

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

**FARELO DE ALGODÃO COMO SUBSTITUTO AO FARELO DE SOJA,
EM RAÇÕES PARA A TILÁPIA DO NILO**

GEISA KARINE KLEEMANN

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, como parte das
exigências para o título de Doutor.

BOTUCATU – SÃO PAULO
ABRIL - 2006

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

**FARELO DE ALGODÃO COMO SUBSTITUTO AO FARELO DE SOJA,
EM RAÇÕES PARA A TILÁPIA DO NILO**

GEISA KARINE KLEEMANN

Médica veterinária

Orientadora: Profa. Dra. MARGARIDA M. BARROS

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, como parte das
exigências para o título de Doutor.

BOTUCATU – SÃO PAULO

ABRIL - 2006

DEDICATÓRIA

A minha avó, Amabile Fenali Brambati, por todo amor, carinho e admiração que sinto;

Ao anjo de minha mãe, Marly Brambati, por tudo que sou e por tudo que representa na minha vida;

Ao meu pai, Ginter Kleemann, por todo amor, apoio e incentivo;

A minha irmã, "Queiloca", por nossa amizade, amor, união, ... pedacinho de mim;

A minha tia, Marley Brambati Radeke, pela amizade, carinho e incentivo;

Ao meu namorado, Alexandre Carnietto, por todo carinho, amor, amizade, confiança e cumplicidade.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde, vida e oportunidade;

À minha orientadora, Prof^ª. Dra. Margarida M. Barros, pelo exemplo humano e profissional. Por sua amizade, generosidade, confiança, auxílio e ensinamentos.

Ao Professor Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, pela amizade, generosidade, orientação, auxílio e exemplo humano e de dedicação profissional;

Aos professores e funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ – UNESP – Botucatu, pela amizade, apoio e auxílio prestados;

Aos Professores Dr. José Roberto Sartori e Dr. Antônio Celso Pezzato, pela amizade, auxílio e sugestões apresentadas;

Aos amigos do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos – AquaNutri, Altevir Signor, André Bordignon, Blanca Quintero, Fernanda Sampaio, Juliana Valle, Dario Falcon, Gabriel Quintero, Igo Guimarães, Jeisson. Ferrari, Luciene Papa, Marcelo Sá, Hamilton Hisano, Jenner Zuannon, Edson Freire, Giovani Gonçalves, Leonardo Tachibana, Willian Narvaez, Adriana, Cristiane, Diego, Diogo, Girda, Luana, Maria Júlia, pela amizade e colaboração na realização desse trabalho;

Aos Professores Dr. Pedro de Magalhães Padilha, Dr. Arioaldo de Oliveira Florentino e Dr. Luis Arthur Loyola Chardullo, pela amizade, atenção, orientação e auxílio nas análises químicas;

Às amigas Luciana Machado, Juliana Costa e Mere Saito, pela nossa amizade, união e companheirismo, compartilhados a cada dia.

Aos amigos Daniela, Fabíola, Lívia, Letícia, Karina, Nelise, Gustavo, pela amizade e colaboração.

Às funcionárias da seção de Pós-Graduação da FMVZ, Posto de Serviço Lageado, Carmen Sílvia de Oliveira Polo e Seila Cristina Cassineli Vieira, pela atenção e auxílio prestados;

Aos funcionários do Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Melhoramento Animal – FMVZ- Botucatu, Maria Regina T. Forlim e Renato Monteiro S. Diniz, pela amizade e auxílio nas análises;

Aos funcionários do Departamento de Química – FMVZ - Botucatu, Evandro e Fábio, pela atenção e auxílio prestados;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão da bolsa de estudo de doutorado (processo 02/09978-9);

À SupreMais Produtos Bioquímicos Ltda., na pessoa do Prof. Dr. José Eduardo Butolo, pela sustentação científica;

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

*“Todo homem que abre um livro, encontra nele asas
e pode levar-se e pairar nas alturas em
que a alma se move com a liberdade”.*

Victor Hugo

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1	01
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	02
Farelo de Algodão	02
Gossipol	04
Farelo de algodão em rações	05
Efeitos do Gossipol	07
Referências Bibliográficas	11
CAPÍTULO 2	15
VALOR NUTRICIONAL DO FARELO DE ALGODÃO PARA A TILÁPIA DO NILO	16
Resumo	16
Abstract	17
Introdução	18
Material e métodos	19
Resultados	22
Discussão	24
Referências Bibliográficas	34
CAPÍTULO 3	36
RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DA TILÁPIA DO NILO ALIMENTADA COM FARELO DE ALGODÃO EM RAÇÕES EXTRUSADAS E PELETIZADAS	37
Resumo	37
Abstract	38
Introdução	39
Material e métodos	40
Resultados	43
Discussão	45
Referências Bibliográficas	58

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Farelo de Algodão

O farelo de algodão, fonte de proteína vegetal, é um dos produtos secundários do processamento do algodão (*Gossypium hirsutum*). Para obtenção desse farelo, após a colheita do algodão, realiza-se o descaroçamento por meio de processo mecânico, sendo que a cada tonelada de algodão extraída são disponibilizadas cerca de 1,67 toneladas de caroços. Após a retirada das fibras longas de algodão, ainda nesses caroços permanecem fixadas fibras celulósicas curtas denominadas linters. Esses caroços são submetidos a etapas de limpeza, e em seguida passam por processo mecânico de remoção desse linter, método o qual se assemelha ao da extração das fibras longas do algodão. Os caroços sem linters, por meio de equipamento descascador, são separados em cascas e sementes oleaginosas (Wedegaortner, 1981).

Essas sementes passam por processo de extração do óleo, o qual pode ser realizado por prensagem mecânica, hidráulica ou extrusão, por meio de solventes, pré-prensagem com solventes e solvente expandido. Após a extração do óleo resulta o farelo de algodão (Wedegaortner, 1981). O processamento utilizado interfere no valor nutricional desse farelo, quando produzido por extração de óleo com solvente, resulta em 0,5% de óleo residual; enquanto se for removido apenas por processamento mecânico, 2,0% de óleo (Ezequiel, 2002).

O farelo de algodão se constitui na terceira fonte protéica de origem vegetal de maior produção mundial, perdendo apenas para o farelo de soja e para o farelo de canola (Swik e Tan, 1995). Comparando-se com as fontes protéicas de origem animal e também ao farelo de soja, principal fonte

protéica vegetal utilizada nas rações de peixes, o farelo de algodão apresenta preço reduzido. Segundo a FAO (1996) este farelo está entre as fontes de origem vegetal mais disponíveis mundialmente. Apresenta preço relativamente reduzido, bom conteúdo protéico e bom perfil de aminoácidos, com níveis de proteína bruta variando de 26,0 a 54,0%. Segundo Ezequiel (2002), a proteína desse farelo varia de 38,0 a 48,0%, sendo frequentemente comercializado no Brasil com 38,0%.

A palatabilidade tem sido uma das características do farelo de algodão ressaltada por vários autores. Lovell (1982) retratou que esse farelo apresenta boa aceitação pelos peixes, destacando que o salmão chinook (*Oncorhynchus tsawytscha*) não aceita o farelo de soja em suas rações, o mesmo não ocorrendo para o farelo de algodão. Este fato também foi confirmado por Pezzato et al. (1988), os quais relataram que o farelo de algodão apresentou melhor palatabilidade frente aos farelos de soja, trigo e girassol para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Barros et al. (2002) também destacaram a palatabilidade desse ingrediente, pois observaram que quando da inclusão do farelo de algodão nas rações para o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), ocorreu maior aceitação e conseqüentemente maior consumo.

Segundo Cherry e Lefter (1993) para o farelo de algodão estão descritos como principais fatores antinutricionais, os ácidos graxos ciclopropenóicos, estercúlico e malvático, podendo estar presente na concentração de 0,002 a 0,017% e o fator antinutricional gossipol, sendo o principal deles. Esses autores destacaram que os ácidos graxos ciclopropenóicos biologicamente ativos estão presentes em quantidades diminutas no óleo e não acarretam prejuízos à saúde.

Nesse alimento, a proteína bruta está correlacionada negativamente com a fibra bruta e com o gossipol livre, provavelmente resultante da

adição de cascas de algodão durante o processamento para reduzir o conteúdo protéico aos níveis mínimos garantidos. O pigmento polifenólico gossipol, o qual pode ser moderadamente tóxico para os animais, está presente na semente não processada em sua forma livre e se localiza nas glândulas pigmentares (Robinson e Li, 1995).

Segundo esses mesmos autores, dependendo do tipo de processamento e extensão da ruptura das glândulas pigmentares, parte do gossipol é extraída junto ao óleo, 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. Parte do gossipol se mantém livre e se constitui a forma tóxica do mesmo.

Gossipol

Berardi e Goldblatt (1980) destacaram que o gossipol 1,1', 6,6', 7,7'- hexahidroxi - 5, 5' - diisopropil - 3, 3' - dimetil (2, 2' - binaftaleno) - 8, 8' - dicarboxialdeído é denominado livre, por ser prontamente extraído em solução de acetona 70,0%. Segundo esses mesmos autores, pelo menos 15 pigmentos ou derivados foram identificados em extratos do caroço, óleo e farelo, porém somente oito foram isolados e caracterizados.

Conforme Robinson e Li (1995), as concentrações de gossipol livre no farelo de algodão diferem principalmente em função do cultivar, da localidade e da técnica de processamento desse produto, sendo geralmente em média de 0,02 a 0,05% de gossipol livre para o farelo oriundo da prensagem de rosca; 0,02 a 0,07% para o farelo pré-prensado com solvente; 0,04 a 0,10% para o obtido por prensagem hidráulica; 0,06 a

0,21% para o processamento com solvente expandido e 0,10 a 0,50% para o farelo obtido por meio de solvente direto.

Existe correlação negativa entre o conteúdo de gossipol livre e lisina do farelo de algodão produzido nos diferentes processamentos. O processamento por prensagem envolve maior aquecimento, o qual reduz o conteúdo de gossipol livre, porém também destrói a lisina. A técnica de pré-prensagem com solvente garante farelo relativamente baixo em gossipol livre e com mínimas perdas na qualidade da proteína, no entanto deve existir rigor no controle das condições durante a manufatura (Lovell, 1982).

Lindsey et al. (1980) relataram que o gossipol livre pode se ligar ao ferro dietário no intestino delgado e reduzir a absorção e retenção desse mineral. Deste modo, em estudos onde se utilizam concentrações de gossipol livre, consideram necessária a avaliação hematológica, de maneira a avaliar o estado nutricional de ferro do animal em crescimento. Butolo (2002) também enfatizou a complexação deste fator antinutricional com o ferro da ração, processo esse que indisponibiliza o mineral.

Segundo Wedegaortner (1981), a administração de sais de ferro é efetiva na inibição dos efeitos tóxicos do gossipol livre dietário. Pressupõe-se que forte complexo entre gossipol livre e ferro se forme no trato intestinal, impedindo dessa forma que o gossipol seja absorvido. O sulfato ferroso se constitui na forma mais efetiva do sal, e recomenda-se a adição desse na relação de 1:1 da concentração de gossipol livre dietário com relação a concentração de ferro.

O restante do gossipol total é praticamente inerte, porém durante o processamento do farelo em condições de alto aquecimento, o gossipol por meio da reação de Maillard liga-se à lisina, formando o complexo lisina-carboidrato, reduzindo desta forma o valor nutricional da proteína. Lovell

(1981) destacou que a suplementação do farelo de algodão com lisina cristalina pode ser uma maneira economicamente efetiva de substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão em rações para peixes.

Farelo de Algodão em Rações

Os efeitos da inclusão do farelo de algodão em rações têm sido experimentalmente avaliados para diferentes espécies animais. Os ruminantes podem utilizar altos níveis de inclusão de farelo de algodão em suas rações sem causar danos ao organismo, devido a capacidade do rúmen em detoxificar o gossipol (Maynard et al., 1984). Resultados contraditórios sobre a utilização e a aplicação desse ingrediente na alimentação de monogástricos são frequentemente observados.

Braham et al. (1967) observaram que os valores de hemoglobina e hematócrito em suínos foram inversamente relacionados ao conteúdo de gossipol das rações. Da mesma forma, Herman (1970) relatou que trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), arraçadas com rações contendo 1000 ppm de gossipol livre durante 14 meses, apresentaram depressão do crescimento, redução do hematócrito, da hemoglobina, da proteína plasmática total e alterações histopatológicas no fígado e rins. Resultados contrários foram visualizados por Barros et al. (2002), quando substituíram o farelo de soja por farelo de algodão em rações para juvenis de bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) durante 10 semanas. Estes pesquisadores não observaram mudanças nos valores de eritrócitos, leucócitos, hematócrito e hemoglobina desses peixes, mesmo aqueles que receberam 55% de farelo de algodão totalizando 0,07% de gossipol livre dietário.

A avaliação do desempenho produtivo de peixes arraçados com farelo de algodão nas rações tem sido objeto de vários estudos. Resultados

contraditórios frente a utilização do farelo de algodão para diferentes espécies de peixes têm sido observados. As controvérsias existem não só com relação a utilização desse ingrediente como fonte exclusiva de proteína dietária, como também relacionada aos níveis máximos de inclusão desse farelo sem o desencadeamento de efeitos detrimenais à saúde e prejuízos produtivos.

O farelo de algodão com 0,01% de gossipol livre foi avaliado por Robinson e Rawles (1983) e concluíram que para o bagre do canal, a substituição total do farelo de soja não proporcionou diferença significativa no ganho de peso e conversão alimentar. Complementaram ainda que, a suplementação com lisina não incrementou o desempenho desses peixes e sugeriram que o farelo de algodão pode conter suficiente quantidade de lisina disponível.

Robinson (1991) avaliou durante 12 semanas para o bagre do canal, a substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão com 0,02% de gossipol livre. Observou que o farelo de soja poderia ser totalmente substituído na ração pelo farelo de algodão quando suplementado com lisina. Por outro lado, o farelo de algodão pôde substituir 30% da fração protéica dietária sem a suplementação deste aminoácido. Robinson e Li (1994) comentaram que a utilização do farelo de algodão como fonte protéica exclusiva de rações para o bagre do canal é desejável não somente por razões econômicas mas também por incrementar palatabilidade à ração. Dabrowski (2001) avaliou durante 35 meses a substituição total da farinha de peixe dietária pelo farelo de algodão e não observou diferença no crescimento de machos e fêmeas de bagre do canal. Dessa forma, recomendou esse ingrediente como substituto integral da farinha de peixe dietária para esta espécie.

Resultados similares foram apresentados por Blom et al. (2001), os quais relataram que a substituição total da farinha de peixe pelo farelo de algodão em rações para truta arco-íris por 6 meses proporcionou bom desempenho e sobrevivência. Contradição é apresentada por Cheng e Hardy (2002), quando recomendaram a inclusão de somente 10% de farelo de algodão na ração dessa mesma espécie sem que ocorram significativos prejuízos ao ganho de peso, conversão alimentar e taxa de sobrevivência.

Da mesma forma que existem discordâncias frente a utilização do farelo de algodão em rações para as diferentes espécies de peixes, resultados conflitantes perpetuam também quando da avaliação desse ingrediente com as tilápias. Jackson et al. (1982) avaliaram diferentes fontes protéicas vegetais e níveis de inclusão, em substituição à farinha de peixe em rações para tilápia (*Sarotherodon mossambicus*) durante 9 semanas. Testaram os farelos de palma, amendoim, girassol, canola, soja, algodão e leucena em rações confeccionadas com iguais frações protéicas oriundas de fontes vegetais e animais. Observaram significativa redução na taxa de crescimento quando da utilização do amendoim, palma, leucena e soja; o girassol entretanto, manteve crescimento semelhante comparado ao controle (farinha de peixe), enquanto a canola e o algodão proporcionaram melhor taxa de crescimento. Estes pesquisadores destacaram que o farelo de algodão (0,02% 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.

Resultados semelhantes foram observados por El Sayed (1990), quando durante 130 dias substituíram a proteína da farinha de peixe pelo farelo de algodão. Demonstraram que o farelo de algodão pode ser utilizado como fonte protéica exclusiva para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). A suplementação de lisina não melhorou o desempenho, devido

ao farelo apresentar quantidade suficiente de lisina disponível. De forma discordante, Viola e Zohar (1984) relataram que somente 50% da proteína do farelo de soja pôde ser substituída pelo farelo de algodão sem ocasionar detrimento do desempenho produtivo da tilápia híbrida.

Experimento conduzido por Mbahinzireki et al. (2001) durante 16 semanas avaliou a substituição da proteína da farinha de peixe, em rações para tilápia (*Oreochromis sp*), por níveis crescentes de inclusão (0,0; 25,0; 50,0; 75,0 e 100%) de proteína do farelo de algodão. A taxa de crescimento não diferiu até a substituição de 50% e acima deste nível propiciou declínio do crescimento. Os autores determinaram que peixes alimentados com rações contendo 75 ou 100% da proteína do farelo de algodão apresentaram menores concentrações de ferro, cálcio e fósforo corpóreos comparados à ração controle.

Efeitos do Gossipol

Estudos *in vitro* demonstraram que o gossipol impede a liberação do oxigênio livre da oxihemoglobina e exerce efeito hemolítico nos eritrócitos. O gossipol por reduzir a capacidade respiratória sanguínea, pode ocasionar carga excessiva aos órgãos respiratórios e circulatórios, provocando hiperemia, anemia hemolítica, falência cardíaca, edema de pulmões e hidrotórax. Os sintomas gerais são anorexia, depressão do crescimento e podendo levar a óbito (Menaul, 1923).

Segundo Dabrowiski (2001), algumas espécies de peixes como a truta arco-íris, possuem alta resistência ao gossipol, enquanto outras, como a tilápia, apresentam alta sensibilidade. De maneira contraditória, Robinson et al. (1984) relataram que a tilápia tolera níveis altos de gossipol, onde alevinos de *Tilapia aurea* alimentados com níveis de até 0,18% de gossipol

livre não apresentaram prejuízo no crescimento, conversão alimentar e sobrevivência. Comentam ainda, que o bagre do canal, de forma similar à tilápia, apresenta alta tolerância ao gossipol livre dietário. Dorsa et al. (1982) esclareceram que a concentração de 0,09% de gossipol livre não ocasiona depressão do crescimento dessa espécie. Martin (1990) afirmou que a tolerância espécie-específica dos peixes ao gossipol parece ser maior quando comparada às demais espécies animais; Cheng e Hardy (2002) relataram que os peixes toleram concentrações superiores de gossipol livre dietário comparado a outros monogástricos, como aves e suínos.

Apesar da literatura descrever amplamente os efeitos deletérios do gossipol, pesquisas têm demonstrado que este composto em pequenas concentrações pode determinar respostas desejáveis, porém poucos são os estudos desenvolvidos. Katzui e Kato (1954) propuseram ação antioxidante do gossipol quando em soluções, como estabilizador da vitamina A. Atividade antiviral do gossipol também tem sido reportada. Foi relatado efeito virucida frente ao herpes vírus tipo II e aos vírus da influenza e parainfluenza (Dorsett et al., 1975). Em experimentação *in vitro*, Polsky et al. (1989) relataram a capacidade do gossipol na inativação completa do vírus da imunodeficiência humana (HIV).

Estudos *in vitro* com a incubação direta de *Trypanosoma cruzi* reportaram que o gossipol reduz a motilidade e acarreta danos estruturais no parasita, produz imobilização dos epimastigotas e marcada redução no crescimento das culturas (Montamat et al., 1982), causa redução na motilidade e alterações morfológicas de tripomastigotas circulantes de ratos infectados (Burgos et al., 1984). Eid et al. (1988) em estudos *in vitro* com o gossipol demonstraram que esse possui capacidade de imobilizar e lisar tripanossomas africanos (*Trypanosoma brucei brucei*), interferindo na glicólise do parasita. Também demonstrou efetivo contra o parasita causador

da doença de Chagas, o *Trypanosoma cruzi*, e contra o *Plasmodium falciparum*, agente etiológico da malária.

Van Nieuwenhove et al. (1985) sugeriram que devido aos efeitos e ações do gossipol avaliados e observados, justificam-se pesquisas adicionais como alternativa à quimioterapia usualmente utilizada. Flack et al. (1993) relataram que o gossipol administrado oralmente pode ser seguramente usado no tratamento humano de câncer metastático de adrenal. A taxa de resposta é similar a outros agentes atualmente disponíveis para o tratamento desse câncer, e respostas positivas foram encontradas em pacientes onde outros regimes quimioterápicos falharam. Dessa forma, esses resultados indicam sua atividade contra o câncer em seres humanos e enfatiza a necessidade de novas investigações sobre sua ação antitumoral.

Recentemente o gossipol tem se mostrado inibidor de crescimento de diversos tumores celulares *in vitro* e tem atuado como potente antitumoral (Gilbert et al., 1995). Benz et al. (1990) relataram que o mesmo apresenta potente ação inibitória da glutathione-S-transferase, atividade essa comumente relacionada a medicamentos contra o câncer. Segundo Coyle et al. (1994), propriedade antitumoral tem sido sugerida devido a sua ação antimitocondrial e à inibição do metabolismo energético celular e Wang et al. (2000) evidenciaram a propriedade do gossipol causar morte em células tumorais por meio da via de apoptose. Dabrowiski (2001) relatou que estudos com gossipol em tecidos de peixes foram planejados para avaliar as vantagens do consumo humano dessa carne com gossipol, por sua ação efetiva contra células neoplásicas de mama e próstata.

Barros et al. (2002) avaliaram o efeito do gossipol em bagres do canal, infectados experimentalmente com a bactéria *Edwardsiella ictaluri*. Os autores observaram que os peixes alimentados com rações contendo

gossipol apresentaram taxa de mortalidade 48% menor frente ao desafio com a bactéria, comparado aos peixes alimentados com o farelo de soja. O gossipol aprimorou a resposta e resistência imunológica frente a bactéria, fato evidenciado pela melhora da migração dos macrófagos ao exoantígeno, maior produção de anticorpos e maior sobrevivência com contínuo consumo de alimento. A maior palatabilidade e consumo das rações com farelo de algodão também podem ter contribuído beneficemente na melhora da resposta imunológica e resistência dos peixes à infecção por *Edwardsiella ictaluri*. Os pesquisadores salientaram que estudos adicionais na avaliação dos efeitos benéficos do gossipol frente a imunidade e resistência dos peixes a infecções são necessários devido a escassez de informações nessa área.

Com base nestas informações, o capítulo 2, intitulado “Valor nutricional do farelo de algodão para a tilápia do Nilo, teve por objetivo determinar a composição química de farelos de algodão classificados comercialmente com 28%, 38% e 46% de proteína bruta, avaliar os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, da proteína, energia, extrato etéreo e dos aminoácidos, e também determinar a disponibilidade dos minerais para a tilápia do Nilo. A redação deste capítulo foi realizada de acordo com as normas da revista Aquaculture.

O capítulo 3, intitulado “Respostas fisiológicas da tilápia do Nilo alimentada com farelo de algodão em rações extrusadas e peletizadas” teve por objetivo avaliar o efeito de níveis de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de algodão em rações para tilápia do Nilo, e o efeito de dois métodos de processamento da ração (extrusão e peletização), no desempenho produtivo, composição centesimal do filé, teor de gossipol livre e total no fígado e filé, parâmetros hematológicos e avaliação morfológica do fígado e intestino após 95 dias. A redação deste capítulo foi realizada de acordo com as normas da revista Acta Scientiarum.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- BANCROFT, J.D., STEVENS, A., TURNER, D.R. *Theory and practice of histological techniques*. 3.ed. Churchill Livingstone, 1990.
- 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*, v.207, p.263-79, 2002.
- BENZ, C.C., KENIRY, M.A., FORD, J.M., TOWNSEND, A.J., COX, F.W., PALAYOOR, S., MATLIN, S.A., HAIT, W.N., COWAN, K.H. Biochemical correlates of the antitumour and antimitochondrial properties of gossypol enantiomers. *Mol. Pharmacol.*, v.37, n.6, p.840-7, 1990.
- BERARDI, L.C., GOLDBLATT, L.A. Gossypol. In: LIENER, I.E. *Toxic Constituents of plants foodstuffs*. 2.ed. New York: Academic Press, 1980. p.183-237.
- BLOM, J.H., LEE, K.J., RINCHARD, J., DABROWSKI, K., OTTOBRE, J. Reproductive efficiency and maternal-offspring transfer of gossypol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing cottonseed meal. *J. Anim. Sci.*, v.79, p.1533-39, 2001.
- BRAHAM, J.E., JARGUIN, R., ELIAS, L.G., GONZALEZ, M., BRESSANI, R. Effect of calcium and gossypol on the performance of swine and on certain enzymes and other blood constituents. *J. Nutr.*, v.91, p.47, 1967.
- BURGOS, N.M.G., BURGOS, C., MONTAMAT, E.E., ROVAILE, E., BLANCO, A. Inhibition by gossypol of oxidoreductases from *Trypanosa cruzi*. *Biochem. Pharmacol.*, v.33, p.955-9, 1984.
- BUTOLO, J.E. *Qualidade de ingredientes na alimentação animal*. Campinas: Agros Comunicação, 2002. 430p.

* UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas. *Normas para publicações da UNESP*. São Paulo: Editora UNESP, 1994. v.2: Referências Bibliográficas. BIOSIS. *Serial sources for the BIOSIS preview database*. Philadelphia, 1996. 468p.

- CHENG,Z.J., HARDY,R.W. Apparent digestibility coefficients and nutritional value of cottonseed meal for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, v.212, p.361-72, 2002.
- CHERRY,J.P., LEFTER,H.R. Seed. In: KOHEL,R.J., LEWIS,C.F. *Cotton*. 2.ed. Madison: American Society of Agronomy,1993. p.511-69.
- COYLE,T., LEVANTE,S., SHETLER,M., WINFIELD,J. In vitro and in vivo citotoxicity of gossypol against central nervous system tumor cell lines. *J. Neurooncol.*, v.19, p.25-5, 1994.
- DABROWISKI,K. *Plant based meal pavês way fororganically-grown fish*. Ohio: Ohio State University, 2001.
- DORSA,W.J., ROBINETTE,H.R., ROBINSON, E.H., POE,W.E. Effects of raçõory cottonseed meal and gossypol on growth of young channel catfish.*Trans. Am. Fish. Soc.*, v.111, p.651-5, 1982.
- DORSETT,P.H., KERSTINE,E.E., POWERS,L.J. Antiviral activity of gossypol and apogossypol. *J. Pharm. Sci.*, v.64, p.1073-5, 1975.
- EID,J.E.,UENO,I, WANG,H., DONELSON,J.E. Gossypol-induced death of African trypanosomes. *Exp. Parasitol.*, v.66, p.140-2, 1988.
- EL-SAYED,A.F.M. Long-term evaluation of cottonseed meal as a protein source for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linn). *Aquaculture*, v.84, p.315-20, 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.137-62.
- FAO. *Aquaculture production statistics 1985-1994*. Revision 8. Rome: FAO, 1996. (FAO Fisheries Circular, n.815).
- FLACK,M.R., PYLE,R.G., MULLEN.M.N., LORENZO,B., WU,Y.W., KNAZEK,R.A., NISULA,B.C., REIDENBERG,M.M. Oral gossypol in the treatment of metastatic adrenal cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v.76, p.1019-24, 1993.
- GILBERT,N.E., O'REILLY,J.E., CHANG,C.J., LIN,Y.C., BRUEGGEMEIER,R.W. Antiproliferative activity of gossypol and gossypolone on human breast cancer cells. *Life Sci.*, v.57, p.61-7, 1995.

- HERMAN,R.L. Effects of gossypol on rainbow trout *Salmo gairdnerii* Richardson. *Fish. Biol.*, v.2, p.293-303, 1970.
- JACKSON,A.J., CAPPER,B.S., MATTY,A.J. Evaluation of some plant proteins in complete diets for the tilapia *Sarotherodon mossambicus*. *Aquaculture*, v.27, p.97-109, 1982.
- KATSUI,G., KATO,K. Effects of gossypol on the stability of vitamin A. *J. Vitaminol. kyoto*, v.7, p.746-8, 1954.
- LINDSEY,T.O., HAWKINS, G.E., GUTHRIE,L.D. Physiological responses of lactating cows to gossypol from cottonseed meal rations. *J. Dairy Sci.*, v.63, p.562, 1980.
- LOVELL, R.T. *Nutrition and feeding of fish*. 2.ed. Massachusetts: Kluwer Academic Publishers, 1998. 267p.
- LOVELL,T. Use of cottonseed meal in fish feeds. *Aquacult. Mag.*, jan.-feb., 1982.
- LOVELL,T. Cottonseed meal in fish feeds. *Feedstuffs*, v.53, n.52, p.28-9, dec., 1981.
- MARTIN,S.D. Gossypol effects in animal feeding can be controlled. *Feedstuffs*, v.62, p.14-7, 1990.
- MAYNARD, L.A., LOOSLI, J.K., HINTZ, H.F., WARNER, R.G. *Nutrição Animal*, 3 ed., McGraw-Hill Inc, New York, 1984, 736p.
- MBAHINZIREKI,G.B., DABROSKI,K., LEE,K.J., EL-SAIDY,D., WISNER,E.R. Growth, feed utilization and body composition of tilapia (*Oreochromis sp*) fed with cottonseed meal-based diets in a recirculating system. *Aquacult. Nutr.*, v.7, p.189-200, 2001.
- MENAU,P. The physiological effect of gossypol. *J. Agricult. Res.*, v.26, n.5, p.233-7, nov., 1923.
- MONTAMAT,E.E., BURGOS,C., GEREZ DE BURGOS,N.M., ROVAI, L.E., BLANCO,A., SEGURA,E.L. Inhibitory action ao gossypol on enzymes and growth of *Trypanosoma cruzi*. *Science*, v.218, p.288-9, 1982.
- PEZZATO,L.E., PEZZATO,A.C., SILVEIRA,A.C., BARROS,M.M. Digestibilidade aparente de fontes protéicas pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 5, 1988, Florianópolis. *Anais...* Florianópolis, 1988. p.373-8.

- POLSKY,B., SEGAL, S.J., BARON,P.A., GOLD,J.W.M., UENO,H., ARMSTRONG, D. Inactivation of human immunodeficiency virus *in vitro* by gossypol. *Contraception*, v.39, p.579-87, 1989.
- 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.157-65.
- 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. *J. World Aquacult. Soc.*, v.25, p.271-6, 1994.
- ROBINSON,E.H. Improvement of cottonseed meal protein with suplement lysine in feeds for channel catfish. *J. Appl. Aquacult.*, v.1, p.1-14, 1991.
- ROBINSON,E.H., RAWLES,D.S., OLDENBURG,P.W., STICKNEY,R.R. Effects of feeding glandless or glanded cottonseed products and gossypol to *Tilapia aurea*. *Aquaculture*, v.38, p.145-54, 1984.
- ROBINSON,E.H., RAWLES,D.S. Use of deffated, glandless cottonseed flour and meal in channel catfish diets. In: ANNUAL CONFERENCE OF THE SOUTHEASTERN ASSOCIATION OF FISH AND WILDLIFE AGENCIES, 37, 1983, Asheville. *Proceedings...* Asheville, 1983. p.358-63.
- SWICK,R.A., TAN,P.H. *Considerations in using common Asian protein meals*. Singapore: American Soyben Association Technical Bulletin MITA, 1995.
- VAN NIEUWENHOVE,S., SCHECHTER,P.J., DECLERCQ, J., BONE, G., BURKE,J., SJOERDSMA,A. Treatment of gambiense slleping sickness in the Sudan with oral DMFO, an inhibitor of ornithine decarboxylase, first field trial. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 79, p.692-8, 1985.
- VIOLA,R.A., ZOHAR,G. Nutrition studies with market size hybrids of tilapia *Oreochromis* in intensive culture. *Bamidgeh*, v.36, p.3-15, 1984.
- WANG,X., WANG,J., WONG,S.C.H., CHOW,L.S.N., NICHOLLS,J.M., WONG,Y.C., LIU,Y., KWONG,D.L.W., SHAM,J.S.T., TSAO,S.W. Cytotoxic effect of gossypol on colon carcinoma cells. *Life Sci.*, v.67, p.2663-71, 2000.
- WEDEGAORTNER,T.C. Making the most of cottonseed meal. *Feed Manag. Mag.*, v.32, n.9, p.1-3, 1981.

Valor nutricional do farelo de algodão para a tilápia do Nilo

Nutritional value of cottonseed meal for Nile tilapia

RESUMO

Farelos de algodão classificados comercialmente com 28%, 38% e 46% de proteína bruta, foram avaliados para determinar seu valor nutricional para a tilápia do Nilo. Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) foram determinados usando ração purificada contendo 0,1% de óxido de cromo III e as rações teste contiveram 60% da ração purificada e 40% dos farelos. A maioria dos CDA dos nutrientes dos farelos de algodão foram diferentes ($P < 0,05$). Os CDA dos farelos de algodão variaram respectivamente, para matéria seca, de 53,45 a 54,32%; proteína bruta, 71,56 - 74,81%; energia, 53,80 - 58,60%; extrato etéreo, 85,37 - 89,11%; fósforo, 33,75 - 34,50%; cálcio, 41,21 - 43,75%; ferro, 62,02 - 79,85%; zinco, 0,00 - 67,41%; cobre, 13,37 - 14,27%; aminoácidos essenciais, 71,39 - 79,17%; e aminoácidos não-essenciais, 77,08 - 82,58%. Estes dados fornecem informações nutricionais dos farelos de algodão possibilitando seu melhor aproveitamento nas formulações de rações para tilápia.

Palavras-chave: proteína, aminoácidos, energia, minerais, disponibilidade, peixe

ABSTRACT

Cottonseed meals commercially classified with 28%, 38% and 46% of protein, were evaluated to determine its nutritional composition. Apparent digestibility coefficients (ADC) were determined using a purified diet containing 0.1% of chromic oxide, and test diets contained 60% of purified diet and 40% of test ingredients. ADC of most nutrients in cottonseed meals were different ($P < 0.05$). The ADC of the cottonseed meals were: dry matter, 53.45 - 54.32%; protein, 71.56 - 74.81%; energy, 53.80 - 58.60%; ether extract, 85.37 - 89.11%; phosphorus, 33.75 - 34.50%; calcium, 41.21 - 43.75%; iron, 62.02 - 79.85%; zinc, 0,00 - 67.41%; copper, 13.37 - 14.27%; essential amino acids, 71.39 - 79.17%; and non-essential amino acids, 77.08 - 82.58%. These data provide information concerning available nutrients of cottonseed meals and will allow to make full use of cottonseed meals in Nile tilapia practical diet formulations, maximazing the economic benefit of least-cost feed formulation.

Key-words: protein, amino acids, energy, minerals, availability, fish

INTRODUÇÃO

Os peixes necessitam de rações com elevado teor protéico para atingirem taxas de crescimento viáveis economicamente em condições intensivas de cultivo. Após exigências em aminoácidos e outros nutrientes terem sido definidas, a busca por menor custo na formulação de rações exaltou maior importância para a composição de aminoácidos de fontes protéicas vegetais de menor custo, diminuindo a porcentagem de inclusão de farinha de peixe na fórmula das rações (Lovell, 1982).

O farelo de algodão é uma das fontes protéicas de origem vegetal de maior produção mundial. Além de apresentar custo relativamente baixo, apresenta bom conteúdo protéico e bom perfil de aminoácidos (FAO, 1983). Esse ingrediente tem sido por muito tempo utilizado como concentrado protéico popular e econômico na alimentação animal (Martin, 1990).

O farelo de algodão é frequentemente de menor custo do que outras fontes protéicas vegetais ou de origem animal, no entanto ainda é pouco utilizado na alimentação de peixes. O aumento na produção do algodão, juntamente com a melhoria nos métodos de processamento, têm levado à produção de farelos com menores teores de gossipol, e tornou o farelo de algodão um ingrediente mais atraente nas formulações de rações para a aquicultura (Waldroup e Kersey, 2002). Informações concernentes à composição nutricional desse ingrediente são peças-chave para maximização da sua utilização.

A disponibilidade dos nutrientes dos ingredientes das rações para peixes pode variar consideravelmente dependendo de uma série de fatores, incluindo a espécie de peixe, a qualidade do ingrediente e as condições de processamento. Coeficientes de digestibilidade de ingredientes foram determinados somente para algumas espécies de peixes, dentre estas, o bagre do canal e a truta arco-íris foram os mais estudados devido a maior importância econômica como produtos da aquicultura, nos Estados Unidos. A tilápia do Nilo é uma espécie de grande importância econômica no Brasil e uma das espécies para qual os coeficientes de digestibilidade de ingredientes são pouco disponíveis. Nenhum estudo foi conduzido especificamente para avaliar os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes dos farelos de algodão disponíveis no mercado nacional para esta espécie. Informação a respeito da disponibilidade de nutrientes dos ingredientes para a tilápia é necessária para formular rações que atinjam suas exigências e permitir a

substituição eficaz de ingredientes, com intuito de minimizar os custos na fabricação das rações, e conseqüentemente, reduzir os custos na produção de peixes.

Este trabalho apresenta os valores nutritivos dos farelos de algodão comercializados atualmente no mercado nacional, a atualização sobre a informação nutricional desse ingrediente é importante devido a contínuas mudanças na produção e processamento do algodão. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar a composição química dos farelos de algodão classificados comercialmente com diferentes níveis de proteína, 28%, 38% e 46%, como também avaliar os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína, energia, extrato etéreo, aminoácidos e a disponibilidade dos minerais para a tilápia do Nilo, e também determinar a composição centesimal e o perfil de aminoácidos do filé de juvenis.

MATERIAL E MÉTODOS

Formulação e preparo das rações

Foi formulada uma ração referência purificada com base protéica em gelatina e albumina (Tabela 1) para satisfazer as exigências nutricionais da espécie tilápia do Nilo (NRC, 1993). A ração referência foi formulada com ingredientes purificados, de forma a minimizar os efeitos de fatores antinutricionais, como também reduzir a influência dos efeitos sinérgicos e ou antagônicos entre os ingredientes na absorção dos nutrientes.

Outras três rações testes foram formuladas para avaliação individual dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes dos farelos de algodão comercializados com 28%, 38% e 46% de proteína bruta. Essas rações continham 60% da ração referência e 40% desses ingredientes testes (Cho et al., 1982). Os farelos de algodão utilizados foram processados por extração com solvente. Os CDA foram determinados pelo método indireto, utilizando o óxido de crômio III (Cr_2O_3) como marcador inerte, incorporado na concentração de 0,1% à ração referência e às rações testes.

Para o preparo das rações, os ingredientes foram moídos em partículas menores que 0,7mm de diâmetro geométrico médio (DGM) e homogeneizados em misturador automático. Adicionou-se à mistura 40% de água a 55°C e essa foi peletizada, e posteriormente desidratada em estufa de circulação de ar forçada a 55°C durante 24 horas e armazenadas a -20°C. Os pellets foram fracionados em diâmetros entre 4 a 5 mm para serem oferecidos aos peixes.

Condução experimental

A pesquisa foi desenvolvida na UNESP- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP. Foram utilizados dez aquários circulares de alimentação com volume de 250 L de água. Cento e cinquenta juvenis machos de tilápia do Nilo, com peso médio de $101,3 \pm 7,2$ g, foram distribuídos em dez tanques-rede de formato circular, confeccionados em tela plástica. Cada tanque-rede, com densidade de 15 peixes, foi alojado em um aquário de alimentação. Os tanques-rede foram utilizados para acondicionar os peixes e facilitar o manejo de alimentação e de coleta de fezes. Os aquários de alimentação apresentavam sistema fechado de recirculação de água com filtro físico e biológico, com filtragem total da água a cada 60 minutos. A água foi mantida a $26,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por sistema de aquecimento com controle digital da temperatura. Foi mantido fotoperíodo de 12L:12E.

Os peixes foram alimentados com as rações testes e ração purificada por período prévio de cinco dias ao início da fase de coleta de fezes, como forma de adaptação à ração. Como procedimento das coletas, os peixes receberam a ração experimental à vontade nos aquários de alimentação, no período de 0800 às 1700 horas, com maior frequência durante o período vespertino. Às 1800 horas, os tanques-rede eram retirados dos aquários de alimentação e transferidos para os aquários de coleta de fezes de 300 L, e permaneciam até a manhã seguinte, quando retornavam aos aquários de alimentação. Tal procedimento possibilitou a obtenção de fezes sem a contaminação pela ração e ou pela água, em consequência da lixiviação dos nutrientes.

Coletou-se fezes dos peixes em dias alternados, possibilitando período de descanso de 24 horas, de forma a minimizar o estresse dos animais. O período experimental de coleta de fezes de cada ração teve a duração de cinco dias. Os aquários de coleta de fezes possuíam aeração e aquecimento, apresentavam o terço inferior em formato cônico, provido de registro que acopla o frasco de coleta de fezes, as quais foram obtidas por decantação. Após cada coleta, esses aquários foram lavados e toda a água substituída para evitar contaminações nas coletas subsequentes. Semanalmente monitorou-se a concentração de oxigênio dissolvido (mg/L) e o pH da água do sistema experimental, e a temperatura foi verificada diariamente. As fezes coletadas foram centrifugadas a 3.000 rpm por 20 minutos, desidratadas a 55°C por 24 horas, em seguida maceradas em cadinho e retiradas as escamas.

Análises químicas

Foi determinada a composição química de amostras de três farelos de algodão comercializados com teores de 28%, 38% e 46% de proteína bruta (Tabela 2). Também foram avaliadas a composição nutricional da ração referência (Tabela 1), rações testes e respectivas fezes. Os teores de proteína foram avaliados pelo método de Kjeldahl, o extrato etéreo foi determinado por meio do extrator de Soxhlet e a fibra quantificada em digestão com ácido sulfúrico e hidróxido de sódio (AOAC, 2000), na Lab-Tec –Laboratório de Alta Tecnologia, Campinas, SP. A energia foi analisada por bomba calorimétrica adiabática, na UNESP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP.

O perfil dos aminoácidos foi determinado por hidrólise ácida em cromatografia líquida de alta performance (HPLC), segundo Cohen et al. (1989) e as concentrações de gossipol total e gossipol livre dos farelos de algodão foram determinadas segundo AOCS (1997), na Lab Tec – Laboratório de Alta Tecnologia, Campinas, SP. As concentrações dos minerais cálcio, fósforo, ferro, zinco, cobre e crômio foram quantificados pela técnica de espectrometria de absorção atômica por chama após digestão em ácido nítrico e perclórico, segundo SHIMADZU (2000), no Laboratório de Química da UNESP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP.

Determinação da Digestibilidade

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca, proteína, energia, extrato etéreo e aminoácidos e a disponibilidade aparente dos minerais da ração referência e das rações testes foram calculados com base nos teores de óxido de crômio e do nutriente da ração e das fezes (Cho e Kaushik, 1990), segundo a fórmula:

$$\text{CDA}(\%) = 100 - \left[100 \left(\frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ dieta}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ fezes}} \right) \cdot \left(\frac{\% \text{ nutriente fezes}}{\% \text{ nutriente dieta}} \right) \right]$$

Após, foram calculados os CDA da matéria seca, proteína, energia, extrato etéreo, aminoácidos e a disponibilidade aparente dos minerais dos ingredientes teste com base na digestibilidade do nutriente da ração referência e rações testes e no percentual de inclusão do ingrediente teste na ração (Sugiura et al., 1998), de acordo com a fórmula:

$$CDA_{(nutriente)} = \frac{CDA_{(dieta\ teste)} - (\% \text{ dieta refer\encaroncia} \cdot CDA_{(dieta\ refer\encaroncia)})}{\% \text{ ingredient e teste}}$$

Análise Estatística

Os dados foram analisados pela técnica de análise de variância e submetidos ao teste múltiplo de comparação de médias Tukey, do programa computacional SAS (SAS, 1985). As conclusões foram obtidas ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS

Durante o período experimental, a temperatura média da água nos aquários manteve-se a $26,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$. A concentração média de oxigênio dissolvido foi de $7,6 \pm 0,7$ mg/L, e o pH variou entre 6,9 a 7,4. Estes valores se encontram dentro da escala ótima para esta espécie (Boyd, 1990).

A composição química dos farelos de algodão comercializados com teores protéicos de 28%, 38% e 46% está apresentada na Tabela 2. O nível de proteína bruta apresentado pelo farelo de algodão 28% (FA-28) foi 34,66%, o farelo 38% (FA-38) apresentou 38,99 % de proteína e 40,25% de proteína bruta foi encontrado para o farelo de algodão 46% (FA-46). Estes valores não estão de acordo com a composição protéica estipulada comercialmente para cada ingrediente, com exceção do farelo de algodão 38%. O teor de proteína determinado para o farelo de algodão comercializado com 28% foi bem superior ao nível estipulado para este ingrediente e o oposto ocorreu com o farelo de algodão comercializado com 46%, o qual apresentou conteúdo protéico bem inferior.

Os farelos de algodão não apresentaram conteúdo em gossipol livre, somente gossipol na forma ligada. O farelo de algodão 28% apresentou 0,10% de gossipol total, a mesma concentração foi obtida para o farelo de algodão 38%, e o farelo 46 apresentou 0,18% de gossipol total.

A composição aminoacídica dos três farelos de algodão está expressa em percentual no ingrediente e em percentual da proteína bruta, e está apresentada na Tabela 3. A composição em aminoácidos dos farelos de algodão aumentou com o incremento do nível protéico do ingrediente, e manteve similar a relação da proporção dos aminoácidos com o teor protéico dos farelos. Os farelos de algodão apresentaram alto conteúdo em arginina (os

valores variaram de 11,44 a 11,78% de arginina na proteína bruta dos farelos), apresentaram baixos níveis de metionina (valores oscilaram entre 0,63 a 0,74% da proteína bruta) e baixos níveis de lisina (valores entre 4,62 a 4,99% da proteína bruta). Baixos teores também foram apresentados para a treonina (variação de 3,51 a 3,83% da proteína bruta) e para o triptofano (valores oscilaram entre 1,33 a 1,50% da proteína bruta).

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca, da proteína bruta, da energia bruta, do extrato etéreo e dos minerais e os valores digestíveis dos nutrientes dos farelos de algodão com diferentes níveis protéicos para a tilápia do Nilo estão apresentados na Tabela 4. Os CDA da matéria seca variaram de 53,45 a 54,32%. Não houve diferença ($P>0,05$) na digestibilidade da matéria seca entre os três farelos de algodão. Diferenças significativas ($P<0,05$) ocorreram nos CDA da proteína bruta, da energia bruta e do extrato etéreo entre os três farelos de algodão. Os CDA da proteína bruta variaram de 71,56 a 74,81% para os farelos de algodão. O FA-28 e o FA-46 apresentaram maiores CDA da proteína ($P<0,05$) do que o FA-38.

Os CDA da energia foram baixos para todos os farelos de algodão, os valores variaram entre 53,80 e 58,6%. O FA-46 apresentou CDA da energia significativamente mais elevado ($P<0,05$) do que os outros farelos, enquanto o FA-28 apresentou maior CDA da energia ($P<0,05$) do que o FA-38. O extrato etéreo dos farelos de algodão foi bem digerido pela tilápia do Nilo, os valores dos CDA variaram de 85,37 a 89,11%. O FA-38 teve o maior ($P<0,05$) CDA do extrato etéreo, e os FA-28 e FA-46 não diferiram entre si.

Não houve diferença significativa nos CDA do fósforo, cálcio, ferro e cobre entre os três farelos de algodão. Os valores médios foram 34,16%, 42,76%, 71,17% e 13,92%, respectivamente. Diferença significativa foi verificada para a disponibilidade aparente do zinco. O FA-46 teve maior disponibilidade aparente de zinco ($P<0,05$) do que os outros farelos de algodão, e o FA-38 apresentou disponibilidade mais elevada do que o FA-28.

Os CDA dos aminoácidos dos farelos de algodão com diferentes níveis protéicos para a tilápia do Nilo estão apresentados na Tabela 5. O FA-46 apresentou ($P<0,05$) os maiores CDA para a maioria dos aminoácidos, sendo maior para a isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina, ácido aspártico, alanina, glicina e serina. O FA-28 teve ($P<0,05$) os menores CDA para a maioria dos aminoácidos, sendo menor para a arginina, histidina, lisina, fenilalanina, ácido aspártico, ácido glutâmico, cistina, serina e prolina. A lisina apresentou o menor coeficiente de digestibilidade aparente entre os aminoácidos (valores variaram de 53,91 a 67,81%), seguidos pela treonina (valores variaram de 60,95 a 72,42%). O maior coeficiente de digestibilidade

aparente dentre os aminoácidos essenciais foi apresentado pela metionina (valores variaram de 92,93 a 97,11%).

O valor médio dos CDA para todos os aminoácidos foi moderadamente alto para todos os farelos de algodão. As médias foram de 73,92% para o FA-28, 76,21% para o FA-38 e 80,68% para o FA-46, e estes valores não diferiram entre os ingredientes. Estes valores também não diferiram quando se comparou a média dos CDA de todos os aminoácidos com o CDA da proteína dentro do mesmo farelo de algodão.

DISCUSSÃO

Durante todo o período experimental, o consumo de alimento pelos peixes foi excelente, para todas as rações teste, como também para a ração purificada, indicando boa aceitabilidade das rações que continham farelo de algodão. De acordo com Lovell (1982) e Barros et al. (2002), o farelo de algodão é palatável para o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*). A estabilidade na água, que é uma característica necessária para as rações para peixes, não foi afetada com a inclusão do farelo de algodão, mantendo dessa forma a qualidade da água.

Os farelos de algodão não apresentaram conteúdo em gossipol livre, somente gossipol na forma ligada. Apresentaram níveis baixos de gossipol total, cerca de 0,10% para o FA-28, 0,10% para o FA-38, e 0,18% para o FA-46. As concentrações de gossipol (livre e ligado) determinadas para os farelos foram inferiores aos níveis de gossipol dos produtos de algodão relatados por Martin (1990) e Wedegaortner (1981). Waldroup e Kersey (2002) verificaram que o aumento na produção do algodão junto com a melhoria nos métodos de processamento têm resultado em farelos com menores teores de gossipol, e tornado esse ingrediente mais interessante na formulação de rações para aquicultura.

De acordo com Robinson e Li (1995), o gossipol é um pigmento amarelo polifenólico encontrado naturalmente na planta do algodão. Na semente, o gossipol é encontrado em pequenas glândulas pigmentares, e se apresenta na forma livre. Martin (1990) relatou que a ligação do gossipol com nutrientes é importante porque baseado nos conceitos tradicionais, a forma livre é a forma tóxica. A concentração de gossipol livre no farelo processado pode variar devido a diferenças na variedade da planta, do local, e da técnica de processamento. Durante o processamento, o gossipol livre é ligado à proteína

formando o gossipol ligado, indisponibilizando aminoácidos. A forma ligada tem reduzida atividade biológica e geralmente é considerada inerte quando consumida por monogástricos. No farelo processado, o gossipol livre somado a forma ligada representa o gossipol total.

É possível minimizar os efeitos adversos do gossipol livre presentes em subprodutos do algodão neutralizando com sais de ferro, tais como o sulfato ferroso na relação de 1:1 para gossipol livre e ferro. Postulou-se que o ferro forma um forte complexo com o gossipol livre no trato intestinal que o impede de ser absorvido (Waldroup e Kersey, 2002).

O CDA da matéria seca e da energia dos farelos de algodão foram baixos neste estudo, e provavelmente devido ao elevado teor de fibra bruta. De acordo com Lee (2002), a digestibilidade dos nutrientes da ração depende da composição do ingrediente utilizado. Gaylord e Gatlin (1996) relataram que a fibra dietética (celulose) é um componente do carboidrato dos produtos vegetais, o qual não é aproveitado pelos peixes, e dessa forma, concentrações elevadas de fibra (> 8%) podem diminuir a digestibilidade da matéria seca e da energia bruta da ração e também reduzir a disponibilidade de outros nutrientes em algumas espécies. Ressaltaram que a digestibilidade da matéria orgânica depende da composição do ingrediente, sendo que teor elevado em carboidrato, especialmente de fibra, geralmente reduz a digestibilidade da matéria orgânica pelos peixes.

A qualidade da proteína dos ingredientes dietéticos é um fator importante que afeta o desempenho dos peixes, e a digestibilidade da proteína é uma medida de seu valor nutricional. A proteína do farelo de algodão foi digerida em média de 74%, sugerindo que o farelo de algodão pode ser eficientemente usado como fonte parcial de proteína em rações para a tilápia do Nilo. Este resultado está em concordância com Fagbenro (1998) que observou boa eficiência da tilápia do Nilo na utilização da proteína de muitos ingredientes de origem vegetal.

Pezzato et al. (2002) avaliaram a digestibilidade aparente do farelo de algodão 28% de proteína bruta para a tilápia do Nilo. Encontraram 53,11% de CDA da matéria seca e 74,87% de CDA da proteína bruta, resultados similares aos obtidos neste estudo. Entretanto, encontraram menor valor para o CDA da energia (média de 51%) e maior CDA para o extrato etéreo, média de 99,39%.

Cheng e Hard (2002) também avaliaram a digestibilidade aparente do farelo de algodão para a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Encontraram 64,85% de CDA para a matéria seca, valor mais elevado comparado a média de 53,87% para os farelos de algodão avaliados neste estudo. Coeficiente maior também foi obtido para a digestibilidade aparente da proteína bruta, valor de 84,25% comparado a 73,72%, e valor inferior foi obtido para o CDA do extrato etéreo, média de 71% comparado a 87,02% determinado em nosso estudo. Os resultados deste estudo estão em concordância com Cho et al. (1982), Sargent et al. (1989) e Sullivan e Reigh (1995), os quais relataram que a maioria dos peixes estudados têm alta eficiência na digestibilidade do extrato etéreo.

A qualidade da proteína de fontes protéicas dietéticas depende da composição e da digestibilidade dos aminoácidos. Embora os dados obtidos nesse estudo sugeriram que o valor do CDA da proteína seja indicativo do CDA dos aminoácidos, houve grande variabilidade ($P < 0,05$) no CDA individual dos aminoácidos entre os farelos de algodão. Variabilidade também foi observada para os CDA dos aminoácidos dentro do mesmo ingrediente. Os resultados sugerem que o uso dos valores digestíveis dos aminoácidos deve ser utilizado para uma formulação mais precisa.

Os valores de CDA dos aminoácidos dos farelos de algodão com diferentes níveis protéicos não seguiram tendência similar aos valores de CDA da proteína, esta última diferiu ($P < 0,05$) entre os ingredientes, demonstrando maior CDA da proteína para o FA-28 e o FA-46. Isto não ocorreu quando comparou-se a média dos CDA de todos os aminoácidos, a qual não diferiu entre os farelos de algodão.

Nesse estudo, os CDA de alguns minerais para o farelo de algodão foram baixos, os CDA médios do fósforo, cálcio e cobre foram de 34,16%, 42,76% e 13,92%, respectivamente. O CDA do ferro foi mais elevado (média de 71,12%) e o CDA do zinco foi o único valor que diferiu ($P < 0,05$) entre os três farelos, com valores mais elevados para o FA-46 (67,41%), valor intermediário para o FA-38, com 18,27% de CDA e valor inferior para o FA-28 que não apresentou CDA de zinco. Os resultados obtidos neste estudo sugerem a influência de efeitos dietéticos, tais como a presença de fitato, fibra e outros ligantes nos ingredientes de origem vegetal, os quais reduzem a disponibilidade dos minerais (Champagne, 1989).

A baixa disponibilidade de minerais obtida neste estudo está em concordância com Mbahinzireki et. al. (2001), os quais descreveram que os ingredientes de origem vegetal contêm o fósforo primariamente como o sal do cálcio-magnésio do ácido fítico, conhecido

como fitina. O fósforo da fitina é indisponível aos animais com estômago simples porque há ausência da enzima fitase no trato gastrointestinal. Wilson et al. (1982) também relataram que o ácido fítico forma sais insolúveis com muitos minerais no trato digestório, dessa forma a disponibilidade do fósforo na maioria dos produtos de origem vegetal é baixa. O ácido fítico presente no farelo de algodão (63,1% do P total; Richie e Brown, 1996) forma fortes quelatos com minerais divalentes, incluindo o zinco, formando fitatos insolúveis no lúmen intestinal, reduzindo desse modo a disponibilidade do zinco. McClain e Gatlin (1988) também encontraram diminuição da disponibilidade do zinco dietético para a tilápia azul devido ao fitato dietético.

Cheng e Hard (2002) também encontraram baixos coeficientes médios de disponibilidade aparente de alguns minerais dos farelos de algodão para a truta arco-íris, relataram que os CDA médios do fósforo, cobre, ferro e zinco foram de 54,3%, 58,4%, 49,2% e 20,1%, respectivamente. Da mesma maneira que neste estudo, somente observaram diferença ($P < 0,05$) para a disponibilidade do zinco entre os farelos de algodão.

Os valores dos CDA dos aminoácidos obtidos para os ingredientes neste estudo demonstraram boa utilização dos aminoácidos dos três farelos de algodão pela tilápia do Nilo, à exceção da lisina e da treonina. Os valores de CDA do FA-46 foram melhores para a maioria dos aminoácidos, comparados aos outros farelos de algodão. Como observado neste estudo, Cheng e Hardy (2002) também obtiveram diferença nos CDA dos aminoácidos entre os farelos de algodão para a truta arco-íris. A média do CDA dos aminoácidos essenciais foi de 86,92%, valor mais elevado do que obtido nesse estudo (média de 74,76%).

A principal deficiência de aminoácido no farelo de algodão é relacionada a lisina. Não somente a quantidade total deste aminoácido é baixa (aproximadamente 4,78% da proteína dietética, em comparação a média de 6,92% para o farelo de soja), mas também está sujeita à formação de complexos não digestíveis com o gossipol ou carboidratos durante o processamento, prejudicando sua digestibilidade. Wadroup e Kersey (2002) avaliaram 16 amostras de farelo de algodão dos Estados Unidos, e a média de lisina em relação a percentagem de proteína dos farelos foi de 4%, valor inferior ao encontrado neste estudo. Rostagno et al. (2005) avaliaram dois farelos de algodão com diferentes níveis protéicos e encontraram valor médio de 4,16% de lisina na proteína do farelo.

Neste estudo, os CDA da lisina foram os menores dentre os aminoácidos, os valores variaram de 53,91% para o FA-28 a 67,81% para o FA-46. Martin (1990) e Rinchard et al.

(2003) ressaltaram que a lisina é o primeiro aminoácido a se ligar com o gossipol livre, e esta ligação reduz sua digestibilidade. Similar CDA de lisina para o farelo de algodão foi encontrado por Lovell (1981) com o bagre do canal, média de 66%. Allan et al. (2000) também relataram 60% de CDA da lisina do farelo de algodão para a carpa prateada. Entretanto, Cheng e Hard (2002) e Lee (2002) encontraram maiores valores, média de 84,93% e de 77% de CDA da lisina do farelo de algodão para a truta arco-íris e o rockfish, respectivamente.

Outros aminoácidos que estão presentes em baixas quantidades no farelo de algodão comparado às exigências da tilápia do Nilo, constituem a metionina e a treonina. Ao contrário da lisina, a metionina apresentou o maior CDA entre todos os aminoácidos (valores variaram de 92,93 a 97,11%) e os valores do CDA da treonina variaram de 60,95 a 72,42%. Cheng e Hard (2002) avaliaram o CDA dos aminoácidos de farelos de algodão para a truta arco-íris, e obtiveram maiores valores de CDA para o triptofano seguido pela metionina dentre todos os aminoácidos. Os valores dos CDA da metionina variaram de 89,2 a 92,9%, e da treonina variaram de 80,2 a 87,9%.

Conclusão

A classificação comercial pelo teor protéico não refletiu a real composição em proteína bruta dos farelos de algodão. Os CDA da maioria dos nutrientes dos farelos de algodão comercializados com diferentes níveis protéicos para a tilápia do Nilo foram diferentes. O CDA da proteína não refletiu a maioria dos CDA dos aminoácidos, pois houve grande variação na digestibilidade individual dos aminoácidos dentro e entre os farelos de algodão. Os valores digestíveis dos aminoácidos devem ser utilizados para uma formulação mais precisa da ração.

Os valores nutricionais e os CDA dos nutrientes dos farelos de algodão relatados neste estudo fornecem informações a respeito do aproveitamento dos nutrientes pela espécie e complementarão outras informações nutricionais disponíveis. Estes dados permitem aos nutricionistas substituições de ingredientes nas rações, baseando-se em nutrientes digestíveis, a fim de minimizar custos na formulação, perdas na produção e a poluição do meio.

Tabela 1. Composição percentual e química analisada, valor bruto e valor digestível, da ração referência para a tilápia do Nilo (matéria natural)

Ingrediente	Porcentagem (%)	
Albumina	32,50	
Gelatina	5,50	
Amido	46,08	
Óleo de soja	4,20	
Celulose	6,50	
Fosfato bicálcico	4,40	
Suplemento mineral e vitamínico ¹	0,50	
Vitamina C ²	0,05	
NaCl	0,15	
Butil hidroxitolueno (BHT)	0,02	
TOTAL	100,00	
<i>Composição analisada</i>	Valor bruto	Valor digestível
<i>Matéria seca (%)</i>		72,01
<i>Proteína (%)</i>	91,68	31,98
<i>Energia (kcal/kg)</i>	33,24	3424
<i>Extrato etéreo (%)</i>	4516	4,09
<i>Fibra (%)</i>	4,20	--
<i>Fósforo (%)</i>	4,84	0,52
<i>Cálcio (%)</i>	0,96	0,60
<i>Ferro (mg/kg)</i>	1,15	99,18
<i>Zinco (mg/kg)</i>	137,24	45,14
<i>Cobre (mg/kg)</i>	50,54	0,32
	5,39	

¹Suplemento mineral e vitamínico (Supre Mais®): vitamina A, 1.200.000 UI; vitamina B₁, 4,8 g; vitamina B₁₂, 4.800 mcg; vitamina B₂, 4,8 g; vitamina B₆, 4,8 g; vitamina C, 48 g; vitamina D₃, 200.000 UI; vitamina E, 1,2 g; vitamina K₃, 2,4 g; Ácido fólico, 1,2 g; Biotina, 48 mg; Pantetonato de cálcio, 12 g; Cloreto de colina, 108 g; Niacina, 24 g; Selênio, 100 mg; Iodo, 100 mg; Cobalto, 10 mg; Cobre, 3 g; Ferro, 50 g; Manganês, 20 g; Zinco, 30 g; Antioxidante, 25 g; Veículo q.s.p., 1.000 g;

²Vitamina C polifosfatada Stay C® com 35% de princípio ativo.

Tabela 2. Composição química dos farelos de algodão classificados comercialmente com 28%, 38% e 46% de proteína bruta (matéria natural)¹

Nutriente	FA-28	FA-38	FA-46
Matéria seca (%)	89,82	89,80	91,37
Proteína bruta (%)	34,66	38,99	40,25
Energia bruta (kcal/kg)	4173	4223	4324
Extrato etéreo (%)	2,35	1,53	2,31
Fibra (%)	16,36	14,47	15,30
Gossipol livre (%)	0,00	0,00	0,00
Gossipol total (%)	0,10	0,10	0,18
Fósforo (%)	0,83	1,10	0,93
Cálcio (%)	0,26	0,40	0,34
Ferro (mg/kg)	76,93	62,37	68,95
Zinco (mg/kg)	11,47	11,80	13,92
Cobre (mg/kg)	0,45	1,56	1,65

¹ Valores são média de três repetições;

FA-28 = Farelo de algodão classificado comercialmente com 28% de proteína bruta;

FA-38 = Farelo de algodão classificado comercialmente com 38% de proteína bruta;

FA-46 = Farelo de algodão classificado comercialmente com 46% de proteína bruta.

Tabela 3. Composição em aminoácidos dos farelos de algodão comercializados com teores protéicos de 28%, 38% e 46% de proteína bruta, valores expressos em porcentagem no ingrediente e em porcentagem da proteína bruta (matéria natural)

Aminoácido (%)	% ingrediente			% proteína bruta		
	FA-28	FA-38	FA-46	FA-28	FA-38	FA-46
<i>Essencial</i>						
Arginina	4,01	4,46	4,74	11,57	11,44	11,78
Histidina	0,98	1,05	1,13	2,83	2,69	2,81
Isoleucina	1,15	1,22	1,32	3,32	3,13	3,28
Leucina	2,13	2,26	2,48	6,15	5,80	6,16
Lisina	1,73	1,80	1,90	4,99	4,62	4,72
Metionina	0,22	0,29	0,29	0,63	0,74	0,72
Fenilalanina	1,91	2,06	2,22	5,51	5,28	5,52
Treonina	1,26	1,37	1,54	3,64	3,51	3,83
Triptofano	0,52	0,52	0,54	1,50	1,33	1,34
Valina	1,72	1,82	1,98	4,96	4,67	4,92
Não-essencial						
Ácido aspártico	3,58	3,91	4,37	10,33	10,03	10,86
Ácido glutâmico	8,22	9,03	9,83	23,72	23,16	24,42
Alanina	1,46	1,57	1,77	4,21	4,03	4,40
Cistina	0,40	0,44	0,45	1,15	1,13	1,12
Glicina	1,52	1,65	1,86	4,39	4,23	4,62
Serina	1,64	1,79	2,00	4,73	4,59	4,97
Prolina	1,38	1,48	1,63	3,98	3,80	4,05
	0,56	0,67	0,69	1,62	1,72	1,71
Tirosina						

¹ Valores são média de duas repetições;

FA-28 = Farelo de algodão classificado comercialmente com 28% de proteína bruta;

FA-38 = Farelo de algodão classificado comercialmente com 38% de proteína bruta;

FA-46 = Farelo de algodão classificado comercialmente com 46% de proteína bruta.

Tabela 4. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca, proteína bruta, energia, extrato etéreo e minerais e valores digestíveis dos nutrientes dos farelos de algodão comercializados com teores protéicos de 28%, 38% e 46% para a tilápia do Nilo (matéria natural) ¹

CDA (%) do nutriente	F. Algodão 28	F. Algodão 38	F. Algodão 46
Matéria seca (%)	53,45 ± 0,31	53,85 ± 0,15	54,32 ± 0,20
Proteína bruta (%)	74,81 ± 0,41 a	71,56 ± 0,74 b	74,80 ± 0,85 a
Energia bruta (kcal/kg)	55,76 ± 1,63 b	53,80 ± 0,14 c	58,60 ± 0,91a
Extrato etéreo (%)	86,57 ± 0,62 b	89,11 ± 2,13 a	85,37 ± 0,20 b
Fósforo (%)	33,75 ± 7,54	34,23 ± 8,21	34,50 ± 6,43
Cálcio (%)	41,21 ± 6,11	43,31 ± 5,92	43,75 ± 6,43
Ferro (mg/kg)	79,85 ± 10,27	62,02 ± 9,47	71,63 ± 11,05
Zinco (mg/kg)	0,00 c	18,27 ± 5,00 b	67,41 ± 4,38 a
Cobre (mg/kg)	13,37 ± 4,21	14,13 ± 4,83	14,27 ± 4,54
Valores			
digestíveis	25,93	27,90	30,12
Proteína digestível (%)	2327	2272	2534
Energia digestível (kcal/kg)	0,28	0,38	0,32
Fósforo disponível (%)	0,11	0,17	0,15
Cálcio disponível (%)	61,36	38,68	49,38
Ferro disponível (mg/kg)	0,00	2,15	9,38
Zinco disponível (mg/kg)	0,06	0,22	0,24
Cobre disponível (mg/kg)			

¹ Valores são médias ± desvio-padrão de três repetições/tratamento. Médias isentas ou seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05);

F. Algodão 28=Farelo de algodão classificado comercialmente com 28% de proteína bruta;

F. Algodão 38=Farelo de algodão classificado comercialmente com 38% de proteína bruta;

F. Algodão 46=Farelo de algodão classificado comercialmente com 46% de proteína bruta.

Tabela 5. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos aminoácidos dos farelos de algodão comercializados com teores protéicos de 28%, 38% e 46% para a tilápia do Nilo ¹

CDA (%) do aminoácido	F. algodão 28	F. algodão 38	F. algodão 46
Essenciais			
Arginina	75,99 b	80,47 a	80,55 a
Histidina	71,82 b	75,80 a	77,59 a
Isoleucina	66,76 b	68,54 b	74,89 a
Leucina	71,10 b	72,32 b	79,31 a
Lisina	53,91 c	58,40 b	67,81 a
Metionina	93,04 b	92,93 b	97,11 a
Fenilalanina	80,02 c	82,58 b	87,39 a
Treonina	60,95 b	61,85 b	72,42 a
Triptofano	73,92 b	76,21 b	80,68 a
Valina	66,37 b	68,10 b	73,92 a
Não-essenciais			
Ácido aspártico	72,93 c	76,14 b	79,33 a
Ácido glutâmico	77,09 b	80,43 a	82,38 a
Alanina	64,65 b	63,20 b	70,40 a
Cistina	80,43 b	83,15 a	84,88 a
Glicina	68,95 b	70,53 b	75,24 a
Serina	72,83 c	75,64 b	81,54 a
Prolina	79,74 b	85,42 a	86,85 a
Tirosina	100,00	100,00	100,00
Média CDA dos aminoácidos	73,92 aA	76,21 aA	80,68 aA
Média CDA da proteína bruta	74,81 A	71,56 A	74,80 A

¹ Valores são médias de duas repetições/tratamento;

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05);

Letras maiúsculas comparam valores na mesma coluna;

F. Algodão 28=Farelo de algodão classificado comercialmente com 28% de proteína bruta;

F. Algodão 38=Farelo de algodão classificado comercialmente com 38% de proteína bruta;

F. Algodão 46=Farelo de algodão classificado comercialmente com 46% de proteína bruta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAN, G.L. *et al.* Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: I. Digestibility of alternative ingredients. *Aquac.*, v. 186, p. 293-310, 2000.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists International. *Official methods of analysis*. 17.ed. Gaithersburg, Maryland, USA, 2000. 3413p.
- AOCS - American Oil Chemists' Society. *Official methods and recommended practices*. 5.ed. Champaign, IL, 1997.
- BARROS, M.M. *et al.* 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. *Aquac.* v. 207, p. 263-279, 2002.
- BOYD, C.E. Water quality management for ponds fish culture. Development in aquaculture and fisheries science. Elsevier, New York. 1990. 490 pp.
- CHAMPAGNE, E.T. Low gastric hydrochloric and secretion and mineral bioavailability. In: Dintzis, F.R., Lazlo, J.A. (Eds). Mineral absorption in the monogastric gastrointestinal tract. Plenum. New York. 1989. pp.173-84.
- CHENG, Z.J., HARDY, R.W. Apparent digestibility coefficients and nutritional value of cottonseed meal for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac.*, v. 212, p. 361-372, 2002.
- CHO, C.Y., KAUSHIK, S.J. Nutritional energetics in fish: energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *World Rev. Nutr. Diet.*, v.61, p. 132-172, 1990.
- CHO, C.Y. *et al.* Bioenergetics of salmonid fishes: energy intake, expenditure and productivity. *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 73B, p. 25-41. 1982.
- FAGBENRO, O. Apparent digestibility of various legumes seed meals in Nile tilapia diets. *Aquac. Inter.*, v. 6, p. 83-87. 1998.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Fish feeds and feeding in developing countries. ADCP/Rep/83/18, FAO, Rome, Italy. 1983. 93 pp.
- GAYLORD, T.G., GATLIN III, D.M. Apparent digestibility coefficients and nutritional value of cottonseed meal for rainbow trout. *Aquac.*, v. 139, p. 303-314. 1996.
- LEE, S.M. Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebasteschlegeli*). *Aquac.*, v. 207, p. 79-95. 2002.

- LOVELL, T. Use of cottonseed meal in fish feeds. *Aquacult. Mag.*, jan.-feb., 1982.
- LOVELL, T. Cottonseed meal in fish feeds. *Feedstuffs*, v.53, n.52, p.28-29, dec., 1981.
- MARTIN, S.D. Gossypol effects in animal feeding can be controlled. *Feedstuffs*, v. 62, p.14-7, 1990.
- 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. *Aquacult. Nutr.*, v.7, p.189-200, 2001.
- NRC (National Research Council). *Nutrient requirements of fish*. Washington: National Academy Press, 1993. 114p.
- PEZZATO, L.E. *et al.* Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *R. Bras. Zootec.*, v.31, n.4, p.3361-70, 2002.
- RINCHARD, J. *et al.* Influence of gossypol from raçõary cottonseed meal on haematology, reproductive steroids and tissue gossypol enantiomer concentrations in male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, v.9, p.275-82, 2003.
- ROBINSON, E.H., LI, M.H. Use of cottonseed meal in aquaculture feeds. In: Lim, C., Sessa, D.J. *Nutrition and utilization technology in Aquac.*. Champaign: AOCS Press, 1995. p.157-65.
- ROSTAGNO *et al.* Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Ed. Horacio Rostagno. 2 ed. Viçosa, UFV. 2005.
- SARGENT, J. *et al.* The lipids. In: J.E. Halver (Editor), *Fish Nutrition*. 2nd ed., Academic Press, New York, p.153-218, 1989.
- SAS INSTITUTE. *SAS[®] User's Guide: Statistics*. 5.ed. Cary: 1985. 956p.
- SHIMADSU Atomic Absorption Spectrophotometers AA – 6800 Cookbook. *Measuring condition by element of flame analysis method.*, sect. 4, 23, 2000.
- SUGIURA, S.H. *et al.* Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feed ingredients for salmonid feeds. *Aquac.*, v.159, p.177-202. 1998.
- SULLIVAN, J.A., REIGH, R.C. Apparent digestibility of selected feedstuffs in diets for hybrid striped bass (*Morone saxatilis* x *Morone chrysops*). *Aquac.*, v.138, p.313-322, 1995.
- WALDROUP, P.W., KERSEY, J.H. Nutrient composition of cottonseed meal surveyed. *Feedstuffs*, v.4, p.11-2, 2002.
- WEDEGAORTNER, T.C. Making the most of cottonseed meal. *Feed Manag. Mag.*, v.32, n.9, p.1-3, 1981.

Respostas fisiológicas da tilápia do Nilo alimentada com farelo de algodão em rações extrusadas e peletizadas

RESUMO

Este experimento foi conduzido para avaliar os efeitos da substituição parcial da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de algodão e os efeitos de dois métodos de processamento, peletização e extrusão, em rações para a tilápia do Nilo. As rações foram formuladas para conter 30% de proteína digestível e 3.200 kcal/kg de energia digestível. Nas rações experimentais, a proteína do farelo de soja foi gradualmente substituída pela proteína do farelo de algodão (0; 12,5; 25 e 50%), o qual correspondeu a 0, 8, 16 e 32% de inclusão de farelo de algodão nas rações, respectivamente. O farelo de algodão não apresentou gossipol livre e apenas 0,10% de gossipol total. A suplementação de aminoácidos foi realizada com base em proteína ideal. Cada ração foi submetida a dois métodos de processamento, peletização e extrusão. Alevinos com peso médio de $4,60 \pm 0,23$ g foram distribuídos em 32 tanques-rede cilíndricos de 180 L, em sistema de recirculação de água, e foram alimentados até a saciedade quatro vezes ao dia, durante 95 dias. A experimentação foi conduzida no delineamento fatorial (4x2) inteiramente casualizado com quatro repetições. Os resultados demonstraram que o farelo de algodão isento em gossipol livre pode substituir 50% da proteína do farelo de soja, representando 32% de inclusão na ração da tilápia do Nilo, quando a lisina for suplementada, sem afetar significativamente o desempenho produtivo, o estado fisiológico e a saúde do peixe.

Palavras-chave: aminoácido; lisina; gossipol; crescimento; hematologia; morfologia

ABSTRACT

This feeding trial was conducted to evaluate the effects of partial replacement of soybean meal by cottonseed meal and the effects of two feed processing methods, pelleting and extrusion, in Nile tilapia feeds. The cottonseed meal was a solvent extracted meal and contained no amount of free gossypol and 0.0987% of total gossypol. The diets were formulated to contain 30% digestible protein and 3200 kcal/kg digestible energy. In the experimental diets, soybean meal protein was gradually replaced by cottonseed meal protein (0, 12.5, 25 and 50%), which corresponded to 0, 8, 16 and 32% of inclusion of cottonseed meal in the diets, respectively. The supplemental amino acids were added at levels to simulate the amino acid profile of Nile tilapia muscle tissue, based on the ideal protein concept. Each diet was submitted to two methods of feed processing, pelleting and extrusion. Nile tilapia fingerlings with an average weight 4.60 ± 0.23 g, were distributed in thirty two 180-L cylindrical net-tanks, on a recirculating water system and were fed to satiation four times a day, during 95 days. The experiment was conducted in a 4x2 factorial, in a completely randomised design, with four replicates. Results of this study demonstrated that cottonseed meal (0% free gossypol) can replace 50% of soybean meal protein in the diet (corresponding to 32% of inclusion level in the diet) of Nile tilapia when supplemented with synthetic lysine, without significantly ($P>0.05$) affect the growth performance, the physiological status and health of the fish.

Key-words: amino acids; lysine; gossypol; growth; hematology; morphology.

INTRODUÇÃO

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é cultivada em muitas regiões tropicais e subtropicais, está entre as três espécies de peixes mais cultivadas no mundo, atrás apenas das carpas e dos salmonídeos, com taxa de crescimento anual em torno de 11,5% (Tacon, 1997). Os peixes necessitam de rações com alta quantidade de proteína para o crescimento economicamente viável sob condições de criação intensiva (Lovell, 1982). Rações para peixes representam 50% do custo operacional em aquicultura intensiva, sendo a proteína a fonte dietética mais dispendiosa (El-Sayed, 1999).

O farelo de soja é a melhor fonte de proteína vegetal no que diz respeito à quantidade de proteína e ao perfil de aminoácidos essenciais (El-Sayed, 1999), e é atualmente a fonte de proteína mais utilizada em ração para peixes (NRC, 1993), devido ao seu valor nutritivo e palatabilidade. Contudo, fontes mais econômicas de proteína, as quais poderiam substituir parcial ou totalmente o farelo de soja sem decréscimo significativo no desempenho do peixe, seriam favoráveis na redução de custos com alimentação (Lim e Sessa, 1995).

O farelo de algodão possui alta quantidade de proteína, esta pode variar de 26% a 54% (FAO, 1996), e custo por unidade de proteína inferior ao farelo de soja, e aparentemente, é mais palatável para os peixes (Lim e Sessa, 1995; Lovell, 1982); possuindo ainda, bom perfil de aminoácidos (FAO, 1996). É considerado a terceira fonte de proteína vegetal em quantidade no mundo, possuindo ampla disponibilidade (Swick e Tan, 1995). A demanda por farelo de algodão é, em geral, maior durante o inverno (devido ser fonte alimentar para ruminantes) possuindo maior preço, conseqüentemente no verão possui custo inferior ao farelo de soja, época que coincide com a temporada de maior produção de rações para peixes (Lovell, 1982).

A necessidade de rações de menor custo tem sido a principal razão para a utilização desse co-produto na produção de alimentos para várias classes de animais (Martin, 1990). O farelo de algodão possui frequentemente custo inferior se comparado a outras fontes de proteína animal ou vegetal, mas ainda é pouco usado em rações para peixes. O aumento na produção do algodão, juntamente com a melhoria nos métodos de processamento, têm levado à produção de farelos com menores teores de gossipol, e tornou esse ingrediente mais atrativo nas formulações de rações para a aquicultura (Waldroup e Kersey, 2002). A

quantidade desse ingrediente a ser incorporada à ração para peixes depende, principalmente, dos níveis de gossipol livre e lisina disponível (Lim e Sessa, 1995).

Assim, o presente estudo foi elaborado para avaliar o efeito de níveis de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de algodão em rações para tilápia do Nilo e o efeito de dois métodos de processamento de ração (extrusão e peletização), no desempenho produtivo, parâmetros hematológicos, composição centesimal do filé, teor de gossipol livre e total no fígado e filé e avaliação morfológica do fígado e intestino.

MATERIAL E MÉTODOS

Formulação e preparação das rações

A ração referência foi formulada com base nas exigências nutricionais da espécie (NRC, 1993) e foi confeccionada a base de farelo de soja como fonte protéica principal, apresentando somente ingredientes vegetais em sua composição. Quatro níveis de substituição (0;0; 12,5; 25,0 e 50,0%) da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de algodão constituíram as rações experimentais, os quais corresponderam respectivamente às inclusões de 0;0; 8;0; 16,0 e 32,0% de farelo de algodão nas rações (Tabela 1).

Considerou-se a exigência em lisina digestível para a tilápia do Nilo conforme o NRC (1993). A suplementação de aminoácidos nas rações foi realizada aos níveis que simulam o perfil de aminoácidos do tecido muscular de juvenis de tilápia do Nilo, baseando-se no conceito de proteína ideal. Foi determinado o perfil de aminoácidos do filé da tilápia do Nilo, para isso foram coletados filés de cinco juvenis, com peso médio de $19,22 \pm 1,31$ g, e foi feita a análise da composição centesimal e determinação dos aminoácidos do filé, na Lab-Tec – Laboratório de Alta Tecnologia, Campinas, SP.

As rações foram formuladas de forma a se apresentarem também isoenergéticas e isofibrosas. O nível máximo de inclusão do farelo de algodão atribuído está fundamentado no nível de fibra bruta aceitável para rações dessa espécie. As rações foram formuladas para conter 30% de proteína digestível, 3200 kcal de energia digestível/kg e máximo de 6% de fibra bruta.

Para o preparo da ração, todos os ingredientes foram moídos em partículas menores que 0,7 mm de diâmetro geométrico médio (DGM) e homogeneizados em misturador automático. Após esse processo, adicionou-se 40% de água destilada a 55°C à mistura. As rações foram submetidas aos métodos de peletização e extrusão. Todas as rações foram

desidratadas em estufa de circulação de ar forçada a 55°C durante 24 horas e armazenadas a -20°C. Foi determinada a concentração de gossipol livre e gossipol total das rações (AOCS, 1997) na Lab Tec – Laboratório de Alta Tecnologia (Tabela 1). A composição químico-bromatológica (AOAC, 2000) das rações foi realizada no laboratório de Bromatologia do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal (Tabela 1). A composição de aminoácidos digestíveis das rações está descrita na Tabela 2.

Condução experimental

Alevinos de tilápia do Nilo da mesma desova revertidos sexualmente foram obtidos do setor de reprodução do CAUNESP – (Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal, SP) e transportados até as dependências do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, da UNESP- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP.

Inicialmente durante quinze dias, os alevinos foram estocados em tanques de 1000 L em sistema de recirculação de água, providos de biofiltro, aeração e controle digital da temperatura, regulado para $26 \pm 1^\circ\text{C}$, de forma a adaptar os peixes às condições experimentais, sendo alimentados com a ração referência.

Após esse período, 192 alevinos revertidos sexualmente, com peso médio inicial de $4,60 \pm 0,23$ g, foram aleatoriamente selecionados e distribuídos em 32 tanques-rede de 180 L, na densidade de seis peixes/tanque-rede. Os aquários de 1000 L possuíam sistema de recirculação de água, com biofiltro para manutenção da qualidade físico-química da água. Cada aquário de 1000 L agrega 4 tanques-rede. A temperatura da água foi mantida dentro da faixa de conforto para a espécie, $26 \pm 1^\circ\text{C}$, por meio de sistema de termostato digital.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial 4x2, num delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, caracterizado por quatro níveis de substituição da proteína do farelo de soja (0; 12,5; 25 e 50%) pela proteína do farelo de algodão, correspondendo a inclusão de 0; 8; 16 e 32% de farelo de algodão 38 na ração e dois tipos de processamento, peletização e extrusão.

Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia durante toda a fase experimental, nos horários de 08:00; 11:00; 14:00 e 17:00h, sendo que em cada horário de alimentação, a ração foi oferecida de três a quatro vezes objetivando a saciedade dos animais. O período experimental teve duração de 95 dias e foi mantido fotoperíodo de 12L:12E.

Semanalmente foram efetuadas análises físico-químicas da água, com determinação do oxigênio dissolvido e pH. Para retirada de fezes e limpeza dos aquários foram realizadas sifonagens, resultando na renovação de aproximadamente 20% do volume total da água do sistema.

Desempenho produtivo

Ao final do período experimental (95 dias), os peixes foram pesados e o consumo da ração quantificado para a avaliação do ganho de peso, consumo de ração, taxa de conversão alimentar aparente e taxa de eficiência protéica. Determinou-se também a taxa de sobrevivência dos peixes.

Análises hematológicas

Foram retirados aleatoriamente 12 peixes/tratamento, ao final do experimento, para realização das análises hematológicas, segundo Jain (1986). Os peixes foram anestesiados com benzocaína, 2 g do anestésico para 15L de água, e foi realizada a coleta de sangue por punção da veia caudal, utilizando seringa de 1 mL com EDTA a 3,0%.

A contagem de eritrócitos foi realizada pelo método do hemocítmetro em câmara de Neubauer, utilizando Azul de Toluidina Merck[®] a 0,01%, diluído em solução fisiológica 0,9% em pipeta de Thoma, na proporção 1:200. A concentração de hemoglobina foi determinada pelo método da cianometahemoglobina, utilizando o kit Hemoglobina Analisa Diagnóstica[®] de determinação colorimétrica. O hematócrito foi obtido pelo método do microhematócrito. A proteína plasmática total foi determinada por refratômetro manual de Goldenberg. Foram também calculados o volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). As análises foram realizadas na UNESP, Botucatu, SP.

Composição do fígado e filé

Ao final do período experimental foram coletados filé e fígado dos peixes, os quais foram anestesiados com benzocaína, 2 g do anestésico para 15 L de água, e posteriormente eutanasiados por secção da medula espinhal. Determinou-se o percentual de rendimento do filé de dez peixes por tratamento. Foi avaliada a composição centesimal do filé de cinco

repetições por tratamento, segundo a AOAC (2000), na UNESP, Botucatu, SP. Foi também determinada a concentração de gossipol livre e gossipol total dos fígados e filés (AOCS, 1997), na Lab-Tec – Laboratório de Alta Tecnologia, Campinas, SP.

Análise morfológica do fígado e intestino

Foram utilizados cinco peixes de cada tratamento para a análise morfológica da estrutura histológica do fígado e das porções anterior e posterior do intestino. Os peixes foram anestesiados com benzocaína, na concentração de 2,0 g para 15 L de água, e posteriormente eutanasiados por secção da medula espinhal. Logo após este procedimento, foram retirados o trato gastrointestinal e o fígado. Fragmentos de fígado e das porções anterior e posterior do intestino foram lavados com solução fisiológica 0,9% e fixados em formalina tamponada por 24 horas.

Posteriormente, o material foi lavado em álcool 70,0% por várias vezes para a retirada do fixador e, em seguida, foi processado e incluído em historesina. Cortes histológicos de 5 µm de espessura foram obtidos em micrótomo Leica RM 2165, e corados em Hematoxilina e Eosina (H/E), segundo técnica descrita por Bancroft et al. (1990). Os cortes histológicos foram fotografados em fotomicroscópio Olympus BH-12 (Micronal Metler do Brasil). O processamento do material e as análises foram realizadas na UNESP, Botucatu, SP.

RESULTADOS

Durante o período experimental a temperatura da água dos aquários variou de 25,5 a 26,5°C. A concentração média de oxigênio dissolvido foi de 7,1 a 8,6mg/L e o pH oscilou entre 6,9 e 7,5. Esses valores estão dentro da faixa considerada ótima para esta espécie, segundo Boyd (1990).

As médias de ganho de peso por peixe, consumo de ração por peixe, taxa de conversão alimentar aparente, taxa de eficiência protéica, rendimento de filé e taxa de sobrevivência de juvenis de tilápia do Nilo, alimentados com rações peletizadas e extrusadas contendo níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão estão apresentadas na Tabela 3. A taxa média de sobrevivência variou de 92,75 a 100% e não foi significativamente afetada pelos níveis de farelo de algodão na ração, nem pelo método de processamento da ração ou por suas interações. A taxa de sobrevivência foi alta e a

pequena mortalidade foi devido a confrontos agonísticos entre os animais, sugeridos pelo comportamento dos peixes e por lesões na pele.

Não houve efeito significativo da interação entre os níveis de inclusão de farelo de algodão e do método de processamento das rações nos parâmetros de desempenho produtivo. Os níveis dietéticos de farelo de algodão não influenciaram significativamente os parâmetros de desempenho produtivo. O método de processamento da ração interferiu significativamente ($P < 0,05$) no ganho de peso, taxa de conversão alimentar aparente e taxa de eficiência protéica dos animais, sendo que os peixes alimentados com as rações extrusadas apresentaram melhores valores dos parâmetros de desempenho quando comparados aos peixes alimentados com as rações peletizadas. O consumo aparente de ração por peixe e o rendimento de filé não variaram significativamente sob efeito do método de processamento das rações.

Os valores da composição centesimal do filé de juvenis de tilápia do Nilo submetidos aos diferentes tratamentos estão apresentados na Tabela 4. Não houve efeito significativo da interação entre a quantidade de farelo de algodão na ração e o método de processamento da ração. O percentual de farelo de algodão na ração não afetou significativamente o teor de proteína, extrato etéreo, matéria mineral e umidade do filé dos peixes. Contudo, o método de processamento da ração afetou significativamente ($P < 0,05$) todos esses parâmetros da composição do filé. As rações extrusadas proporcionaram maior percentagem de proteína, gordura e matéria mineral e menor percentagem de umidade nos filés dos juvenis comparadas às rações peletizadas.

Os valores médios de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e proteína plasmática total de juvenis de tilápia do Nilo, alimentados com rações peletizadas e extrusadas contendo níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão estão apresentadas na Tabela 5. Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) da interação entre os níveis de inclusão de farelo de algodão e do método de processamento das rações nos valores hematológicos, também não foram significativamente afetados ($P > 0,05$) pelo método de processamento da ração, nem pelo nível de inclusão de farelo de algodão nas rações.

Os valores das concentrações de gossipol livre e gossipol total nos fígados e nos filés de juvenis de tilápia do Nilo, alimentados com rações peletizadas e extrusadas contendo níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão estão apresentados na Tabela 6. Não houve presença de gossipol livre no fígado e nos filés dos peixes alimentados com as

rações experimentais. As concentrações de gossipol total no fígado, assim como no filé dos peixes foram baixas.

A avaliação macroscópica do fígado e do intestino dos juvenis de tilápia do Nilo, alimentados com rações peletizadas e extrusadas contendo níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão, revelou que a forma, cor, consistência e tamanho dos órgãos estavam normais. A análise histológica do fígado e das porções anterior e posterior do intestino demonstrou que não houve diferença no padrão morfológico do grupo de peixes alimentados com a ração isenta em farelo de algodão comparado aos peixes alimentados com as rações contendo níveis de até 32% de farelo de algodão (Fig.1).

DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que o farelo de algodão isento em gossipol livre pode substituir 50% da proteína do farelo de soja, correspondendo a 32% de inclusão na ração para tilápia do Nilo, quando suplementada com lisina sintética sem prejudicar significativamente o desempenho produtivo dos peixes.

Não houve alteração no consumo aparente das rações experimentais, com o aumento da inclusão do farelo de algodão, demonstrando que este ingrediente é tão palatável quanto o farelo de soja para esta espécie de peixe. Lovell (1982), Lim e Sessa (1995) e Barros et al. (2002a) destacaram a alta palatabilidade do farelo de algodão para o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*). Robinson e Li (1995) também relataram que a inclusão do farelo de algodão, numa ração totalmente vegetal, é desejável não somente por razões econômicas, mas também pela melhoria da palatabilidade.

Geralmente, a quantidade de farelo de algodão que pode ser incluída na ração depende da quantidade de gossipol livre e da lisina disponível do ingrediente (Martin, 1990; Lim e Sessa, 1995). O farelo de algodão utilizado neste estudo não apresentou teor de gossipol livre e baixa concentração de gossipol total. De acordo com Robinson e Li (1995), o gossipol é um pigmento amarelo polifenólico encontrado naturalmente na planta do algodão. Na semente, o gossipol é encontrado em pequenas glândulas pigmentares, e se apresenta na forma livre. Martin (1990) comenta que a ligação do gossipol com nutrientes é importante porque baseado nos conceitos tradicionais, a forma livre é a forma tóxica. Durante o processamento, o gossipol livre se liga à proteína formando o gossipol ligado, indisponibilizando aminoácidos. A forma ligada tem reduzida atividade biológica e

geralmente é considerada inerte quando consumida por monogástricos. No farelo processado, o gossipol livre somado a forma ligada representa o gossipol total.

O farelo de algodão apresentou 4,62% de lisina na proteína e 67,81% de digestibilidade desse aminoácido. Por isso, as rações com níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão foram suplementadas com lisina sintética, de forma a atender a exigência da espécie. Após 95 dias, não foram observadas diferenças nos parâmetros de desempenho produtivo dos peixes alimentados com estas rações, em comparação aos peixes alimentados com as rações a base de farelo de soja. A conversão alimentar aparente e a taxa de eficiência protéica, bem como a composição do filé, demonstraram que a tilápia do Nilo utiliza a proteína do farelo de algodão eficientemente, assim como os aminoácidos sintéticos suplementados na ração.

Resultado similar a este estudo foi obtido por Blom et al. (2001), os quais avaliaram a completa substituição da farinha de peixe pelo farelo de algodão em rações para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) durante dez meses. Não observaram diferenças significativas no crescimento e sobrevivência dos peixes comparado ao grupo controle. A máxima inclusão de farelo de algodão na ração representou 59%, e continha 0,62% de gossipol livre. Da mesma forma, Rinchar et al. (2003) também avaliaram a total substituição da farinha de peixe pelo farelo de algodão em rações para truta, e também não observaram diferença no desempenho produtivo dos animais.

Resultados similares foram obtidos com o bagre do canal (Robinson, 1991), demonstrando que esta espécie pode utilizar eficientemente aminoácidos sintéticos, até mesmo se oferecida apenas uma alimentação diária, e que o farelo de algodão (0,02% de gossipol livre) pode ser usado para substituir 100% do farelo de soja nas rações, se a lisina sintética for suplementada. Robinson e Li (1995) também relataram que o farelo de algodão suplementado com lisina pode ser usado para substituição total do farelo de soja em rações para o bagre do canal, sem afetar o desempenho produtivo.

Resultados contrastantes foram obtidos por Mbahinzireki et al. (2001), os quais observaram decréscimo no ganho de peso de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com rações contendo 44% e 59% de farelo de algodão, suplementadas com lisina e metionina sintéticas. No entanto, essas rações continham respectivamente 0,70 e 0,99% de gossipol livre, e causaram em média 11% de mortalidade. Os pesquisadores identificaram a presença do gossipol livre como o principal fator limitante para a utilização desse ingrediente em rações para peixes. No entanto, os peixes alimentados com rações contendo até 30% desse farelo, totalizando 0,52% de gossipol livre, apresentaram ótima taxa de

crescimento, a qual não diferiu significativamente do tratamento isento em farelo de algodão.

Barros et al. (2002a) avaliaram níveis de inclusão de farelo de algodão em rações para o bagre do canal, e observaram que a substituição de 50% do farelo de soja pelo farelo de algodão, representando 27,5% de farelo de algodão na ração e 0,03% de gossipol livre, proporcionou melhora significativa no ganho de peso e taxa de conversão alimentar dos peixes. No entanto, a completa substituição do farelo de soja por 55% de farelo de algodão, com teor de 0,07% de gossipol livre na ração, causou detrimento no desempenho produtivo dos peixes.

Neste estudo, o principal fator limitante para não avaliar 100% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de algodão esteve relacionado a sua alta quantidade de fibra. O nível máximo de fibra dietética foi estipulado em torno de 6%, para evitar as adversidades do excesso desse componente na ração. Segundo Davies (1988), rações com alta quantidade de fibra resultam numa combinação de fatores, incluindo pobre digestão e taxa de esvaziamento gástrico acelerada, os quais prejudicam o consumo e a utilização de nutrientes.

Neste estudo, os níveis determinados de gossipol livre e de sua forma conjugada foram inferiores aos níveis encontrados nos produtos do farelo de algodão relatados por Martin (1990). Este pesquisador relatou que a quantidade de gossipol livre no farelo pode variar devido a diferenças na variedade da planta, da localidade e da técnica de processamento. Segundo Robinson e Rawles (1983), a seleção genética tem proporcionado o desenvolvimento de sementes de algodão sem glândulas pigmentares, possibilitando a produção de farelos isentos em gossipol. Forster e Calhoun (1995) e Waldroup e Kersey (2002) também descreveram que a introdução de novos métodos de extração no processamento do farelo de algodão tem levado a significativa redução na concentração de gossipol livre. Estes fatores contribuíram para maior utilização desse ingrediente em rações para animais.

Os peixes alimentados com as rações contendo níveis crescentes de farelo de algodão apresentaram pequena retenção de gossipol total no fígado e no filé, sendo ausente a sua forma livre. Este fato reflete a ausência de gossipol livre nesse ingrediente e a baixa concentração em gossipol total. Segundo a organização mundial de saúde, o nível máximo de gossipol livre no tecido muscular recomendado para consumo humano é de 0,06% (Milner, 1965). Nesse estudo, nem mesmo a concentração de gossipol total no músculo ou no fígado alcançou este valor limitante. Não ocorreu amarelamento, ou descoloração do

filé dos peixes alimentados com níveis crescentes de farelo de algodão na ração, o que poderia ser prejudicial para a comercialização desse produto.

Para avaliar o estado de saúde dos peixes, realizou-se a análise morfológica do fígado e das porções anterior e posterior do intestino, de forma a observar a integridade celular. Não foi observada alteração na morfologia das células desses órgãos. De acordo com Martin (1990), apenas a forma livre do gossipol é tóxica para os animais. Dessa forma, farelos de algodão isentos em gossipol livre podem ser usados na alimentação de peixes em altas quantidades sem causar prejuízo no desempenho produtivo e saúde dos animais.

Resultado similar ao nosso estudo foi obtido por Barros et al, os quais avaliaram níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão em rações para carpa (*Cyprinus carpio*), e não observaram efeitos adversos ao maior nível de inclusão desse ingrediente utilizado (24% na ração), sendo que a análise histológica dos fígados revelou normalidade e integridade celular.

Tem sido postulado, que o gossipol livre forma um forte complexo com o ferro no trato intestinal impedindo a absorção do mineral (Waldroup e Kersey, 2002). A baixa absorção de ferro pode levar a sinais de anemia, como baixa concentração de hemoglobina e hematócrito. A toxicidade do gossipol também inclui a geração de metabólitos de oxigênio, como os radicais livres superóxido e peróxido de hidrogênio, os quais podem destruir a integridade da membrana do eritrócito (Rinchard et al., 2003). Este fato também pode deflagrar sinais de anemia, prejudicando a respiração celular e o estado de saúde dos peixes. Neste sentido, a avaliação hematológica é de grande importância para averiguar o estado fisiológico e de saúde do animal.

A análise hematológica dos peixes do grupo controle ao final do período experimental demonstrou que todos os parâmetros sanguíneos estão dentro do intervalo normal para juvenis dessa espécie, de acordo com estudos prévios realizados nas mesmas condições experimentais (Barros et al., 2002(b); Ferrari, et al., 2004). Não houve diferença significativa nos valores hematológicos dos peixes alimentados com níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão nas rações comparado ao grupo controle, demonstrando bom estado fisiológico dos peixes. Esse ingrediente não prejudicou a absorção de ferro no intestino, nem a integridade da membrana dos eritrócitos, não causando dessa forma, consequências patológicas ao organismo.

Igualmente a este estudo, Barros et al. (2002a) também não encontraram alterações nos parâmetros hematológicos do bagre do canal, alimentados durante 3 meses com rações contendo níveis de até 55% de farelo de algodão, representando teor em gossipol livre de

0,07%. Os valores sanguíneos se encontraram dentro da faixa normal para a espécie e não diferiram do tratamento controle, isento em farelo de algodão.

Resultado contrastante foi obtido por Blom et al. (2001), os quais observaram decréscimo da hemoglobina e hematócrito de fêmeas de truta após dez meses, à medida que se aumentou a inclusão de farelo de algodão (0,14% gossipol livre) nas rações. Garcia-Abiado et al. (2004) também observaram redução ($P < 0,05$) na hemoglobina e hematócrito de tilápias do Nilo alimentadas com rações contendo 25 a 100% de substituição da farinha de peixe pelo farelo de algodão, quando comparadas ao grupo controle. Também evidenciaram a presença de eritrócitos imaturos e anormais nos peixes alimentados com farelo de algodão, contendo 0,03% gossipol livre na ração.

As rações extrusadas proporcionaram melhor desempenho produtivo ($P < 0,05$) dos peixes se comparadas às rações peletizadas. Peixes alimentados com as rações extrusadas obtiveram ganho de peso 50% maior, taxa de conversão alimentar 40% mais efetiva e aumento na taxa de eficiência protéica em 36%. O uso do farelo de algodão na formulação não prejudicou a estabilidade das rações peletizadas na água, assim como não prejudicou também a expansão, fluabilidade e estabilidade na água das rações extrusadas. Portanto, o farelo de algodão pode ser incorporado nas rações da tilápia do Nilo, ao nível de 32%, sem causar efeito adverso à extrusão e peletização das rações.

De acordo com Cheftel (1986), a extrusão oferece a possibilidade de modificação das propriedades funcionais dos ingredientes e alterações na sua textura, adicionado à melhoria na digestibilidade da proteína e do amido, permitindo a inativação de vários fatores antinutricionais ou tóxicos. Diversos pesquisadores mencionam a melhoria da digestibilidade da matéria seca e energia pelo processo de extrusão (Vens-Cappel, 1984; Cheftel, 1986; Pfeffer et al., 1991; Booth et al., 2002). Cheftel (1986) afirmou que a extrusão causa dilatação e ruptura dos grânulos de amido. Este processamento da ração aumenta a disponibilidade enzimática ao amido, por meio de sua geleificação, inativação do inibidor de alfa-amilase endógena, rompimento da estrutura celular vegetal e aumento da superfície de contato com amido.

Segundo Cheftel (1986), a extrusão promove também melhor digestibilidade da proteína, devido à desnaturação de sua molécula. Vários subprodutos vegetais são bom exemplo de aumento da digestibilidade da proteína e biodisponibilidade de aminoácidos por meio do desdobramento térmico das principais globulinas e termoinativação dos inibidores de tripsina. Botting (1991) também descreveu melhora na digestibilidade da

fração protéica pelo método de extrusão, vários complexos protéicos podem se desnaturados, o que torna a fração protéica mais susceptível a ação dos processos digestórios.

Existem citações contraditórias correlacionadas a digestibilidade da proteína pelo método de extrusão. Booth et al. (2002) citaram que o coeficiente de digestibilidade aparente do nitrogênio não foi afetado significativamente pelo método de processamento. Contudo, neste estudo foi obtida taxa de eficiência protéica 40% maior pelos peixes alimentados com rações extrusadas, inferindo que o aumento no valor nutricional da proteína foi obtido pelo método de extrusão.

Adicionalmente à melhoria da digestibilidade do alimento, outras vantagens da ração extrusada estão relacionadas a fluabilidade e melhor estabilidade em água, propiciando menor perda do alimento e nutrientes durante a alimentação, por consequência menor poluição da água, especialmente sob condições de criação intensiva. Dessa forma, não somente a melhora na qualidade nutricional do alimento, mas o somatório de todas essas características acima descritas do processo de extrusão, proporcionaram melhor desempenho produtivo dos peixes frente ao método de peletização.

CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que o farelo de algodão, isento em gossipol livre, pode ser incluído ao nível de 32% da ração para tilápia do Nilo, substituindo 50% da proteína do farelo de soja, quando suplementado com lisina, sem afetar o desempenho e o estado fisiológico dos animais em crescimento. O teor de fibra do farelo de algodão não causa efeito adverso no processo de extrusão ou peletização das rações. As rações extrusadas são recomendadas para a criação de peixes pois promovem melhor desempenho se comparada a rações peletizadas.

Tabela 1. Composição percentual e química analisada das rações experimentais (base na matéria seca)

Ingrediente (%)	Ração			
	FA-0%	FA-8%	FA-16%	FA-32%
Farelo de soja	44,32	38,78	33,24	22,16
Farelo de algodão 38	0,00	8,00	16,00	32,00
Glúten de milho	15,50	15,50	15,50	15,50
Fubá de milho	23,55	23,55	23,55	23,55
Amido de milho	5,43	4,06	2,73	0,00
Alginato	0,20	0,20	0,20	0,20
Celulose	5,26	3,95	2,62	0,00
L-lisina	0,00	0,10	0,20	0,39
DL-metionina	0,44	0,44	0,44	0,43
L-Treonina	0,19	0,20	0,20	0,22
Óleo de soja	0,00	0,31	0,61	1,24
Fosfato bicálcico	4,30	4,10	3,90	3,50
Vitamina C ¹	0,09	0,09	0,09	0,09
Sal comum	0,20	0,20	0,20	0,20
Suplemento vitam. min. ²	0,50	0,50	0,50	0,50
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
<i>Composição analisada</i>				
<i>Proteína digestível (%)</i>	30,00	30,07	30,14	30,29
<i>Energia digestível (kcal/kg)</i>	3200	3200	3200	3200
<i>Extrato etéreo (%)</i>	2,58	2,56	2,58	2,70
<i>Fibra bruta (%)</i>	5,88	5,62	5,78	5,90
<i>Matéria mineral (%)</i>	7,04	7,12	7,09	7,24
<i>Cálcio (%)</i>	1,72	1,64	1,56	1,40
<i>Fósforo disponível (%)</i>	0,70	0,70	0,70	0,70
<i>Matéria seca (%)</i>	94,43	95,73	95,19	94,90
<i>Gossipol livre (%)</i>	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Gossipol total (%)</i>	0,00	0,00	0,001	0,002

¹ Vitamina C polifosfatada Stay C® com 35% de princípio ativo;

² Suplemento vitamínico e mineral (Supre Mais): vitamina A, 1.200.000 UI; vitamina B₁, 4.800 mg; vitamina B₂, 4.800 mg; vitamina B₁₂, 4.800 mcg; vitamina B₆, 4.800 mg; vitamina C, 48 g; vitamina D₃, 200.000 UI; vitamina E 1.200 mg; vitamina K₃, 2.400 mg; pantotenato de cálcio, 12.000 mg; niacina, 24.000 mg; ácido fólico, 1.200 mg; biotina, 48 mg; cloreto de colina, 108 g; cobalto, 10 mg; cobre, 3.000 mg; Ferro, 50.000 mg; Iodo, 100 mg; manganês, 20.000 mg; selênio, 100 mg; zinco, 3.000 mg; veículo q.s.p., 1.000 g; antioxidante, 25g;

FA-0% = Ração contendo 0% de inclusão de farelo de algodão (ração controle);

FA-8% = Ração contendo 8% de inclusão de farelo de algodão;

FA-16% = Ração contendo 16% de inclusão de farelo de algodão;

FA-32% = Ração contendo 32% de inclusão de farelo de algodão.

Tabela 2. Composição em aminoácidos digestíveis das rações para a tilápia do Nilo (base na matéria seca)

Aminoácido (%)	Rações			
	FA-0%	FA-8%	FA-16%	FA-32%
<i>Essenciais</i>				
Lisina	1,53	1,53	1,53	1,53
Metionina	0,80	0,80	0,80	0,80
Treonina	1,13	1,13	1,13	1,13
Triptofano	0,32	0,32	0,32	0,33
Arginina	1,90	2,03	2,15	2,40
Fenilalanina	1,72	1,74	1,76	1,79
Histidina	0,79	0,79	0,79	0,79
Isoleucina	1,31	1,27	1,22	1,13
Leucina	3,12	3,06	3,01	2,89
Valina	1,29	1,29	1,29	1,28
<i>Não-essenciais</i>				
Ácido aspártico	2,98	2,95	2,92	2,85
Ácido glutâmico	6,22	6,36	6,50	6,78
Alanina	1,63	1,62	1,61	1,59
Cistina	0,33	0,33	0,34	0,35
Glicina	0,90	0,92	0,94	0,98
Serina	1,47	1,47	1,47	1,47
Prolina	2,29	2,25	2,21	2,13
Tirosina	0,95	0,95	0,94	0,93

FA-0% = Ração contendo 0% de inclusão de farelo de algodão (ração controle);

FA-8% = Ração contendo 8% de inclusão de farelo de algodão;

FA-16% = Ração contendo 16% de inclusão de farelo de algodão;

FA-32% = Ração contendo 32% de inclusão de farelo de algodão.

Tabela 3. Valores médios do desempenho produtivo de juvenis de tilápia do Nilo, alimentados com rações peletizadas e extrusadas contendo níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão ¹

F. algodão (%)	Processo	GPpx (g)	Consumo px (g)	CAA	TEP	Rendimento filé (%)	Sobrevivência (%)
0	peletização	80,50 ± 26,88	119,91 ± 5,21	1,62 ± 0,54	1,80 ± 0,57	23,55 ± 3,13	100,00 ± 0,00
8		87,78 ± 24,53	127,94 ± 19,78	1,52 ± 0,35	1,86 ± 0,49	23,81 ± 1,53	92,75 ± 9,36
16		81,00 ± 13,63	125,38 ± 2,97	1,57 ± 0,22	1,74 ± 0,27	22,27 ± 3,61	98,75 ± 2,50
32		89,71 ± 11,52	129,58 ± 0,83	1,46 ± 0,21	1,87 ± 0,23	23,52 ± 3,44	100,00 ± 0,00
0	extrusão	147,93 ± 6,20	154,24 ± 3,04	1,05 ± 0,02	2,58 ± 0,06	25,31 ± 1,39	100,00 ± 0,00
8		123,99 ± 32,15	130,35 ± 28,61	1,06 ± 0,07	2,55 ± 0,16	24,10 ± 4,56	96,50 ± 7,00
16		116,32 ± 29,81	128,09 ± 27,71	1,11 ± 0,07	2,43 ± 0,15	24,93 ± 3,08	94,75 ± 10,50
32		120,14 ± 37,27	137,32 ± 28,89	1,18 ± 0,17	2,31 ± 0,29	24,56 ± 2,14	98,25 ± 3,50
CV (%)		23,58	14,36	19,67	15,02	13,13	5,90
F. algodão		ns	Ns	ns	Ns	ns	ns
0		114,22 ± 40,32	137,07 ± 18,77	1,33 ± 0,47	2,19 ± 0,56	24,38 ± 2,56	100,00 ± 0,00
8		105,89 ± 32,79	129,14 ± 22,80	1,29 ± 0,34	2,20 ± 0,50	23,99 ± 3,60	94,62 ± 7,91
16		98,66 ± 28,58	126,73 ± 18,30	1,34 ± 0,29	2,08 ± 0,42	23,52 ± 3,54	96,75 ± 7,38
32		104,92 ± 30,28	133,45 ± 19,37	1,32 ± 0,23	2,09 ± 0,34	23,94 ± 2,94	99,12 ± 2,47
	Processo	< 0,01	Ns	< 0,01	< 0,01	ns	ns
	peletização	84,75 ± 18,60 ^b	125,70 ± 9,99	1,54 ± 0,32 ^b	1,82 ± 0,38 ^b	23,22 ± 3,10	97,87 ± 5,33
	extrusão	127,10 ± 28,85 ^a	137,50 ± 24,45	1,10 ± 0,10 ^a	2,47 ± 0,20 ^a	24,74 ± 2,96	97,37 ± 6,20
F. algodão	X	ns	Ns	ns	Ns	ns	ns
	Processo						

¹ Valores são médias ± desvio-padrão de três repetições/tratamento. Médias isentas ou seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05);

GPpx (g) = Ganho de peso por peixe (g);

Consumo (g) px = Consumo de ração (g) por peixe;

CAA = Taxa de conversão alimentar aparente;

TEP = Taxa de eficiência protéica.

Tabela 4. Valores médios da composição centesimal do filé (expressos na matéria natural) de juvenis de tilápia do Nilo, alimentados com rações peletizadas e extrusadas contendo níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão ¹

F. Algodão (%)	Processamento	PB (%)	EE (%)	MM (%)	Umidade (%)
0	Peletização	12,42 ± 2,54	1,01 ± 0,45	0,79 ± 0,15	85,95 ± 2,98
8		15,18 ± 4,84	1,23 ± 0,51	1,04 ± 0,32	82,42 ± 5,77
16		11,15 ± 3,65	0,87 ± 0,42	0,74 ± 0,24	87,47 ± 4,39
32		11,30 ± 2,06	1,02 ± 0,03	0,74 ± 0,13	87,06 ± 2,18
0	Extrusão	18,17 ± 4,97	1,91 ± 0,82	1,11 ± 0,24	79,01 ± 5,84
8		19,34 ± 3,90	2,47 ± 0,52	1,24 ± 0,24	77,43 ± 3,96
16		21,85 ± 5,89	4,00 ± 1,44	1,37 ± 0,40	73,16 ± 7,42
32		22,71 ± 4,31	3,59 ± 1,42	1,39 ± 0,25	72,16 ± 6,09
	CV (%)	25,39	41,83	24,63	6,33
F. Algodão (%)		Ns	ns	ns	ns
0		15,29 ± 4,73	1,46 ± 0,77	0,95 ± 0,25	82,48 ± 5,62
8		17,26 ± 4,54	1,85 ± 0,82	1,14 ± 0,27	79,93 ± 5,20
16		16,50 ± 7,32	2,44 ± 1,96	1,06 ± 0,45	80,31 ± 9,55
32		17,00 ± 6,94	2,30 ± 1,67	1,06 ± 0,40	79,61 ± 9,13
	Processamento	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	Peletização	12,51 ± 3,39 ^b	1,03 ± 0,37 ^b	0,83 ± 0,23 ^b	85,73 ± 4,04 ^a
	Extrusão	20,52 ± 4,54 ^a	2,99 ± 1,30 ^a	1,28 ± 0,27 ^a	75,44 ± 5,89 ^b
Processamento	x F. Algodão	Ns	ns	ns	ns

¹ Valores são médias ± desvio-padrão de três repetições/tratamento. Médias isentas ou seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

PB (%) = proteína bruta;

EE (%) = extrato etéreo;

MM (%) = matéria mineral.

Tabela 5. Valores médios do hemograma de juvenis de tilápia do Nilo, alimentados com rações peletizadas e extrusadas contendo níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão¹

F. Algodão (%)	Processo	Eritr (10 ⁶ /μL)	Hb (%)	Hct (%)	VCM (fL)	CHCM (%)	PPT (mg/dL)
0	peletização	1,99 ± 0,36	8,08 ± 1,51	32,30 ± 5,81	161,80 ± 8,80	25,15 ± 2,66	3,68 ± 0,59
8		1,84 ± 0,33	7,54 ± 0,82	30,00 ± 2,45	168,71 ± 38,43	25,19 ± 2,44	2,26 ± 0,81
16		1,89 ± 0,40	8,25 ± 1,28	29,83 ± 3,43	162,63 ± 31,61	27,59 ± 2,02	3,43 ± 0,36
32		2,20 ± 0,26	8,32 ± 1,13	33,60 ± 5,46	153,72 ± 27,49	24,95 ± 2,85	3,76 ± 0,51
0	extrusão	2,07 ± 0,33	8,99 ± 1,12	33,37 ± 5,66	164,67 ± 34,86	27,22 ± 3,01	3,60 ± 0,59
8		2,03 ± 0,26	8,70 ± 1,22	36,67 ± 6,06	183,11 ± 36,55	24,06 ± 3,81	3,85 ± 0,55
16		2,15 ± 0,44	9,00 ± 1,64	35,80 ± 8,58	167,36 ± 24,86	25,51 ± 3,11	4,08 ± 0,45
32		2,29 ± 0,23	8,18 ± 1,11	33,20 ± 5,02	146,24 ± 29,24	24,72 ± 1,90	3,66 ± 0,27
CV (%)		16,16	14,73	16,73	18,84	10,99	14,82
F. algodão		Ns	Ns	ns	Ns	ns	ns
0		2,04 ± 0,33	8,64 ± 1,30	32,92 ± 5,50	163,56 ± 27,14	26,42 ± 2,96	3,63 ± 0,57
8		1,94 ± 0,30	8,17 ± 1,17	33,64 ± 5,73	176,56 ± 36,27	24,58 ± 3,16	3,58 ± 0,71
16		2,01 ± 0,42	8,59 ± 1,43	32,55 ± 6,71	164,78 ± 27,44	26,65 ± 2,66	3,73 ± 0,51
32		2,25 ± 0,23	8,25 ± 1,06	33,40 ± 4,95	149,98 ± 27,08	24,84 ± 2,29	3,71 ± 0,39
	Processo	Ns	Ns	ns	Ns	ns	ns
	peletização	1,98 ± 0,35	8,06 ± 1,16	31,33 ± 4,41	161,76 ± 27,21	25,81 ± 2,57	3,53 ± 0,57
	extrusão	2,12 ± 0,32	8,75 ± 1,22	34,67 ± 6,11	166,00 ± 32,84	25,55 ± 3,15	3,77 ± 0,51
F. algodão	x Processo	Ns	Ns	ns	Ns	ns	ns

¹ Valores são médias ± desvio-padrão de doze repetições/tratamento. Médias isentas ou seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05);

Eritr (10⁶/μL) = eritrócitos;

Hb (%) = hemoglobina;

Hct (%) = hematócrito;

VCM(fL)= volume corpuscular médio;

CHCM (%) = concentração de hemoglobina corpuscular média;

PPT (mg/dL) = proteína plasmática total.

Tabela 6. Concentração de gossipol livre e gossipol total do fígado e filé (base na matéria natural) de tilápias do Nilo, alimentadas com rações peletizadas e extrusadas contendo níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão ¹

F. algodão (%)	Processamento	Fígado		Filé	
		Gossipol (%)		Gossipol (%)	
		LIVRE	TOTAL	LIVRE	TOTAL
0	Peletizado	0,00	0,00	0,00	0,00
8		0,00	0,00	0,00	0,0033
16		0,00	0,0005	0,00	0,0010
32		0,00	0,0006	0,00	0,0011
0	Extrusado	0,00	0,00	0,00	0,00
8		0,00	0,0003	0,00	0,0015
16		0,00	0,0002	0,00	0,0016
32		0,00	0,0004	0,00	0,0014

¹ Análise sem repetição.

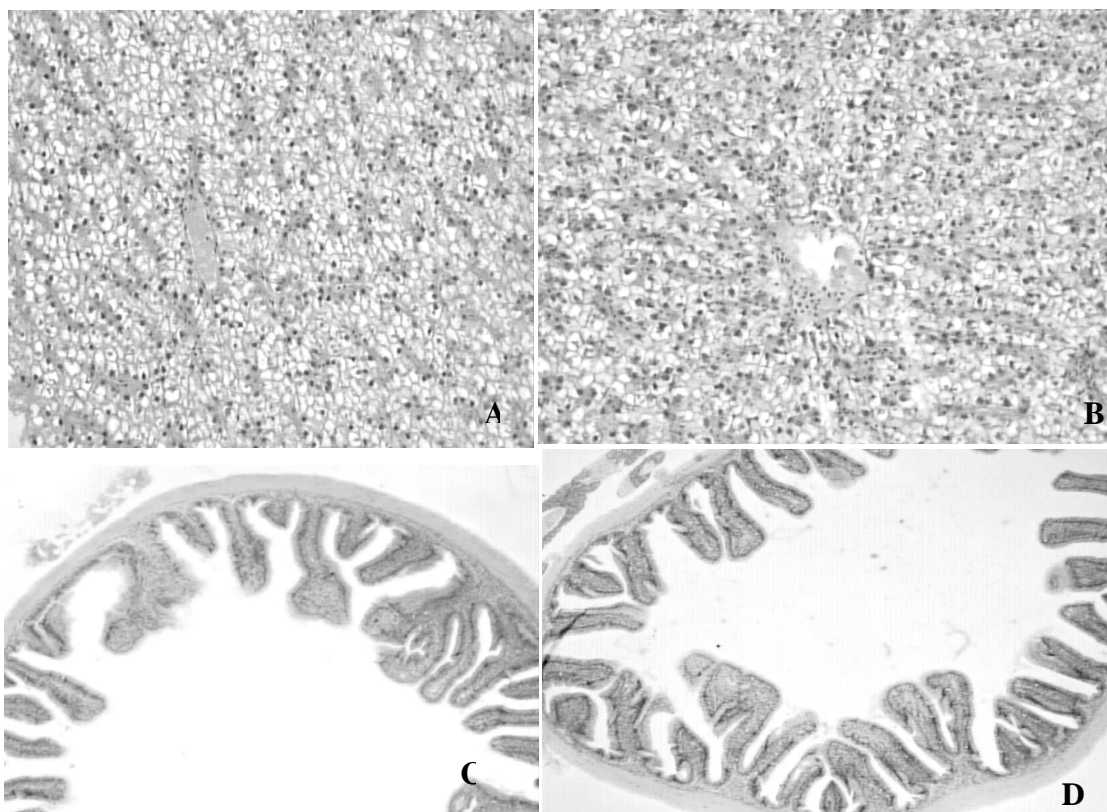


Fig. 1 Fotomicrografias do fígado e intestino de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **A**- 0% farelo de algodão, H/E, 80X; **B**- 32% farelo de algodão, H/E, 80X; **C**- 0% farelo de algodão H/E, 25X; **D**- 32% farelo de algodão, H/E 25X.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC - Association of Official Analytical Chemists International. *Official methods of analysis*. 17.ed. Gaithersburg, Maryland, USA, 2000. 3413p.
- AOCS - American Oil Chemists' Society. *Official methods and recommended practices*. 5.ed. Champaign, IL, 1997.
- Bancroft, J.D., Stevens, A., Turner, D.R. *Theory and practice of histological techniques*. 3.ed. Churchill Livingstone, 1990.
- Barros, M.M., Lim, C., Klesius, P.H. 2002(a). 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*, v.207, p.263-79.
- Barros, MM., Pezzato, L.E., Kleemann, G.K., Hisano, H., Rosa, G.J.M. 2002(b). Níveis de Vitamina C e Ferro para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.6, p.2149-56, 2002.
- Barros, M.M., Silveira, A.C., Pezzato, L.E. Efeitos do farelo de algodão, como sucedâneo protéico, sobre o desempenho produtivo de alevinos de carpa comum (*Cyprinus carpio*), Cong. Brasileiro de Aqüicultura, v.1, p.23-29, 1995.
- Blom, J.H., Lee, K.J. Rinchar, J., Dabrowski, K., Ottobre, J. 2001. Reproductive efficiency and maternal-offspring transfer of gossypol in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing cottonseed meal. *J. Anim. Sci.*, V.79, P.1533-9.
- Booth, M.A., Allan, G.L., Evans, A.J., Gleeson, V.P. 2002. Effects os steam pelleting or extrusion on digestibility and performance of silver perch *Bidyanus bidyanus*. *Aquaculture Research*, v.33, p.1163-73.
- Botting, C.C. 1991. Extrusion technology in aquaculture feed processing. In: *Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop* (Akiyama, D.M. e Tan, R.K.H.), pp. 129-137, Thailand and Indonesia, 19-25 September 1991. American Soybean Association, Singapore, Republic of Singapore.
- Boyd, C.E., 1990. Water quality management for ponds fish culture. Development in aquaculture and fisheries science. Elsevier, New York. 490 pp.
- Cheftel, J.C. 1986. Nutritional effects of extrusion-cooking. *Food chemistry*, v.20, p.263-83.

- Davies, S.J. 1988. The role of raçõory fiber in fish nutrition. Pp.219-29. In: Recent advances in aquaculture. Eds. J.F.Muir and R.R.Roberts. London: Croom Helm.
- El-Sayed, A.F.M. Alternative protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis ssp.* *Aquaculture*, v.179, p.149-68, 1999.
- FAO. *Aquaculture production statistics 1985-1994*. Revision 8. Rome: FAO, 1996. (FAO Fisheries Circular, n.815).
- Ferrari, J.E.C.; Barros, M.M.; Pezzato, L.E.; Gonçalves, G.S.; Hisano, H.; Kleemann, G.K. Níveis de cobre em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum*, Maringá, v.26, n.4, p. 429-36, 2004.
- Forster, L.A., Calhoun, M.C. 1995. Nutrient values for cottonseed product deserve new look. *Feedstuffs*, v.67, p.1-5.
- Furuya, W.M., Pezzato, L.E., Barros, M.M., Pezzato, A.C., Furuya, V.R.B., Miranda, E.C. 2004. Use of ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in fish meal-free diets for juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research*, v.35, p.1110-6.
- Garcia-Abiado, M.A., Mbahinzireki, G.,Rinchard, J., Lee, K.J., Dabrowski, K. 2004. Effect of diets containing gossypol on blood parameters and spleen structure in tilapia, reochromis sp., reared in a recirculating system. *Journal of Fish Diseases*, v.27, p.359–68.
- Jain, N.C. *Schalm's veterinary haematology*. 4.ed.,Philadelphia: Lea e Febiger, 1986. 1221p.
- Lim, C., Sessa, D.J. *Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture*, AOCS Press, Peoria Illinois, 1995, 294p.
- Lovell, T. Use of cottonseed meal in fish feeds. *Aquacult. Mag.*, jan.-feb., 1982.
- Martin, S.D. Gossypol effects in animal feeding can be controlled. *Feedstuffs*, v.62, p.14-7, 1990.
- Mbahinzireki, G.B., Dabrowski, K., Lee, K.J., El-Sayed, D., Wisner, E.R. Growth, feed utilization and body composition of tilapia (*Oreochromis sp*) fed with cottonseed meal-based diets in a recirculating system. *Aquacult. Nutr.*, v.7, p.189-200, 2001.

- Milner, M. Cottonseed protein concentrates. Protein advisory group news bulletin. World Health Organization, United Nations Children's Emergency Fund, Food and Agriculture Organization, Rome, Italy. p.68-73, 1965.
- NRC (National Research Council). *Nutrient requirements of fish*. Washington: National Academy Press, 1993. 114p.
- Pfeffer, E., Beckmann-Toussaint, J., Henrichfreise, B., Jansen, H.D. 1991. Effect of extrusion on efficiency of utilization of maize starch by rainbow trout. *Aquaculture*, v.96, p.293-303.
- Rinchard, J., Lee, J.K., Dabrowski, K., Ciereszko, A., Blom, J.H. Ottobre, J.S. 2003. Influence of gossypol from raçãory cottonseed meal on haematology, reproductive steroids and tissue gossypol enantiomer concentrations in male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, v.9, p.275-82.
- 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.157-65.
- Robinson, E.H. Improvement of cottonseed meal protein with supplement lysine in feeds for channel catfish. *J. Appl. Aquacult.*, v.1, p.1-14, 1991.
- ROBINSON, E.H., RAWLES, D.S. Use of defatted, glandless cottonseed flour and meal in channel catfish diets. In: Annual conference of the southeastern association of fish and wildlife agencies, 37, Asheville. *Proceedings...* Asheville, p.358-63, 1983.
- Sas Institute. *SAS[®] User's Guide: Statistics*. 5.ed. Cary: 1985. 956p.
- Shimadzu Atomic Absorption Spectrophotometers AA – 6800 Cookbook. *Measuring condition by element of flame analysis method.*, 2000. sect. 4, 23.
- Swick, R.A., Tan, P.H. *Considerations in using common Asian protein meals*. Singapore: American Soybean Association Technical Bulletin MITA, 1995.
- Tacon, A.G.J., 1997. Global trends in aquaculture and aquafeed production 1984-1995. Intl. Aquafeed directory and buyers' guide 1987/1998. pp.5-37.
- Vens-Cappel, B. 1984. The effects of extrusion and pelleting of feed for trout on the digestibility of protein, amino acids and energy and on feed conversion. *Aquacultural Engineering*, v.3, p.71-89.
- Waldroup, P.W., Kersey, J.H. Nutrient composition of cottonseed meal surveyed. *Feedstuffs*, v.4, p.11-2, 2002.