

**UTILIZAÇÃO DE FONTES PROTEICAS DE ORIGEM
VEGETAL EM DIETAS PARA DOURADA (*Sparus aurata* L.)**

Teresa Maria Silveira Monteiro da Gama Pereira

Departamento de Aquicultura
Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas-IPIMAR

2003

**UTILIZAÇÃO DE FONTES PROTEICAS DE ORIGEM VEGETAL
EM DIETAS PARA DOURADA (*Sparus aurata* L.)**

Teresa Maria Silveira Monteiro da Gama Pereira

Dissertação apresentada para provas públicas de acesso à categoria de Investigador Auxiliar. Área Científica da Aquicultura

Departamento de Aquicultura
Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas-IPIMAR

Lisboa, 2003

RESUMO

Do ponto de vista nutricional, a proteína tem despertado grande interesse devido à elevada inclusão nas dietas para peixes, correspondendo cerca de 30-60 % do peso seco da dieta. A fonte proteica mais utilizada para satisfazer os requisitos proteicos dos peixes é a farinha de peixe devido ao seu perfil de aminoácidos ser similar ao das espécies cultivadas. Com o incremento da aquicultura a nível mundial, observou-se uma maior procura desta matéria prima o que teve como consequência um encarecimento e uma diminuição de oferta, tornando os preços demasiado elevados (Tacon, 1997).

Tendo como objectivo diminuir a utilização da farinha de peixe como fonte proteica em dietas para peixes, tem-se vindo a desenvolver esforços na investigação de matérias primas de origem vegetal e animal passíveis de ser utilizadas como substitutos parciais da farinha de peixe. O recurso a fontes proteicas alternativas poderá contribuir para a redução dos custos económicos da produção de peixes, dependendo da qualidade nutritiva, disponibilidade no mercado e de preços das matérias primas consideradas.

Neste contexto, o objectivo deste trabalho é a avaliação nutritiva de várias matérias primas de origem vegetal alternativas à farinha de peixe em rações para juvenis de dourada. Neste sentido, foram testadas várias matérias primas submetidas, ou não, a diferentes tratamentos tecnológicos, tendo-se avaliado o crescimento, a utilização do alimento, a composição corporal dos animais e a digestibilidade aparente dos nutrientes das dietas.

De uma maneira geral, os resultados, nas nossas condições experimentais, mostram que:

- a substituição da farinha de peixe por bagaço de soja proporciona uma diminuição progressiva da performance zootécnica da dourada com aumento do nível de inclusão. Contudo, o bagaço de soja pode substituir até 20 % da proteína da farinha de peixe em

dietas para juvenis de dourada, sem afectar significativamente o desempenho dos animais,

- os tratamentos tecnológicos aplicados à farinha de soja, substituindo 20 % da proteína total da dieta, não influenciam significativamente a performance de crescimento da dourada. Todavia a extrusão aplicada à soja integral parece não contribuir para uma melhoria da qualidade nutritiva desta fonte proteica,

- o tremço pode substituir até 30 % da proteína total da dieta, independentemente do tratamento tecnológico aplicado. Porém a micronização aplicada ao tremço proporciona uma melhoria do crescimento da dourada,

- a ervilha pode substituir até 20 % da proteína da farinha de peixe em dietas, sem afectar significativamente o crescimento. Os tratamentos tecnológicos aplicados à ervilha contribuem para um crescimento da dourada comparável ao do grupo controlo, e

- o glúten de milho pode substituir até 60 % a proteína total da dieta, sem efeitos negativos na performance de crescimento da dourada.

ABSTRACT

From the nutritional point of view, the protein is very important in fish diets. Protein can reach up to 60 % in fish diets dry weight. Fish meal is the main dietary protein source in fish diets due to the fact that fish meal has a similar amino acid profile as the cultured fish species. The price and availability of fish meal has suffered strong changes, with the world aquaculture increase and the reduction on supplies, the market prices increased and the availability decreased (Tacon, 1997).

The decreasing availability added to the increased prices turns fish meal in a raw material quite expensive as protein source in fish diets. Research has been done in order to reduce the importance of fish meal in fish formula diets, and to use animal and plant protein sources as alternative to fish meal. The use of alternative protein sources has the main objective to produce cheaper fish diets in order to maintain acceptable the nutritional quality, market availability and competitive prices of the feedstuffs.

The main of present work is the evaluation of the nutritional use of alternative plant protein sources in the diets for gilthead seabream juveniles. Several plant feedstuffs, submitted or not to different technological treatments, were evaluated the growth and the apparent digestibility of the diets.

In general, the results, within our experience limits, show that:

- the replacement of fish meal by solvent-extracted soybean meal gives a progressive decrease in fish performance, with increased levels of inclusion. However, the solvent-extracted soybean meal can replace up to 20 % of fish meal protein in diets for gilthead seabream, without affect significantly the growth performance,
- when the soybean meal replaces 20 % of total protein diet, the technological treatments used with the soybean meal do not affect significantly the growth

performance. However, the extrusion of full-fat soybean does seem not to improve the nutritive quality of the protein source,

- the lupin seed meal can be used up to replace 30 % of total protein in diets, no matter what the technological treatment is applied. However, the infrared-treated lupin seed meal in the diets gives a better growth in gilthead seabream than raw lupin seed meal,

- the pea seed meal can be used up to 20 % of fish meal protein does not affect the growth. The technological treatments applied on pea seed meal improve the fish performance, being equivalent to fish meal control diet, and

- the corn gluten can replace up to 60 % of fish meal protein, with no negative effects in fish growth performance.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. 1. Representação da função desempenhada pelos diferentes regimes de cultura (Adaptado de De Silva e Anderson, 1995).....	2
Figura 1. 2. Principais passos do fabrico da farinha de peixe (De Silva e Anderson, 1995).....	11
Figura 1. 3. Principais fases do fabrico da farinha de soja (Autin, 1997)...	17
Figura 2. 1. Tanques do circuito de crescimento.....	24
Figura 2. 2. Tanques do circuito de digestibilidade.....	26
Figura 2. 3. Esquema dos circuitos utilizados.....	27
Figura 3. 1. Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as dietas experimentais ao longo do ensaio.....	41
Figura 3. 2. Comparação dos índices de crescimento específico, de eficiência proteica e de conversão alimentar dos grupos experimentais.....	41
Figura 4. 1. Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as dietas experimentais ao longo do ensaio.....	59
Figura 4. 2. Comparação dos índices de crescimento específico, de eficiência proteica e de conversão alimentar dos grupos experimentais.....	59
Figura 5. 1. Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as dietas experimentais ao longo do ensaio.....	77
Figura 5. 2. Comparação dos índices de crescimento específico, de eficiência proteica e de conversão alimentar dos grupos experimentais.....	77
Figura 6. 1. Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as dietas experimentais ao longo do ensaio.....	93
Figura 6. 2. Comparação dos índices de crescimento específico, de eficiência proteica e de conversão alimentar dos grupos experimentais.....	93
Figura 7. 1. Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as dietas experimentais ao longo do ensaio.....	109
Figura 7. 2. Comparação dos índices de crescimento específico, de eficiência proteica e de conversão alimentar dos grupos experimentais.....	109

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. 1. Tipos de farinhas de peixe produzidas por alguns países produtores (Hertrampj e Piedad-Pascual, 2000).....	6
Tabela 1. 2. Aminoácidos biogénicos encontrados em farinhas de peixe (Santinha, 1997; Hardy, 1991).....	8
Tabela 2. 1. Composição da mistura mineral.....	30
Tabela 2. 2. Composição da mistura vitamínica.....	31
Tabela 3. 1. Composição das dietas experimentais.....	37
Tabela 3. 2. Composição química e valor energético das matérias primas utilizadas.....	37
Tabela 3. 3. Composição em aminoácidos das matérias primas (g/16 g N)....	38
Tabela 3. 4. Composição em aminoácidos das dietas experimentais (g/ 16 g N).....	38
Tabela 3. 5. Crescimento e utilização do alimento nas douradas alimentadas com as dietas experimentais.....	42
Tabela 3. 6. Composição corporal (base fresca), valor energético, índice hepatossomático e índice visceral.....	43
Tabela 3. 7. Coeficientes de utilização digestiva aparente dos componentes das dietas experimentais (%)......	44
Tabela 3. 8. Balanços azotado e energético.....	45
Tabela 4. 1. Composição das dietas experimentais.....	55
Tabela 4. 2. Composição química e valor energético das matérias primas utilizadas.....	55
Tabela 4. 3. Composição em aminoácidos das matérias primas (g/16 g N)....	56
Tabela 4. 4. Composição em aminoácidos das dietas experimentais (g/16 gN)	56
Tabela 4. 5. Crescimento e utilização do alimento nas douradas alimentadas com as dietas experimentais.....	60
Tabela 4. 6. Composição corporal (base fresca), valor energético, índice hepatossomático e índice visceral.....	61

Tabela 4. 7. Coeficientes de utilização digestiva aparente dos componentes das dietas experimentais (%).....	62
Tabela 4. 8. Balanços azotado e energético.....	63
Tabela 5. 1. Composição das dietas experimentais.....	73
Tabela 5. 2. Composição química e valor energético das matérias primas utilizadas.....	73
Tabela 5. 3. Composição em aminoácidos das matérias primas (g/16 g N).....	74
Tabela 5. 4. Composição em aminoácidos das dietas experimentais (g/16 gN)	74
Tabela 5. 5. Crescimento e utilização do alimento nas douradas alimentadas com as dietas experimentais.....	78
Tabela 5. 6. Composição corporal (base fresca), valor energético, índice hepatossomático e índice visceral.....	79
Tabela 5. 7. Balanços azotado e energético.....	80
Tabela 6. 1. Composição das dietas experimentais.....	89
Tabela 6. 2. Composição química e valor energético das matérias primas utilizadas.....	89
Tabela 6. 3. Composição em aminoácidos das matérias primas (g/16 g N).....	90
Tabela 6. 4. Composição em aminoácidos das dietas experimentais (g/16 gN)	90
Tabela 6. 5. Crescimento e utilização do alimento nas douradas alimentadas com as dietas experimentais.....	94
Tabela 6. 6. Composição corporal (base fresca), valor energético, índice hepatossomático e índice visceral.....	95
Tabela 6. 7. Coeficientes de utilização digestiva aparente dos componentes das dietas experimentais (%).....	95
Tabela 6. 8. Balanços azotado e energético.....	97
Tabela 7. 1. Composição das dietas experimentais.....	105
Tabela 7. 2. Composição química e valor energético das matérias primas utilizadas.....	105

Tabela 7. 3. Composição em aminoácidos das matérias primas (g/16 g N).....	106
Tabela 7 4. Composição em aminoácidos das dietas experimentais (g/16 g N)	106
Tabela 7. 5. Crescimento e utilização do alimento nas douradas alimentadas com as dietas experimentais.....	110
Tabela 7. 6. Composição corporal (base fresca), valor energético, índice hepatossomático e índice visceral.....	111
Tabela 7. 7. Coeficientes de utilização digestiva aparente dos componentes das dietas experimentais (%)......	112
Tabela 7. 8. Balanços azotado e energético.....	113

AGRADECIMENTOS

A execução do presente trabalho contou com o apoio financeiro do OID/PS, PROPESCAS e PRAXIS XXI e com a colaboração de várias pessoas às quais pretendo manifestar o meu agradecimento:

Ao Professor Doutor Aires Oliva Teles, por ter aceite a orientação deste trabalho, pelo apoio prestado na sua elaboração e revisão crítica do mesmo, pelo contínuo incentivo e disponibilidade que sempre me dispensou.

À Dra. Maria Alice Ramos, por ter aceite a co-orientação deste trabalho, pelo interesse demonstrado e por me ter inculcido o gosto pela área da NUTRIÇÃO.

Ao Dr. Francisco Ruano, Director do Departamento de Aquacultura, pelo seu apoio e por todas as sugestões na revisão do trabalho.

À Dra. Maria Helena Vilela e ao Dr. Jaime Menezes pelo apoio e incentivo que sempre me dispensaram ao longo deste trabalho.

À Maria Ana Castelo Branco, Paula Ramos, José Manuel Oliveira e António Ávila de Melo, quero agradecer a amizade e o apoio nos bons e maus momentos.

Aos colegas do DAQ, Margarida Muro, Rui Silva, Laura Fernandes, Manuela Morais pelo apoio de âmbito laboratorial que foi indispensável na execução da parte prática do trabalho, e à Graça Pita e Maria Emília Ribeiro, pelo suporte laboratorial com vista à manutenção da qualidade da água dos circuitos, à Elisa Grilo, Leonor Cavalinhos, Luis Belo, Fernanda Carvalho, Augusta Moledo, Henriques Ferreira e Sónia Morgado. A todos eles agradeço a amizade e o espírito de camaradagem que sempre nos aproximou nos bons e maus momentos.

Aos colegas do DITVPP, Amparo Gonçalves, Júlia Ferreira, Angelino Martins e Manuel Pires, pela ajuda prestada na determinação química de tantas e tantas amostras de dietas e carcaças de peixe, indispensáveis na parte analítica deste trabalho.

Ao Sr. Pedro da Estação de Zoologia Marítima Dr. Augusto Nobre, pela sua disponibilidade e ajuda prestada na determinação do óxido de crómio das amostras.

À Olema Vaz um muito obrigado pela sua inestimável amizade e carinho que sempre me dedicou ao longo de todos estes anos de convivência.

Por fim uma palavra de agradecimento à minha família e amigos cujo apoio e compreensão que foram indispensáveis para a concretização deste trabalho.

ÍNDICE

RESUMO	I
ABSTRACT	III
ÍNDICE DAS FIGURAS	V
ÍNDICE DAS TABELAS	VI
AGRADECIMENTOS	IX
ÍNDICE	XI
1. INTRODUÇÃO GERAL	
1.1. Aquicultura: Aspectos gerais	1
1.2. As matérias primas	4
1.2.1. Farinha de peixe.....	5
1.2.2. Fabrico da farinha de peixe.....	10
1.3. Fontes proteicas alternativas utilizadas em dietas para peixes	12
1.3.1. Proteínas de origem vegetal.....	14
1.3.1.1. Soja.....	15
1.3.1.2. Tremoço.....	18
1.3.1.3. Ervilha.....	20
1.3.1.4. Glúten de milho.....	21
2. METODOLOGIA GERAL	
2.1. Material animal utilizado	23
2.2. Ensaio de crescimento	23
2.2.1. Instalações experimentais.....	23
2.2.2. Protocolo experimental.....	24
2.3. Ensaio de digestibilidade	25
2.3.1. Instalações experimentais.....	25
2.3.2. Protocolo experimental.....	28
2.4. Preparação das dietas experimentais	29
2.5. Métodos analíticos	31
2.5.1. Determinação da humidade.....	31
2.5.2. Determinação da proteína bruta.....	31
2.5.3. Determinação da gordura bruta.....	32
2.5.4. Determinação das cinzas.....	32
2.5.5. Determinação dos aminoácidos totais.....	32
2.5.6. Determinação da energia bruta.....	32
2.5.7. Determinação do óxido de crómio.....	32
2.6. Análise estatística	32
2.7. Definição de termos utilizados	33

3. UTILIZAÇÃO DO BAGAÇO DE SOJA PELA DOURADA	
3.1. Introdução	35
3.2. Material e métodos	36
3.3. Resultados	39
3.3.1. Crescimento e eficiência da utilização do alimento	39
3.3.2. Composição corporal	42
3.3.3. Coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD _a)	43
3.3.4. Balanços azotado e energético	44
3.4. Discussão	45
4. UTILIZAÇÃO DAS FARINHAS DE SOJA SUBMETIDAS A DIFERENTES TRATAMENTOS TECNOLÓGICOS, PELA DOURADA	
4.1. Introdução	53
4.2. Material e métodos	54
4.3. Resultados	57
4.3.1. Crescimento e eficiência da utilização do alimento	57
4.3.2. Composição corporal	60
4.3.3. Coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD _a)	61
4.3.4. Balanços azotado e energético	62
4.4. Discussão	63
5. UTILIZAÇÃO DO TREMOÇO (<i>Lupinus angustifolius L.</i>) PELA DOURADA	
5.1. Introdução	71
5.2. Material e métodos	72
5.3. Resultados	75
5.3.1. Crescimento e eficiência da utilização do alimento	75
5.3.2. Composição corporal	78
5.3.3. Balanços azotado e energético	79
5.4. Discussão	80
6. UTILIZAÇÃO DA ERVILHA (<i>Pisum sativum L.</i>) PELA DOURADA	
6.1. Introdução	87
6.2. Material e métodos	88
6.3. Resultados	91
6.3.1. Crescimento e eficiência da utilização do alimento	91
6.3.2. Composição corporal	94
6.3.3. Coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD _a)	95
6.3.4. Balanços azotado e energético	96
6.4. Discussão	97
7. UTILIZAÇÃO DO GLÚTEN DE MILHO PELA DOURADA	
7.1. Introdução	103
7.2. Material e métodos	104
7.3. Resultados	107
7.3.1. Crescimento e eficiência da utilização do alimento	107

7.3.2. Composição corporal.....	110
7.3.3. Coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD _a).....	111
7.3.4. Balanços azotado e energético.....	112
7.4. Discussão.....	113
8. CONCLUSÕES FINAIS.....	121
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	125

1. INTRODUÇÃO GERAL

1. 1. Aquicultura: Aspectos Gerais

A aquicultura é, segundo a FAO (1990), “ ... a produção de seres vivos aquáticos incluindo peixes, moluscos, crustáceos e plantas aquáticas. A produção de seres vivos implica algum modo de intervenção humana no processo de cultura para aumentar a produtividade tais como densidade de carga, alimentação, protecção contra os predadores.”

Para Barnabé (1989), a aquicultura contempla todas as actividades cujo objectivo seja a produção, a transformação e a comercialização de organismos e plantas aquáticas úteis ao homem.

Considera-se como aquicultura, as culturas de peixes (piscicultura), de crustáceos (carcinocultura), de moluscos (moluscicultura) e de algas (algocultura), embora existam outros organismos aquáticos que podem ser cultivados tais como tartarugas, crocodilos, rãs, etc.

A aquicultura tem como objectivo último a produção de organismos vivos aquáticos (animais e plantas) destinados à alimentação do homem. No entanto, a aquicultura pode também ser efectuada com outros fins: o repovoamento do meio natural, o repovoamento de espécies com interesse para a pesca desportiva ou de espécies de algas para tratamento de efluentes orgânicos, a produção de isco para actividades piscatórias artesanais ou industriais, a produção de peixes com fins ornamentais e, ainda, com vista à produção de farinhas, de fertilizantes, de produtos da indústria farmacêutica e de pérolas (Meneses, 1991; De Silva e Anderson, 1995).

1. Introdução Geral

Na actividade aquícola consideram-se habitualmente três tipos de regimes de exploração distintos, de acordo com a densidade praticada e o tipo de alimento administrado às espécies cultivadas (Fig. 1. 1.):

-regime extensivo, que se caracteriza por:

- densidade baixa,
- produção final até 800 a 1000 Kg/ha/ano e
- alimentação natural, existente nos tanques, ou que entra com a água de renovação.

-regime semi-intensivo, caracterizado por:

- densidade mais elevada que a anterior,
- produção até 1 a 15 Ton./ha/ano e
- alimentação mista (alimento natural e alimento artificial complementar).

-regime intensivo, cuja

- densidade é elevada,
- a produção a partir de 20 Ton./ha/ano e
- alimentação exclusivamente artificial.

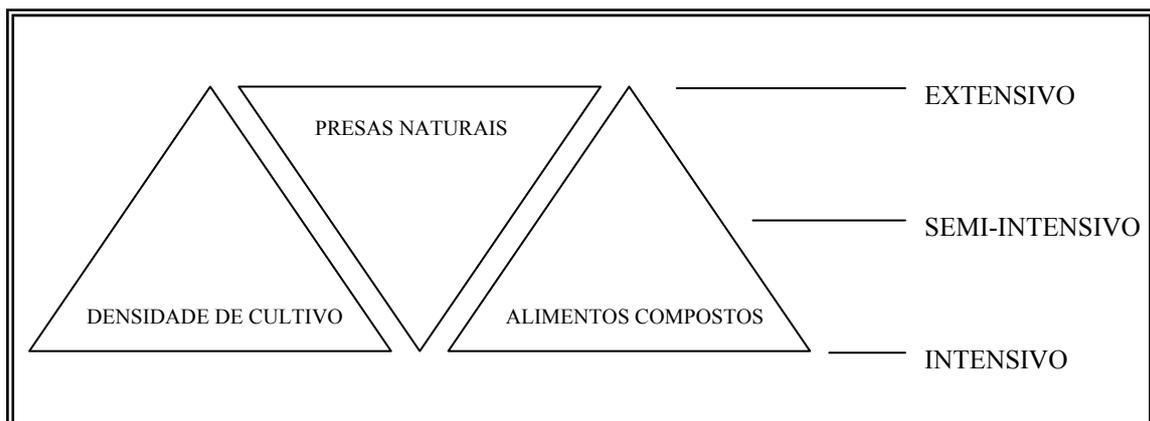


Figura 1. 1. Representação da função desempenhada pelos diferentes regimes de cultura (Adaptado de De Silva e Anderson, 1995)

1. Introdução Geral

Pensa-se que, num futuro próximo, os recursos piscícolas naturais marinhos e continentais poderão não ser suficientes para satisfazer as necessidades de consumo humano. O aumento da procura de espécies de elevado valor comercial é resultante do crescimento contínuo da população bem como da melhoria da qualidade de vida. Por outro lado, este crescimento populacional não tem sido acompanhado por um crescimento idêntico na produção de alimentos de origem aquática, pois um contínuo esforço de pesca sobre alguns dos mais importantes recursos pesqueiros levou a que se ultrapassassem os limites máximos sustentáveis de pesca em algumas zonas do globo.

Para evitar o esgotamento dos recursos pesqueiros explorados, torna-se necessário diversificar as fontes de proteína de origem aquática destinadas ao consumo humano. Neste contexto, apesar da aquicultura e as pescas serem actividades competitivas, a aquicultura pode ter um papel importante, como complemento da pesca, na produção de proteína animal de origem aquática para consumo humano, compensando as carências a nível das necessidades alimentares diversificadas da população, restaurando a riqueza pesqueira de determinada zona e/ou aliviando a pressão exercida sobre determinadas espécies. Esta produção deverá contemplar cada vez mais espécies até agora não aproveitadas para a cultura.

Como consequência do aumento da procura de alimento, a aquicultura teve um crescimento rápido nas últimas décadas, com uma taxa anual média de quase 10 % desde 1984, comparado com os 3 % referentes à pecuária e os 1,6 % às capturas de pesca (Rana, 1997).

Em 2000, o total mundial de organismos aquáticos provenientes quer das capturas quer de aquicultura, atingiu os 130,3 milhões de toneladas (FAO, 2002). Uma fatia significativa do aumento do total mundial é atribuída à aquicultura. Em 1999, o total de organismos aquáticos foi de 126,2 milhões de toneladas, representando as capturas 74 % e a produção proveniente da aquicultura 26 % (FAO, 1999). Em 2000, observou-se um aumento de 3,3 % no total mundial de peixes, crustáceos e moluscos relativamente a 1999, verificando-se um acréscimo na produção aquícola enquanto as capturas mantiveram-se estáveis (FAO, 2002). Segundo uma estimativa de FAO (1999), três

quartos do total mundial de pescado foram utilizados para consumo humano: 10,7 Kg/pessoa/ano (peso fresco), provenientes das capturas, e 5,6 Kg/pessoa/ano, provenientes da aquicultura, em 1999.

Com já foi referido, o incremento da procura de pescado tem contribuído para o desenvolvimento da aquicultura. Este aumento da produção tem sido alcançado através da intensificação do cultivo de espécies de maior valor comercial como aperfeiçoamento do fabrico das dietas compostas para as espécies cultivadas, resultando um aumento da eficiência da utilização do alimento, uma melhoria da sanidade, do manejo e da gestão dos stocks explorados.

1. 2. As Matérias Primas

Com a intensificação da produção animal em aquicultura, torna-se necessário formular dietas de alto teor proteico, capazes de proporcionar bons índices de conversão, com taxas elevadas de crescimento, mais baratas e com menores desperdícios (Tacon e Cowey, 1985; De la Higuera e Cardenete, 1987).

A formulação de dietas adequadas requer o conhecimento prévio dos requisitos nutricionais para as espécies em questão (proteínas, lípidos, hidratos de carbono, minerais e vitaminas). Por outro lado, é importante considerar a disponibilidade das matérias primas e o seu valor nutritivo (caracterização química e digestibilidade dos nutrientes). Estes factores são importantes para a obtenção de uma boa performance zootécnica dos animais e contribuir tanto quanto possível com uma menor carga poluente para o meio ambiente.

1. 2. 1. Farinha de peixe

Os nutricionistas e fabricantes de alimentos compostos têm desenvolvido esforços no sentido da produção de dietas completas, bem equilibradas e a baixo custo. Do ponto de vista nutricional, a proteína tem despertado grande interesse devido à elevada inclusão nas dietas, correspondendo a cerca de 30 a 60 % de peso seco da dieta (De la Higuera e Cardenete, 1987; Tacon, 1994, 1997). A produção de dietas comerciais para a maioria das espécies carnívoras depende da farinha de peixe e dos óleos de peixe como únicas ou principais fontes proteicas e lipídicas, constituindo estas matérias primas cerca de 70 % do peso das dietas (Tacon e Jackson, 1985; Kaushik, 1989; Tacon, 1994, 1997). A utilização preferencial da farinha de peixe deve-se às suas características nutritivas (De la Higuera e Cardenete, 1993; McDonald *et al.*, 1995), nomeadamente:

- elevado teor proteico, podendo variar de 50 a 75 %, dependendo da qualidade do material a partir do qual é obtida a farinha de peixe e das condições de fabrico;
- boa digestibilidade da proteína;
- perfil em aminoácidos essenciais adequado e equilibrado;
- boa digestibilidade da energia;
- fonte de ácidos gordos essenciais, especialmente ácidos gordos poli-insaturados da série ω 3;
- alto teor em minerais (cálcio, fósforo, manganês, ferro e iodo);
- alto teor em vitaminas, principalmente do complexo B, como a colina, B₁₂ e riboflavina e
- eventual existência de factores de crescimento, porque, geralmente, actua como estimulante do apetite.

Na última década, a quantidade de farinha de peixe utilizada na produção de dietas para peixes aumentou consideravelmente, contudo a produção mundial desta matéria prima manteve-se estacionária. O aumento da procura de farinha de peixe de qualidade e a dificuldade na sua obtenção contribuíram para o encarecimento desta fonte proteica. Com o desenvolvimento da aquicultura, uma parte da produção de farinha de peixe que

1. Introdução Geral

era utilizada como alimento para os animais terrestres, tem sido utilizada na confecção de dietas para peixes (De la Higuera e Cardenete, 1993).

A produção da farinha de peixe está dependente do estado dos recursos pesqueiros e está concentrada num pequeno número de espécies (Tab. 1. 1.). Por isso a produção da farinha de peixe encontra-se dependente do comportamento destas espécies, o que influencia a sua disponibilidade no mercado e os preços. De referir que, devido ao agravamento do estado dos recursos pesqueiros, a disponibilidade desta fonte proteica não deverá ser no futuro suficiente para satisfazer o aumento da procura desta matéria prima (Tacon, 1997).

Tabela 1. 1. Tipos de farinhas de peixe produzidas por alguns países produtores (Hertrampf e Piedad-Pascual, 2000)

País	Tipo de peixe utilizado	Processo de secagem
África do Sul	Sardinha	Baixa temperatura
Canadá	Arenque	Vapor
Chile	Anchova e cavala	Calor directo/vapor
Estados Unidos	Arenque	Calor directo/vapor
Islândia	Arenque e capelim	Baixa temperatura
Japão	Sardinha	Baixa temperatura
Noruega	Arenque e capelim	Baixa temperatura
Peru	Anchova	Baixa temperatura

Os principais factores que contribuíram para a diminuição da oferta da farinha de peixe a nível mundial, foram os seguintes (De la Higuera e Cardenete, 1987; Robaina, 1998):

- limitação da exportação da farinha de anchova peruana em 1973;
- crescimento da aquicultura;
- aumento do consumo humano de espécies de baixo valor nutritivo que normalmente não eram utilizadas para consumo directo;

1. Introdução Geral

- diminuição das capturas devido à sobre-exploração dos recursos pesqueiros e
- estabelecimento da Zona Económica Exclusiva de 200 milhas.

De um modo geral, as farinhas de peixe são obtidas a partir de recursos não utilizados para consumo humano directo, nomeadamente peixes inteiros de baixo valor comercial, restos de peixe da indústria conserveira e de filetagem.

Factores tais como a frescura do peixe e o processamento tecnológico usado na produção da farinha de peixe afectam a qualidade nutritiva do produto final (Tab. 1. 1.). Por sua vez, as variações da qualidade da farinha de peixe podem afectar a ingestão do alimento e a sua digestibilidade e, conseqüentemente, influenciam a performance dos animais. Assim, a utilização de farinhas de peixe de elevada qualidade pode contribuir para o aumento da performance de várias espécies.

O estado de frescura do peixe pode ser avaliado pelo teor em azoto básico volátil, que aumenta proporcionalmente ao seu grau de degradação. Esta evolução depende da espécie, do tempo, da temperatura e das condições de armazenamento (Klausen e Lunde, 1986).

Após a captura, o peixe entra em decomposição, através de processos de degradação autolíticos e por acção de bactérias presentes na superfície corporal e tracto gastrointestinal. Esta degradação progressiva origina a formação de péptidos de cadeia mais curta, aminoácidos livres, ácidos gordos livres, aminas e amónia (Pike *et al.*, 1990). Geralmente, as farinhas de peixe ricas em ácidos gordos livres são consideradas de baixa qualidade (Autin, 1997).

Algumas das aminas biogénicas formadas a partir da descarboxilação dos aminoácidos, estão indicadas na tabela 1.2.

Tabela 1. 2. Aminas biogénicas encontradas em farinhas de peixe (Santinha, 1997; Hardy, 1991)

Aminas biogénicas	Aminoácidos a partir do qual é produzida
Histamina	Histidina
Cadaverina	Lisina
Putrescina	Ácido glutâmico
Espermidina	Arginina
Tiramina	Tirosina

A decomposição bacteriana é acompanhada de cheiro desagradável e pela produção de substâncias nocivas (sulfito de hidrogénio - H_2S , dióxido de carbono - CO_2 , e amónia - NH_3).

As farinhas de peixe obtidas a partir de pescado branco são geralmente consideradas de valor nutritivo mais elevado do que os de farinhas de peixe escuras, produzidas a partir de peixes gordos, como anchova, capelim e arenque (De la Higuera e Cardenete, 1993). Porém, Watanabe *et al.* (1983), num estudo em que avaliaram três farinhas de peixe escuras diferentes na origem de pescado, em dietas para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), concluíram que estas farinhas de peixe apresentavam um valor nutritivo comparável ao da farinha de peixe branca.

Em Portugal, Gouveia (1989 a) estudou a composição química e o valor nutritivo de diferentes farinhas de peixe portuguesas, tendo observado uma variação da sua composição química ao longo do ano. Os teores proteicos destas farinhas de peixe eram geralmente baixos e inferiores a 60 %, valor que é considerado mínimo para uma farinha de peixe de razoável qualidade. Algumas destas farinhas de peixe escuras possuíam teores em lípidos elevados (>13%), associados a elevados índices de peróxidos. Também os teores em cinzas eram bastante elevados. Aquele autor atribuiu estas variações das farinhas de peixe escuras portuguesas à origem do pescado utilizado, à utilização de restos de peixe, ao estado de frescura, ao local e à época de captura e às condições de armazenamento.

Esta variação do valor nutritivo das farinhas de peixe portuguesas reflectiu-se numa performance de crescimento mais baixa na truta arco-íris, contrariamente ao observado por Watanabe *et al.* (1983) (Gouveia, 1989 b).

Vergara *et al.* (1999), em dourada (*Sparus aurata*), testaram duas farinhas de peixe de diferente qualidade (Norse-LT 94 e “Standard”) em dietas extrudidas e não extrudidas. As duas farinhas de peixe eram diferentes na digestibilidade da proteína e na frescura da matéria prima usada no seu fabrico, medida através do conteúdo em cadaverina. A farinha de peixe “Standard” apresentava uma digestibilidade da proteína menor e um teor de cadaverina maior do que a farinha de peixe Norse-LT 94. Os autores constataram que a farinha de peixe Norse-LT 94 promoveu um crescimento e uma utilização nutritiva do alimento da dourada significativamente maior do que a farinha de peixe “Standard”, independentemente do tipo de processamento das dietas. Nas dietas com farinha de peixe Norse-LT 94, a extrusão promoveu uma melhoria significativa da performance de crescimento da dourada em relação à outra técnica de processamento (peletização), não se observando este efeito nas dietas com a farinha de peixe “Standard”.

Anteriormente, também em dourada, Aksnes *et al.* (1997) estudaram o efeito da qualidade da farinha de peixe no crescimento e na digestibilidade da proteína. A qualidade das farinhas de peixe utilizadas foi analisada segundo o seu conteúdo em aminas biogénicas (cadaverina, putrescina e histamina) e a digestibilidade da proteína. Estes autores verificaram que a farinha de peixe de melhor qualidade (Norse-LT 94) contribuía para uma eficiência nutritiva do alimento significativamente maior quando comparada com a da farinha de peixe de pior qualidade (NorSea Mink).

Barrias e Oliva Teles (2000) compararam a performance de crescimento da truta arco-íris alimentada com dietas práticas com duas farinhas de peixe de diferente qualidade (portuguesa e norueguesa) como principal fonte proteica. Neste estudo, estes autores observaram que não houve diferenças significativas no crescimento e na utilização nutritiva do alimento pela truta arco-íris.

1. 2. 2. Fabrico da farinha de peixe

A selecção e o conhecimento da qualidade da farinha de peixe e das outras matérias primas são importantes na formulação das dietas compostas, assim como as condições do seu processamento influenciam a qualidade do produto final.

O processamento da farinha de peixe baseia-se num processo de desidratação controlado, no qual são extraídas cerca de 80 % da água e óleos contidos no peixe cru, obtendo-se um produto final seco, mais fácil de conservar e de transportar do que o produto inicial (Fig. 1. 2.).

Neste processo, o peixe cru é moído e cozido a uma temperatura de 90-100 °C. A massa cozida é prensada para remoção da maior parte da água e dos óleos, usando-se para este efeito um parafuso sem-fim de passo variável.

A mistura de água e de óleos, resultante da prensagem, contém ainda proteínas, minerais e vitaminas hidrossolúveis. Esta mistura é centrifugada de modo a separar as partículas em suspensão e os óleos. A solução aquosa, rica em proteínas (stickwater), é evaporada até atingir um teor em humidade entre 40 e 50 %, e é adicionada à massa prensada antes do processo da secagem. Os óleos são sujeitos a uma nova centrifugação para remoção das impurezas e armazenados, adicionando antioxidantes (De Silva e Anderson, 1995; McDonald *et al.*, 1995; Autin, 1997).

O processo de secagem é importante, uma vez que o aquecimento excessivo pode reduzir significativamente a qualidade da farinha de peixe. Há dois tipos de processos de secagem: directo e indirecto. Na secagem directa, a corrente de ar quente (± 500 °C) incide sobre a massa prensada que vai rolando num tambor cilíndrico. A temperatura da massa de peixe varia entre 85 e os 95 °C mas, muitas vezes, pode atingir valores mais elevados se o processo não for cuidadosamente controlado, prejudicando a qualidade do produto final. Na secagem indirecta, os secadores são cilindros aquecidos por vapor. Neste caso, a temperatura é mais fácil de controlar e a secagem é mais lenta. O produto

1. Introdução Geral

final é um produto seco com um teor de humidade entre 8 e 10 %, que é posteriormente moído.

Cada vez há mais produtores de farinha de peixe a apostar na melhoria da tecnologia e no equipamento utilizado para sua produção a baixa temperatura como produto próprio para aquicultura. Normalmente é aceite que a qualidade nutritiva e a digestibilidade da farinha de peixe é tanto maior quanto mais baixa for a temperatura a que a mesma foi produzida. Também a sua qualidade é superior se for produzida a partir de peixe inteiro, pois as farinha de restos de pescado da indústria conserveira, são de baixa qualidade devido ao elevado teor em cinzas e baixo teor em proteína.

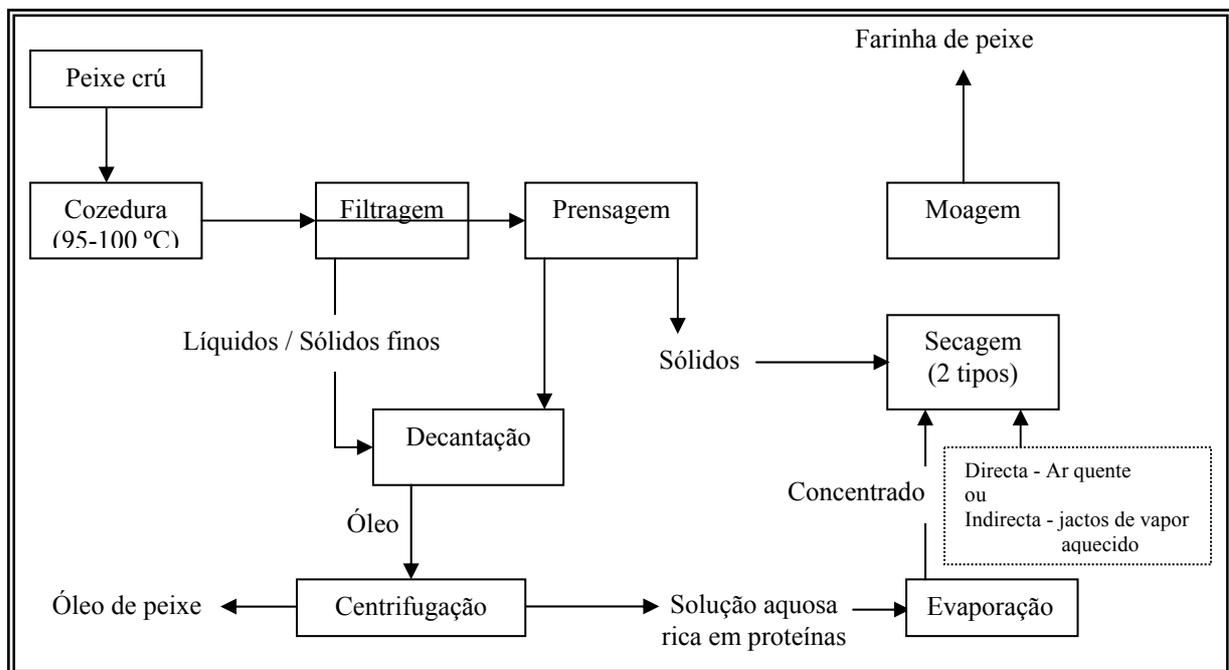


Figura 1. 2. Principais passos do fabrico da farinha de peixe (De Silva e Anderson, 1995)

Em síntese, a qualidade da farinha de peixe depende de vários factores (Watanabe *et al.*, 1983; Gouveia, 1989 a; De la Higuera e Cardenete, 1993; De Silva e Anderson, 1995; McDonald *et al.*, 1995; Vergara *et al.*, 1999) nomeadamente:

- tipo de peixe utilizado no seu fabrico;

- estado de frescura do peixe;
- utilização de peixes inteiros ou restos de peixe da indústria conserveira;
- local e época de captura e
- condições tecnológicas de fabrico.

1. 3. Fontes proteicas alternativas à farinha de peixe

A alimentação representa cerca de 40 a 60 % dos encargos financeiros dos estabelecimentos piscícolas (FAO, 1983). A maioria das espécies cultivadas são carnívoras, necessitando de dietas compostas altamente proteicas e energéticas. Geralmente a farinha de peixe é a principal fonte de proteína na composição destas dietas. É uma fonte nutricional muito adequada para espécies carnívoras pois as suas características nutritivas são similares às necessidades das espécies. A utilização desta fonte proteica tem desvantagens como a limitada disponibilidade no mercado e o preço elevado. O encarecimento desta matéria prima aumenta os encargos financeiros dos estabelecimentos piscícolas com a alimentação. Torna-se pois necessário reduzir a dependência das dietas compostas em farinha de peixe, e encontrar novas fontes proteicas alternativas mais baratas e de qualidade, e com disponibilidade de mercado estável (Tacon, 1993).

Face ao exposto, tem-se dado grande relevo aos trabalhos de investigação que procuram a substituição da farinha de peixe por fontes proteicas alternativas (Tacon e Jackson, 1985; Dabrowski *et al.*, 1989; Kaushik, 1989; De la Higuera e Cardenete, 1987, 1993; Tacon, 1994, 1997). A selecção de novas fontes proteicas alternativas deve ter em conta os seguintes critérios (De la Higuera e Cardenete, 1987, 1993):

- teor proteico elevado, para permitir níveis de substituição elevados da farinha de peixe;
- qualidade nutritiva da proteína, definida segundo o perfil em aminoácidos essenciais e a digestibilidade;

- factores anti-nutricionais;
- rentabilidade do uso da matéria prima ou preço e
- boa disponibilidade de mercado.

Há uma variedade de matérias primas que podem ser utilizadas na produção de dietas para peixes como complemento à farinha de peixe:

- proteínas de origem animal: farinha de carne, farinha de sangue, subprodutos de matadouros de aves, subprodutos de indústria conserveira, subprodutos de indústria leiteira, e outros;
- proteínas de origem vegetal: oleaginosas, proteaginosas e cereais;
- proteínas de organismos unicelulares: leveduras, algas, bactérias, fungos.

Todavia, o eventual sucesso da utilização de fontes alternativas como substitutos da farinha de peixe em dietas para peixes dependerá também do uso de técnicas de processamento melhoradas e na formulação das dietas, do uso de aditivos alimentares específicos, como estimulantes, aminoácidos livres, enzimas, probióticos. Para além da farinha de peixe, outras fontes proteicas de origem animal têm sido utilizadas na formulação de dietas. São a farinha de carne, farinha de carne e de ossos, subprodutos de matadouro de aves, farinha de sangue, farinha de minhoca, ensilados, etc. (Watanabe e Pongmaneerat, 1991; Gouveia, 1989 c, 1992; Davies *et al.*, 1993; Shimeno *et al.*, 1993 b, c; Watanabe *et al.*, 1993; Robaina *et al.*, 1997). São produtos que possuem alto teor proteico, com algumas deficiências em 1 ou 2 aminoácidos essenciais, mas a utilização de elevados níveis de inclusão em dietas pode influenciar negativamente o crescimento dos animais. A composição e o estado de frescura da matéria prima assim como as condições de processamento influenciam a qualidade nutritiva das farinhas produzidas a partir destas matérias primas. Mas, nas últimas décadas, tem-se observado uma maior restrição do uso de farinhas de origem animal, nomeadamente farinhas de carne, carne e ossos e de sangue devido aos problemas relacionados com a BSE. Perante este facto, as

fontes proteicas de origem vegetal ganharam uma maior importância como substitutos da farinha de peixe em dietas compostas e são cada vez mais utilizadas.

1. 3. 1. Proteínas de origem vegetal

De uma maneira geral, estas matérias primas possuem teores proteicos mais baixos e têm, geralmente, deficiências em alguns aminoácidos essenciais (lisina e metionina), quando comparadas com as matérias primas de origem animal. Esta característica é um factor limitante à sua incorporação em dietas de elevado teor proteico (>40 %). Porém, têm a vantagem de apresentar uma qualidade nutritiva relativamente constante, boa disponibilidade de mercado e preços competitivos. Por outro lado, a presença de factores anti-nutricionais e a baixa palatabilidade são factores que contribuem para uma má utilização nutritiva do alimento (Tacon e Jackson, 1985; Kaushik, 1989; Guillaume, 1991; Tacon, 1997). Contudo, a maioria dos factores anti-nutricionais podem ser inactivados ou destruídos através de tratamentos térmicos adequados e o uso de estimulantes do apetite podem melhorar a ingestão das dietas (Dias *et al.*, 1997; Tacon, 1997). Todavia, a substituição total da farinha de peixe com matérias primas de origem vegetal raramente foi conseguida (Pfeffer e Beckmann-Toussint, 1991; Moyano *et al.*, 1992; Gomes *et al.*, 1995 a, b; Médale *et al.*, 1998).

Outra possibilidade é o uso de espécies/variedades com baixos níveis de factores anti-nutricionais, ou o desenvolvimento de novas tecnologias de processamento de matérias primas e de dietas, que permitam o uso de níveis de inclusão elevados de fontes proteicas de origem vegetal em dietas para peixes.

Entre as matérias primas de origem vegetal com maior potencial de utilização em dietas para peixes destacam-se as oleaginosas, como a soja, a colza, o girassol, as leguminosas ou proteaginosas, como a ervilha e o tremço, e os subprodutos dos cereais, como o glúten de milho.

A substituição da farinha de peixe com fontes proteicas de origem vegetal em dietas para peixes tem sido objecto de vários estudos, tais como o tremço (Moyano *et al.*, 1992; Robaina *et al.*, 1995; Burel *et al.*, 1998), a ervilha (Gomes *et al.*, 1993; Gouveia e Davies, 1998; 2000; Carter e Hauler, 2000), a fava (Gouveia *et al.*, 1993, Booth *et al.*, 2001), o girassol (Cardenete *et al.*, 1993; Sanz *et al.*, 1994), a colza (Shimeno *et al.*, 1993 b; Kissil *et al.*, 2000), a colzapro (Gomes e Kaushik, 1989) e o glúten de trigo e de milho (Robaina *et al.*, 1997; Robaina *et al.*, 1999; Storebakken *et al.*, 2000).

Das fontes proteicas de origem vegetal utilizadas em dietas para peixes, apresento neste trabalho uma descrição mais ampla da soja, tremço, ervilha e glúten de milho, que foram testadas como alternativas à farinha de peixe em dietas para juvenis de dourada. A utilização destas matérias primas em dietas para peixes tem vindo a merecer atenção devido ao elevado potencial como alternativa à farinha de peixe. Estas matérias primas são frequentemente utilizadas na indústria de rações para animais e, após uma prospecção de mercado, eram as alternativas disponíveis.

1. 3. 1. 1. Soja

Entre as oleaginosas, a soja (*Glycine max*) é a mais estudada e utilizada em dietas para peixes, quer pela qualidade nutritiva quer pelo baixo custo e disponibilidade no mercado. A soja apresenta um teor proteico elevado e constante (40 - 50 %), um perfil em aminoácidos equilibrado, excepto em metionina, e é uma fonte de ácido linolénico e de fosfolípidos. Os hidratos de carbono presentes na soja são oligossacarídeos solúveis (sacarose, rafinose e estaciose) e os polissacarídeos (celulose, hemicelulose e pectinas), que podem ser solúveis e insolúveis (Synder e Kwon, 1987), mas que não são disponíveis para os animais monogástricos. A extracção da soja com água/álcool remove uma grande parte dos oligossacarídeos e a extracção com ácido/base remove quer os oligossacarídeos quer a celulose, tornando a soja uma boa fonte proteica alternativa. A digestibilidade da soja é bastante elevada e, de um modo geral, comparável à da farinha de peixe (De la Higuera e Cardenete, 1993; De Silva e

1. Introdução Geral

Anderson, 1995; McDonald *et al.*, 1995; Nengas *et al.*, 1995; Gaylor e Gatlim III, 1996; Gomes da Silva e Oliva Teles, 1996; Lupatsch *et al.*, 1997; Tacon, 1997).

O processamento da semente de soja consiste essencialmente na extracção do óleo, obtendo-se produtos ricos em proteínas (40 - 50 %) que são utilizados na alimentação animal. São os bagaços de soja (Fig. 1. 3.). O óleo resultante da extracção é, muitas vezes, usado como matéria prima e também para consumo humano. Este processamento contribui para eliminação de certos factores anti-nutricionais presentes na soja crua. Há dois processos de extracção do óleo da semente da soja: processo de pressão contínua a quente e processo de extracção por solvente orgânico, geralmente o hexano. As condições empregues nos processamentos podem influenciar a qualidade nutritiva do bagaço de soja obtido. As temperaturas elevadas e a pressão contínua a quente podem resultar em reduções da digestibilidade da proteína e do teor proteico do bagaço de soja. O teor em óleo varia entre 25 a 40 g/Kg. No processo de extracção por solvente não se emprega pressão e as temperaturas são comparativamente menos elevadas, sendo o teor em óleo geralmente inferior a 10 g/Kg. Para evaporação total do solvente, a soja é tostada, obtendo-se um produto com um teor proteico entre 45 e 50 % no final deste processo (Fig. 1.3.) (Autin, 1997; MacDonald *et al.*, 1995).

O bagaço de soja tostado é submetido novamente a uma extracção. Esta extracção pode ser feita com ácido/base ou água/álcool, obtendo o concentrado proteico de soja. No primeiro caso, o concentrado proteico de soja possui um teor proteico de cerca de 70 % e a maior parte da celulose é removida. No segundo caso, o concentrado proteico de soja possui um teor proteico entre 60 e 70 % (Fig. 1. 3.) (Autin, 1997).

No processamento da soja integral, as sementes de soja descascadas são descascadas e cozidas de modo a reduzir a actividade de certos enzimas e a quebrar as fibras de celulose. As sementes de soja cozidas são prensadas, formando lascas de soja muito finas. Assim obtém-se partículas de baixa densidade e a maioria do amido é gelatinizado, aumentando a sua digestibilidade (Fig. 1.3.). Este produto de soja possui um teor proteico de 38 - 40 % e um teor em lipídios de 18 - 20 %, podendo ser utilizado para alimentação animal.

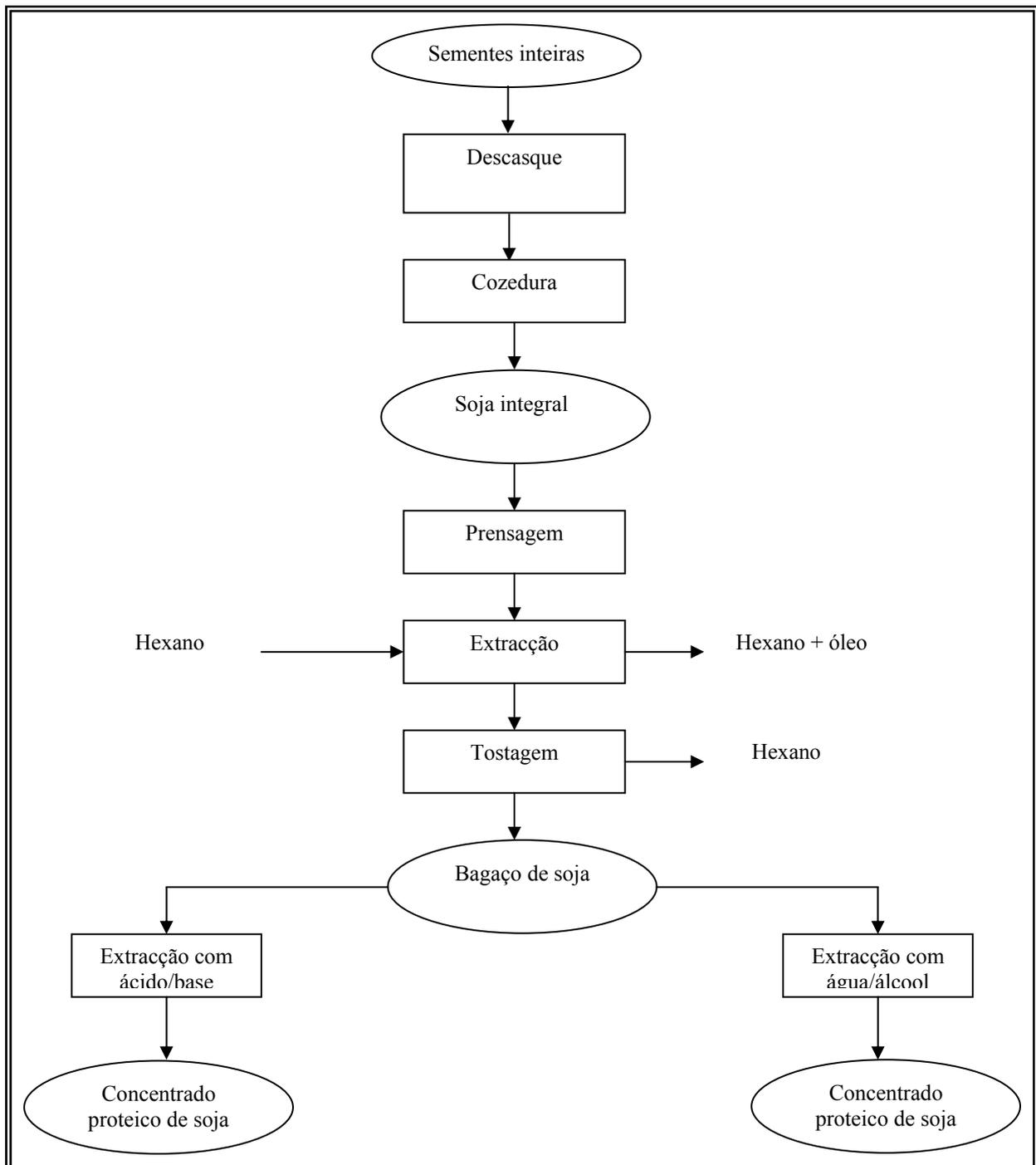


Figura 1. 3. Principais fases do fabrico da farinha de soja (Autin, 1997)

A soja possui inúmeros factores anti-nutricionais que influenciam a sua qualidade nutritiva e reduzem a palatabilidade do alimento, mas podem ser eliminados através de

1. Introdução Geral

tratamento adequado (Krogdahl, 1989; Guillaume, 1991; Tacon, 1997). Entre estes, é de realçar os inibidores de enzimas proteolíticas, que diferem no peso molecular e acção específica. Os inibidores de tripsina, ou Kunitz, de peso molecular de 20000-25000, inibem a tripsina mediante a formação de ligações dissulfureto com esta enzima (poucas pontes dissulfídicas possuem uma especificidade contra a tripsina). Estes factores são termolábeis. Os inibidores de quimiotripsina, ou Birk-Bowman, de peso molecular de 6000-10000, inibem a tripsina e a quimiotripsina através do mesmo mecanismo (uma grande quantidade de pontes dissulfídicas). Estes factores são mais estáveis ao calor (De Silva e Anderson, 1995; Mc Donald *et al.*, 1995; Tacon, 1997). Estes inibidores podem ser inactivados por autoclavagem, extrusão e micronização (Gomes, 1991).

Outro factor anti-nutricional presente na soja é o ácido fítico. O ácido fítico ou mioinositol-hexafosfato está presente na maior parte das leguminosas e oleaginosas, como a soja, a colza e o algodão. O ácido fítico contém cerca de 73 % e 46 - 73 % do fósforo total presente nos grãos de cereais e nas sementes das leguminosas, respectivamente (Tacon, 1997). O fósforo contido no ácido fítico não é disponibilizado devido à ausência da enzima fitase no tubo digestivo dos animais monogástricos.

O ácido fítico afecta a utilização de determinados nutrientes da dieta, como os minerais (cálcio, zinco, magnésio, cobre e ferro). As funções fosfóricas do ácido fítico podem formar quelatos que são sais com um ou vários iões metálicos. Estes são extremamente insolúveis mesmo a pH 3 ou 4, resultando numa redução da sua disponibilidade. A disponibilidade dos minerais ligados ao ácido fítico, depende da concentração e da actividade da fitase.

1. 3. 1. 2. Tremçoço

O tremçoço (*Lupinus* sp) possui um teor proteico alto (30 a 40 %) e um perfil em aminoácidos desequilibrado, rico em lisina e deficiente em metionina. Possui uma casca altamente fibrosa e a sua inclusão nas dietas pode afectar negativamente a

digestibilidade dos nutrientes (De la Higuera e Cardenete, 1987; McDonald *et al.*, 1995).

A farinha de tremço é feita a partir de sementes de tremço através do processo de moagem. Há três espécies de tremço, distinguindo-se pela cor das flores. As de *Lupinus albus* são brancas, as de *L. angustifolius* são azuis e as de *L. luteus* são amarelas. Dentro de cada espécie há duas variedades, “sweet” e “bitter”, que se diferenciam pelos níveis de alcalóides (factores anti-nutricionais), que são tóxicos (lupinina e angustifolina) que estão concentrados na casca. A variedade “bitter” possui um conteúdo em alcalóides entre 10 a 20 g/Kg e não pode ser utilizada na alimentação animal. A variedade “sweet” tem um conteúdo em alcalóides mais baixo. Por razões de segurança alimentar, o nível de alcalóides deve ser inferior a 6 g/Kg (Mc Donald *et al.*, 1995). Estes factores podem interferir no crescimento e na palatabilidade do alimento, limitando a sua inclusão na dieta. Por outro lado, também podem interferir no funcionamento do sistema nervoso central, podendo causar a morte em animais superiores (Kingsbury, 1964; Tacon 1997).

Um processo de eliminação dos alcalóides da semente de tremço consiste em recorrer à lavagem da semente com água (Guillaume, 1991; Robaina *et al.*, 1995; Tacon, 1997). A selecção genética, ou o uso de variedades com baixo nível de alcalóides, são outras das possibilidades (Guillaume, 1991; Tacon, 1997).

Para além dos alcalóides, o tremço tem um baixo conteúdo de inibidores de enzimas proteolíticas e saponinas (Guillaume, 1991; Tacon, 1997), que são facilmente eliminados através de tratamento térmico e extracção com água ou álcool etílico (Liener, 1980).

1. 3. 1. 3. Ervilha

A ervilha (*Pisum sativum*) tem um teor proteico mais baixo que o tremço, cerca de 25 %. O perfil em aminoácidos é melhor balanceado, com altos teores em lisina, metionina e cistina. A metionina é o principal aminoácido limitante (De Silva e Anderson, 1995; Mc Donald *et al.*, 1995).

Tanto a ervilha como o tremço são fontes de baixo teor lipídico, mas ricas em ácido linoleico e linolénico. O teor em hidratos de carbono é elevado (amido e polissacarídeos não amiláceos) (McDonald *et al.*, 1995).

Os principais factores anti-nutricionais na ervilha são as lectinas ou hemaglutininas. Estas proteínas possuem uma afinidade específica com os açúcares e ligam-se à superfície das células do epitélio de revestimento do intestino, interferindo com a digestão, especialmente das proteínas (Jaffe, 1980). As lectinas reduzem a absorção dos nutrientes no tubo digestivo e podem causar hemorragias internas ao destruir as microvilosidades das células do epitélio de revestimento, diminuindo o crescimento (De Silva e Anderson, 1995)

As lectinas têm a capacidade de aglutinar os glóbulos vermelhos, mas a sua actividade aglutinante é variável, consoante a origem específica dos glóbulos vermelhos (Simões-Nunes, 1987). As lectinas são termolábeis, sendo facilmente eliminadas através de tratamento térmico (Gomes, 1991; Tacon, 1997). A sua estabilidade pode variar entre as plantas e muitas lectinas são resistentes à acção do calor seco, sendo assim necessário recorrer ao calor húmido para as inactivar (Simões-Nunes, 1987; Tacon, 1997).

1. 3. 1. 4. Glúten de milho

O grão de milho (*Zea mays*) apresenta uma variedade de cores como amarelo, branco ou vermelho. O milho amarelo contém um pigmento, criptoxantina, que é o precursor da vitamina A.

A partir do grão de milho obtêm-se subprodutos que podem ser utilizados na alimentação animal: germe, farelo e glúten.

O milho limpo é humedecido numa solução ácida diluída e triturado grosseiramente. O germe do milho flutua à superfície da solução, sendo removido para futuro processamento. A restante fracção (grão sem germe) é finamente moída e, através do peneiramento húmido, o farelo é separado. O restante líquido consiste numa suspensão de amido e proteína (glúten) que são separados por centrifugação (McDonald *et al.*, 1995).

O glúten de milho é um concentrado proteico (40 a 60 % de proteína), com altos níveis de pigmentos. O perfil em aminoácidos é mais ou menos adequado, apresentando algumas deficiências como em arginina, em lisina e, em menor grau, em metionina. Pode conservar ainda alguns restos de amido contido no glúten e é mais fácil de digerir devido ao processamento a que foi submetido (Scott *et al.*, 1982). Segundo McDonalson *et al.* (1995), não se conhecem quaisquer factores anti-nutricionais no milho, mas De Silva e Anderson (1995) fazem referência à existência de factores anti-nutricionais como inibidores de enzimas proteolíticas, ácido fítico, entre outros.

OBJECTIVOS

Com a finalidade de avaliar o potencial da utilização de fontes proteicas alternativas à farinha de peixe em dietas para juvenis de dourada, estabeleceram-se os seguintes objectivos para o presente trabalho:

- avaliação de diferentes fontes proteicas vegetais no crescimento e utilização do alimento,
- avaliação do efeito dos tratamentos tecnológicos na utilização das diferentes fontes proteicas vegetais e,
- avaliação da utilização digestiva das dietas.

2. METODOLOGIA GERAL

2. 1. Material Animal Utilizado

Em todas as experiências foram utilizados juvenis de dourada, *Sparus aurata* L., provenientes da maternidade Viveiro Vilanova, localizada no Estuário do Mira. Após a transferência para as instalações experimentais, os animais foram estabelecidos no Laboratório de Nutrição do IPIMAR e adaptados às novas condições durante um período mínimo de 15 dias e alimentados à saciedade visual, com uma dieta comercial.

2. 2. Ensaios de crescimento

2. 2. 1. Instalações experimentais

Os ensaios de crescimento realizaram-se no Laboratório de Nutrição do IPIMAR. Foram utilizados tanques rectangulares de fundo plano, de fibra de vidro, de 800 litros de capacidade, funcionando em sistema fechado, com um caudal de 5 litros/minuto (Fig. 2. 1. e 2. 3. A).

A água recirculada do circuito experimental foi filtrada por filtro biológico, colocado no exterior do laboratório, antes de entrar novamente nos tanques do circuito experimental. A temperatura da água situou-se dentro do intervalo 17.5 - 25 °C. A salinidade foi de 32 – 35 ‰. O oxigénio foi fornecido através de um compressor de ar, sendo distribuído pelos tanques, através de pedras difusoras e não sendo nunca inferior a 5 mg/l. O pH manteve-se entre 6 e 8. As determinações da amónia e dos nitritos eram feitas semanalmente, nunca sendo superiores a 1 mg/l.



Figura 2. 1. Tanques do circuito de crescimento

2. 2. 2. Protocolo experimental

Em todos os ensaios de crescimento, os juvenis de dourada foram selecionados a partir de um lote comum, e distribuídos pelos tanques experimentais da forma mais homogênea possível.

No dia do início dos ensaios os animais eram contados e pesados. Para cada tratamento experimental eram formadas duas ou três réplicas, com um número previamente estipulado de animais, variável conforme o ensaio. As diferenças entre os pesos médios iniciais dos vários lotes não podiam ser estatisticamente significativas. Caso contrário, era feita nova redistribuição dos animais, começando-se o ensaio oito dias mais tarde.

No dia do início dos ensaios era retirado um grupo de animais do lote inicial comum que eram congelados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para análise química posterior. Noutro grupo de animais eram determinados os índices visceral e hepatossomático.

Duas vezes ao dia (9.30 e 16.00 horas), o alimento era distribuído manualmente até à saciedade visual, excepto no dia anterior às pesagens intermédias e no próprio dia das

pesagens, em que os animais permaneciam em jejum. De três em três semanas, os animais de cada lote eram contados, registado o seu peso em grupo e o consumo do alimento por tanque. Diariamente era registada a mortalidade em cada um dos tanques experimentais.

Os ensaios de crescimento tiveram uma duração de 12 semanas, excepto um ensaio que foi de 9 semanas. No fim de cada ensaio, os animais de cada lote eram contados e pesados. De cada lote era retirado um grupo de animais que, imediatamente após o abate, eram congelados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para análise química posterior e para determinação dos índices visceral e hepatossomático.

2. 3. Ensaio de digestibilidade

2. 3. 1. Instalações experimentais

Para determinação da digestibilidade das dietas, foi seguido o método indirecto, com incorporação de óxido de crómio (Cr_2O_3) como marcador inerte e externo nas dietas experimentais utilizadas nos ensaios de crescimento. Para a recolha das fezes, foi utilizado um sistema de tanques munidos de decantadores, construído a partir do sistema Guelph, descrito por Cho *et al.* (1982).

O sistema de recolha de fezes, instalado no Laboratório de Nutrição do IPIMAR, é constituído por 6 tanques cilíndricos, de 250 litros de capacidade (Fig. 2. 2. e 2. 3 B). Cada tanque faz a descarga por um decantador de fezes. O sistema funciona em circuito fechado, passando a água recirculada por um filtro biológico e um filtro de areia, para remoção de partículas ou impurezas, antes de entrar novamente nos tanques. A cada tanque é fornecida água com um débito médio 3 litros/minuto, através de uma entrada situada no topo superior do tanque. A saída faz-se pela parte inferior do tanque. O fundo inclinado permite o arrastamento das fezes expelidas pelos animais. A água é conduzida por um tubo de 15 mm de diâmetro, até ao decantador onde, por causa do seu

2. Metodologia Geral

diamêtro, diminui de velocidade, permitindo que as fezes sejam decantadas e acumuladas no fundo. A água é nivelada por uma saída, situada no topo do decantador, servindo como regulador do nível de água nos tanques experimentais. Para efectuar a recolha das fezes, o decantador possui uma torneira, situada na parte inferior.



Figura 2. 2. Tanques do circuito de digestibilidade

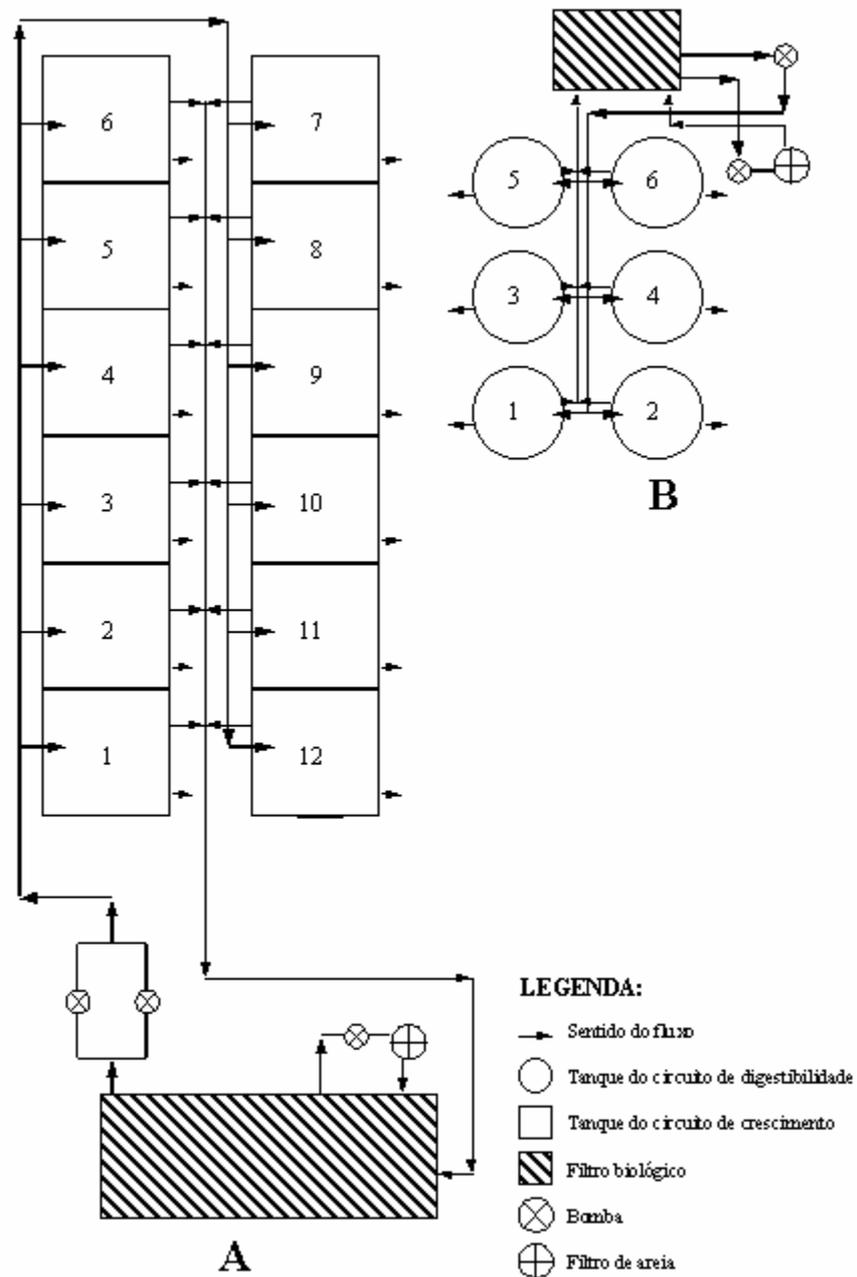


Figura 2. 3. Esquema dos circuitos utilizados

2. 3. 2. Protocolo experimental

Para os ensaios de digestibilidade, utilizaram-se 4 a 6 grupos de 20 animais, com uma biomassa total inicial de aproximadamente 2,5 Kg por cada tanque. Os animais eram adaptados às novas condições experimentais durante duas semanas e alimentados com uma dieta comercial. Após este período, os animais eram alimentados duas vezes ao dia (10.00 e 16.30 horas), manualmente, até à saciedade visual, com cada uma das dietas experimentais.

Foram realizados três períodos de 8 dias ou mais sempre que a quantidade das fezes recolhidas o justificasse. Os três primeiros dias funcionaram como um período de adaptação às dietas experimentais. A partir do 4º dia, as fezes eram recolhidas diariamente, antes da refeição da manhã, até ao final de cada período. Os tanques eram limpos cuidadosamente após a refeição da tarde, de forma a não contaminar as fezes recolhidas com qualquer alimento não ingerido. As fezes recolhidas eram imediatamente centrifugadas a 3500 r.p.m. durante 10 minutos e congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente foram liofilizadas e peneiradas a fim de as limpar de possíveis escamas. Foram guardadas em frascos etiquetados para análise posterior da sua composição química. Após a sequência acima descrita, as dietas experimentais foram redistribuídas ao acaso pelos diferentes tanques e o procedimento acima descrito foi repetido mais duas vezes, dando o total de três réplicas por cada dieta.

Para cada dieta experimental, as fezes eram recolhidas em três períodos consecutivos, utilizando-se um grupo de peixes diferente em cada período. Em cada período, as fezes eram agrupadas, constituindo uma só amostra.

Em cada alimento composto a testar, foi incorporado 1 % de óxido de crómio (Cr_2O_3). O coeficiente de utilização digestiva de matéria seca das dietas (CUD) foi calculado segundo a fórmula seguinte:

$$\text{CUD} = 100 \times \left\{ 1 - \left(\frac{\% \text{ marcador do alimento}}{\% \text{ marcador das fezes}} \right) \right\}$$

O CUD dos nutrientes e da energia obtém-se a partir da equação:

$$\text{CUD} = 100 \times \left\{ 1 - \left(\frac{\% \text{ marcador do alimento}}{\% \text{ marcador das fezes}} \right) \times \left(\frac{\% \text{ nutriente das fezes}}{\% \text{ nutriente do alimento}} \right) \right\}$$

2. 4. Preparação das dietas experimentais

A composição das dietas experimentais utilizadas está mencionada nos capítulos respectivos. Os ingredientes a utilizar foram previamente analisados para determinar a sua composição química e, com base nesses valores, foi efectuada a formulação das dietas.

Após a pesagem individual dos componentes da dieta com uma precisão de 0.1 g, procedeu-se à sua mistura e granulação numa misturadora vertical de pá helicoidal e granuladora laboratorial Alexanderwerk GKM ®.

Em primeiro lugar, efectuou-se a mistura dos componentes durante 15 – 20 minutos. Em seguida, adicionou-se o óleo, continuando a mistura, e, por fim, a água suficiente (20 - 30 %) para obter uma mistura uniforme e permitir a compactação desta na granuladora, através de uma matriz de 2 mm de diâmetro.

O granulado foi seco numa estufa Cassel ® , com ventilação, à temperatura de 35° C, durante 24 horas, e armazenado em câmara frigorífica a 4 °C, até ser utilizado. De cada alimento fabricado foi retirada uma amostra para análise química posterior.

As composições das misturas mineral e vitamínica utilizadas encontram-se nas tabelas 2. 1. e 2. 2., respectivamente.

Tabela 2. 1. Composição da mistura mineral*

Mineral	<u>mg / Kg dieta</u>
Cobalto	0.40
Cobre	5.00
Ferro	40.00
Flúor	1.00
Iodo	0.60
Magnésio	500.00
Manganês	20.00
Selénio	0.30
Zinco	30.00
	<u>% / Kg dieta</u>
Cálcio	1.70
Cloreto de Sódio	0.40
Fósforo	1.32
Potássio	0.60

* Composição fornecida pelo fabricante PREMIX Lda Portugal

Nos ensaios de digestibilidade, as dietas experimentais apresentavam a mesma composição das dietas dos ensaios de crescimento, mas procedia-se à incorporação de 1% do marcador inerte e externo, óxido de crómio (Cr_2O_3), antes da adição do óleo.

Tabela 2. 2. Composição da mistura vitamínica *

Vitamina	<u>mg/Kg dieta</u>
Ác. ascórbico	83.35
Ác. nicótico	116.70
Biotina	0.50
Cianocobalamina	0.04
Inositol	250.00
Menadiona	16.67
Pantotenato de Cálcio	33.33
Piridoxina	8.33
Riboflavina	12.50
Tiamina	12.50
α – tocóferol	83.33
	<u>UI / Kg dieta</u>
Calciferol	1 666.70
Retinol	15 000.00

* Composição fornecida pelo fabricante PREMIX LdaPortugal

2. 5. Métodos analíticos

2. 5. 1. Determinação da humidade

A humidade foi determinada por secagem em estufa a 105 °C até obtenção de peso constante.

2. 5. 2. Determinação da proteína bruta

O teor em proteína bruta (N x 6,25) foi determinado pelo método de Kjeldhal, segundo a metodologia descrita em AOAC (1984).

2. 5. 3. Determinação da gordura bruta

A gordura bruta foi determinada por extracção contínua com éter etílico durante 6 horas, num extractor de Soxhlet, segundo a metodologia descrita em AOAC (1984).

2. 5. 4. Determinação das cinzas

As cinzas foram determinadas após incineração em mufla a 550 °C, segundo a metodologia descrita em AOAC (1984).

2. 5. 5. Determinação dos aminoácidos totais

Os aminoácidos totais foram determinados por hidrólise ácida e cromatografia iónica num aparelho Biochrom ®, com detecção pela ninidrina a 440 e 570 nm de comprimento de onda, de acordo a metodologia descrita em AOAC (1984, 1996).

A metodologia utilizada não permitiu a determinação do triptofano, devido à destruição total e os valores de cistina/cisteína e metionina estão afectados de erro por defeito, devido a destruição parcial ou total, durante a hidrólise.

2. 5. 6. Determinação da energia bruta

A energia bruta foi determinada por combustão directa num calorímetro adiabático (Parr Calorimeter, modelo 1261), a uma pressão de oxigénio de 30 atmosferas. O aparelho foi previamente calibrado com ácido benzóico.

2. 5. 7. Determinação do óxido de crómio

O óxido de crómio foi determinado pelo método de digestão ácida, segundo a metodologia descrita por Furukawa e Tsukahara (1966).

2. 6. Análise estatística

Os resultados dos ensaios foram tratados utilizando o programa informático Statgraphics Plus versão 4 para Windows após a análise de variância a uma via (ANOVA), usando o nível de probabilidade de 0.05 para rejeição da hipótese. As

diferenças entre as médias foram avaliadas pelo teste de comparação múltipla entre médias de Tukey.

2. 7. Definição dos termos utilizados

IA = Ingestão do alimento

= alimento ingerido (g MS) / $\{(\text{ganho de peso fresco (g)} / 2) \times t\}$
t = tempo em dias; MS = matéria seca

ICA = Índice de Conversão Alimentar

= alimento ingerido (g MS) / ganho de peso fresco (g)

ICE = Índice de crescimento específico

= $\{(\ln \text{ pf} - \ln \text{ pi}) : t\} \times 100$
pf = peso final; pi = peso inicial

GPG = Ganho de peso diário

= ganho de peso fresco (g) / (peso inicial (Kg) x t)

IEP = Índice de eficácia proteica

= ganho de peso fresco (g) / proteína ingerida (g)

IHS (%) = Índice hepatossomático

= (peso do fígado / peso do peixe inteiro) x 100

IV (%) = Índice visceral

= (peso das vísceras / peso do peixe inteiro) x 100

RA (%) = Retenção azotada

= ganho de azoto corporal / azoto ingerido

RE (%) = Retenção energética

= ganho de energia corporal / energia ingerida

3. AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DO BAGAÇO DE SOJA COMO FONTE PRÓTEICA NA DIETA

3. 1. Introdução

Como já foi referido, a soja é a fonte proteica de origem vegetal mais estudada e utilizada como alternativa/complemento à farinha de peixe, devido às características nutricionais, como o alto teor proteico e o perfil em aminoácidos essenciais mais equilibrado comparado com os de outras matérias primas de origem vegetal, apresentando uma boa palatabilidade para a maioria das espécies (Lim e Akiyama, 1992).

A inclusão do bagaço de soja em dietas para peixes tem sido utilizada em várias espécies, com resultados variados. Os estudos realizados por Alexis (1990), Viyakarn *et al.* (1992), Watanabe *et al.* (1992), Pongmaneerat e Watanabe (1992, 1993 a, b), Shimeno *et al.* (1992, 1993 a), Watanabe e Pongmaneerat (1993), Robaina *et al.* (1995), Nengas *et al.* (1996) e Carter e Hauler (2000) demonstraram que 20 a 50 % de bagaço de soja pode ser incluída em dietas para truta arco-íris, seriola (*Seriola quinqueradiata*), carpa (*Cyprinus carpio*), dourada e salmão do Atlântico (*Salmo salar*), sem efeitos negativos no crescimento e eficiência da utilização do alimento. Por outro lado, outros estudos indicaram que a inclusão de bagaço de soja como única ou principal fonte proteica em dietas para peixes (truta arco-íris e carpa) resultou numa diminuição da performance zootécnica proporcional ao aumento do nível de inclusão de farinha de soja (Viola *et al.*, 1981; Pongmaneerat e Watanabe, 1993 b).

A utilização de combinações de bagaço de soja com outras matérias primas como substitutos parciais da farinha de peixe, demonstrou que a qualidade nutritiva da componente proteica das dietas para carpa, truta arco-íris, seriola e robalo Europeu (*Dicentrarchus labrax*), pode ser similar à das dietas com farinha de peixe, permitindo o

uso de níveis de substituição elevados, sem afectar a performance zootécnica dos animais (Moyano *et al.*, 1992; Pongmaneerat *et al.*, 1993; Shimeno *et al.*, 1993 b; Watanabe *et al.*, 1993; Gomes *et al.*, 1995 a, b; Gomes da Silva e Oliva Teles, 1996).

Em dourada, Robaina *et al.* (1995) observaram um bom crescimento e boa utilização do alimento com dietas em que 30 % da proteína da farinha de peixe foi substituída pela proteína da farinha de soja ou da farinha de tremço. Mas estes autores sugeriram que a farinha de soja não deveria exceder 20 % da proteína total da dieta para prevenir uma excessiva deposição lipídica no fígado. Posteriormente, num estudo da avaliação nutritiva do bagaço de soja, utilizando 4 níveis de substituição proteica (10, 20, 30 e 40 %), Nengas *et al.* (1996) observaram, também em dourada, uma redução do crescimento e eficiência da utilização do alimento a partir do nível de substituição proteica de 30 %, não observando, contudo, alterações morfológicas nos tecidos dos órgãos.

Neste ensaio testou-se o efeito da substituição parcial da proteína da farinha de peixe por níveis elevados (20, 40 e 60 %) de proteína de bagaço de soja em dietas para juvenis de dourada.

3. 2. Material e métodos

Foram formuladas quatro dietas experimentais numa base isoproteica e isolipídica. Na dieta 1 a única fonte proteica era a farinha de peixe, funcionando como dieta controlo. Nas restantes dietas experimentais houve uma substituição parcial de 20, 40 e 60 % da proteína da farinha de peixe pela proteína do bagaço de soja (dietas 2, 3 e 4) (Tab. 3. 1.). Na formulação da componente lipídica a proporção de óleos de peixe e gordura de origem vegetal foi mantida igual em todas as dietas experimentais.

A preparação das dietas experimentais foi efectuada conforme referido na metodologia geral. A composição química e valor energético das dietas experimentais e das matérias

3. Bagaço de soja

primas utilizadas são apresentadas nas tabelas 3.1. e 3. 2. e os perfis em aminoácidos estão indicados nas tabelas 3.3. e 3. 4.

Tabela 3. 1. Composição das dietas experimentais

Dieta	1	2	3	4
Componentes (g Kg⁻¹dieta)				
Farinha de peixe da Noruega	619.0	495.2	371.4	247.6
Bagaço de soja		172.7	345.5	518.2
Dextrina	304.0	245.1	186.4	127.6
Minerais	10.0	10.0	10.0	10.0
Vitaminas	5.0	5.0	5.0	5.0
Cloreto de colina (60 %)	5.0	5.0	5.0	5.0
Alginato de sódio	30.0	30.0	30.0	30.0
Óleo de fígado de bacalhau	24.4	35.3	45.8	56.6
Óleo de soja	2.3	1.7	0.9	
TOTAL	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0
Composição química				
Humidade (%)	6.5	6.6	6.6	4.2
Proteína bruta (% MS)	49.4	49.4	50.5	49.8
Gordura bruta (% MS)	8.5	8.6	8.7	8.8
Cinzas (% MS)	12.3	11.3	10.4	9.5
Energia bruta (kJ/g MS)	19.1	19.1	19.2	19.2

MS – matéria seca

Tabela 3. 2. Composição química e valor energético das matérias primas utilizadas

	Humidade (%)	Proteína (% MS)	Gordura (% MS)	Cinzas (% MS)	Energia (kJ/g MS)
Farinha de peixe da Noruega (1)	7.10	72.70	8.50	15.80	18.33
Bagaço de soja (2)	11.00	52.10	0.45	6.60	17.47

MS – matéria seca

1 - Sorgal, S.A., do Grupo Soja de Portugal; 2 – Unifac – União de Importadores de Matérias Primas, S.A., Portugal

3. Bagaço de soja

Tabela 3. 3. Composição em aminoácidos das matérias primas (g/16 g N)

Aminoácidos	Farinha de peixe	Bagaço de soja
Arginina	4.54	6.72
Fenilalanina	3.30	4.61
Histidina	2.34	2.50
Isoleucina	3.03	3.46
Leucina	6.19	6.91
Lisina	6.60	5.76
Metionina	2.20	1.15
Treonina	3.58	3.65
Valina	4.54	4.42
Ác. aspártico	7.57	10.56
Ác. glutâmico	11.00	17.28
Alanina	5.50	4.03
Glicina	5.50	4.03
Prolina	3.71	4.99
Serina	3.30	4.80
Tirosina	2.75	3.46

Tabela 3. 4. Composição em aminoácidos das dietas experimentais (g/16 g N)

Aminoácidos	Dietas				AA*	AA**	AA***
	1	2	3	4			
Arginina	5.47	7.09	7.13	6.82	5.40	4.33	<6.00
Fenilalanina	3.64	3.64	3.76	5.02	2.90a	2.53	
Histidina	3.44	3.24	2.97	3.62	1.70	1.82	
Isoleucina	4.05	3.85	3.76	4.42	2.60	3.76	
Leucina	6.68	7.09	6.73	7.43	4.50	5.24	
Lisina	5.87	7.09	6.54	5.82	5.00	5.49	5.00
Metionina	2.63	1.82	1.39	1.61	2.40b	2.00	4.00b
Treonina	3.44	3.85	3.76	3.82	2.80	3.69	
Valina	4.45	4.66	4.37	4.62	3.00	3.27	
Ác. aspártico	8.10	8.91	9.11	10.44			
Ác. glutâmico	10.93	12.96	13.47	15.66			
Alanina	5.67	5.47	4.95	5.22			
Glicina	6.28	5.87	5.35	5.42			
Prolina	n.d .	3.85	3.96	n. d.			
Serina	3.04	3.85	3.76	4.42			
Tirosina	2.83	2.83	2.97	3.62			

* - Estimativa das necessidades em aminoácidos essenciais para dourada (Kaushik, 1998), a (Fenilalanina+tirosina), b (Metionina+cistina)

** - Necessidades em aminoácidos para dourada calculadas com base na composição corporal (Vergara, 1992)

*** - Necessidades em aminoácidos essenciais para dourada (Luquet e Sabaut, 1974), b (Metionina+cistina)

Após um período de adaptação de duas semanas, os juvenis de dourada, com peso médio inicial de 12 g, foram aleatoriamente divididos em grupos triplicados (99 animais por tanque), conforme referido na metodologia geral. A temperatura média da água foi de 21 °C e a salinidade média da água foi de 35 ‰ durante o ensaio.

Cada grupo triplicado de animais foi alimentado com uma dieta experimental manualmente, duas vezes ao dia, à saciedade visual, por um período de 9 semanas, excepto nos dias anteriores às pesagens e nos próprios dias das pesagens. Os consumos de alimento foram registados em períodos de três semanas, no dia da pesagem de grupo dos lotes.

Foram recolhidos 5 animais do lote comum no início do ensaio assim como de cada um dos tanques experimentais no final do ensaio, para a determinação da composição química e valor energético da carcaça.

Para a determinação da digestibilidade, quatro lotes de 20 animais com peso médio individual de 100 g, foram transferidos para os tanques do circuito de digestibilidade. Após um período de adaptação de duas semanas, foi iniciada a recolha das fezes correspondentes aos alimentos marcados (1 % de óxido de crómio, Cr₂O₃), durante 3 períodos de oito dias, conforme descrito na metodologia geral.

3. 3. Resultados

3. 3. 1. Crescimento e eficiência da utilização do alimento

As dietas experimentais, independentemente do nível de substituição proteica, continham níveis baixos de metionina, sendo o único aminoácido essencial limitante nas dietas experimentais, em relação aos valores estimados das necessidades da dourada determinados por diversos autores (Tab 3. 4.).

Os resultados de crescimento e eficiência da utilização do alimento são apresentados na tabela 3. 5. e nas figuras 3. 1. e 3. 2.

No final do ensaio de crescimento, os pesos médios finais dos animais foram semelhantes ao do controlo, apresentando o grupo alimentado com a dieta 4 um ganho de peso diário ligeiramente mais baixo, mas não estatisticamente diferente dos outros grupos.

Os animais aceitaram bem as dietas e não houve diferenças significativas de ingestão do alimento entre os grupos experimentais. Durante o ensaio, observou-se uma tendência de aumento da mortalidade em todos os grupos experimentais com os níveis crescentes da inclusão de bagaço de soja.

O índice de crescimento específico mostrou uma tendência para diminuir com aumento do nível de incorporação de bagaço de soja nas dietas experimentais (1.48 para 1.38), sem diferenças significativas entre si.

O índice de conversão alimentar não foi estatisticamente diferente entre os grupos experimentais, mas verificou-se uma tendência de aumento à medida que o nível de incorporação de bagaço de soja aumentou nas dietas experimentais (1.46 para 1.73).

Com o aumento da incorporação de bagaço de soja nas dietas experimentais, houve uma diminuição do índice de eficiência proteica, mas as diferenças entre os grupos também não foram estatisticamente significativas.

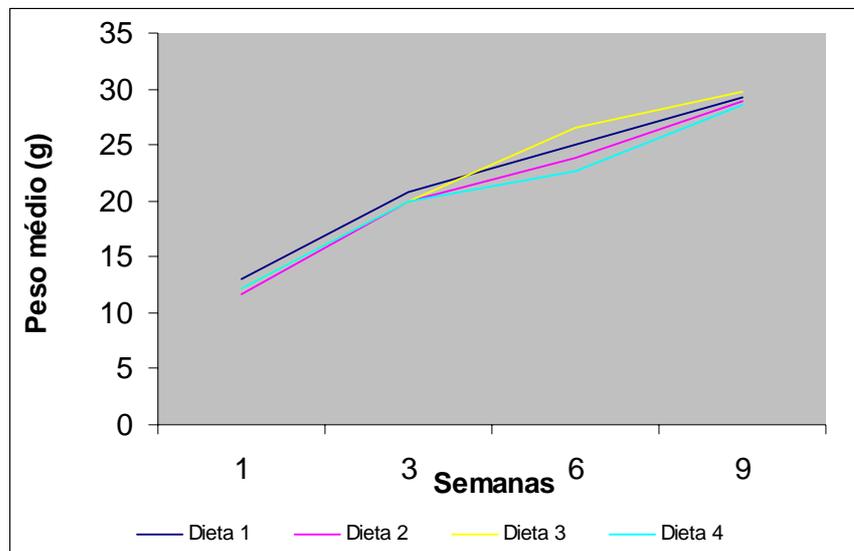


Figura 3. 1. Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as dietas experimentais ao longo do ensaio

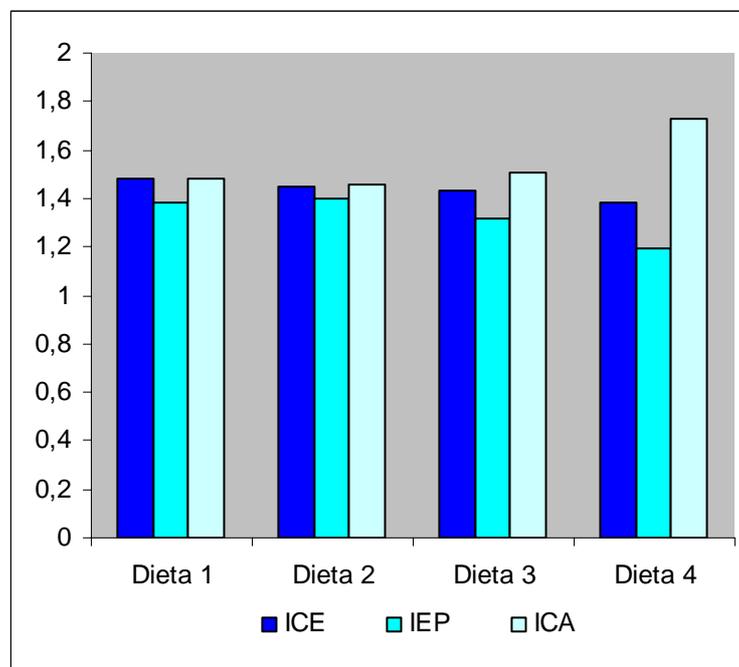


Figura 3. 2. Comparação dos índices de crescimento específico, de eficiência proteica e de conversão alimentar dos grupos experimentais

Tabela 3. 5. Crescimento e utilização do alimento nas douradas alimentadas com as dietas experimentais

Dieta	1	2	3	4	EPM
Peso médio inicial (g)	12.96	11.58	12.15	12.07	± 0.33
Peso médio final (g)	29.27	28.87	29.84	28.54	± 0.96
Mortalidade (%)	4.30	16.70	19.70	28.30	± 7.23
Ingestão do alimento (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	16.56	17.27	17.10	16.97	± 0.39
Ganho de peso diário (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	19.54	20.82	19.50	15.81	± 2.08
Índice de crescimento específico	1.48	1.45	1.43	1.38	± 0.05
Índice de conversão alimentar	1.48	1.46	1.51	1.73	± 0.11
Índice de eficiência proteica	1.38	1.40	1.32	1.19	± 0.07

EPM – erro padrão médio. Os valores não são significativamente diferentes ($P > 0.05$)

3. 3. 2. Composição corporal

Os valores obtidos para a composição corporal das douradas alimentadas com as dietas experimentais estão indicados na tabela 3. 6.

Relativamente à composição corporal inicial, no final do ensaio os teores em humidade e em cinzas dos grupos experimentais registaram um decréscimo. Contrariamente os teores em proteína, em lípidos e em energia registaram um aumento. O índice hepatossomático e o índice visceral aumentaram no final do ensaio, em relação aos valores iniciais.

No final do ensaio, o teor em proteína foi significativamente mais elevado nos animais alimentados com a dieta 4 do que no grupo da dieta 2. O teor em lípidos diminuiu com o aumento do nível de incorporação de bagaço de soja nas dietas, sendo as diferenças significativas entre o grupo controlo e aquele alimentado com a dieta 4.

Em relação aos teores em humidade, em cinzas e em energia, não se registaram diferenças significativas entre os diferentes grupos experimentais.

3. Bagaço de soja

O índice hepatossomático dos animais alimentados com a dieta 2 foi significativamente mais elevado do que os dos animais alimentados com as dietas 3 e 4. O índice visceral mostrou uma tendência, não significativa, para diminuir com o aumento do nível de inclusão de bagaço de soja nas dietas experimentais.

Tabela 3. 6. Composição corporal (base fresca), valor energético, índice hepatossomático e índice visceral

Dieta	Início	Final				EPM
		1	2	3	4	
Humidade (%)	74.8	66.63	67.33	68.13	67.67	± 0.35
Proteína (%)	15.90	16.80 ^{ab}	16.57 ^a	16.80 ^{ab}	17.40 ^b	± 0.12
Lípidos (%)	4.10	12.30 ^a	11.67 ^{ab}	10.50 ^{ab}	10.07 ^b	± 0.42
Cinzas (%)	5.20	3.93	4.33	4.20	4.43	± 0.22
Energia (kJ/g)	4.74	7.68	7.56	6.89	7.20	± 0.18
IHS (%)	1.16	2.14 ^{bc}	2.25 ^c	1.62 ^a	1.88 ^{ab}	± 0.07
IV (%)	5.21	7.20	6.92	6.70	6.67	± 0.18

EPM – erro padrão médio; IHS – índice hepatossomático; IV – índice visceral

Valores situados, na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si (P<0.05)

3. 3. 3. Coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD_a)

Os coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD_a) da matéria seca, proteína e energia das diferentes dietas experimentais estão indicados na tabela 3. 7.

Os CUD_a da matéria seca e da energia apresentaram um decréscimo significativo com o aumento do nível de incorporação de bagaço de soja nas dietas experimentais, apresentando valores de CUD_a da dieta 4 significativamente mais baixos do que os das dietas 1 e 2. Os CUD_a da proteína das dietas experimentais foram bastante elevados e similares em todos os grupos (>90 %).

Tabela 3. 7. Coeficientes de utilização digestiva aparente dos componentes das dietas experimentais (%)

Dieta	1	2	3	4	EPM
Matéria seca	81.40 ^a	81.33 ^a	78.03 ^{ab}	72.13 ^b	± 1.00
Proteína	95.89	95.66	95.89	95.81	± 0.46
Energia	92.90 ^a	92.27 ^a	90.46 ^{ab}	84.92 ^b	± 1.06

EPM – erro padrão médio. Valores situados, na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si (P<0.05)

3. 3. 4. Balanços azotado e energético

Os balanços azotados e energéticos foram estimados pelo método do balanço das carcaças e estão indicados na tabela 3. 8.

Ambos os casos, não foram registadas diferenças significativas entre os grupos experimentais. No entanto, o azoto ingerido mostrou uma tendência ligeira de aumento à medida que o nível de incorporação de bagaço de soja aumentou nas dietas. Todavia o azoto retido dos grupos alimentados com dietas com bagaço de soja, tendeu a baixar com a incorporação de bagaço de soja, apresentando o grupo controlo um valor mais elevado.

Do mesmo modo, as retenções azotadas (% N ingerido e % N digestível) sofreram variações entre as dietas, mostrando uma tendência de diminuição com o aumento do nível de incorporação de bagaço de soja. Registaram-se valores mais elevados de retenções azotadas no grupo alimentado com a dieta 1.

Quanto à utilização da energia, observaram-se as mesmas tendências acima referidas em todos os valores. O grupo alimentado com dieta 1 apresentou um valor de ingestão de energia inferior e um valor de energia retida superior em relação aos outros grupos, sem diferenças significativas entre si. As retenções energéticas deste grupo também foram

superiores, verificando uma relação inversamente proporcional ao aumento do nível de inclusão de bagaço de soja.

Tabela 3. 8. Balanços azotado e energético

	1	2	3	4	EPM
<u>Utilização do azoto</u>					
Azoto ingerido (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	8.36	9.25	9.41	9.41	± 0.32
Azoto retido (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	2.07	1.85	1.81	1.54	± 0.26
Retenção (% N ingerido)	26.25	24.84	24.72	23.52	± 1.20
Retenção (% N digestível)	27.37	25.97	25.78	24.54	± 1.24
<u>Utilização da energia</u>					
Energia ingerida (kJ Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	323.28	357.57	358.73	360.85	± 12.00
Energia retida (kJ Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	118.64	110.71	93.20	86.57	± 9.79
Retenção (% E ingerida)	38.45	36.83	32.02	31.73	± 1.38
Retenção (% E digestível)	41.39	39.91	35.02	36.94	± 1.50

EPM – erro padrão médio; N - azoto; E - energia
 Valores não são significativamente diferentes (P>0.05)

3. 4. Discussão

A avaliação do valor nutritivo da farinha de soja como substituto parcial e total da farinha de peixe em dietas para várias espécies de peixes, quer individualmente quer em combinações de várias matérias primas, tem sido objecto de vários estudos. De uma maneira geral, a maioria dos estudos realizados observaram uma relação inversamente proporcional entre o crescimento e os níveis de inclusão da farinha de soja nas dietas. O mesmo se observou no presente estudo.

Viyakarn *et al.* (1992) verificaram que a inclusão de 50 % de bagaço de soja em dietas para seriola proporcionou uma performance zootécnica inferior à da dieta controlo, mas o bagaço de soja podia ser incluído até 30 %, proporcionando uma performance similar à de controlo. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Watanabe *et al.* (1992) também em seriola. Por outro lado, Watanabe e Pongmaneerat (1993)

demonstraram que o crescimento da truta arco-íris, alimentada com dietas de alta densidade energética, com níveis de inclusão de bagaço de soja até 50 %, era similar ao da dieta controlo (farinha de peixe como única fonte proteica).

Em salmão do Atlântico, Olli *et al.* (1995) mostraram que a substituição proteica de 20 % da farinha de peixe por bagaço de soja descascado, proporcionava um crescimento similar ao da dieta controlo, observando uma redução de crescimento quando o nível de substituição proteica aumentava para 40 %. Pelo contrário, Refstie *et al.* (1998) concluíram que 40 % da proteína da farinha de peixe podia ser substituída pela proteína do bagaço de soja descascado e tostado, em dietas extrudidas para salmão do Atlântico, apesar do crescimento e da conversão do alimento serem ligeiramente menores aos observados com a dieta controlo. No trabalho de Carter e Hauler (2000), também em salmão do Atlântico, os níveis de substituições proteicas de 25 e 33 % da farinha de peixe por bagaço de soja descascado em dietas extrudidas não afectaram o crescimento dos animais, sendo os resultados comparáveis aos obtidos com os da dieta controlo e de uma dieta comercial.

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam uma diminuição global da performance zootécnica dos animais proporcional ao aumento do nível de inclusão de bagaço de soja nas dietas experimentais, apesar de, estatisticamente, não se registarem diferenças significativas entre as várias dietas experimentais e a dieta controlo. Também Robaina *et al.* (1995) não encontraram diferenças significativas no crescimento das douradas alimentadas com dietas incluindo até 30 % de proteína da farinha de soja, submetida a tratamento térmico. Contudo, observaram uma redução global do crescimento à medida que se aumentava o nível de proteína de origem vegetal nas dietas. Estes autores concluíram que o nível de proteína da farinha de soja não deveria exceder 20 % da proteína total da dieta, como prevenção à deposição lipídica do fígado. Também em dourada, Nengas *et al.* (1996) mostraram que o nível de substituição proteica de farinha de peixe por bagaço de soja não deveria ser superior a 20 %, observando-se uma diminuição significativa do crescimento com o aumento da substituição proteica (30 e 40 %) quando comparada com a dieta controlo e uma dieta comercial. Mas estes autores não observaram quaisquer alterações morfológicas dos

tecidos de diversos órgãos (brânquias, rins, fígado e tubo digestivo) das douradas alimentadas com as dietas experimentais.

A diminuição do crescimento com o aumento da inclusão de proteína da farinha de soja nas dietas poderá atribuir-se a diversos factores, entre eles a presença de factores anti-nutricionais na farinha de soja, que limitam a utilização desta matéria prima com níveis de inclusão elevados, em dietas para peixes (Tacon, 1997), ou a má palatabilidade das dietas (Dias *et al.*, 1997), ou a disponibilidade de energia, devido ao tipo de hidratos de carbono. Outra das possíveis razões da diminuição do crescimento poderá atribuir-se ao perfil em aminoácidos não ser equilibrado. As dietas com bagaço de soja (dietas 2, 3 e 4) apresentaram níveis baixos de metionina em relação aos valores estimados das necessidades da dourada (Vergara, 1992; Kaushik, 1998).

A farinha de soja contém uma série de factores anti-nutricionais tais como inibidores de enzimas proteolíticas, hemaglutininas ou lectinas e ácido fítico, entre outros (Krogdahl, 1989; Guillaume, 1991; Tacon, 1997), contribuindo para a diminuição da qualidade nutritiva da soja. Porém, a maioria destes factores anti-nutricionais são destruídos ou inactivados através de tratamentos tecnológicos adequados (Viola *et al.*, 1983; Amerio *et al.*, 1989; Shimeno *et al.*, 1992).

Alarcón *et al.* (1999) realizaram um estudo *in vitro* do efeito de inibidores de enzimas proteolíticos presentes em várias matérias primas de origem animal e vegetal na actividade das proteases alcalinas digestivas de juvenis de dourada. Constataram que a actividade inibidora da farinha de soja crua e do bagaço de soja era elevada (42.6 e 39.9 % respectivamente) quando comparadas com outras fontes proteicas testadas. Esta actividade era reduzida quando a farinha de soja era incorporada em dietas experimentais (13.2 %) ou quando o bagaço de soja era sujeito a um pré-tratamento ácido (33 %). Também, Robaina *et al.* (1995) constataram uma diminuição significativa da actividade inibidora de tripsina nas douradas alimentadas com uma dieta com 30 % de proteína da farinha de soja, indicando que esta fonte tinha recebido tratamento tecnológico adequado. No estudo efectuado por Nengas *et al.* (1996), o bagaço de soja utilizado possuía uma baixa actividade inibidora de tripsina.

Vários outros factores (ácido fítico, inibidores de enzimas proteolíticos mais estáveis ao calor e saponinas) poderão ser a causa do baixo valor nutritivo da soja e da diminuição do crescimento e da fraca utilização digestiva dos nutrientes (Dabrowski *et al.*, 1989; Olli *et al.*, 1995; Robaina *et al.*, 1995; Davies e Morris, 1997; Bureau *et al.*, 1998; Refstie *et al.*, 1998; Arndt *et al.*, 1999).

Neste trabalho, os coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD_a) da proteína foram elevados em todas as dietas. A digestibilidade da proteína não foi afectada com a inclusão do bagaço de soja nas dietas, indicando que a proteína da soja foi bem digerida pela dourada. Robaina *et al.* (1995) observaram uma redução significativa nos CUD_a da proteína com o aumento do nível de inclusão de farinha de soja nas dietas. Contrariamente, em seriola, com a incorporação de bagaço de soja com níveis de 30, 40 e 50 % em dietas de alta densidade energética, observou-se um CUD_a da proteína similar ao da dieta controlo. Porém, observou-se uma diminuição dos CUD_a dos lípidos, dos hidratos de carbono e da energia na dieta com 50 % de bagaço de soja (Watanabe *et al.*, 1992). Posteriormente Pongmaneerat e Watanabe (1993 a), em truta arco-íris, constataram que a digestibilidade da proteína e dos lípidos na dieta com 30 % de bagaço de soja foi similar ao da dieta controlo, enquanto que a digestibilidade da energia era mais baixa.

No presente trabalho, o CUD_a da energia da dieta com maior inclusão de bagaço de soja foi significativamente menor do que nas outras dietas. Esta redução significativa da energia digestível poderá ser atribuída à pior disponibilidade dos hidratos de carbono do bagaço de soja. Refstie *et al.* (2000) efectuaram um estudo de crescimento de truta arco-íris e de salmão do Atlântico alimentados com dietas extrudidas em que se procedeu à substituição proteica de 37 % da proteína da farinha de peixe pela do bagaço de soja descascado. A digestibilidade da proteína foi similar em ambas as dietas e em cada espécie. Os CUD_a da gordura e da energia da dieta com bagaço de soja diminuíram significativamente em relação à da dieta com farinha de peixe no salmão do Atlântico, enquanto que, na truta arco-íris, esta diminuição só foi significativa para a energia. Os autores constataram que a digestibilidade dos nutrientes da dieta foi mais elevada na

truta arco-íris do que no salmão do Atlântico. A diminuição de CUD_a da energia é consistente com um trabalho anterior de Refstie *et al.* (1997), no qual testaram a substituição da farinha de peixe por bagaço de soja tostado numa dieta para truta arco-íris. Carter e Hauler (2000) verificaram, em salmão do Atlântico, que os CUD_a da proteína das dietas extrudidas, com 25 e 33 % de proteína de bagaço de soja, foram superiores a 90 % e os CUD_a da energia foram mais baixos.

A soja crua contém aproximadamente 30 % de hidratos de carbono, repartidos em 10 % de oligossacarídeos solúveis (sacarose, rafinose, estaciose), 1 % de amido e 20 % de polissacarídeos solúveis e insolúveis (hemicelulose, celulose, pectinas) (Snyder e Kwon, 1987; Arnesen *et al.*, 1989; Krogdahl, 1989). Estes hidratos de carbono não são digeridos e absorvidos pelos animais monogástricos (Lim e Akiyama, 1992), diminuindo deste modo a disponibilidade dos nutrientes (Arnesen *et al.*, 1989; Krogdahl, 1989; Watanabe e Pongmaneerat, 1993; Refstie *et al.*, 2000). Arnesen *et al.* (1989) constataram que os hidratos de carbono solúveis em álcool (oligossacarídeos) foram responsáveis pela redução da digestibilidade da gordura e da proteína das dietas com farinha de soja no salmão do Atlântico, não observando o mesmo efeito na truta arco-íris. Este efeito foi também constatado por outros autores em truta arco-íris e em salmão do Atlântico (Refstie *et al.*, 1998, 2000). Kaushik *et al.* (1995) verificaram que o nível de hidratos de carbono solúveis no concentrado proteico de soja era baixo (2 %), não influenciando os valores de digestibilidade dos nutrientes em truta arco-íris. Estes autores também observaram o mesmo efeito quando utilizaram a “soy flour” na dieta, apresentando esta matéria prima um nível de oligossacarídeos solúveis de 18 %.

No que diz respeito à utilização do azoto e da energia, no presente trabalho, verificou-se uma tendência para a diminuição de proteína e a energia disponível para ser retida com o aumento da incorporação de bagaço de soja nas dietas. Também, Robaina *et al.* (1995) verificaram que os valores da retenção azotada em douradas diminuíram com o aumento da inclusão de farinha de soja nas dietas experimentais, apresentando a dieta com o nível de substituição proteica de 20 % uma retenção azotada significativamente mais baixa do que a do grupo controlo. A retenção da energia das douradas alimentadas com as dietas com farinha de soja foram similares à do grupo controlo, excepto a da dieta

3. Bagaço de soja

com 30 % de proteína da farinha de soja. Ainda em dourada, Kissil *et al.* (2000) observaram, com a substituição parcial e total da proteína da farinha de peixe por concentrado proteico de soja, que a retenção azotada não foi afectada, excepto no grupo alimentado com a dieta com 100 % de proteína de origem vegetal, que foi significativamente mais baixa. Contudo, a retenção da energia diminuiu significativamente com o aumento do nível de inclusão de concentrado proteico de soja. Em salmão do Atlântico, Refstie *et al.* (2000) observaram uma redução significativa da retenção do azoto e da retenção da energia da dieta com soja comparada com a dieta com farinha de peixe.

Quanto à composição corporal das douradas, verificou-se que os animais alimentados com a dieta com maior inclusão de bagaço de soja, apresentaram um teor em proteína significativamente mais elevado e um teor em lípidos significativamente mais baixo em relação aos outros grupos experimentais. Por outro lado, o decréscimo do teor em lípidos corporais foi acompanhado de decréscimo significativo de índice hepatossomático e uma tendência para diminuição do índice visceral. Em juvenis e adultos de seriola, Viyakarn *et al.* (1992) observaram um ligeiro aumento do teor em lípidos dos animais alimentados com as dietas com níveis crescentes de bagaço de soja. Os mesmos autores também encontraram uma relação proporcional entre o teor em lípidos no fígado e o índice hepatossomático, que eram elevados e tendiam a aumentar com a inclusão de bagaço de soja. Em dourada, o aumento de deposição lipídica no fígado foi verificado nos animais alimentados com dietas com níveis mais elevados de farinha de soja por Robaina *et al.* (1995). Este aumento foi acompanhado de uma ligeira diminuição do índice hepatossomático, excepto no grupo da dieta com nível máximo testado (30 %).

Em truta arco-íris, a inclusão de bagaço de soja com níveis crescentes até 50 % não afectou a composição corporal dos animais, excepto para o teor em lípidos que registou um aumento com o nível de incorporação de farinha de soja (Alexis, 1990). Este efeito foi também observado por Pongmaneerat e Watanabe (1992) na mesma espécie. Também em seriola, a inclusão de bagaço de soja nas dietas com níveis de 20 e 30 %, não afectou a composição corporal dos animais (Shimeno *et al.*, 1993 a)

Assim podemos concluir que, nas nossas condições experimentais, se verificou uma tendência para uma diminuição progressiva da performance zootécnica dos animais com o aumento do nível de bagaço de soja em dietas para juvenis de dourada. Contudo o bagaço de soja pode substituir 20 % a proteína da farinha de peixe em dietas para dourada, sem afectar significativamente o crescimento da dourada.

4. AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DAS FARINHAS DE SOJA SUBMETIDAS A DIFERENTES TRATAMENTOS TECNOLÓGICOS, COMO FONTES PROTEICAS NA DIETA

4. 1. Introdução

A inclusão da farinha de soja como alternativa à farinha de peixe em dietas para peixes tem sido objecto de vários estudos realizados com peixes marinhos e de água doce que demonstraram que pode ser usada, dentro de certos limites, como fonte proteica complementar nas dietas (Tacon *et al.*, 1983; Amerio *et al.*, 1989; Pongmaneerat e Watanabe, 1992; Shimeno *et al.*, 1993 a; Watanabe e Pongmaneerat, 1993; Oliva Teles *et al.*, 1994; Robaina *et al.*, 1995; Nengas *et al.*, 1996; Carter e Hauler, 2000).

Como já foi referido, existem vários factores que diminuem a qualidade nutritiva da farinha de soja, influenciando o crescimento e a eficiência do alimento dos animais. Foram realizados vários trabalhos sobre a utilização de tratamentos tecnológicos aplicados à farinha de soja com o objectivo de melhorar a sua qualidade nutritiva e a digestibilidade dos nutrientes (Tacon *et al.*, 1983; Viola *et al.*, 1983; Amerio *et al.*, 1989; Murai *et al.*, 1989; Shimeno *et al.*, 1992; Oliva Teles *et al.*, 1994; Nengas *et al.*, 1996; Refstie *et al.*, 1998; Arndt *et al.*, 1999).

Vários estudos têm também demonstrado que os concentrados proteicos de soja podem ser utilizados como substituto total e parcial da farinha de peixe em dietas para truta arco-íris (Kaushik *et al.*, 1995), para dourada (Kissil *et al.*, 2000) e seriola (Takii *et al.*, 1989), sem efeitos negativos na performance zootécnica dos animais.

O objectivo deste ensaio foi avaliar o efeito do processamento na utilização das diferentes farinhas de soja, submetidas a tratamentos tecnológicos, em dietas para juvenis de dourada.

4. 2. Material e métodos

No ensaio de crescimento e de digestibilidade foram utilizadas 4 matérias primas de origem vegetal diferentes como substituto parcial da farinha de peixe. As matérias primas utilizadas foram diferentes farinhas de soja submetidas a diferentes tratamentos tecnológicos: bagaço de soja, soja integral extrudida, bagaço de soja tostado e soja micronizada .

Segundo as informações do fabricante (Intacol, Indústrias Agro-Alimentares, Portugal), a micronização da soja procedeu-se da seguinte maneira: sementes de soja foram humedecidas durante um período de 48 horas. Após este período, foram colocadas num tabuleiro do processador de infravermelho vibratório (Micro Red 20, de 1989). Em seguida foram floculadas por esmagamento num laminador e finalmente moídas num moinho de martelos. As condições de fabrico foram : capacidade aproximadamente de 2 toneladas por hora, 20 - 22 % de humidade à entrada e 90 - 100 °C de temperatura máxima interna atingida durante a micronização. Não dispomos de informação sobre o tratamento tecnológico das restantes farinhas de soja.

Foram formuladas 5 dietas experimentais numa base isoproteica e isolipídica (Tab. 4.1.). A dieta controlo (dieta 1) teve como única fonte proteica a farinha de peixe. Nas outras 4 dietas experimentais procedeu-se a substituição proteica parcial de 20 % da farinha de peixe pela proteína de soja, submetida a diferentes tratamentos tecnológicos: dieta 2 - bagaço de soja extrudida; dieta 3 - soja integral extrudida; dieta 4 - bagaço de soja tostado e dieta 5 - soja micronizada. Na formulação da componente lipídica das dietas experimentais manteve-se constante a proporção de óleos de peixe e gordura de origem vegetal em todas as dietas (Tab. 4. 1.).

A preparação das dietas experimentais foi efectuada conforme mencionado na metodologia geral. A composição química e valor energético das dietas experimentais e das matérias primas utilizadas são indicadas nas tabelas 4. 1. e 4. 2., e os perfis em aminoácidos apresentados nas tabelas 4. 3. e 4. 4.

Tabela 4. 1. Composição das dietas experimentais

Dieta	1	2	3	4	5
<u>Componentes (g Kg⁻¹ dieta)</u>					
Farinha de peixe da Noruega	620.4	496.4	496.4	496.4	496.4
Bagaço de soja extrudido		179.2			
Soja integral extrudida			230.5		
Bagaço de soja tostado				186.7	
Soja micronizada					240.8
Dextrina	277.8	211.2	198.9	204.8	195.8
Minerais	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Vitaminas	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Cloreto de colina (60 %)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Alginato de sódio	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
Óleo de fígado de bacalhau	3.3	17.0	17.0	17.0	17.0
Óleo de soja	48.5	46.2	7.2	45.1	0
TOTAL	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0
<u>Composição química</u>					
Humidade (%)	8.00	7.80	5.10	5.60	5.50
Proteína bruta (% MS)	47.10	46.20	46.50	46.30	47.00
Gordura bruta (% MS)	11.90	11.50	11.70	11.70	11.90
Cinzas (% MS)	9.20	8.80	9.10	8.90	8.90
Energia bruta (kJ/g MS)	19.74	19.83	20.01	19.68	20.04

MS – matéria seca

Tabela 4. 2. Composição química e valor energético das matérias primas utilizadas

	Humidade (%)	Proteína (%MS)	Gordura (%MS)	Cinzas (%MS)	Energia (kJ/g MS)
Farinha de peixe da Noruega (1)	7.90	72.53	10.97	11.73	20.35
Bagaço de soja tostado (2)	14.40	48.20	1.86	6.52	17.32
Soja micronizada (3)	7.70	37.38	20.15	4.88	21.22
Bagaço de soja extrudida (4)	12.60	50.23	1.26	7.21	17.90
Soja integral extrudida (5)	12.90	39.04	17.91	5.51	21.19

MS – matéria seca. 1 – Sorgal, S. A., do Grupo Soja de Portugal; 2 e 5 – Unifac, União de Importadores de Matérias Primas, S.A., Portugal; 3 – Intacol, Indústrias Agro-Alimentares, Portugal; 4 – Alpis, Alimentos Compostos Lda, Portugal

4. Tratamentos tecnológicos

Tabela 4. 3. Composição em aminoácidos das matérias primas (g/16 g N)

Aminoácidos	Farinha de peixe	Bag. soja extrudido	Soja integ. extrudida	Bag. soja tostado	Soja micronizada
Arginina	5.10	6.57	7.43	7.26	7.49
Fenilalanina	3.31	4.38	4.87	4.98	4.82
Histidina	1.79	2.39	2.56	2.49	2.68
Isoleucina	2.90	3.19	3.59	3.53	3.48
Leucina	6.62	6.57	7.43	7.26	7.49
Lisina	7.17	5.97	6.66	6.22	6.42
Metionina	2.34	1.00	1.28	1.25	1.07
Treonina	3.86	3.58	3.84	3.94	4.01
Valina	4.96	4.98	5.64	5.60	5.62
Ác. aspártico	8.14	10.35	11.53	11.41	11.50
Ác. glutâmico	12.41	17.92	17.16	19.09	16.59
Alanina	5.65	3.98	4.36	4.36	4.28
Glicina	5.24	3.78	4.36	4.36	4.28
Prolina	3.86	4.78	5.38	5.19	5.35
Serina	3.86	4.58	5.12	5.19	5.08
Tirosina	3.03	3.58	3.84	3.94	4.01

Tabela 4. 4. Composição em aminoácidos das dietas experimentais (g/16 g N)

Aminoácidos	Dietas					AA*	AA**	AA***
	1	2	3	4	5			
Arginina	7.64	7.58	6.88	6.26	6.17	5.40	4.33	<6.00
Fenilalanina	4.03	3.90	3.66	3.67	3.62	2.90a	2.53	
Histidina	1.91	1.73	1.72	1.73	1.70	1.70	1.82	
Isoleucina	4.03	3.90	3.87	3.89	3.83	2.60	3.76	
Leucina	7.01	6.93	6.88	7.34	7.23	4.50	5.24	
Lisina	7.86	6.93	6.88	6.70	6.81	5.00	5.49	5.00
Metionina	1.91	1.73	1.94	1.94	2.13	2.40b	2.00	4.00b
Treonina	4.25	3.68	3.87	3.89	3.83	2.80	3.69	
Valina	5.31	4.76	4.73	4.75	4.68	3.00	3.27	
Ác. aspártico	9.13	8.88	8.82	8.64	8.72			
Ác. glutâmico	13.59	13.42	13.55	13.39	13.4			
Alanina	6.16	5.41	5.16	5.18	5.32			
Glicina	5.73	4.98	4.95	5.18	5.11			
Prolina	4.25	4.55	4.52	4.10	4.26			
Serina	4.03	3.90	4.09	3.89	4.04			
Tirosina	3.19	3.03	3.01	3.02	2.98			

* - Estimativa de necessidades em aminoácidos essenciais para dourada (Kaushik, 1998), a (fenilalanina+tirosina), b (metionina+cistina).

** - Necessidades em aminoácidos para dourada calculadas com base na composição corporal (Vergara, 1992)

*** - Necessidades em aminoácidos essenciais para dourada (Luquet e Sabaut, 1974), b (metionina+cistina)

Após um período de adaptação de duas semanas, os juvenis de dourada, com peso médio inicial de 6.7 g, foram aleatoriamente divididos em 10 grupos duplicados (40 animais por tanque) conforme referido na metodologia geral. A temperatura média da água durante o ensaio foi de 22 °C e a salinidade foi de 32 ‰.

Cada grupo duplicado de animais foi alimentado com cada dieta experimental, manualmente, duas vezes ao dia, à saciedade visual, por um período de 12 semanas, excepto nos dias anteriores às pesagens e nos próprios dias das pesagens. Os consumos de alimento foram registados em períodos de três semanas, no dia da pesagem de grupo dos lotes.

Para a determinação da composição corporal foram recolhidos 5 animais do lote comum no início do ensaio assim como de cada um dos tanques experimentais no final do ensaio.

Para determinação da digestibilidade, cinco lotes de 20 animais, com peso médio individual de 100 g, foram transferidos para os tanques do circuito de digestibilidade. Após de período de duas semanas de adaptação, foi iniciada a recolha das fezes correspondentes aos alimentos marcados (1 % de óxido de crómio, Cr₂O₃), durante três períodos de 10 dias, conforme descrito na metodologia geral.

4. 3. Resultados

4. 3. 1. Crescimento e eficiência da utilização do alimento

Na tabela 4. 4. compararam-se os perfis em aminoácidos das dietas experimentais. A dieta 2 apresentou um nível de metionina mais baixo comparado com o da dieta 1, sendo os das restantes dietas ligeiramente mais elevados. Contudo, os níveis de

metionina em todas as dietas foram ligeiramente mais baixos aos dos requisitos estimados para a espécie determinados por diversos autores.

Os resultados de crescimento e eficiência da utilização dos alimentos estão indicados na tabela 4.5. e nas figuras 4. 1 e 4. 2.

No final do ensaio, não se verificou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais. Porém, de uma maneira geral, o grupo alimentado com a dieta 3 apresentou uma performance de crescimento ligeiramente mais baixa de todos grupos experimentais.

Os pesos médios finais dos animais alimentados com dietas com proteína de soja foram ligeiramente mais elevados, excepto o grupo alimentado com a dieta 3, em relação ao do grupo controlo. Observou-se a mesma tendência com o ganho de peso diário, sem diferenças significativas entre si.

Durante o ensaio de crescimento, ocorreu mortalidade em todos os grupos experimentais, mas o grupo alimentado com a dieta 3 apresentou uma mortalidade mais elevada (8.75 %). A ingestão do alimento foi similar em todos os grupos experimentais, apresentando os grupos alimentados com as dietas 2 e 3 uma ingestão de alimento ligeiramente mais elevada.

O índice de crescimento específico assim como o índice de eficiência proteica não foram significativamente influenciados pela fonte proteica utilizada, apresentando valores similares aos da dieta controlo. O índice de conversão alimentar também foi similar em todos os grupos experimentais.

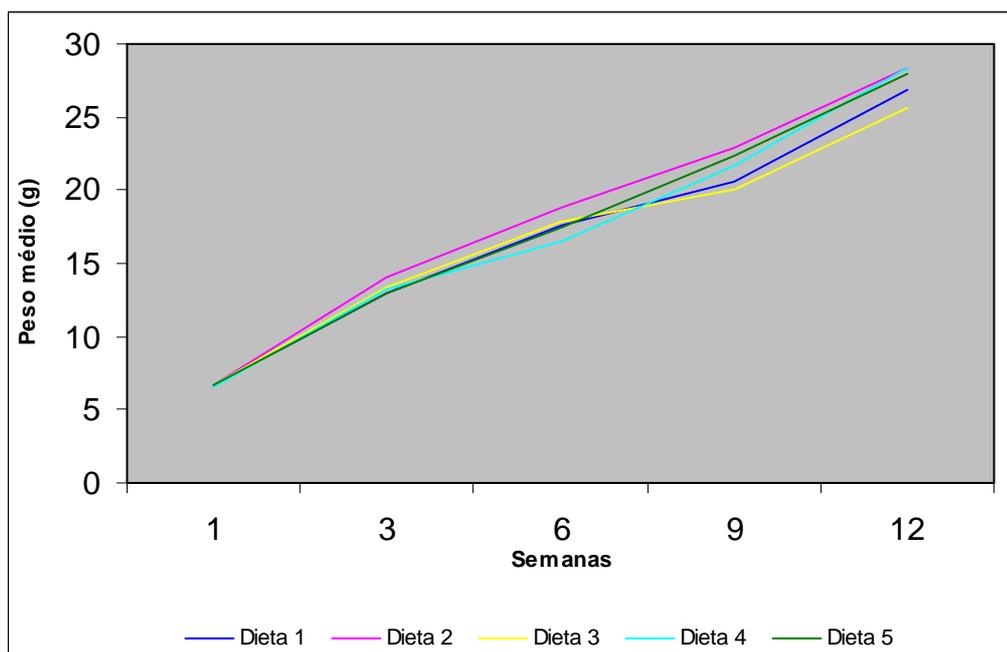


Figura 4. 1. Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as dietas experimentais ao longo do ensaio

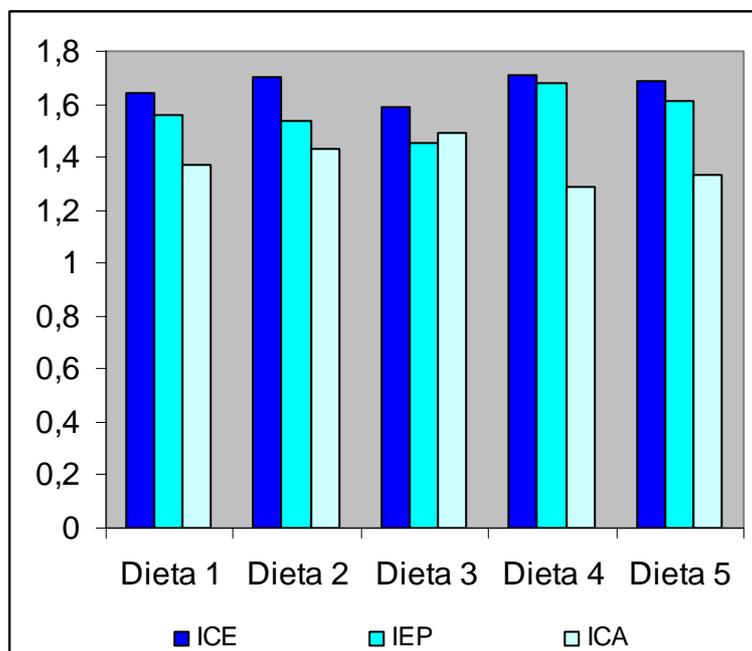


Figura 4. 2. Comparação dos índices de crescimento específico, de eficiência proteica e de conversão alimentar dos grupos experimentais

Tabela 4. 5. Crescimento e utilização do alimento nas douradas alimentadas com as dietas experimentais

	1	2	3	4	5	EPM
Peso médio inicial (g)	6.70	6.70	6.65	6.60	6.65	± 0.11
Peso médio final (g)	26.86	28.40	25.64	28.35	28.02	± 1.70
Mortalidade (%)	2.50	2.50	8.75	3.75	3.75	± 2.59
Ingestão do alimento (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	17.78	19.06	18.69	17.19	17.61	± 0.87
Ganho de peso diário (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	35.19	37.57	32.27	37.88	37.02	± 2.40
Índice de crescimento específico	1.64	1.70	1.59	1.71	1.69	± 0.06
Índice de conversão alimentar	1.37	1.43	1.49	1.29	1.33	± 0.09
Índice de eficiência proteica	1.56	1.54	1.45	1.68	1.61	± 0.10

EPM – erro padrão médio. Os valores não são significativamente diferentes (P>0.05)

4. 3. 2. Composição corporal

Os resultados obtidos para a composição corporal dos animais alimentados com as dietas experimentais estão indicados na tabela 4. 6.

A incorporação da proteína de soja nas dietas experimentais, independentemente dos diferentes tratamentos tecnológicos aplicados, não afectou significativamente a composição corporal dos animais.

Comparativamente com a composição corporal inicial, no final do ensaio, observou-se uma diminuição dos teores em humidade e em proteína e dos índices hepatossomático e visceral. Contrariamente, verificou-se um aumento dos teores em lípidos e em energia. O teor em cinzas não foi significativamente diferente entre os grupos experimentais, sendo similar ao valor inicial.

O índice hepatossomático variou entre 1.3 e 1.78 % e não foi estatisticamente diferente entre os vários grupos experimentais. O índice visceral variou entre 6.8 e 7.43 %, sem diferenças significativas entre si.

Tabela 4. 6. Composição corporal (base fresca), valor energético, índice hepatossomático e índice visceral

Dieta	Início	Final					EPM
		1	2	3	4	5	
Humidade (%)	68.70	66.35	67.55	67.05	66.70	67.00	± 0.45
Proteína (%)	17.00	16.30	16.30	16.30	16.80	16.50	± 0.15
Lípidos (%)	9.50	12.65	11.75	12.00	12.25	11.60	± 0.76
Cinzas (%)	4.40	4.60	4.25	4.10	4.05	4.30	± 0.41
Energia (kJ/g)	6.82	8.01	7.42	7.68	7.86	7.72	± 0.27
IHS (%)	2.08	1.58	1.31	1.43	1.78	1.54	± 0.12
IV (%)	8.98	7.30	6.83	6.80	7.43	7.17	± 0.3

EPM – erro padrão médio; IHS – índice hepatossomático; IV – índice visceral

Os valores não são significativamente diferentes ($P > 0.05$)

4. 3. 3. Coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD_a)

Os coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD_a) da matéria seca, proteína e energia das dietas experimentais estão indicados na tabela 4. 7.

Os CUD_a da proteína das dietas experimentais apresentaram um aumento não significativo com a inclusão da fonte proteica de origem vegetal, independentemente do tratamento tecnológico aplicado. O grupo controlo apresentou um CUD_a da proteína significativamente mais baixo, excepto para os das dietas 2 e 5.

Os CUD_a da matéria seca das dietas 3 e 4 foram mais elevados em relação aos das outras dietas, sendo significativamente diferentes dos CUD_a da matéria seca das dietas 1 e 2.

A incorporação da fonte proteica de origem vegetal proporcionou um aumento significativo de CUD_a da energia, excepto para a dieta 5. O CUD_a da energia da dieta 5 foi mais baixo, mas sendo significativamente diferente dos CUD_a da energia das dietas 3 e 4. A dieta 4 apresentou um CUD_a de energia mais elevado em relação às outras dietas mas estatisticamente diferente com os da dietas 1 e 5.

Tabela 4. 7. Coeficientes de utilização digestiva aparente dos componentes das dietas experimentais (%)

Dieta	1	2	3	4	5	EPM
Matéria seca	61.33 ^a	56.47 ^a	78.00 ^b	78.17 ^b	62.33 ^{ab}	± 2.20
Proteína	73.02 ^a	80.46 ^{ab}	91.37 ^b	91.65 ^b	80.70 ^{ab}	± 2.32
Energia	72.48 ^{ab}	74.61 ^{abc}	86.42 ^{bc}	87.20 ^c	68.77 ^a	± 2.26

EPM – erro padrão médio. Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si (P<0.05)

4. 3. 4. Balanços azotado e energético

Os balanços azotados e energéticos foram estimados pelo método das carcaças e estão indicados na tabela 4.8.

Para ambos os casos não foram registados diferenças significativas entre os grupos experimentais.

Quanto à utilização do azoto, o azoto ingerido foi similar em todos os grupos experimentais, sendo o do grupo alimentado com a dieta 3 mais elevado. Este ligeiro aumento de ingestão de azoto não promoveu uma melhoria da utilização da proteína, apresentando este grupo retenções azotadas (% N ingerido e % N digestível) mais baixas. A retenção azotada (% N ingerido) dos grupos alimentados com as dietas 4 e 5 foram ligeiramente mais elevadas do que a do grupo controlo. Porém, a retenção azotada (% N digestível) do grupo controlo foi mais elevada em relação às dos restantes grupos.

Quanto à utilização da energia, observou-se que a incorporação da soja integral extrudida (dieta 3) diminuiu a energia disponível para ser retida, apesar de apresentar uma ingestão de energia bruta mais elevada. As retenções energéticas (% E ingerida e % E digestível) da dieta 3 foram mais baixas comparadas com as dos outros grupos. As retenções energéticas do grupo controlo foram similares às das dietas 4 e 5.

Tabela 4. 8. Balanços azotado e energético

	1	2	3	4	5	EPM
<u>Utilização do azoto</u>						
Azoto ingerido (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	8.50	8.85	9.10	8.42	8.41	± 0.43
Azoto retido (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	2.07	2.13	1.95	2.30	2.15	± 0.10
Retenção (% N ingerido)	25.02	24.61	23.22	28.15	26.24	± 1.58
Retenção (% N digestível)	34.27	30.59	25.41	30.72	32.52	± 1.85
<u>Utilização da energia</u>						
Energia ingerida (kJ Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	356.20	379.82	391.63	357.94	358.37	± 18.58
Energia retida(kJ Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	108.41	100.54	97.16	112.03	105.27	± 2.97
Retenção (% E ingerida)	31.20	27.29	26.89	32.32	30.14	± 1.26
Retenção (% E digestível)	43.04	36.58	31.12	37.06	43.82	± 3.39

EPM – erro padrão médio; N – azoto; E – energia

Valores não são estatisticamente diferentes (P>0.05)

4. 4. Discussão

Os resultados obtidos no capítulo anterior do presente trabalho indicam que há uma relação inversamente proporcional entre a performance de crescimento do animal e o nível de inclusão de bagaço de soja utilizado. Contudo, a substituição de 20 % da proteína da farinha de peixe pela do bagaço de soja proporciona um crescimento similar ao do grupo controlo.

Vários estudos constataram que a utilização da farinha de soja conduz, por vezes, a resultados contraditórios (Alexis, 1990; Pongmaneerat e Watanabe, 1993 a, b; Watanabe e Pongmaneerat, 1993; Robaina *et al.*, 1995; Nengas *et al.*, 1996). A variabilidade dos resultados pode ser atribuída a vários factores: a baixa palatabilidade, o perfil em aminoácidos essenciais não equilibrado, a natureza dos hidratos de carbono, a presença de factores anti-nutricionais da soja. Todavia, há tratamentos tecnológicos que podem diminuir ou atenuar por inactivação/remoção dos factores anti-nutricionais, melhorando a qualidade nutritiva da soja e aumentando a disponibilidade dos nutrientes, removendo os hidratos de carbono não disponíveis na soja.

4. Tratamentos tecnológicos

No presente trabalho, avaliou-se o efeito do processamento aplicado à farinha de soja na dieta para juvenis de dourada, substituindo 20 % da proteína total da dieta. Os resultados obtidos indicam que esta substituição não afectou significativamente a performance zootécnica da dourada, independentemente do tratamento tecnológico aplicado. Em truta arco-íris, foram testadas cinco farinhas de soja submetidas a diferentes tratamentos tecnológicos (soja integral tostada e soja integral expandida, bagaço de soja sem e com extrusão, e bagaço de soja com extracção com álcool), com níveis de substituição proteica de 50 e 75 % nas dietas (Tacon *et al.*, 1983). A inclusão das diferentes farinhas de soja como substituto parcial nas dietas, independentemente do tratamento tecnológico, não afectou o crescimento e a eficiência da utilização do alimento na truta arco-íris, não se encontrando diferenças entre os tratamentos. Todavia, os autores constataram que a inclusão de proteína de soja integral tostada (50 %), de proteína de bagaço de soja extrudido (75 %) e de proteína de bagaço de soja com extracção com álcool (75 %), proporcionaram um peso médio final, um ganho de peso e um índice de crescimento específico mais elevados. Também em truta arco-íris, Oliva Teles *et al.* (1994) avaliaram o efeito da substituição de 20 % da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de soja, com diferentes tratamentos tecnológicos (soja integral tostada, soja integral extrudida, bagaço de soja e soja micronizada). O crescimento das trutas arco-íris alimentadas com as dietas com as diferentes farinhas de soja foram similares ou ligeiramente superiores ao da truta arco-íris alimentada com a dieta controlo, excepto para o grupo alimentado com a dieta com soja integral extrudida. No nosso trabalho, também se verificou um agravamento não significativo do crescimento e da eficiência da utilização do alimento da dourada quando se efectuou a substituição proteica com soja integral extrudida. A incorporação da soja micronizada utilizada como substituto parcial na dieta para dourada, contribuiu para uma melhoria não significativa do crescimento e da eficiência da utilização do alimento, coincidindo com os resultados obtidos em truta arco-íris por Oliva Teles *et al.* (1994).

Pongmaneerat e Watanabe (1992) utilizaram bagaço de soja sem e com extrusão, com níveis de substituição de 30, 40 e 50 % nas dietas para truta arco-íris. Houve uma diminuição do crescimento e da eficiência da utilização do alimento com o aumento de nível de bagaço de soja. Mas a extrusão aplicada no bagaço de soja não contribuiu para

melhorar a qualidade nutritiva da dieta, pois houve também uma redução progressiva do crescimento com o aumento de nível de bagaço de soja extrudido. Comparativamente com os mesmos níveis de substituição, não se observaram diferenças no crescimento, excepto para o nível máximo de incorporação o qual proporcionou uma melhoria do crescimento. Contudo esta melhoria foi ligeiramente inferior ao do grupo controlo. Por outro lado, em salmão do Atlântico, a utilização do bagaço de soja descascado com níveis de substituição proteica de 25 e 33 %, em dietas extrudidas proporcionou um crescimento similar aos da dieta controlo e de uma dieta comercial (Carter e Hauler, 2000). Estes resultados coincidem com os obtidos também em salmão do Atlântico por Refstie *et al.* (1998), no qual utilizaram bagaço de soja descascado e tostado com nível de substituição proteica de 40 % em dietas extrudidas.

As condições dos tratamentos tecnológicos podem afectar a qualidade do produto final e a digestibilidade dos nutrientes e da energia das matérias primas e das dietas (Allan *et al.*, 2000; Booth *et al.*, 2001). Num estudo realizado por Amerio *et al.* (1989) observou-se o efeito da incorporação do bagaço de soja submetido a tratamento térmico com diferentes períodos de tempo, em dietas para robalo. O bagaço de soja foi submetido a uma temperatura de 100 °C durante 3, 8, 12 e 20 minutos. Os autores constataram que a actividade inibidora de tripsina diminuía com o aumento da duração do período de tempo de tratamento térmico. Os resultados de crescimento neste estudo indicaram que os robalos alimentados com as dietas com bagaço de soja tratado durante 8 e 12 minutos apresentaram uma evolução de peso médio similar à do grupo controlo. Também verificaram que o aquecimento excessivo do bagaço de soja pode prejudicar a qualidade nutritiva da dieta, reduzindo a disponibilidade de alguns aminoácidos. Em dourada, Nengas *et al.* (1996) testaram soja integral, submetida a tratamento térmico, substituindo 35 % a proteína da farinha de peixe na dieta. Os períodos de tempo do tratamento a uma temperatura de 110 °C, foram de 5, 20 e 45 minutos. Os níveis de inibição da tripsina diminuíram com o tratamento e o crescimento das douradas alimentadas com as dietas com soja integral tratada durante 20 e 45 minutos foram similares ao do grupo controlo. Os níveis de lisina da soja integral tratada eram satisfatórios para os requisitos da espécie, independentemente da duração do período de tempo de tratamento.

O tratamento térmico é eficaz na redução da inibição da actividade da tripsina, mas a temperatura excessiva pode resultar numa redução da disponibilidade de aminoácidos, numa desnaturação da proteína assim como numa perda de lisina devido à reacção de Maillard (Arndt *et al.*, 1999). Baseados nos resultados obtidos nos trabalhos atrás mencionados, a soja pode substituir parcialmente a farinha de peixe em dietas para várias espécies, sem redução do crescimento desde que seja devidamente tratada de modo a remover os factores inibidores de tripsina. Por outro lado, o tratamento térmico permite romper as paredes dos grãos de amido e gelatinizar o amido, aumentando a disponibilidade como fonte energética (Tacon e Jackson, 1985). No nosso trabalho não determinámos a actividade inibidora das diferentes farinhas de soja. Os resultados da digestibilidade da proteína das dietas parecem indicar que os tratamentos tecnológicos aplicados terão contribuído para inactivação dos factores anti-nutricionais, observando que a proteína das dietas com soja foi bem digerida pela dourada e a ingestão do alimento foi similar em todos os grupos.

Em truta arco-íris, Gomes *et al.* (1995 a) determinaram a digestibilidade aparente de várias matérias primas, entre elas a soja integral tostada e a soja micronizada. Os autores constataram que as duas farinhas de soja possuíam os CUD_a da proteína elevados (90 %) assim com os da energia (80 - 90 %), indicando que o tratamento tecnológico contribuiu para a eliminação dos factores anti-nutricionais e para o incremento da digestibilidade dos nutrientes e da energia (Tacon e Jackson, 1985; Pongmaneerat *et al.*, 1993). A determinação da digestibilidade das matérias primas também foi efectuada em dourada por Nengas *et al.* (1995). Os autores verificaram que o bagaço de soja e a soja integral com casca apresentavam os CUD_a da proteína de 90 e 78 %, respectivamente, e os da energia de 45 e 62 %, respectivamente. Posteriormente, em dourada, num estudo realizado por Lupatsch *et al.* (1997), os resultados mostraram uma elevada digestibilidade da proteína do bagaço de soja, individualmente e em combinação com a farinha de peixe (87 %) assim como os dos outros componentes (energia - 72 %; hidratos de carbono - 49 %). Os resultados obtidos nestes trabalhos indicam que a farinha de soja é altamente digestível pela dourada.

No presente trabalho os tratamentos tecnológicos aplicados à farinha de soja não afectaram significativamente os CUD_a da proteína das dietas, sendo os valores superiores ao da dieta controlo. Contrariamente os CUD_a da matéria seca e da energia foram afectados significativamente. Em truta arco-íris, Oliva Teles *et al.* (1994) verificaram que não houve diferenças significativas entre os tratamentos na digestibilidade da proteína, da matéria seca e da energia, sendo similares ou ligeiramente superiores aos da dieta controlo.

A extrusão do bagaço de soja em dietas para truta arco-íris não contribuiu para o aumento da digestibilidade aparente da proteína, apresentando valores similares aos das dietas com bagaço de soja sem extrusão, com os mesmos níveis de substituição, e aos da dieta controlo. A digestibilidade da energia e do amido das dietas com bagaço de soja, independentemente do tratamento, foram mais baixos do que os da dieta controlo, a qual continha α -amido como fonte de hidratos de carbono (Pongmaneerat e Watanabe, 1992). Os autores atribuíram a causa da redução da digestibilidade aos hidratos de carbono não disponíveis da soja. Num estudo de Arnesen *et al.* (1989), em truta arco-íris e salmão do Atlântico, observou-se a acção dos hidratos de carbono solúveis em álcool (oligossacarídeos) presentes nas dietas com as diferentes farinhas de soja (crua e submetidas a diferentes tratamentos) com níveis de substituição proteica (0 a 60 %), na utilização dos nutrientes. Os autores verificaram que, em truta arco-íris, os hidratos de carbono eram responsáveis pela redução da digestibilidade da matéria seca das dietas, mas não observando o mesmo efeito na digestibilidade da proteína e da gordura, enquanto que, no salmão do Atlântico, estes influenciaram negativamente a digestibilidade dos nutrientes. Krogdahl (1989) descreveu os factores que afectam a utilização dos nutrientes das fontes proteicas de origem vegetal. Entre eles, mencionou a acção dos oligossacarídeos os quais não estão disponíveis aos peixes, influenciando o trânsito intestinal, assim como a absorção dos nutrientes das dietas experimentais. A extracção dos oligossacarídeos da farinha de soja com álcool parece contribuir para a melhoria da utilização dos nutrientes (Arnesen *et al.*, 1989; Murai *et al.*, 1989; Kaushik *et al.*, 1995).

A remoção da casca das matérias primas de origem vegetal melhora a digestibilidade dos nutrientes e da energia, pois reduz o nível de hidratos de carbono (Allan *et al.*, 2000; Booth *et al.*, 2001). Carter e Hauler (2000) observaram uma melhoria dos CUD_a dos nutrientes e da energia com a utilização do bagaço de soja descascado em dietas para salmão do Atlântico comparado com os da dieta controlo.

No que diz respeito à utilização do azoto e da energia no presente trabalho, verificou-se a mesma tendência observada no crescimento. A eficiência da utilização do azoto e da energia não foi afectada significativamente pelo tratamento tecnológico aplicado. O grupo alimentado com a dieta com soja integral extrudida apresentou valores de retenções azotada e energética mais baixos não significativos em relação aos outros grupos. Em truta arco-íris, Tacon *et al.* (1983) não observaram diferenças significativas na retenção azotada entre os diferentes grupos experimentais. Contrariamente, também em truta arco-íris, Oliva Teles *et al.* (1994) observaram diferenças significativas na retenção azotada nos grupos experimentais, não observando na retenção energética. Em dourada, Nengas *et al.* (1996) verificaram que a retenção azotada aumentou significativamente com a incorporação da soja integral, submetida a tratamento térmico, com períodos de tempo crescentes, apresentando o grupo alimentado com a dieta com soja integral tratada durante 45 minutos, um valor mais elevado do que o grupo controlo.

A remoção de hidratos de carbono com álcool, também contribuiu para a melhoria significativa das retenções azotada e energética quando se incorporou soja tratada com metanol (77 % de substituição proteica) na dieta para truta arco-íris. Pongmaneerat e Watanabe (1992) não observaram diferenças nas retenções azotada e energética entre os grupos alimentados com dietas com bagaço de soja sem e com extrusão.

A composição corporal dos juvenis de dourada não foi influenciada pela incorporação da farinha de soja, independentemente do tratamento tecnológico, nas dietas experimentais. Os resultados confirmam os obtidos por Oliva Teles *et al.* (1994), com 20 % de substituição proteica, e por Tacon *et al.* (1983), com 50 e 75 % de substituição proteica, em truta arco-íris. Também, Nengas *et al.* (1996) constataram a mesma

4. Tratamentos tecnológicos

influência da farinha de soja submetida a tratamento térmico, na composição corporal da dourada. Contrariamente, com a utilização de concentrado proteico de soja, com níveis de substituição proteica de 30, 60 e 100 % nas dietas para dourada, observou-se uma ligeira diminuição significativa dos teores em lipídios e em energia em relação valores iniciais enquanto que os teores em proteína e em cinzas foram similares (Kissil *et al.*, 2000). Mas Kaushik *et al.* (1995) constataram que não houve diferenças na composição corporal da truta arco-íris quando se efectuou uma substituição proteica com concentrado proteico de soja e “soyflour”. Contudo, observou-se um aumento não significativo do teor em lipídios com a utilização do concentrado proteico de soja.

A extrusão empregue no bagaço de soja em dietas para truta arco-íris não afectou a composição corporal, não verificando diferenças nos teores da composição corporal entre os grupos com os mesmos níveis de inclusão de bagaço de soja sem extrusão (Pongmaneerat e Watanabe, 1992). Também Carter e Hauler (2000) não verificaram qualquer influência do aumento de nível de bagaço de soja descascado em dietas extrudidas para salmão do Atlântico.

Em síntese, os resultados deste trabalho demonstram que, com o nível de inclusão testado, a substituição proteica parcial da farinha de peixe pela farinha de soja, independentemente do tratamento aplicado, proporciona uma performance zootécnica da dourada idêntica à do grupo controlo. A extrusão da soja integral parece não contribuir para a qualidade nutritiva desta fonte proteica. Contudo é necessário analisar influência das condições dos diferentes tratamentos tecnológicos na qualidade do produto final.

5. AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DO TREMOÇO (*Lupinus angustifolius* L.) COMO FONTE PROTEICA NA DIETA

5. 1. Introdução

Entre as diversas fontes proteicas de origem vegetal, as leguminosas foram também estudadas como potenciais substitutos da farinha de peixe, apresentando algumas limitações na sua utilização nas dietas compostas tais baixo teor proteico, perfil em aminoácidos menos adequado, elevado teor em hidratos de carbono e factores anti-nutricionais (Carter e Hauler, 2000; Booth *et al.*, 2001). Contudo, dentro das leguminosas, o tremço é uma fonte promissora como substituto parcial da farinha de peixe da dieta e a sua incorporação tem vindo a aumentar em dietas compostas, devido às suas características nutricionais, ao baixo custo e à disponibilidade de mercado (De la Higuera *et al.*, 1988; Hughes, 1988, 1991). Vários estudos indicaram que o tremço pode ser uma boa alternativa à farinha de peixe, sem afectar a performance de crescimento, até níveis de 50 % em truta arco-íris (De la Higuera *et al.*, 1988; Gomes e Kaushik, 1989; Hughes, 1988; 1991; Gomes, 1991; Moyano *et al.*, 1992; Gouveia *et al.*, 1993; Morales *et al.*, 1994; Burel *et al.*, 1998) e em pregado (Burel *et al.*, 2000), 22 % em salmão do Atlântico (Carter e Hauler, 2000) ou 34 % em dourada (Robaina *et al.*, 1995).

Pelo contrário, em truta arco-íris, Gomes e Kaushik (1989) constataram que a substituição de 10 e 20 % da proteína da farinha de peixe pela do tremço cru, não afectou o crescimento e eficiência da utilização do alimento, observando uma diminuição do crescimento com 30 % de substituição proteica na dieta.

Em dourada, Robaina *et al.* (1995) concluíram que o tremço pode ser uma fonte proteica alternativa à farinha de peixe, não devendo exceder a 20 % da proteína total da dieta como prevenção à deposição lipídica no fígado.

Vários trabalhos mostraram que a utilização do tratamento tecnológico no tremço contribuiu para uma melhoria do crescimento dos peixes. Burel *et al.* (1998) constataram que o tremço descascado e extrudido até 50 % em dietas para truta arco-íris, proporcionou um crescimento comparável ao da dieta controlo. Contrariamente, também em truta arco-íris, De la Higuera *et al.* (1988) e Gouveia *et al.* (1993) não observaram quaisquer efeitos positivos do tratamento térmico aplicado no crescimento, quando incorporaram até 40 % e 20 % de proteína de tremço, respectivamente, em dietas para truta arco-íris.

O objectivo deste estudo foi avaliar o efeito do processamento na utilização do tremço como fonte proteica alternativa à farinha de peixe em dietas para juvenis de dourada.

5. 2. Material e métodos

O tremço utilizado foi *Lupinus angustifolius*. Foram testados tremço crú e tremço submetido a micronização, como fontes proteicas alternativas à farinha de peixe. Segundo as informações do fabricante (Intacol, Indústrias Agro-Alimentares, Portugal), a micronização do tremço efectuou-se da seguinte forma: as sementes de tremço foram humedecidas durante um período de 24 horas, em seguida foram colocadas no tabuleiro do processador de infravermelho vibratório (Micro Red 20, de 1989). As condições de processamento foram: capacidade aproximadamente de 2 toneladas/hora, 20 - 22 % de humidade à entrada e 90 - 100 °C de temperatura máxima interna atingida durante a micronização. Após as sementes foram floculadas por esmagamento num laminador e, finalmente, moídas num moinho de martelos.

Para este estudo foram formuladas seis dietas experimentais, contendo níveis diferentes de tremço crú e tremço micronizado. A dieta 1 foi a dieta controlo, tendo como única fonte proteica a farinha de peixe. Nas dietas 2, 3 e 4 procedeu-se à substituição parcial e progressiva (10, 20 e 30 %, respectivamente) da proteína da farinha de peixe pela proteína do tremço crú. Nas outras duas dietas (dietas 5 e 6) substituiu-se 20 e 30 %, respectivamente, da proteína da farinha de peixe pela proteína do tremço micronizado.

respectivamente, da proteína do farinha de peixe pela proteína do tremçoço micronizado. Todas as dietas foram formuladas numa base isoproteica e isolipídica (Tab. 5. 1.).

Tabela 5. 1. Composição das dietas experimentais

Dieta	1	2	3	4	5	6
<u>Componentes (g Kg⁻¹ dieta)</u>						
Farinha de peixe da Noruega	638.8	575.0	511.1	447.2	511.1	447.2
Tremçoço crú		132.6	265.1	397.6		
Tremçoço micronizado					252.9	379.3
Dextrina	267.7	199.8	131.9	64.2	145.6	84.6
Minerais	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Vitaminas	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Cloreto de colina (60 %)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Alginato de sódio	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
Óleo de fígado de bacalhau	43.5	42.6	41.9	41.0	40.4	38.9
TOTAL	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0
<u>Composição química</u>						
Humidade (%)	6.50	7.10	6.50	5.40	6.10	5.10
Proteína bruta (% MS)	45.56	46.10	45.46	45.77	45.15	44.89
Gordura bruta (% MS)	11.98	11.73	11.98	11.73	11.82	11.28
Cinzas (% MS)	10.16	9.52	9.09	8.35	9.05	8.54
Energia bruta (kJ/g MS)	19.07	19.01	19.05	19.41	19.3	19.43

MS – matéria seca

A preparação das dietas experimentais foi efectuada conforme mencionado na metodologia geral. A composição das dietas e das matérias primas utilizadas estão indicadas nas tabelas 5. 1. e 5. 2. e os perfis em aminoácidos nas tabelas 5. 3. e 5. 4.

Tabela 5. 2. Composição química e valor energético das matérias primas utilizadas

	Humidade (%)	Proteína (% MS)	Gordura (%MS)	Cinzas (%MS)	Energia (kJ/g MS)
Farinha de peixe da Noruega (1)	9.00	70.44	11.98	12.97	20.04
Tremçoço crú (2)	7.80	33.95	6.39	2.82	17.59
Tremçoço micronizado (3)	10.10	35.59	7.23	3.12	18.53

MS – matéria seca. 1 - Sorgal, S. A., do Grupo Soja de Portugal; 2 - Sapropr, Portugal; 3 - Intacol, Indústrias Agro-Alimentares, Portugal

Tabela 5. 3. Composição em aminoácidos das matérias primas (g / 16 g N)

Aminoácidos	Farinha de peixe	Tremoço cru	Tr. micronizado
Arginina	3.83	7.95	8.43
Fenilalanina	3.27	3.54	2.81
Histidina	1.70	2.36	1.97
Isoleucina	3.55	3.54	3.09
Leucina	8.23	7.66	5.62
Lisina	6.53	4.12	3.65
Metionina	2.41	0.30	0
Treonina	3.41	2.65	2.81
Valina	4.26	3.24	3.09
Ác. aspártico	7.67	9.13	8.15
Ác. glutâmico	11.78	18.56	16.86
Alanina	5.11	2.95	2.53
Glicina	5.11	3.83	3.37
Serina	3.83	4.12	3.93
Prolina	1.99	2.65	3.37
Tirosina	2.98	3.54	2.81

Tabela 5. 4. Composição em aminoácidos das dietas experimentais (g/ 16 g N)

Aminoácidos	Dietas						AA*	AA**	AA***
	1	2	3	4	5	6			
Arginina	5.27	5.86	6.38	6.99	5.98	6.91	5.40	4.33	<6.00
Fenilalanina	3.51	4.99	3.74	4.81	3.77	3.79	2.90a	2.53	
Histidina	3.95	3.47	3.74	3.50	3.10	3.12	1.70	1.82	
Isoleucina	3.95	4.12	3.96	3.93	3.77	4.01	2.60	3.76	
Leucina	7.02	7.16	7.04	7.21	6.87	6.91	4.50	5.24	
Lisina	6.80	6.73	6.38	6.12	5.98	6.24	5.00	5.49	5.0
Metionina	2.41	2.17	1.98	1.97	1.99	2.01	2.40b	2.00	4.00b
Treonina	3.73	3.91	3.74	3.71	3.54	3.79	2.80	3.69	
Valina	4.61	4.56	4.40	4.37	4.65	4.46	3.00	3.27	
Ác. aspártico	8.34	8.68	8.80	9.18	8.42	8.91			
Ác. glutâmico	12.95	14.32	15.84	15.95	14.40	16.04			
Alanina	5.49	5.64	5.28	5.24	4.87	5.12			
Glicina	5.49	5.64	5.28	5.46	4.87	5.57			
Serina	3.73	4.12	4.18	4.15	3.99	4.23			
Prolina	3.29	3.91	4.62	4.37	4.21	3.79			
Tirosina	2.85	3.47	3.08	4.59	3.32	2.90			

*- Estimativa de necessidades em aminoácidos essenciais para dourada (Kaushik, 1998), a (Fenilalanina+tirosina); b (metionina+cistina)

** - Necessidades em aminoácidos para dourada calculadas com base na composição corporal (Vergara, 1992)

*** - Necessidades em aminoácidos essenciais para dourada (Luquet e Sabaut, 1974), b (metionina+cistina)

Após um período de adaptação de duas semanas, os juvenis de dourada, com peso médio inicial de 42 g, foram aleatoriamente divididos em doze tanques (24 animais por tanque), conforme referido na metodologia geral. Durante o ensaio, a temperatura média da água foi de 25 °C e a salinidade foi de 33 ‰.

Cada grupo duplicado de animais foi alimentado com uma dieta experimental, manualmente, duas vezes ao dia, à saciedade visual, por um período de 12 semanas, excepto nos dias anteriores às pesagens e nos próprios dias das pesagens. Os consumos dos alimentos foram registados em períodos de três semanas, no dia da pesagem dos lotes.

Para determinação da composição química e valor energético da carcaça, foram recolhidos 5 animais do lote comum no início do ensaio assim como em cada um dos tanques experimentais no final do ensaio.

5. 3. Resultados

5. 3. 1. Crescimento e eficiência da utilização do alimento

Na tabela 5. 4. compararam-se os perfis em aminoácidos das dietas experimentais. Independentemente do nível de substituição e do tipo de fonte proteica utilizada, os perfis de aminoácidos essenciais satisfazem os requisitos estimados para a espécie determinados por diversos autores.

Os resultados de crescimento e eficiência da utilização dos alimentos estão indicados na tabela 5. 5. e nas figuras 5. 1. e 5. 2.

De um modo geral, os resultados do crescimento e eficiência da utilização do alimento foram melhores com a utilização do tremçoço micronizado em relação ao tremçoço crú, com os mesmos níveis de inclusão.

Os animais aceitaram bem as dietas, não havendo diferenças significativas de ingestão do alimento entre os grupos experimentais. Mas verificou-se uma ligeira tendência para aumentar com o nível de inclusão quer de tremçoço crú quer de tremçoço micronizado. Durante o ensaio de crescimento, ocorreu mortalidade em todos os grupos experimentais, variando entre 4 e 14 %, sem diferenças significativas entre si.

O peso médio final dos grupos experimentais foi idêntico ou ligeiramente superior ao do grupo controlo. O peso médio final do grupo alimentado com a dieta 4 foi significativamente menor que o do grupo alimentado com a dieta 5. Com o aumento dos níveis de inclusão quer de tremçoço crú quer de tremçoço micronizado, verificou-se uma tendência de diminuição de peso médio final, apesar das diferenças não serem estatisticamente significativas. Contudo, com os mesmos níveis de inclusão nas dietas, a utilização do tremçoço micronizado proporcionou uma melhoria do peso médio final dos animais em relação ao tremçoço crú, sendo superiores ao do grupo controlo.

O ganho de peso diário assim como o índice de crescimento específico dos animais alimentados com as diferentes dietas experimentais não foram significativamente influenciados nem pelo tipo de fonte proteica utilizada nem pelo nível de inclusão nas dietas, apresentando valores similares aos da dieta controlo. Todavia, o grupo da dieta 4 apresentou valores ligeiramente menores em relação aos dos restantes grupos.

Independentemente do tipo de fonte proteica utilizada nas dietas, o índice de conversão alimentar foi similar, sem diferenças significativas entre as dietas experimentais, apresentando o grupo alimentado com a dieta 4 um valor ligeiramente elevado que nas restantes dietas.

Em relação ao índice de eficiência proteica, observou-se a mesma tendência verificada para o índice de conversão alimentar. Comparativamente com o grupo controlo, os

grupos alimentados com as dietas 2 e 4 apresentaram valores inferiores, mas sem diferenças estatisticamente significativas entre si.

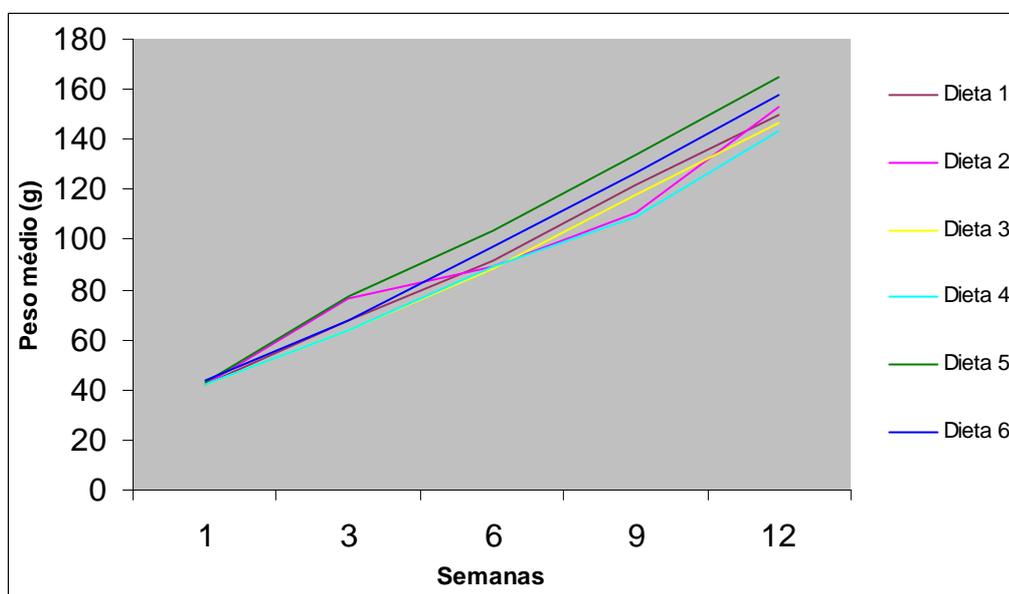


Figura 5. 1. Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as dietas experimentais ao longo do ensaio

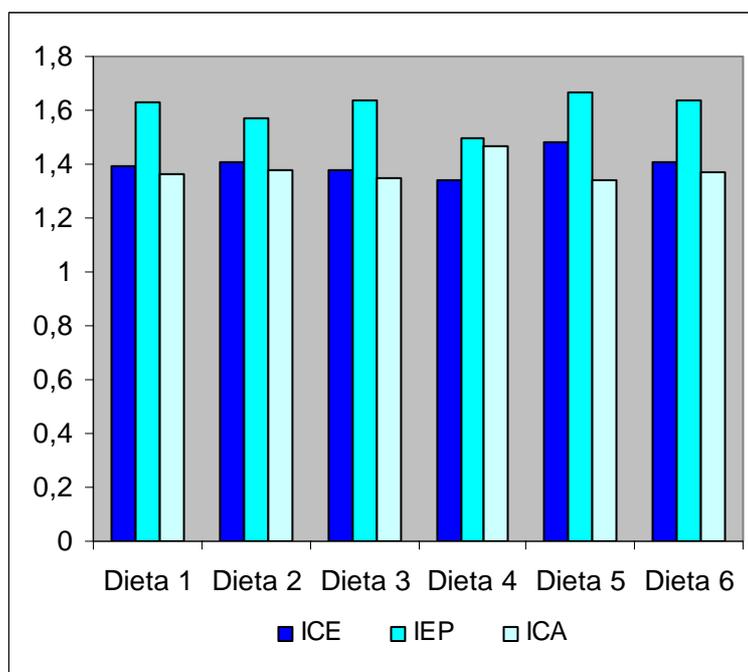


Figura 5. 2. Comparação dos índices de crescimento específico, de eficiência proteica e de conversão alimentar dos grupos experimentais

Tabela 5. 5. Crescimento e utilização do alimento nas douradas alimentadas com dietas experimentais

	1	2	3	4	5	6	EPM
Peso médio inicial (g)	42.60	42.50	42.10	42.60	42.90	43.85	± 0.76
Peso médio final (g)	149.98 ^{ab}	152.62 ^{ab}	146.86 ^{ab}	143.21 ^a	165.15 ^b	157.50 ^{ab}	± 3.71
Mortalidade (%)	14.60	12.50	4.20	4.20	8.40	6.50	± 6.48
Ingestão do alimento (g kg ⁻¹ dia ⁻¹)	15.94	16.57	16.39	17.16	15.09	16.75	± 0.84
Ganho de peso diário (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	25.23	26.49	27.41	25.1	28.46	27.73	± 0.97
Índice de crescimento específico	1.39	1.41	1.38	1.34	1.48	1.41	± 0.03
Índice de conversão alimentar	1.36	1.38	1.35	1.47	1.34	1.37	± 0.05
Índice de eficiência proteica	1.63	1.57	1.64	1.50	1.67	1.64	± 0.06

EPM - erro padrão médio. Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si (P< 0.05)

5. 3. 2. Composição corporal

Os resultados obtidos para composição corporal das douradas alimentadas com as dietas experimentais estão indicados na tabela 5. 6.

A composição corporal final dos animais não foi significativamente afectada pelas dietas utilizadas. Comparativamente com a composição corporal inicial, no final do ensaio, observou-se uma diminuição do teor em humidade dos grupos experimentais. Contrariamente, verificou-se um aumento dos teores em lípidos, em cinzas e em energia. O teor em proteína foi similar em todos os grupos, sendo também similar ao valor inicial. Os índices hepatossomático e visceral não foram diferentes entre os grupos no final do ensaio e foram similares ao valor inicial.

Tabela 5. 6. Composição corporal (base fresca), valor energético, índice hepatossomático e índice visceral

Dieta	Início	Final						EPM
		1	2	3	4	5	6	
Humidade (%)	73.60	65.40	66.45	69.75	67.40	67.95	67.35	± 077
Proteína (%)	18.8	18.60	18.25	17.60	17.90	17.85	18.20	± 029
Lípidos (%)	3.90	12.05	10.35	8.00	10.20	9.50	10.40	± 1.39
Cinzas (%)	3.30	3.75	4.80	4.25	4.40	4.55	3.75	± 0.6
Energia (kJ/g)	5.04	8.15	7.79	6.61	7.43	7.22	7.24	± 0.55
IHS (%)	1.49	1.28	1.23	1.07	1.29	1.48	1.00	± 0.17
IV (%)	4.83	5.15	5.29	5.38	5.08	5.30	5.10	± 0.17

EPM - erro padrão médio; IHS - índice hepatossomático; IV - índice visceral
Valores não são estatisticamente diferentes entre si ($P>0.05$)

5. 3. 3. Balanços azotado e energético

Os balanços azotado e energético foram estimados pelo método do balanço das carcaças e estão indicados na tabela 5. 7.

No que diz respeito à utilização do azoto, não se registaram diferenças significativas entre os grupos experimentais. Verificou-se que o azoto ingerido e o azoto retido foram similares entre as dietas experimentais, independentemente do tipo de fonte proteica e nível de inclusão utilizados.

A retenção azotada (% N ingerido) tendeu a diminuir ligeiramente com o aumento do nível de inclusão de tremço cru, enquanto que a retenção azotada foi similar nos grupos alimentados com as dietas com tremço micronizado, relativamente ao grupo controlo. A retenção azotada variou entre 26.11 e 30.08 %.

Quanto à utilização da energia, também não houve diferenças significativas entre os grupos experimentais. Observou-se a mesma tendência atrás mencionada em relação à energia ingerida e energia retida.

A retenção energética (% E ingerida) tendeu a baixar com a incorporação quer de tremeço crú quer de tremeço micronizado em relação ao grupo controlo, variando entre 28.3 e 36.7 %. Os grupos alimentados com as dietas com tremeço micronizado apresentaram valores de retenção energética ligeiramente superiores em relação aos grupos alimentados com as dietas com os mesmos níveis de inclusão do tremeço crú.

Tabela 5. 7. Balanços azotado e energético

	1	2	3	4	5	6	EPM
<u>Utilização do azoto</u>							
Azoto ingerido (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	7.93	8.14	7.72	7.97	7.55	7.80	± 0.50
Azoto retido (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	2.01	2.05	2.03	2.03	2.14	2.16	± 0.27
Retenção (% N ingerido)	30.08	28.36	28.02	26.11	29.11	29.55	± 0.72
<u>Utilização da energia</u>							
Energia ingerido (kJ Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	331.71	335.42	323.29	337.76	322.52	337.57	±21.07
Energia retida (kJ Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	105.47	103.19	85.96	98.60	100.33	108.77	± 7.45
Retenção (% E ingerida)	36.71	34.11	28.32	29.82	31.44	31.04	± 1.78

EPM – erro padrão médio; N - azoto; E – energia
 Valores não são estatisticamente diferentes entre si (P>0.05)

5. 4. Discussão

Os estudos já efectuados sobre a utilização nutritiva do tremeço em truta arco-íris mostraram que o tremeço pode ser incorporado até 50 % nas dietas, contribuindo para uma boa performance zootécnica dos animais e permitindo uma redução apreciável do nível de inclusão da farinha de peixe nas dietas compostas (Gomes e Kaushik, 1989; Hughes, 1991; Morales *et al.*, 1994; Burel *et al.*, 1998; Farhangi e Carter, 2001).

Neste trabalho, os animais aceitaram bem as dietas experimentais, não observando diferenças significativas entre os grupos. Estes resultados são similares aos obtidos por Robaina *et al.* (1995) também em dourada e em outras espécies por De la Higuera *et al.* (1988), Morales *et al.* (1994), Burel *et al.* (1998, 2000), Carter e Hauler (2000), Farhangi e Carter (2001).

Os resultados do presente trabalho indicam que a substituição até 30 % (38 - 40 % do nível de incorporação) da proteína da farinha de peixe pela proteína do tremço de folha estreita (*Lupinus angustifolius*) não afectou significativamente a performance zootécnica da dourada, independentemente do tratamento tecnológico aplicado. Estes resultados estão de acordo com os apresentados por Robaina *et al.* (1995) também em juvenis de dourada. Estes autores testaram o tremço (*L. angustifolius*) com níveis de substituição proteica até 30 % da proteína da dieta (nível de incorporação de 34,6 %). Neste estudo, independentemente do nível de inclusão testado na dieta, o tremço não afectou o crescimento e a eficiência da utilização do alimento na dourada. Porém, os autores concluíram que o tremço não deveria exceder 20 % da proteína total da dieta, como prevenção à deposição lipídica no fígado, pois, através do estudo histológico, foram observadas gotas lipídicas e uma redução de depósito de glicogénio no fígado nas douradas alimentadas com a dieta com o nível mais elevado de tremço.

Em salmão do Atlântico, foi testado um concentrado proteico de tremço de folha estreita (*L. angustifolius*) com nível de substituição de 25 % da proteína da farinha de peixe (nível de inclusão de 22 %), em dietas extrudidas, sem redução da performance de crescimento comparado com o grupo controlo (Carter e Hauler, 2000). Contudo, com o aumento do nível de substituição proteica para 33 % na dieta (nível de inclusão de 29 %), a eficiência da utilização do alimento foi significativamente mais baixa e o consumo de alimento significativamente mais elevado do que no grupo controlo, porém não se registou redução do ganho de peso. Noutro estudo, também com salmão do Atlântico, Bransden *et al.* (2001) não observaram diferenças significativas no crescimento e na eficiência da utilização do alimento nos animais alimentados com dietas incluindo 40 % de proteína de tremço descascado (*L. angustifolius*) quando comparado com o grupo da dieta controlo (farinha de peixe).

Em pregado, a incorporação de 50 % de tremço descascado e extrudido (*Lupinus albus*) (substituição proteica de 41 %) não afectou a performance de crescimento e a composição corporal dos animais (Burel *et al.*, 2000). Em truta arco-íris, Burel *et al.* (1998) observaram que a incorporação de tremço descascado e extrudido (*L. albus*) até

50 % em dietas proporcionou um excelente crescimento e uma eficiência da utilização do alimento comparável com os obtidos com a dieta controle. Com o nível máximo testado (70 %), houve uma diminuição de performance de crescimento da truta arco-íris. Também em truta arco-íris, Farhangi e Carter (2001) concluíram que o tremoço descascado (*L. angustifolius*) podia ser incluído até 40 % na dieta, sem afectar significativamente o crescimento e a eficiência da utilização do alimento. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Morales *et al.* (1994). Neste estudo, também em truta arco-íris, testou-se uma dieta na qual o tremoço substituiu 40 % a proteína da farinha de peixe e observou-se um crescimento significativamente maior, mas uma eficiência de utilização do alimento significativamente mais baixa do que no grupo controle. Os autores atribuíram a baixa eficiência da utilização do alimento à fraca digestibilidade dos hidratos de carbono do tremoço. Noutros estudos, em truta arco-íris, a utilização do tremoço crú com níveis de substituição proteica até 20 % (*L. angustifolius*; Gomes e Kaushik (1989)) ou 30 % da proteína total (*L. albus*; De la Higuera *et al.* (1988)) da dieta promoveu um crescimento similar ao da dieta controle.

Num estudo comparativo da digestibilidade de várias matérias primas (entre elas, duas espécies de tremoço) em *Bidyanus bidyanus*, verificou-se que os CUD_a da matéria seca e da energia foram mais elevados na dieta com *L. albus* do que os da dieta com *L. angustifolius*, mas não se observou diferenças nos CUD_a da proteína entre as 2 espécies de tremoço (Allan *et al.*, 2000). Contudo, Sudaryono *et al.* (1999) estudaram o efeito destas duas espécies de tremoço e o tipo de processamento utilizado em dietas para camarão (*Penaeus monodon*). Os autores constataram que o valor nutritivo do tremoço descascado (*L. angustifolius*) era comparável ao da farinha de soja (dieta controle) e que *L. angustifolius* era utilizado mais eficientemente do que o *L. albus*, com níveis de inclusão até 40 % nas dietas. As diferenças entre as duas espécies de tremoço poderão ser explicadas com a presença de factores anti-nutricionais nas duas espécies de tremoço. Geralmente os níveis dos factores anti-nutricionais são similares ou mais baixos no tremoço de folha estreita (*L. angustifolius*) do que no tremoço de folha longa (*L. albus*). Contudo, o tremoço de folha estreita (*L. angustifolius*) apresenta um teor de saponinas mais elevado do que no tremoço de folha longa (*L. albus*) (Farhangi e Carter, 2001).

A casca da semente do tremoço (*L. angustifolius*) constitui cerca de aproximadamente 25 % da semente, e contém aproximadamente 90 % de fibras (polissacarídeos não disponíveis como celulose, hemicelulose e lignina) (Evans *et al.*, 1993). O teor em fibras excessivo nas dietas pode conduzir a uma diminuição da eficiência da utilização do alimento, dificultando a acção dos enzimas digestivos e a absorção dos nutrientes (Leary e Lovell, 1975; Krogdahl, 1989).

A remoção da casca da semente aumenta o teor em proteína e reduz o teor em fibras (Booth *et al.*, 2001; Farhangi e Carter, 2001). Este processamento pode permitir a utilização de níveis elevados de substituição da farinha de peixe. Também contribui para uma melhoria da eficiência de utilização do alimento pelos animais, utilizando o tremoço descascado, pois o descasque efectivamente reduz o teor em hidratos de carbono não disponíveis e aumenta a digestibilidade dos nutrientes. De facto, Hughes (1991) constatou que a remoção da casca do tremoço melhorou, não significativamente, a utilização do tremoço pela truta arco-íris. Também em *Bidyanus bidyanus*, Booth *et al.* (2001) observaram uma melhoria da energia do tremoço com a remoção da casca, o que contribuiu para a eliminação dos hidratos de carbono não digestíveis, mas a digestibilidade da proteína do tremoço não foi influenciada. Na verdade, a remoção dos hidratos de carbono por processos mecânicos (peneiramento fino, classificação por ar e separação por densidade) melhorou a digestibilidade da energia dos concentrados de tremoço.

Os principais factores anti-nutricionais presentes no tremoço são os alcalóides e saponinas, que são eliminados por extracção aquosa (Tacon, 1997; Francis *et al.*, 2001). Os alcalóides podem influenciar a palatabilidade da dieta, provocada pelo sabor adstringente (Gomes, 1991; Francis *et al.*, 2001). Apesar de não ter sido determinado o teor dos alcalóides, o tremoço utilizado neste estudo era da variedade “sweet” a qual é conhecida por conter baixo teor de alcalóides (MacDonald *et al.*, 1995). É de registar que a ingestão do alimento, incluindo o tremoço independentemente do tratamento tecnológico aplicado, não foi afectado.

A aplicação do tratamento térmico para inactivar ou eliminar os factores anti-nutricionais no tremço não é considerado necessário uma vez que o tremço não possui factores anti-nutricionais termolábeis como hemaglutininas e contém níveis baixos de inibidores de enzimas proteolíticas (Gomes e Kaushik, 1989; Tacon, 1997; Burel *et al.*, 2000; Booth *et al.*, 2001). Contudo, Alarcón *et al.* (1999) estudaram *in vitro* o efeito dos inibidores de enzimas proteolíticas em várias matérias primas de origem animal e vegetal sobre as proteases alcalinas digestivas de juvenis de dourada. Os autores observaram uma significativa actividade inibidora dos extractos de proteases alcalinas digestivas da dourada após incubação com uma solução de tremço. Também Robaina *et al.* (1995) constataram uma redução significativa da actividade da tripsina nas douradas alimentadas com dietas com tremço (*L. angustifolius*). Pelo contrário, em truta arco-íris, não foram detectadas diferenças significativas na actividade da tripsina com inclusão de tremço descascado (*L. angustifolius*) nas dietas (Farhangi e Carter, 2001). Também De la Higuera *et al.* (1988) demonstraram que a cozedura do tremço (*L. albus*) não contribuiu para a melhoria do crescimento da truta arco-íris. Do mesmo modo, Gouveia *et al.* (1993) não obtiveram vantagens com o tratamento térmico (cozedura/expansão) do tremço no crescimento da truta arco-íris. Contrariamente, observou-se uma melhoria do crescimento da truta arco-íris alimentada com tremço extrudido/cozido (Bangoula *et al.*, 1993). Este tratamento contribuiu para o aumento da utilização digestiva dos nutrientes, especialmente dos hidratos de carbono. Os autores atribuíram também o efeito benéfico da extrusão/cozedura na eliminação dos factores anti-nutricionais nas sementes do tremço.

No nosso trabalho, o peso médio final da dourada alimentada com dieta com tremço micronizado foi mais elevado do que o das douradas alimentadas com dieta com tremço cru. Poderá atribuir-se à remoção/inactivação dos factores anti-nutricionais através da extracção aquosa e da micronização (tratamento de radiação infravermelha) das sementes.

A digestibilidade do tremço não foi determinada no presente trabalho. Contudo, vários estudos em diferentes espécies de peixes, incluindo a dourada, indicam que a digestibilidade da proteína em dietas com tremço é similar (De la Higuera *et al.*, 1988;

Morales *et al.*, 1994; Robaina *et al.*, 1995) ou mesmo mais elevada (Gomes e Kaushik, 1989; Burel *et al.*, 1998; Carter e Hauler, 2000) do que a dieta com farinha de peixe. A digestibilidade da energia é significativamente mais baixa em dietas com tremço cru (Gomes e Kaushik, 1989; Morales *et al.*, 1994) mas similar com tremço descascado e extrudido em relação à dieta com farinha de peixe (Burel *et al.*, 1998; Carter e Hauler, 2000).

A composição corporal dos juvenis de dourada não foi afectada significativamente com a incorporação do tremço nas dietas, independentemente do tratamento tecnológico. Em salmão do Atlântico (Carter e Hauler, 2000) e em pregado (Burel *et al.*, 2000) também não se observaram diferenças significativas na composição corporal dos animais com a utilização do tremço nas dietas. Por outro lado, em dourada, Robaina *et al.* (1995) observaram uma diminuição significativa do teor em lípidos na dourada alimentada com tremço, enquanto que, em truta arco-íris (Burel *et al.*, 1998), foi observado um teor em lípidos significativamente mais elevado nos animais alimentados com tremço descascado e extrudido.

No nosso trabalho, a eficiência azotada e energética não foi afectada significativamente quer pelo nível de substituição proteica quer pelo tratamento tecnológico aplicado. Todavia, De la Higuera *et al.* (1988) verificaram que o tratamento tecnológico (cozedura) não proporcionou uma melhoria da utilização da proteína, uma vez que a retenção azotada foi mais elevada nas dietas com tremço cru (*L. albus*), excepto para o nível de inclusão mais elevado, do que nas dietas com tremço cozido, sendo comparável à da dieta controlo. Em truta arco-íris, Farhangi e Carter (2001) não observaram diferenças significativas na retenção azotada com a inclusão de tremço descascado (*L. angustifolius*) na dieta, verificando uma redução significativa da retenção energética com os níveis de incorporação mais elevados de tremço descascado. Gomes e Kaushik (1989), também em truta arco-íris, observaram uma redução significativa da retenção energética com o aumento de nível de substituição proteica de tremço (*L. angustifolius*). Contrariamente, em truta arco-íris, Burel *et al.* (1998) constataram um aumento não significativo das retenções azotada e energética quando incluíram até 50 %

de tremoço (*L. albus*) nas dietas. Com o aumento de nível de inclusão (70 %) foi observado uma redução significativa das duas retenções.

Em síntese, os resultados deste trabalho demonstram o potencial da utilização do tremoço, substituindo até 30 % da proteína total da dieta para juvenis de dourada, independentemente do tratamento tecnológico aplicado. Contudo, com os mesmos níveis de substituição, o crescimento das douradas foi ligeiramente superior em dietas com tremoço micronizado do que com tremoço cru.

6. AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DA ERVILHA (*Pisum sativum*) COMO FONTE PROTEICA NA DIETA

6. 1. Introdução

Entre as leguminosas, a ervilha possui um teor proteico baixo (25 %) e o seu perfil em aminoácidos é bem balanceado, rico em lisina, mas sendo a metionina o principal aminoácido limitante (McDonald *et al.*, 1995; De Silva e Anderson, 1995). A ervilha contém factores anti-nutricionais de que se destacam as lectinas ou hemaglutininas, que podem influenciar a utilização proteica e o crescimento dos animais (Gomes, 1991; Guillaume, 1991; Tacon, 1997). Porém, estes factores anti-nutricionais são facilmente eliminados através de tratamento térmico (Tacon, 1997).

Existem estudos que demonstraram o potencial da ervilha como alternativa à farinha de peixe nas dietas para peixes. São de referir os trabalhos de Gouveia *et al.* (1993), de Carter e Hauler (2000) e de Gouveia e Davies (1998; 2000) nos quais testaram a substituição parcial da farinha de peixe com ervilha em truta arco-íris, em salmão do Atlântico e em robalo Europeu, respectivamente. A inclusão da proteína da ervilha, substituindo a proteína da farinha de peixe até 20 %, promoveu uma melhoria do crescimento e da utilização do alimento em truta arco-íris (Gouveia *et al.* 1993). Também o crescimento do robalo Europeu não foi afectado quando foi efectuada uma substituição da farinha de peixe até 30 ou 40 % pela ervilha (Gouveia e Davies, 1998, 2000). Carter e Hauler (2000) avaliaram o potencial da utilização dos concentrados proteicos de ervilha e de tremoço em dietas extrudidas para salmão do Atlântico. Estes autores testaram dois níveis de substituição da proteína da farinha de peixe (25 e 33 %), e concluíram que a incorporação de concentrado proteico de ervilha até 33 % e a do concentrado de tremoço até 25 % não afectaram o crescimento do salmão do Atlântico.

Em virtude de não existir informação disponível sobre a utilização da ervilha na alimentação da dourada, desenvolvemos um estudo no qual se avaliou o valor nutritivo

de farinhas de ervilha, submetidas a dois tratamentos tecnológicos, em dietas para juvenis de dourada.

6. 2. Material e métodos

Foram testadas duas farinhas de ervilha (farinha de ervilha “Aquatex” e farinha de ervilha micronizada) neste ensaio. Segundo as informações do fabricante (Intacol, Indústrias Agro-Alimentares, Portugal), a micronização da ervilha procedeu-se da seguinte maneira: os grãos de ervilha foram humedecidos durante um período de 24 horas. Após este período, foram colocados num tabuleiro do processador de infravermelho vibratório (Micro Red 20, de 1989). As condições de fabrico foram: capacidade de aproximadamente 2 toneladas por hora, 20 - 22 % de humidade à entrada e 90-100 °C de temperatura máxima interna atingida durante a micronização. Em seguida foram floculados por esmagamento num laminador e finalmente moídos num moinho de martelos. A ervilha “Aquatex” foi obtida a partir de ervilha descascada, cozida, tostada e finamente moída, segundo as informações impressas no folheto informativo do fabricante (Sotexpro, França).

No ensaio de crescimento, cinco dietas experimentais foram formuladas numa base isoproteica e isolipídica. Na dieta controlo (dieta 1) a farinha de peixe foi a única fonte proteica. Nas restantes quatro dietas experimentais substituiu-se 10 e 20 % da proteína da farinha de peixe pela proteína quer da ervilha Aquatex (dietas 2 e 3) quer da ervilha micronizada (dietas 4 e 5). A preparação das dietas experimentais foi efectuada conforme mencionado na metodologia geral. A composição das dietas experimentais e das matérias primas utilizadas estão indicadas nas tabelas 6. 1. e 6. 2. e os perfis em aminoácidos estão indicados nas tabela 6. 3. e 6.4.

Tabela 6. 1. Composição das dietas experimentais

Dieta	1	2	3	4	5
<u>Componentes (g Kg⁻¹ dieta)</u>					
Farinha de peixe Corpesca	639.0	575.1	511.2	575.1	511.2
Ervilha “Aquatex”		174.2	348.5		
Ervilha micronizada				186.2	372.3
Dextrina	277.1	162.2	47.3	151.5	25.7
Minerais	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Vitaminas	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Cloreto de colina (60 %)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Alginato de sódio	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Óleo de fígado de bacalhau	53.9	58.5	63.0	57.3	60.8
TOTAL	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0
<u>Composição química</u>					
Humidade (%)	6.20	6.30	6.40	5.80	5.80
Proteína bruta (% MS)	43.92	43.97	44.23	43.95	43.31
Gordura bruta (% MS)	10.80	10.00	9.20	10.40	10.60
Cinzas (% MS)	13.11	12.49	11.75	12.42	11.47
Energia bruta (kJ/g MS)	17.81	18.15	18.14	18.14	18.25

MS – matéria seca

Tabela 6. 2. Composição química e valor energético das matérias primas utilizadas

	Humidade (%)	Proteína (% MS)	Gordura (% MS)	Cinzas (% MS)	Energia (kJ/g MS)
Farinha de peixe Corpesca (1)	9.20	67.29	10.35	18.50	18.14
Ervilha “Aquatex” (2)	6.00	24.68	1.17	3.30	16.56
Ervilha micronizada (3)	11.70	23.10	1.69	3.39	17.00

MS – matéria seca. 1 e 2 – Sorgal, S. A., do Grupo Soja de Portugal; 3 – Intacol, Indústrias Agro-Alimentares, Portugal

Tabela 6. 3. Composição em aminoácidos das matérias primas (g/16 g N)

Aminoácidos	Farinha de peixe	Ervilha Aquatex	Erv. micronizada
Arginina	6.69	10.13	5.63
Fenilalanina	3.72	4.46	4.33
Histidina	2.53	2.03	2.17
Isoleucina	4.01	3.65	3.46
Leucina	6.99	6.89	8.23
Lisina	7.58	6.89	6.49
Metionina	2.23	0	0.87
Treonina	4.01	3.24	3.03
Valina	4.76	4.46	3.90
Ác. aspártico	8.76	11.35	10.39
Ác. glutâmico	12.19	16.21	14.29
Alanina	6.24	4.05	3.46
Glicina	6.39	4.05	3.90
Serina	3.42	4.46	3.90
Prolina	3.57	3.65	2.60
Tirosina	2.82	3.24	3.03

Tabela 6. 4. Composição em aminoácidos das dietas experimentais (g/16 g N)

Aminoácidos	Dietas					AA*	AA**	AA***
	1	2	3	4	5			
Arginina	6.60	7.28	7.69	7.05	8.31	5.40	4.33	<6.00
Fenilalanina	3.64	3.87	3.84	3.64	4.16	2.90a	2.53	
Histidina	2.51	2.73	2.49	2.50	2.77	1.70	1.82	
Isoleucina	4.10	4.09	4.07	3.87	3.93	2.60	3.76	
Leucina	7.06	7.28	7.24	7.05	6.23	4.50	5.24	
Lisina	7.29	7.51	7.46	7.28	7.62	5.00	5.49	5.00
Metionina	2.28	1.14	1.58	1.82	1.62	2.40b	2.00	4.00b
Treonina	3.87	3.87	3.84	3.87	4.16	2.80	3.69	
Valina	4.78	4.78	4.75	4.55	4.85	3.00	3.27	
Ác. aspártico	8.88	9.33	9.50	9.10	9.70			
Ác. glutâmico	12.30	12.96	13.34	12.74	13.85			
Alanina	6.15	6.14	5.88	5.92	6.00			
Glicina	6.38	6.14	5.88	5.92	6.00			
Serina	3.42	3.64	3.62	3.64	3.93			
Prolina	3.42	3.41	3.39	3.41	4.85			
Tirosina	2.73	2.96	2.94	2.73	3.00			

* - Estimativa de necessidades em aminoácidos essenciais para dourada (Kaushik, 1998),
a (fenilalanina+tirosina), b (metionina+cistina)

** - Necessidades em aminoácidos para dourada calculadas com base na composição corporal
(Vergara, 1992)

*** - Necessidades em aminoácidos essenciais para dourada (Luquet e Sabaut, 1974),
b (metionina+cistina)

Após um período de adaptação de 2 semanas, juvenis de dourada, com peso médio inicial de 5 g, foram aleatoriamente divididos em grupos de 50 animais por tanque, conforme referido na metodologia geral. A temperatura foi em média de 22 °C e a salinidade de 32 ‰ durante o ensaio.

Cada grupo duplicado de animais foi alimentado com uma dieta experimental, manualmente, duas vezes ao dia, à saciedade visual, por um período de 12 semanas, excepto nos dias anteriores às pesagens e nos próprios dias das pesagens. Os consumos de alimentos foram registados em períodos de três semanas, no dia da pesagem do grupo dos lotes.

Para determinação da composição química e valor energético da carcaça, foram recolhidos 7 animais do lote comum no início do ensaio, assim como de cada um dos tanques experimentais no final do ensaio.

Para determinação da digestibilidade, cinco lotes de 20 animais com peso médio individual de 100 g, foram transferidos para os tanques do circuito de digestibilidade onde, após um período de adaptação de duas semanas, foi iniciada a recolha das fezes correspondentes aos alimentos marcados (1 % de óxido de crómio, Cr₂O₃), durante três períodos de 8 dias, conforme mencionado na metodologia geral.

6. 3. Resultados

6. 3. 1. Crescimento e eficiência da utilização do alimento

Na tabela 6. 4. compararam-se os perfis em aminoácidos das dietas experimentais. Observou-se que há uma diminuição do nível de metionina em todas as dietas onde se efectuou a substituição parcial da proteína da farinha de peixe pela proteína da ervilha. Estes níveis de metionina encontram-se abaixo dos requisitos estimados para esta

espécie determinados por diversos autores, sendo eventualmente o único aminoácido essencial limitante.

Os resultados de crescimento e eficiência da utilização do alimento estão indicados na tabela 6.5. e nas figuras 6. 1 e 6. 2.

No final do ensaio de crescimento, os pesos médios finais dos animais alimentados com as dietas experimentais foram ligeiramente superiores ou similares ao do grupo controlo, excepto o grupo alimentado com a dieta 5 que apresentou um peso médio final ligeiramente inferior. Porém, as diferenças na performance do crescimento entre os grupos alimentados com diferentes dietas experimentais e o grupo da dieta controlo não foram estatisticamente significativas.

Durante o ensaio, a mortalidade tendeu a aumentar com o nível de inclusão da ervilha nas dietas experimentais. A ingestão do alimento não foi significativamente diferente entre os grupos experimentais, apresentando valores similares. O grupo alimentado com a dieta 5 apresentou um valor superior em relação aos outros grupos experimentais.

O índice de crescimento específico variou entre 1.67 (dieta 5) e 1.93 (dieta 2) e não foi significativamente diferente entre os grupos experimentais. Também não houve diferenças significativas no índice de conversão alimentar entre as várias dietas experimentais, embora se registre um ligeiro agravamento desse valor com o aumento de nível de inclusão de ervilha.

O índice de eficiência proteica não foi significativamente diferente entre as várias dietas, embora os valores fossem ligeiramente mais elevados nas dietas experimentais (excepto a dieta 5) do que na dieta controlo.

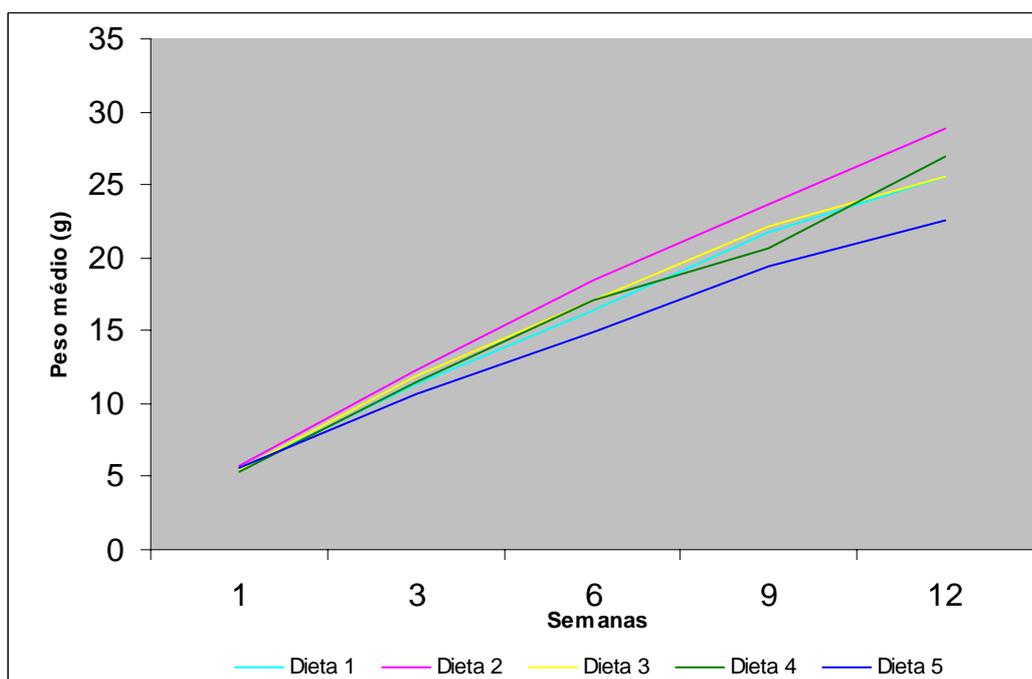


Figura 6. 1. Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as dietas experimentais ao longo do ensaio

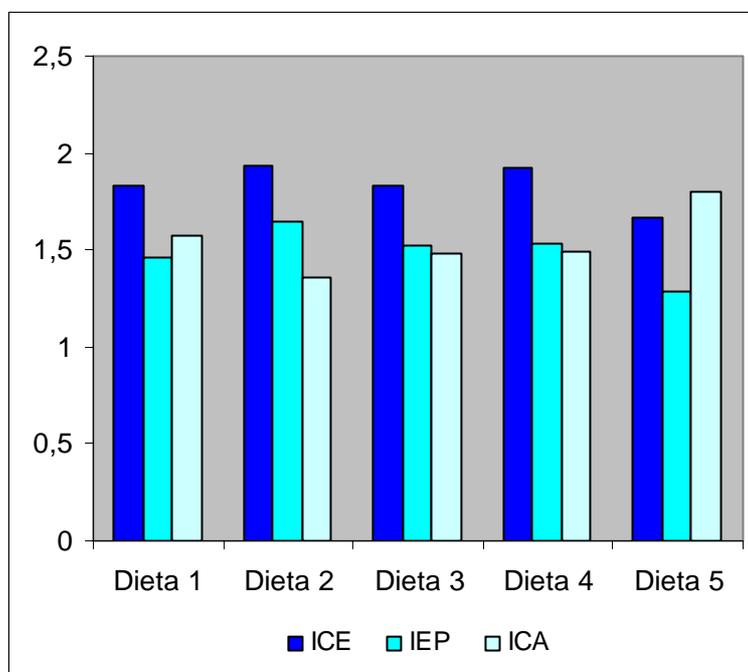


Figura 6. 2. Comparação dos índices de crescimento específico, de eficiência proteica e de conversão alimentar dos grupos experimentais

Tabela 6. 5. Crescimento e utilização do alimento das douradas alimentadas com as dietas experimentais

Dieta	1	2	3	4	5	EPM
Peso médio inicial (g)	5.48	5.74	5.50	5.42	5.56	± 0.11
Peso médio final (g)	25.51	28.88	25.59	26.94	22.62	± 1.82
Mortalidade (%)	1.00	3.00	5.00	1.00	4.00	± 3.23
Ingestão do alimento (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	24.02	21.79	22.64	23.68	25.77	± 0.81
Ganho de peso diário (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	43.29	46.96	41.70	46.90	35.93	± 2.27
Índice de crescimento específico	1.83	1.93	1.83	1.92	1.67	± 0.08
Índice de conversão alimentar	1.57	1.36	1.48	1.49	1.80	± 0.13
Índice de eficiência proteica	1.46	1.65	1.52	1.53	1.29	± 0.11

EPM – erro padrão médio. Valores não são estatisticamente diferentes entre si (P>0.05)

6. 3. 2. Composição corporal

Os resultados obtidos para a composição corporal das douradas alimentadas com as dietas experimentais estão indicados na tabela 6. 6.

Nos níveis testados, a inclusão das duas ervilhas nas dietas experimentais não afectou significativamente a composição corporal dos animais. No final do ensaio observou-se uma redução do teor em humidade e um aumento dos teores em lípidos e em energia dos animais alimentados com as cinco dietas experimentais, quando comparado com a composição corporal inicial. Comparativamente com teores iniciais, os teores em proteína e em cinzas finais dos animais não sofreram alterações, sendo similares em todos os grupos experimentais.

Não se observaram diferenças significativas no índice hepatossomático e no índice visceral nos animais alimentados com as diferentes dietas no final do ensaio.

Tabela 6. 6. Composição corporal (base fresca), valor energético, índice hepatossomático e índice visceral

Dieta	Início	Final					EPM
		1	2	3	4	5	
Humidade (%)	72.90	66.45	66.50	67.15	65.85	67.85	± 0.29
Proteína (%)	16.00	16.25	16.20	16.45	16.45	16.40	± 0.25
Lípidos (%)	7.40	12.90	13.10	12.25	13.40	11.35	± 0.36
Cinzas (%)	3.60	3.70	3.65	3.70	3.75	3.70	± 0.13
Energia (kJ/g)	5.34	7.87	7.83	7.70	7.93	7.31	± 0.16
IHS (%)	2.47	3.13	2.89	3.69	2.99	3.09	± 0.36
IV (%)	10.82	9.13	8.61	9.26	9.11	8.58	± 0.26

EPM – erro padrão médio; IHS - índice hepatossomático; IV - índice visceral

Valores não são estatisticamente diferentes entre si ($P>0.05$)

6. 3. 3. Coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD_a)

Os coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD_a) da matéria seca, proteína e energia das dietas experimentais estão indicados na tabela 6. 7.

Os CUD_a da proteína das dietas com ervilha apresentaram valores elevados e não foram significativamente diferentes da dieta controlo, excepto o da dieta 3 que apresentou um valor significativamente menor.

Contrariamente, os CUD_a da energia e da matéria seca das dietas 3, 4 e 5 foram significativamente menores em relação aos da dieta controlo. O grupo da dieta com menor inclusão de ervilha Aquatex, apresentou os CUD_a da energia e da matéria seca similares e sem diferenças significativas em relação aos do grupo controlo.

Tabela 6. 7. Coeficientes de utilização digestiva aparente dos componentes das dietas experimentais (%)

Dieta	1	2	3	4	5	EPM
Matéria seca	83.33 ^a	81.67 ^{ab}	64.67 ^{bc}	65.67 ^{bc}	51.67 ^c	± 3.47
Proteína	93.87 ^b	92.77 ^b	81.39 ^a	89.67 ^b	89.9 ^b	± 1.48
Energia	94.11 ^a	92.23 ^{ab}	77.71 ^{bc}	79.70 ^{bc}	68.76 ^c	± 3.15

EPM – erro padrão médio. Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($P<0.05$)

6.3.4. Balanços azotado e energético

Os balanços azotados e energéticos foram estimados pelo método das carcaças e estão indicados na tabela 6.8.

Quanto à utilização do azoto, não foram registadas diferenças significativas entre os grupos experimentais. O azoto ingerido e o azoto retido foram similares em todos os grupos experimentais. Todavia as retenções azotadas (% N ingerido e % N digestível) dos grupos alimentados com as dietas com as ervilhas foram ligeiramente maiores (excepto para o grupo da dieta 5), do que as do grupo controlo. Comparando os grupos alimentados com as dietas com ervilha, submetida a dois tratamentos tecnológicos diferentes, verificou-se que os grupos alimentados com as dietas 2 e 3 apresentaram uma tendência para aumentar com o nível de inclusão de ervilha “Aquatex”, enquanto que as dos grupos alimentados com as dietas 4 e 5 mostraram uma tendência de diminuição com o aumento de nível de inclusão de ervilha micronizada.

Quanto à utilização da energia, o grupo alimentado com a dieta 5 apresentou uma ingestão de energia bruta mais elevada, mas não estatisticamente diferente, em relação aos outros grupos. O mesmo grupo apresentou um valor de energia retida mais baixo em relação aos outros grupos experimentais.

Observou-se um aumento da retenção energética (% E ingerida) dos grupos alimentados com as dietas com ervilha (excepto a da dieta 5), em relação à do grupo controlo. O grupo alimentado com a dieta 5 apresentou uma retenção energética (% E ingerida) significativamente inferior às dos grupos das dietas 2 e 3. Quanto à retenção energética (% E digestível) não se observaram diferenças significativas entre os grupos experimentais, registando-se os valores mais elevados nos animais alimentados com as dietas com ervilha.

Tabela 6. 8. Balanços azotado e energético

Dieta	1	2	3	4	5	EPM
<u>Utilização do azoto</u>						
Azoto ingerido (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	10.66	9.68	10.18	10.44	11.42	± 0.43
Azoto retido (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	2.64	2.56	2.49	2.61	2.36	± 0.95
Retenção (% N ingerido)	23.72	26.81	25.80	25.27	21.50	± 0.94
Retenção (% N digestível)	25.48	28.89	31.07	28.18	24.17	± 1.58
<u>Utilização da energia</u>						
Energia ingerida (kJ Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	432.28	399.45	417.58	430.61	481.24	± 18.03
Energia retida (kJ Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	132.93	133.06	126.04	135.37	112.62	± 5.39
Retenção (% E ingerida)	30.71 ^{ab}	33.80 ^b	33.41 ^b	31.73 ^{ab}	22.82 ^a	± 1.16
Retenção (% E digestível)	34.76	36.65	40.17	39.80	35.21	± 2.33

EPM – erro padrão médio; N - azoto; E – energia.

Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si (P<0.05)

6. 5. Discussão

Os resultados obtidos neste estudo mostram o potencial da utilização destas duas farinhas de ervilha, submetidas a diferentes tratamentos tecnológicos, como complemento da farinha de peixe em dietas para juvenis de dourada.

Um dos problemas no uso de fontes proteicas de origem vegetal é o seu baixo teor em proteína, restringindo a incorporação de níveis elevados em dietas para espécies carnívoras que possuem altos teores proteicos (Tacon, 1994, 1997; Hardy, 1996).

Os concentrados proteicos de origem vegetal têm a vantagem de conter teores em proteína mais elevados, podendo assim aumentar os níveis de incorporação em dietas compostas. Recentemente, Carter e Hauler (2000) estudaram o efeito da utilização de níveis elevados de substituição com fontes proteicas de origem vegetal nas dietas extrudidas, no crescimento do salmão do Atlântico, constatando que não houve efeitos negativos na performance zootécnica. Os autores testaram três fontes proteicas de origem vegetal (concentrado proteico de ervilha, concentrado proteico de tremço e

bagaço de soja descascado), com níveis de substituição proteica parcial de 25 e 33 %, confirmando o potencial da utilização destas fontes como substitutos parciais da farinha de peixe. A utilização do concentrado proteico de ervilha, independentemente do nível de substituição da proteína, proporcionou uma melhoria do crescimento e da eficiência da utilização do alimento comparado com o grupo controlo, mas sem diferenças significativas. Somente a retenção azotada da dieta com maior nível de concentrado proteico de ervilha foi significativamente mais elevada do que do grupo controlo. Em dourada, Kissil *et al.* (2000) utilizaram concentrados proteicos de soja e de colza com níveis de substituição de 30, 60 e 100 % da proteína da farinha de peixe. Apesar de haver uma relação inversa entre o crescimento e os níveis de substituição dos concentrados, estes autores concluíram que ambas as matérias primas são potenciais fontes proteicas em dietas para esta espécie, mencionando que a maior limitação poderá ser a palatabilidade destas matérias primas, comparada com a da farinha de peixe.

Em truta arco-íris, a substituição da proteína da farinha de peixe com concentrado proteico de soja (33, 67 e 100 %) foi testada, indicando que o crescimento e a eficiência da utilização do alimento não foram afectados pela inclusão de concentrado proteico de soja (Kaushik *et al.*, 1995).

Apesar dos teores proteicos relativamente baixos das fontes proteicas tais como ervilha, tremçoço, fava e colza, a sua utilização para substituir parcialmente a proteína da farinha de peixe em dietas foi testada para truta arco-íris (De la Higuera *et al.*, 1988; Dade *et al.*, 1990; Gomes *et al.*, 1993; Gouveia *et al.*, 1993; Burel *et al.*, 1998) e também em outras espécies, como pregado e robalo Europeu (Burel *et al.*, 2000; Gouveia e Davies, 1998; 2000). Para além do contributo como fonte proteica, estas matérias primas são importantes fontes de energia, devido ao alto teor de hidratos de carbono.

No presente trabalho, a performance zootécnica dos animais alimentados com as dietas com ervilha, substituindo até 20 % da proteína total da dieta, não foi significativamente diferente da dos animais alimentados com a dieta com farinha de peixe como única fonte proteica, excepto para o grupo alimentado com a dieta com 20 % de proteína de ervilha micronizada. Em robalo Europeu, foram testados 3 níveis de inclusão (10, 20 e

30 %) de ervilha descascada e extrudida (Aquatex, Sotexpro, França) (5, 10 e 15 % de substituição proteica) nas dietas (Gouveia e Davies, 2000). A inclusão da ervilha como substituto proteico parcial nas dietas não afectou significativamente o crescimento e a eficiência da utilização do alimento assim como a composição corporal dos animais. Contudo, com o nível máximo testado (30 %), a retenção azotada e o índice de eficiência proteica melhorou significativamente, quando comparado com o grupo controlo. Estes resultados confirmam os resultados obtidos por Gouveia e Davies (1998), que utilizaram farinha de ervilha inteira, cozida e moída, com níveis de inclusão de 20 e 40 % (9 e 18 % de substituição proteica) em dietas para juvenis de robalo Europeu, e também não observaram diferenças significativas. Em truta arco-íris, Gomes (1991) testou a substituição de 10, 15 e 20 % da proteína da farinha de peixe pela da ervilha inteira nas dietas. Estas substituições proteicas proporcionaram performances de crescimento superiores em relação à obtida com o grupo controlo. Também, em truta arco-íris, Gouveia *et al.* (1993) constataram o efeito benéfico do tratamento térmico (cozedura/expansão) utilizado na ervilha. Os animais alimentados com dietas com ervilha (crua e cozida), substituindo 20 % a proteína da farinha de peixe, tiveram um crescimento maior do que o do grupo alimentado com a dieta controlo. O tratamento térmico contribuiu para a melhoria da qualidade nutritiva da ervilha, pois o crescimento do animais alimentados com dieta com a ervilha cozida foi maior ao obtido com dieta com ervilha crua. Poderá atribuir-se à remoção/inactivação dos factores anti-nutricionais, através do tratamento tecnológico das sementes (micronização), contribuindo para a melhoria da qualidade nutritiva do tremço. Gomes *et al.* (1993) utilizaram colzapro (mistura expandida de colza e de ervilha) na alimentação da truta arco-íris com resultados bastante prometedores.

Nos estudos atrás citados, assim como no presente estudo, o nível máximo de substituição proteica está limitado aos 20 % devido ao baixo teor proteico da farinha de ervilha. Esta limitação representa um nível de inclusão da farinha de ervilha de 35-40%.

As ervilhas possuem factores anti-nutricionais tais como inibidores de enzimas proteolíticos, hemaglutininas ou lectinas e taninos. Estes factores podem afectar a digestibilidade da proteína e a eficiência da utilização do alimento (De Silva e

Anderson, 1995; Perrot, 1995; Tacon, 1997). Contudo, alguns factores anti-nutricionais são termolábeis e podem ser inactivados com a aplicação de tratamentos tecnológicos adequados, melhorando a qualidade e eficácia. De acordo com Gouveia *et al.* (1993), o crescimento da truta arco-íris alimentada com dieta com ervilha cozida/expandida foi melhor do que o da truta arco-íris alimentada com dieta com ervilha crua. Possivelmente o tratamento tecnológico aplicado terá eliminado os factores anti-nutricionais termolábeis presentes nas sementes de ervilha (Perrot, 1995).

No presente trabalho as farinhas de ervilha utilizadas foram submetidas a diferentes tratamentos tecnológicos. Estes tratamentos terão produzido um efeito positivo na eliminação dos factores anti-nutricionais, embora, de uma maneira geral, o crescimento dos animais alimentados com as dietas com ervilha “Aquatex” (descascada, cozida e tostada) fosse superior do que os alimentados com as dietas com ervilha micronizada (tratada com radiações infravermelhas).

De acordo com Alarcón *et al.* (1999) o extracto proteico da ervilha inibe 53 % actividade total *in vitro* das proteases alcalinas digestivas na dourada, podendo causar um efeito negativo na utilização digestiva da matéria prima. De facto, em truta arco-íris, os CUD_a da proteína e da energia da ervilha submetida à autoclavagem melhorou significativamente comparada com a ervilha crua (Pfeffer *et al.*, 1995).

No presente trabalho, os CUD_a da proteína não foram significativamente afectados pela inclusão de ervilha nas dietas experimentais, embora sejam ligeiramente mais baixos do que o CUD_a da proteína da dieta controlo, excepto o da dieta 3. Mesmo no nível de substituição proteica mais baixo com ervilha micronizada, os CUD_a da matéria seca e da energia da dieta foram significativamente mais baixos do que os do grupo controlo. O mesmo não se verificou com a ervilha “Aquatex”. Esta diminuição do CUD_a pode ser atribuída à presença de fibras indigestíveis da casca da ervilha como os polissacarídeos insolúveis (celulose, hemicelulose e lignina) que afectam a digestibilidade da energia e da matéria seca (Allan *et al.*, 2000) e que foram removidas na ervilha “Aquatex”. Também em *Bidyanus bidyanus*, a remoção da casca da ervilha assim como outras leguminosas descascadas (ervilhaça e grão-de-bico) melhorou significativamente os

CUD_a da matéria seca e da energia das dietas, indicando que remoção da casca reduz o nível de hidratos de carbono indigestíveis do grão (Booth *et al.*, 2001). Também, comparado com a dieta controlo, houve uma diminuição significativa dos CUD_a da energia e da matéria seca com o aumento de nível de inclusão da ervilha nas dietas experimentais. Esta redução de CUD_a da energia e da matéria seca poderá atribuir-se a fraca digestibilidade dos hidratos de carbono presentes na ervilha, comparada com a dextrina, fonte de hidratos de carbono na dieta controlo. De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, em robalo Europeu, Gouveia e Davies (1998) também observaram uma redução significativa da digestibilidade dos hidratos de carbono, os quais conduziram a uma diminuição significativa da digestibilidade da energia e da matéria seca com o aumento de nível de inclusão da ervilha inteira, cozida e moída. Pelo contrário, também em robalo Europeu, não foram observadas diferenças nos CUD_a da proteína e da energia com o aumento da ervilha descascada e extrudida (Aquatex) nas dietas experimentais (Gouveia e Davies, 2000). Carter e Hauler (2000) também não observaram diferenças significativas nos CUD_a da proteína e da energia das dietas extrudidas com concentrado proteico de ervilha para salmão do Atlântico. Contudo, em truta arco-íris, Pfeiffer *et al.* (1995) observaram um decréscimo significativo do CUD_a da proteína e da energia com o aumento da ervilha na dieta. Mas os valores de digestibilidade da proteína e da energia aumentaram com o tratamento térmico (autoclavagem), indicando que o tratamento utilizado provavelmente promoveu a gelatinização do amido.

Neste trabalho a utilização do azoto foi similar entre todos os grupos experimentais. Contrariamente Gomes (1991) observou uma melhoria da utilização da proteína pela truta arco-íris, alimentada com dietas com níveis crescentes de ervilha comparada com a dieta controlo. De acordo com os resultados obtidos do presente trabalho, Carter e Hauler (2000) verificaram que os níveis de inclusão de 25 e 33 % de concentrado proteico de ervilha em dietas extrudidas para salmão do Atlântico não causou qualquer efeito na retenção azotada. Gouveia e Davies (2000) observaram uma melhoria da retenção azotada (% N ingerido) com o aumento de nível de inclusão de ervilha “Aquatex” em dietas para robalo Europeu. Esta melhoria da retenção azotada poderá ser atribuída ao tratamento tecnológico (extrusão). A disponibilidade dos nutrientes das

matérias primas submetidas a tratamentos térmicos aumenta, especialmente a quantidade de energia digestível, devido à gelatinização do amido (Watanabe e Pongmaneerat, 1993). Gouveia e Davies (2000) observaram CUD_a da energia e dos hidratos de carbono elevados em robalos alimentados com dietas com ervilha “Aquatex”. No presente trabalho, os CUD_a de energia diminuíram com o aumento do nível de inclusão de ervilha, mas o tratamento tecnológico (cozedura/tostagem) parece ter contribuído para uma ligeira melhoria da utilização da energia digestível com a observação do aumento da retenção energética, sem diferenças significativas entre si.

A composição corporal final dos animais alimentados com as diferentes dietas experimentais não foi influenciada pela incorporação da ervilha nas dietas, independentemente do nível testado. Gouveia e Davies (2000) também constataram que a utilização da ervilha “Aquatex” em dietas para robalo Europeu não afectou a composição final das carcaças, observando-se, no entanto, um ligeiro aumento do teor em lípidos nos robalos, alimentados com a dieta com maior percentagem de inclusão de ervilha, em relação ao valor inicial. Num trabalho anterior, também em robalo Europeu, Gouveia e Davies (1998) observaram uma diminuição significativa do teor em lípidos com o aumento de nível de inclusão de ervilha inteira, mas, comparativamente ao valor inicial, estes valores foram superiores. Em truta arco-íris, Gouveia *et al.* (1993) também observaram que a incorporação de ervilha crua ou cozida/expandida nas dietas não afectou a composição corporal final dos animais.

Os resultados deste estudo indicam que a farinha de ervilha pode substituir 20 % da proteína da farinha de peixe em dietas para juvenis de dourada, sem afectar a performance de crescimento. Contudo é necessário aprofundar o estudo do efeito dos tratamentos tecnológicos nos grãos de ervilha na melhoria da utilização dos hidratos de carbono como fonte energética uma vez que a digestibilidade da energia e da matéria seca são afectadas pelo tratamento tecnológico aplicado e pelo nível de inclusão testado. Seria interessante avaliar o potencial da utilização do concentrado proteico de ervilha como fonte proteica alternativa em dietas para peixes, devido ao elevado teor proteico e baixo teor em hidratos de carbono.

7. AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DO GLÚTEN DE MILHO COMO FONTE PROTEICA NA DIETA

7. 1. Introdução

Na maioria dos estudos desenvolvidos na procura de fontes proteicas alternativas à farinha de peixe, a soja tem sido a mais utilizada em dietas para truta arco-íris devido às características nutritivas já mencionadas anteriormente (Pongmaneerat e Watanabe, 1993 a; Watanabe e Pongmaneerat, 1993; Oliva Teles *et al.*, 1994; Kaushik *et al.*, 1995; Refstie *et al.*, 1997; Refstie *et al.*, 2000). Com menos ênfase, outras fontes proteicas de origem vegetal têm sido testadas como substitutos da farinha de peixe em dietas para peixes (Gomes e Kaushik, 1989; Hughes, 1991; Gomes *et al.*, 1993; Gouveia *et al.*, 1993; Robaina *et al.*, 1995, 1997; Carter e Hauler, 2000; Kissil *et al.*, 2000).

O baixo teor em proteína das matérias primas de origem vegetal limita os níveis de inclusão elevados nas dietas que normalmente são de alto teor proteico. Para se conseguir um maior nível de substituição, tem que se recorrer a substitutos com um teor em proteína mais elevado como, por exemplo, os concentrados e o glúten.

O glúten de milho é um produto altamente proteico, resultante da extracção do amido dos grãos de milho. Para além do elevado teor proteico, o glúten de milho possui um baixo teor em fibra e um perfil em aminoácidos essenciais mais ou menos adequado, excepto em arginina, em lisina e, em menor grau, em metionina.

O glúten de milho tem sido utilizado como uma alternativa à farinha de peixe. A combinação de várias matérias primas, como a farinha de soja e o glúten de milho, substituindo parcialmente a farinha de peixe, tem proporcionado uma boa performance de crescimento em truta arco-íris (Moyano *et al.*, 1992; Watanabe e Pongmaneerat, 1993; Watanabe *et al.*, 1993; Gomes *et al.*, 1995 a), em carpa (Pongmaneerat *et al.*,

1993), em tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Wu *et al.*, 1995 a, b) e em seriola (Viyakarn *et al.*, 1992; Shimeno *et al.*, 1993 c).

A substituição parcial da farinha de peixe pelo glúten de milho até 40 % em truta arco-íris (Morales *et al.*, 1994), até 35 % em robalo Europeu (Ballestrazzi *et al.*, 1994) e até 20 % em pregado (Regost *et al.*, 1999) contribuiu para um crescimento e uma eficiência da utilização do alimento comparável ao da dieta controlo.

Em dourada, Robaina *et al.* (1997) indicaram que a performance zootécnica dos animais não foi afectada com a substituição parcial da proteína da farinha de peixe pela proteína do glúten de milho até 40 %, nas dietas experimentais. No entanto, recomendaram que o nível de substituição não deveria exceder os 30 % devido ao aumento de níveis de excreção de amónia com o nível máximo testado.

O objectivo deste estudo foi a avaliação de níveis elevados de incorporação de glúten de milho nas dietas, substituindo a farinha de peixe, no crescimento e na utilização do alimento, para juvenis de dourada.

7. 2. Material e métodos

Foram formuladas cinco dietas experimentais. Na dieta controlo (dieta 1), a farinha de peixe foi a única fonte de proteína. Nas restantes quatro dietas experimentais, procedeu-se a uma substituição parcial e progressiva de 20, 40, 60 e 80 % da proteína da farinha de peixe pela proteína do glúten de milho (dietas 2, 3, 4 e 5). Todas as dietas foram formuladas numa base isoproteica e isolipídica (Tab.7. 1.).

A preparação das dietas experimentais foi efectuada conforme mencionado na metodologia geral. A composição química e valor energético das dietas e das matérias primas utilizadas estão indicadas nas tabelas 7. 1. e 7. 2. e os perfis em aminoácidos nas tabelas 7. 3. e 7.4.

Tabela 7. 1. Composição das dietas experimentais

	1	2	3	4	5
Componente (g Kg⁻¹ dieta)					
Farinha de peixe do Chile	615.1	492.1	369.1	246.0	123.0
Glúten de milho		135.5	271.0	406.6	542.1
Dextrina	276.9	256.8	236.6	216.5	196.3
Minerais	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Vitaminas	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Cloreto de colina (60 %)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Alginato de sódio	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Óleo de fígado de bacalhau	78.0	85.6	93.3	100.9	108.6
TOTAL	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0
Composição química					
Humidade (%)	7.90	6.60	6.60	6.80	7.20
Proteína bruta (% MS)	47.01	47.00	47.75	47.53	47.41
Gordura bruta (% MS)	14.00	14.13	14.03	13.41	13.04
Cinzas (% MS)	10.21	8.57	7.07	5.26	3.66
Energia bruta (kJ/g MS)	19.55	20.38	20.73	21.12	21.27

MS – matéria seca

Tabela 7. 2. Composição química e valor energético das matérias primas utilizadas

	Humidade (%)	Proteína (% MS)	Gordura (% MS)	Cinzas (% MS)	Energia (kJ/g MS)
Farinha de peixe do Chile (1)	6.10	73.16	6.82	14.16	19.72
Glúten de milho (2)	10.10	66.41	0.56	1.11	21.71

MS – matéria seca. 1 – Sorgal, S. A., do Grupo Soja de Portugal; 2 – Copam, Companhia Portuguesa de Amidos S. A., Portugal

Tabela 7. 3. Composição em aminoácidos das matérias primas (g/16 g N)

Aminoácidos	Farinha de peixe	Glúten de milho
Arginina	5.47	2.11
Fenilalanina	3.96	6.02
Histidina	2.46	1.81
Isoleucina	3.69	3.92
Leucina	7.38	16.11
Lisina	8.07	1.21
Metionina	3.01	1.81
Treonina	4.37	3.01
Valina	4.78	4.67
Ác. aspártico	9.57	5.57
Ác. glutâmico	10.39	21.38
Alanina	6.15	8.73
Cistina/cisteína	0.68	1.21
Glicina	5.88	2.56
Prolina	4.51	10.69
Serina	4.24	4.52
Tirosina	3.28	5.12

Tabela 7. 4. Composição em aminoácidos das dietas experimentais (g/16 g N)

Aminoácidos	Dietas					AA*	AA**	AA***
	1	2	3	4	5			
Arginina	4.89	4.26	3.98	3.58	3.38	5.40	4.33	<6.00
Fenilalanina	3.40	4.04	4.40	5.05	5.48	2.90a	2.53	
Histidina	1.70	1.70	1.89	1.89	2.11	1.70	1.82	
Isoleucina	3.83	4.04	3.77	3.79	3.80	2.60	3.76	
Leucina	6.81	8.72	10.26	12.62	14.55	4.50	5.24	
Lisina	6.38	5.53	4.61	3.58	2.53	5.00	5.49	5.00
Metionina	2.77	2.55	2.51	2.31	2.32	2.40b	2.00	4.00b
Treonina	4.04	3.83	3.77	3.58	3.59	2.80	3.69	
Valina	4.25	4.47	4.40	4.42	4.22	3.00	3.27	
Ác. aspártico	8.08	7.87	7.33	6.73	6.33			
Ác. glutâmico	12.55	14.47	16.13	18.09	19.83			
Alanina	5.53	6.38	6.91	7.36	8.23			
Cistina/cisteína	0.21	0.64	0.63	1.05	1.06			
Glicina	5.53	5.11	4.61	4.00	3.38			
Prolina	3.83	5.53	6.07	7.79	8.86			
Serina	3.62	3.83	4.19	4.42	4.64			
Tirosina	2.55	3.19	3.56	4.21	4.64			

* - Estimativa de necessidades em aminoácidos essenciais para dourada (Kaushik, 1998), a (fenilalanina+tirosina), b (metionina+cistina)

** - Necessidades em aminoácidos para dourada calculadas com base na composição corporal (Vergara, 1992)

*** - Necessidades em aminoácidos essenciais para dourada (Luquet e Sabaut, 1974), b (Metionina+cistina)

Após um período de adaptação de duas semanas, juvenis de dourada, com peso médio inicial de 8 g, foram aleatoriamente divididos em 10 grupos de 40 peixes por tanque, conforme referido na metodologia geral. Durante o ensaio, a temperatura média foi de 21 °C e a salinidade de 33 ‰.

Cada grupo duplicado de animais foi alimentado com uma dieta experimental, manualmente, duas vezes ao dia, à saciedade visual, por um período de 12 semanas, excepto nos dias anteriores às pesagens e nos próprios dias das pesagens. Os consumos de alimento foram registados em períodos de três semanas, no dia da pesagem em grupo dos lotes.

Foram recolhidos 7 animais do lote comum no início do ensaio assim como de cada um dos tanques experimentais no final do ensaio, para determinação de composição química e do valor energético da carcaça.

Para determinação da digestibilidade, cinco lotes de vinte animais, com peso médio individual de 150 g, foram transferidos para os tanques do circuito da digestibilidade, onde, após um período de adaptação de duas semanas, foi iniciada a recolha das fezes correspondentes aos alimentos marcados (1 % de óxido de crómio, Cr₂O₃), durante três períodos de 10 dias, conforme descrito na metodologia geral.

7. 3. Resultados

7. 3. 1. Crescimento e eficiência da utilização do alimento

Na tabela 7. 4 compararam-se os perfis em aminoácidos das dietas experimentais. Observou-se uma diminuição nos níveis de lisina (1º aminoácido essencial limitante) e de arginina (2º aminoácido essencial limitante) das dietas experimentais com o aumento

de inclusão de glúten de milho. Os teores destes aminoácidos nas dietas 4 e 5 eram inferiores aos requisitos estimados para a espécie, determinados por diversos autores.

Os resultados de crescimento e eficiência da utilização do alimento estão indicados na tabela 7. 5. e nas figuras 7. 1 e 7. 2.

O índice de crescimento específico foi similar em todos os grupos experimentais, excepto para o grupo alimentado com a dieta 5. A substituição de 20, 40 e 60 % da proteína da farinha de peixe da dieta controlo (dieta 1) pela do glúten de milho (dietas 2, 3 e 4) melhorou ligeiramente o peso médio final das douradas. Contudo não se registaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais e o grupo controlo. O grupo alimentado com a dieta com 80 % de proteína de glúten de milho (dieta 5) apresentou uma diminuição significativa de peso médio final, em relação aos outros grupos experimentais. Houve uma ligeira tendência de melhoria não significativa do ganho de peso diário com o aumento do glúten de milho, excepto para o grupo alimentado com a dieta 5.

Durante o ensaio de crescimento ocorreu mortalidade de animais em todos os grupos experimentais, mas sem diferenças significativas entre si. A ingestão do alimento tendeu a diminuir com a inclusão de glúten de milho nas dietas experimentais, apresentando o grupo alimentado com a dieta 4, um valor significativamente mais baixo do que o do grupo controlo. Não foram observadas diferenças significativas na ingestão do alimento entre os grupos alimentados com dietas com glúten de milho.

Verificou-se uma tendência para melhoria do índice de conversão alimentar com a inclusão de glúten de milho até 60 %. O grupo alimentado com a dieta 4 apresentou um índice de conversão alimentar mais baixo, embora só seja significativamente diferente em relação ao do grupo alimentado com a dieta 5. Não havendo diferenças significativas entre os grupos experimentais, o índice de eficiência proteica também registou uma tendência para melhoria com o aumento do nível de inclusão do glúten de milho nas dietas experimentais, excepto para o grupo da dieta 5.

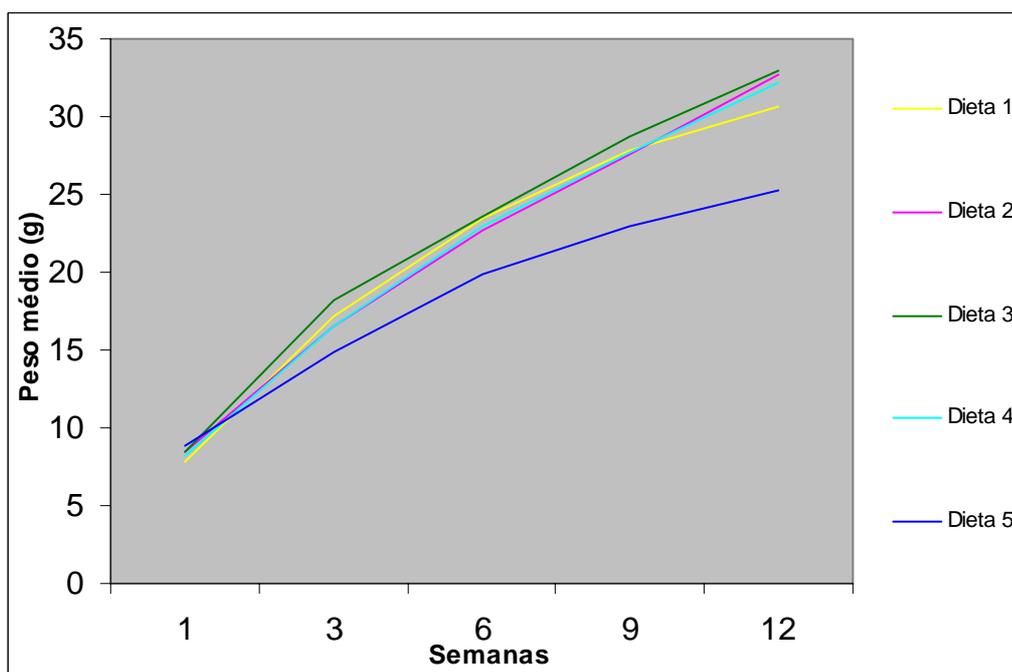


Figura 7. 1. Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as dietas experimentais ao longo do ensaio

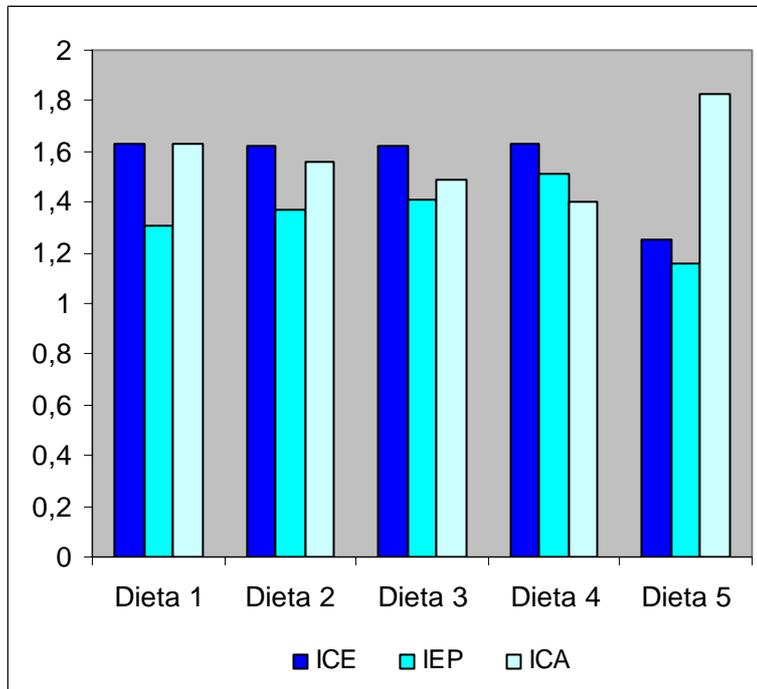


Figura 7. 2. Comparação dos índices de crescimento específico, de eficiência proteica e de conversão alimentar dos grupos experimentais

Tabela 7. 5. Crescimento e utilização do alimento das douradas alimentadas com as dietas experimentais

Dieta	1	2	3	4	5	EPM
Peso médio inicial (g)	7.80	8.45	8.45	8.15	8.80	± 0.36
Peso médio final (g)	30.72 ^a	32.68 ^a	33.01 ^a	32.21 ^a	25.20 ^b	± 0.70
Mortalidade (%)	5.00	8.80	3.80	1.30	2.50	± 2.91
Ingestão do alimento (g kg ⁻¹ dia ⁻¹)	22.93 ^a	21.21 ^{ab}	20.71 ^{ab}	19.81 ^b	20.91 ^{ab}	± 0.45
Ganho de peso diário (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	34.45	31.98	34.03	35.57	22.24	± 2.99
Índice de crescimento específico	1.63	1.62	1.62	1.63	1.25	± 0.08
Índice de conversão alimentar	1.63 ^{ab}	1.56 ^{ab}	1.49 ^{ab}	1.40 ^a	1.83 ^b	± 0.07
Índice de eficiência proteica	1.31	1.37	1.41	1.51	1.16	± 0.06

EPM – erro padrão médio. Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($P < 0.05$)

7. 3. 2. Composição corporal

Os resultados obtidos para a composição corporal das douradas alimentadas com as dietas experimentais estão indicados na tabela 7. 6.

Comparado com a composição corporal inicial, verificou-se, no final do ensaio, uma diminuição do teor em humidade e do índice visceral e um aumento dos teores em proteína, em lípidos, em energia e do índice hepatossomático.

No final do ensaio, o teor em humidade do grupo controlo foi significativamente maior do que nos outros grupos experimentais.

Com o aumento de inclusão do glúten de milho nas dietas, os teores em proteína bruta e em cinzas dos grupos experimentais diminuíram ligeiramente, mas não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

Os teores em lípidos dos grupos alimentados com as dietas com glúten de milho foram superiores ao do controlo. Todavia, só houve diferenças significativas entre o controlo e os animais alimentados com as dietas 4 e 5.

Em relação ao teor em energia, aos índices hepatossomático e visceral, no final do ensaio, não houve diferenças significativas entre os diferentes grupos experimentais. Porém, o grupo alimentado com a dieta 5 apresentou valores superiores aos dos outros grupos.

Tabela 7. 6. Composição corporal (base fresca), valor energético, índice hepatossomático, índice visceral

Dieta	Início	Final					EPM
		2	3	4	5		
Humidade (%)	76.80	65.45 ^a	64.05 ^b	64.20 ^b	63.60 ^b	63.85 ^b	± 0.12
Proteína (%)	14.00	16.1	15.95	15.75	15.20	14.8	± 0.25
Lípidos (%)	4.20	14.5 ^a	16.00 ^{ab}	16.10 ^{ab}	17.40 ^b	17.55 ^b	± 0.37
Cinzas (%)	4.49	3.70	3.80	3.70	3.50	3.35	± 0.17
Energia (kJ/g)	4.18	8.34	8.33	8.45	8.57	9.07	± 0.38
IHS (%)	1.49	2.54	2.56	2.44	2.30	2.92	± 0.23
IV (%)	9.89	8.54	8.39	8.67	8.82	9.79	± 0.52

EPM – erro padrão médio; IHS - índice hepatossomático; IV - índice visceral

Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($P < 0.05$)

7. 3. 3. Coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD_a)

Os coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD_a) da matéria seca, proteína e energia das dietas experimentais estão indicados na tabela 7. 7.

Os CUD_a da matéria seca das dietas com glúten de milho foram significativamente maiores do que os da dieta controlo, excepto para a dieta 3.

Os CUD_a da proteína foram elevados (>90 %) em todos os grupos experimentais. O CUD_a da proteína da dieta 5 foi significativamente mais elevado que os das outras dietas experimentais, excepto para a dieta 2. Por outro lado, não houve diferenças significativas nos CUD_a da energia entre os grupos experimentais.

Tabela 7. 7. Coeficientes de utilização digestiva aparente dos componentes das dietas experimentais (%)

Dieta	1	2	3	4	5	EPM
Matéria seca	79.77 ^a	84.00 ^b	82.13 ^{ab}	83.67 ^b	85.33 ^b	± 0.60
Proteína	91.87 ^a	92.96 ^{ab}	91.52 ^a	91.54 ^a	93.74 ^b	± 0.40
Energia	91.59	92.96	91.10	90.86	91.25	± 0.61

EPM – erro padrão médio. Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($P < 0.05$).

7. 3. 4. Balanços azotado e energético

Os balanços azotado e energético foram estimados pelo método do balanço das carcaças e estão indicados na tabela 7. 8.

Os animais alimentados com dietas com glúten de milho apresentaram valores em azoto ingerido similares e sem diferenças significativas entre si. O grupo da dieta controlo apresentou um valor em azoto ingerido significativamente mais elevado aos dos outros grupos experimentais, excepto para o grupo da dieta 2. Mas verificou-se uma relação inversamente proporcional entre o azoto retido e o nível de inclusão de glúten de milho das dietas experimentais, sem diferenças significativas.

Houve uma ligeira melhoria não significativa nas retenções azotadas (% N ingerido e %N digestível) com a incorporação do glúten de milho nas dietas experimentais, excepto para o grupo alimentado com a dieta 5.

Não houve diferenças significativas na ingestão de energia entre os diferentes grupos. Verificou-se que a incorporação do glúten de milho na dieta contribuiu para uma ligeira diminuição de ingestão da energia bruta até ao nível de incorporação de 60 % de glúten de milho nas dietas experimentais. Não foram registadas diferenças significativas entre os grupos experimentais na energia retida, apresentando o grupo alimentado com a dieta 2 um valor mais baixo.

Quanto à retenção energética, também não foram registadas diferenças significativas entre os grupos experimentais, apesar de se verificar uma ligeira melhoria das retenções energéticas (% E ingerida e % E digestível) com o aumento de incorporação de glúten de milho nas dietas até 60 %.

Tabela 7. 8. Balanços azotado e energético

	1	2	3	4	5	EPM
<u>Utilização do azoto</u>						
Azoto ingerido (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	11.10 ^a	10.29 ^{ab}	10.00 ^b	9.50 ^b	10.09 ^b	± 0.17
Azoto retido (g Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	2.33	2.23	2.26	2.21	1.72	± 0.13
Retenção (% N ingerido)	21.96	22.88	23.14	23.56	17.68	± 0.96
Retenção (% N digestível)	23.24	24.62	25.29	26.00	18.77	± 1.55
<u>Utilização da energia</u>						
Energia ingerida (kJ Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	460.79	446.06	434.46	421.97	452.71	± 7.34
Energia retida (kJ Kg ⁻¹ dia ⁻¹)	133.56	130.7	138.16	133.74	133.42	± 7.03
Retenção (% E ingerida)	30.15	30.60	32.38	34.17	30.23	± 1.04
Retenção (% E digestível)	32.92	32.91	35.49	37.61	33.13	± 1.83

EPM – erro padrão médio; N – azoto; E - energia

Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si (P < 0.05)

7. 4. Discussão

A utilização de combinações de várias fontes proteicas de origem vegetal e animal, substituindo a proteína da farinha de peixe, foi testada em várias espécies de peixes (Moyano *et al.*, 1992; Pongmaneerat *et al.*, 1993; Watanabe *et al.*, 1993; Gomes *et al.*, 1995 a, b). No trabalho de Watanabe *et al.* (1993) foram testadas combinações de 3 fontes proteicas (bagaço de soja, glúten de milho e farinha de carne) com 5 níveis diferentes de substituição parcial de proteína da farinha de peixe (55, 64, 73, 82 e 91 %) em dietas para truta arco-íris. Os crescimentos das trutas arco-íris alimentadas com as dietas com as diferentes combinações proteicas, foram maiores ao da dieta controlo, sendo a combinação de 25 % de bagaço de soja e 15 % de glúten de milho (substituição

de 55% da proteína da farinha de peixe) a que permitiu um melhor crescimento. Também em truta arco-íris, Pongmaneerat e Watanabe (1992) concluíram que a dieta com 25% de bagaço de soja e 15% de glúten de milho (substituição de 63% da proteína da farinha de peixe) proporcionou um crescimento maior ao da dieta controlo.

No presente trabalho não verificámos diferenças significativas no crescimento dos animais alimentados com as dietas experimentais com níveis de substituição proteica até 60 % de glúten de milho. Com a substituição máxima testada (80 %) registou-se um decréscimo significativo no crescimento e na eficiência da utilização do alimento pela dourada. Também Robaina *et al.* (1997) não encontraram diferenças no crescimento e eficiência da utilização do alimento e alterações histológicas do fígado das douradas alimentadas com dietas experimentais nas quais efectuaram substituições proteicas até 40 % com glúten de milho (nível máximo testado). Contudo, a excreção azotada foi significativamente maior nos animais alimentados com a dieta com 40 % de proteína de glúten de milho. Este facto levou os autores a recomendar que o glúten de milho podia substituir a proteína da farinha de peixe até um máximo de 30 %. No presente trabalho não se efectuou o estudo da excreção azotada dos animais alimentados com as dietas experimentais, mas, como a retenção azotada e os CUD_a da proteína não foram significativamente diferentes entre as dietas (excepto para a dieta 5), a excreção azotada também não aumentaria com os níveis de inclusão de glúten de milho.

Regost *et al.* (1999) estudaram o efeito da utilização do glúten de milho, como substituto da farinha de peixe em dietas, no crescimento do pregado. Estes autores mostraram que a substituição proteica de 20 % da farinha de peixe pela do glúten de milho proporcionou um crescimento e uma eficiência da utilização do alimento similar ao da dieta controlo. Quando efectuaram níveis mais elevados de glúten de milho (até 57 %), o crescimento e a eficiência da utilização do alimento sofreram um progressivo agravamento significativo quando comparado com os do grupo controlo e o grupo alimentado com a dieta com 20 % da proteína de glúten de milho.

O glúten de milho substituiu 40 % da proteína da farinha de peixe em dietas para truta arco-íris (Moyano *et al.*, 1992; Morales *et al.*, 1994) e 35 % em dietas para robalo

Europeu (Ballestrazzi *et al.*, 1994) sem qualquer efeito negativo no crescimento e na eficiência da utilização do alimento.

O crescimento e a eficiência da utilização do alimento obtidos neste trabalho são semelhantes aos obtidos na mesma espécie por Robaina *et al.* (1997). Contrariamente, em pregado, Regost *et al.* (1999) não verificaram melhoria no crescimento e na eficiência do alimento com o aumento de nível de inclusão de glúten de milho. Também, em seriola, Shimeno *et al.* (1993 b, c) testaram níveis de incorporação crescentes (10, 20 e 30 %) de glúten de milho nas dietas, constatando que, com o nível de incorporação mais baixo, houve uma melhoria do crescimento e da eficiência da utilização do alimento da seriola. Como já foi mencionado, no presente trabalho, houve uma tendência de melhoria da eficiência proteica com a incorporação crescente de glúten de milho nas dietas. Com nível máximo testado, porém, houve uma diminuição global significativa do crescimento. Este facto poderá atribuir-se ao perfil de aminoácidos não ser equilibrado. A lisina e a arginina são, respectivamente, o 1º e o 2º aminoácido limitante no glúten de milho (Amerio *et al.*, 1998), deficiências essas que se reflectem nos perfis de aminoácidos das dietas e no crescimento dos animais. As dietas 4 e 5 apresentaram valores mais baixos de lisina e arginina em relação aos valores estimados dos requisitos necessários da dourada (Vergara, 1992; Kaushik, 1998). Todavia, apesar destas limitações, só o grupo da dieta 5 apresentou um crescimento significativamente mais baixo do que o da dieta controlo. Naquela dieta, a lisina e a arginina satisfaziam, respectivamente, 50 e 63 % dos requisitos estimados da dourada. Também em falso-alabote japonês (*Paralichthys olivaceus*), Kikuchi (1999) testou diferentes níveis de substituição proteica da farinha de peixe pela do glúten de milho (20, 40 e 60 %), observando que o crescimento dos animais não foi estatisticamente diferente até 40 % comparado com o do grupo controlo. A adição de arginina, lisina e triptofano nas dietas com glúten de milho melhorou o valor nutritivo destas. Um efeito similar da adição com aminoácidos foi observado em tilapia (Wu *et al.*, 1998). Em truta arco-íris, a adição de lisina nas dietas experimentais incorporando glúten de trigo até aproximadamente 50 %, conduziu a uma melhoria da performance zootécnica dos animais (Davies *et al.*, 1997). Pelo contrário, no pregado, Regost *et al.* (1999) observaram que a incorporação de 40 % de glúten de milho, suplementada com lisina,

conduziu um agravamento do crescimento dos animais. Na substituição total da farinha de peixe pelo glúten de milho, com adição de lisina e arginina, o crescimento do pregado foi significativamente menor do que o grupo controlo e o grupo com 20 % de glúten de milho (Regost *et al.*, 1999). Em robalo Europeu, a incorporação da mistura de aminoácidos essenciais numa dieta com 40 % de glúten de milho não contribuiu para uma boa performance de crescimento ao contrário do que se observou nos animais alimentados com dietas com 40 % de concentrados proteicos de soja (Dias *et al.*, 1997). Similarmente, não se observou melhoria do crescimento da carpa alimentada com uma dieta com glúten de milho e bagaço de soja, suplementada com uma mistura de aminoácidos (metionina, lisina e treonina) (Pongmaneerat *et al.*, 1993). Também, em peixe-leite ou tesoureiro (*Chanos chanos*), a suplementação de mistura de aminoácidos não melhorou a qualidade nutritiva da dieta com glúten de milho, como única fonte proteica (Seneriches e Chiu, 1988).

Em relação à composição corporal final dos animais alimentados com as diferentes dietas experimentais, os teores em proteína e em energia não foram afectados significativamente pelo aumento da percentagem de glúten de milho nas dietas experimentais. Contrariamente, houve um aumento significativo do teor em lípidos e uma diminuição significativa do teor em humidade com o aumento da inclusão de glúten de milho nas dietas experimentais. A acção da incorporação de fontes proteicas de origem vegetal nas dietas para dourada, na composição corporal é controversa. Robaina *et al.* (1997) observaram que a composição corporal final da dourada não foi afectada pelo nível de inclusão de glúten de milho. Contudo, o grupo alimentado com a dieta controlo possuía um teor em proteína mais alto e um teor em lípidos mais baixo do que os grupos experimentais. Também Nengas *et al.* (1996) e Davies *et al.* (1997) não observaram diferenças na composição corporal de dourada e truta arco-íris respectivamente, com a substituição da farinha de peixe por matérias primas de origem vegetal (diferentes bagaços de soja e glúten de trigo, respectivamente). Por outro lado, Kissil *et al.* (2000) não encontraram diferenças no teor em proteína enquanto que o teor em lípidos e em energia foram significativamente mais baixos das douradas alimentadas com dietas com elevadas percentagens de proteína de origem vegetal (concentrados proteicos de soja e de colza). Também, em dourada, a utilização da ervilha nas dietas

com níveis de substituição proteica até 20 %, independentemente do tratamento tecnológico, não afectou a composição corporal final dos animais, observando o mesmo efeito com a inclusão até 30 % quer de tremoço crú quer de tremoço micronizado, mencionados nos capítulos anteriores do presente trabalho.

Os coeficientes de utilização digestiva aparente (CUD_a) determinados do presente trabalho estão de acordo com os apresentados por Nengas *et al.* (1995) e Robaina *et al.* (1997) para a mesma espécie e também para outras espécies de peixes (Anderson *et al.*, 1992; Morales *et al.*, 1994; Gomes *et al.*, 1995 b; Sugiura *et al.*, 1998).

Os CUD_a da proteína e da energia não foram afectados pela composição das dietas experimentais, indicando que o glúten de milho é bem digerido, tal como a farinha de peixe. Pongmaneerat e Watanabe (1991) também observaram elevados CUD_a da proteína e da energia das dietas com glúten de milho como única fonte proteica para carpa. Contrariamente os CUD_a dos nutrientes e da energia no pregado apresentaram uma diminuição com o aumento dos níveis de inclusão de glúten de milho. Só a dieta com nível de substituição proteica de 20 % da farinha de peixe pela do glúten de milho apresentou valores de CUD_a bastante satisfatórios (Regost *et al.*, 1999). Também na seriola, o CUD_a da proteína do glúten de milho foi consideravelmente mais baixo que o da farinha de peixe (Masumoto *et al.*, 1996). Apesar da causa desta diferença não ser clara, os autores apontam as diferenças às características dos sistemas digestivos entre as espécies como factor responsável. De acordo com Yamamoto *et al.* (1998), a digestibilidade do glúten de milho varia com as espécies. A proteína do glúten de milho é bem digerida pela truta arco-íris enquanto que a carpa e o pargo tinham menor capacidade de digerir a proteína do glúten de milho. A presença de factores anti-nutricionais produz uma redução da actividade enzimática do aparelho digestivo. A acção dos inibidores de enzimas proteolíticas (proteases) presentes nas matérias primas e as possíveis interacções entre estes e as proteases digestivas podem explicar as diferenças da redução da digestibilidade da proteína (Alarcón *et al.*, 1999). Por outro lado, num estudo *in vitro* do efeito de inibidores de proteases em várias matérias primas de origem animal e vegetal na actividade da protease alcalina da dourada, Alarcón *et al.* (1999) observaram que o glúten de milho tinha a mais baixa actividade inibidora das

fontes proteicas de origem vegetal testadas e que a sua acção inibidora era significativamente reduzida em dietas experimentais se submetida a um pré tratamento ácido das soluções proteicas.

Também as diferenças de CUD_a dos nutrientes poderão atribuir-se ao processamento da matéria prima ou da dieta (Allan *et al.*, 2000). A extracção ou a redução dos hidratos de carbono do glúten de milho resulta num aumento de digestibilidade da matéria seca e da energia da dieta assim como numa redução dos factores anti-nutricionais (Allan *et al.*, 2000; Davies *et al.*, 1997). Também o amido contido no glúten é mais fácil de digerir devido ao aquecimento a que é submetido, aumentando a disponibilidade como fonte energética. Gomes e Kaushik (1989) observaram um aumento da digestibilidade do amido, da matéria seca e da energia das dietas com triticales tratado (trigo x centeio) para truta arco-íris, indicando que o tratamento térmico proporcionou uma melhoria da utilização dos hidratos de carbono presentes no cereal, como fonte energética. Contrariamente, no presente trabalho, a utilização da ervilha, independentemente do tratamento tecnológico, afectou a digestibilidade dos nutrientes. Houve uma diminuição significativa dos CUD_a da matéria seca e da energia com o aumento de nível da ervilha nas dietas experimentais. Uma das possíveis causas atribuídas poderá ser a fraca digestibilidade dos hidratos de carbono presentes na ervilha, sendo coincidentes com os obtidos por Gouveia e Davies (1998) em robalo Europeu.

Os resultados obtidos para o balanço azotado mostraram que, com o aumento da inclusão proteica de glúten de milho até 60 %, observou-se uma melhoria não significativa de retenção azotada (% N ingerido e % N digestível), demonstrando a boa qualidade proteica das dietas. Com o nível máximo testado (80 %) verificou-se um agravamento não significativo da retenção azotada. Quanto à utilização da energia observou-se a mesma tendência, com uma ligeira melhoria não significativa com o aumento de glúten de milho até 60 %. Porém, em dourada, Robaina *et al.* (1997) constataram valores de retenção azotada similares à da dieta controlo, nas douradas alimentadas com dietas até 30 % de proteína de glúten de milho, verificando uma diminuição não significativa com o nível máximo testado (40 %). A retenção energética da dieta com 40 % de proteína de glúten de milho foi significativamente menor do que a

da dieta com 30 % de proteína de glúten de milho. Em pregado, Regost *et al.* (1999) observaram que as retenções azotada e energética foram afectadas pelo aumento de incorporação de glúten de milho nas dietas. Nas dietas com maior nível de inclusão de glúten de milho, a adição de lisina e de arginina não promoveu uma melhoria da retenção azotada. Similarmente, em carpa, Pongmaneerat *et al.* (1993) não observaram melhoria da retenção azotada quando a farinha de peixe foi substituída na totalidade pela combinação de matérias primas (bagaço de soja, glúten de milho e farinha de carne), com a adição de aminoácidos (metionina, lisina e treonina), mas melhorando ligeiramente a retenção energética.

Os resultados obtidos, nas nossas condições experimentais, mostram que o glúten de milho pode substituir até 60 % da proteína da farinha de peixe em dietas para juvenis de dourada, sem efeitos negativos na performance zootécnica da dourada. A adição de aminoácidos essenciais limitantes (lisina e arginina) nas dietas poderia permitir o aumento dos níveis de incorporação do glúten de milho em dietas para juvenis de dourada.

8. CONCLUSÕES FINAIS

Do exposto no presente trabalho, é de realçar as seguintes conclusões:

- as matérias primas testadas apresentam-se como promissores substitutos proteicos parciais da farinha de peixe em dietas para juvenis de dourada,
- a utilização do bagaço de soja proporciona uma tendência para uma diminuição do crescimento dos animais proporcional ao aumento do nível de inclusão de bagaço de soja na dieta. Todavia, o crescimento da dourada alimentada com a dieta com 20 % de proteína de bagaço de soja é similar ao do grupo controlo,
- a digestibilidade da proteína das dietas com bagaço de soja, independentemente do nível de inclusão, é elevada, sendo comparável à da dieta controlo. O aumento de inclusão de bagaço de soja nas dietas terá contribuído para uma diminuição da digestibilidade da energia e da matéria seca, mostrando uma tendência de diminuição da eficiência da retenção azotada e energética da dieta,
- a utilização do bagaço de soja em dietas experimentais para juvenis de dourada, afecta a composição corporal dos animais. Com o aumento do nível de inclusão de bagaço de soja nas dietas o teor em proteína aumenta significativamente enquanto que o teor em lípidos e o índice hepatossomático diminuem significativamente,
- os tratamentos tecnológicos aplicados à farinha de soja, com nível de substituição proteica de 20 % da proteína total da dieta, são benéficos, uma vez que a performance de crescimento da dourada é idêntica à do grupo controlo. A extrusão aplicada à soja integral parece não contribuir para a melhoria da qualidade desta fonte proteica,
- A digestibilidade da proteína das dietas com farinha de soja, não é influenciada pelos tratamentos tecnológicos aplicados, apresentando uma digestibilidade elevada, sendo

8. Conclusões Finais

superior à da dieta controlo. Contrariamente, os tratamentos tecnológicos afectam significativamente a digestibilidade da matéria seca e da energia,

- a composição corporal das douradas não é influenciada pela incorporação da farinha de soja nas dietas, independentemente do tratamento tecnológico aplicado,

- o tremço de folha estreita pode substituir até 30 % da proteína da farinha de peixe em dietas para juvenis de dourada, sem afectar o desempenho dos animais,

- a micronização é benéfica na melhoria da utilização do tremço como fonte de proteína e de energia. Com os mesmos níveis de inclusão, o tremço micronizado proporciona uma melhoria da qualidade nutritiva da dieta relativamente ao tremço cru, apresentando um crescimento e uma eficiência da utilização do alimento e uma eficiência das retenções azotada e energética ligeiramente mais elevados,

- contrariamente ao obtido com o bagaço de soja, a composição corporal dos animais não é afectada com a incorporação do tremço nas dietas, independentemente do tratamento tecnológico aplicado,

- a ervilha pode substituir até 20 % da proteína da farinha de peixe em dietas para juvenis de dourada, sem afectar a performance de crescimento e a eficiência da utilização do azoto e da energia,

- a digestibilidade da matéria seca e da energia das dietas é influenciada pelo nível de inclusão e pelo tratamento tecnológico aplicado à ervilha. Observa-se uma diminuição da digestibilidade com o aumento do nível de inclusão quer da ervilha “Aquatex” quer da ervilha micronizada. Com os mesmos níveis de inclusão, o tratamento tecnológico aplicado à ervilha “Aquatex” promove uma digestibilidade da matéria seca e de energia mais elevadas em relação à ervilha micronizada,

- a incorporação da ervilha nas dietas não afecta a composição corporal dos animais, independentemente quer do tratamento tecnológico quer do nível de inclusão,

- o glúten de milho pode substituir até 60 % da proteína da farinha de peixe em dietas para juvenis de dourada, apresentando uma performance de crescimento superior ao do grupo controlo,
- a inclusão do glúten de milho como fonte proteica nas dietas não afecta a composição corporal dos animais, excepto nos teores em lípidos e em humidade. Observa-se um aumento significativo do teor em lípidos com o nível de incorporação de glúten de milho enquanto que no teor em humidade o efeito é o inverso e,
- a utilização digestiva da proteína e da energia das dietas com glúten de milho é bastante elevada, com um aumento significativo da digestibilidade da proteína e da matéria seca com o nível de inclusão de glúten de milho.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC (1984). *Official Methods of Analysis*, 14th ed. Editors: Association of Official Analytical Chemistry, Washington DC, 1141 p.

AOAC (1996). *Official Methods 9.85.28 – Sulfur Amino Acids in Food and Feed Ingredients*. In: *Official Methods of Analysis*, 16th ed. Editors: Association of Official Analytical Chemistry, Washington DC, 1, 4: 4-12.

Aksnes, A.; Izquierdo, M. S.; Robaina, L.; Vergara, J. M. e Montero, D. (1997). Influence of fish meal quality and feed pellet on growth, feed efficiency and muscle composition in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 153, 251-261.

Alarcón, F. J.; Moyano, F. J. e Díaz, M. (1999). Effect of inhibitors in protein sources on digestive proteases of juvenile sea bream (*Sparus aurata*). *Aquatic Living Resources*, 12, 233-238.

Alexis, M. N. (1990). Comparative evaluation of soybean meal and carob seed germ meal as dietary ingredients for rainbow trout fingerlings. *Aquatic Living Resources*, 3, 235-241.

Allan, G. L.; Parkinson, S.; Booth, M. A.; Stone, D. A. J.; Rowland, S. J.; Frances, J. e Warner-Smith, R. (2000). Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: I. Digestibility of alternative ingredients. *Aquaculture*, 186, 293-310.

Amerio, M.; Costa, M.; Mazzola, A. e Crisali, E. (1989). Use of extracted soybean meal in diets for sea bass. In: *Aquaculture – A Biotechnology in Progress, European Aquaculture Society*. Editors: De Pauw, N.; Jaspers, E.; Ackefors, H. & Wilkins, N., 603-608.

9. Referências bibliográficas

Amerio, M.; Vignali, C.; Castelli, L.; Fiorentini, L. e Tibaldi, E. (1998). Vegetable protein sources, protein evaluation indexes and “ideal protein” of sea bream (*Sparus aurata*). *Rivista Italiana di Acquacoltura*, 33, 135-145.

Anderson, J. S.; Lall, S. P.; Anderson, D. M. e Chandrasoma, J. (1992). Apparent and true availability of amino acids from common feed ingredients for Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in sea water. *Aquaculture*, 108, 111-124.

Arndt, R. E.; Hardy, R. W.; Sugiura, S. H. e Gong, F. M. (1999). Effects of heat treatment and substitution level on palatability and nutritional value of soy defatted flour in feeds for Coho Salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture*, 180, 129-145.

Arnesen, P.; Brattås, L. E.; Olli, J. e Krogdahl, Å. (1989). Soybean carbohydrates appear to restrict the utilization of nutrients by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). In: *The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture, Proceedings of the Third International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish*. Editors: Takeda, M. & Watanabe, T., Toba, Japan, 273-280.

Autin, M. (1997). Commercial aquafeed manufacture and production. In: *Feeding Tomorrow's Fish. Cahiers Options Méditerranéennes*. Editors: Tacon, A. & Basurco, B. 22, 79-104.

Ballestrazzi, R.; Lanari, D.; Dagarò, E. e Mion, A. (1994). The effect of dietary protein level and source on growth, body composition, total ammonia and reactive phosphate excretion of growing sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 127, 197-206.

Bangoula, D.; Parent, J. P. e Vellas, F. (1993). Nutritive value of white lupin (*Lupinus albus* var *Lutop*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Effect of extrusion cooking. *Reprod. Nutr. Dev.* 33, 325-334.

Barnabé, G. (1989). Introduction. In: *Aquaculture*, 2th ed., Technique et Documentation-Lavoisier, Paris, 1, 2-13.

9. Referências bibliográficas

Barrias, C. e Oliva Teles, A. (2000). The use of locally produced fish meal and other dietary manipulations in practical diets for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 31, 213-218.

Booth, M. A.; Allan, G. L.; Frances, J. e Parkinson, S. (2001). Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*. IV. Effects of dehulling and protein concentration on digestibility of grain legumes. *Aquaculture*, 196, 67-85.

Brandsen, M. P.; Carter, C. G. e Nowak, B. F. (2001). Effects of dietary protein source on growth, immune function, blood chemistry and disease resistance of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. *Animal Science*, 73, Part 1, 105-113.

Bureau, D.; Harris, A. M. e Cho, C. Y. (1998). The effects of purified alcohol extracts from soy products on feed intake and growth of chinook salmon (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 161, 27-43.

Burel, C.; Boujard, T.; Corraze, G.; Kaushik, S. J.; Boeuf, G.; Mol, K. A.; Van der Geyten, S. e Kuhn, E. R. (1998). Incorporation of high levels of extruded lupin in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): nutritional value and effect on thyroid status. *Aquaculture*, 163, 325-345.

Burel, C.; Boujard, T.; Kaushik, S. J.; Boeuf, G.; Van der Geyten, S.; Mol, K. A.; Kuhn, E. R.; Quinsac, A.; Krouti, M. e Ribailier, D. (2000). Potencial of plant-protein sources as fish meal substitutes in diets for turbot (*Psetta maxima*): growth, nutrient utilisation and thyroid status. *Aquaculture*, 188, 363-382.

Cardenete, G.; Morales, A. E.; De la Higuera, M. e Sanz, A. (1993). Nutritive evaluation of sunflower meal as a protein source for rainbow trout. In: *Fish Nutrition in Practice, Les Colloques*. Editors: Kaushik, S. J. & Luquet, P., 61, 927-931.

Carter, C. G. e Hauler, R. C. (2000). Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture*, 185, 299-311.

Cho, C. Y.; Slinger, S. J. e Bayley, H. S. (1982). Bionergetics of salmonid fishes: Energy intake, expenditure and productivity. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 73B, 25-41.

Dabrowski, K.; Poczyczynski, P. e Berger, B. (1989). Effect of partially or totally replacing fish meal protein by soybean meal protein on growth, food utilization and proteolytic enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). New *in vivo* test for exocrine pancreatic secretion. *Aquaculture*, 77, 29-49.

Dade, B. A.; Aguirre, P.; Blanc, D. e Kaushik, S. J. (1990). Incorporation du colza 00 sous forme de tourteau ou d' amande dans les aliments de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*): performance zootechnique et digestibilité. *Bulletin Française Pêche et Pisciculture*, 317, 50-57.

Davies, S. J. e Morris, P. C. (1997). Influence of multiple amino acid supplementation on the performance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fed soya based diets. *Aquaculture Research*, 28, 65-74.

Davies, S. J.; Morris, P. C. e Baker, T. M. (1997). Partial substitution of fish meal and full-fat soya bean meal with wheat gluten and influence of lysine supplementation in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 28, 317-328.

Davies, S. J.; Nengas, I. e Alexis, M. (1993). Partial substitution of fish meal with different meat meal products in diets for sea bream (*Sparus aurata*). In: *Fish Nutrition in Practice, Les Colloques*. Editors: Kaushik, S. J. & Luquet, P., 61, 907-911.

De la Higuera, M. e Cardenete, G. (1987). Fuentes alternativas de proteína y energia en acuicultura. In: *Alimentación en acuicultura*. Editors: J. Espinosa de los Monteros y U. Labarta, Madrid, 59-129.

9. Referências bibliográficas

De la Higuera, M. e Cardenete, G. (1993). La Proteína en la Nutrición de los Peces. In: *Acuicultura Marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Editors: Publicacions Universitat de Barcelona. Coord. F. Castelló Orvay, 195-227.

De la Higuera, M.; García-Gallego, M.; Sanz, A.; Cardenete, G.; Suárez, M. D. e Moyano, F. J. (1988). Evaluation of lupin seed meal as an alternative protein source in feeding of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 71, 37-50.

De Silva, S. S. e Anderson, T. A. (1995). Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman & Hall Aquaculture Series 1. Editors: Chapman & Hall, London, 319 p.

Dias, J.; Gomes, E. e Kaushik, S. J. (1997). Improvement of feed intake through supplementation with an attractant mix in European seabass fed plant-protein rich diets. *Aquatic Living Resources*, 10, 385-389.

Evans, A. J.; Cheung, P. C. K. e Cheetham, N. W. H (1993). The carbohydrate composition of cotyledons and hulls of cultivars of *Lupinus angustifolius* from Western Australia. *Journal of Science Food Agriculture*, 61, 189-194.

FAO (1983). Service des Ressources Marines, Division des Ressources Halieutiques et d' Environnement. Examen de l' Etat des Ressources Ichtyologiques Mondiales. *FAO, Circular de Pêches*, 170, rev. 3, FAO Rome, 43 p.

FAO (1990). Aquaculture Production (1985-1988), *FAO Fisheries Circular*, 815, rev. 2, FAO, Rome.

FAO (1999). Trends in Global Aquaculture Production (consultado em 03/03/2003). Disponível em VRL: <http://www.fao.org/fi/trends/worldprod99s.asp>.

FAO (2002). World Fisheries Production, by Capture and Aquaculture, by Country (2000). Disponível em VRL. [fao.org/](http://www.fao.org/).

9. Referências bibliográficas

Farhangi, M. e Carter, C. G. (2001). Growth, physiological and immunological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to different dietary inclusion levels of dehulled lupin (*Lupinus angustifolius*). *Aquaculture Research*, 32, 329-340.

Francis, G., Makkar, H. P. S. e Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199, 197-227.

Furukawa, A. e Tsukahara, H. (1966). On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 32, 502-506.

Gaylord, T. G. e Gatlin III, D. M. (1996). Determination of digestibility coefficients of various feedstuffs for red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, 139, 303-314.

Gomes, E. F. (1991). A proteína e a energia na alimentação da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Efeito do tipo e qualidade das matérias primas utilizadas. Tese de doutoramento. Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Univ. do Porto, 206 p.

Gomes, E. e Kaushik, S. J. (1989). Incorporation of lupin seed meal, colzapro or triticale as protein/energy substitutes in rainbow trout diets. In: *The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture, Proceedings of the Third International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish*. Editors: Takeda, M. & Watanabe, T., Toba, Japan, 315-324.

Gomes, E.; Corraze, G. e Kaushik, S. J. (1993). Effects of dietary incorporation of a co-extruded plant protein (rapeseed and peas) on growth nutrient utilization and muscle fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 113, 339-353.

9. Referências bibliográficas

Gomes, E.; Rema, P. e Kaushik, S. J. (1995 a). Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. *Aquaculture*, 130, 177-186.

Gomes, E.; Rema, P.; Gouveia, A. e Oliva Teles, A. (1995 b). Replacement of fish meal by plant proteins in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effect of the quality of fishmeal based control diets on digestibility and nutrient balances. *Water Science Technology*, 31, 205-211.

Gomes da Silva, J. e Oliva Teles, A. (1996). Substituição parcial de farinha de peixe por fontes proteicas alternativas em dietas para robalo (*Dicentrarchus labrax*). Efeitos no crescimento e utilização metabólica das dietas. *Actas do Congresso de Zootecnia*, vol II, 349-358.

Gouveia, A. (1989 a). The bromatological characterization of six brown fish meals, of a poultry by-product and hydrolysed feather meal, and of a meat and bone meal. Nato Scientific Affairs Division, Science for Stability Programme, Development of Aquaculture in Portugal. *Technical Reports*, JNICT, 53 p.

Gouveia, A. (1989 b). The nutritional evaluation of six brown fish meals as feeds for rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). Nato Scientific Affairs Division, Science for Stability Programme, Development of Aquaculture in Portugal. *Technical Reports*, JNICT, 55 p.

Gouveia, A. (1989 c). The nutritional evaluation of a poultry by-product and hydrolysed feather meal and of a meat and bone meal in a compound diet for rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). Nato Scientific Affairs Division, Science for Stability Programme, Development of Aquaculture in Portugal. *Technical Reports*, JNICT, 55 p.

Gouveia, A. (1992). The use of poultry by-product and hydrolysed feather meal as a feed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In: Faculdade de Ciências do Porto (Ed.), *Instituto de Zoologia "Dr. Augusto Nobre"*, 227, 24 p.

Gouveia, A. e Davies, S. J. (1998). Preliminary nutritional evaluation of pea seed meal (*Pisum sativum*) for juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 166, 311-320.

Gouveia, A. e Davies, S. J. (2000). Inclusion of an extruded dehulled pea seed meal in diets for juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 182, 183-193.

Gouveia, A.; Oliva Teles, A.; Gomes, E. e Rema, P. (1993). Effect cooking/expansion of three legume seeds on growth and food utilization by rainbow trout. In: *Fish Nutrition in Practice, Les Colloques*. Editors: Kaushik, S. J. & Luquet, P., 61, 933-938.

Guillaume, J. (1991). Les bases de la nutrition des salmonidés. III-Formulation des aliments. *La Pisciculture Française*, 104, 25-42.

Hardy, R. W. (1991). Application of hazard analysis and critical control point principles to feed manufacturing. In: *Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop*. Editors: Akiyama, D. M. & Tan, R. K. H., Sept. 19-25, Thailand and Indonesia, 121-128.

Hardy, R. W. (1996). Alternate protein sources for salmon and trout diets. *Animal Feed Science & Technology*, 59, 71-80.

Hertrampf, J. W. e Piedad-Pascual, F. (2000). Fish meal. In: *Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds*. Editors: Kluwer Academic Publishers, Dordrecht / Boston / London, 177-191.

Hughes, S. (1988). Assessment of lupin flour as a diet ingredient for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 71, 379-385.

9. Referências bibliográficas

Hughes, S. (1991). Use of lupin flour as a replacement for full-fat soy in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 93, 57-62.

Kaushik, S. J. (1989). Alternative protein sources in the diets for carnivorous fishes. In: *Mediterranean Aquaculture*. Editors: Flos, R., Tort, L. & Torres, P., Ellis Horwood, London, 125-138.

Kaushik, S. J. (1998). Whole body amino acid composition of European seabass (*Dicentrarchus labrax*), gilthead seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Psetta maxima*) with an estimation of their IAA requirement profiles. *Aquatic Living Resources*, 11, 355-358.

Kaushik, S. J.; Cravedi, J. P.; Lalles, J. P.; Sumpter, J.; Fauconneau, B. e Laroche, M. (1995). Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 133, 257-274.

Kikuchi, K. (1999). Partial replacement of fish meal with corn gluten meal in diets for Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 30, 357-363.

Kingsbury, J. M. (1964). Poisonous plants of the United States and Canada. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 333-341.

Kissil, G. Wm.; Lupatsch, I.; Higgs, D. A. e Hardy, R. W. (2000). Dietary substituiton of soy and rapeseed protein concentrates for fish meal, and their effects on growth and nutrient utilization in gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Aquaculture Research*, 31, 595-601.

Klausen, N. K. e Lunde, E. (1986). Formation of biogenic amines in herring and mackerel. 2. Leveusm, *Unters Forsch*, 182, 459-463.

- Krogdahl, A. (1989). Alternative protein sources from plants contain antinutrients affecting digestion in salmonids. In: *The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture, Proceedings of the Third International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish*. Editors: Takeda, M. & Watanabe, T., Toba, Japan, 253-261.
- Jaffe, A. (1980). Toxic Constituents of Plant Foodstuffs, 2nd ed., Academic Press, NY, 213 p.
- Leary, D. F. e Lovell, R. T. (1975). Value of fibre in production-type diets for channel catfish. *Transactions of the American Fisheries Society*, 2, 328-332.
- Liener, I. E. (1980). Antinutritional factors in legume seeds: state of the art. In: *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds*. Editors: Huisman, J., Van der Poel, T. F. B. & Liener, I. E., Pudoc, Wageningen, 6-13.
- Lim, C. e Akiyama, D. M. (1992). Full-fat soybean meal utilization by fish. *Asian Fisheries Sciences*, 5, 181-197.
- Lupatsch, I.; Kissil, G. Wm.; Sklan, D. e Pfeffer, E. (1997). Apparent digestibility coefficients of feed ingredients and their predictability in compound diets for gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture Nutrition*, 3, 81-89.
- Luquet, P. e Sabaut, J. J. (1974). Nutrition azotée et croissance chez la daurade et la truite. Actes de Colloques, *Colloques sur l'Aquaculture*, CNEXO 1, Brest, 243-253.
- Masumoto, T.; Ruchimat, T.; Ito, Y.; Hosokawa, H. e Shimeno, S. (1996). Amino acid availability values for several protein sources for yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*, 146, 109-119.
- McDonald, P.; Edwards, R. A.; Greenhalgh, J. F. D. e Morgan, C. A. (1995). *Animal Nutrition*, 5th ed., Longman Scientific & Technical, England, 607 p.

Médale, F.; Boujard, T.; Vallee, F.; Blanc, D.; Mambrini, M.; Roem, A. e Kaushik, S. J. (1998). Voluntary feed intake, nitrogen and phosphorus losses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed increasing dietary levels of soy protein concentrate. *Aquatic Living Resources*, 11, 239-246.

Meneses, J. (1991). Potencialidades para a Aquacultura na Região Autónoma dos Açores. Avaliação Preliminar e uma Proposta de Estratégia. *Relatórios Técnicos Científicos do INIP*, Lisboa, 17 p.

Morales, A. E.; Cardenete, G.; De la Higuera, M. e Sanz, A. (1994). Effects of dietary protein sources on growth, feed conversion and energy utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 124, 117-126.

Moyano, F. J.; Cardenete, G. e De la Higuera, M. (1992). Nutritive value of diets containing a high percentage of vegetable proteins for trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Living Resources*, 5, 23-29.

Murai, T.; Ogata, H.; Villaneda, A. e Watanabe, T. (1989). Utilization of soy flour by fingerling rainbow trout having different body size. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55, 1067-1073.

Nengas, I.; Alexis, M. N. e Davies, S. J. (1996). Partial substitution of fishmeal with soybean meal products and derivatives in diets for gilthead seabream *Sparus aurata* (L.). *Aquaculture Research*, 27, 147-156.

Nengas, I.; Alexis, M. N.; Davies, S. J. e Petichakis, G. (1995). Investigation to determine digestibility coefficients of various raw materials in diets for gilthead sea bream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture Research*, 26, 185-194.

9. Referências bibliográficas

Oliva Teles, A.; Gouveia, A. J.; Gomes, E. e Rema. P. (1994). The effect of different processing treatments on soybean meal utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 124, 343-349.

Olli, J. J.; Krogdahl, Å. e Våben, A. (1995). Dehulled solvent-extracted soybean meal as a protein source in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture Research*, 26, 167-174.

Perrot, C. (1995). Les protéines de pois: de leur fonction dans la graine à leur utilisation en alimentation. *INRA Productions Animales*, 8, 151-164.

Pfeffer, E. e Beckmann-Toussaint, J. (1991). Hydrothermically treated soy beans as source of dietary protein for rainbow (*Salmo gairdneri*, R.). *Archives of Animal Nutrition*, 41, 223-228.

Pfeffer, E.; Kinzinger, S. e Rodehutschord, M. (1995). Influence of the proportion of poultry slaughter by-products and of untreated or hydrothermically treated legume seeds in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), on apparent digestibilities of their energy and organic compounds. *Aquaculture Nutrition*, 1, 111-117.

Pike, I.; Andorsdottir, G. e Mundheim, H. (1990). The role of fish meal in diets for salmonids. *International Association of Fish Manufactures*, 24, 1-35.

Pongmaneerat, J. e Watanabe, T. (1991). Nutritive value of protein of feed ingredients for carp *Cyprinus carpio*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 503-510.

Pongmaneerat, J. e Watanabe, T. (1992). Utilization of soybean meal as protein source in diets for rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 1983-1990.

Pongmaneerat, J. e Watanabe, T. (1993 a). Effect of extrusion processing on the utilization of soybean meal diets for rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 1407-1414.

9. Referências bibliográficas

Pongmaneerat, J. e Watanabe, T. (1993 b). Nutritional evaluation of soybean meal for rainbow trout and carp. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 157-163.

Pongmaneerat, J.; Watanabe, T.; Takeuchi, T. e Satoh, S. (1993). Use of different protein meals as partial or total substitution for fish meal in carp diets. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 1249-1257.

Rana, K. J. (1997). Trends in Global Production 1984-1995. In: Review of the State of World Aquaculture, *FAO Fisheries Circular*, 886, Rev. 1, FIRI/C 886 (Rev. 1), Rome, FAO, 1997, 3-6.

Refstie, S.; Helland, S. e Storebakken, T. (1997). Adaptation to soybean meal in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 153, 263-272.

Refstie, S.; KorsØen, Ø. J.; Storebakken, T.; Baeverfjord, G.; Lein, I. e Roem, A. (2000). Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 190, 49-63.

Refstie, S.; Storebakken, T. e Roem, A. J. (1998). Feed consumption and conversion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with fish meal, extracted soybean meal or soybean meal with reduced content of oligosaccharides, trypsin inhibitors, lectins and soya antigens. *Aquaculture*, 162, 301-312.

Regost, C.; Arzel, J. e Kaushik, S. J. (1999). Partial or total replacement of fish meal by corn gluten meal in diet for turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 180, 99-117.

Robaina, L. (1998). Utilización nutritiva de fuentes de proteína alternativas a la harina de pescado en dietas de engorde para dorada (*Sparus aurata*). *Informes Técnicos del Instituto Canario de Ciencias Marinas*, 4, 195 p.

Robaina, L.; Corraze, G.; Aguirre, P.; Blanc, D.; Melcion, J. P. e Kaushik, S. (1999). Digestibility, postprandial ammonia excretion and selected plasma metabolites in

9. Referências bibliográficas

European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed pelleted or extruded diets with or without wheat gluten. *Aquaculture*, 179, 45-56.

Robaina, L.; Izquierdo, M. S.; Moyano, F. J.; Socorro, J.; Vergara, J. M.; Montero, D. e Fernández-Palacios, H. (1995). Soybean and lupin seed meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*): nutritional and histological implications. *Aquaculture*, 130, 219-233.

Robaina, L.; Moyano, F. J.; Izquierdo, M. S.; Socorro, J.; Vergara, J. M. e Montero, D. (1997). Corn gluten and meat and bone meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*): nutritional and histological implications. *Aquaculture*, 157, 347-359.

Santinha, P. J. M. (1997). Estudos em nutrição de dourada (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). Tese de doutoramento. Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Univ. do Porto, 199 p.

Sanz, A.; Morales, A. E.; De la Higuera, M. e Cardenete, G. (1994). Sunflower meal compared with soybean meal as partial substitutes for fish meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: protein and energy utilization. *Aquaculture*, 128, 287-300.

Seneriches, M. L. M. e Chiu, Y. (1988). Effect of fishmeal on the growth, survival and feed efficiency of milkfish (*Chanos chanos*) fry. *Aquaculture*, 71, 61-69.

Shimeno, S.; Hosokawa, H.; Yamane, R.; Masumoto, T. e Ueno, Shin-ichi. (1992). Change in nutritive value of defatted soybean meal with duration of heating time for young yellowtail. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 1351-1359.

Shimeno, S.; Kumon, M.; Ando, H. e Ukama, M. (1993 a). The growth performance and body composition of young yellowtail fed with diets containing defatted soybean meal for a long period. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 821-825.

9. Referências bibliográficas

Shimeno, S.; Masumoto, T.; Hujita, T.; Mima, T. e Ueno, Shin-ichi (1993 b). Alternative protein sources for fish meal diets of young yellowtail. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 137-143.

Shimeno, S.; Mima, T.; Imanaga, T. e Tomaru, K. (1993 c). Inclusion of combination of deffated soybean meal, meat meal, and corn gluten meal to yellowtail diets. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 1889-1895.

Simões-Nunes, C. (1987). Factores antinutricionais nos alimentos. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 482, 151-168.

Storebakken, T.; Shearer, K. D.; Baeverfjord, G.; Nielsen, B. G.; Åsgård, T.; Scott, T. e De Laporte, A. (2000). Digestibility of macronutrients, energy and amino acids, absorption of elements and absence of intestinal enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with wheat gluten. *Aquaculture*, 184, 115-132.

Sudaryono, A.; Tsvetnenko, E.; Hutabarat, J.; Supriharyono e Evans, L. H. (1999). Lupin ingredients in shrimp (*Penaeus monodon*) diets: influence of lupin species and types of meals. *Aquaculture*, 171, 121-133.

Sugiura, S. H.; Dong, F. M.; Rathbone, C. K. e Hardy, R. W. (1998). Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feed ingredients for salmonid feeds. *Aquaculture*, 159, 177-202.

Synder, H. E. e Kwon, T. W. (1987). Soybean Utilization. Van Nostrand-Reinhold, New York, NY, USA, 346 p.

Tacon, A. G. J. (1993). Feed ingredients for warmwater fish: fish meal and other processed feedstuffs. *FAO Fisheries Circular* 856, FAO, Rome, 64 p.

Tacon, A. G. J. (1994). Feed ingredients for carnivorous fish species alternatives to fishmeal and other fishery resources. *FAO Fisheries Circular* 881, FAO, Rome, 35 p.

Tacon, A. G. J. (1997). Fishmeal replacers: review of antinutrients within oilseeds and pulses – a limiting factor for the aquafeed *Green Revolution*? In: *Feeding Tomorrow's Fish. Cahiers Options Méditerranéennes*. Editors: Tacon, A. & Basurco, B., 22, 153-182.

Tacon, A. G. J. e Cowey, C. B. (1985). Protein and amino acid requirements. In: *Fish Energetics: New Perspectives*. Editors: Calow, P. & Tytler, P., Croom Helm, London, 155-184.

Tacon, A. G. J. e Jackson, A. J. (1985). Utilization of conventional and unconventional protein sources in practical fish feeds. In: *Nutrition and Fish Feeding*. Editors: Cowey, C. B., Mackie, A. M. & Bell, J. G., Academic Press, London, 110-145.

Tacon, A. G. J.; Haaster, J. V.; Featherstone, P. B.; Kerr, K. e Jackson, A. J. (1983). Studies on the utilization of full-fat soybean and solvent extracted soybean meal in a complete diet for rainbow trout. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 49, 1437-1443.

Takii, K.; Shimeno, S.; Nakamura, M.; Itoh, Y.; Obatake, A.; Kumai, H. e Takeda, M. (1989). Evaluation of soy protein concentrate as a partial substitute for fish meal protein in practical diet for yellowtail. In: *The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture, Proceedings of the Third International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish*. Editors: Takeda, M. & Watanabe, T., Toba, Japan, 281-288.

Vergara, J. M. (1992). Studies on the utilization of dietary protein and energy by gilthead seabream (*Sparus aurata*). Ph. D. Thesis, Univ. Stirling, 162 p.

Vergara, J. M.; López-Calero, G.; Robaina, L.; Caballero, M. J.; Montero, D.; Izquierdo, M. S. e Aksnes, A. (1999). Growth, feed utilization and body lipid content of gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed increasing lipid levels and fish meals of different quality. *Aquaculture*, 179, 35-44.

Viola, S.; Mokady, S. e Arieli, Y. (1983). Effects of soybean processing methods on the growth of carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 32, 27-38.

Viola, S.; Mokady, S.; Rappaport, U. e Arieli, Y. (1981). Partial and complete replacement of fishmeal by soybean meal in feeds for intensive culture of carp. *Aquaculture*, 26, 223-236.

Viyakarn, V.; Watanabe, T.; Aoki, H.; Tsuda, H.; Sakamoto, H.; Okamoto, N.; Iso, N.; Satoh, S. e Takeuchi, T. (1992). Use of soybean meal as a substitute for fish meal in a newly developed soft-dry pellet for yellowtail. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 1991-2000.

Watanabe, T. e Pongmaneerat, J. (1991). Quality evaluation of some animal protein sources for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 495-501.

Watanabe, T. e Pongmaneerat, J. (1993). Potential of soybean meal as a source in extruded pellets for rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 1415-1423.

Watanabe, T.; Pongmaneerat, J.; Sato, S. e Takeuchi, T. (1993). Replacement of fish meal by alternative protein sources in rainbow trout diets. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 1573-1579.

Watanabe, T.; Takeuchi, T.; Satoh, S. e Kiron, V. (1996). Digestible crude protein contents in various feedstuffs determined with four freshwater fish species. *Fisheries Science*, 62, 278-282.

Watanabe, T.; Nanri, H.; Satoh, S.; Takeuchi, M. e Nose, S. (1983). Nutritional evaluation of brown meals as a protein source in diets for rainbow trout. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 49, 1083-1087.

9. Referências bibliográficas

Watanabe, T.; Viyakarn, V.; Kimura, H.; Ogawa, K.; Okamata, N. e Iso, N. (1992). Utilization of soybean meal as a protein in a newly developed soft-dry pellet for yellowtail. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 1761-1773.

Wu, Y. V.; Rosati, R.; Sessa, D. J. e Brown, P. (1995 a). Utilization of corn gluten feed by Nile tilapia. *The Progressive Fish-Culturist*, 57, 305-309.

Wu, Y. V.; Rosati, R.; Sessa, D. J. e Brown, P. (1995 b). Evaluation of corn gluten meal as a protein source in tilapia diets. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 43, 1585-1588.

Wu, Y. V.; Rosati, R. e Brown, P. (1998). Effects of lysine on growth of tilapia fed diets rich in corn gluten meal. *Cereal Chemistry*, 75, 771-774.

Yamamoto, T.; Akimoto, A.; Kishi, S.; Unuma, T. e Akiyama, T. (1998). Apparent and true availabilities of amino acids from several protein sources for fingerling rainbow trout, common carp, and red sea bream. *Fisheries Science*, 64, 448-458.