.

Bock et al. (2006) também determinaram, com a tilápia do Nilo, a digestibilidade de rações compostas por vegetais, sendo uma suplementada com fósforo (controle) e oito não suplementadas, mas com a inclusão de 500 a 4.000 UFA/kg de ração. A inclusão de 1500 UFA/kg melhorou a digestibilidade da matéria seca, da energia bruta e a disponibilidade do Ca e do P das rações, enquanto 1000 UFA/kg melhorou a disponibilidade do Zn e Mn. Furuya et al. (2001) obtiveram melhores coeficientes de digestibilidade aparente da proteína (89,59 para 92,95%) e maior disponibilidade aparente de fósforo (38,3 para 65,2%) para mesma espécie, quando alimentada com ração à base de farelos de soja, trigo e canola, suplementada com fitase (500 UFA/kg de ração).

Gonçalves et al. (2007) avaliaram o efeito da enzima fitase (0, 1.000 e 2.000 UF/kg) na disponibilidade aparente do P do milho, milho extrusado, farelos de trigo, de arroz e de sorgo, da soja extrusada, farelos de soja, de girassol, de algodão e glúten de milho utilizando uma ração a base de albumina e gelatina, marcada com 0,1% de óxido de cromo III, como referência, empregando juvenis de tilápia do Nilo com peso médio de 100,0 g. Estes autores concluíram que a fitase aumenta a disponibilidade do P dos alimentos, que respondem de maneira diferente em função do nível de enzima suplementado. Destacaram que a suplementação de até 2.000 UF/kg não aumentou a disponibilidade aparente do fósforo do farelo de algodão e do farelo de trigo.

Bock et al. (2007) avaliaram, com a mesma espécie, a ação da fitase no desempenho, incorporação e excreção de fósforo. Para isso, por 82 dias compararam rações em que o controle foi suplementado com fósforo e demais tratamentos foram dietas contendo fitase (1.000, 1.500 e 2.000 UF/kg). Os resultados demonstraram que a inclusão dessa enzima nas rações pode reduzir o nível de inclusão de fósforo inorgânico na dieta, o impacto ambiental provocado e ainda otimizar a produtividade por área de produção.

A fitase presente nos alimentos e aquela suplementada (comercial), não possibilita completa hidrólise do ácido fítico da dieta, sendo que parte substancial do fósforo total (fósforo fítico), permanece indisponível (Maenz et al., 1999).

Com base nessas informações, esta pesquisa se apresenta em capítulo intitulado:

Capítulo II – **“Valor nutritivo, pela tilápia do Nilo, do farelo de algodão suplementado com fitase”**, redigido de acordo com as normas do periódico RBZ (Revista Brasileira de Zootecnia).

REFERÊNCIAS

- ANDREWS, J. W.; DAVIS, J. M.; CAMPBELL, C. Effects of dietary calcium and phosphorus on growth, food conversion, bone ash and hematocrit levels of catfish. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 103, p. 766-771, 1973.
- BARROS, M. M.; LIM, C.; KLESIUS, P. H. Effect of soybean meal replacement by cottonseed meal and iron supplementation on growth, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 207, p. 263-79, 2002.
- BEDFORD, M. R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition – their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 86, p. 1-13, 2000.
- BERNE, R. M. et al. **Fisiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 1034 p.
- BITAR, K.; REINHOLD, J. G. Phytases and alkaline phosphatase actives in the intestinal mucosa of rats, chicken, calf, and man. **Biochimica et Biophysica Acta - Enzymology**, Amsterdam, v. 268, p. 442-452, 1972.
- BLOM, J. H. et al. Reproductive efficiency and maternal-offspring transfer of gossypol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing cottonseed meal. **Journal of Animal Science**, Champagne, v. 79, p. 1533-39, 2001.
- BOCK, C. L. et al. Fitase e digestibilidade aparente de rações pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, p. 2197-2202, 2006.
- BOCK, C. L. et al. Fitase em rações para tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, p. 1455-1461, 2007.
- BUTOLO, J. E. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. In: BUTOLO, J. E. **Ingredientes de origem vegetal**. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2002. p. 93-238.
- CAIN, K.; GARLING, D. L. Pretreatment of soybean meal with phytase for salmonid diets to reduce phosphorus concentrations in hatchery effluents. **Progressive Fish Culturist**, Bethesda, v. 57, p. 114-119, 1995.
- CHENG, Z. J.; HARDY, R. W. Apparent digestibility coefficients and nutritional value of cottonseed meal for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 212, p. 361-372, 2002.

CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 13, p. 179-335, 1980.

CHOW, K. W.; SCHELL, W. R. The minerals. In: FAO. **Lectures presented at the FAO/UNDP Training Course in fish feed technology**, ACDP/REP/80/11, 1980.

CLASSEN, L. H. Enzymes in action. **Feed Mix**, Doetinchen, v. 4, p. 22-28, 1996.

CUNHA, T. J. **Present status on suine teeding and nutrition**. Hoffmann: La Roche, 1967. 20 p.

DASGUPTA, S. et al. Interaction of myoinositoltriphosphate-phytase complex with the receptor for intracellular Ca^{2+} mobilization in plants. **Biochemistry**, Ottawa, v. 35, p. 4994-5001, 1996.

EECKHOUT, W.; DE PAEPE, M. *In vitro* and *in vivo* comparison of microbial and plant phytase. In: COELHO, M. B.; KORNEGAY, E. T. **Phytase in animal nutrition and waste management**. Mount Olive: BASF Corporation, 1996. p. 237-240.

EL-SAYED, A. F. M. Long-term evaluation of cottonseed meal as a protein source for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 84, p. 315-320, 1990.

EZEQUIEL, J. M. B. Farelo de algodão como fonte alternativa de proteína alternativa de origem vegetal. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., 2002, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: CBNA, 2002. p.137-162.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Aquaculture production statistics 1985-1994**. Revision 8. Rome: FAO, 1996. (FAO Fisheries Circular, n. 815)

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Fish feeds and feeding in developig contries**. Rome: FAO, 1983. 93 p.

FORSTER, I.; HIGGS, D. A.; DOSANJH, B. S. Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorus output in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 11°C fresh water. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 179, p. 109-125, 1999.

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

FURUYA, W. M. et al. Fitase na alimentação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 30, p. 924-929, 2001.

GATLIN, D. M.; PHILLIPS, H. F. Dietary calcium, phytate and zinc interactions in channel catfish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 79, p. 259-266, 1989.

GONÇALVES, G. S. et al. Disponibilidade aparente do fósforo em alimentos vegetais e suplementação das enzima fitase para tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, p. 1473-1480, 2007.

GONÇALVES, G. S. et al. Efeito da suplementação de fitase sobre a disponibilidade aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em alimentos vegetais para a tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 34, p. 2155-2163, 2005.

GRAF, E. Applications of phytic acid. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 60, p. 1861-1867, 1983.

GUIMARÃES, I. G. et al. Nutrient digestibility of cereal grain products and by-products in extruded diets for Nile tilapia. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 39, p. 781-789, 2008.

HEPHER, B. **Nutrición de peces comerciales en estanques**. Balderas: Limusa, 1993. 406 p.

HERMAN, R. L. Effects of gossypol on rainbow trout *Salmo gairdnerii* Richardson. **Journal of Fish Biology**, London, v. 2, p. 293-303, 1970.

HUGHES, K. P.; SOARES JR, J. H. Efficacy of phytase on phosphorus utilization in practical diets fed to striped bass *Morone saxatilis*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 4, p. 133-140, 1998.

JACKSON, A. J.; CAPPER, B. S.; MATTY, A. J. Evaluation of some plant proteins in complete diets for the tilapia *Sarotherodon mossambicus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 27, p. 97-109, 1982.

JACKSON, L. S.; MENG, H. L.; ROBINSON, E. H. Use de microbial phytase in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization of phytate phosphorus. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 27, p. 309- 313, 1996.

KETOLA, H. G. Requirements of Atlantic salmon for dietary phosphorus. **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v. 104, p. 548-551, 1975.

KORNEGAY, E. T. Feeding to reduce nutrient excretion: effects of phytase on phosphorus and other nutrients. In: LYONS, T. P.; JACQUES, K. A. (Ed.). **Biotechnology in the feed industry**, Nottingham: Nottingham University Press, 1999. p. 461-489.

LANARI, D.; D'AGARO, E.; TURRI, C. Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 161, p. 345-356, 1998.

LI, M.; ROBINSON, E. H. Phosphorus availability of common feedstuffs to channel catfish (*Ictalurus punctatus*) as measured by weight gain and bone mineralization. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 27, p. 207-302, 1996.

LI, M. H. et al. Effects of varying dietary composition using common feed ingredients on growth and feed efficiency of pond-raised channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 41, p. 1133 -1139, 2010.

LIENER, I. E. **Toxic constituents of plant foodstuffs**. 2nd. ed. New York: Academic Press, 1980. 502 p.

LIM, S. J.; LEE, K. J. Partial replacement of fish meal by cottonseed meal and soybean meal with iron and phytase supplementation for parrot fish *Oplegnathus fasciatus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 290, p. 283-289, 2009.

LIM, S. J.; LEE, K. J. Supplemental iron and phosphorus increase dietary inclusion of cottonseed and soybean meal in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 14, p. 423-430, 2008.

LIU, B. L. et al. The induction and characterization of phytase and beyond. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 22, p. 415-424, 1998.

LOVELL, R. T. Dietary phosphorus requirements of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v. 107, p. 617-621, 1978.

LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. 2nd. ed. Norwell: Kluwer Academic Publishers, 1998. 267 p.

LOVELL, T. Use of cottonseed meal in fish feeds. **Aquaculture Magazine**, Asheville, v. 8, p. 42-43, 1982.

LOVSHIN, L. L. Red tilapia or Nile tilapia: which is the best culture fish? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 2., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CBNA, 1998. p. 179-198.

MAENZ, D. D. et al. The effect of minerals and mineral chelators on the formation of phytase-resistant and phytase-susceptible forms of phytic acid in solution and in a slurry of canola meal. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 81, p. 177-179, 1999.

MARTIN, S. D. Gossypol effects in animal feeding can be controlled. **Feedstuffs**, Minnetonka, v. 62, p. 14-17, 1990.

MASSUMOTO, T.; TAMURA, B.; SHIMENO, S. Effects of phytase on bioavailability of phosphorus in soybean meal-based diets for Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 67, p. 1075-1080, 2001.

MBAHINZIREKI, G. B. et al. Growth, feed utilization and body composition of tilapia (*Oreochromis sp*) fed with cottonseed meal-based diets in a recirculating system. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 7, p. 189-200, 2001.

MIRANDA, E. C. **Disponibilidade de fósforo e sua relação com o cálcio em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2000. 54 f. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

MORIARTY, D. J. W. The physiology of digestion of blue-green algae in the cichlid fish, *Tilapia nilotica*. **Journal of Zoology**, London, v. 171, n. 25-39, 1973.

MURRY, R. K. et al. **Bioquímica**. São Paulo: Atheneu. 1990. 705 p.

NOKES, S. E. Enzyme production using surface culture fermentation. In: LYONS, T. P.; JACQUES, K. A. (Ed.) **Biotechnology in the feed industry**. Nottingham: Nottingham University Press, 1999. p. 451-460.

NOSE, T.; ARAI, S. Recent advances on studies on mineral nutrition of fish in Japan. In: PILLAY, P. V. L.; DILL, W. A. (Ed.) **Advances in aquaculture**. London: Fishing News, 1976. p. 584-590.

OBERLEAS, D. Phytates. In: STRONG, F. M. **Toxicants occurring naturally in foods**. 2nd. ed. Washington, DC: National Academy of Science, 1973. p. 363-371.

OGINO, C.; KAMIZONO, M. Mineral requirements in fish. Effects of dietary salt-mixture levels on growth, mortality and body composition in rainbow trout and carp. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, Tokyo, v. 41, p. 429-434, 1975.

OGINO, C. B. et al. Availability of dietary phosphorus in carp and rainbow trout. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, Tokyo, v. 45, p. 1527-1579, 1979.

OLIVA-TELES, A. et al. Utilization of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquatic Living Resources**, Montrouge, v. 11, p. 255-259, 1998.

PEZZATO, L. E.; PEZZATO, A. C.; BARROS, M. M. Digestibilidade aparente de fontes proteicas pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 5., 1988, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: ACIESP, 1988. p. 373-378.

PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; FURUYA, W. M. Valor nutritivo de alimentos utilizados na formulação de rações para peixes tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, p. 43-51, 2009.

PEZZATO, L. E. et al. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J. E. P. et al. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: Aquabil, 2004. v. 1. p. 75-170.

PHILIPPART, J.; RUWET, C. L. Ecology and distribution of tilapias. In: PULLIN, R. S. V.; LOWE-MCCONNELL, R. H. (Ed.). **The biology and culture of tilapias**. Manila: Internatinal Center for Living Aquatic Resources, 1982. p. 15-59.

PHILLIPS, A. M. et al. The relationship of protein and ash in water and fat free samples of fish tissues. **Fishery Research Bulletin**, Washington, DC, v. 26, p. 49-51, 1963.

PIZZOLANTE, C. C. **Estabilidade da fitase e sua utilização na alimentação de frangos de corte**. 2000. 117 f. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

POPMA, T. J.; LOVSHIN, L. L. **Worldwide prospects for comercial production of tilapia**. Research and Development Series, Alabama, 1996. 23 p.

REDDY, N. R.; SATHE, S. K.; SALUNKHE, D. K. Phytases in legumes and cereals. **Advances in Food Research**, San Diego, v. 82, p. 1-92, 1982.

RICHE, M.; BROWN, P. B. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 142, p. 269-282, 1996.

ROBINSON, E. H. Improvement of cottonseed meal protein with supplement lysine in feeds for channel catfish. **Journal of Applied Aquaculture**, Binghamton, v. 1, p. 1-14, 1991.

ROBINSON, E. H.; LI, M. H. Use of cottonseed meal in aquaculture feeds. In: LIM, C.; SESSA, D. J. **Nutrition and utilization technology in aquaculture**. Champaign: AOCS Press, 1995. p. 157-165.

ROBINSON, E. H.; LI, M. H. Use of plant proteins in catfish feeds: replacement of soybean meal with cottonseed meal and replacement of fish meal with soybean meal and cottonseed meal. **Journal of World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 25, p. 271-276, 1994.

RODEHUTSCORD, M.; PFEFFER, E. Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Water Sciene Technology**, Oxford, v. 31, p. 143-147, 1995.

SADNBERG, A. S.; ANDERSON, H. Effect of dietary phytase on the digestion of phytate in the stomach and small intestine of humans. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 118, p. 469-479, 1988.

SATOH, S. et al. Influence of dietary phosphorus levels on growth on mineral availability in rainbow trout. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 62, p. 483-487, 1996.

SCHÄFER, A. et al. Effects of microbial phytase on utilization of native phosphorus carp in a diet based on soybean meal. **Water Sciene Technology**, Oxford, v. 31, p. 140-155, 1995.

SELLE, P. H. **The potential of microbial phytase the sustainable production of pigs and poultry.** In: Short Course and Feed Technology. Ansung: Korean Society of Animal and Feedstuffs, 1997.

SHIMENO, S.; HASHIMOTO, S.; UKAWA, M. Effects of supplemental levels of dietary monopotassium on growth feed conversion and body composition of fingerlings yellowtail. **Suisanzoshoku**, Tokyo, v. 42, p. 239-245, 1994.

SPINELLI, J.; HOULE, C. R.; WEKELL, J. C. The effect of phytate on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 30, p. 71-83, 1983.

STEFFENS, W. **Principios fundamentales de la alimentación de los peces.** Zaragoza: Acriba, 1987. 275 p.

STOREBAKKEN, T.; SHEARER, K. D.; ROEM, A. J. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 161, p. 365-379, 1998.

SUGIURA, S.H. et al. Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feeds ingredients for salmonid feds. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 159, p. 177-202, 1998.

TAKEUCHI, M.; KAZOE, J. Effect of dietary phosphorus on lipid content and its composition in carp. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, Tokyo, v. 47, p. 347-352, 1981.

THORSTENSEN, K.; ROMSLO, I. The role of transferrin in the mechanism of cellular iron uptake. **Biochemistry Journal**, Ottawa, v. 271, p. 1-9, 1990.

TOKO, I. I.; FIOGBE, E. D.; KESTEMONT, P. Growth, feed efficiency and body mineral composition of juvenile vundu catfish (*Heterobranchus longifilis*, Valenciennes 1840) in relation to various dietary levels of soybean or cottonseed meals. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 14, p. 193-203, 2008.

VIELMA, J. et al. Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 163, p. 309-323, 1998.

VIOLA, R. A.; ZOHAR, G. Nutrition studies with market size hybrids of tilapia *Oreochromis* in intensive culture. **Bamidgeh**, Nir-David, v. 36, p. 3-15, 1984.

WANG, H. L.; SWAIN, E. W.; HESSELTINE, C. K. Phytase of molds used in oriental food fermentation. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 45, p. 1262-1266, 1980.

WATANABE, T. **Fish nutrition and mariculture.** Tokyo: Japan International Cooperation Agency, 1988. 233 p.

WATANABE, T. et al. The availability to tilapia nilotica of phosphorus in white fish meal. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, Tokyo, v. 46, p. 897-899, 1980.

WILSON, R. R. et al. Dietary requirement of channel catfish. **Journal of Nutrition**, cidade de publicação, v. 112, p. 1197-1202, 1982.

YUE, Y. R.; ZHOU, Q. C. Effect of replacing soybean meal with cotoonseed meal on growth, feed utilization, and hematological indexes for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. Aureus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 284, p. 185-189, 2008.

CAPTULO II

VALOR NUTRITIVO, PELA TILÁPIA DO NILO, DO FARELO DE ALGODÃO SUPLEMENTADO COM FITASE

RESUMO – O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da enzima fitase com os níveis de suplementação: 750, 1.500, 2.250, 3.000 UFA/kg (unidades de fitase ativa por quilo de ração) e dieta sem suplementação, sobre a digestibilidade dos nutrientes e disponibilidade aparente dos minerais do farelo de algodão. Para isso cem juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*; PV 100.0 ± 5.0 g) foram distribuídos em dez tanques-rede. Determinou-se os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), energia bruta (EB) e matéria mineral (MM), assim como a disponibilidade aparente do cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), zinco (Zn), cobre (Cu), ferro (Fe) e manganês (Mn), de seis rações, marcadas com 1,00 g/kg de óxido de cromo-III – uma referência (ração purificada) e cinco contendo farelo de algodão (400 g/kg) e os diferentes níveis de suplementação da enzima fitase. O CDA dos nutrientes foi calculado com base no teor de cromo da ração e das fezes. A enzima fitase eleva a disponibilidade da MM e dos minerais P, Zn, Cu e Mn, no farelo de algodão, até o limite próximo de 2080 UFA/kg.

Palavras chave: *Oreochromis niloticus*, minerais, disponibilidade de minerais, nutrição de peixes, digestibilidade

NUTRITIONAL VALUE, BY NILE TILAPIA, OF COTTONSEED MEAL SUPPLEMENTED WITH PHYTASE

Abstract – The aim of this study was to evaluate the effects of phytase supplementation (0, 750, 1.500, 2.250 e 3.000 FTU/kg) on calcium (Ca), phosphorus (P), magnesium (Mg), zinc (Zn), copper (Cu), iron (Fe) and manganese (Mn) availability and apparent digestibility coefficient (ADC) of dry matter (DM), crude protein (CP), gross energy (GE) and mineral matter (MM) were determinate of cottonseed meal. For this one hundred Nile tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*; BW= 100.0 ± 5.0 g) were assigned to 10 experimental cages. As reference, an albumin and gelatin-based diet [with 0.10 % chromic oxide (III) as external marker] was fed to the juveniles. Six diets (one reference and five based on cottonseed meal and increasing levels of phytase) were formulated to determine the coefficients of apparent availability of minerals (Ca, P, Mg, Cu, Zn and Mn) and digestibility coefficient of nutrients and energy. The enzyme increases the availability MM and minerals P, ZN, Cu and Mn in cottonseed meal, up to around 2080 FTU/kg.

Key words: *Oreochromis niloticus*, mineral, availability of mineral, fish nutrition, digestibility

INTRODUÇÃO

A indústria de alimentos para peixes objetiva a produção de rações balanceadas de boa qualidade com mínimo custo. Os responsáveis pela formulação de rações procuram utilizar alimentos que se mostrem com qualidade, economicamente viáveis e disponíveis durante a maior parte do ano (Pezzato et al. 2004).

Alguns alimentos apresentam baixo valor nutritivo e quando utilizados nas rações, resulta em perdas elevadas de nutrientes para o ambiente aquático, dentre os nutrientes mais incorporados destacam-se o nitrogênio e o fósforo, que apresentam alto custo e funções imprescindíveis para o adequado desempenho e higidez dos peixes. O nitrogênio e o fósforo são considerados os principais responsáveis pela eutrofização do ambiente aquático, principalmente em criações intensivas.

Os alimentos de origem vegetal podem conter de 0,5 a 6,0% de ácido fítico e apresentarem de 50,0 a 90,0% do total de fósforo na forma de fitato (Nolan & Dufafin 1987), sendo este capaz de complexar com cátions, proteínas e amido (Cheryan 1980), tornando-os indisponíveis, pois a mucosa intestinal dos peixes não secreta a enzima fitase, fosfatase que remove o fosfato do fósforo fítico (Vielma et al. 1998). O uso de fitase exógena, portanto, pode melhorar a eficiência de utilização dos nutrientes, entre eles a proteína e o fósforo.

Atualmente, a fitase recebe destaque em alguns países da Europa e nos Estados Unidos, onde algumas enzimas exógenas têm sido incorporadas às dietas dos animais com intuito de se reduzir os níveis de fósforo dos efluentes (Bedford, 2000).

O farelo de algodão é o terceiro alimento proteico de origem vegetal mais produzido no mundo. No Brasil é uma das mais usuais fontes de proteína vegetal na alimentação de gado de leite e corte (Butolo 2010), na alimentação de peixes apresenta incremento na palatabilidade das rações, sendo aparentemente superior a do farelo de soja (Lovell 1982; Robinson & Li 1994), além de possuir custo relativamente baixo e apresentar bom conteúdo proteico e perfil aminoacídico (FAO 1983). O menor custo na formulação de rações tem sido a principal razão para que este co-produto seja utilizado na alimentação animal (Martin 1990).

Com base nestas informações o presente estudo teve por objetivo avaliar, com a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), a digestibilidade aparente da matéria seca,

proteína bruta, energia bruta e a disponibilidade aparente do fósforo, cálcio, ferro, zinco, cobre, magnésio e manganês do farelo de algodão suplementado com níveis de fitase.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido na Unesp – Univ. Estadual Paulista, no Laboratório de Nutrição e Saúde de Organismos Aquáticos (AquaNutri), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Câmpus de Botucatu, unidade associada ao CAUNESP, com autorização do Comitê de Ética de Uso de Animais – Protocolo nº164/2010 CEUA.

Foram avaliados os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CDA_{MS}), matéria mineral (MM), proteína bruta (CDA_{PB}), energia bruta (CDA_{EB}), assim como os coeficientes de disponibilidade aparente dos minerais fósforo (CDA_P), cálcio (CDA_{Ca}), ferro (CDA_{Fe}), zinco (CDA_{Zn}), cobre (CDA_{Cu}), magnésio (CDA_{Mg}) e manganês (CDA_{Mn}) do farelo de algodão na presença ou ausência da enzima fitase pelo método indireto utilizando óxido de cromo-III (0,1%) como indicador inerte (Bremer-Neto et al. 2005).

A fitase (M.CASSAB – Microtech 5000[®]) utilizada apresentava concentração de 5.000 UFA/g do produto, sendo uma unidade de fitase ativa (UFA) definida como a quantidade de fitase que libera fósforo inorgânico do fitato de sódio (5,1 mM) a uma taxa de 1 μ mol/min em pH 5,5 e temperatura de 37°C (Kornegay, 1999).

Para a determinação dos coeficientes de digestibilidade e disponibilidade aparente (CDA) foi elaborada uma dieta referência denominada de purificada segundo o Instituto de Nutrição Americano (INA, 1977) contendo 320g de proteína digestível (PD) e 3.000 kcal de energia digestível (ED) por quilograma. A dieta referência foi substituída por 400 g/kg do farelo de algodão segundo metodologia proposta por Pezzato et al. (2004) e suplementada com os seguintes teores de fitase: 0 (UFA₁), 750 (UFA₂), 1.500 (UFA₃), 2.250 (UFA₄) e 3.000 (UFA₅) unidades de fitase ativa por quilo de dieta, conforme apresentado na Tabela 1.

Na confecção das dietas-teste, após pesagem e homogeneização dos alimentos, foi acrescida a enzima fitase, na forma seca com o alimento teste. A essa mistura foi adicionada água (55,0°C) na proporção de 20,0% do peso total. As dietas foram peletizada em equipamento eletrônico e desidratada em estufa de ventilação forçada

(55,0°C/24 horas). Após secagem, os grânulos foram quebrados em moinho apropriado, para a obtenção de grânulos homogêneos com diâmetro adequado ao tamanho dos peixes em estudo ($\approx 4,0$ mm) e em seguida as rações foram armazenadas em refrigerador à -10°C.

Os peixes foram mantidos e arraçoados em dez aquários de formato circular com capacidade de 250 litros cada, denominado sistema de alimentação, sendo que esses possuíam sistema de recirculação contínua de água, com filtro físico-biológico e temperatura controlada por meio de termostato em 26,0 °C. Para a coleta de fezes foram utilizados cinco aquários de formato cônico com capacidade de 300 litros cada, denominado sistema de coleta de fezes. Para o aquecimento e aeração da água desses aquários foram utilizados aquecedores individuais e mangueiras de silicone com pedra porosa acopladas a soprador externo.

Os valores obtidos para temperatura, oxigênio dissolvido e pH da água dos aquários experimentais foram, respectivamente, de $26,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$; $7,4 \pm 1,0$ mg/L e $7,5 \pm 0,6$ encontrando-se na faixa recomendada para a espécie (Boyd, 1990).

Foram alojados 100 juvenis de tilápia do Nilo (peso médio de $100,0 \pm 5,0$ g) em dez gaiolas de formato circular (10 peixes gaiola⁻¹), confeccionados em tela plástica (malha de 1,50 cm entre nós). Essas gaiolas foram introduzidas dentro dos aquários e utilizadas para abrigar os peixes, facilitando o manejo nos sistemas de alimentação e de coleta de fezes, proporcionando o menor estresse possível aos animais.

Foi empregada a metodologia descrita por PEZZATO et al. (2004), na qual os peixes são arraçoados fora do sistema coletor de fezes. Os peixes foram mantidos nos aquários de alimentação durante sete dias para se adaptarem às dietas e ao manejo de coleta de fezes. Após esse período, permaneceram durante o dia nos aquários de alimentação, sendo alimentados em intervalos de uma hora até saciedade aparente. No fim da tarde os peixes eram transferidos para os aquários de coleta de fezes, onde permaneciam até a manhã do dia subsequente. Após o período de alimentação e de coleta de fezes, eram efetuadas limpezas dos aquários para nova coleta (repetição).

Foram necessários cinco dias de coleta de fezes (repetição dia⁻¹) para a ração referência e para as rações contendo o farelo de algodão com seus respectivos níveis de suplementação da enzima fitase. Após a coleta, as fezes foram desidratadas em estufa com ventilação forçada de ar (55,0 °C/48 horas), moídas e armazenadas a - 20,0 °C.

As análises para determinação da concentração de cromo-III, nas fezes e nas rações, foram realizadas segundo Bremer Neto et al. (2005). As análises químico-bromatológicas do farelo de algodão, das rações e das fezes foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ – UNESP – Botucatu, segundo os protocolos da A.O.A.C. (2000).

As análises para determinação da concentração de cromo, cálcio, magnésio, zinco, cobre, manganês e ferro nas fezes, nas rações e no farelo de algodão foram realizadas a partir da mineralização ácida das amostras em tubos de ensaio, utilizando uma mistura ácida, composta por 3 mL de ácido nítrico (HNO₃) e 2 mL de ácido perclórico, e posterior quantificação dos minerais por espectrometria de absorção atômica (Shimadzu Atomic Absorption spectrophotometers AA6800), segundo metodologia proposta por Freire et al. (2001). A determinação do fósforo (P) total foi realizada pelo método de azul de molibdênio com utilização de Bi (II) como catalisador (AOAC, 1990). Todas as análises de minerais foram realizadas no laboratório de Química e Bioquímica – IB/UNESP-Botucatu. Os parâmetros de oxigênio dissolvido (mg/L) e pH foram determinados semanalmente e a temperatura da água acompanhada diariamente por meio de termostato digital.

Os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta e energia assim como os coeficientes de disponibilidade aparente dos minerais das rações foram calculados com base na seguinte fórmula (Nose, 1960):

$$CDA(\%) = 100 - \left[100 \cdot \left(\frac{\%Cr_2O_{3r}}{\%Cr_2O_{3f}} \right) \cdot \left(\frac{\%N_f}{\%N_r} \right) \right]$$

Em que:

CDA = coeficiente de digestibilidade e disponibilidade aparente (%);

%Cr₂O_{3r} = percentagem de óxido de cromo-III na ração;

%Cr₂O_{3f} = percentagem de óxido de cromo-III nas fezes;

%N_f = teor de energia bruta ou porcentagens de matéria seca, proteína bruta e de minerais nas fezes;

%N_r = teor de energia bruta ou porcentagens de matéria seca, proteína bruta e de minerais na ração.

Os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta e os coeficientes de disponibilidade aparente dos minerais do farelo de algodão foram calculados de acordo com a formula descrita por Cho & Slinger (1979):

$$CDA_N = \frac{CDA_{RT} - (CDA_{RR} \cdot x)}{y}$$

Em que:

CDA_N = coeficiente de digestibilidade aparente da energia, matéria seca e proteína bruta ou coeficiente de disponibilidade aparente do mineral;

CDA_{RT} = coeficiente de digestibilidade aparente da energia, matéria seca e proteína bruta ou coeficiente de disponibilidade aparente do mineral na ração teste;

CDA_{RR} = coeficiente de digestibilidade aparente da energia, matéria seca e proteína bruta ou coeficiente de disponibilidade aparente do mineral na ração referência;

x = proporção da ração referência;

y = proporção do alimento teste.

Para análise estatística foi utilizado o programa de Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas – SAEG (Universidade Federal de Viçosa, 1982). Os resultados obtidos no estudo foram avaliados por meio da técnica da análise de variância $\alpha = 0,05$ de probabilidade e quando significativo, foi aplicada a análise de regressão.

RESULTADOS

A composição químico bromatológica da dieta referência e do farelo de algodão estão apresentadas na Tabela 2. Os valores médios dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta e energia bruta, e os coeficientes de disponibilidade aparente da matéria mineral e dos minerais, fósforo, zinco, cobre, magnésio e manganês do farelo de algodão suplementado ou não com níveis da enzima fitase, encontram-se na Tabela 3.

Para os CDA da matéria mineral e dos minerais, fósforo, manganês, zinco e cobre foi observado efeito quadrático ($p < 0,05$) em função dos níveis de suplementação do farelo de algodão com a enzima fitase (Figura 1; Figura 2; Figura 3; Figura 4 e Figura 5), apresentando seus pontos de máximo em 2.025 (CDA de 73,23%); 2.080 (CDA de 85,02%); 2.878 (CDA de 95,57%); 1.592 (CDA de 81,86%) e 1.694 (CDA de

84,62%) UFA/kg de dieta, respectivamente. Não houve efeito dos tratamentos ($p>0,05$) para as variáveis, CDA_{MS} , CDA_{PB} , CDA_{EB} e CDA_{Mg} .

Os valores dos coeficientes de disponibilidade aparente dos minerais cálcio e ferro do farelo de algodão, suplementado ou não com os níveis da enzima fitase, apresentaram-se negativos para todos os tratamentos.

DISCUSSÃO

A melhoria nos CDA_{MM} no presente estudo até o limite de 2025 UFA/kg, se deve principalmente ao fato dos minerais P e Mn também terem aumentado sua disponibilidade até esse nível de adição da enzima.

Os valores dos CDA_P do farelo de algodão encontrados no presente estudo foram significativamente maiores comparado com outros alimentos proteicos de origem vegetal, tais como os farelos de canola com CDA_P de 29,86% (Furuya et al. 2001) e de soja com CDA_P de 30,10% (Köprücü et al. 2005). Tal fato pode estar relacionado ao processamento a que esse alimento é submetido durante a extração do óleo, que pode ser realizado por solventes, pré-prensagem e solvente ou por prensagem hidráulica, o que resulta em variação na eliminação de parte do fitato juntamente com o produto final que é o óleo (Papadopoulos & Ziras 1987).

Gonçalves et al. (2007) não encontram melhor resposta em pesquisa com tilápia do Nilo para os CDA_P com inclusão de 1.000 e 2.000 UFA/kg de ração respectivamente, diferente do encontrado no presente estudo, em que, o CDA_P , aumentou 20,30% com a suplementação de 2080 UFA/kg, em relação ao ingrediente sem a suplementação da enzima.

Os valores dos CDA_{Zn} e CDA_{Cu} aumentaram significativamente com a suplementação da fitase, até o limite próximo de 1600 UFA/kg, resultados estes superiores aos encontrados por Gonçalves et al. (2005) com tilápia do Nilo, que observaram valores do CDA_{Zn} de 77,41 e de CDA_{Cu} de 81,22% com suplementação de 1000 UFA/kg de ração.

O manganês assim como todo micronutriente, é exigido em baixas concentrações e possui essencialidade para diversas atividades metabólicas nos peixes (Lall 2002). Sua deficiência é capaz de promover em tilápia do Nilo, crescimento reduzido e anormalidades esqueléticas (Yamamoto et al. 1983). Para os CDA_{Mn} do

farelo de algodão, as respostas obtidas até o limite de suplementação 2878 UFA/kg foram semelhantes as encontradas por Gonçalves et al. (2005), que observaram aumento significativo em sua disponibilidade, de 7,80 para 96,92% quando usaram 1.000 e 2.000 UFA/kg, respectivamente.

Os dois fatores que mais afetam a disponibilidade dos minerais são os agentes quelantes e as interações entre os minerais. Os agentes quelantes são representados pelos fitatos, mais especificamente o hexafosfato de inositol, que por sua vez é facilmente encontrado em sementes de plantas, óleos e cereais, e a interação entre minerais, pode ser exemplificada pela existente entre zinco e cobre, podendo diminuir a disponibilidade um do outro (Baker & Ammerman 1995).

No presente estudo, as interações podem ter aumentado com a elevação da suplementação da enzima, tornando-os menos disponíveis no nível de suplementação próximo a 3.000 UFA/kg.

Dentre os minerais analisados, somente o Mg, não apresentou melhoria nos CDA com a inclusão da fitase, resultados estes diferentes aos obtidos por Gonçalves et al. (2005), que constataram aumento no CDA_{Mg} do farelo de algodão, de 10,29% a 12,96% em função da inclusão de 1.000 e 2.000 UFA/kg de dieta, respectivamente.

A baixa disponibilidade de ferro, em vegetais pode ser atribuída à presença do fitato, que em pH ácido, provoca precipitação quantitativa das moléculas desse mineral (Graf 1983). Essas moléculas podem se apresentar livres na água e serem reabsorvidas pelos peixes, o que pode explicar os valores negativos de CDA desse mineral no presente estudo. Isso pode ser reforçado com base nas informações de Thorstensen & Romslo (1990), que destacaram a poderosa ação da molécula de fitato em quelatar moléculas de ferro.

Steffens (1987) explica que o cálcio presente na água é utilizado mesmo quando disponível na dieta, sendo sua absorção quantitativamente tão alta quanto à do alimento, o que pode ter determinado os valores negativos de CDA no presente estudo. Os valores do CDA dos minerais cálcio e ferro, suplementados ou não com os níveis da enzima fitase, foram semelhantes aos obtidos por Gonçalves et al. (2005), que trabalhando com o efeito da suplementação de fitase sobre o CDA dos minerais em alimentos de origem vegetal para tilápia do Nilo, também encontram valores negativos.

A digestibilidade da matéria seca do alimento ou de determinada dieta demonstra o quanto os nutrientes de ambos foram digeridos (De Silva 1995). Os baixos CDA_{MS} encontrados no presente estudo podem estar correlacionados ao elevado conteúdo em fibra do farelo de algodão, uma vez que, pesquisas atribuem correlação negativa entre o alto conteúdo desta fração e o CDA_{MS} (Silva et al. 1990; McGoogan & Reigh 1996). Os valores dos CDA_{MS} do farelo de algodão suplementado ou não com níveis da enzima fitase encontrados nesse trabalho foram inferiores aos obtidos por Pezzato et al. (2002) e Braga et al. (2010) em pesquisa com tilápia do Nilo, os quais encontraram valores para o CDA_{MS} de 53,11 e 48,31%, respectivamente.

Estudos indicam a possibilidade de aumento na digestibilidade de aminoácidos e, como consequência, melhor digestibilidade da proteína suplementando com a enzima fitase, rações que tem como base alimentos de origem vegetal. Este fato é atribuído à hidrólise do complexo proteína-ácido fítico e/ou suspensão ou redução do efeito inibidor do ácido fítico sobre a atividade das enzimas digestíveis (Spinelli et al. 1983). Kornegay (1999) relata a capacidade do ácido fítico em influenciar negativamente na digestão da proteína e aminoácidos da dieta, em função da inibição da ação de enzimas proteolíticas tais como a pepsina e a tripsina no trato digestório de animais monogástricos.

Para o CDA_{PB} Guimarães et al. (2008) e Kleemann et al. (2009) encontraram, respectivamente, valores inferiores (78,60 e 53,45 a 54,32%) em pesquisa realizada com tilápia do Nilo, enquanto Souza & Hayashi (2003), em trabalho realizado com essa mesma espécie, encontraram valor superior (CDA_{PB}: 88,70%) ao obtido nessa pesquisa.

Os resultados de não aumento dos CDA_{PB} com a suplementação da enzima obtidos no presente estudo se assemelham aos encontrados por Lanari et al. (1998) em estudo com truta arco-íris, utilizando dieta contendo amido de milho e farelo de soja, suplementada com 1.000 UF e por Gonçalves et al. (2004) com farelo de algodão para tilápia do Nilo utilizando suplementação de 1.000 e 2.000 UFA/kg. Entretanto, são diferentes dos obtidos por Storebakken et al. (1998), em estudo com juvenis de salmão do atlântico (*Salmo salar*), alimentados com dietas a base de farelo de soja, pois observaram que 500 UFA/kg aumentou o CDA_{PB} de 85,00% para 88,20%, com menores descargas de nitrogênio para o meio.

Tal fato sugere que o poder de complexação do ácido fítico com a proteína pode ser influenciado pelo alimento utilizado na ração, pois o ácido fítico se liga á proteínas dos farelos de soja, trigo, canola e de amendoim, mas não as do farelo de arroz, germe de milho e do farelo de algodão (Champagne & Phillippy 1989).

A digestão do amido dos alimentos pode ser influenciada negativamente pela ação do ácido fítico por meio da ligação da α -amilase ou quelação do Ca^{+2} necessário para a atividade normal da amilase (Ravindran 1999). Souza & Hayashi (2003), Gonçalves et al. (2004) e Kleemann et al. (2009) encontraram para tilápia do Nilo, valores superiores ao observado nessa pesquisa para CDA_{EB} , respectivamente de, 71,76; 73,36; 53,80 a 58,60%, respectivamente, enquanto Braga et al. (2010) encontraram resultado inferior (CDA_{EB} de 39,63%). Houve tendência de aumento no CDA_{EB} no presente estudo com a inclusão de 3.000 UFA/kg, resultando em CDA_{EB} superior ao encontrado por Pezzato et al. (2002), que foi de 51,00%.

A baixa disponibilidade dos minerais do farelo de algodão encontrados no presente estudo pode ser atribuída a complexação com o fitato, formando complexos insolúveis com minerais di e trivalentes (Kornegay 1999). Os peixes não possuem a capacidade de produzir a enzima fitase (Vielma 1998), que é responsável pela hidrólise da molécula de fitato, assim a suplementação da fitase se faz necessária para elevar a disponibilidade desses minerais que possuem funções vitais para manutenção do equilíbrio orgânico, além da redução da quantidade de efluentes, minimizando o impacto ambiental provocado pela aquicultura.

Desta maneira a utilização da fitase em dietas para peixes possibilita a criação de uma matriz nutricional que considere o maior valor nutritivo dos ingredientes de origem vegetal. Essa prática diminuiria significativamente a suplementação nas rações de fósforo de fontes como o fosfato bicálcico, possibilitando além da redução na poluição ambiental, redução no custo da dieta (Ligeiro et al. 2009).

CONCLUSÃO

A enzima fitase eleva a disponibilidade da MM e dos minerais P, Zn, Cu e Mn, no farelo de algodão, até o limite próximo de 2080 UFA/kg.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 17.ed. Gaithersburg, Maryland, USA: AOAC International, 2000. 3413p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 15.ed. Arlington: AOAC International, 1990. 684p.
- BAKER, D.H.; AMMERMAN C.B. Zinc bioavailability. In: AMMERMAN, C.B.; BAKER, D.H.; LEWIS, A.J. (Eds.) **Bioavailability of nutrients for animals**. London: Academic Press, 1995. p.367-398.
- BEDFORD, M.R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition – their current value and future benefits. **Animal Feed Science Technology**, v.86, p.1-13, 2000.
- BOYD, C. E. **Water quality management for ponds fish culture: development in aquaculture and fisheries science**. 4.ed. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 1990. 490p.
- BRAGA, L.G.T.; RODRIGUES, F.L.; AZEVEDO, R. V. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de coprodutos agroindustriais para tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, p.1127-1136, 2010.
- BREMER-NETO, H.; GRANER, C.A.F.; PEZZATO, L.E. et al. The spectrophotometric method on the routine of 1,5- diphenylcarbazine was adjusted on chromium determination in feces, alter its utilization as a biological marker as chromium (III) oxide. **Ciência Rural**, v.25, p.691-697, 2005.
- BUTOLO, J.E. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. In: BUTOLO, J.E. **Ingredientes de origem vegetal**. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2010. p.93-238.
- CHAMPAGNE, E.T.; PHILLIPPY, B.Q. Effects of pH on calcium, zinc, and phytate solubilities, and complexes following in vitro digestion of soy protein isolates. **Journal of Food Science**, v.54, p.587-592, 1989.
- CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **Critical Reviews Food Science Nutrition**, v.13, p.179-335, 1980.
- CHO, C.Y.; SLINGER, S.I. Apparent digestibility measurement in feedstuff for rainbow trout. In: WORLD SYMPOSIUM ON FINFISH NUTRITION AND FISHFEED TECHNOLOGY, 1979, Hamburg. **Anais...** Hamburg: 1979. v.2, p.239-247.

- DE SILVA, S. S.; ANDERSON, T. A. **Fish nutrition in aquaculture**. London: Chapman & Hall, 1995. 319p.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Fish feeds and feeding in developig contries**. ADCP/Rep/83/18, Rome, Italy: FAO, 1983. 93p.
- FREIRE, E.S.; HISANO, H.; GONÇALVES, G.S. et al. Determinação de Cr₂O₃ utilizado como marcador de rações em fezes de peixes por GFAAS após mineralização em forno de microondas. In: ENCONTRO REGIONAL DE QUÍMICA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 31., 2001, Araraquara. **Anais...** Araraquara: Instituto de Química da Unesp, 2001. p.73.
- FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C. Digestibilidade Aparente da Energia e Nutrientes do Farelo de Canola pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.611-616, 2001.
- GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. et al. Digestibilidade aparente e suplementação de fitase em alimentos vegetais para tilápia do Nilo. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.26, p.313-321, 2004.
- GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; PADILHA, P.M. et al. Disponibilidade aparente do fósforo em alimentos vegetais e suplementação das enzima fitase para tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.1473-1480, 2007.
- GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. Efeito da suplementação de fitase sobre a disponibilidade aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em alimentos vegetais para a tilápia do nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p.2155-2163, 2005.
- GRAF, E. Applications of phytic acid. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.60, p.1861-1867, 1983.
- 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; p.396-404, 2008.
- INA. Report of the american institute of nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. **Journal Nutrition**, v.107, p.1340-1348, 1977.
- KLEEMANN, G.K.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E. Valor nutricional do farelo de algodão para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 31, p. 87-94, 2009.
- KÖPRÜCÜ, K.; ÖZDEMİR, Y. Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.250, p.308-316, 2005.

- KORNEGAY, E.T. Feeding to reduce nutrient excretion: effects of phytase on phosphorus and other nutrients. **Biotechnology in the Feed Industry**, v. único, p.461-489, 1999.
- LALL, S.P. The Minerals. In: Halver, J.E.; Hardy, R.W. **Fish Nutrition**. 3.ed. Elsevier Science. 2002. p.259-308.
- LANARI, D.; D'AGARO, E.; TURRI, C. Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.161, p.345-356, 1998.
- LIGEIRO, E.C.; JUNQUEIRA, O.M.; FILARDI, R.S. et al. Avaliação da matriz nutricional da enzima fitase em rações contendo sorgo para poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.1948-1955, 2009.
- LOVELL, T. Use of cottonseed meal in fish feeds. **Aquaculture Managment**, v.8, p.42-43, 1982.
- MARTIN, S.D. Gossypol effects in animal feeding can be controlled. **Feedstuffs**, v.62, p.14-7, 1990.
- MCGOOGAN, K.; REIGH, R.C. Apparent digestibility of selected ingredients and their predictability in compound diets for gilthead seabream, *Sparus aurata* L. **Aquaculture Nutrition**, v.3, p.81-89, 1996.
- NOLAN, K.B.; DUFAFIN, P.A. Effects of phytase on mineral bioavailability, *in vitro* studies on Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} (also Cd^{2+}) solubility in the presence of phytase. **Journal Science Food Agriculture**, v.40, p.79-85, 1987.
- NOSE, T. On the digestion of food protein by gold-fish (*Carassius auratus*) L. and rainbow trout (*Salmo irideus* G.). **Bulletin of Freshwater Fisheries Research Laboratory**, v.10, p.11-22, 1960.
- PAPADOPOULOS, G.; ZIRAS, E. Nutrient composition of greek cottonseed meal. **Animal Feed Science Technology**, v.18, p.295-301, 1987.
- PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACALOSSI, D.M.; CYRINO, J.E.P. NUTRIÇÃO DE PEIXES. In: Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E. C.; Fracalossi, D. M.; Castagnolli, N. **Tópicos Especiais em Piscicultura de água Doce Tropical Intensiva**. v.1. São Paulo: Aquabil, 2004. p.75-170.
- PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M. et al. Digestibilidade Aparente de Ingredientes pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.1595-1604, 2002.
- RAVINDRAN, V.; CABAUG, S.; RAVINDRAN, O. et al. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. **Poultry Science**, v.78, p.699-706, 1999.

- ROBINSON, E.H.; LI, M.H. Use of plant proteins in catfish feeds: replacement of soybean meal with cottonseed meal and replacement of fish meal with soybean meal and cottonseed meal. **Journal of World Aquaculture Society**, v.25, p.271-6, 1994.
- SILVA, S. S.; SHIM, K. F.; KHIN O.A. An evaluation of the method used in digestibility estimations of dietary ingredient and compensations on external and internal markers, and time of faeces collection in digestibility studies in the fish *Oreochromis aureus* (Steindachner). **Reproduction Nutrition and Development**, v.30, p.215-226, 1990.
- SOUZA, S.R.; HAYASHI, C. Digestibilidade aparente do farelo de algodão pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) e piavuçu (*Leporinus macrocephalus* B & G). **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.25, p. 15-20, 2003.
- SPINELLI, J.; HOULE, C.R.; WEKELL, J.C. The effect of phytate on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. **Aquaculture**, v.30, p.71-83, 1983.
- STEFFENS, W. **Principios fundamentales de la alimentación de los peces**. Zaragoza: Acriba, 1987. 275p.
- STOREBAKKEN, T.; SHEARER, K.D.; ROEM, A.J. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture**, v.161, p.365-379. 1998.
- THORSTENSEN, K.; ROMSLO, I. The role of transferrin in the mechanism of cellular iron uptake. **Biochemistry Journal**, v.271, p.1-9. 1990.
- VIELMA, J.; LALL, S.P.; KOSKELA, J. et al. Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.163, p.309-323, 1998.
- YAMAMOTO, H.; SATOH, S.; TAKEUCHI, T. et al. Effects on rainbow trout of deletion of manganese or trace elements from fish meal diets. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v.49, p.287-293, 1983.

Tabela 1. Composição das dietas

Ingrediente	(g/kg da matéria natural)					
	Ref ¹	0/ UFA ₁ ²	750/ UFA ₂ ³	1500/ UFA ₃ ⁴	2250/ UFA ₄ ⁵	3000/ UFA ₅ ⁶
Albumina	320,00	192,00	192,00	192,00	192,00	192,00
Gelatina	77,00	46,20	46,20	46,20	46,20	46,20
Amido	438,30	262,58	262,43	262,28	262,13	261,98
Óleo de soja	60,00	36,00	36,00	36,00	36,00	36,00
CMC ⁷ (carboximetilcelulose)	60,00	36,00	36,00	36,00	36,00	36,00
Fosfato bicálcico	30,00	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00
Premix mineral e vitamínico ⁸	8,00	4,80	4,80	4,80	4,80	4,80
Vitamina C ⁹	0,50	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
BHT ¹⁰ (antioxidante)	0,20	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
Sal comum	5,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óxido de crômio-III ¹¹	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fitase ¹² (5.000 UFA/g)	-	-	0,15	0,30	0,45	0,60
Farelo de algodão	-	400,00	400,00	400,00	400,00	400,00

¹Ref = ração referência; ²0 UFA₁ = 0 unidade de fitase/kg; ³750 UFA₂ = 750 unidades de fitase/kg; ⁴1500 UFA₃ = 1500 unidades de fitase/kg; ⁵2250 UFA₄ = 2250 unidades de fitase/kg; ⁶3000 UFA₅ = 3000 unidades de fitase/kg; ⁷CMC = Carboximetilcelulose; ⁸Suplemento mineral e vitamínico: Composição por quilo de produto: Vit. A= 1.200.000 UI; vit. D3=200.000 UI; vit. E=12.000mg; vit.B1=4.800 mg; vit. B2=4.800 mg; vit. B6=4.000 mg; vit. B12=4.800 mg; ác. fólico=1.200 mg; pantotenato de cálcio=12.000 mg; vit. C=48.000 mg; biotina=48 mg; colina=65.000 mg; ác. nicotínico=24.000 mg; Fe=10.000 mg; Cu=600 mg; Mn=4.000 mg; Zn=6.000 mg; I=20 mg; Co=2 mg e Se= 20 mg; ⁹Vitamina C: sal cálcica 2-monofosfato de ácido ascórbico, 42% de princípio ativo; ¹⁰Butil-Hidróxi-tolueno (Antioxidante); ¹¹Óxido de Crômio-III = Cr₂O₃ (Indicador); ¹²Fitase (5.000 UFA/g) = Microtech 5.000®- M.CASSAB

Tabela 2. Composição químico bromatológica da dieta referência e do farelo de algodão

Item	Ração Ref. ⁴	Far. De Algodão ⁵
Matéria Seca ¹	88,83	88,14
Proteína Bruta ¹	33,67	29,84
Energia Bruta ²	4184	4128
Extrato Etéreo ¹	6,70	1,37
Fibra Bruta ¹	4,35	23,30
Matéria Mineral ¹	5,20	4,57
Cálcio ¹	0,90	0,34
Fósforo ¹	0,50	0,58
Zinco ³	167,22	56,65
Cobre ³	18,75	13,90
Ferro ³	295,00	203,67
Magnésio ¹	0,14	0,54
Manganês ³	60,67	19,87

¹Porcentagem na matéria natural; ²kcal/kg; ³mg/kg; ⁴Ração Ref. = ração referência purificada; ⁵Far. de Algodão = farelo de algodão

Tabela 3. Valores médios dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, dos nutrientes e coeficientes de disponibilidade aparente dos minerais presentes no farelo de algodão suplementado ou não com níveis da enzima fitase para tilápia do Nilo

Item	0/ UFA ₁	750/ UFA ₂	1500/ UFA ₃	2250/ UFA ₄	3000/ UFA ₅	CV (%) ⁶
Matéria Seca	45,40	46,28	45,81	45,95	45,30	10,26
Proteína Bruta	81,12	81,60	80,80	80,87	80,39	3,58
Energia Bruta	49,36	50,30	50,06	50,98	52,25	10,94
Matéria Mineral ¹	46,32	66,38	68,87	72,36	67,62	10,24
Fósforo ²	64,72	78,26	79,07	89,19	79,63	5,37
Zinco ³	69,22	76,69	81,08	81,95	70,28	3,12
Cobre ⁴	57,50	81,32	81,06	81,62	70,22	5,07
Magnésio	77,99	82,08	81,24	80,02	81,75	4,11
Manganês ⁵	9,62	54,98	72,07	91,91	95,99	3,01

¹Efeito quadrático $Y = 47,64 + 0,02499X - 0,000006171X^2$; $R^2 = 0,95$

²Efeito quadrático $Y = 64,75 + 0,01949X - 0,000004686X^2$; $R^2 = 0,86$

³Efeito quadrático $Y = 68,40 + 0,01690X - 0,000005306X^2$; $R^2 = 0,92$

⁴Efeito quadrático $Y = 59,25 + 0,02995X - 0,000008840X^2$; $R^2 = 0,92$

⁵Efeito quadrático $Y = 11,57 + 0,05837X - 0,00001014X^2$; $R^2 = 0,98$

⁶CV = Coeficiente de Variação expresso em porcentagem

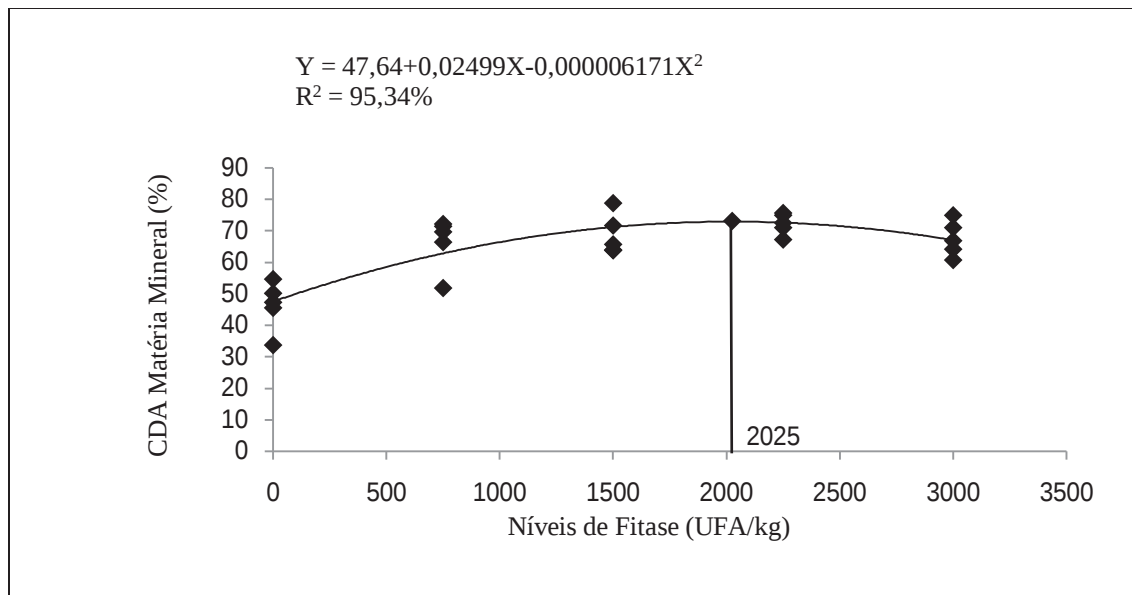


Figura 1 – Dispersão e equação polinomial para coeficiente de digestibilidade aparente da matéria mineral do farelo de algodão suplementado com níveis de fitase para tilápia do Nilo.

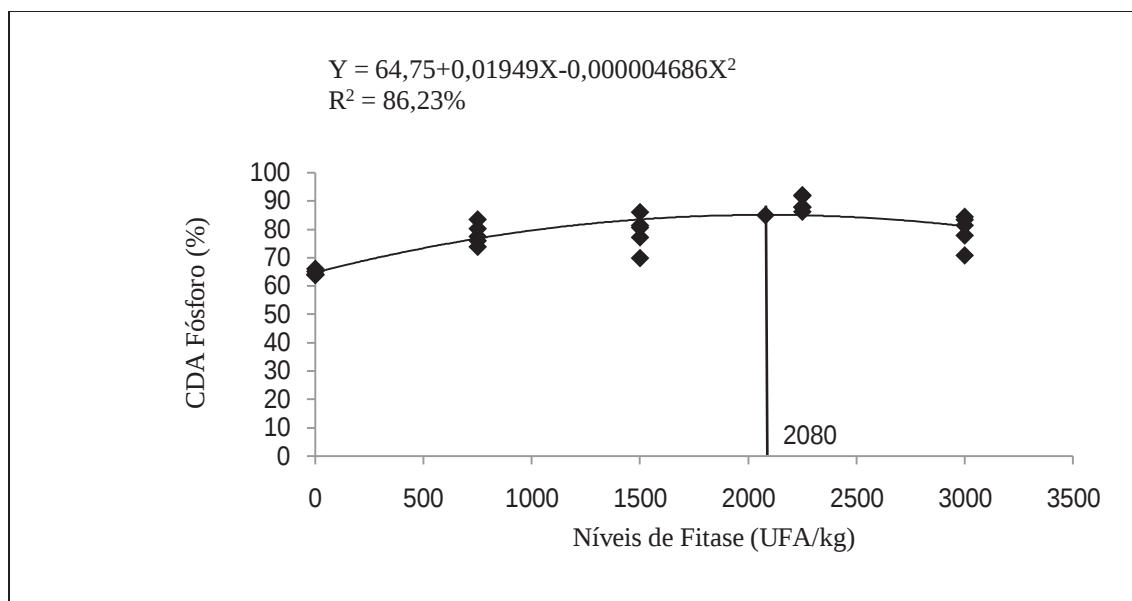


Figura 2 – Dispersão e equação polinomial para coeficiente de disponibilidade aparente do mineral fósforo contido no farelo de algodão suplementado com níveis de fitase para tilápia do Nilo.

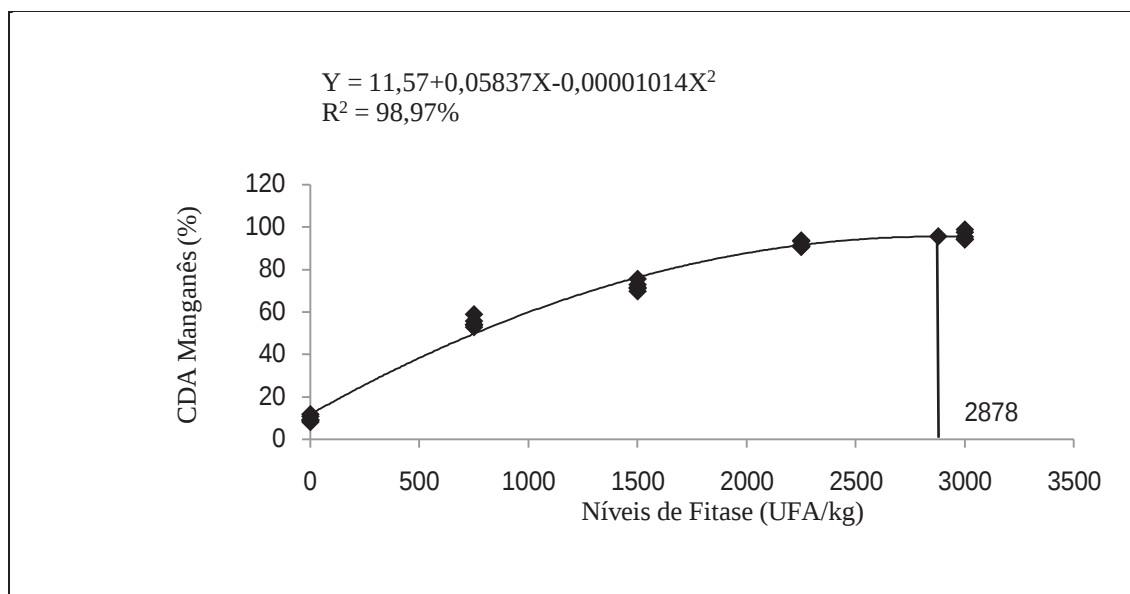


Figura 3 – Dispersão e equação polinomial para coeficiente de disponibilidade aparente do mineral manganês contido no farelo de algodão suplementado com níveis de fitase para tilápia do Nilo.

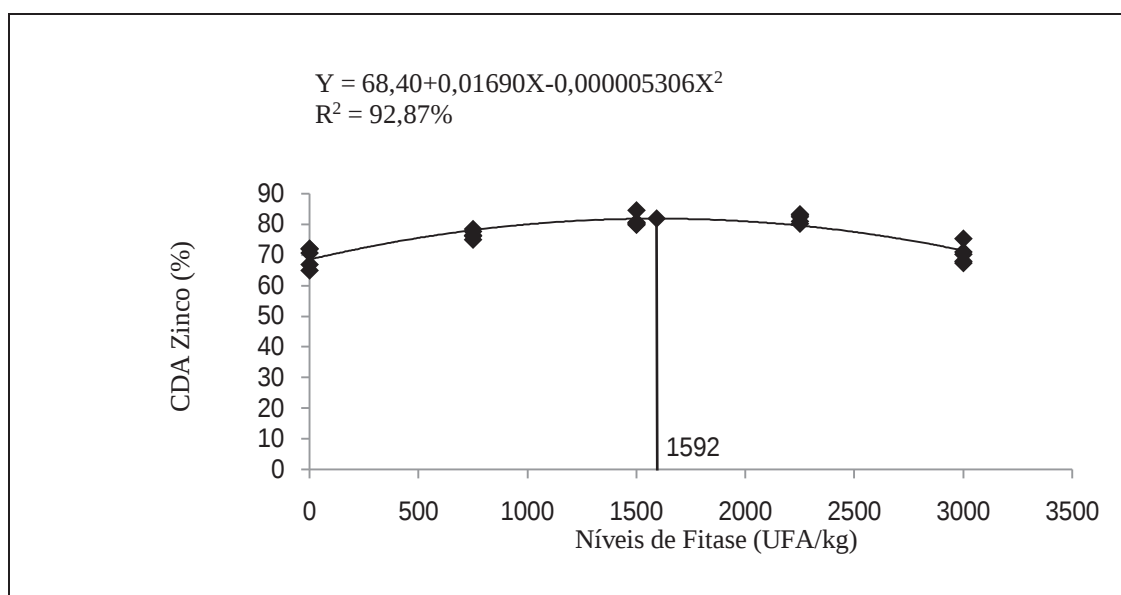


Figura 4 – Dispersão e equação polinomial para coeficiente de disponibilidade aparente do mineral zinco contido no farelo de algodão suplementado com níveis de fitase para tilápia do Nilo.

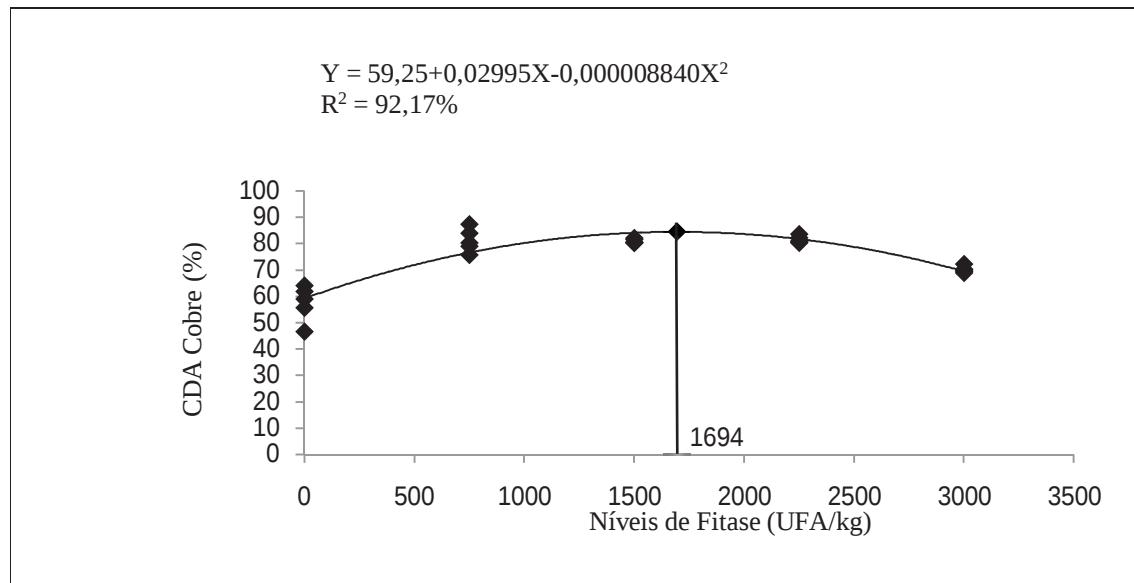


Figura 5 – Dispersão e equação polinomial para coeficiente de disponibilidade aparente do mineral cobre contido no farelo de algodão suplementado com níveis de fitase para tilápia do Nilo.

IMPLICAÇÕES

- a) O farelo de algodão se apresenta como fonte proteica alternativa para compor rações para tilápia do Nilo, possuindo custo significativamente inferior aos dos alimentos proteicos mais utilizados em dietas.
- b) A utilização da enzima fitase se faz necessária para que haja otimização na utilização de alguns minerais presentes no farelo de algodão pela tilápia do Nilo, reduzindo as possibilidades de eutrofização do meio aquático, principalmente em sistema intensivo de produção, bem como a necessidade de suplementação da dieta com determinados minerais, principalmente o P, reduzindo seu custo.
- c) Mais estudos devem ser conduzidos, com intuito de se desenvolver nova matriz nutricional, tendo em vista que a utilização da enzima melhora, em determinados alimentos, não somente a disponibilidade dos minerais, mas também a digestibilidade da proteína e energia.