



**UNIVERSIDADE DE ÉVORA**

**MESTRADO EM ZOOTECNIA**

**Utilização de glúten de trigo na alimentação de  
dourada, *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758)**

**Orientador**

Professor Doutor Amadeu António Gomes Borges Freitas

**Co-orientador**

Doutora Teresa Maria Silveira Monteiro da Gama Pereira

Esta dissertação não inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri

**Marco Santos Nunes**

**Évora**

**2009**

**UNIVERSIDADE DE ÉVORA**

**MESTRADO EM ZOOTECNIA**

**Utilização de glúten de trigo na alimentação de  
dourada, *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758)**

**Orientador**

Professor Doutor Amadeu António Gomes Borges Freitas

**Co-orientador**

Doutora Teresa Maria Silveira Monteiro da Gama Pereira

**Marco Santos Nunes**

**Évora**

**2009**



171 335-

## **AGRADECIMENTOS**

Manifesto o meu reconhecimento à Universidade de Évora e ao Instituto Nacional dos Recursos Biológicos I.P. por terem disponibilizado os recursos necessários à execução deste trabalho.

Agradeço ao Professor Amadeu Borges Freitas por ter aceite ser orientador deste estudo, pelo interesse que evidenciou e pela forma objectiva como transmitiu os seus elevados conhecimentos. Agradeço a amizade demonstrada.

Agradeço à Doutora Teresa Gama Pereira por ter aceite participar na orientação deste trabalho, tendo assim partilhado novamente os seus profundos conhecimentos. Agradeço de novo a amizade que sempre demonstrou.

**À Rita**

## ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
ÍNDICE DE TABELAS .....	10
RESUMO.....	12
ABSTRACT .....	13
1. INTRODUÇÃO E OBJECTIVOS .....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	16
2.1. AQUACULTURA EM PORTUGAL E NO MUNDO, SITUAÇÃO ACTUAL E PERSPECTIVAS .....	16
2.2. A DOURADA .....	18
2.2.1. Posição sistemática e nomenclatura .....	18
2.2.2. Distribuição geográfica, habitat e ecologia .....	19
2.2.3. Características morfológicas e biológicas.....	20
2.2.4. Composição química da dourada .....	21
2.2.5. Aspectos sobre a cultura de dourada .....	24
2.3. FISIOLOGIA DIGESTIVA DOS PEIXES.....	26
2.3.1. Boca e cavidade bucal.....	27
2.3.2. Esófago .....	28
2.3.3. Estômago .....	29
2.3.4. Intestino .....	30
2.3.5. Recto .....	31
2.3.6. Fígado .....	32
2.3.7. Pâncreas .....	32
2.4. NECESSIDADES NUTRICIONAIS DOS PEIXES .....	32
2.4.1. Necessidades em proteínas e aminoácidos .....	33
2.4.2. Necessidades lipídicas e em ácidos gordos essenciais .....	34
2.4.3. Necessidades em glúcidos .....	35
2.4.4. Necessidades em minerais.....	37
2.4.5. Necessidades vitamínicas .....	38
2.5. PRINCIPAIS MATÉRIAS-PRIMAS UTILIZADAS NO FABRICO DE RAÇÕES PARA AQUACULTURA.....	41
2.5.1. Matérias-primas de origem animal.....	41
2.5.1.1. Farinha de peixe .....	41
2.5.1.2. Farinha de sangue.....	43
2.5.1.3. Farinha de carne e farinha de carne e ossos .....	44

2.5.2. Matérias-primas de origem vegetal.....	45
2.5.2.1 Glúten de trigo .....	45
2.5.2.2. Glúten de milho.....	47
2.5.2.3. Cereais .....	48
2.5.2.4. Soja .....	49
2.5.2.5. Tremoço .....	51
2.5.2.6. Ervilha.....	52
2.5.2.7. Fava.....	53
2.6. DETERMINAÇÃO DE DIGESTIBILIDADE .....	53
2.6.1. Conceitos de digestibilidade, digestibilidade real e digestibilidade aparente .....	54
2.6.2. Métodos de determinação de digestibilidade.....	54
2.6.2.1 Método directo .....	55
2.6.2.2. Método indirecto, incorporação de marcadores.....	55
2.6.2.2.1. Marcadores.....	56
2.6.3. Métodos de colheita de fezes para determinação de digestibilidade.....	58
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	60
3.1. MATÉRIAS-PRIMAS E RAÇÕES.....	60
3.2. PROCEDIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA, VALOR CALÓRICO, TEOR EM AMINOÁCIDOS E ÓXIDO DE CRÓMIO DAS MATÉRIAS-PRIMAS E RAÇÕES .....	65
3.2.1. Determinação da proteína bruta .....	65
3.2.1.1. Resumo do processo .....	65
3.2.1.2. Modo operativo .....	65
3.2.1.2.1. Reagentes .....	65
3.2.1.2.2. Aparelhos e utensílios .....	66
3.2.1.2.3. Técnica .....	66
3.2.1.2.4. Resultado.....	66
3.2.2. Determinação da gordura bruta.....	67
3.2.2.1. Resumo do processo.....	67
3.2.2.2. Modo operativo .....	67
3.2.2.2.1. Reagentes .....	67
3.2.2.2.2. Aparelhos e utensílios .....	67
3.2.2.2.3. Técnica .....	68
3.2.2.2.4. Resultado.....	68
3.2.3. Determinação das cinzas .....	69
3.2.4. Determinação da humidade.....	69

3.2.5. Determinação do valor calórico .....	69
3.2.6. Determinação dos aminoácidos totais .....	69
3.2.7. Determinação do óxido de crómio (Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ).....	70
3.3. ENSAIO DE CRESCIMENTO.....	70
3.4. ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE.....	74
3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	76
4. RESULTADOS .....	78
4.1. PARÂMETROS DETERMINADOS.....	78
4.2. CRESCIMENTO, CONSUMO E EFICIÊNCIA ALIMENTAR.....	81
4.3. CONDIÇÃO CORPORAL, ÍNDICE HEPATOSSOMÁTICO, ÍNDICE VISCERAL E RENDIMENTO DA CARÇAÇA.....	83
4.4. COEFICIENTES DE UTILIZAÇÃO DIGESTIVA .....	85
4.5. BALANÇOS AZOTADOS E ENERGÉTICOS .....	86
5. DISCUSSÃO .....	88
6. CONCLUSÃO.....	95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	96

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Dourada (Fonte: Moretti <i>et al.</i> , 1999)	19
<b>Figura 2</b> – Distribuição geográfica da dourada (Fonte: Moretti <i>et al.</i> , 1999)	19
<b>Figura 3</b> – Ciclo produtivo da dourada em cativeiro (Fonte: Garcia, 2008)	25
<b>Figura 4</b> – Tracto digestivo de um peixe teleósteo: (Fonte: Rotta, 2003)	27
<b>Figura 5</b> – A- Ração para o ensaio de digestibilidade; B- Ração para o ensaio de crescimento	60
<b>Figura 6</b> – A- Misturador vertical; B - Granulador	63
<b>Figura 7</b> – Circuito de crescimento	71
<b>Figura 8</b> – Sistema de filtragem do circuito de crescimento	71
<b>Figura 9</b> – Pesagem individual dos peixes	73
<b>Figura 10</b> – Peixes sacrificados e colocados em gelo para análise posterior	73
<b>Figura 11</b> – Tanques do circuito de digestibilidade	74
<b>Figura 12</b> – Filtro de areia do circuito de digestibilidade	75
<b>Figura 13</b> – Esquema de funcionamento dos circuitos: A – Circuito de crescimento; B – Circuito de digestibilidade	77
<b>Figura 14</b> - Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as cinco dietas ao longo do ensaio	82
<b>Figura 15</b> – Condição corporal, índice hepatossomático, índice visceral e rendimento da carcaça das douradas alimentadas com as dietas experimentais	84
<b>Figura 16</b> - Coeficientes de utilização digestiva aparente dos componentes das dietas	85
<b>Figura 17</b> – Balanços azotados e energéticos e respectivas eficácias de retenção	87

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Perfil de aminoácidos corporais da dourada no estado selvagem (g /100g de proteína) (Fonte: Pereira, 1991)	22
<b>Tabela 2</b> – Perfil corporal de minerais da dourada (mg/Kg) (Fonte: Ozden & Erkan, 2008)	24
<b>Tabela 3</b> – Necessidades em aminoácidos essenciais de algumas espécies de peixes (% de proteína) (Fonte: Watanabe, 1988; Gomez-Requeni <i>et al.</i> , 2004)	34
<b>Tabela 4</b> – Necessidades em minerais dos peixes (mg/Kg) (Fonte: De Silva e Anderson, 1995)	38
<b>Tabela 5</b> – Composição em aminoácidos (% de proteína) de diversas fontes proteicas (Fonte: Santinha, 1997)	42
<b>Tabela 6</b> – Alguns factores anti-nutritivos presentes nas matérias-primas de origem vegetal e possíveis meios de superação dos seus efeitos (Fonte: Santinha, 1997)	46
<b>Tabela 7</b> – Composição das dietas testadas (valores em g)	60
<b>Tabela 8</b> – Composição química das matérias-primas testadas	61
<b>Tabela 9</b> – Composição em aminoácidos totais das matérias-primas testadas (g/100g proteína)	61
<b>Tabela 10</b> – Valor calórico das matérias-primas testadas	61
<b>Tabela 11</b> – Composição da mistura mineral	62
<b>Tabela 12</b> – Composição da mistura vitamínica	62
<b>Tabela 13</b> – Composição química das dietas para o ensaio de crescimento	64
<b>Tabela 14</b> – Composição química das dietas para o ensaio de digestibilidade	64
<b>Tabela 15</b> – Composição em aminoácidos totais das dietas (g/100g proteína)	64
<b>Tabela 16</b> – Valor calórico das rações para o ensaio de crescimento	64
<b>Tabela 17</b> – Valor calórico das rações para o ensaio de digestibilidade	65
<b>Tabela 18</b> – Organização e calendarização do ensaio de digestibilidade	76

<b>Tabela 19</b> – Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as cinco dietas ao longo do ensaio	81
<b>Tabela 20</b> – Consumo e eficiência alimentar das douradas alimentadas com as dietas experimentais	83
<b>Tabela 21</b> - Condição corporal, índice hepatossomático, índice visceral e rendimento da carcaça das douradas alimentadas com as dietas experimentais	84
<b>Tabela 22</b> – Coeficientes de utilização digestiva aparente dos componentes das dietas	85
<b>Tabela 23</b> – Balanços azotados e energéticos e respectivas eficácias de retenção (PCM = Peso corporal médio)	87

## RESUMO

A incorporação de fontes proteicas alternativas à farinha de peixe na alimentação de espécies piscícolas tem sido objecto de variados estudos no âmbito da nutrição animal.

Neste contexto realizou-se o presente trabalho, cujo objectivo foi determinar o nível de substituição ideal de farinha de peixe por glúten de trigo na alimentação de dourada.

Foram realizados dois ensaios, um de crescimento e um de digestibilidade.

O ensaio de crescimento efectuou-se para determinar qual o nível máximo de substituição sem que os animais apresentassem diferenças significativas em termos de taxa de crescimento.

O ensaio de digestibilidade teve como principal objectivo determinar qual das dietas testadas proporcionaria melhores valores de utilização digestiva por parte dos animais.

Tendo em conta os resultados dos ensaios e as condições experimentais em que se realizaram, verificou-se que a substituição até 40% não afecta significativamente o desempenho zootécnico das douradas.

## **ABSTRACT**

### **Wheat gluten utilization in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, Linnaeus, 1758) feeding**

The incorporation of alternative protein sources in fish diets has been the aim of many scientific experiments in animal nutrition.

In this study, the main objective was to evaluate the ideal level of wheat gluten incorporation in substitution of fishmeal in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.).

To reach this objective, two experiments were carried out, in which growth and digestibility were studied.

The aim of the growth experiment was to evaluate the maximum level of fish meal substitution by wheat gluten (20%, 40%, 60% and 80%), without affecting significantly the animals growth rate.

The digestibility experiment took place to evaluate which animals presented better food utilization with the tested diets (20%, 40%, 60% and 80%).

Observing the results of these two experiments, it was concluded that the substitution until 40% did not affect significantly the performance of the fishes.

## 1. INTRODUÇÃO E OBJECTIVOS

A actividade da pesca, apesar do seu crescimento e desenvolvimento, não é suficiente para satisfazer as crescentes necessidades alimentares da humanidade sem correr o risco de esgotar os “stocks” naturais.

Praticamente já foi atingido o limite máximo de capturas suportável pelos oceanos e alguns mananciais já se encontram em sobre-exploração (Henriques, 1998) originando uma diminuição das populações selvagens de pescado.

Perante esta situação, torna-se necessário recorrer a outros processos de exploração dos recursos naturais, a métodos de produção que constituam alternativas para a pesca em termos ecológicos e económicos.

Neste contexto, a aquacultura constitui uma importante alternativa às formas tradicionais de abastecimento de pescado sendo uma das vias mais apropriadas para produzir grandes quantidades de matéria viva.

A nível comercial, o principal objectivo da produção de peixe é a maximização da produção ao mínimo custo, o que pressupõe a satisfação das necessidades fisiológicas e metabólicas, proporcionando aos animais condições ambientais favoráveis e dietas adequadas.

A adequação da dieta pode ser avaliada através de diversos parâmetros como o crescimento, a eficiência alimentar, a conversão alimentar ou a composição corporal dos peixes aos quais foi fornecida a dieta (Robaina, 1995).

Como a maior parte das espécies de peixe com interesse económico para a aquacultura intensiva, a dourada é um animal carnívoro com necessidades elevadas em proteína.

Este facto conduz à necessidade de formulação de dietas com alta concentração proteica capazes de proporcionar boas taxas de produtividade (Tacon & Cowey, 1985) e determina que a alimentação represente a principal fracção dos custos da produção intensiva de peixes.

A forma mais usual e tradicional de responder às elevadas necessidades proteicas tem sido o recurso a farinhas de peixe (Gomes, 1991) e a maioria das fórmulas de alimentos comerciais estão dependentes da sua utilização. Todavia, a farinha de peixe é uma fonte proteica cara e a sua disponibilidade

no mercado tende a diminuir devido à estabilização ou redução das capturas e à maior utilização desta matéria-prima em alimentos compostos para animais (Kaushik, 1990). Assim, torna-se do maior interesse procurar diminuir a dependência das fórmulas relativamente a esta matéria-prima (Silva & Oliva-Teles, 1997).

Actualmente, para além da componente meramente produtiva os problemas ambientais relacionados com os efluentes das pisciculturas industriais, nomeadamente os relacionados com o azoto e o fósforo, assumem uma importância crescente. Como tal, para além de promover desempenhos zootécnicos satisfatórios, uma dieta adequada deve possibilitar a minimização da quantidade de dejectos sólidos e solúveis libertados para o meio aquático. Se para algumas espécies de água doce existe já um volume assinalável de informação sobre o efeito da dieta na excreção azotada dos animais (Cho & Kaushik, 1990), para as espécies marinhas essa informação é bastante escassa (Silva & Oliva-Teles, 1997).

A substituição parcial de farinha de peixe por alimentos proteicos alternativos de origem animal ou vegetal, tem sido objecto de diversos estudos visando diminuir a dependência nesta matéria-prima e diminuir os custos da alimentação.

Gomes *et al.* (1995), concluíram que a mistura em partes iguais de farinha de soja e glúten de trigo em dietas para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) representa uma fonte proteica de elevada qualidade como alternativa à farinha de peixe. Regost *et al.* (1999) estudaram a inclusão de glúten de milho em substituição de farinha de peixe em dietas para pregado (*Psetta maxima*). Em trabalhos similares, Pereira & Teles (1996) e Pereira (2003) estudaram a utilização de tremço em dietas para dourada. Helland & Helland (2006) testaram a utilização de glúten de trigo em substituição de farinha de peixe em dietas para *Hippoglossus hippoglossus* L. (halibut).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objectivo principal estudar a utilização de glúten de trigo, matéria-prima proteica de origem vegetal, como alternativa à farinha de peixe em dietas preparadas para dourada (*Sparus aurata*), com vista a determinar qual o nível de substituição ideal em termos de crescimento dos animais e em termos de digestibilidade desta matéria-prima.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. AQUACULTURA EM PORTUGAL E NO MUNDO, SITUAÇÃO ACTUAL E PERSPECTIVAS

Considera-se como aquacultura, a cultura de peixes (piscicultura), crustáceos (carcinocultura), moluscos (moluscicultura), algas (algocultura) e outras espécies como tartarugas, rãs e crocodilos (Pereira, 2003), que tenham um habitat predominantemente aquático em pelo menos uma fase da sua vida (Mestre, 2008). Tendo em conta o ambiente de cultura a actividade pode classificar-se como aquacultura marinha, de água doce ou salobra. De acordo com a temperatura classifica-se como aquacultura de água temperada e aquacultura de água fria (Mestre, 2008).

Constitui uma importante alternativa às formas tradicionais de abastecimento de pescado embora em Portugal desempenhe um papel ainda relativamente modesto no conjunto do sector da pesca (DGPA, 2009).

Portugal tem larga tradição no consumo de pescado (GTSSAQ, 2008). A produção nacional permite satisfazer níveis de consumo *per capita* da ordem dos 23Kg/ano, o que apesar de representar um valor idêntico aos indicadores médios de consumo da União Europeia é insuficiente para satisfazer os elevados níveis de consumo nacional (Mestre, 2008). O país é o terceiro consumidor de pescado em termos mundiais a seguir ao Japão e Islândia, registando níveis de consumo *per capita* na ordem dos 58 Kg/ano. Tendo em conta que a média comunitária do consumo de pescado *per capita* é de apenas 23 Kg/ano, Portugal apresenta-se como o maior consumidor de pescado da União Europeia (GTSSAQ, 2008).

De acordo com a última informação disponível, expressa no Plano Estratégico Nacional para as Pescas de Dezembro de 2006, a produção aquícola representa apenas 5% dos desembarques de pescado fresco e refrigerado em Portugal Continental e apenas 3% da produção nacional de pescado (7893 toneladas). Deste modo, pode dizer-se que a importância da aquacultura em Portugal contrasta com o peso que assume noutros países europeus (onde atinge valores médios na ordem dos 20%) e com o panorama

mundial para esta actividade, que lhe confere uma importância próxima dos 30% no abastecimento de pescado. A nível mundial, a aquacultura é o sector alimentar com um crescimento anual mais significativo (6 a 8%), tendo sido responsável em 2006 por cerca de metade do peixe, crustáceos e moluscos destinados ao consumo humano

Apesar de Portugal apresentar características naturais favoráveis ao desenvolvimento da aquacultura em águas interiores, águas costeiras ou mar aberto, por diversos tipos de constrangimentos maioritariamente burocrático-legais, a actividade está longe de ter evoluído da forma desejável, contrastando com o ocorrido na generalidade dos países europeus no período de 1994-2003. Neste período, registaram-se importantes desenvolvimentos na Noruega, Turquia, Espanha, Reino Unido e Grécia.

A actividade aquícola a nível mundial cresceu significativamente nos últimos 50 anos, dominada pela China cuja produção representa actualmente mais de 65% da produção mundial (GTSSAQ, 2008).

No seu relatório sobre a Pesca e Aquacultura no Mundo de 2006, a FAO admite que a estagnação das capturas dos últimos anos se irá acentuar nos anos futuros. A aquacultura assumirá então um papel determinante no fornecimento de peixe à população mundial. Até 2030, a FAO prevê que se registre uma subida significativa da produção aquícola que deverá representar um valor equivalente a 57% das capturas em 2010 (contra 47,9% em 2004), podendo atingir 89,2% do total de pescado a nível mundial em 2030 (GTSSAQ, 2008).

A piscicultura industrial iniciou-se em Portugal no ano de 1968, com a implementação da primeira unidade de produção de truta arco-íris (*Onchorhynchus mykiss*) no norte do país (Santinha, 1997).

Portugal apresenta características bastante favoráveis para a prática da piscicultura marinha industrial, principalmente nas zonas de estuários e de acidentes lagunares costeiros (Alvor, Ria Formosa, Foz do Guadiana, zonas estuarinas de Aveiro, Lima, Mira, Mondego, Tejo e Sado).

No contexto da produção aquícola nacional, verifica-se que a produção em águas salgadas e salobras representa cerca de 88% do total, sendo as espécies mais produzidas os moluscos bivalves (amêijoia e ostra), a dourada e

o robalo. A produção em águas doces, sobretudo de truta, tem vindo a diminuir (GTSSAQ, 2008).

A região com mais peso na produção (cerca de 50%) é o Algarve, o que se explica pela cultura em grande escala de amêijoia-boia e ostra. Estas espécies são produzidas em zonas estuarinas ou em rias, o que as coloca numa situação de fragilidade face ao degradado estado ambiental desses meios (DGPA, 2007; Mestre, 2008).

Portugal apresenta condições naturais susceptíveis de potenciar um melhor aproveitamento produtivo de algumas espécies como o mexilhão e a ostra e de diversificar a produção para outras espécies como o linguado, pregado, sargo, pargo e corvina. (GTSSAQ, 2008).

## **2.2. A DOURADA**

### **2.2.1. Posição sistemática e nomenclatura**

De acordo com Nelson (1994), a dourada (Figura 1) é classificada segundo a seguinte hierarquia taxonómica:

**Classe** – Actinopterygii

**Ordem** – Perciformes

**Subordem** – Percoidei

**Família** – Sparidae

**Género** – *Sparus* [Artedi] (L., 1758)

**Espécie** – *Sparus aurata* (L., 1758).

Segundo Moretti *et al.* (1999) e Sanchez (2000), os nomes mais usados para esta espécie são:

**Português** – Dourada

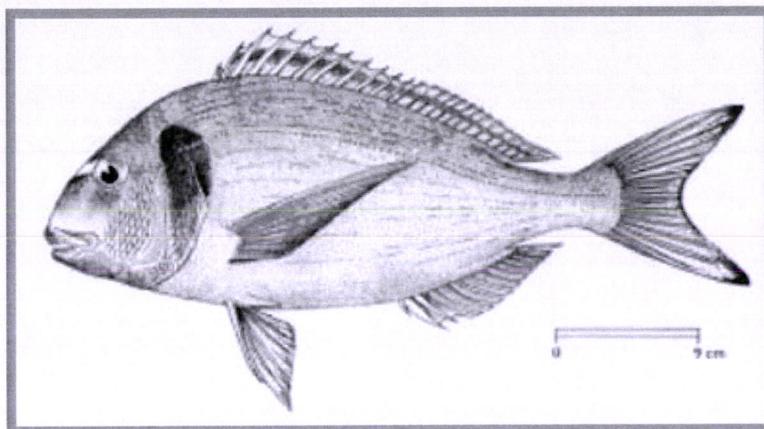
**Inglês** – Gilthead seabream

**Espanhol** – Dorada

**Francês** – Dorade royale

**Italiano** – Orata

**Alemão** – Goldbrasse



**Figura 1** – Dourada (Fonte: Moretti *et al.*, 1999)

### **2.2.2. Distribuição geográfica, habitat e ecologia**

A dourada é uma espécie muito comum no Atlântico Este das ilhas britânicas ao arquipélago de Cabo Verde, ocorrendo também no mar Mediterrâneo (Bauchot & Hureau, 1990) (Figura 2).

O seu cultivo é praticado em diversos países da UE ocorrendo as maiores produções no Mediterrâneo. A Grécia é responsável por 49% da produção, seguindo-se a Espanha e a Itália com 14 e 6% respectivamente, sendo estes três países os principais produtores desta zona (FAO, 2008; Sousa, 2008).



**Figura 2** – Distribuição geográfica da dourada (Fonte: Moretti *et al.*, 1999)

É uma espécie bentopelágica de comportamento demersal (Sousa, 2008) que vive preferencialmente em águas costeiras e estuários. Os alevins e

juvenis penetram frequentemente nos estuários dos rios e em lagoas litorais (salobras ou não) sobretudo na Primavera e no Verão. No Inverno, os adultos migram para o mar para se reproduzirem (Orvay, 1993). É um peixe sedentário, vivendo só ou em pequenos grupos. Ocorre em geral até aos 30 metros de profundidade podendo no entanto os indivíduos adultos ir até aos 150 metros. Habita zonas com fundos de rocha, areia ou algas (Sousa, 2008).

Em condições naturais alimenta-se de manhã, ao crepúsculo e à noite, preferencialmente de moluscos e crustáceos, secundariamente de anelídeos e algas e finalmente de peixes e insectos (Pereira, 1991). Em certas circunstâncias pode tornar-se herbívora (Sousa, 2008).

É uma espécie eurihalina, suportando como tal salinidades entre os 4 e os 70‰. Suporta temperaturas entre os 5 e os 32°C. Encontra-se bem adaptada ao pH da água salina que ronda os 8,3. Valores de 2mg de oxigénio por litro de água são apontados como mínimos para evitar a hipoxia nos animais, que persistindo por períodos alargados podem levar à sua morte. Os níveis de oxigénio dissolvido requeridos por esta espécie devem situar-se acima dos 90% de saturação (Santinha, 1997).

### **2.2.3. Características morfológicas e biológicas**

Possui simetria bilateral e corpo oval comprimido lateralmente. O perfil da cabeça é convexo e tem olhos pequenos. Apresenta boca pequena, com lábios espessos e mandíbula superior a não passar a parte central dos olhos. Ainda na boca, encontram-se 4 a 6 dentes caninos anteriores nas duas mandíbulas e em posição lateral 2 a 4 fiadas de molares na mandíbula superior e 3 a 4 fiadas na mandíbula inferior. O dorso é de cor metalizada. A barbatana dorsal apresenta cor azul-acinzentado, enquanto que a barbatana caudal é de cor cinzenta-esverdeada (Moretti *et al.*, 1999). Apresenta uma faixa dourada a ligar os olhos (um dos principais caracteres distintivos) e uma mancha negra e laranja no início de cada uma das linhas laterais (Palma, 1994). Tem mais de 70 escamas na linha lateral e a barbatana anal com 3 raios espinhosos e 11-12 raios moles (Sanches, 1992; Sousa, 2008).

A dourada é uma espécie hermafrodita protândrica. Os indivíduos desta espécie atingem a maturidade sexual aos 1-2 anos (20-30 cm) nos machos e aos 2-3 anos (33-40 cm) nas fêmeas (FAO, 2008; Sousa, 2008). O ciclo e a morfologia da gónada estão organizados para funcionar de uma forma sucessiva ao longo do ciclo de vida do animal (Moretti *et al.*, 1999). O comportamento ambisexual da dourada expressa-se pela existência de actividade testicular da gónada à nascença e durante o primeiro ano de vida, seguido da reabsorção do tecido germinal masculino e desenvolvimento do tecido germinal feminino em parte dos indivíduos durante o segundo e o terceiro anos de vida. Este facto, bem como a própria estrutura do tecido germinal, inibem a existência de hermafroditismo funcional simultâneo (Ramos, 1987).

As gónadas iniciam o seu desenvolvimento em Outubro. A maturação dos ovócitos ocorre entre Outubro e Janeiro enquanto que os machos produzem esperma entre Outubro e Março (Ramos, 1987). A desova ocorre entre Novembro e Março em fundos de 5 a 25 metros e a temperaturas compreendidas entre 14 e 19°C (Santinha, 1997).

#### **2.2.4. Composição química da dourada**

O conhecimento da composição química do pescado tem uma grande importância na avaliação do seu valor nutricional. A composição química dos produtos da pesca varia de acordo com alguns aspectos intrínsecos (espécie, tamanho, sexo ou idade) e extrínsecos (ambientais, geográficos época de captura). Essa variação está também muito relacionada com a composição da dieta (ração no caso de peixes de aquacultura), com migrações e com alterações sexuais relacionadas com o período de desova (Sousa, 2008).

O músculo da maioria dos peixes marinhos contém 50 a 80% de água podendo esta percentagem variar com a espécie e o estado nutricional do animal (Sousa, 2008). No caso da dourada esta percentagem anda entre os 68 e os 75% (Grigorakis, 2007). Estes valores estão de acordo com os de Ozden & Erkan (2008) que determinaram que o músculo de dourada contém 72% de água.

O músculo dos peixes é composto por 11 a 24% de proteína bruta (Sousa, 2008) (65 a 70% em matéria seca) (Henriques, 1998), podendo esta percentagem variar com a espécie, com a condição nutricional e com o tipo de músculo do animal (Sikorski, 1990; Sousa, 2008). De acordo com Grigorakis (2007), o valor em proteína bruta da dourada anda entre os 18 e os 23%, enquadrando-se perfeitamente nos valores apresentados para a generalidade dos peixes. Segundo Ozden & Erkan (2008), o teor proteico do músculo de dourada ronda os 18%.

De acordo com Huss (1995) e Sousa (2008), as proteínas do músculo dos peixes podem dividir-se em proteínas estruturais (actina, miosina, tropomiosina e actomiosina), sarcoplasmáticas (mioalbumina, globulina e enzimas) e proteínas do tecido conjuntivo (colagénio). Contêm todos os aminoácidos essenciais ao Homem.

Pereira (1991) determinou o perfil de aminoácidos corporais da dourada no estado selvagem baseando-se no método de separação dos aminoácidos por cromatografia líquida de troca catiónica (Tabela 1).

**Tabela 1** - Perfil de aminoácidos corporais da dourada no estado selvagem (g /100g de proteína) (Fonte: Pereira, 1991)

Aminoácido	Perfil corporal	Aminoácido	Perfil corporal	Aminoácido	Perfil corporal
Lisina	1,12	Serina	0,59	Cistina	0,12
Histidina	0,34	Ácido Glutâmico	2,00	Valina	0,71
Arginina	0,86	Prolina	0,60	Metionina	0,44
Ácido Aspártico	1,26	Glicina	0,95	Leucina	1,15
Treonina	0,60	Alanina	0,95	Tirosina	0,38
Fenilalanina	0,58	Isoleucina	0,60		

**Nota:** Os resultados relativos aos aminoácidos cistina e metionina estão afectados de um erro por defeito devido à sua destruição parcial ou total durante a hidrólise ácida. O aminoácido triptofano é totalmente destruído durante a hidrólise ácida pelo que não foi possível a sua determinação.

Os aminoácidos essenciais da dourada constituem 36% do total de aminoácidos presentes na sua composição (Ozden & Erkan, 2008).

Os lípidos estão presentes em todos os tecidos mas estão mais concentrados na parte subcutânea dos peixes gordos, no fígado

(principalmente nos peixes magros), no tecido muscular e nas gónadas (Jacquot, 1961; Sikorski, 1990; Sousa, 2008).

Nos peixes teleósteos (dourada) existem dois tipos principais de lípidos, os fosfolípidos e os triglicéridos (por hidrólise passam a monoglicéridos e ácidos gordos livres) (Santinha, 1997). Os primeiros fazem parte da composição das membranas celulares, sendo também designados por lípidos estruturais, enquanto os segundos são usados como reservas energéticas (Huss, 1995; Sousa, 2008).

Grigorakis (2007) definiu que a composição lipídica corporal da dourada varia entre 2 e 11%. Segundo Ozden & Erkan (2008) este valor ronda os 8,1%.

Os peixes marinhos, como a dourada, são ricos em ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa da série  $\omega$ 3 ( $\omega$ 3 HUFA) (Senso *et al.*, 2007). Em termos lipídicos, a importância de incluir peixes marinhos na alimentação humana deriva precisamente deste facto.

As elevadas necessidades dos peixes em  $\omega$ 3 HUFA como o ecosapentanóico (EPA) e o docosahexanóico (DHA) (Santinha, 1997), fazem com que os seus tecidos os contenham em grandes concentrações com os benefícios daí resultantes para a saúde humana no que diz respeito a prevenção de doenças, especialmente do foro vascular (Alasalvar *et al.*, 2002). Os ácidos gordos saturados e monoinsaturados podem ser produzidos pelo próprio organismo humano enquanto alguns polinsaturados não podem ser produzidos pelo que têm que ser considerados na alimentação. São por isso designados por ácidos gordos essenciais (linoleico,  $\alpha$ -linoleico). Estes ácidos gordos podem no organismo ser convertidos nos já referidos ecosapentanóico (EPA) e docosahexanóico (DHA) (Ozden & Erkan, 2008).

O teor em hidratos de carbono nos peixes é normalmente muito baixo (inferior a 0,5 %). No músculo escuro estriado os hidratos de carbono ocorrem sob forma de glicogénio e fazem parte da constituição química dos nucleótidos (Huss, 1995; Sousa, 2008). A elevada glicémia basal é uma constante no organismo dos peixes inclusivamente dos que consomem quantidades irrisórias de glúcidos (Enes *et al.*, 2007).

Os minerais presentes em cada espécie piscícola podem variar com a época do ano. O músculo de peixe é considerado uma importante fonte de cálcio, fósforo, ferro, cobre, selénio e iodo (Sousa, 2008).

A composição dos peixes em minerais varia de espécie para espécie sendo influenciada pela composição mineral da dieta (Alasalvar *et al.*, 2002).

A fração mineral dos peixes e invertebrados marinhos varia entre 0,6 e 1,5% da sua massa e divide-se em macroelementos (sódio, potássio, magnésio, cálcio, ferro, fósforo, enxofre e cloro) e microelementos (mercúrio, crómio, manganésio, cobalto, alumínio, cobre, níquel, arsénio, selénio, etc.) (Sikorski, 1990; Sousa, 2008).

De acordo com Ozden & Erkan (2008) a concentração de alguns destes minerais na dourada ronda os valores apresentados na Tabela 2.

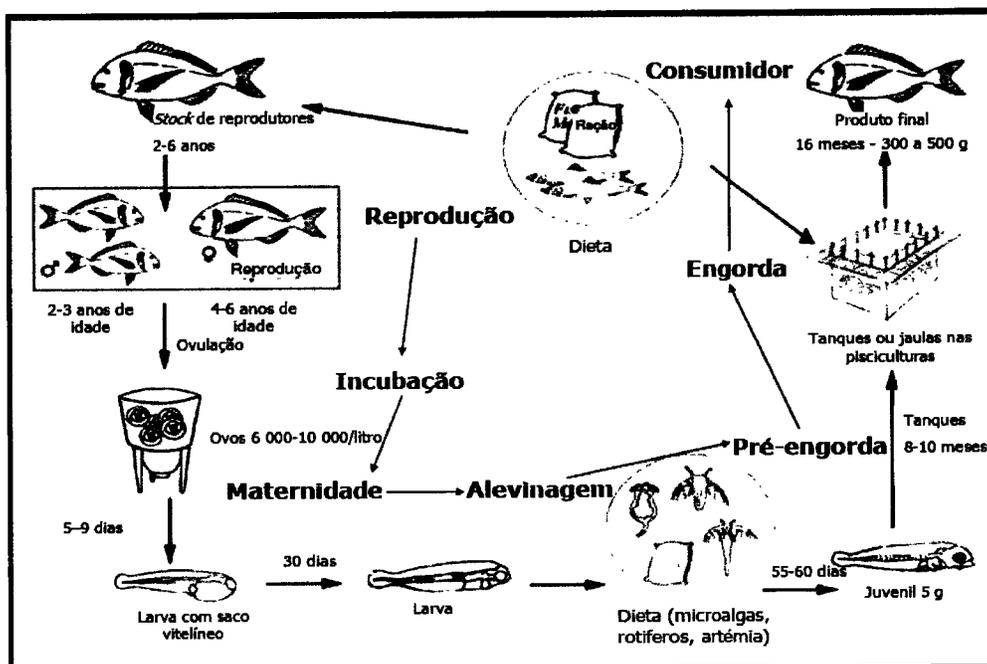
**Tabela 2 – Perfil corporal de minerais da dourada (mg/Kg) (Fonte: Ozden & Erkan, 2008)**

<b>Mineral</b>	<b>Perfil corporal</b>	<b>Aminoácido</b>	<b>Perfil corporal</b>
Sódio	291.14	Fósforo	3749.80
Potássio	4601.03	Iodo	343.30
Cálcio	616.50	Zinco	2.89
Magnésio	325.77	Selénio	0.29
Manganês	0.54	Ferro	25.77

As vitaminas presentes em cada espécie podem variar com a época do ano. De uma forma geral, os peixes são uma boa fonte de vitamina B e no caso das espécies gordas são também ricos em vitamina A e D (Huss, 1995; Sousa, 2008).

### **2.2.5. Aspectos sobre a cultura de dourada**

A dourada é um peixe marinho de grande valor comercial altamente apreciado pela qualidade da carcaça (Pereira, 1991). Para além destas particularidades, o controlo de todo o seu ciclo de vida (Figura 3), a elevada disponibilidade de juvenis, a elevada taxa de crescimento, a capacidade de reprodução em cativeiro, a resistência às condições ambientais (euritérmica e eurihalina), a capacidade de suportar elevadas densidades de cultivo, a facilidade de adaptação ao alimento artificial, a disponibilidade de rações comerciais, o ser uma fonte proteica de baixo custo e de boa qualidade e o ter um mercado assegurado, viabilizam a sua produção em cativeiro.



**Figura 3** – Ciclo produtivo da dourada em cativeiro (Fonte: Garcia, 2008)

As experiências preliminares de cultivo de dourada, iniciaram-se há mais de duas décadas em França (Barnabé & René, 1973) e em Itália (Lumare & Villani, 1971; Alessio & Gandolfi, 1975). Hoje em dia, juntamente com o robalo, é a espécie mais produzida na bacia mediterrânica (Ozden & Erkan, 2008).

A implantação das primeiras unidades de produção de dourada em Portugal deu-se em 1985, estimulada pelo suporte político comunitário à piscicultura marinha (Santinha, 1997). Nessa altura, a actividade caracterizava-se pela predominância de estabelecimentos explorados por estruturas familiares em regime extensivo, tendo-se evoluído nos últimos anos para unidades a funcionar em regime semi-intensivo e intensivo, nalguns casos exploradas por empresas com alguma dimensão internacional (DGPA, 2009).

Actualmente em Portugal, a produção de dourada encontra-se bastante difundida e enraizada (Santinha, 1997).

A espécie pode ser criada em cativeiro com recurso a três sistemas de produção: extensivo, semi-intensivo ou intensivo (Mestre, 2008).

No sistema extensivo a cultura realiza-se em lagoas (Sousa, 2008) ou em tanques de terra anteriormente utilizados por salinas e moinhos de maré. Apesar de estes tanques poderem ser sujeitos a acções de beneficiação, o investimento tecnológico será sempre reduzido. O repovoamento é feito por juvenis que entram pelas comportas com as marés. A alimentação dos peixes é



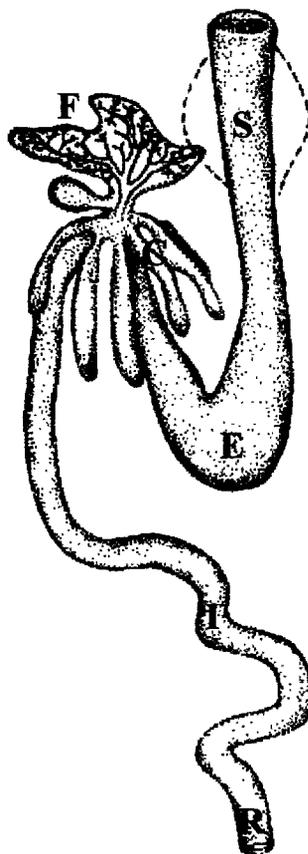
feita unicamente à base dos produtos que o meio envolvente tem para oferecer (Mestre, 2008).

O sistema semi-intensivo é o mais utilizado em Portugal para produção de dourada. Realiza-se em tanques de terra com dimensões apropriadas (0,5 a vários hectares), construídos especificamente para fins de cultivo. Pode atingir produções de 0,5 a 1,5Kg/m<sup>3</sup> no final do ciclo de produção (Mestre, 2008). Neste sistema, uma dourada pode atingir o peso de 400g em cerca de 14 meses. Os juvenis são adquiridos de acordo com a capacidade de suporte do meio. O alimento é feito à base de rações comerciais sendo também aproveitado algum alimento natural que possa existir no meio. A renovação da água efectua-se por sistemas de bombagem, sendo que em alguns casos se podem aproveitar as marés. Neste tipo de sistema torna-se importante a utilização de arejadores para fornecimento de oxigénio e movimentação da massa de água (Sousa, 2008).

O sistema intensivo é o que permite atingir maiores produções obrigando no entanto a um maior esforço financeiro por parte do produtor (Mestre, 2008). Realiza-se em tanques sintéticos (fibra de vidro ou betão) de capacidades que podem ir dos 100 aos 1000m<sup>3</sup>. O fornecimento de água é permanente e a oxigenação é feita por sistemas de injeção de oxigénio puro na água. Os animais são alimentados exclusivamente por rações comerciais (Santinha, 1998; Sousa, 2008). Geralmente todo o processo produtivo é controlado por um sistema informático que verifica constantemente os parâmetros da água (oxigénio, temperatura, pH) e fornece a alimentação adequada à densidade de animais presentes nos tanques. Os animais são alimentados exclusivamente de alimentos compostos (Mestre, 2008).

### **2.3. FISILOGIA DIGESTIVA DOS PEIXES**

Tal como em praticamente todos os outros vertebrados, o tracto digestivo dos peixes divide-se em boca, cavidade bucal, faringe, esófago, estômago, intestino, recto e órgãos anexos como fígado e pâncreas (Figura 4) (Hart & Reynolds, 2002).



**Figura 4** – Tracto digestivo de um peixe teleosteo: **S** – esófago; **E** – estômago; **C** – cecos; **F** – fígado; **I** – intestino; **R** – recto (Fonte: Rotta, 2003)

Os peixes apresentam múltiplas variações da estrutura básica do sistema digestivo que estão geralmente correlacionadas com o tipo de alimento consumido e com o meio em que vivem. Algumas adaptações no sistema digestivo dos peixes são inexistentes nos vertebrados terrestres uma vez que alguns alimentos ocorrem apenas no ambiente aquático (Rotta, 2003).

### **2.3.1. Boca e cavidade bucal**

Os alimentos ingeridos são muitas vezes fragmentados mecanicamente na boca e na faringe (Hart & Reynolds, 2002). A boca está essencialmente associada ao processo pré-digestivo dos alimentos: selecção, fragmentação e orientação (De Silva & Anderson, 1995).

A cavidade bucal é partilhada pelos aparelhos respiratório e digestivo. Nos peixes é muitas vezes denominada como cavidade bucofaringeana por

não se poder subdividir anatomicamente a cavidade bucal e faringe uma vez que o limite entre os dois órgãos é pouco evidente. É composta pelos lábios, boca, dentes, língua e arcos branquiais e é recoberta por um epitélio mucoso estratificado sobre uma grossa membrana basal unida aos ossos ou aos músculos por uma derme extremamente condensada. O tecido epitelial contém células produtoras de muco e receptores sensoriais de sabor (Rotta, 2003).

Dos diferentes constituintes da boca, os lábios, pela sua posição frontal são os primeiros órgãos a participar no processo de captura dos alimentos.

A língua não é uma estrutura muito proeminente nos peixes, sendo no entanto mais desenvolvida nos peixes carnívoros como a dourada. Não tem movimentos livres e é geralmente provida de suporte esquelético. Pode por vezes suplementar as funções dos lábios e dentes na retenção das presas. No entanto a sua função básica é a de órgão sensorial (De Silva & Anderson, 1995). Não possui glândulas salivares. Porém, apresenta papilas sensoriais gustativas. O sistema gustativo dos peixes teleósteos é activado por substâncias solúveis na água, acreditando-se que a gustação está envolvida na detecção, selecção e ingestão dos alimentos, assim como na protecção contra a ingestão de substâncias nocivas (Rotta, 2003).

Não existem indícios de actividade enzimática na cavidade bucal dos peixes teleósteos (De Silva & Anderson, 1995).

### **2.3.2. Esófago**

O esófago é um órgão muscular curto e expansível. Quase sempre é um tubo lubrificado, curto, largo, recto e muito musculoso. As suas funções principais passam pela degustação do alimento (possui papilas gustativas) e transporte do mesmo até o estômago com o auxílio de movimentos peristálticos (Rotta, 2003). Tem acção lubrificante, para facilitar a passagem dos alimentos, adicionando-lhes fluidos e mucos (possui células mucosas) (Hart & Reynolds, 2002). Possui glândulas e sacos que têm a função de armazenar e triturar os alimentos (De Silva & Anderson, 1995).

Anderson (1991), citado por De Silva & Anderson (1995), descreveu a presença de actividade proteolítica na mucosa das diversas fases do esófago.

### 2.3.3. Estômago

O estômago dos peixes é um órgão extensível podendo ser um tubo em forma de U ou de Y (caso da dourada) com um ceco gástrico (Hart & Reynolds, 2002).

Pode dividir-se em três regiões: cárdica (entrada), fúndica (saco) e pilórica (saída) (Rotta, 2003).

A distensão das paredes do estômago provoca uma resposta fisiológica que dá origem à secreção de ácido clorídrico na mucosa gástrica, baixando o pH e proporcionando um ambiente ideal para enzimas proteolíticas como as pepsinas (requerem um pH ótimo de 2 a 4) (Hart & Reynolds, 2002). A maior parte das glândulas presentes no suco gástrico são constituídas por um único tipo de células (células oxintopépticas) que contêm muitos grânulos secretores de pepsinas e ácido clorídrico (De Silva & Anderson, 1995).

A digestão das proteínas inicia-se no estômago pela acção da pepsina. Esta enzima torna as proteínas solúveis, e mais facilmente digeridas pelas proteases pancreáticas e intestinais (Roberto, 1988).

O estômago desempenha também funções mecânicas que auxiliam na trituração e digestão dos alimentos. O tamanho do estômago pode estar relacionado com o intervalo entre as refeições e com o tamanho das partículas do alimento ingerido. Os peixes que consomem grandes presas em intervalos esparsos possuem grandes estômagos enquanto aqueles que se alimentam de pequenas partículas possuem frequentemente pequenos estômagos podendo mesmo não possuir este órgão (Rotta, 2003).

Acredita-se que no caso de espécies sem estômago, o seu desaparecimento foi uma adaptação necessária para permitir a eliminação de grandes quantidades de alimentos indigestíveis que devem passar rapidamente através do tubo digestivo. Em peixes sem estômago, o pH de todo o tracto digestivo é alcalino (Rotta, 2003).

#### 2.3.4. Intestino

O intestino é um tubo relativamente simples que começa na válvula pilórica e termina no recto. Possui glândulas digestivas e um suprimento abundante de vasos de sangue e linfa, Neste órgão completa-se a digestão iniciada no estômago (Rotta, 2003).

Pode dividir-se em duas secções consoante as suas funções fisiológicas. A secção anterior caracteriza-se por ser onde os sucos biliar e pancreático são recebidos enquanto a posterior se caracteriza por apresentar actividade pinócítica e células contendo grânulos de nutrientes absorvidos (De Silva & Anderson, 1995).

Os cecos, divertículos de formato digitiforme que se encontram na região pilórica e na porção anterior do intestino médio, que podem estar livres entre si ou ocasionalmente fundidos à parede do estômago, servem para aumentar a superfície de absorção sem aumentar o comprimento ou a espessura do intestino. São mais desenvolvidos em peixes carnívoros e reduzidos ou mesmo ausentes nos herbívoros. Os cecos são responsáveis por grande parte da digestão dos lípidos e das proteínas (Rotta, 2003).

A maior parte da digestão dos alimentos ocorre no intestino e nos cecos pilóricos dos peixes quando presentes. As secreções intestinais contêm um grande número de enzimas incluindo as três maiores classes, as proteases, as lipases e as carboxilases que hidrolisam as três classes respectivas de nutrientes (proteínas, lípidos e hidratos de carbono) e que são substrato-dependentes (Rotta, 2003).

No intestino continua a digestão das proteínas e dos hidratos de carbono e inicia-se a digestão dos lípidos. Na digestão intestinal das proteínas, as enzimas tripsina e quimiotripsina pancreáticas são de extrema importância. Os polipéptidos formados pela interacção destas enzimas com as proteínas são futuramente separados pelas carboxipeptidases pancreáticas e peptidases intestinais (Hoar *et al.*, 1979).

As enzimas pancreáticas e intestinais responsáveis pela digestão dos hidratos de carbono transformam os oligossacarídeos e polissacarídeos dos alimentos em hexoses e pentoses. No entanto, estes compostos são utilizados em pequena quantidade e só por um pequeno número de peixes.

A digestão dos lípidos inicia-se no intestino pela acção da enzima lipase. Esta enzima hidroliza as gorduras neutras (triglicéridos) em diglicéridos, monoglicéridos, e finalmente glicerol e ácidos gordos livres.

No intestino ocorre também a absorção dos nutrientes através do epitélio de revestimento. A absorção nos peixes dá-se da mesma forma que nos mamíferos, ou seja, por difusão e transporte activo (Pereira *et al.*, 1983).

Os produtos da digestão são mantidos em solução, o que facilita a sua absorção (Rotta, 2003).

Os produtos da degradação das proteínas são absorvidos do conteúdo intestinal sob a forma de péptidos e aminoácidos. Os aminoácidos são absorvidos contra um gradiente de concentração a par com um transporte de iões inorgânicos. As proteínas e péptidos podem também ser absorvidos sem degradação prévia por pinocitose ou outros processos similares (Hoar *et al.*, 1979).

Nos peixes, os lípidos parecem ser absorvidos pelas células epiteliais da parte anterior do intestino (Hoar *et al.*, 1979).

A absorção dos hidratos de carbono como a glicose, pelo epitélio intestinal ocorre por mecanismo activo e acontece contra um gradiente de concentração (Hoar *et al.*, 1979).

Para além da digestão e absorção, o intestino pode ainda desempenhar funções como auxiliar na osmorregulação e na respiração (Rotta, 2003).

### **2.3.5. Recto**

O recto é a parte terminal do intestino e demarca-se deste por uma válvula ileo-rectal muscular. A presença de recto nos peixes varia de espécie para espécie. Possui uma parede muscular muito mais grossa que a do intestino e com uma grande capacidade de distensão. Diferencia-se do intestino pelo decréscimo da vascularização e do número de células secretoras e pelo aumento do número de células produtoras de muco. Também há a possibilidade de ocorrência de cecos rectais cuja função principal é a absorção de água. A abertura anal ou fenda é o local de terminação dos ductos urinários e reprodutivos (Rotta, 2003).

### **2.3.6. Fígado**

O fígado encontra-se na parte anterior da cavidade corporal e é composto por dois lóbulos. É um órgão compacto que pode estar combinado com o pâncreas em algumas espécies, sendo que noutras estes órgãos se encontram totalmente separados (Rotta, 2003).

A secreção do fígado, a bÍlis, é descarregada no intestino onde os seus sais biliares vão efectuar a emulsificação das gorduras e a neutralização da acidez do quimo. Estes processos auxiliam na digestão e na absorção dos lípidos e das vitaminas lipossolúveis (Rotta, 2003).

### **2.3.7. Pâncreas**

O pâncreas da maioria dos peixes teleósteos é difuso. Consiste de pequenos glóbulos de tecido pancreático espalhado pelo mesentério do peixe, cada um provido de uma artéria, uma veia, um nervo e um ducto pancreático. Nas espécies em que o fígado e o pâncreas estão combinados, este tecido estende-se ao redor do ramo principal da veia porta formando uma espécie de glândula externa (Rotta, 2003).

O tecido pancreático produz uma secreção com um pH 7 a 9 rica em tripsina. Esta enzima digere proteínas em ambiente neutro a alcalino. O tecido pancreático é também o primeiro local de secreção de lipases e amilases que vão actuar ao nível da digestão dos lípidos e hidratos de carbono (respectivamente) no intestino (Hart & Reynolds, 2002). Secreta também insulina e glucagina em resposta à absorção de nutrientes (Rotta, 2003).

## **2.4. NECESSIDADES NUTRICIONAIS DOS PEIXES**

O crescimento dos peixes é influenciado por factores inerentes à própria espécie e por factores externos como as condições ambientais a que o animal está sujeito e a qualidade das dietas em termos nutricionais. Em cultura intensiva, as dietas, única fonte de alimento, devem fornecer todos os

nutrientes e energia necessários para o desenvolvimento dos peixes (Pereira, 1991). Como tal, a dieta administrada deve ser equilibrada em termos de proteína e energia (Lupatsch *et al.*, 2003) e adequada às necessidades em cada fase do ciclo de vida dos animais (Pereira, 1991), aumentando assim os níveis de crescimento e a produtividade da actividade aquícola (Lupatsch *et al.*, 2003).

#### **2.4.1. Necessidades em proteínas e aminoácidos**

As proteínas são o componente fundamental do peso em matéria seca da carcaça dos peixes (65 a 70%).

Para se conseguir a produção máxima de proteína muscular é necessária uma alimentação com dietas de altos teores proteicos e com proteínas de elevado valor biológico (Henriques, 1998).

Na dourada, segundo De Silva & Anderson (1995) e Sabaut & Luquet (1973) é necessário um mínimo de 40% de incorporação de proteína nas dietas. De Silva & Anderson (1995) referem um mínimo de 40% de proteína nas dietas de trutas alimentadas com farinha de peixe e Arnason *et al.* (2009) definiram 35% como valor mínimo de incorporação de proteína em dietas formuladas para *Hippoglossus hippoglossus* L. (halibut).

A ingestão elevada de proteína proporciona uma alta disponibilidade de aminoácidos podendo fazer com que a concentração intracelular de cada um deles se torne excedentária para uma síntese proteica rápida e eficaz. Como consequência, quantidades apreciáveis de aminoácidos são utilizados para fins energéticos diminuindo a rentabilidade da proteína alimentar. Do ponto de vista prático, interessa que a maior quantidade de proteína seja dirigida para o crescimento, para a síntese de proteínas funcionais e para a manutenção dos processos biológicos essenciais, tentando reduzir-se ao máximo a sua utilização para fins energéticos (Santinha, 1997).

Sabe-se que os peixes teleósteos necessitam dos mesmos dez aminoácidos essenciais (arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina) que a maioria das espécies terrestres (Kaushik, 1998).

Apesar de extremamente dispendiosos em termos de tempo e recursos, foram já efectuados alguns estudos para determinar as necessidades em aminoácidos essenciais para algumas espécies (Tabela 3).

As deficiências em aminoácidos das fontes proteicas podem ser compensadas pela adição de aminoácidos sintéticos ou por suplementação com outras fontes proteicas com o aminoácido em causa (Pereira, 1991; Gomez-Requeni *et al.*, 2004).

**Tabela 3** – Necessidades em aminoácidos essenciais de algumas espécies de peixes (% de proteína) (Fonte: Watanabe, 1988; Gomez-Requeni *et al.*, 2004)

Aminoácido	Dourada	Peixe-gato	Carpa	Tilápia	Salmão chinook	Truta arco-íris	Enguia
Arginina	5,0	4,3	4,3	4,2	6,0	3,5	4,5
Histidina	1,7	1,5	1,8	1,7	1,8	1,6	2,1
Isoleucina	2,6	2,6	2,5	3,1	2,2	2,4	4,0
Leucina	4,5	3,5	4,1	3,4	3,9	4,4	5,3
Lisina	5,0	5,0	5,8	5,1	5,0	5,3	5,3
Metionina	4,0	2,3	1,8	2,7	4,0	1,8	5,0
Fenilalanina	2,9	5,0	5,7	5,5	5,1	3,1	5,8
Treonina	2,8	2,0	3,8	3,8	2,2	3,4	4,0
Triptofano	0,6	0,5	0,8	1,0	0,5	0,5	1,1
Valina	3,0	3,0	3,5	2,8	3,2	3,1	4,0

Segundo Kaushik (1998) e Gomez-Requeni *et al.* (2004), a farinha de peixe é a fonte proteica que apresenta um perfil de aminoácidos mais adequado às necessidades da dourada e dos peixes em geral, razão pela qual não pode ser totalmente substituída por matérias-primas de origem vegetal.

#### **2.4.2. Necessidades lipídicas e em ácidos gordos essenciais**

Para além de serem uma fonte de energia concentrada para os peixes e de constituírem uma fonte de ácidos gordos essenciais necessários para o seu normal crescimento e desenvolvimento (Jobling, 1994), os lípidos são um veículo para a absorção de outros nutrientes tais como os esteróides e as vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K) (Henriques, 1998; Ozden & Erkan, 2008).

Os ácidos gordos polinsaturados têm um papel importante na estrutura das membranas celulares. São componentes das hormonas, precursores da síntese de prostaglandinas e regulam o metabolismo do colesterol (Ozden & Erkan, 2008). A função energética dos lípidos leva a que estes possam substituir parcialmente as proteínas no processo de obtenção de energia (Pereira, 1991).

O maior consumo de ácidos gordos  $\omega$ 3 de cadeia longa está intimamente associado à diminuição da incidência de doenças em humanos (especialmente do foro cardíaco) (Rueda *et al.*, 2001).

A dourada, como espécie marinha, necessita de ácidos gordos polinsaturados da série  $\omega$ 3. Para uma espécie da mesma família da dourada (dourada japonesa) as necessidades em ácidos gordos da série  $\omega$ 3 foram estabelecidas em 0,5% da composição total da dieta (Santinha, 1997).

Tal como nos outros animais os peixes não demonstram capacidade para sintetizar de novo os ácidos gordos polinsaturados das séries  $\omega$ 3 e  $\omega$ 6 (Santinha, 1997). Essas necessidades são satisfeitas pela inclusão na dieta de óleo de fígado de bacalhau ou óleo de peixe (Pereira, 1991).

De uma forma geral, a incorporação de 10 a 20% de lípidos em dietas para peixes favorece taxas de crescimento óptimas sem que as carcaças fiquem excessivamente gordas (De Silva & Anderson, 1995).

### **2.4.3. Necessidades em glúcidos**

Os glúcidos, ou hidratos de carbono, são componentes essenciais de todos os organismos vivos tendo importantes funções estruturais e um papel relevante como reservas energéticas e promotores das transferências energéticas (De Silva & Anderson, 1995).

Os peixes possuem todas as vias metabólicas e enzimas envolvidas no metabolismo dos hidratos de carbono (Enes *et al.*, 2007). No entanto, a maior parte dos peixes não utiliza bem os glúcidos, em especial os açúcares complexos (Bergot, 1979; De Silva & Anderson, 1995). Assim, a utilização de hidratos de carbono como fonte de energia pelos peixes tem-se revelado limitada (Enes *et al.*, 2007).

Apesar de ter que ser de forma controlada, a substituição de proteínas por hidratos de carbono como fonte energética para peixes é possível. A percentagem de substituição é variável em função da espécie, do tratamento a que o hidrato de carbono é sujeito e dos níveis proteico e lipídico da dieta (Fernandéz *et al.*, 2007).

Como os glúcidos são escassos no habitat dos peixes, o sistema digestivo destes animais está melhor adaptado à utilização de proteínas e de lípidos (Lovell, 1988).

Os peixes consomem vários açúcares presentes nos tecidos corporais das presas como o glicogénio, a manose, a xilose e a glicose bem como outros açúcares presentes em dietas artificiais de origem vegetal como a celulose e o amido (Fonseca, 1998).

O amido tratado por gelatinização, dextrinização ou extrusão é um componente interessante para dietas de dourada (Fernadéz *et al.*, 2007).

Os glúcidos são fontes de energia baratas em comparação com as proteínas e os lípidos. Na formulação de dietas, as percentagens de hidratos de carbono devem ser as maiores desde que o peixe os possa assimilar eficientemente. Por outro lado, a não incorporação de glúcidos nas dietas leva a que outros nutrientes como as proteínas e os lípidos sejam utilizados em maior escala para a obtenção de energia e para a síntese de componentes biológicos derivados dos glúcidos, desviando-se assim das suas funções principais (Fonseca, 1998).

A via glicogénica manifesta-se como a rota mais importante para o mantimento do elevado teor de glicemia dos peixes, pressupondo-se assim que um certo número de aminoácidos seja desviado da sua função principal (síntese proteica), para a produção de glicose (Fonseca, 1998). A hiperglicémia observada nos peixes e a sua relativa incapacidade de utilizarem níveis elevados de açúcares deve-se à combinação de alguns factores, tais como a baixa actividade da hexoquinase e da glucoquinase, a menor capacidade da glicose em estimular a libertação da insulina em comparação com alguns aminoácidos, a inibição da insulina devido aos elevados níveis de glicose ou ainda ao número relativamente baixo de receptores de insulina nos peixes comparativamente aos mamíferos (Santinha, 1997).

A incorporação de hidratos de carbono nas dietas para peixes tem que ser cuidadosamente controlada uma vez que os excessos depositados sob a forma de glicogénio não são aproveitados pelos animais como alternativa a outras fontes energéticas (lípidos e proteínas) (De Silva & Anderson, 1995). O excesso de glicogénio no fígado pode originar elevados índices hepatossomáticos (Jobling, 1994).

De um modo geral, pode considerar-se que a incorporação de hidratos de carbono em dietas para peixes carnívoros não deve exceder os 20% (Pereira, 1991; Enes *et al.*, 2007).

#### **2.4.4. Necessidades em minerais**

Os minerais são elementos essenciais aos seres vivos. Das suas funções principais destacam-se a intervenção na regulação do funcionamento e metabolismo do organismo, a actuação como biocatalizadores enzimáticos (Steffens, 1989), o seu envolvimento na manutenção do sistema coloidal e a intervenção na regulação do equilíbrio ácido-base (Ozden & Erkan, 2008). Têm um papel estrutural no organismo (formam parte do esqueleto) e intervêm na actividade neuromuscular (Fonseca, 1998).

As necessidades em minerais dos peixes têm sido muito pouco estudadas, uma vez que para além dos problemas habituais encontrados no estudo de minerais em animais terrestres surge outro problema que é o de grandes quantidades de minerais poderem ser absorvidos da água circundante através das brânquias dificultando assim o controlo da ingestão do mineral a ser estudado (Henriques, 1998).

As necessidades em minerais dos peixes variam de espécie para espécie.

A interacção entre os diferentes minerais é muito importante na medida em que uma alteração no equilíbrio mineral pode levar a alterações nutritivas. O fósforo e o cálcio formam os ossos e as estruturas esqueléticas e mantêm o equilíbrio ácido base. Para além disso, o cálcio intervém como activador enzimático nas vias metabólicas e o fósforo actua no metabolismo dos hidratos de carbono e gorduras sendo constituinte de diversas estruturas celulares (Fonseca, 1998). O cloro e o sódio destacam-se na regulação osmótica

juntamente com o potássio, mantendo o equilíbrio iónico entre o peixe e o meio (Fonseca, 1998). O magnésio é um elemento necessário para a actividade de muitos sistemas enzimáticos e o enxofre faz parte de alguns aminoácidos e de vários compostos do organismo (Morales, 1986; Fonseca, 1998).

Na Tabela 4 são apresentadas as necessidades minerais dos peixes de acordo com Silva & Anderson (1995).

**Tabela 4** – Necessidades em minerais dos peixes (mg/Kg) (Fonte: De Silva & Anderson, 1995)

<b>Mineral</b>	<b>Necessidades</b>	<b>Mineral</b>	<b>Necessidades</b>
Ferro	30 a 70	Fósforo	2500 a 13000
Potássio	+/- 8000	Iodo	0,6 a 1,1 µg/Kg
Cálcio	2700 a 6500	Zinco	20 a 30
Magnésio	400 a 770	Selénio	0,25 a 0,3
Manganês	2,4 a 20		

Alguns minerais (chumbo, mercúrio e cádmio) tornam-se tóxicos quando em concentrações elevadas e por vezes são difíceis de excretar pelo que se tornam venenos cumulativos (Alasalvar *et al.*, 2002). Por outro lado, a deficiência em minerais nas dietas pode dar origem a uma redução no crescimento, pouco apetite, deformações ósseas, anemias e convulsões (Morales, 1986).

#### **2.4.5. Necessidades vitamínicas**

Embora em pequenas quantidades, as vitaminas são compostos orgânicos essenciais ao crescimento, reprodução e manutenção dos peixes (De Silva & Anderson, 1995). A deficiência ou excesso de vitaminas pode levar a deformações acentuadas no corpo dos animais. Obtêm-se a partir de fontes exógenas tais como a dieta ou da síntese microbiana intestinal (Fonseca, 1998). A determinação das necessidades vitamínicas dos peixes bem como dos restantes animais é difícil exactamente pelo facto de algumas serem produzidas no intestino (De Silva & Anderson, 1995).

As necessidades vitamínicas dos peixes diferem de espécie para espécie e em função do tipo de alimentação e da capacidade de cada um para as sintetizar (De Silva & Anderson, 1995).

As rações devem ter uma composição tal, que sendo administradas diariamente mantenham um nível adequado e constante de vitaminas no organismo dos peixes. Assim, uma formulação adequada das dietas é essencial, devendo-se ter sempre atenção ao facto de que grande parte das vitaminas hidrossolúveis (ex: vitaminas do complexo B e vitamina C) das rações são perdidas muito rapidamente quando em contacto com a água. Em geral, quanto menor for a partícula de alimento e maior o seu tempo de permanência na água antes de ser ingerida maior será a perda de vitamina (Rotta, 2003).

Nem todos os peixes necessitam de todas as vitaminas estabelecidas como essenciais. Enquanto a truta, por exemplo, necessita de todas, o peixe-gato prescinde do inositol. Algumas das vitaminas do grupo B são sintetizadas pelas bactérias intestinais de alguns peixes como a tilápia, que não apresenta necessidades em vitamina B<sub>12</sub> (Fonseca, 1998).

A maior parte dos peixes e crustáceos são muito sensíveis à deficiência em vitamina C especialmente em jovens, uma vez que as necessidades nesta vitamina parecem diminuir com a idade (Fonseca, 1998).

Uma das principais funções da vitamina C no crescimento e reparação dos tecidos é a de mediador na formação de colagénio. Para além disso, realiza funções importantes em diversos mecanismos de oxidação-redução das células. Tem também uma importante função no transporte dos iões de ferro da transferrina à ferrina que actua como reserva de ferro na medula óssea, fígado e baço. Identificou-se também a importância da vitamina C na resistência às infecções (Fonseca, 1998).

Os sintomas mais típicos apresentados por peixes com dietas pobres em vitamina C são: redução da velocidade de crescimento, deformação da coluna vertebral, áreas hemorrágicas debaixo da pele, despigmentação e cura lenta das feridas (Fonseca, 1998).

A influência das vitaminas C e E no crescimento e índices a ele associados tem sido amplamente reportada. Estas vitaminas estão também relacionadas com a regulação da resposta ao stress por parte dos peixes. A

elevada densidade animal é um dos factores mais stressantes para os animais criados em aquacultura. (Trenzado *et al.*, 2007).

A vitamina E é utilizada pelos peixes para proteger os tecidos lipídicos da oxidação. As necessidades em vitamina E aumentam com o aumento da incorporação de ácidos gordos polinsaturados nas dietas. O seu carácter lipossolúvel confere-lhe uma marcada função antioxidante que protege as membranas lipídicas (Trenzado *et al.*, 2007).

A vitamina A tem uma importante influência na diferenciação e multiplicação celular. Potencia o crescimento, o desenvolvimento esquelético e um normal desenvolvimento do sistema nervoso (Fernandéz *et al.*, 2008). Tem ainda um papel importante na visão, na reprodução e ao nível da resistência a infecções (Mohamed *et al.*, 2003). Os peixes não têm a capacidade de sintetizar a vitamina A pelo que esta tem que ser disponibilizada na alimentação. Qualquer excesso ou deficiência no teor desta vitamina pode levar a complicações ao nível do crescimento e desenvolvimento (Mohamed *et al.*, 2003; Fernandéz *et al.*, 2008).

As deformações ósseas são dos principais factores que afectam os custos de produção em aquacultura. Determinam a morfologia externa dos animais, as taxas de crescimento e as taxas de mortalidade. Estas deformações estão relacionadas com factores genéticos, ambientais e nutricionais. Vários estudos demonstraram que deficiências ao nível vitamínico e lipídico estão na origem de grande parte dos problemas ósseos. A vitamina A dietética influencia o normal desenvolvimento ósseo. Quando em excesso, acelera o processo de ossificação dos centros vertebrais, podendo levar à ocorrência de vértebras supra-numerárias e grande incidência de compressões vertebrais (Fernandéz *et al.*, 2008).

As necessidades em vitamina A para a dourada rondam os 2000 a 2500 UI/Kg. Com já foi referido, as necessidades vitamínicas são variáveis de espécie para espécie. A truta e o salmão, por exemplo, têm necessidades em vitamina A inferiores (1000 – 3500 UI/kg) (Mohamed *et al.*, 2003).

## **2.5. PRINCIPAIS MATÉRIAS-PRIMAS UTILIZADAS NO FABRICO DE RAÇÕES PARA AQUACULTURA**

A nutrição proteica dos peixes tem sido um dos campos mais investigados dentro dos estudos em nutrição destes animais. Uma vez que a maioria dos peixes produzidos em regimes mais intensivos são carnívoros, as suas necessidades proteicas são muito elevadas. Assim, torna-se necessário que as matérias-primas das dietas apresentem altos teores proteicos de modo a responder às elevadas necessidades dos animais (Gomes, 1991).

A matéria-prima mais adequada para responder a estas necessidades é a farinha de peixe (Santinha, 1997). No entanto, devido a vários condicionantes como o gradual esgotamento das reservas marinhas naturais e os problemas criados à volta da questão da BSE em outras farinhas de origem animal, esta matéria-prima torna-se cada vez mais cara e inacessível (Santinha, 1997). Assim, é necessário continuar a realizar estudos com o intuito de substituir esta matéria-prima por outras fontes proteicas que se apresentem como alternativas viáveis.

### **2.5.1. Matérias-primas de origem animal**

#### **2.5.1.1. Farinha de peixe**

A farinha de peixe é reconhecida em nutrição animal como sendo uma excelente fonte de proteína, energia, minerais e vitaminas. Por todo o mundo são produzidos milhares de toneladas desta matéria-prima todos os anos. A maior parte da farinha de peixe produzida é utilizada no fabrico de alimentos compostos para animais. Tal como a maior parte das matérias-primas de alta qualidade torna-se mais cara, o que é um grande obstáculo à sua utilização (Miles & Jacob, 2009). Para além do preço, a diminuição das capturas relacionadas com a pesca e o aumento das necessidades alimentares na produção animal tornam-na uma matéria-prima cada vez mais escassa (Drakeford & Pascoe, 2008). Têm sido estudadas fontes proteicas de origem

vegetal em substituição de farinha de peixe para tentar produzir dietas que minimizem as excreções azotadas (Biswas *et al.*, 2007).

É a matéria-prima mais utilizada, quer pelos resultados obtidos quer pela sua composição em aminoácidos (Tabela 5), ácidos gordos e minerais, adequados às necessidades das várias espécies piscícolas (Pereira, 1991).

Apesar de actualmente, e pelas razões já mencionadas, se pretender substituir tanto quanto possível a farinha de peixe por produtos ou subprodutos mais baratos, menos poluentes e mais disponíveis, tal componente não pode ser totalmente substituído (Gouveia, 1987).

**Tabela 5** – Composição em aminoácidos (% de proteína) de diversas fontes proteicas (Fonte: Santinha, 1997)

Aminoácido	Farinha de carne	Farinha de anchova	Farinha de arenque	Farinha de sardinha	Farinha de atum	Bagajo de soja	Tremoço
Arginina	3,65	3,67	4,61	3,25	3,42	7,34	10,4
Cisteína	0,67	0,61	0,71	0,76	0,44	0,92	1,27
Metionina	0,73	1,94	2,14	1,95	1,46	0,88	3,10
Treonina	1,72	2,78	3,01	2,70	2,31	3,34	3,80
Isoleucina	1,82	2,99	3,21	3,09	2,41	4,60	--
Leucina	3,35	4,98	5,30	4,42	3,81	6,33	7,40
Lisina	3,11	5,08	5,66	5,55	4,04	5,61	5,10
Valina	2,56	3,52	4,37	3,64	2,80	4,38	4,00
Tirosina	0,96	2,17	2,23	2,29	1,72	3,10	--
Triptofano	0,35	0,76	0,80	0,58	0,56	0,88	--
Fenilalanina	1,86	2,63	2,77	2,34	2,16	4,33	3,90
Histidina	1,03	1,52	1,71	1,88	1,78	2,41	3,10

A composição da farinha de peixe é variável. Depende das espécies de peixes capturadas e utilizadas no seu fabrico, da procedência dessas espécies e da época de captura. Para além destes factores, existem outros que afectam a qualidade da farinha de peixe, nomeadamente o estado de frescura do pescado aquando da sua elaboração, as partes da carcaça utilizadas e as condições em que o tratamento tecnológico foi efectuado (quanto mais baixas forem as temperaturas durante o processo maior será o valor biológico do produto final e menor será o risco de deterioração da fracção lipídica) (Pike *et*

*al.*, 1990). As condições em que a farinha de peixe é armazenada são também importantes para a sua qualidade. Antes do armazenamento deverá ser adicionado um antioxidante para estabilizar os óleos (Miles & Jacob, 2009), evitando oxidações que danificam os ácidos gordos polinsaturados, afectando não só a qualidade nutricional mas também as características organolépticas como a textura e o sabor (Senso *et al.*, 2007).

O estado de frescura do pescado pode ser avaliado de forma sensorial (odor, cor, textura) (Abbas *et al.*, 2008) ou pela determinação do teor em azoto básico volátil, sendo este um método importante na determinação da qualidade dos produtos da pesca. É o indicador químico mais comum de deterioração da carne de peixe marinho (Dhaouadi *et al.*, 2007), aumentando proporcionalmente ao grau de degradação do produto (Santinha, 1997). Deve ser inferior a 90mg por 100g de peixe fresco (Pike *et al.*, 1990).

#### **2.5.1.2. Farinha de sangue**

A farinha de sangue é um alimento com alto teor de proteína bruta. Quando bem processada possui teores elevados de lisina, sendo por outro lado pobre em isoleucina. O equilíbrio deste aminoácido deve ser considerado quando utilizados níveis elevados deste produto nas rações (Cancherini *et al.*, 2005).

Se bem processada possui elevados valores de digestibilidade (Lovell, 1988).

Em douradas, não contribui para um crescimento tão eficaz como a farinha de peixe, resultando num decréscimo no ganho de peso e num índice de conversão muito alto. Este facto pode dever-se ao grande desequilíbrio apresentado por esta matéria-prima em termos de aminoácidos essenciais (Pereira, 1991).

Tem ainda a desvantagem de ser uma matéria-prima de baixa palatabilidade, o que pode condicionar os níveis de ingestão (Santinha, 1997).

### 2.5.1.3. Farinha de carne e farinha de carne e ossos

Os subprodutos de origem animal como a farinha de carne e a farinha de carne e ossos apresentam uma grande variabilidade tanto na sua composição em aminoácidos como nos coeficientes de digestibilidade dos mesmos. Deve então conhecer-se adequadamente estes dois indicadores para que possam ser utilizadas com maior precisão nas formulações, uma vez que milhões de toneladas de farinhas de carne e de farinhas de carne e ossos são produzidos pelas indústrias e se não forem recicladas em rações para animais passam a ser considerados resíduos industriais (Oliveira *et al.*, 2002). Para cada tonelada de carne preparada para o consumo humano, cerca de 300Kg são descartados como produtos não comestíveis e desses, aproximadamente 200Kg transformam-se em farinha de carne (Filho *et al.*, 2002).

São matérias-primas ricas em proteína bruta, cálcio e fósforo (Oliveira *et al.*, 2002), podendo no entanto apresentar alguns factores anti-nutritivos (Vouzela, 1992b).

A riqueza destas farinhas depende das matérias-primas utilizadas na sua confecção, geralmente provenientes dos subprodutos dos matadouros (Vouzela, 1992b).

Apresentam geralmente cerca de 50% de proteína bruta (Guillaume, 1991).

As farinhas de carne, que deverão sofrer uma distinção clara das farinhas de carne e osso, poderão representar uma proteína alternativa relativamente interessante em especial se o seu teor em gordura for suficientemente baixo (Gomes, 1991).

A incorporação de farinhas de carne e ossos em dietas para peixes é condicionada por vários factores, entre eles, a deficiência em aminoácidos sulfurados (Guillaume, 1991) e os elevados teores em cinzas (Lovell, 1988).

## **2.5.2. Matérias-primas de origem vegetal**

As matérias-primas de origem vegetal apresentam em geral, um teor proteico inferior às de origem animal, bem como algumas deficiências em termos de aminoácidos essenciais.

Em alguns casos apresentam problemas relacionados com a presença de factores anti-nutritivos (substâncias presentes nos alimentos que podem provocar efeitos fisiológicos adversos ou diminuir a biodisponibilidade dos nutrientes) (Silva & Silva, 2000). Controlando estes factores, as fontes proteicas de origem vegetal passam a assumir um papel de extrema importância na nutrição de peixes (Santinha, 1997). Actualmente, a maior parte dos factores anti-nutritivos pode ser inactivada ou destruída através de tratamentos térmicos (húmidos ou secos) adequados (micronização, extrusão, expansão) (Pereira, 2003).

Na Tabela 6 apresentam-se alguns dos factores anti-nutritivos mais frequentemente encontradas nas matérias-primas de origem vegetal e os possíveis mecanismos de destruição dessas substâncias.

### **2.5.2.1 Glúten de trigo**

O glúten de trigo obtém-se sujeitando o cereal a um leve tratamento tecnológico (Helland & Helland, 2006). Beccari foi o primeiro a separar o glúten da farinha de trigo (há cerca de 300 anos) utilizando um simples processo de lavagem. Este princípio (via húmida) é ainda hoje utilizado a uma escala industrial na separação do glúten para uso alimentar (Peighambardoust *et al.*, 2007). A farinha é hidratada e a massa obtida é submersa em água para formação da rede proteica (Batista & Filho, 2003).

No trigo por excelência mas também noutros cereais, encontram-se duas proteínas de grande importância tecnológica, a gliadina e a glutenina. Quando em contacto com a água, estas proteínas unem-se por ligações de Van der Waals e pontes de enxofre (Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004). Após algumas horas de imersão, a massa é lavada em água corrente para a extracção do amido obtendo-se o glúten (Batista & Filho, 2003).

**Tabela 6** – Alguns factores anti-nutritivos presentes nas matérias-primas de origem vegetal e possíveis meios de superação dos seus efeitos (Fonte: Santinha, 1997)

<b>Factor</b>	<b>Matéria-prima</b>	<b>Meio de superação</b>
<b><u>Inibidores não específicos da digestão</u></b>		
Hemaglutininas	Ervilhas, outras leguminosas,	Limitar incorporação.
Ácido fítico	vegetais (grãos, raízes, tubérculos)	
<u>Polifenóis</u>	Faveta, fava e sorgo	Descasque, aquecimento, suplementar com metionina ou colina.
<b><u>Inibidores da utilização proteica</u></b>		
Antitripsinas	Leguminosas (soja)	Aquecimento
Gossipol	Bagaço de algodão	Utilizar variedades isentas
<b><u>Inibidores da utilização dos minerais</u></b>		
Ácido fítico	Numerosos vegetais	Limitar incorporação
Ácido oxálico	Folhas	
<b><u>Inibidores de funções fisiológicas Factores tóxicos</u></b>		
Alcalóides	Tremoços	Utilizar variedades isentas
Saponinas	Luzerna	Utilizar variedades isentas
Glucosinolatos	Colza	Tostagem
Ácido erucico	Óleo de colza	Utilizar variedades isentas
Urease	Soja	Aquecimento
<b><u>Anti-vitaminas lipossolúveis</u></b>		
Anti-vitaminas A	Soja	Aquecimento
Anti-vitaminas D	Soja	Autoclave
Anti-vitaminas E	Ervilha	Autoclave, adição de Vit. E
<b><u>Anti-vitaminas hidrossolúveis</u></b>		
Anti-ácido nicotónico	Milho	
Anti-piridoxina	Bagaço de linho	Extracção, aquecimento
Anti-vitamina B <sub>12</sub>	Soja crua	Aquecimento
<u>Glucósidos cianogénicos</u>	Mandioca, sorgo	Aquecimento

O glúten de trigo é uma matéria-prima de alta digestibilidade, rica em prolina e ácido glutâmico, que tem como principal inconveniente apresentar um baixo teor em lisina (Pomeranz, 1988; Helland & Helland, 2006). Apesar da alta

digestibilidade mencionada, esta matéria-prima revela ter uma baixa digestibilidade aparente em relação ao amido (após o tratamento tecnológico pode conservar alguns restos deste componente) que se pode dever ao factor inibidor da  $\alpha$ -amilase que apresenta. Este inibidor concentra-se na fracção proteica aquando da separação do glúten (Storebakken *et al.*, 2000).

Num estudo efectuado em nutrição de truta arco-íris, mostra-se que dietas à base de glúten de trigo podem atingir valores de 97% para o coeficiente de utilização digestiva da proteína e de 84% para o da energia quando suplementadas com lisina e metionina. O mesmo estudo revela que para estes animais, o nível de substituição de farinha de peixe por glúten de trigo pode ir claramente até aos 50% (dietas suplementadas com lisina e metionina) (Davies *et al.*, 1997).

Uma vez que em ensaios com outras espécies piscícolas esta matéria-prima apresentou resultados favoráveis em termos de crescimento e digestibilidade, decidiu testar-se também o seu valor nutritivo na dourada.

#### **2.5.2.2. Glúten de milho**

O glúten de milho é um produto altamente proteico (40 a 60%) resultante da extracção do amido dos grãos de milho, podendo no entanto conservar alguns restos deste componente. Apresenta altos níveis de pigmentos. O perfil em aminoácidos é mais ou menos equilibrado apresentando algumas deficiências em arginina, em lisina e em menor grau em metionina. Possui um baixo teor em fibra (Pereira, 2003).

A absorção da proteína do glúten de milho é apenas parcial, uma vez que na sua composição entram algumas albuminas que dificultam o ataque enzimático (Robaina, 1998).

O milho tem sido a principal fonte energética utilizada nos arraçoamentos, uma vez que para além de ser uma matéria-prima de excelente qualidade é em determinados países uma cultura com grandes produções a baixos custos (Vouzela, 1992a). É uma importante fonte de ácido linóleico e xantofilas. Contudo possui um baixo teor em proteína e em aminoácidos e em certos oligoelementos e vitaminas (Vouzela, 1992a).

De acordo com Pereira (2003), não se conhecem quaisquer factores anti-nutritivos no milho. No entanto, De Silva e Anderson (1995) fazem referência à existência, entre outros, de ácido fítico.

O ácido fítico ou mioinositol-hexafosfato contém cerca de 73% do fósforo total presente nos grãos de cereais. O fósforo contido no ácido fítico não é disponibilizado devido à ausência da enzima fitase (enzima que decompõe o ácido fítico) no tubo digestivo dos animais monogástricos. Afecta a utilização de determinados nutrientes da dieta como os minerais (cálcio, zinco, magnésio, cobre e ferro) (Pereira, 2003). A utilização digestiva do fósforo do ácido fítico é muito fraca e é acompanhada por uma redução da absorção intestinal do fósforo e do cálcio. Altos teores de ácido fítico podem reduzir em mais de 35% a absorção do cálcio (Nunes, 1987). Os oligoelementos de maior interesse nutricional são fixados mais fortemente ao ácido fítico do que os macroelementos alcalino-terrosos (Gomes, 1991).

Pereira (2003) concluiu num estudo com douradas, que o glúten de milho pode substituir até 60% a proteína total da dieta sem efeitos negativos no crescimento dos animais. Segundo o mesmo autor, citando Robaina *et al.* (1997), a performance zootécnica de douradas não foi afectada com a substituição parcial da proteína da farinha de peixe pela proteína do glúten de milho até 40%. 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.

### **2.5.2.3. Cereais**

Os cereais mais utilizados na alimentação de peixes são o milho, o trigo e a cevada. O arroz também tem sido utilizado nas dietas de peixes, quer apenas o glúten, quer o grão integral moído, cozido ou destilado, uma vez que estes processos térmicos permitem aumentar a digestibilidade do amido (Santinha, 1997).

Os cereais em geral (milho, trigo, sorgo, aveia, centeio etc.) possuem baixos teores proteicos (8 a 15%) e níveis reduzidos em aminoácidos essenciais (lisina, metionina e triptofano). São matérias-primas pouco

adaptadas às necessidades proteicas e energéticas dos peixes (Santinha, 1997).

Apresentam teores consideráveis de alguns factores anti-nutritivos e tóxicos, como é o caso dos polifenóis e  $\beta$ -glutanatos no centeio e dos taninos no sorgo (Vouzela, 1992b).

Os taninos, quando em grandes concentrações, inibem a acção da flora bacteriana gastrointestinal e baixam os níveis de ingestão (reduzem a palatabilidade dos alimentos) (Smith *et al.*, 2005).

A produção de taninos poderá constituir uma forma de defesa da planta contra o seu consumo pelos animais selvagens, e assim assegurar a sua propagação e multiplicação (Vouzela, 1992b).

São degradados por hidrólise pelas enzimas digestivas, originando a formação de um resíduo açucarado e de um ácido fenocarboxílico. Este último pode condensar-se formando flavoides poliméricos. A administração de alimentos ricos em taninos provoca quebras de crescimento, devendo-se este efeito a uma diminuição da digestibilidade da matéria seca e das proteínas. Interferem com a acção digestiva da tripsina e da amilase, quer bloqueando directamente as próprias enzimas quer combinando-se com as proteínas formando complexos indigestíveis, diminuindo assim o valor nutritivo das plantas (Nunes, 1987).

As tentativas de inibição da actividade dos taninos por via química apresentam um efeito positivo nas variedades com teor mais alto e um efeito exactamente contrário nas variedades de teor mais reduzido (Gomes, 1991).

#### **2.5.2.4. Soja**

Entre as oleaginosas, a soja 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%) e um perfil em aminoácidos equilibrado. É uma boa fonte de ácido linoleico e de fosfolípidos. Os hidratos de carbono presentes na soja são essencialmente oligossacarídeos solúveis (sacarose, rafinose e estaciose) e polissacarídeos

que podem ser solúveis e insolúveis (celulose, hemicelulose e pectinas) (Pereira, 2003).

A digestibilidade da soja é bastante elevada sendo de um modo geral comparável à da farinha de peixe (Pereira, 2003).

Esta matéria-prima tem como desvantagem o facto de apresentar alguns factores anti-nutritivos que influenciam a sua qualidade nutritiva e lhe reduzem a palatabilidade, tais como os factores antitripsínicos, o ácido fítico, oligossacarídeos solúveis indigestíveis e inibidores de enzimas proteolíticas (Førde-Skjærvik *et al.*, 2007). Estes factores podem ser eliminados através de tratamentos adequados (Pereira, 2003).

Os inibidores de enzimas proteolíticas aparecem não só na soja como noutras proteaginosas e têm incidência directa sobre o valor nutritivo da proteína das plantas. No caso da soja, existem dois grupos de inibidores de enzimas proteolíticas, cada um deles constituído por uma mistura de substâncias proteicas, designados por “Kunitz” e “Bowman-Birk” (Gomes, 1991). Os inibidores de tripsina ou Kunitz, de alto peso molecular, apresentam duas pontes dissulfeto, 181 resíduos de aminoácidos e possuem especificidade primária para a tripsina (Silva & Silva, 2000). Inibem a tripsina mediante a formação de ligações dissulfureto com esta enzima. São termolábeis. Os inibidores de quimiotripsina, ou Bowman-Birk, de peso molecular inferior aos anteriores, com alta proporção de ligações dissulfeto, 71 resíduos de aminoácidos e capacidade para inibir tripsina e quimiotripsina em sítios de ligação independentes (Silva & Silva, 2000), inibem quer a quimiotripsina quer a tripsina através do mesmo mecanismo dos anteriores. São mais estáveis ao calor (Pereira, 2003). Podem ser inactivados por autoclavagem, extrusão e micronização (Gomes, 1991).

O processamento da semente de soja consiste essencialmente na extracção do óleo obtendo-se o bagaço. O óleo resultante da extracção, é muitas vezes usado como matéria-prima e também para consumo humano. Este processamento contribui para eliminação de alguns factores anti-nutritivos presentes na soja crua (Pereira, 2003).

O bagaço de soja, apesar de ser geralmente bem equilibrado em termos de aminoácidos essenciais, deve ser usado com alguma prudência, uma vez que apresenta valores muito baixos de alguns aminoácidos essenciais

(metionina e lisina) e elevados teores em fibras pouco digestíveis. Apresenta alguma deficiência em termos de fósforo, zinco e algumas vitaminas do complexo B (Vouzela, 1992b).

A produção de semente de soja tem vindo a aumentar nos últimos 25 anos, fazendo com que hoje seja considerada a fonte proteica mais disponível (Biswas *et al.*, 2007).

A inclusão do bagaço de soja em dietas para peixes tem sido utilizada em estudos com várias espécies, com resultados variados. Em estudos com dourada (Carter & Hauler, 2000; Pereira, 2003), demonstrou-se que 20 a 50 % de bagaço de soja pode ser incluído nas dietas sem efeitos negativos no crescimento e eficiência da utilização do alimento (Pereira, 2003).

#### **2.5.2.5. Tremçoço**

A farinha de tremçoço é feita a partir de sementes de tremçoço recorrendo ao processo de moagem. Possui um elevado teor proteico e um perfil de aminoácidos desequilibrado. É rica em lisina e deficiente em metionina (Pereira, 2003).

A casca do tremçoço é altamente fibrosa podendo a sua inclusão nas dietas levar a problemas de digestibilidade (Pereira, 2003).

A qualidade nutricional do tremçoço pode variar consideravelmente, dependendo de factores como a época de produção, a variedade e o tipo de solo (Glencross *et al.*, 2008).

O tremçoço pode também ser incluído nas dietas no formato micronizado. A micronização é um processo que envolve o aquecimento das moléculas do alimento com recurso a radiação infra-vermelha. O aquecimento interno provocado por este processo causa ruptura de estruturas celulares e destruição de factores anti-nutritivos (Pereira & Oliva-Teles, 2004).

O tremçoço é rico em alguns factores anti-nutritivos tais como saponinas, taninos e flavonóides. Mais de 150 alcalóides em concentrações superiores a 6% estão associados ao tremçoço, dando à espécie uma elevada resistência a organismos patogénicos. A maioria dos alcalóides do tremçoço está concentrada na casca, dando-lhe um sabor adstringente (Gomes, 1991).

Alguns produtores dedicaram-se ao desenvolvimento da variedade “sweet”, cujas concentrações de alcalóides se mantêm abaixo dos 0,05% reduzindo muito os problemas relacionados com palatibilidade tornando-a mais adequada à alimentação animal e humana (Reinhard *et al.*, 2006). Por razões relacionadas com segurança alimentar, o nível de alcalóides deve ser inferior a 6g/Kg. Para além dos problemas que causam ao nível da palatibilidade, podem interferir no funcionamento do sistema nervoso central, podendo mesmo causar a morte de animais superiores. Para eliminar os alcalóides da semente de tremçoço pode recorrer-se à lavagem da semente com água. Para evitar a ocorrência destes factores pode recorrer-se à selecção genética, ou ao uso da já referida variedade “sweet” com baixo nível de alcalóides (Pereira, 2003).

Em peixes, verificaram-se resultados muito positivos com a substituição da farinha de peixe por tremçoço (Gomes, 1991).

Pereira (2003), num ensaio com dourada, concluiu que o tremçoço pode substituir até 30 % da proteína total da dieta independentemente do tratamento tecnológico aplicado.

#### **2.5.2.6. Ervilha**

Quando comparada com outras fontes proteicas de origem vegetal, a ervilha apresenta geralmente um menor teor proteico, sendo que no entanto costuma apresentar menos factores anti-nutritivos (Overland *et al.*, 2009).

O perfil em aminoácidos é balanceado, com altos teores em lisina, metionina e cistina. Apresenta um baixo teor lipídico, sendo rica em ácido linoleico e linoléico. O teor em hidratos de carbono é elevado (Pereira, 2003).

Os principais factores anti-nutritivos presentes 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 (Silva & Silva, 2000). Reduzem a absorção dos nutrientes no tubo digestivo e podem causar hemorragias internas ao destruir as microvilosidades das células do epitélio de revestimento (Pereira, 2003). Têm a capacidade de aglutinar os glóbulos vermelhos, mas a sua actividade aglutinante é variável consoante a

origem específica dos eritrócitos (Silva & Silva, 2000). São termolábeis, sendo facilmente eliminadas através de tratamento térmico (Gomes, 1991). A sua estabilidade pode variar entre as plantas. Muitas lectinas são resistentes à acção do calor seco, sendo assim necessário recorrer ao calor húmido para as inactivar (Pereira, 2003).

Num ensaio de alimentação em dourada, Pereira (2003) concluiu que a ervilha pode substituir até 20% a farinha de peixe sem afectar significativamente o crescimento dos animais.

#### **2.5.2.7. Fava**

A fava é cultivada em grande escala em todo o mundo, sendo que existe uma zona preferencial de produção. Essa zona estende-se do médio oriente à zona mediterrânica. De uma forma geral, contém 25 a 30 % de proteína, 40 a 50% de hidratos de carbono e 10 a 15% de lípidos. Recentes avanços no domínio da genética levaram ao desenvolvimento de variedades com menores concentrações de taninos. A redução deste factor anti-nutritivo torna a fava mais viável para utilização em alimentação de espécies piscícolas (Azaza *et al.*, 2009).

### **2.6. DETERMINAÇÃO DE DIGESTIBILIDADE**

A digestibilidade das fontes proteicas é uma das características prioritárias para avaliar a sua inclusão nas dietas (Robaina, 1995).

É um dos critérios utilizados em estudos com animais para avaliar a qualidade nutricional dos alimentos e determinar a eficiência de dietas completas através da quantificação da matéria seca ou fracção do nutriente/energia absorvida do alimento (não excretada nas fezes) (Oliveira *et al.*, 2002). O conhecimento dos valores de digestibilidade fornece uma base racional para a formulação de dietas. Uma dieta pode ser uma excelente fonte de nutrientes quando analisada do ponto de vista da sua composição química,

mas ser de pouco valor se levar a dificuldades de digestão e absorção (Adeparusi & Kokolafe, 2006).

A digestibilidade dos alimentos tem também vindo a ser objecto de grande interesse dada a crescente necessidade de elaboração de dietas menos poluentes (Sales & Britz, 2001).

### **2.6.1. Conceitos de digestibilidade, digestibilidade real e digestibilidade aparente**

A digestibilidade real dos alimentos é aquela que tem em conta a contaminação intestinal das fezes com pequenas quantidades de enzimas digestivas endógenas, muco da parede intestinal e compostos azotados libertados durante a excreção (De Silva & Anderson, 1995). Como essas contaminações em peixes são pequenas (rondam os 5%) e de difícil quantificação devido ao facto de o habitat natural destes animais ser a água (meio onde os nutrientes podem ser rapidamente lixiviados) opta-se habitualmente por determinar a digestibilidade aparente que não entra em linha de conta com as contaminações referidas anteriormente (Filho, 2005).

De uma forma sintetizada pode considerar-se: Digestibilidade Real =  $\frac{\text{Ingestão} - (\text{Excreção fecal} - \text{Excreção fecal endógena})}{\text{Ingestão}}$ ; Digestibilidade Aparente =  $\frac{\text{Ingestão} - \text{Excreção fecal}}{\text{Ingestão}}$ .

### **2.6.2. Métodos de determinação de digestibilidade**

As dificuldades técnicas associadas aos métodos de determinação de digestibilidade em espécies aquáticas relacionam-se essencialmente com a dificuldade de recolher amostras de fezes representativas, com a lixiviação dos nutrientes ao contactar com a água e com partição do material fecal em pequenas fracções. Esta partição deve-se essencialmente à movimentação dos animais nos tanques e ao movimento provocado pelos processos de oxigenação da água (Sales & Britz, 2001).

Existem dois métodos para determinação da digestibilidade em trabalhos de investigação com peixes: o método directo e o método indirecto (Filho, 2005).

### **2.6.2.1 Método directo**

No método directo os peixes são alimentados com rações de composição química conhecida durante um determinado período de tempo, sendo recolhidas as fezes na totalidade. Implica saber o consumo total do alimento. O método baseia-se na diferença entre a quantidade do nutriente presente no alimento fornecido ao animal e a quantidade desse mesmo nutriente presente nas fezes. Essa diferença corresponde à quantidade do nutriente que o peixe digeriu (Filho, 2005).

Em animais terrestres este método é viável. Porém em peixes, a sua utilização é dificultada. Em primeiro lugar pelo facto de os animais viverem em meio aquático o que contribui para a rápida lixiviação dos nutrientes impossibilitando uma recolha precisa de fezes e correcta medição do consumo de alimento (Filho, 2005) e também porque implica a implementação de técnicas dispendiosas que podem inviabilizar os ensaios do ponto de vista económico (Sales & Britz, 2001).

### **2.6.2.2. Método indirecto, incorporação de marcadores**

O método indirecto de determinação de digestibilidade baseia-se na recolha parcial das fezes e incorporação/aproveitamento de um marcador indigestível na dieta. É o método mais fiável para determinar valores de digestibilidade em peixes dado o ambiente aquático onde estes animais vivem (Sales & Britz, 2001). Permite que os peixes estejam em condições normais de cultura e sem stress. Permite ainda utilizar um elevado número de peixes eliminando assim as diferenças entre os indivíduos.

Os marcadores inertes devem ser de fácil mistura na dieta, devem passar pelo intestino à mesma velocidade que o alimento a estudar, devem ser

atóxicos, não devem influenciar a fisiologia do processo digestivo, não devem afectar a ingestão voluntária, devem ser passíveis de determinação analítica precisa (Filho, 2005) e não devem alterar as propriedades organolépticas da dieta (Morales *et al.*, 1999).

Neste método, é assumido que a quantidade do marcador incorporado na dieta se mantém constante durante o período experimental aparecendo nas fezes na sua totalidade (Davies & Gouveia, 2006). A digestibilidade (aparente) de um determinado nutriente/energia (ou da matéria seca) pode então ser determinada pela diferença entre a concentração do marcador relativamente a um determinado nutriente/energia/matéria seca na dieta e a concentração do mesmo marcador relativamente ao nutriente/energia/matéria seca nas fezes (Goddard & McLean, 2001).

Os cálculos baseiam-se nas seguintes fórmulas:

Coeficiente de Utilização Digestiva da Matéria Seca (%) =  $100 * [1 - (\text{concentração de marcador na dieta} / \text{concentração de marcador nas fezes})]$   
(Fernandez *et al.*, 2007)

Coeficiente de utilização digestiva do nutriente/energia (%) =  $100 * [1 - (\text{concentração de marcador na dieta} / \text{concentração de marcador nas fezes}) * (\text{concentração de nutriente/energia nas fezes} / \text{concentração de nutriente/energia na dieta})]$  (Fernandez *et al.*, 2007).

#### **2.6.2.2.1. Marcadores**

Existe uma grande variedade de marcadores para determinação indirecta da digestibilidade em peixes. Os marcadores podem ser internos e externos ao alimento. Os internos são os elementos indigestíveis presentes no próprio alimento tais como a fibra bruta, as cinzas e a celulose. No entanto, os marcadores mais utilizados são os externos, substâncias adicionadas às dietas (Filho, 2005).

De todos, o Óxido de Crómio tem sido de longe e desde sempre, o mais utilizado em aquacultura tendo mesmo sido este o marcador utilizado no ensaio de digestibilidade do presente trabalho.

O Óxido de Crómio foi proposto por Edin (1918) como marcador em estudos de digestibilidade com ruminantes. Mais tarde, foi confirmada por Nose (1960) a sua viabilidade em ensaios com peixes (Sales & Britz, 2001).

É um marcador fiável no que diz respeito à determinação da digestibilidade aparente da fracção proteica (Sales & Britz, 2001). No entanto a sua viabilidade tem sido, recentemente, posta em causa como marcador inerte. Carter *et al.* 2003 sugerem que só deverá ser usado em condições muito específicas, uma vez que pode alterar a flora bacteriana intestinal e a composição das fezes em ácidos gordos. É também defendido que o Óxido de Crómio se pode separar parcialmente da dieta durante a ingestão e a passagem pelo intestino e que a utilização digestiva dos hidratos de carbono é afectada pela suplementação com Crómio (Goddard & McLean, 2001). Segundo Davies & Gouveia (2006), o Óxido de Crómio incorporado na dieta nem sempre é totalmente recuperado nas fezes sendo necessário incorporar grandes concentrações para obter resultados homogéneos. Para além disso, altera a cor das dietas o que pode levar a uma diminuição da apetência por parte dos animais reduzindo os níveis de ingestão (Davies & Gouveia, 2006).

Por estas razões, torna-se claro que o Óxido de Crómio será cada vez menos usado em ensaios para determinar a digestibilidade em peixes, em detrimento de outros marcadores que vão sendo utilizados (Davies & Gouveia, 2006).

Outro marcador, o Colestano, apresenta algumas vantagens como marcador inerte para determinação de digestibilidade de ácidos gordos, tendo em conta que é um hidrocarboneto que é recuperado na fracção lipídica (Carter *et al.*, 2003).

O uso de Óxidos de Itrio tem vindo a tornar-se muito frequente na determinação de digestibilidade de peixes (Carter *et al.*, 2003). Segundo Davies & Gouveia (2006), são ligeiramente solúveis em meio ácido, mas praticamente insolúveis em pH neutro. Têm uma grande afinidade para ligações com as paredes vegetais das plantas. Podem ser determinados nas dietas e nas fezes quando incorporados em baixas concentrações (cerca de 1mg/Kg). Têm uma

cor branca, pelo que não alteram muito a cor das dietas quando incorporados em baixas quantidades. Muitos estudos referem a utilização preferencial de Óxidos de Itrio em relação de Óxido de Crómio por serem mais facilmente detectados e fornecerem resultados fiáveis em menores concentrações (Davies & Gouveia, 2006).

Existem outros marcadores, dos quais se salientam o Dióxido de Titânio, o Polietileno (Morales *et al.*, 1999), a celite, o óxido de itérbio, o óxido de lantânio e o carbonato de bário (Filho, 2005).

### **2.6.3. Métodos de colheita de fezes para determinação de digestibilidade**

A escolha do método a utilizar para colheita de fezes tem a maior relevância na determinação da digestibilidade aparente. É importante que o método seja rápido e permita uma fácil determinação da digestibilidade dos nutrientes.

Os métodos de colheita de fezes podem ser divididos em dois grupos: colheita de fezes antes da expulsão e colheita de fezes após a expulsão (Amirkolaie *et al.*, 2005).

Segundo Filho (2005), os métodos de colheita de fezes de peixes mais utilizados em trabalhos de determinação de digestibilidade são: pressão abdominal, sucção anal, dissecação e sedimentação. Para além destes destaca-se um outro método, Sistema de Guelph (definido por Cho *et al.*, 1975), também muito difundido e que foi o método utilizado para recolha de fezes no ensaio de digestibilidade do presente trabalho.

No método da sedimentação, as fezes assentam num tanque e são recolhidas num frasco acoplado ao fundo. Tem como principais vantagens não causar lesões nem stress ao peixe e permitir a utilização de animais de qualquer idade ou tamanho. Obriga, no entanto, a utilizar tanques especiais e tem de ter-se em conta que há contacto entre as fezes e a água o que pode levar a riscos de separação do marcador (Amirkolaie *et al.*, 2005) e lixíviação dos nutrientes. A lixíviação é tanto maior quanto maior for o tempo de contacto entre as fezes e a água. Este problema é mais grave em relação aos

componentes hidro-solúveis das fezes como os aminoácidos livres, péptidos, proteínas hidro-solúveis, hidratos de carbono e minerais (Stone *et al.*, 2008).

O método da pressão abdominal tem como vantagem impedir a lixíviação dos nutrientes e dispensar a utilização de tanques específicos. No entanto, provoca stress nos peixes e pode dar origem a lesões nas paredes intestinais (Filho, 2005). Podem ocorrer contaminações por urina, sangue, esperma e mucosa intestinal (Amirkolaie *et al.*, 2005). As próprias mãos da pessoa que faz a colheita podem contaminar as fezes, pelo que este método obriga ao uso de luvas ou lavagem prévia com água corrente abundante (Glencross *et al.*, 2008). Pode recorrer-se ao uso de anestésicos para diminuir o stress dos animais, no entanto desta forma pode induzir-se a defecação espontânea, podendo ser recolhidas fezes ainda não totalmente digeridas levando a uma estimativa incorrecta de digestibilidade.

O método da dissecação tem as mesmas vantagens da pressão abdominal implicando no entanto sacrificar o peixe para recolher as fezes (Filho, 2005).

O sistema de Guelph baseia-se na utilização de uma câmara onde as fezes são separadas da água efluente. Consiste num circuito de tanques de formato cilindro-cónico, com um sistema de fornecimento de água contínuo e um orifício de cerca de um centímetro de diâmetro para escoamento no fundo. Todos os tanques drenam para um tubo comum que liga a uma câmara de recolha de fezes onde estas permanecem depositadas na extremidade inferior de uma coluna de água até ao momento da colecta (Abimorad & Carneiro, 2004). Neste método as fezes são depositadas no colector durante 8 a 16 horas antes da recolha. É possível que ocorra alguma lixíviação dos nutrientes solúveis durante este período. As fezes deverão ser recolhidas com a água circundante da base do colector por gravidade.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho teve como objectivo determinar, através de dois ensaios (crescimento e digestibilidade), o nível de substituição ideal de farinha de peixe por glúten de trigo em dietas para dourada.

Para tal, elaboraram-se cinco dietas isoproteicas (45% de proteína) para cada um dos ensaios (Figura 5), nas quais se foi substituindo gradualmente a farinha de peixe por glúten de trigo. Essas dietas foram designadas, segundo o seu nível de substituição por 0%, 20%, 40%, 60% e 80%.



**Figura 5** – **A**- Ração para o ensaio de digestibilidade (a cor verde deve-se á incorporação de óxido de crómio); **B**- Ração para o ensaio de crescimento

#### 3.1. MATÉRIAS-PRIMAS E RAÇÕES

As matérias-primas utilizadas nas diferentes dietas, bem como os seus níveis de incorporação, são apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7** – Composição das dietas testadas (valores em g)

<b>Composição</b>	<b>0%</b>	<b>20%</b>	<b>40%</b>	<b>60%</b>	<b>80%</b>
Farinha de peixe	2848,3	2276,9	1709,9	1138,4	571,4
Glúten de trigo	0	449,8	895,3	1345,1	1794,9
Dextrina	1032,0	1112,0	1188,0	1268,0	1340,0
Óleo de fígado de bacalhau	276,0	304,0	336,0	364,0	396,0
PREMIX® (vitaminas + minerais)	80,0	80,0	80,0	80,0	80,0
Alginato de sódio	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0
<b>Total</b>	<b>4276,3</b>	<b>4262,7</b>	<b>4249,2</b>	<b>4235,5</b>	<b>4222,3</b>

Nos dois ensaios, utilizou-se uma farinha de peixe de origem peruana da marca Pesquera Esmeralda S. A.®. O glúten de trigo, por seu lado, era de origem alemã, da empresa Cerestar®.

Estas matérias-primas foram amostradas para determinação da sua composição química (Tabela 8), do teor em aminoácidos (Tabela 9) e do valor calórico (Tabela 10). Os procedimentos usados para estas determinações encontram-se descritos mais à frente.

**Tabela 8** – Composição química das matérias-primas testadas

Composição química	Farinha de peixe	Glúten de trigo
Humidade (%)	9,7	9,3
Matéria seca (%)	90,3	90,7
Cinza (% MS)	18,6	1,4
Proteína (% MS)	69,9	88,5
Gordura (% MS)	8,0	2,6

**Tabela 9** – Composição em aminoácidos totais das matérias-primas testadas (g/100g proteína)

Aminoácido	Glúten de trigo	Farinha de peixe	Aminoácido	Glúten de trigo	Farinha de peixe
Ácido aspártico	2,2	5,7	Fenilalanina	3,6	2,6
Treonina	1,4	2,6	Lisina	0,9	5,0
Serina	2,5	2,4	Histidina	1,3	2,2
Ácido glutâmico	27,0	8,3	Glicina	2,5	4,2
Metionina	0,7	1,5	Alanina	1,8	4,0
Arginina	2,1	3,5	Valina	2,8	3,1
Isoleucina	2,4	2,6	Cistina/Cisteína	0,6	0,4
Leucina	5,1	4,8	Prolina	16,6	3,0
Tirosina	2,4	2,1			

**Nota:** Os resultados relativos aos aminoácidos cistina/cisteína e metionina estão afectados de um erro por defeito, devido à sua destruição parcial ou total durante a hidrólise ácida. O aminoácido triptofano é totalmente destruído durante a hidrólise ácida pelo que não foi possível a sua determinação.

**Tabela 10** – Valor calórico das matérias-primas testadas

	Farinha de peixe	Glúten de trigo
Valor calórico (kJ/gMS)	17,8	21,3

A composição das misturas mineral e vitamínica referenciadas na Tabela 7 encontram-se representadas, respectivamente, nas Tabelas 11 e 12.

**Tabela 11** – Composição da mistura mineral (declarada pelo fabricante – Premix LDA.®)

<b>Mineral</b>	<b>mg / Kg de Premix®</b>
Cobalto	40,0
Cobre	500,0
Ferro	4000,0
Flúor	100,0
Iodo	60,0
Magnésio	50000,0
Manganês	2000,0
Selénio	30,0
Zinco	3000,0
	<b>mg / 100mg de Premix®</b>
Cálcio	17,0
Fósforo	13,2
Potássio	6,0
NaCl	11,9

**Tabela 12** – Composição da mistura vitamínica (declarada pelo fabricante – Premix LDA.®)

<b>Vitamina</b>	<b>U.I. / Kg de Premix®</b>
A – Retinol	3000000,0
D3 – Calciferol	333333,0
	<b>mg / Kg de Premix®</b>
E – Alfa Tocoferol	16,7
K3 – Menadiona Na-Bis	3,3
B1 – Tiamina	2,5
B2 – Riboflavina	2,5
B3 – Pantotenato de Cálcio	6,7
B5 – Ácido nicotínico	23,3
B6 – Pirodixina	1,7
B9 – Ácido fólico	833,0
B12 – Cianocobalamina	8,3
H – Biotina	100,0
C – Ácido ascórbico	16,7
Inositol	50,0
Betaina	166,6
Cloreto de colina	500000,0

As rações foram preparadas no laboratório de nutrição do Departamento de Aquacultura (DAQ) do Instituto de Investigação das Pescas e do Mar (IPIMAR).

Após pesagem individual dos componentes das dietas, procedeu-se à sua mistura num misturador vertical (Figura 6-A) e de seguida à granulação num granulador Alexanderwerk® (Figura 6-B), utilizando o crivo de 2mm.



**Figura 6 – A- Misturador vertical; B - Granulador**

O glúten de trigo é muitas vezes utilizado como aglutinante no fabrico de rações para peixes. No presente ensaio optou-se por recorrer a outro produto para este efeito de modo a não interferir nos teores de glúten de trigo previamente calculados, evitando-se alterações nos resultados. Utilizou-se assim o outro aglutinante disponível, o alginato de sódio.

No processo de mistura foi adicionada água para dar a consistência necessária ao processo de granulação. Como tal, após este passo, tornou-se necessário proceder a uma secagem das dietas, secagem essa que se efectuou em estufa durante 24 horas a temperaturas compreendidas entre 45 e 50°C.

A cada uma das dietas do ensaio de digestibilidade foram adicionados 40g de óxido de crómio, cerca de 1% do peso total.

Em seguida, as rações foram armazenadas em câmara fria (cerca de 4°C) até serem utilizadas.

De cada dieta retirou-se uma amostra para determinação da composição química (Tabelas 13 e 14), do teor em aminoácidos (Tabela 15) e do valor calórico (Tabelas 16 e 17). Os procedimentos usados para estas determinações encontram-se descritos mais à frente.

**Tabela 13 – Composição química das dietas para o ensaio de crescimento**

Composição química	0%	20%	40%	60%	80%
Humidade (%)	5,9	6,5	7,2	6,9	8,2
Matéria seca (%)	94,1	93,5	92,8	93,1	91,8
Cinza (% MS)	13,2	11,0	8,6	6,3	3,9
Proteína (%MS)	45,9	45,3	45,0	44,0	42,7
Gordura (%MS)	11,8	11,7	10,8	9,6	6,8

**Tabela 14 – Composição química das dietas para o ensaio de digestibilidade**

Composição química	0%	20%	40%	60%	80%
Humidade (%)	5,2	5,5	6,0	6,6	6,3
Matéria seca (%)	94,8	94,5	94,0	93,4	93,7
Cinza (% MS)	14,6	13,1	10,0	7,9	4,9
Proteína (%MS)	46,3	45,4	45,0	44,0	43,0
Gordura (%MS)	11,8	11,4	10,4	9,2	7,8

**Tabela 15 – Composição em aminoácidos totais das dietas (g/100g proteína)**

Aminoácido	Dietas				
	0%	20%	40%	60%	80%
Ácido aspártico	3,8	3,6	3,5	3,7	4,0
Treonina	1,8	1,7	1,7	1,9	2,0
Serina	1,7	1,8	1,8	1,9	2,0
Ácido glutâmico	5,5	7,6	8,2	10,1	10,2
Metionina	1,2	1,2	1,2	1,3	1,3
Arginina	2,4	2,4	2,2	2,4	2,5
Isoleucina	1,8	1,9	1,9	2,0	1,8
Leucina	3,2	3,3	3,4	3,7	3,7
Tirosina	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8
Fenilalanina	1,7	1,9	2,0	2,1	2,3
Lisina	3,3	3,0	2,8	3,1	3,4
Histidina	1,5	1,4	1,4	1,4	1,4
Glicina	3,0	2,9	2,5	2,5	2,5
Alanina	2,7	2,6	2,3	2,5	2,6
Valina	2,1	2,2	2,2	2,3	2,5
Cistina/Cisteína	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6
Prolina	1,9	2,7	2,7	3,4	3,9

**Nota:** Os resultados relativos aos aminoácidos cistina/cisteína e metionina estão afectados de um erro por defeito, devido à sua destruição parcial ou total durante a hidrólise ácida. O aminoácido triptofano é totalmente destruído durante a hidrólise ácida pelo que não foi possível a sua determinação.

**Tabela 16 – Valor calórico das rações para o ensaio de crescimento**

	0%	20%	40%	60%	80%
Valor calórico (kJ/gMS)	17,5	18,0	19,2	19,7	19,8

**Tabela 17 – Valor calórico das rações para o ensaio de digestibilidade**

	<b>0%</b>	<b>20%</b>	<b>40%</b>	<b>60%</b>	<b>80%</b>
Valor calórico (kJ/gMS)	17,5	19,1	19,7	19,7	21,1

## **3.2. PROCEDIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA, VALOR CALÓRICO, TEOR EM AMINOÁCIDOS E ÓXIDO DE CRÓMIO DAS MATÉRIAS-PRIMAS E RAÇÕES**

### **3.2.1. Determinação da proteína bruta**

O teor em proteína bruta (N\*6,25) foi determinado pelo método de Kjeldhal em amostras de 2g ± 0,1g. O processo decorreu no Departamento de Inovação Tecnológica e de Valorização do Produto Pescado (DITVPP) do IPIMAR.

#### **3.2.1.1. Resumo do processo**

Digestão da amostra com ácido sulfúrico, alcalinização do extracto com hidróxido de sódio, destilação por arrastamento de vapor para libertação do amoníaco e sua recepção numa solução de ácido bórico seguida de titulação (IPIMAR/DITVPP, 2001).

#### **3.2.1.2. Modo operativo**

##### **3.2.1.2.1. Reagentes**

- Ácido sulfúrico concentrado
- Pastilhas Kjeltabs S/3,5
- Solução de hidróxido de sódio a 40% (m/v)
- Solução de ácido bórico a 1% (m/v) com indicador incorporado

- Solução de ácido clorídrico a 0,1N (IPIMAR/DITVPP, 2001).

#### **3.2.1.2.2. Aparelhos e utensílios**

- Tubos de Kjeldhal para a digestão
- Balões volumétricos de 200 ml
- Pipetas de vidro de 10 ml
- Aparelho para moer amostra (EQUIP/BRO 040)
- Balança sensível ao décimo de miligrama (EQUIP/BRO 069)
- Aparelho para digestão das amostras (EQUIP/BRO 050)
- Aparelho de destilação (EQUIP/BRO 020) (IPIMAR/DITVPP, 2001).

#### **3.2.1.2.3. Técnica**

- 1) Pesar 0,5g de polpa com o rigor de +/- 0,1 mg, para um tubo de Kjeldhal e juntar uma pastilha "Kjeltab".
- 2) Pesar 20ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado.
- 3) Colocar no aparelho Tecator para fazer a digestão. Deixar digerir até que a solução apresente cor laranja suave.
- 4) Deixar arrefecer um pouco.
- 5) Passar o conteúdo do tubo para balão volumétrico de 200ml com água destilada e só perfazer o volume quando a amostra estiver fria.
- 6) Passar para o tubo de Kjeldhal 10 ml e destilar seguindo as instruções do aparelho EQUIP/BRO 020 (IPIMAR/DITVPP, 2001).

#### **3.2.1.2.4. Resultado**

O resultado apresenta-se arredondado às décimas e é dado pela média aritmética de duas determinações paralelas efectuadas pelo mesmo analista (IPIMAR/DITVPP, 2001).

### **3.2.2. Determinação da gordura bruta**

A gordura bruta foi determinada por extracção contínua com éter etílico durante seis horas, num extractor de Soxhlet. A gordura foi determinada no DITVPP do IPIMAR.

#### **3.2.2.1. Resumo do processo**

Extracção da matéria gorda seca, pelo éter etílico. Eliminação do solvente por evaporação, secagem e pesagem do extracto (INRB, I.P. /L-IPIMAR U-VPPA, 2008).

#### **3.2.2.2. Modo operativo**

##### **3.2.2.2.1. Reagentes**

- Éter etílico
- Sulfato de sódio anidro (INRB, I.P. /L-IPIMAR U-VPPA, 2008).

##### **3.2.2.2.2. Aparelhos e utensílios**

- Aparelho de extracção continua
- Balança sensível a 0,1mg (EQUIP/BRO 069)
- Cartucho de extracção em papel de filtro isento de gordura
- Estufa eléctrica regulável (EQUIP/BRO 025)
- Exsiccador com desidratante eficaz
- Placa de aquecimento (EQUIP/BRO 010) (INRB, I.P. /L-IPIMAR U-VPPA, 2008).

### 3.2.2.2.3. Técnica

- 1) Pesar 10 a 50mg de amostra
- 2) Adicionar uma quantidade igual de sulfato de sódio anidro à toma para análise e transferir quantitativamente o cartucho de extracção arrastando todos os vestígios da toma com algodão humedecido em solvente de extracção que se introduz igualmente no cartucho. Tapar este com algodão e colocar no aparelho de extracção.
- 3) Após a extracção, retirar o balão e eliminar o solvente por evaporação numa placa de aquecimento a cerca de 35°C. Deixar evaporar os últimos vestígios do solvente utilizando, se necessário, uma corrente de ar.
- 4) Secar o balão que contém o extracto em estufa regulada a 103+/-2°C durante 1 hora. Após arrefecimento no exsiccador, pesar.
- 5) Repetir as operações de aquecimento, arrefecimento e pesagem até que os resultados de duas pesagens sucessivas não difiram em mais de 0,1% da massa da toma do ensaio. Devem efectuar-se pelo menos duas determinações da mesma amostra (INRB, I.P. /L-IPIMAR U-VPPA, 2008).

### 3.2.2.2.4. Resultado

O teor de matéria gorda livre, expresso em grama por 100g da amostra é igual a  $(m_2 - m_1) * 100 / m$ , sendo  $m$  a massa, em grama, da toma para análise,  $m_1$  a massa, em grama, do balão de extracção e  $m_2$  a massa, em grama, do balão de extracção com o extracto após eliminação do solvente.

O resultado apresenta-se arredondado às décimas e é dado pela média aritmética de duas determinações efectuadas pelo mesmo analista (INRB, I.P. /L-IPIMAR U-VPPA, 2008).

### **3.2.3. Determinação das cinzas**

As cinzas foram determinadas após incineração em mufla a 600 °C durante duas horas. Esta determinação foi feita no DITVPP do IPIMAR.

### **3.2.4. Determinação da humidade**

A humidade foi determinada por secagem em estufa a 105 °C ± 2°C durante uma noite. Esta determinação foi feita no DITVPP do IPIMAR.

### **3.2.5. Determinação do valor calórico**

A determinação do valor calórico das matérias-primas e das rações fez-se por combustão directa num calorímetro adiabático (PARR 1261) a uma pressão de oxigénio de 30 atmosferas. O valor calórico foi determinado no laboratório de nutrição do DAQ do IPIMAR.

### **3.2.6. Determinação dos aminoácidos totais**

Os aminoácidos totais foram determinados no DITVPP do IPIMAR pelo seguinte método: procedeu-se à hidrólise ácida das amostras em frascos Schott rolhados, com solução de ácido clorídrico (HCl) 6M, durante 24 horas numa estufa regulada à temperatura de 110°C. Após a hidrólise, as amostras ficaram a arrefecer à temperatura ambiente e o hidrolisado foi filtrado por seringa acoplada a um filtro de 0,45µm de porosidade. De seguida pipetou-se um volume certo que foi diluído, congelado e liofilizado. O resíduo liofilizado foi dissolvido em tampão citrato de lítio ( $\text{Li}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) e filtrou-se uma aliquota por seringa acoplada a um filtro de 0,2µm de porosidade para a determinação dos aminoácidos no analisador automático de cromatografia de troca iónica Biochrom 20®.

### 3.2.7. Determinação do óxido de crómio ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ )

O óxido de crómio ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) foi determinado na estação de Zoologia Marítima Dr. Augusto Nobre da Universidade do Porto, tendo sido utilizado o método de digestão ácida. As operações deste método devem ser levadas a cabo numa *hotte* e deve utilizar-se protecção para as mãos e visão dada a toxicidade dos ácidos nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) e perclórico ( $\text{HClO}_4$ ). Para além disso, o ácido perclórico quando em contacto com a matéria orgânica forma compostos instáveis explosivos.

O método de determinação do óxido de crómio por digestão ácida processou-se da seguinte forma:

1 – Pesaram-se, aproximadamente 40 mg de amostra com precisão de 0,1mg, para um tubo de Kjeldhal de 30 ml.

2 – Adicionaram-se a cada tubo, 5 ml de ácido nítrico concentrado.

3 – Colocaram-se os tubos na manta de aquecimento.

4 – Ligou-se a manta de aquecimento, deixando digerir (rodando o tubo de vez em quando de modo a evitar a deposição de partículas na parede) até evaporar quase tudo.

5 - Juntaram-se mais 5 ml de ácido nítrico, deixando digerir quase tudo.

6 – Juntaram-se 3 ml de ácido perclórico, deixando aquecer até a cor verde passar a amarelado (neste ponto, o  $\text{Cr}^{3+}$  é oxidado a  $\text{Cr}^{6+}$ ).

7 – Deixou-se aquecer durante mais dez minutos.

8 – Retiraram-se os balões do aquecimento e diluiu-se a amostra com água destilada, perfazendo 50 ml.

9 – Colocaram-se as soluções em cuvetes, tendo sido lida a absorvância a 350 nm num espectrofotómetro Jenway® 6100, usando água destilada como branco.

### 3.3. ENSAIO DE CRESCIMENTO

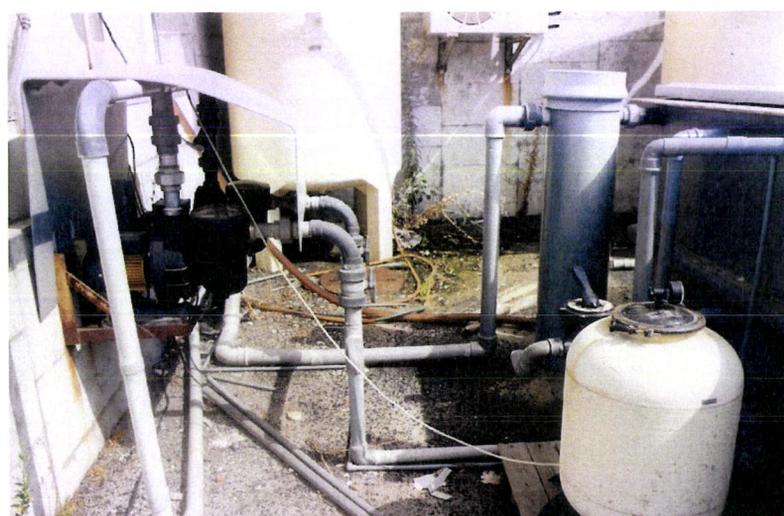
Para o ensaio de crescimento foram utilizados juvenis de dourada provenientes de uma piscicultura nacional localizada em Vila Nova de Milfontes (Viveiros Vilanova).

Após a transferência para as instalações do IPIMAR, os peixes passaram por um período de oito dias de adaptação às novas condições.

O ensaio de crescimento decorreu numa sala do DAQ do IPIMAR. Nesta sala encontram-se instalados doze tanques em fibra de vidro de 600 litros de capacidade funcionando em circuito fechado (Figuras 7 e 13). A água circulante é filtrada por um sistema composto por um filtro de areia, um filtro biológico e um sistema de membranas constituído por uma sequência de três esponjas de malha gradualmente reduzida (Figura 8).



**Figura 7** – Circuito de crescimento



**Figura 8** – Sistema de filtragem do circuito de crescimento

Durante todo o ensaio, a temperatura da água situou-se dentro do intervalo de crescimento óptimo para a dourada (18 a 26°C) (Santinha, 1997).

O oxigénio foi fornecido por um compressor, tendo sido distribuído pelos tanques através de pedras difusoras ligadas ao circuito de arejamento, tendo-se mantido sempre acima de 4 mg/l.

A salinidade da água também se manteve sempre dentro dos valores de referência para a espécie em causa (20 a 30‰), bem como o pH (7,2 a 8,3).

Antes de serem colocados nos tanques, os juvenis de dourada foram sujeitos a uma pesagem e uma triagem. Foram seleccionados os peixes com pesos compreendidos entre 10 e 18g, de modo a anular o factor tamanho como eventual variável não controlada do crescimento. Distribuíram-se então por dez tanques experimentais em número de 40 por tanque. Em cada dois tanques os peixes foram alimentados com uma das dietas a testar (duas réplicas por cada tratamento). No mesmo dia em que se colocaram os peixes nos tanques experimentais, retiraram-se 15 do lote comum, os quais foram sacrificados e congelados para análise química posterior.

Duas vezes ao dia, às 10:00 e às 17:00 horas respectivamente, o alimento era distribuído *ad libitum* com excepção do dia anterior às pesagens e do próprio dia das pesagens em que os peixes permaneciam em jejum. Diariamente era pesado e registado o consumo de alimento por tanque. Uma vez por semana registava-se a temperatura, o oxigénio dissolvido, o pH e a salinidade da água do circuito.

De três em três semanas procedia-se a uma mudança de cerca de metade da água do circuito de modo a reduzir os teores de compostos azotados, que ao fim deste tempo se encontram já em valores consideráveis.

De três em três semanas os peixes eram contados, pesados individualmente (Figura 9) e era registado o seu peso bem como o consumo de alimento por tanque.

O ensaio de crescimento teve a duração de 12 semanas. No fim, os peixes foram novamente contados e pesados individualmente, tendo sido registado o consumo de alimento durante o último período de três semanas, bem como o consumo durante toda a experiência. Foram sacrificados 5 peixes de cada um dos lotes para caracterização química corporal posterior e outros 5 para determinar os índices visceral, hepatossomático e rendimento da carcaça, de modo a verificar qual o grau de deposição energética no fígado e nas

vísceras dos animais. Foram imediatamente colocados em gelo (Figura 10), de modo a retardar o processo de degradação.



**Figura 9** – Pesagem individual dos peixes



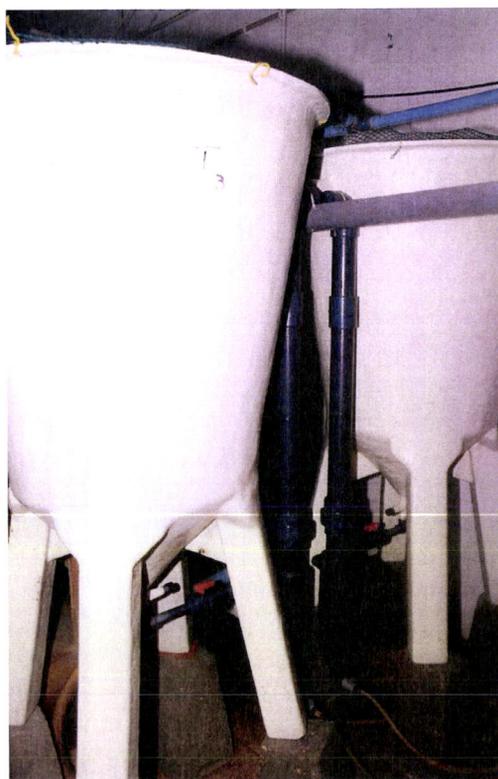
**Figura 10** – Peixes sacrificados e colocados em gelo para análise posterior

### 3.4. ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE

Para determinar a digestibilidade das dietas e das matérias-primas utilizadas foi utilizado o método indirecto com incorporação de um marcador inerte nos alimentos, o óxido de crómio ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ).

Utilizou-se um sistema de 6 tanques de 125 litros de capacidade cada, montados em circuito fechado (Figuras 11 e 13) e equipados com uma câmara de recolha de fezes, sistema este montado numa sala do DAQ do IPIMAR, a mesma em que se realizou o ensaio anterior.

Estes tanques são de formato cilíndrico, tendo no fundo um orifício de cerca de 1 cm de diâmetro que liga à câmara de recolha de fezes. Este sistema é conhecido por Guelph System (Cho *et al.*, 1982).



**Figura 11** – Tanques do circuito de digestibilidade

Para além dos tanques, o circuito consiste também de um sistema de filtragem constituído por um filtro de areia (Figura 12) e um filtro biológico.

Para as experiências de digestibilidade utilizaram-se cinco tanques, distribuindo 15 peixes por cada um, tendo a biomassa inicial por tanque sido de

aproximadamente 1300g. Cada um destes lotes era alimentado com uma das dietas a testar.



**Figura 12** – Filtro de areia do circuito de digestibilidade

Os peixes foram sujeitos a um período de oito dias de habituação às novas condições e ao novo alimento. Durante este período não se executou nenhuma tarefa relacionada com o ensaio.

Após este período, os peixes foram alimentados até à saciedade duas vezes ao dia (10:00 e 17:00 horas) com as dietas experimentais, durante um período de 11 dias. Trinta minutos após a refeição da tarde, as câmaras de recolha de fezes eram limpas de modo a evitar que se misturasse algum resto de alimento contaminando as fezes recolhidas. As fracções diárias de fezes recolhidas eram centrifugadas a 3500 R.P.M. durante 12 minutos, sendo congeladas até serem analisadas.

O ensaio consistiu de três períodos de recolha com a duração de 11 dias cada. Ao fim de cada um destes períodos fez-se uma rotação das dietas pelos tanques, da forma apresentada na Tabela 18. Após cada período e durante 3 dias, não se fazia recolha de fezes. Durante esta fase os peixes passavam por um período de habituação ao novo alimento.

**Tabela 18 – Organização e calendarização do ensaio de digestibilidade**

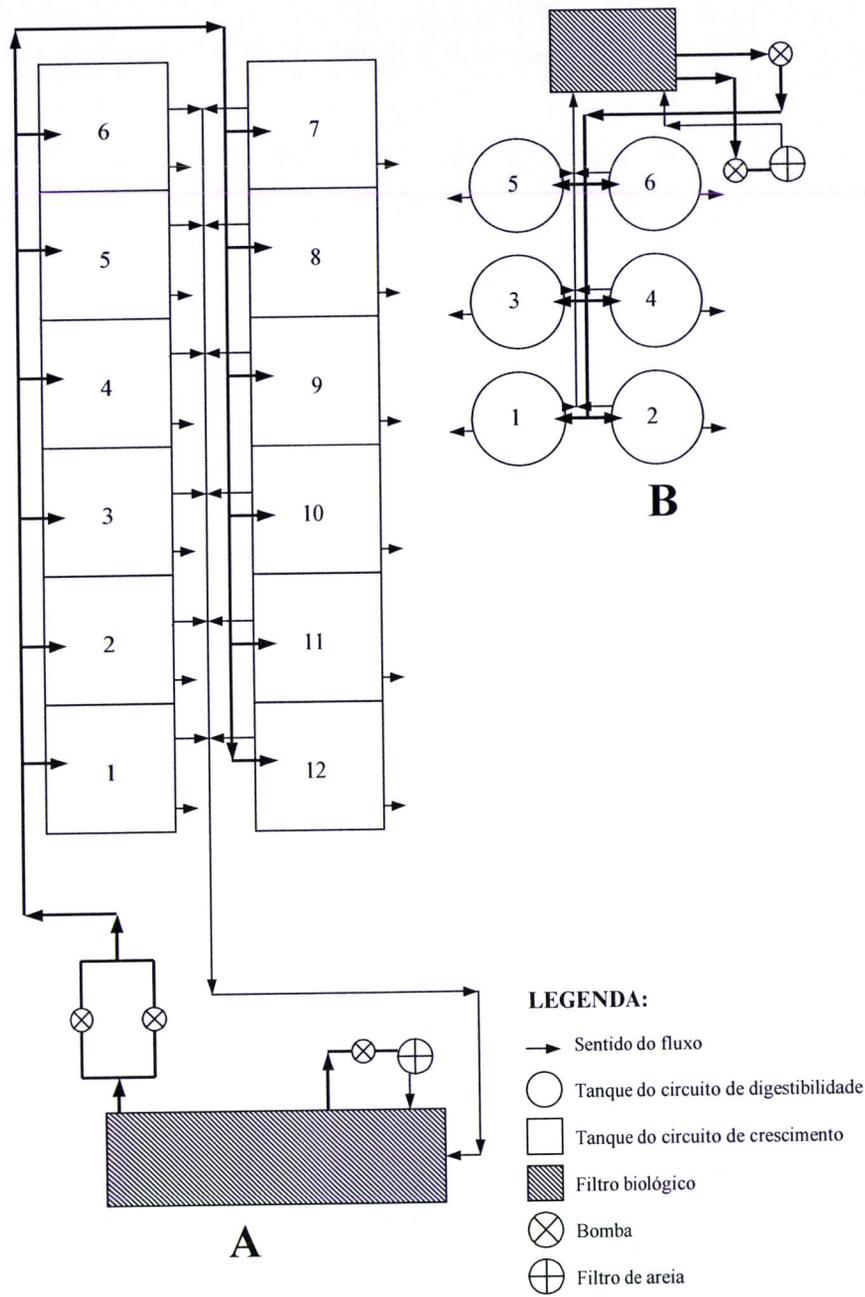
<b>Tanques</b>	<b>1º Período 7/10-17/10</b>	<b>Descanso 18/10-20/10</b>	<b>2º Período 21/10-31/10</b>	<b>Descanso 1/11-3/11</b>	<b>3º Período 4/11-14/11</b>
1	0%		80%		60%
2	20%		0%		80%
3	40%		20%		0%
4	60%		40%		20%
5	80%		60%		40%

Durante todo o ensaio, a temperatura da água situou-se dentro do intervalo de crescimento óptimo para a espécie (18 a 26°C) (Santinha, 1997). O oxigénio foi fornecido pelo mesmo compressor que fornecia o circuito do ensaio de crescimento, sendo distribuído pelos tanques através de pedras difusoras ligadas ao circuito de arejamento, tendo-se mantido sempre acima de 4 mg/l. A salinidade da água também se manteve sempre dentro dos valores de referência da espécie em causa (20 a 35‰), 1997), bem como o pH (7,2 a 8,3).

De cada vez que se iniciava um período de recolha era feita uma muda de quase toda a água do circuito, de modo a controlar a concentração de compostos azotados.

### **3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados foram tratados utilizando o programa informático “Statistica for Windows 5.0”. 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.



**Figura 13** – Esquema de funcionamento dos circuitos: **A** – Circuito de crescimento; **B** – Circuito de digestibilidade

## 4. RESULTADOS

### 4.1. PARÂMETROS DETERMINADOS

**IC** = Índice de Conversão Alimentar

$$= \frac{\text{alimento ingerido (g MS)}}{\text{ganho de peso fresco}}$$

**EA** = Eficiência Alimentar

$$= \frac{\text{ganho em peso corporal (g)}}{\text{consumo alimentar (g MS)}}$$

**ICE (%)** = Índice de Crescimento Específico

$$= \left[ \frac{(\ln \text{ pf} - \ln \text{ pi})}{t} \right] \times 100$$

pf = peso final ; pi = peso inicial ; t = tempo em dias

**CEP** = Coeficiente de Eficácia Proteica

$$= \frac{\text{ganho de peso fresco (g)}}{\text{proteína ingerida (g)}}$$

**GPD** = Ganho de Peso Diário

$$= \frac{\text{ganho de peso fresco}}{\text{peso inicial} \times t}$$

t = tempo em dias

**IH (%)** = Índice Hepatosomático

$$= \left( \frac{\text{peso do fígado}}{\text{peso do peixe inteiro}} \right) \times 100$$

**IV (%)** = Índice Visceral

$$= \left( \frac{\text{peso das vísceras}}{\text{peso do peixe inteiro}} \right) \times 100$$

**RC (%) = Rendimento da Carcaça**

$$= \left( \frac{\text{peso do peixe eviscerado}}{\text{peso do peixe inteiro}} \right) \times 100$$

**CUD (%) = Coeficiente de Utilização Digestiva:**

**Proteína =**

$$\left( \left[ 1 - \left( \frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ da dieta}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ das fezes}} \right) \times \left( \frac{\% \text{ de proteína da dieta}}{\% \text{ de proteína das fezes}} \right) \right] \right) \times 100$$

**Energia =**

$$\left( \left[ 1 - \left( \frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ da dieta}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ das fezes}} \right) \times \left( \frac{\% \text{ de energia da dieta}}{\% \text{ de energia das fezes}} \right) \right] \right) \times 100$$

**Matéria seca =**

$$\left[ 1 - \left( \frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ da dieta}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ das fezes}} \right) \right] \times 100$$

**Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = Teor em óxido de crómio da amostra:**

$$\text{(mg)} = \text{mg} / 100 \text{ ml}$$

$$= \frac{(Y - 0,0032)}{0,2089}$$

Y = densidade óptica a 350 nm

**(%) = % da amostra**

$$= \left( \frac{\text{Teor em óxido de crómio da amostra em mg}}{S} \right) \times 100$$

S = peso da amostra em mg

**RE (%) = Eficácia de Retenção Energética**

$$= \frac{\text{ganho de energia corporal}}{\text{energia ingerida}}$$

**EI = Energia Ingerida**

$$= \frac{\left[ \frac{(\text{consumo energético (g MS)})}{\left( \frac{(\text{peso final} + \text{peso inicial})}{2} \right)} \right]}{t}$$

t = tempo em dias

**ED = Energia Digestível**

= Energia ingerida × CUD<sub>a</sub> Energia

**EM = Energia Metabolizável**

= Energia digestível - (Proteína digestível - Proteína retida) × 24,9

**ER = Energia Retida**

$$= \frac{\left( \frac{(\text{Energia final} \times \text{Peso final} - \text{Energia inicial} \times \text{Peso inicial})}{(\text{Peso final} + \text{Peso inicial})} \right)}{2t}$$

t = tempo em dias

**PC = Produção de Calor**

= Energia metabolizável – Energia retida

**RA (%) = Eficácia de Retenção Azotada**

=  $\frac{\text{ganho de azoto corporal}}{\text{azoto ingerido}}$

**PI = Proteína Ingerida**

$$= \frac{\frac{\text{Consumo proteico (g MS)}}{\text{Peso final} + \text{Peso inicial}}}{2t}$$

t = tempo em dias

**PD = Proteína Digestível**  
 = Proteína ingerida × CUD<sub>a</sub> Proteína

**PR = Proteína Retida**

$$= \frac{\left( \frac{(\text{Proteína final} \times \text{Peso final} - \text{Proteína inicial} \times \text{Peso inicial})}{(\text{Peso final} + \text{Peso inicial})} \right)}{2}$$

t = tempo em dias

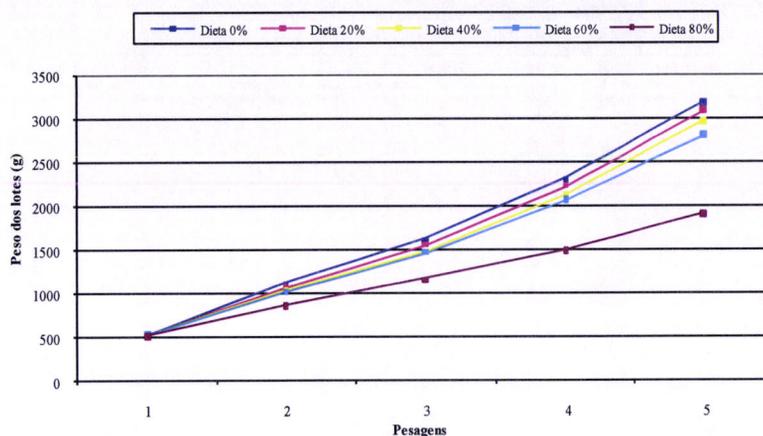
## 4.2. CRESCIMENTO, CONSUMO E EFICIÊNCIA ALIMENTAR

O peso médio final dos lotes de animais alimentados com a dieta 80% foi significativamente inferior ao peso médio final dos lotes alimentados com as restantes dietas, assim como o peso médio final dos lotes de animais alimentados com a dieta 60% foi significativamente inferior, comparativamente ao dos lotes alimentados com as dietas 0% e 20% (P<0,05) (Tabela 19). As curvas de crescimento obtidas durante este trabalho encontram-se representadas no gráfico da Figura 14.

**Tabela 19** – Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as cinco dietas ao longo do ensaio

<b>Pesagens</b>	<b>0%</b>	<b>20%</b>	<b>40%</b>	<b>60%</b>	<b>80%</b>
1 (5/7/99)	518,4 ± 1,4 <sup>a</sup>	522,2 ± 27,4 <sup>a</sup>	517,5 ± 25,8 <sup>a</sup>	530,6 ± 3,5 <sup>a</sup>	515,7 ± 1,0 <sup>a</sup>
2 (26/7/99)	1123,4 ± 5,2 <sup>a</sup>	1071,2 ± 43,1 <sup>ab</sup>	1046,7 ± 14,4 <sup>b</sup>	1023,0 ± 7,6 <sup>b</sup>	870,9 ± 25,9 <sup>c</sup>
3 (16/8/99)	1621,3 ± 54,4 <sup>a</sup>	1555,6 ± 19,1 <sup>ab</sup>	1482,9 ± 8,3 <sup>ab</sup>	1476,6 ± 38,6 <sup>b</sup>	1162,8 ± 0,2 <sup>c</sup>
4 (6/9/99)	2317,7 ± 120,8 <sup>a</sup>	2231,9 ± 52,0 <sup>ab</sup>	2135,4 ± 20,3 <sup>bc</sup>	2070,8 ± 11,0 <sup>c</sup>	1491,8 ± 8,1 <sup>d</sup>
5 (27/9/99)	3200,7 ± 171,3 <sup>a</sup>	3096,2 ± 55,2 <sup>a</sup>	2971,5 ± 46,8 <sup>ab</sup>	2815,4 ± 43,5 <sup>b</sup>	1911,9 ± 55,4 <sup>c</sup>

**Nota:** Valores situados na mesma linha com expoentes diferentes são estatisticamente diferentes entre si (P<0,05)



**Figura 14** - Evolução do peso médio das douradas alimentadas com as cinco dietas ao longo do ensaio

A taxa de mortalidade do ensaio de digestibilidade foi de 7,5%, tendo a do ensaio de crescimento sido nula.

A ingestão de matéria seca foi significativamente inferior nos animais alimentados com a dieta 80%, tendo os animais alimentados com as restantes dietas apresentado valores muito idênticos (Tabela 20).

Em termos de índice de conversão e eficiência alimentar, registaram-se diferenças significativas entre os lotes alimentados com as quatro primeiras dietas e os lotes alimentados com a dieta 80%, tendo estes valores sido mais desfavoráveis nos lotes alimentados com a dieta 80% (Tabela 20).

Em relação ao coeficiente de eficácia proteica, o valor apresentado pelos animais alimentados com a dieta 80% foi significativamente inferior aos restantes, sendo que estes apresentaram valores muito semelhantes ( $P < 0,05$ ) (Tabela 20).

O ganho de peso diário dos animais alimentados com a dieta 80% foi significativamente inferior quando comparado com os animais alimentados com as restantes dietas, assim como o ganho de peso diário dos animais alimentados com a dieta 0% foi significativamente superior ao dos animais alimentados com a dieta 60% ( $P < 0,05$ ) (Tabela 20).

O índice de crescimento específico obedeceu ao mesmo critério do parâmetro anterior, apresentando um valor significativamente inferior para os

animais alimentados com a dieta 80% em relação aos animais alimentados com as dietas restantes ( $P < 0,05$ ) (Tabela 20).

**Tabela 20** – Consumo e eficiência alimentar das douradas alimentadas com as dietas experimentais

	0%	20%	40%	60%	80%
Ingestão de MS (g)	3021,2±122,4 <sup>a</sup>	2887,7±36,0 <sup>ab</sup>	2750,1±15,3 <sup>ab</sup>	2690,8±83,7 <sup>b</sup>	1649,3±42,4 <sup>c</sup>
Ingestão de MS (g/dia)	36,0±1,4 <sup>a</sup>	34,4±0,4 <sup>ab</sup>	32,7±0,1 <sup>ab</sup>	32,0±1,0 <sup>b</sup>	23,2±0,5 <sup>c</sup>
Índice de conversão	1,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,4 ± 0,0 <sup>b</sup>
Eficiência alimentar	0,9 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,0 <sup>b</sup>
Coefficiente de eficácia proteica	1,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,0 <sup>a</sup>	1,7 ± 0,0 <sup>b</sup>
Ganho de peso diário	61,6 ± 4,1 <sup>a</sup>	58,7 ± 2,5 <sup>ab</sup>	56,5 ± 2,3 <sup>ab</sup>	51,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	32,2 ± 1,4 <sup>c</sup>
Índice de crescimento específico	2,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,0 <sup>ab</sup>	2,0 ± 0,0 <sup>ab</sup>	2,0 ± 0,0 <sup>ab</sup>	1,6 ± 0,0 <sup>c</sup>

**Nota:** Valores situados na mesma linha com expoentes diferentes são estatisticamente diferentes entre si ( $P < 0,05$ )

### 4.3. CONDIÇÃO CORPORAL, ÍNDICE HEPATOSSOMÁTICO, ÍNDICE VISCERAL E RENDIMENTO DA CARÇAÇA

A composição proteica das carcaças diminuiu em relação ao início do ensaio, tendo a maior diferença sido verificada nos animais alimentados com a dieta 80% (Tabela 21).

Durante o ensaio verificou-se um aumento no teor lipídico das carcaças especialmente nos animais alimentados com a dieta 80%, tendo esse valor sido significativamente superior ao do grupo alimentado com a dieta 40% ( $P < 0,05$ ) (Tabela 21).

A composição final em cinzas e humidade das carcaças diminuiu em relação ao início do ensaio, tendo estes valores sido praticamente iguais para os animais alimentados com as cinco dietas (Tabela 21).

O valor calórico das carcaças aumentou em todos os animais. Este valor foi ligeiramente superior nos animais alimentados com a dieta 80%, apesar de não terem existido diferenças significativas entre as dietas ( $P > 0,05$ ) (Tabela 21).

O índice hepatossomático diminuiu em todos os animais, excepto naqueles alimentados com a dieta 80%, em que foi significativamente superior ao dos outros grupos ( $P < 0,05$ ) (Tabela 21).

O índice visceral final apresentou valores mais baixos do que o inicial em todos os animais, tendo a menor diminuição sido verificada nos animais alimentados com a dieta 80%, tendo esta sido estatisticamente diferente das outras ( $P < 0,05$ ) (Tabela 21).

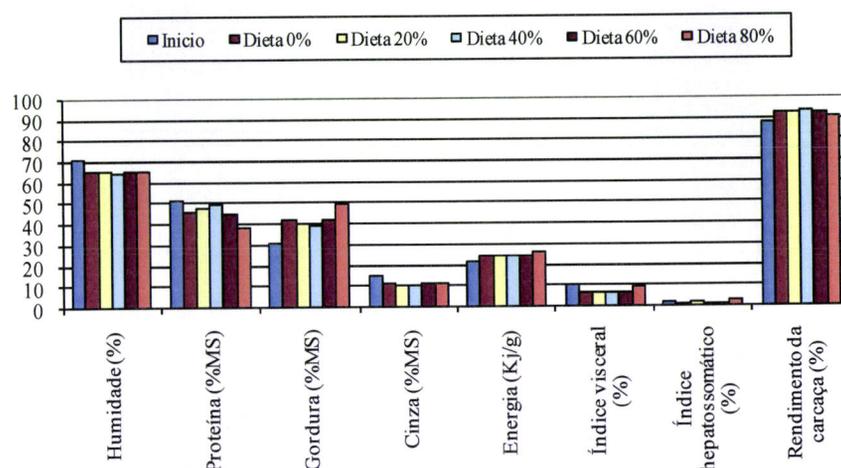
Relativamente ao rendimento da carcaça, todos os animais apresentaram no final um valor superior ao inicial, tendo o valor mais baixo sido observado nos animais alimentados com a dieta 80%, tendo este sido significativamente inferior aos outros ( $P < 0,05$ ) (Tabela 21).

Os valores relativos à condição corporal, índice hepatossomático, índice visceral e rendimento da carcaça encontram-se representados no gráfico da Figura 15.

**Tabela 21** – Condição corporal, índice hepatossomático, índice visceral e rendimento da carcaça das douradas alimentadas com as dietas experimentais

Dietas	Início		Final				
		0%	20%	40%	60%	80%	
Humidade (%)	70,9	65,1 ± 0,8 <sup>ab</sup>	65,4 ± 0,4 <sup>ab</sup>	64,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	65,2 ± 0,2 <sup>bc</sup>	65,7 ± 0,4 <sup>c</sup>	
Proteína (%MS)	51,2	45,6 ± 7,6 <sup>a</sup>	47,5 ± 1,3 <sup>a</sup>	49,4 ± 0,0 <sup>a</sup>	44,8 ± 0,6 <sup>a</sup>	38,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	
Gordura (%MS)	31,3	42,2 ± 5,1 <sup>ab</sup>	40,4 ± 1,6 <sup>ab</sup>	38,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	42,2 ± 0,0 <sup>ab</sup>	49,4 ± 0,4 <sup>b</sup>	
Cinza (%MS)	15,1	11,1 ± 2,1 <sup>a</sup>	10,3 ± 0,4 <sup>a</sup>	10,4 ± 0,6 <sup>a</sup>	11,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	11,3 ± 1,0 <sup>a</sup>	
Energia (kJ/gMS)	21,2	24,0 ± 0,5 <sup>a</sup>	24,2 ± 1,3 <sup>a</sup>	24,3 ± 0,4 <sup>a</sup>	24,2 ± 1,1 <sup>a</sup>	25,8 ± 0,2 <sup>a</sup>	
Índice visceral (%)	10,0 ± 0,9	6,6 ± 0,4 <sup>a</sup>	6,5 ± 0,4 <sup>a</sup>	6,1 ± 0,6 <sup>a</sup>	6,6 ± 0,4 <sup>a</sup>	8,9 ± 0,0 <sup>b</sup>	
Índice hepatossomático (%)	2,0 ± 0,6	1,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	1,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,8 ± 0,0 <sup>b</sup>	
Rendimento da carcaça (%)	87,4 ± 0,9	92,8 ± 0,6 <sup>a</sup>	92,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	93,1 ± 0,3 <sup>a</sup>	92,6 ± 0,6 <sup>a</sup>	90,4 ± 0,1 <sup>b</sup>	

**Nota:** Valores situados na mesma linha com expoentes diferentes são estatisticamente diferentes entre si ( $P < 0,05$ )



**Figura 15** – Condição corporal, índice hepatossomático, índice visceral e rendimento da carcaça das douradas alimentadas com as dietas experimentais

#### 4.4. COEFICIENTES DE UTILIZAÇÃO DIGESTIVA

Os coeficientes de utilização digestiva da matéria seca, da proteína e da energia foram aumentando à medida que se aumentou o grau de substituição das dietas (Tabela 22 e Figura 16).

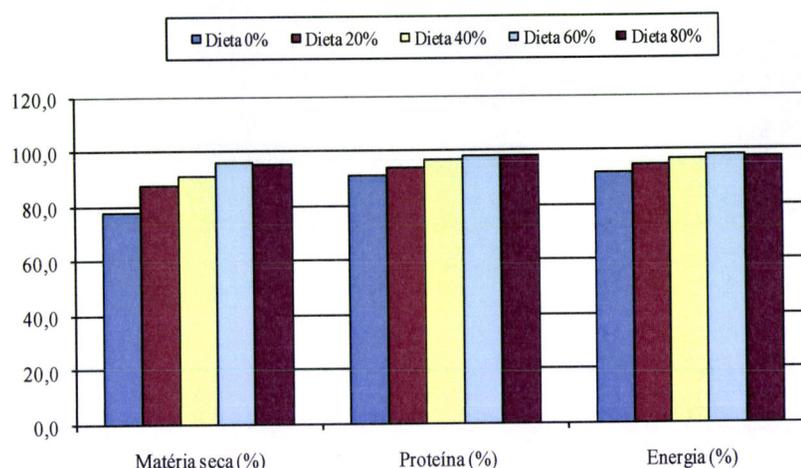
Os resultados dos coeficientes de utilização digestiva da matéria seca dos animais alimentados com as dietas 60% e 80% foram significativamente superiores comparativamente com os resultados da dieta 0% ( $P < 0,05$ ). Os valores dos grupos das dietas 20% e 40% foram significativamente superiores aos apresentados pelo grupo da dieta 0% ( $P < 0,05$ ), e significativamente inferiores aos dos grupos alimentados com as dietas 60% e 80% ( $P < 0,05$ ).

Os coeficientes de utilização digestiva da proteína e da energia apresentaram diferenças significativas entre si ( $P < 0,05$ ). Os valores dos grupos das dietas 60% e 80% foram significativamente superiores aos das dietas 0% e 20%.

**Tabela 22** - Coeficientes de utilização digestiva aparente dos componentes das dietas

	0%	20%	40%	60%	80%
Matéria seca	78,1 ± 1,6 <sup>a</sup>	87,7 ± 2,5 <sup>b</sup>	91,2 ± 2,2 <sup>b</sup>	95,8 ± 0,3 <sup>c</sup>	95,1 ± 0,2 <sup>c</sup>
Proteína	91,0 ± 1,1 <sup>a</sup>	94,1 ± 1,9 <sup>ab</sup>	96,5 ± 0,9 <sup>bc</sup>	98,3 ± 0,6 <sup>c</sup>	98,2 ± 0,4 <sup>c</sup>
Energia	91,8 ± 0,9 <sup>a</sup>	94,5 ± 1,7 <sup>ab</sup>	96,5 ± 0,8 <sup>bc</sup>	98,0 ± 0,5 <sup>c</sup>	97,2 ± 0,3 <sup>c</sup>

**Nota:** Valores situados na mesma linha com expoentes diferentes são estatisticamente diferentes entre si ( $P < 0,05$ )



**Figura 16** - Coeficientes de utilização digestiva aparente dos componentes das dietas

#### 4.5. BALANÇOS AZOTADOS E ENERGÉTICOS

Os valores relativos à ingestão de proteína diminuíram com o aumento do nível de substituição de farinha de peixe por glúten de trigo, tendo o da dieta 0% sido significativamente superior ao da dieta 80% ( $P < 0,05$ ) (Tabela 23 e Figura 17).

A proteína digestível foi superior com a dieta 60%, tendo-se verificado um aumento gradual deste valor com o aumento do nível de substituição até 60% e uma descida ligeira com a dieta 80%, não tendo, no entanto, havido diferenças significativas entre dietas ( $P > 0,05$ ) (Tabela 23 e Figura 17).

Relativamente à proteína retida, com a dieta 20% atingiu-se o valor mais alto, tendo diminuído então gradualmente com o aumento do nível de substituição. Estes valores são confirmados pelos da eficácia de retenção azotada, que evoluíram de modo semelhante, sem diferenças significativas entre si ( $P > 0,05$ ) (Tabela 23).

A ingestão energética aumentou à medida que aumentou o grau de substituição. Os valores dos grupos das dietas 60% e 80% foram significativamente superiores aos do grupo da dieta 0% ( $P < 0,05$ ) (Tabela 23 e Figura 17).

A energia digestível aumentou com o aumento do nível de substituição até 60%, tendo-se mantido idêntica à da dieta 80% e apresentando um valor significativamente superior ao das dietas 0% e 20% ( $P < 0,05$ ) (Tabela 23 e Figura 17).

A energia metabolizável aumentou significativamente com o aumento do grau de substituição, mas apresentou um valor mais baixo com a dieta 80%, valor esse muito idêntico ao da dieta 40% (Tabela 23 e Figura 17).

O mesmo se passou com a produção de calor, tendo os valores das dietas 40% e 60% sido significativamente superiores aos da dieta 0% ( $P < 0,05$ ) (Tabela 23 e Figura 17).

A energia retida manteve-se sem diferenças significativas entre todos os grupos ( $P < 0,05$ ) (Tabela 23 e Figura 17).

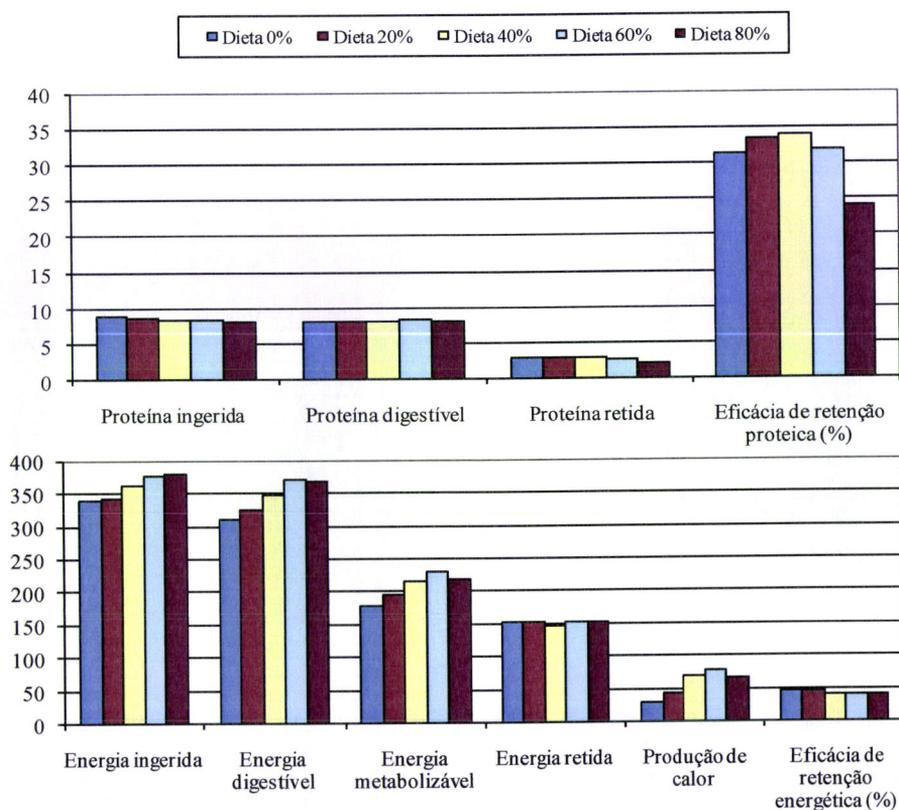
A eficácia de retenção energética diminuiu com o aumento do nível de substituição, tendo os grupos das dietas 0% e 20%, apresentado valores

significativamente superiores aos dos outros grupos ( $P < 0,05$ ) (Tabela 23 e Figura 17).

**Tabela 23** – Balanços azotados e energéticos e respectivas eficácias de retenção (PCM = Peso corporal médio)

	0%	20%	40%	60%	80%
<b>Balanço azotado (g/Kg PCM/dia)</b>					
Proteína ingerida	8,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	8,6 ± 0,1 <sup>ab</sup>	8,5 ± 0,2 <sup>ab</sup>	8,4 ± 0,1 <sup>ab</sup>	8,2 ± 0,0 <sup>b</sup>
Proteína digestível	8,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	8,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	8,2 ± 0,2 <sup>a</sup>	8,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>a</sup>
Proteína retida	2,8 ± 0,7 <sup>a</sup>	2,9 ± 0,0 <sup>a</sup>	2,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,1 <sup>a</sup>
Eficácia de retenção proteica (%)	31,3 ± 7,7 <sup>a</sup>	33,6 ± 0,6 <sup>a</sup>	33,9 ± 1,5 <sup>a</sup>	31,9 ± 1,1 <sup>a</sup>	24,2 ± 0,6 <sup>a</sup>
<b>Balanço energético (kJ/Kg PCM/dia)</b>					
Energia ingerida	338,7 ± 1,8 <sup>a</sup>	342,5 ± 3,6 <sup>ab</sup>	360,7 ± 9,5 <sup>bc</sup>	377,1 ± 6,4 <sup>c</sup>	378,7 ± 0,2 <sup>c</sup>
Energia digestível	310,9 ± 1,6 <sup>a</sup>	323,7 ± 3,4 <sup>a</sup>	348,1 ± 9,2 <sup>b</sup>	369,5 ± 6,3 <sup>c</sup>	368,1 ± 0,2 <sup>bc</sup>
Energia metabolizável	178,8 ± 16,2 <sup>a</sup>	193,9 ± 0,6 <sup>ab</sup>	216,3 ± 2,5 <sup>bc</sup>	230,1 ± 1,6 <sup>c</sup>	217,6 ± 1,1 <sup>bc</sup>
Energia retida	151,2 ± 2,3 <sup>a</sup>	151,9 ± 1,5 <sup>a</sup>	147,1 ± 1,5 <sup>a</sup>	152,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	151,6 ± 2,0 <sup>a</sup>
Produção de calor	27,6 ± 13,8 <sup>a</sup>	42,0 ± 0,9 <sup>ab</sup>	69,2 ± 1,0 <sup>c</sup>	78,1 ± 1,2 <sup>c</sup>	66,1 ± 0,8 <sup>bc</sup>
Eficácia de retenção energética (%)	44,7 ± 0,4 <sup>a</sup>	44,5 ± 0,0 <sup>a</sup>	40,7 ± 0,8 <sup>b</sup>	40,5 ± 0,0 <sup>b</sup>	40,1 ± 0,6 <sup>b</sup>

**Nota:** Valores situados na mesma linha com expoentes diferentes são estatisticamente diferentes entre si ( $P < 0,05$ )



**Figura 17** – Balanços azotados e energéticos e respectivas eficácias de retenção

## 5. DISCUSSÃO

O glúten de trigo é uma matéria-prima interessante como fonte proteica alternativa à farinha de peixe. Para a sua obtenção, o trigo é sujeito a um processamento tecnológico que faz com que a sua proteína e alguns dos seus aminoácidos se tornem altamente digestíveis (Helland & Helland, 2006).

No ensaio de digestibilidade realizado comprovou-se o acima referido. Os peixes alimentados com dietas mais ricas em glúten de trigo apresentaram coeficientes de utilização digestiva superiores aos alimentados com a dieta 0%, atingindo valores próximos dos 98% quer para o coeficiente de utilização digestiva da proteína quer para o da energia.

Os resultados obtidos estão de acordo com as conclusões de Robaina (1995). Num estudo comparativo entre várias matérias-primas em alimentação de dourada, os valores mais elevados de digestibilidade foram obtidos com o glúten de milho. Este autor, citando outros (Hastings, 1966; Cho *et al.*, 1982; Anderson *et al.*, 1992; Moyano, 1992; Morales, 1993), corrobora a alta digestibilidade das proteínas de glúten em várias espécies piscícolas.

Davies *et al.* (1997), num estudo efectuado em nutrição de truta arco-íris com dietas à base de glúten de trigo suplementadas com lisina e metionina, obtiveram valores de 97% para o coeficiente de utilização digestiva da proteína e 84% para o da energia. A lisina é o aminoácido limitante do glúten de trigo (Storebakken *et al.*, 2000). Estes autores referem que ao utilizar dietas em que grande parte da proteína provém do glúten de trigo, as rações devem ser sempre suplementadas com lisina.

Sugiura *et al.* (1998), num ensaio em que testaram várias matérias-primas de origem vegetal em dietas para salmonídeos, verificaram que o glúten de trigo foi de todas elas a que apresentou valores maiores para os coeficientes de utilização digestiva. A matéria seca apresentou valores na ordem dos 86% e a proteína na ordem dos 98%.

De acordo com Storebakken *et al.* (2000), em dietas para salmão cuja única fonte proteica é o glúten de trigo, a digestibilidade de muitos aminoácidos é de 100%. Estes autores verificaram que a digestibilidade da proteína aumenta proporcionalmente ao aumento da substituição de farinha de peixe por glúten de trigo.

Num ensaio levado a cabo por Allan *et al.* (2000) em que foi testada a digestibilidade aparente de algumas matérias-primas em dietas para bacalhau, os resultados revelaram para o glúten de trigo, coeficientes de utilização digestiva de 100% para a proteína e de 95% para a energia. A desvantagem destas matérias-primas relativamente à farinha de peixe é a de que os seus perfis de aminoácidos essenciais e respectivas disponibilidades são inferiores. Estes autores referem que com um tão elevado grau de digestibilidade, não revelando muitos problemas ao nível de factores-antinutricionais e não sendo a pior matéria-prima de origem vegetal no que concerne a palatabilidade, o glúten de trigo desde que devidamente suplementado com aminoácidos, é uma matéria-prima de elevado potencial para a alimentação piscícola. De acordo com os mesmos autores, em termos de digestibilidade a utilização de glúten de trigo em dietas para salmão provou não só ser equivalente à farinha de peixe, como em muitos casos superior à utilização da farinha de peixe isolada. No presente trabalho verificou-se também este facto. Os coeficientes de utilização digestiva aparente da dieta 80% foram superiores ao da dieta 0%.

Os resultados obtidos por Arnesen & Krogdahl (1993) e Santinha *et al.* (1996) em trabalhos experimentais levados a cabo em salmão e dourada respectivamente, demonstraram que o tratamento tecnológico que origina o glúten de trigo altera efectivamente os coeficientes de utilização digestiva dos nutrientes deste cereal. Nestes dois ensaios os valores de digestibilidade diminuíram com o aumento do nível de substituição de farinha de peixe por dietas à base de trigo sujeito a diferentes processos tecnológicos, sendo que o processamento tecnológico para obtenção de glúten não foi considerado.

Também Allan *et al.* (2000) concordam que as diferenças dos valores de digestibilidade se podem atribuir ao processamento a que a matéria-prima ou dieta é sujeita.

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 proporcionou uma melhoria da utilização dos hidratos de carbono presentes no cereal.

A extracção ou a redução dos hidratos de carbono do glúten de trigo resulta num aumento de digestibilidade da matéria seca e da energia da dieta assim como numa redução dos factores anti-nutricionais (Davies *et al.*, 1997).

No presente trabalho, o facto de a farinha de peixe utilizada ter sido de qualidade média enquanto o glúten de trigo era de qualidade elevada pode ter sido uma hipótese para os bons resultados de digestibilidade obtidos. O glúten de trigo apresentava um teor proteico superior ao da farinha de peixe.

Alguns autores apontam as diferenças que existem entre os sistemas digestivos das espécies, como possibilidade para a divergência de resultados de digestibilidade entre ensaios semelhantes (Yamamoto *et al.*, 1998). O nível de resultados com a substituição de farinha de peixe por fontes proteicas de origem vegetal é muito variável de espécie para espécie (Gómez-Requeni *et al.*, 2004).

Relacionando directamente a utilização digestiva com os níveis de ingestão dos animais, constata-se que esta diminui nas dietas mais ricas em glúten de trigo enquanto a utilização digestiva aumenta. Gómez-Requeni *et al.* (2004) reforçam a constatação relativa aos níveis de ingestão ao afirmarem que a incorporação de fontes proteicas de origem vegetal leva a uma redução da ingestão voluntária por parte da dourada. Esta relação inversa (utilização digestiva / ingestão) poderá dever-se ao facto de que o processo digestivo dos animais com níveis de ingestão inferiores seja mais eficaz, uma vez que uma menor quantidade de alimento está sujeita aos mesmos efeitos físicos, químicos e biológicos do processo digestivo. Robaina (1995) no entanto, não concorda totalmente com esta hipótese. Segundo o autor, são muitos os estudos que mostram a independência dos valores de digestibilidade da proteína em relação aos da ingestão do mesmo nutriente.

Em termos de balanço azotado, verificou-se uma diminuição nos valores de proteína ingerida com o aumento do nível de substituição de farinha de peixe por glúten de trigo, o que está de acordo com a evolução dos níveis de ingestão.

Em relação à proteína digestível, não se verificaram diferenças significativas entre os diferentes regimes ( $P > 0,05$ ), o mesmo se tendo observado para a proteína retida. No entanto, estes valores aumentaram de forma não significativa até 60% e 40% respectivamente, tornando-se depois constantes, demonstrando a boa qualidade proteica das dietas.

A eficácia de retenção proteica também não se revelou estatisticamente diferente entre grupos ( $P > 0,05$ ), tendo-se verificado no entanto, um

agravamento não significativo no regime alimentar com o nível máximo testado. Esta indicação é suportada por Hofer & Sturmbauer (1985), Sturmbauer & Hofer (1986), Robaina (1995) e Al-Ogaily *et al.* (1996), que referem que a retenção proteica pode ser diminuída pela presença de quantidades elevadas de hidratos de carbono, típica das dietas constituídas por cereais.

No que se refere à ingestão de energia bruta, digestível e metabolizável, a análise do balanço energético permite constatar a superioridade da dieta 80%, embora a ingestão de matéria seca tenha sido mais baixa neste regime, uma vez que o glúten de trigo apresentava uma concentração energética consideravelmente superior à da farinha de peixe.

Embora se tenha registado um aumento do consumo energético no regime 80%, constata-se a ausência de diferenças significativas no que respeita à energia retida. Esta verificação resulta do facto de a energia consumida no regime 80% ter sido fortemente mobilizada para a deposição de gordura. A síntese de lípidos a partir de glúcidos encontra-se normalmente associada a um aumento dos requisitos energéticos uma vez que este processo é mais dispendioso energeticamente do que a deposição de lípidos resultantes da utilização dos ácidos gordos absorvidos (Gomes, 1999).

Burel *et al.* (1998) realizaram um ensaio em que testaram quatro dietas com diferentes níveis de incorporação de tremço extrudido em substituição de farinha de peixe, em dietas para truta arco-íris. Verificaram que em termos de eficácia de retenção proteica e energética os valores mais favoráveis foram atingidos entre os 30 e os 50% de substituição. Num outro ensaio, Pereira (2003) verificou que com o aumento da incorporação de glúten de milho (em substituição gradual de farinha de peixe) em dietas para dourada, os valores relativos à eficácia de retenção proteica e energética aumentaram proporcionalmente à incorporação. Apenas com 80% de substituição (nível máximo) foram mais baixos. No presente trabalho, as dietas 40%, 60% e 80% apresentaram uma eficiência de retenção energética mais baixa do que as dietas 0% e 20%. Nas primeiras, a relação proteína/energia poderá ter sido menos favorável para a dourada ou o aumento de hidratos de carbono terá contribuído para um decréscimo do crescimento e da eficácia de utilização dos nutrientes (Viola & Arieli, 1983; Kaushik & Oliva Teles, 1985). Esta situação poderá também dever-se ao facto de que nos animais alimentados com estas

dietas a ingestão proteica foi inferior, tendo os animais utilizado a energia das dietas como fonte energética em vez da proteína. A ingestão de matéria seca dos animais alimentados com a dieta 80% foi significativamente inferior à dos animais alimentados com as restantes dietas ( $P < 0,05$ ), tendo-se verificado que os níveis de ingestão diminuíram com o aumento do nível de substituição de farinha de peixe por glúten de trigo.

Santinha (1997) mostrou que a taxa de ingestão voluntária em douradas alimentadas com dietas mais pobres em proteína é superior, indicando que esta espécie consome maiores quantidades de matéria seca tendo em vista ajustar a quantidade de proteína ingerida às suas necessidades.

Admitindo, de acordo com o acima referido, que a variação quantitativa do regime proteico afecta a ingestão, no presente trabalho ocorreram diferenças de consumo alimentar sem ter havido variação quantitativa na componente proteica das dietas. O próprio valor biológico da proteína administrada nas cinco dietas é semelhante, como se pode observar na Tabela 14.

Como já referido, no presente trabalho a ingestão de matéria seca diminuiu com o aumento do nível de substituição de farinha de peixe por glúten de trigo, podendo presumir-se que a ocorrência de alguns factores anti-nutritivos no glúten de trigo possa ter tido alguma influência nos níveis de ingestão voluntária dos animais. No caso dos cereais e seus derivados, grupo onde se inclui o glúten de trigo, é frequente encontrar valores elevados de taninos e alcalóides (Gomes, 1991), sendo estes factores responsáveis por uma diminuição da palatabilidade dos alimentos, com efeitos prejudiciais ao nível da ingestão. Gómez-Requeni *et al.* (2004) referem que para além das questões já referidas relacionadas com factores anti-nutricionais, também o mau balanceamento de aminoácidos pode originar deficiências ao nível da ingestão voluntária.

Os índices de conversão atingidos neste ensaio foram bastante positivos. No entanto, o valor apresentado pelas douradas alimentadas com a dieta 80% (1,4) foi maior que o apresentado pelos animais alimentados com as restantes dietas (1,1 a 1,2). Estes valores encontram-se dentro do intervalo de valores de índice de conversão obtidos por Santinha (1997) num ensaio de alimentação de douradas com glúten de milho, tendo este verificado que até 40% de substituição o índice de conversão não se altera.

Os resultados obtidos por Arnesen & Krogdahl (1993) num ensaio de alimentação de truta arco-íris sugerem que as dietas com maiores percentagens de trigo não conduzem a um crescimento superior.

No presente trabalho, a substituição de 40% de farinha de peixe por glúten de trigo levou a uma ligeira melhoria do coeficiente de eficácia proteica, (confirmando os valores do índice de conversão) e a uma melhoria da utilização proteica das dietas como se pode ser observar nos valores da eficácia de retenção proteica e nos da proteína retida.

A presença de alguns factores anti-nutritivos no trigo e seus derivados leva a crer que poderão ser estes os responsáveis pela diminuição da eficácia de retenção proteica a partir dos 40% de substituição. Os taninos, por exemplo, inibem o funcionamento de alguns sistemas enzimáticos dos peixes baixando o valor nutritivo das plantas. Os alcalóides que também ocorrem com alguma frequência no trigo inibem a actividade da  $\alpha$ -amilase (Gomes, 1991).

Em termos de ganho diário de peso e crescimento específico, os maiores valores são os apresentados pela dieta 0%, ou seja, a mais rica em farinha de peixe. Estes índices diminuíram com o aumento do nível de substituição de farinha de peixe por glúten de trigo. O mesmo aconteceu a Regost *et al.* (1999) num ensaio semelhante ao aqui apresentado, mas com glúten de milho em substituição de farinha de peixe na alimentação de pregado. Estes autores concluíram que uma inclusão de 20% de glúten de milho em substituição parcial de farinha de peixe não apresenta efeitos adversos significativos no crescimento dos animais. No entanto, uma substituição total de farinha de peixe por glúten de milho leva a uma diminuição no crescimento da ordem dos 30%. Estes autores concluíram que esta perda de rendimento em termos de crescimento deverá estar relacionada com o baixo valor biológico da proteína do glúten de cereais, ou ainda com a provável disparidade entre o conteúdo em triptofano das matérias-primas em estudo, que poderá ter levado a uma diminuição na taxa de ingestão. No presente trabalho esta última observação não pode ser equacionada, dado que não foi possível determinar o triptofano, uma vez que este aminoácido é totalmente destruído durante a hidrólise ácida.

Storebakken *et al.* (2000) testaram glúten de trigo em substituição parcial de farinha de peixe em dietas para salmão, tendo concluído que em termos de taxa de crescimento a substituição pode ir até aos 35%.

No contexto da condição corporal, as diferenças mais notórias são encontradas no conteúdo de gordura das carcaças. A gordura corporal superior nos animais alimentados com a dieta 80%, consiste nas reservas energéticas acumuladas na cavidade abdominal uma vez que a ingestão energética destes animais foi muito elevada havendo energia em excesso. Esta maior acumulação de gordura na cavidade abdominal por parte dos animais alimentados com a dieta 80%, tornou as suas vísceras mais pesadas, sendo os índices visceral e hepatossomático destes animais significativamente superiores aos dos alimentados com as dietas de níveis de inclusão inferiores. Os resultados relativos a estes últimos parâmetros não coincidem com os obtidos por Arnesen & Krogdahl (1993), em que o índice hepatossomático não sofreu grandes alterações com a qualidade da fonte proteica, nem com a percentagem de inclusão utilizada. Por outro lado, Hemre *et al.* (1996) verificaram que a utilização de dietas ricas em carboidratos na alimentação de bacalhau resultou num aumento do índice hepatossomático causado pela deposição de gordura.

No presente trabalho, as carcaças dos animais alimentados com as dietas 20% e 40% apresentaram valores proteicos superiores aos das restantes dietas. Por outro lado, o teor lipídico é maior em dietas com maiores índices de substituição.

Apesar de essas diferenças não terem sido significativas, os valores estão de acordo com o coeficiente de eficácia proteica e com a proteína retida, o que comprova o melhor índice proteína/energia destas dietas, tendo sido a proteína melhor utilizada para o aumento da massa muscular.

Estes valores estão de acordo com os obtidos por Helland & Helland (2006) num ensaio de substituição de farinha de peixe por glúten de trigo em dietas para *Hipoglossus hipoglossus* (halibut). De acordo com estes autores a diminuição do valor proteico e o aumento do teor lipídico das carcaças com o aumento da substituição, podem estar relacionados com um problema de metabolismo de aminoácidos. Segundo estes autores, num ensaio de alimentação de trutas levado a cabo por Pfeffer *et al.* (1992) ocorreu o mesmo, sendo que estes sinais foram aliviados com a adição de lisina às dietas.

## 6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados relativos aos ensaios realizados neste trabalho experimental, comprovou-se a alta digestibilidade do glúten de trigo sendo que neste parâmetro se revelou superior à própria farinha de peixe. Os peixes alimentados com dietas mais ricas em glúten de trigo apresentaram coeficientes de utilização digestiva superiores aos alimentados com a dieta cuja única fonte proteica era a farinha de peixe.

Verificou-se que o glúten de trigo determina valores relativamente pobres em termos de ingestão de matéria seca. Os níveis de ingestão diminuíram com o aumento do nível de substituição de farinha de peixe por glúten de trigo. Pode presumir-se que a presença de alguns factores anti-nutritivos relacionados com a palatabilidade, típicos dos cereais e seus derivados, possa ter tido alguma influência neste sentido.

Os peixes revelaram uma boa adaptabilidade aos circuitos. A taxa de mortalidade do ensaio de crescimento foi muito baixa (7,5%) e a do ensaio de digestibilidade foi nula.

Os índices de crescimento (ganho de peso diário, índice de crescimento específico e evolução do peso médio) das douradas alimentadas com as dietas testadas indicam que a taxa de substituição de farinha de peixe por glúten de trigo pode atingir os 40%.

Os indicadores de utilização dos alimentos por parte dos animais não permitem uma definição tão clara dos melhores níveis de substituição. No que se reporta ao balanço azotado não surgem diferenças claras entre os regimes alimentares. Em termos de balanço energético é visível que os animais mantidos com dietas à base de glúten de trigo consomem mais energia, sendo que em termos de utilização energética acaba por se registar uma maior deposição de gordura.

Assim, com base nos resultados obtidos neste trabalho e tendo em conta as condições experimentais em que decorreram os ensaios de crescimento e digestibilidade, pode concluir-se que a substituição de farinha de peixe por glúten de trigo em dietas para dourada pode ir até aos 40%, sem afectar de forma significativa o desempenho zootécnico dos animais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, K. A., A. MOHAMED, B. JAMILAH & M. EBRAHIMIAN, 2008. A Review on Correlations between Fish Freshness and pH during Cold Storage. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 4 (4): 416-421.
- ABIMORAD, E. G. & D. J. CARNEIRO, 2004. Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração proteica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Revista Brasileira de Zootecnia*. 33.
- ADEPARUSI, E. O. & A KOKOLAFI, 2006. Effect of faecal collection methods on nutrient digestibility in *Oreochromis niloticus* fed soya bean diets. *Journal of Feed Technology*. 4: 4-9.
- AL-OGAILY, S. M., N. A. AL-ASGAH & A. ALI, 1996. Effect of feeding different grain sources on the growth performance and body composition of tilapia. *Aquaculture Research*, 27: 523-529.
- ALASALVAR, C., K. D. A. TAYLOR, E. ZUBCOV, F. SHAHIDI & M. ALEXIS, 2002. Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. *Food Chemistry*. 79: 145-150.
- ALESSIO, G. & G. GANDOLFI, 1975. Riproduzione artificiale di orata, *Sparus aurata*, L. (Osteichthyes, Sparidae). 4) Sviluppo embrionale e postnatale. *Memorie del Istituto Lombardo di Scienze e Lettere*, 26: 95-132.
- ALLAN, G. L., S. PARKINSON, M. A. BOOTH, D. A. J. STONE, S. J. ROWLAND, J. FRANCES, & R. WARNER-SMITH, 2000. Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: I. Digestibility of alternative ingredients. *Aquaculture*, 186: 293-310.

- AMIRKOLAIE, A. K., S. A. EL-SHAFI, E. H. EDING, J. W. SCHRAMA & J. A. J. VERRETH, 2005. Comparison of faecal collection method with high- and low-quality diets regarding digestibility and faeces characteristics measurements in Nile tilapia. *Aquaculture Research*. 36: 578 – 585.
- ARNESEN, P. & A. KROGDAHL, 1993. Crude and pre-extruded products of wheat as nutrient sources in extruded diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) grown in sea water. *Aquaculture*, 118: 105-117.
- AZAZA, M. S., K. WASSIM, F. MENSI, A. ABDELMOULEH, B. BRINI & M. M. KRAÏEM, 2009. Evaluation of faba beans (*Vicia faba* L. var. *minuta*) as a replacement for soybean meal in practical diets of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 287 : 174–179.
- BARNABE, G. & F. RENE, 1973. Reproduction contrôlée et production d'alevins chez la dorade (*Sparus aurata*, L. 1758). *Cahiers Recueils de l'Académie de Sciences de Paris*, 276: 1621-1624.
- BATISTA, T. M. & R. B. FILHO, 2003. Efeito do Cozimento e Mercaptoetanol nas Proteínas do Glúten de Trigo. Ministério da Agricultura, EMBRAPA.
- BAUCHOT, M. L. & J. C. HUREAU, 1990. Sparidae. 790-812. In J. C. Quero, J. C. Hureau, C. Karrer, A. Post and L. Saldanha (eds.) Check-list of the Fishes of the Eastern Tropical Atlantic (CLOFETA). JNICT, Lisbon; SEI, Paris; and UNESCO, Paris. Vol. 2.
- BERGOT, F., 1979. Carbohydrate in rainbow trout: effects of the level and source of carbohydrate and the number of meals on growth and body composition. *Aquaculture*, 18: 157-167.
- BISWAS A, K, H. KAKU, S. C. JI, M. SEOKA, K. TAKII, 2007. Use of soybean meal and phytase for partial replacement of fish meal in the diet of red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture* 267: 284–291.

- BUREL, C., T. BOUJARD, G. CORRAZE, S. J. KAUSHIK, G. BOEUF, K. A. MOL, S. VAN DER GEYTEN & E. R. KUHN, 1998. Incorporation of high levels of extruded lupin in diets for rainbow trout: nutritional value and effect on thyroid status. *Aquaculture*, 163: 325-345.
- CANCHERINI L. C., O. M. JUNQUEIRA, M. C. OLIVEIRA, M. O. ANDREOTTI, M. J. B. BARBOSA, 2005. Use of animal by-products in diets formulated based on crude and ideal protein fed to broiler from 1 to 21 days of age. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34 (2).
- CARTER, C. G. , T. E. LEWIS, P. D. NICHOLS, 2003. Comparison of cholestane and yttrium oxide as digestibility markers for lipid components in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 225: 341-351.
- CHO, C. Y. & S. J. KAUSHIK, 1990. Nutritional energetics in fish: Energy and protein utilization in rainbow trout. *World Rev. Nutrition Diet.*, 61: 132-172.
- DAVIES, S. J., P. C. MORRIS & R. T. M. BAKER, 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. & A. GOUVEIA, 2006. Comparison of yttrium and chromic oxides as inert dietary markers for the estimation of apparent digestibility coefficients in mirror carp *Cyprinus carpio* fed on diets containing soybean-, maize- and fish-derived proteins. *Aquaculture Nutrition*. 12: 451–458.
- DE SILVA, S. S. & T. A. ANDERSON, 1995. *Fish Nutrition in Aquaculture*. Chapman and Hall, London: 76 pp.
- DHAOUADI, A., L. MONSER, S. SADOK, N. ADHOUM, 2007. Validation of a flow-injection-gas diffusion method for total volatile basic nitrogen determination in seafood products. *Food Chemistry*, 103, (3): 1049-1053.

DIRECÇÃO GERAL DAS PESCAS E AQUICULTURA, 2009. Publicações – Actualizado a 26-01-2009 [on-line]. Disponível em: [http://www.dgpa.min-agricultura.pt/portal/page?\\_pageid=33,1&\\_dad=portal&\\_schema=PORTAL](http://www.dgpa.min-agricultura.pt/portal/page?_pageid=33,1&_dad=portal&_schema=PORTAL) [citado a 18 Maio 2009].

DRAKEFORD, B & S. PASCOE, 2008. Substitutability of Fishmeal and Fish Oil in Diets for Salmon and Trout: a Meta-Analysis. *Aquaculture Economics & Management*.

[http://www.informaworld.com/smpp/title~db=all~content=t716100763~tab=issue\\_slist~branches=12-v1212,\(3\):155-175](http://www.informaworld.com/smpp/title~db=all~content=t716100763~tab=issue_slist~branches=12-v1212,(3):155-175).

FERNANDEZ, F., A. G. MIQUEL, M. CÓRDOBA, M. VARAS, I. METÓN, A. CASERAS, I. BAANANTE, 2007. Effects of diets with distinct protein-to-carbohydrate ratios on nutrient digestibility, growth performance, body composition and liver intermediary enzyme activities in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fingerlings. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 343: 1–10.

FILHO D. E. F., D. E. FARIA, O. M. JUNQUEIRA, M. F. RIZZO, L. F. ARAÚJO, C. S. ARAÚJO, 2002. Evaluation of Meat and Bone Meal in Broiler Chickens Feeding. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*. 4 (1).

FILHO, P. R. C. O., 2005. Coeficiente de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de Jundiá (*Rhamdia quelen*). Universidade Federal de Santa Catarina – Centro de Ciências Agrárias – Departamento de Aquicultura. 39pp.

FONSECA, P. M., 1998. Determinação da ingestão voluntária em peixes. Relatório de Estágio da Licenciatura em Engenharia Zootécnica. Departamento de Ciências Agrárias da Universidade dos Açores: 105 pp.

- FØRDE-SKJÆRVIK, O., S. REFSTIE, M. A. ASLAKSEN & ANDERS SKREDE, 2006. Digestibility of diets containing different soybean meals in Atlantic cod (*Gadus morhua*); comparison of collection methods and mapping of digestibility in different sections of the gastrointestinal tract. *Aquaculture* 261: 241–258.
- GLENCROSS, B., W. HAWKINS, D. EVANS, N. RUTHERFORD, P. McCAFFERTY, K. DODS, M. KAROPOULOS, C. VEITCH, S. SIPSAS, B. BUIRCHELL, 2008. Variability in the composition of lupin (*Lupinus angustifolius*) meals influences their digestible nutrient and energy value when fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 277: 220–230.
- GODDARD, J. S. & E. MCLEAN, 2001. Acid-insoluble ash as an inert reference material for digestibility studies in tilapia, *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, 194: 93-98.
- GOMES, E. & S. J. KAUSHIK, 1989. Incorporation of lupin seed meal, colzapro or triticale as protein/energy substitutes in rainbow trout diets. The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture, Proceedings of the Third International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish. Takeda, M. & Watanabe, T., Toba, Japan, 315-324.
- 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 da Universidade do Porto. ICBAS : 270 pp.
- GOMES, E. F., P. REMA, A. GOUVEIA & A. O. TELES, 1995. Replacement of fish meal by plant proteins in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effect of the quality of the fishmeal based control diets on digestibility and nutrient balances. *Water Science and Technology*. 31(10): 205-211.
- GOMES, E. F., 1999. Utilização de trigo cru e extrudido pela dourada. Relatório de progresso do projecto Praxis XXI.

- GOMEZ-REQUENI, P., M. MINGARO, J. A. CALDUCH-GINER, F. MÉDALE, S. A. M. MARTIN, D. H. HOULIHAN, S. KAUSHIK, J. PÉREZ-SANCHEZ, 2004. Protein growth performance, amino-acid utilisation and somatotropic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*), *Aquaculture* 232: 493-510.
- GOUVEIA, A., 1987. Avaliação de farinhas de peixe para a preparação de dietas para truta arco-íris (*Salmo gairdneri*). Jornadas de nutrição em aquacultura. Publicações Avulsas do INIP, 12: 53-62.
- GRIGORAKIS, K., 2007. Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: a review, *Aquaculture* 272: 55-75.
- GUILLAUME, J. C., 1991. Les bases de nutrition des salmonides. *La Pisciculture Française*, 104: 3-42.
- GTSSAQ - GRUPO DE TRABALHO SOBRE O SECTOR DA AQUICULTURA EM PORTUGAL, 2008. Relatório final. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional e Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. 104pp.
- HART, P. J. B. & J. D. REYNOLDS, 2002. Handbook of fish biology and fisheries. Blackwell Publishing 41-50.
- HELLAND, S. J. & BARBARA GRISDALE-HELLAND, 2006. Replacement of fish meal with wheat gluten in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): Effect of whole-body amino acid concentrations. *Aquaculture*, 261: 1363-1370.
- HEMRE, G.-I., R. WAAGBØ, B. HJELTNESS & A. AKSNES, 1996. Effect of gelatinized wheat and maize in diets for large Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) on glycogen retention, plasma glucose and fish health. *Aquaculture Nutrition*, 2: 33-39.



- HENRIQUES, M. A. R., 1998, Manual de Aquacultura. Departamento de Produção Aquática, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto: 118 pp.
- HOAR, W. S., D. J. RANDALL & J. R. BRETT, 1979. Fish Physiology. Bioenergetics and growth. Academic press, Volume VIII , New York: 165-175.
- HOFER, R. & C. STURMBAUER, 1985. Inhibition of trout and carp  $\alpha$ -amilase by wheat. *Aquaculture*, 48: 277-283.
- JOBLING, M., 1994. Fish Bioenergetics. Chapman & Hall, London: 309 pp.
- KAUSHIK, S. J., 1990. Use of alternative protein sources for intensive rearing of carnivorous fishes. *Mediterranean Aquaculture*. Ellis Horwood Ltd.: 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*: 355-358.
- KAUSHIK, S. J. & A. OLIVA TELES, 1985. Effect of digestible energy on nitrogen and energy balance on rainbow trout. *Aquaculture*, 50: 89-101.
- LOVELL, R. T., 1988. Nutrition and Feeding of Fish. Van Nostrand Reinhold, New York: 111-121.
- LUMARE, F. & P. VILLANI, 1971. Preliminary report on induced spawning and artificial fertilization of *Sparus aurata*. *Bolletino di Pesca, Piscicoltura ed Idrabiologia*, 26: 109-112.

- LUPATSCH, I., G. KISSIL, D. SKLAN, 2003. Comparison of energy and protein efficiency among three fish species gilthead sea bream (*Sparus aurata*), European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and white grouper (*Epinephelus aeneus*): energy expenditure for protein and lipid deposition. *Aquaculture* 225 : 175–189.
- MESTRE, P. M. G., 2008. Elaboração de um projecto de uma unidade de piscicultura. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária: 115 pp.
- MILES, R. D. & J. P. JACOB, 2009. Fishmeal in Poultry Diets: Understanding the production of this valuable feed ingredient. Animal Science Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida: 1-3.
- MORALES, J. C., 1986. *Acuicultura Marina Animal*. 2ª Edição, Mundi-Prensa, Madrid: 231 pp.
- MORALES, A. E., G. CARDENETE, A. SANZ, M. DE LA HIGUERA, 1999. Re-evaluation of crude fibre and acide-isoluble ash as inert markers, alternative to chromic oxide, in digestibility studies with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 179: 71-79.
- MORETTI, A, M. P. FERNANDEZ-CRIADO, G. CITTOLIN, R.GUIDASTRI, 1999. *Manual on Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream - Volume 1*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- NELSON, J. S. 1994. *Fishes of the World* (3<sup>rd</sup> Edition). John Wiles & Sons, Inc. New York. xvii + 600 pp.
- NUNES, C. S., 1987. Factores antinutricionais nos alimentos. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 482: 151-168.

- OLIVEIRA, A. C. B., L. A. MARTINELLI, M. Z. MOREIRA, & J. E. P. CYRINO., 2008. Determination of apparent digestibility coefficient in fish by stable carbon isotopes. *Aquaculture Nutrition*, 14: 10–13.
- ORVAY, F. C., 1993. *Acuicultura Marina: Fundamentos Biológicos y Tecnología de la Producción*. Universitat de Barcelona Publicaciones: 739 pp.
- OZDEN, O. & N. ERKAN, 2008. Comparison of biochemical composition of three aqua cultured fish (*Dicentrarchus labrax*, *Sparus aurata*, *Dentex dentex*). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59 (7-8): 545–557.
- PALMA, J. A., 1994. Estudo do regime alimentar e taxa de evacuação gástrica em dourada. Relatório de estágio de licenciatura em Biologia Marinha e Pescas. UCTRA, Universidade do Algarve.
- PEIGHAMBARDOUST, S. H., R.J. HAMER, R.M. BOOM, A.J. VAN DER GOOT, 2007. Migration of gluten under shear flow as a novel mechanism for separating wheat flour into gluten and starch. *Journal of Cereal Science* 48: 327e338.
- PEREIRA, T. G., 1991. Necessidades alimentares de *Sparus aurata* L. Trabalho de síntese. Instituto Nacional de Investigação das Pescas: 23 pp.
- PEREIRA, T. S. M. G., 2003. Utilização de fontes proteicas de origem vegetal em dietas para dourada (*Sparus aurata* L.). Tese de Doutoramento. Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas – IPIMAR: 142 pp.
- PEREIRA, T. G. & A. O. TELES, 1996. Utilização do tremoço na alimentação de dourada. Póster. VI Congresso de Zootecnia. A Zootecnia e a valorização dos recursos naturais, 7 a 9 de Novembro, Universidade de Évora.
- PEREIRA, T. G. & A. O. TELES, 2004. Evaluation of micronized lupin seed meal as na alternative protein source in diets for gilthead seabrem *Sparus aurata* L. juveniles. *Aquaculture Research*, 35. 828-835.

- PEREIRA, T. G., M. A. RAMOS & I. MINISTRO, 1983. Policultura de peixes catádmomos, crescimento e hábitos alimentares. Seminário sobre Aquacultura. Instituto Nacional de Investigação das pescas, Associação Portuguesa dos Recursos Hídricos: 255-272.
- PEREIRA, T. G., M. A. RAMOS & M. CARVALHO, 1987. Índice de conversão e crescimento de *Sparus aurata* L. utilizando dietas artificiais. Jornadas de nutrição em aquacultura. Publicações Avulsas do INIP, 12: 127-138.
- PIKE, I., G. ANDORSTOTTIR & H. MUMDHEIM, 1990. The role of fish meal in diets for salmonids. International Association of Fish Meal Manufacturers, Vol. 24: 1-35.
- POMERANZ, Y., 1988. Wheat: Chemistry and Technology. American Association of Cereal Chemists Inc. Vol.1.
- RAMOS, M. A., 1987. Idade, crescimento e ciclo de reprodução de *Sparus aurata* L. Jornadas de nutrição em aquacultura. Publicações Avulsas do INIP, 12: 117-126.
- REGOST, C., J. ARZEL & S. J. KAUSHIK, 1999. Partial or total replacement of fish meal by corn gluten meal in diet for turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture, 180: 99-117.
- REINHARD, H., H. RUPP, F. SAGER, M. STREULE & O. ZOLLER, 2006. Quinolizidine alkaloids and phomopsins in lupin seeds and lupin containing food. Journal of Chromatography A, 1112: 353–360.
- ROBAINA, L. M. R., 1995. Utilización nutritiva de fuentes de proteína alternativas a la harina de pescado en dietas de engorde para dorada (*Sparus aurata*). Tesis Doctoral. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 226pp.

- ROBAINA, L. M. R., 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.
- ROBERTO, C. C. S., 1988. Sistemas de produção de vitelos. Tese submetida para a obtenção do grau de mestre. Escola Superior de Medicina Veterinária, Estação Zootécnica Nacional.
- ROTTA, M. A., 2003. Aspectos Gerais da Fisiologia e Estrutura do Sistema Digestivo dos Peixes Relacionados à Piscicultura. EMBRAPA. 48pp.
- RUEDA F. M., M. D. HERNÁNDEZ, M. A. EGEA, F. AGUADO, B. GARCIA & F. J. MARTINEZ, 2001. Differences in tissue fatty acid composition between reared and wild sharpsnout sea bream, *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777). British Journal of Nutrition. 86: 617-622.
- SABAUT, J. J. & P. LUQUET, 1973. Nutritional requirements of the gilthead seabream *Chrysophyrus aurata*. Quantitative protein requirements. Marine Biology, 18: 50-54.
- SALES, J. & P. J. BRITZ, 2001. Evaluation of different markers to determine apparent nutrient digestibility coefficients of feed ingredients for South African Abalone (*Haliotis midae* L.). Aquaculture, 202: 113-129.
- SANCHES, J. G., 1992. Nomenclatura portuguesa de organismos aquáticos. Publicações Avulsas do IPIMAR, 14.
- SANCHEZ, P., 2000. Factores que afectan a las características del pescado de crianza: Nuevos pensos de acabado para dorada. Presentación de Pensos de Acabado 2000, ProAqua, Sevilla: 15 pp.

- SANTINHA, P. J. M., 1997. Estudos em nutrição de dourada (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto para obtenção do grau de Doutor em Ciências Biomédicas especialidade de Nutrição. ICBAS: 199 pp.
- SANTINHA, P. J. M., E. F. S. GOMES & J. O. COIMBRA, 1996. Effects of protein level of the diets on digestibility and growth of gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture Nutrition*, 2: 81-87.
- SENSO, L., M. D. SUÁREZ, T. RUIZ-CARA, M GÁRIA-GALLEGO, 2007. On the possible effects of harvesting season and chilled storage on the fatty acid profile of the fillet of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Food Chemistry*, 101: 298-307.
- SILVA, J. G. & A. OLIVA-TELES, 1997. Substituição parcial de farinha de peixe por diferentes fontes proteicas alternativas em dietas para robalo (*Dicentrarchus labrax*). Efeitos no crescimento e utilização metabólica das dietas. *Espécies de Interesse Zootécnico*: 349-358.
- SILVA, M. R. & M. A. A. P. SILVA, 2000. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas. *Revista de Nutrição* 13 (1).
- SMITH, A. H, E. ZOETENDAL & R. I. MACKIE, 2004. Bacterial Mechanisms to Overcome Inhibitory Effects of Dietary Tannins. *Microbial Ecology*. Online publication.
- SOUSA, A. F. D., 2008. Factores que Afectam a Qualidade dos Produtos de Aquacultura: Efeito da dieta na qualidade final de dourada (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758 ). Relatório de Estágio da Licenciatura em Biologia Marinha. Departamento de Oceanografia e Pescas da Universidade dos Açores: 68 pp.
- STEFFENS, W., 1989. Principles of Fish Nutrition. Laird, L. M. (ed). Toronto : 272-311.

- STONE, D. A. J., T. G. GAYLORD, K. A. JOHANSEN, K. OVERTURF, W. M. SEALY, R. W. HARDY, 2008. Evaluation of the effects of repeated fecal collection by manual stripping on the plasma cortisol levels, TNF- $\alpha$  gene expression, and digestibility and availability of nutrients from hydrolized poultry and egg meal by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture*, 275: 250-259.
- STOREBAKKEN, T., K. D. SHEARER, G. BAEVERFJORD, B. G. NIELSEN, T. ASGARD, T. SCOTT, A. DE LAPORTE, 2000. Digestibility of micronutrients, energy and aminoacids, absorption of elements and absence of intestinal enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with wheat gluten. *Aquaculture*, 184: 115-132.
- STURMBAUER, C. & R. HOFER, 1986. Compensation for amylase inhibitors in the intestine of the carp. *Aquaculture*, 52: 31-33.
- SUGIURA S. H., M. D. FAYE, K. R. CINDRA & W. H. RONALD, 1998. Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feed ingredients for salmonid feeds. *Aquaculture*, 159: 177-202.
- TACON, A. & C. B. COWEY, 1985. Protein and amino acid requirements. *Fish Energetics, New Perspectives*: 125-183.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS – DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS, 2004. Programa da cadeira de Processamento de alimentos de origem vegetal.
- VIOLA, S. & Y. ARIELI, 1983. Evaluation of different grains as basic ingredients in complete feed for carp and tilapia in intensive culture. *Bamidegh*, 35: 38-43.

VOUZELA, C., 1992a. Determinação do valor alimentar para aves de algumas matérias-primas disponíveis nos Açores. Trabalho de síntese para provas de aptidão pedagógica e capacidade científica na especialidade de produção animal. Universidade dos Açores, Departamento de Ciências Agrárias. Angra do Heroísmo.

VOUZELA, C., 1992b. A alimentação de aves de carne. Relatório para uma aula teórico-prática, para as provas de aptidão pedagógica e científica, na especialidade de produção animal. Universidade dos Açores, Departamento de Ciências Agrárias. Angra do Heroísmo: 49 pp.

WATANABE, T., 1988. Fish Nutrition and Mariculture. Edited by T. Watanabe. University of Guelph, Canadá: 233 pp.

YAMAMOTO, T., A. AKIMOTO, S. KISHI, T. UNUMA E T. AKIYAMA 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.