

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO  
JEQUITINHONHA E MUCURI

**MARCELO GASPARY MARTINS**

COMPLEXO ENZIMÁTICO SSF EM RAÇÕES PARA JUVENIS DE TILÁPIA  
DO NILO E TAMBACU

**DIAMANTINA - MG**  
**2014**

MARCELO GASPARY MARTINS

**COMPLEXO ENZIMÁTICO SSF EM RAÇÕES PARA JUVENIS DE  
TILÁPIA DO NILO E TAMBACU**

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Prof. Marcelo Mattos Pedreira

DIAMANTINA - MG  
2014

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM  
Bibliotecário Anderson César de Oliveira Silva, CRB6 – 2618.

M386c	<p>Martins, Marcelo Gaspary Complexo enzimático SSF em rações para juvenis de tilápia do Nilo e tambacu / Marcelo Gaspary Martins. – Diamantina: UFVJM, 2014. 57 p.</p> <p>Orientador: Marcelo Mattos Pedreira Coorientador: Guilherme de Souza Moura</p> <p>Dissertação (Mestrado – Curso de Pós-Graduação em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.</p> <p>1. <i>Aspergillus niger</i>. 2. Híbrido. 3. Enzimas. 4. GIFT. 5. Nutrição de peixes. I. Título II. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.</p> <p style="text-align: right;"><b>CDD 639.3</b></p>
-------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

MARCELO GASPARY MARTINS

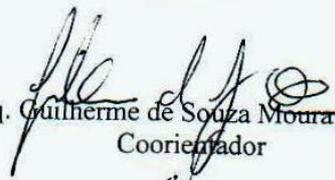
**COMPLEXO ENZIMÁTICO SSF EM RAÇÕES PARA JUVENIS DE TILÁPIA DO  
NILO E TAMBACU**

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

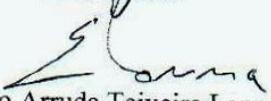
APROVADA em 28/08/2014



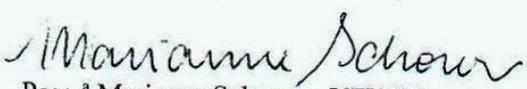
Prof. Marcelo Mattos Pedreira – UFVJM  
Orientador



Pesq. Guilherme de Souza Moura – UFVJM  
Coorientador



Prof. Eduardo Arruda Teixeira Lanna – UFV



Pesq.ª Marianne Schorer – UFVJM

DIAMANTINA – MG  
2014

Aos meus pais, Mauro Pereira Martins e Helena Gaspary Martins,

*DEDICO.*

## AGRADECIMENTO

Deus, por sempre me mostrar os melhores caminhos a seguir.

À Universidade dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, pela formação.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudo.

Ao Dr. Guilherme de Souza Moura, que muito admiro e tenho como exemplo de profissional e mestre. Pelos ensinamentos, confiança, orientação e amizade.

Ao professor Dr. Luiz Carlos Machado, pelos ensinamentos, amizade e apoio mesmo distante.

Ao professor Dr. Marcelo Mattos Pedreira, pela orientação.

Aos meus pais, fonte diária de motivação.

Aos amigos que sempre estiveram ao meu lado: Thiago, Clarissa, Izabela, Alisson.

Aos meus colegas de trabalho e amigos: André Lima Ferreira, Thaís Garcia Santos, Carlos José Ottoni, Talita Andrade Ferreira, Elenice Santos, Kênia Maria, Mariana, Aline e Régis.

E às funcionárias Elizzandra Gandini e Elizângela Aparecida Saraiva, pela paciência e disposição.

À todos da UFV que auxiliaram durante o processo.

Ao professor Dr. Eduardo Lanna e Dra. Marianne Schorer pelas contribuições.

## **BIOGRAFIA**

**MARCELO GASPARY MARTINS**, filho de Mauro Pereira Martins e Helena Gasparly Martins, nasceu em 12 de agosto de 1989, na cidade de Cachoeira do Sul-RS. Mudou-se para Belo Horizonte em 1993.

Em julho de 2012, graduou-se em Zootecnia pelo Instituto Federal de Minas Gerais/Campus Bambuí (IFMG). No mês seguinte iniciou o curso de mestrado em Zootecnia na Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), na área de Produção Animal, linha de pesquisa Aquicultura, submetendo-se à defesa de dissertação em 28 de agosto de 2014.

## RESUMO

MARTINS, Marcelo Gaspar. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 28 agosto de 2014. 57p. **Complexo enzimático SSF em rações para juvenis de tilápia do nilo e tambacu**. Orientador: Marcelo Mattos Pedreira. Dissertação (Mestrado em Zootecnia).

Na atual nutrição de precisão, a maximização do aproveitamento dos nutrientes é otimizada pelo uso de aditivos, que são importantes também para redução da excreção de compostos potencialmente poluentes ao meio ambiente, como o nitrogênio e o fósforo. Com isso, objetivou-se, com o desenvolvimento de dois experimentos: avaliar o desempenho de juvenis tilápia do Nilo submetidos a rações extrusadas contendo o complexo enzimático SSF (solid station fermentation) adicionado em diferentes etapas do processamento (antes e após a extrusão), e o desenvolvimento de juvenis tambacu com rações contendo diferentes níveis do mesmo complexo enzimático. No experimento 1 com tilápia, foram utilizados 140 animais distribuídos em 5 tratamentos: sem enzimas (Controle), 400ppm de complexo enzimático SSF na mistura antes da extrusão (AE400), 800ppm de complexo enzimático SSF na mistura antes da extrusão (AE800), 400ppm de complexo enzimático SSF adicionados “on top” após a extrusão (DE400), 800ppm de complexo enzimático SSF adicionados “on top” após a extrusão (DE800) com 4 repetições, totalizando 20 unidades experimentais. Já no experimento 2 com o tambacu foram utilizados 240 animais distribuídos em 6 tratamentos: sem enzimas (Controle); Inclusão de 200ppm (DE200); Inclusão de 400ppm (DE400); Inclusão de 600ppm (DE600); Inclusão de 800ppm (DE800); Inclusão de 1000ppm (DE1000), com 4 repetições, totalizando 24 unidades experimentais. Em ambos experimentos as rações experimentais continham a mesma formulação, diferenciando apenas nos níveis de inclusão do complexo enzimático SSF. Os peixes foram alimentados 4 vezes ao dia (8, 11, 14 e 17 h), até a saciedade evitando sobras de alimento. Os ensaios foram conduzidos durante 56 dias em um sistema de recirculação com controle de temperatura, aeração e luz. No experimento 1 notou-se que as rações contendo o complexo enzimático SSF influenciaram positivamente o ganho de peso, sendo a inclusão do complexo enzimático após o processo extrusão favorável ao desempenho, recomendando-se para tilápias a inclusão de 800 ppm “on top”. Já no experimento 2, observou-se que a inclusão de 600 ppm de complexo enzimático SSF “on top”, em rações para tambacus, promove melhores índices de conversão alimentar, não sendo observado melhorias neste mesmo parâmetro com o aumento da inclusão deste complexo, sendo recomendado a inclusão de 600 ppm “on top” em rações para tambacus.

**Palavras-chave:** *Aspergillus niger*, híbrido, enzimas, GIFT, nutrição de peixes, solid station fermentation.

## ABSTRACT

MARTINS, Marcelo Gaspar. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2014, august, 28. 57p. **SSF enzyme complex in diets for juvenile Nile tilapia and tambacu**. Adviser: Marcelo Mattos Pedreira. Dissertation (Master's degree in Animal Science).

In the current nutrition precision, maximizing the utilization of nutrients is optimized by the use of additives, which are also important for reducing the excretion of compounds potentially pollute the environment, such as nitrogen and phosphorus. Thus, we aimed at, with the development of two experiments to assess the performance of juvenile Nile tilapia subjected to extruded feed containing the enzyme complex SSF (solid fermentation station) added at different stages of processing (before and after extrusion) and the development of tambacu juveniles with diets containing different levels of the same enzyme complex. In experiment 1 with tilapia, 140 animals distributed in five treatments (control (no enzyme), 400 ppm SSF enzyme complex in the mixture prior to extrusion (AE400), 800 ppm SSF enzyme complex in the mixture prior to extrusion (AE800 were used) 400 ppm enzyme "on top" complex SSF added after extrusion (DE400), 800 ppm SSF enzyme complex added "on top" after extrusion (DE800)) with four replications, totaling 20 experimental units. Inclusion of 200 ppm (DE200); Inclusion of 400 ppm (DE400); Inclusion of 600 ppm (DE600), whereas in experiment 2 with tambacu 240 animals distributed into six treatments (Control (without enzymes) were used Inclusion 800 ppm (DE800); Inclusion 1000 ppm (DE1000)) with four replications, totaling 24 experimental units. In both experiments the experimental diets contained the same wording, differing only in the inclusion levels of the enzyme complex SSF. The fish were fed four times a day (8, 11, 14 and 17 hr) to satiation avoiding feed leftovers. The tests were conducted for 56 days in a recirculation system with temperature control, aeration and light. In experiment 1 it was noted that the diets containing the enzyme complex SSF positively influenced weight gain, and the inclusion of the enzyme complex after the extrusion process conducive to performance, recommending the inclusion of tilapia to 800 ppm "on top". In the second experiment, it was observed that the inclusion of 600 ppm SSF enzyme complex "on top" in rations for tambacus promotes better feed conversion ratios. No improvement was observed in the same parameter with increasing inclusion of this complex, being recommended the inclusion of 600 ppm "on top" in rations for tambacus.

**Keywords:** *Aspergillus nigger*, hybrid, enzymes, GIFT, fish nutrition, solid fermentation station.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS.....	21
4. ARTIGOS.....	25
1.	
Juvenis de tilápia do Nilo alimentada com rações extrusadas contendo SSF adicionado em diferentes níveis e etapas do processamento.....	26
1.1 Introdução.....	28
1.2 Material e métodos.....	29
1.3 Resultados.....	34
1.4 Discussão.....	37
1.5 Conclusão.....	41
1.6 Referências Bibliográficas.....	42
2.	
Inclusão de complexo enzimático SSF em rações para juvenis de tambacu.....	45
2.1 Introdução.....	47
1.7 Material e métodos.....	49
1.8 Resultados.....	52
1.9 Discussão.....	54
1.10 Conclusão.....	55
1.11 Referências Bibliográficas.....	56

## 1- INTRODUÇÃO GERAL

A piscicultura, dentre as atividades zootécnicas, têm sido uma das que mais se destacou nos últimos anos (FRASCÁ-SCORVO & SCORVO-FILHO, 2011). Os mesmos autores ainda ressaltam que este destaque ocorre devido ao grande papel econômico e social que a atividade exerce, produzindo alimentos de qualidade e gerando emprego, renda e promoção da igualdade social, sendo ainda atribuído à evoluções no melhoramento genético, sanidade, nutrição, manejo e na escolha de espécies com bons índices produtivos, como a tilápia e o tambacu.

A tilápia apresenta inúmeras características favoráveis à sua criação, dentre elas, a rusticidade e a facilidade de manejo, merecem destaque. É altamente prolífera, produtiva e sua reprodução artificial está consolidada, o que possibilita a obtenção de alevinos durante boa parte do ano (EL SAYED, 2006). Ainda de acordo com o mesmo autor, é um peixe que se adequa a diferentes sistemas produtivos, se alimenta de ração e do plâncton disponível no meio, além de possuir carne de excelente qualidade nutricional, com alto valor de mercado sendo bastante apreciada pelos consumidores. O tambacu é um híbrido que se adequa a vários níveis de produção. Bastante apreciada pelos consumidores é considerada uma espécie nobre devido as suas características de carne, como textura e sabor, além de ser bastante resistente a mudanças climáticas e apresenta desempenho satisfatório quando comparado a outros peixes redondos existentes (BARTLEY, 2001).

Neste atual cenário da produção animal se tornou essencial trabalharmos com a nutrição de precisão, utilizando aditivos que maximizem o aproveitamento dos nutrientes, como as enzimas e/ou os complexos enzimáticos, visto os altos custos envolvidos com a alimentação dos animais e a grande carga poluente despejada no meio ambiente, como o nitrogênio e o fósforo, condições a serem contornadas (CAMPESTRINI et al, 2005).

Os altos valores destinados a alimentação na piscicultura, os quais podem variar em torno de 50 a 80% dos custos de produção, motiva pesquisadores e produtores a buscar soluções para maior aproveitamento dos alimentos e conseqüente redução destes custos, sendo uma alternativa a utilização de enzimas (PEREIRA FILHO, 1995). As enzimas são proteínas globulares, de estrutura terciária ou quaternária, que agem como catalisadores biológicos (CHAMPE & HARVERY, 1989), no processo de digestão, onde se ligam a substratos específicos e tem sua eficiência dependente da temperatura e pH (CAIRES et al., 2008).

O processo digestivo, em termos gerais, é a transformação do alimento no trato digestório em compostos mais simples (aminoácidos, ácidos graxos, glicerol, açúcares) para que sejam transportados aos tecidos, via corrente sanguínea (KOLKOVSKI et al., 2000). Para que estas

alterações ocorram, é necessário a presença de enzimas digestivas ao longo do trato digestório (De SILVA & ANDERSON, 1995).

A inclusão enzimática é feita com o propósito de auxiliar também as enzimas endógenas nos processos digestivos, melhorando a digestibilidade dos nutrientes e conseqüente desempenho animal (SILVA et al., 2000; BEDFORD & PARTRIDGE, 2001). Os mesmos autores ainda ressaltam que a eficiência dos alimentos é maximizada, reduzindo assim a ação de inibidores de crescimento, sobretudo os polissacarídeos não-amiláceos, encontrados como componentes estruturais das paredes celulares dos cereais. Ou seja, a inclusão de enzimas exógenas minimiza os efeitos negativos provocados pelos fatores antinutricionais presentes nos ingredientes e otimizam a atividade enzimática endógena (CAMPESTRINI et al., 2005).

A adição de enzimas, também promove uma redução nos impactos ambientais de dejetos originados da produção animal, por auxiliar o aproveitamento dos nutrientes e conseqüente redução da eliminação de excretas (OLIVEIRA et al., 2000). Isso porque o fósforo e o nitrogênio provenientes dos dejetos animais são os principais compostos poluidores do meio, pois geram um aumento de nutrientes no meio aquático, nutrindo as plantas e o fitoplâncton, os quais se multiplicam e absorvem o oxigênio da água, ocorrendo assim a anaerobiose no meio, prejudicando a qualidade da água e o desempenho dos animais (SILVA, 2006).

Muitos trabalhos demonstram estas vantagens de incluir enzimas em rações para peixes (FURUYA et al., 2005; SIGNOR et al., 2010; TACHIBANA et al., 2010). Porém, os autores normalmente utilizam enzimas em rações peletizadas ou fareladas a fim de melhorar o desempenho do animal. No entanto, a aquicultura moderna utiliza rações extrusadas, as quais permitem uma melhor conversão alimentar e monitoramento do consumo pelo peixe. Para produção de ração extrusada para peixes, os ingredientes formadores desta são expostos a altas temperaturas e pressões, fazendo com que haja uma melhor disponibilização dos nutrientes presentes no alimento, além de maior estabilidade e flutuação da ração na água. Por outro lado, altas temperaturas podem influenciar negativamente na atividade enzimática, o que nos leva a necessidade de estudos sobre a melhor forma e momento de inclusão de enzimas e/ou complexos enzimáticos em rações para peixes.

Robinson et al., (2001) ressaltam que a extrusão é um processo de cozimento à alta pressão, umidade e temperatura, que pode chegar de 88 a 149 °C. Este conjunto de fatores distingue este tratamento dos demais, tais como peletização, floculagem ou tostagem, além de permitir uma melhor disponibilidade dos nutrientes e conferir maior durabilidade e flutuação na água.

Elevadas temperaturas assim como alguns produtos químicos (detergentes, agentes caotrópicos), promovem a inativação enzimática. Inativação por produtos químicos muitas vezes

pode ser evitada com facilidade, mantendo-os fora do meio de reação. A temperatura, no entanto, exige uma maior atenção, pois produz efeitos opostos sobre a atividade enzimática e estabilidade e é, portanto, uma variável fundamental em qualquer processo biocatalítico (VIEILLE & ZEIKUS, 1996).

As enzimas são mantidas por delicados balanços de forças covalentes, como pontes de hidrogênio, pareamento de íons, interações hidrofóbicas e força de Van Der Waals. Com o aumento da temperatura, essas interações são rompidas e as enzimas se desdobram. Algumas proteínas recuperam sua conformação ativa após o resfriamento, porém, para a maioria, a desnaturação é irreversível (ANFINSEN, 1973). Portanto, para a inclusão de enzimas em rações extrusadas, faltam informações sobre a melhor maneira e o momento de inserí-las durante o processamento, pois estas não podem perder a sua atividade. De fato, a estabilidade destes biocatalisador e o processo de extrusão determinará em grande medida a viabilidade do processo de inclusão enzimática nas rações (ILLANES, 1999).

Com o aumento da utilização de ingredientes de origem vegetal em rações para peixes, a inclusão de complexos enzimáticos ou coquetéis pode ser uma alternativa para melhorar a disponibilidade de nutrientes. Dentre as opções, o complexo enzimático SSF (solid state fermentation) pode ser um potencial aditivo (RAJESH et al., 2010) para inclusão em rações para aquicultura e demais animais monogástricos. Por isso vem sendo testado em diversos estudos (MOURA et al. (2012); GONÇALVES et al. (2007); GENTILINI et al. (2009); SOUZA et al. (2013); LEITE et al. (2011); MANZKE et al. (2009); SARA et al. (2012); MOURA et al. (2011).

Este produto é um complexo natural de enzimas produzido através de técnicas de fermentação em substrato sólido por fungos, *Aspergillus niger*, este microrganismo produz uma variedade equilibrada de enzimas, como: protease,  $\alpha$ -amilase, lipase, celulase, xilanase,  $\alpha$ -galactosidase, pectinase, fitase, endoglucanase (carboxi-metil-celulase) e outras, as quais atuam em diferentes componentes da ração liberando nutrientes que normalmente são inacessíveis pela ausência de várias enzimas no processo de digestão (MOURA et al., 2012). Os autores ainda ressaltam que o resultado da ação destas enzimas é a maior disponibilidade de aminoácidos, energia, cálcio e fósforo.

Como as enzimas trabalham em condições físicas e químicas apropriadas, é necessário que sejam obedecidos alguns limites afim de impedir sua inativação ou desnaturação, relacionados a pH, temperatura, tempo, concentrações de substratos, presença ou ausência de íons ativadores ou inibidores, demais enzimas e co-fatores (GOMES, et al., 2007). Portanto, para que ocorra uma boa utilização destas na inclusão em rações para aquicultura, sua atividade biológica deve resistir aos rigores da fabricação, da estocagem da ração, ao baixo pH e às

enzimas proteolíticas do trato digestório. Caso contrário, quando o alimento é submetido a temperaturas elevadas, como por exemplo, nos processos de peletização e extrusão, pode ocorrer a desnaturação das enzimas, eliminando o benefício de sua inclusão na ração dos animais (CAMPESTRINI et al, 2005).

Objetivou-se avaliar a estabilidade das enzimas presentes no complexo enzimático SSF adicionadas em níveis e durante as etapas do processo de extrusão e subsequente efeito no desempenho de juvenis de tilápia do Nilo, além de níveis de inclusão para tambacu.

## 2- REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 – CRIAÇÃO DE TILÁPIA

A redução dos estoques naturais decorrente da sobre pesca, somada à necessidade de desenvolver atividades de baixo impacto ao meio e que gerem renda ao produtor, têm promovido crescente interesse pelo cultivo de organismos aquáticos (TEIXEIRA et al., 2009). Dentro desse cultivo, a criação de peixes têm se destacado, sendo a área da produção animal que mais se desenvolve no Brasil, sendo que, para atender à expansão desta agroindústria, as técnicas de produção demandam maior nível de intensificação (FURUYA et al., 2001).

Tilápia é o nome comum aplicado a três gêneros de peixe da família Cichlidae: *Oreochromis*, *Sarotherodone* *Tilápia* (WATANABE et al., 2002), peixes de água doce originários da África (APPLEYARD et al., 2001). Sua criação no Brasil teve como marco inicial a introdução de um plantel de *Tilápia rendalli*, na década de 1950, seguida de uma nova introdução de tilápia do Nilo em 1972 (MOREIRA et al., 2007), tendo o crescimento da atividade intensificado no século XX.

A China, o qual possui tradição milenar em aquíicultura, é atualmente o maior produtor de tilápia cultivada do mundo, seguido pelo Egito, Filipinas, Indonésia, Tailândia, Taiwan e Brasil (FIGUEIREDO-JÚNIOR & VALENTE-JÚNIOR, 2008).

As tilápias possuem uma série de características que as tornam candidatas ideais na piscicultura, especialmente em países em vias de desenvolvimento, são estes: crescimento rápido, tolerância a diversas condições ambientais, ao super povoamento, baixo oxigênio dissolvido, resistência ao estresse e doenças, capacidade de reprodução em cativeiro, aceita alimentação em diferentes níveis tróficos incluindo nível baixo e alimentos artificiais e possui tempo curto de cada geração (EL SAYED, 2006).

A alimentação de espécimes de baixo nível trófico faz com que cresçam com baixo custo em sistemas extensivos e apresentem desenvolvimento satisfatório em pisciculturas com condições ambientais sub-ótimas (WATANABE et al., 2002). Os mesmos autores ainda ressaltam que em sistemas intensivos, a tilápia pode ser alimentada com rações formuladas contendo alta porcentagem de proteína vegetal e óleos.

Além disso, sua carne é apreciada nos mercados nacional e internacional e seu filé não apresenta espinhos intramusculares em forma de “Y” (FURUYA et al., 2000). Todas estas características favoráveis a tornam a espécie escolhida pela maioria dos produtores brasileiros (GONTIJO et al., 2008).

Estima-se que no período de 1996 a 2005, a produção de tilápias no Brasil cresceu em média 23% ao ano. A produção brasileira de 2005 ultrapassou a produção conjunta dos principais países exportadores de filé fresco de tilápia para o mercado sul americano (Equador, Honduras, Costa Rica e Colômbia). O que mais chama a atenção é que toda esta produção, que foi quase toda absorvida pelo mercado interno, foi comercializada praticamente sem esforço de marketing que divulgasse o peixe e seus produtos (FIGUEIREDO-JÚNIOR & VALENTE-JÚNIOR, 2008).

## 2.2 – CRIAÇÃO DE TAMBACU

Atualmente, com o crescente interesse pela criação de organismos aquáticos, tornou-se essencial que os criadores aprimorem as técnicas necessárias para assegurar o êxito da criação e reprodução dos peixes, especialmente no Brasil. Peixes nobres nativos com hábito reofílico, não se reproduzem em cativeiro sem a indução hormonal, como o tambaqui (*Colossomamacropomum*) e o pacu (*Piaractusmesopotamicus*) (MORAIS, 2009).

A técnica de cruzamento de indivíduos geneticamente próximos é chamada hibridação. Este processo está sendo largamente utilizado no melhoramento genético com objetivo de gerar indivíduos mais precoces e mais rústicos que as espécies parentais e isto ocorre devido ao vigor híbrido. Pretende-se então: aumentar a tolerância a variações ambientais e as doenças, melhorar taxa de crescimento a qualidade de carne (BARTLEY, 2001).

O tambacu, é um híbrido entre fêmeas de tambaqui e machos de pacu. O tambaqui é a principal espécie amazônica cultivada no Brasil e pode atingir na natureza, peso ao redor de 30 quilos. (GONÇALVES et al., 2010). A produção de alevinos desta espécie é fácil e o seu crescimento é rápido, se adapta ao confinamento e arraçoamento, possuindo assim grande potencial para aquicultura (SILVA et al., 2007). Já o pacu é um peixe muito comum nas bacias dos rios Paraná, Uruguai e Paraguai, e possui fácil adaptação a sistemas de cultivo intensivo (BITTENCOURT, 2008). Aliando estas características favoráveis de ambas as espécies, obteve-se um indivíduo que é um dos grandes destaques da piscicultura moderna por apresentar rusticidade, valor comercial e carne saborosa, além de rápido crescimento e maior tolerância a baixas temperaturas que seus parentais. Este possui um hábito alimentar onívoro, com características semelhantes ao tambaqui no que se refere ao formato, porte e cor acinzentada. (GONÇALVES et al., 2010). Para demonstrar a importância destes espécimes, em 2010, o cultivo de tambacu, tambaqui e pacu representou 24,6% da produção nacional de pescado na

modalidade continental, sendo que no mesmo ano foi produzido 49.818 toneladas de tambacus (MPA, 2012).

### **2.3 - UTILIZAÇÕES DE ENZIMAS EXÓGENAS PARA PEIXES**

Estudos referentes à suplementação enzimática para peixes têm demonstrado a importância do uso de enzimas exógenas.

Programas alimentares eficientes e a máxima utilização dos nutrientes alimentares são uma das principais preocupações da piscicultura diante da alta demanda mundial de pescados a curto e médio prazo.

Os ingredientes de origem vegetal mais utilizados em rações para não-ruminantes são relativamente ricos em amido e proteína, mas contêm nutrientes não digeríveis presentes na parede celular, como os polissacarídeos nãoamiláceos (PNAs), os oligossacarídeos, outros não carboidratos (glicoproteínas, ésteres fenólicos, lignina), além da hemicelulose, que não é totalmente digerível (OLIVEIRA et al., 2007). Estas situações limitam o uso de ingredientes de origem vegetal na ração para peixes, porém alguns trabalhos, como os de Gonçalves et al. (2005) e Bock et al. (2006) demonstram que um nível adequado de suplementação enzimática para tilápias do Nilo proporciona melhor disponibilidade aparente dos nutrientes, maximizando ação enzimática endógena do animal.

Considerando que a tilápia aproveita bem os aminoácidos e monossacarídeos livres, é possível que a suplementação das rações com complexo enzimático propicie o aproveitamento dos conteúdos protéico e energético, expressos nas consideráveis frações de PNA e amido presentes em ingredientes de origem vegetal, como farelo de soja e milho, respectivamente. Nesse sentido, ao permitir melhoria do valor nutricional dos nutrientes e aumento da disponibilidade de minerais dos alimentos, verifica-se considerável redução na excreção de sólidos fecais, fósforo e nitrogênio, o que contribui indiretamente para a redução da poluição ambiental. (OLIVEIRA et al., 2007). Além disso, partindo do mesmo princípio, podemos considerar que com a maximização do aproveitamento dos nutrientes disponíveis na ração, conseguimos também através da inclusão enzimática a redução do consumo e conseqüentemente redução dos custos com alimentação e melhorias nos lucros da atividade (CAMPESTRINI et al., 2005).

### **2.4 –COMPLEXO ENZIMÁTICO SSF E SUA UTILIZAÇÃO**

Estudos referentes à utilização do SSF na ração de peixes são escassos e pouco esclarecedores, quando comparado com outras espécies de monogástricos, sendo necessário realizar mais pesquisas envolvendo a utilização deste complexo enzimático.

De acordo com Moura et al. (2012), os quais trabalharam com inclusão de SSF em 5 níveis (50, 100, 150, 200 e 250 ppm), a inclusão do complexo enzimático SSF em rações peletizadas a 150 ppm, melhora o desempenho de juvenis tilápias do Nilo em função da maior biodisponibilidade de nutrientes.

Observando o desenvolvimento de juvenis de carpa comum e carpa capim submetidos a rações contendo farelo de alfafa e SSF, Sara et al. (2012), ressaltaram que a inclusão de SSF, incrementa o coeficiente de digestibilidade aparente de nutrientes, proporcionando um maior ganho de peso e peso.

O SSF também tem se mostrado eficiente adicionado a rações de outros monogástricos, valorizando a energia metabolizável (Gonçalves et al., 2007; Souza et al., 2013), reduzindo a carga bacteriana intestinal (Gentilini et al., 2009), a incidência de diarreia (Souza et al., 2013), melhorando o aproveitamento de nutrientes (Manzke et al., 2009), conversão alimentar, gerando maior ganho de peso (LEITE et al., 2011).

Portanto, a inclusão do SSF na ração de peixes mostra-se promissor.

## **2.5 – FÓSFORO E NITROGÊNIO COMO POTENCIAIS POLUIDORES DO MEIO AMBIENTE**

As grandes concentrações de nitrogênio e fósforo usados nos adubos e fertilizantes ou originados das fezes dos animais constituem um tipo muito comum de poluição da água. As enxurradas transportam para os rios os fosfatos e nitratos, esses compostos potencialmente poluidores podem chegar aos mananciais de água pela infiltração no solo atingindo o lençol freático e posteriormente os corpos de água (SILVA, 2006). Os mesmo autores, ainda ressaltam que, com o aumento de nutrientes no meio aquático as plantas e o fitoplâncton ficam bem nutridos, os quais se multiplicam (especialmente algas) e absorvem o oxigênio da água, ocorrendo assim o anaerobismo do meio. Por sua vez, a falta de oxigênio provoca a morte de muitas plantas e animais que, ao se decomporem, causam odor e sabor desagradável da água, aumentando a poluição

Esse fenômeno é comumente denominado de eutrofização. Já na cultura de peixes a contaminação de corpos d'água é direta, sendo necessária a redução da excreção desses compostos. O que pode ser feito com uma ração balanceada e com maior disponibilidade dos nutrientes (SIPAÚBA-TAVARES, 2004).

O fósforo é um mineral importante no metabolismo animal, participando inclusive na formação do ATP, é adicionado às rações a base de milho e farelo de soja, como os demais minerais. Porém, nem todo fósforo suprido é metabolizado pelos peixes, parte dele é repassada para a água por meio de lixiviação da ração e outra parte é liberada pelas fezes (ARARIPE et al., 2006).

Além disso, rações com altos teores de proteína possuem uma maior dependência por alimentos protéicos (farinha de vísceras, farinha de peixe e farelo de soja), que contém maior quantidade fósforo e nitrogênio, e esses alimentos possuem maior solubilidade e lixiviam ao longo do tempo. Um maior tempo de exposição da ração à água proporciona maior aporte de nutrientes para o ambiente (POTRICH et al., 2011).

Ainda de acordo com os autores acima, estudos com estabilidade de rações são necessários, visto que conforme a dinâmica do ambiente, pode haver maiores perdas de nutrientes das rações, e com isso, maior custo com alimentação dos animais e maior degradação do meio ambiente.

## **2.6 – RAÇÕES EXTRUSADAS PARA PISCICULTURA**

Em função dos altos custos empregados com a alimentação dos animais, torna-se necessário maximizar o aproveitamento dos nutrientes oferecidos através da ração, realizando maiores estudos sobre a forma de processamento e fornecimento destes alimentos.

O meio aquático influencia negativamente nos estudos com nutrição de peixes, dificultando a observação da quantidade de ração consumida, além das perdas de nutrientes por lixiviação, o que pode influenciar diretamente no desenvolvimento dos peixes, piorando a eficiência de utilização dos alimentos ou, indiretamente, provocando queda na qualidade da água (FURUYA et al., 1998).

Entretanto, o processamento da ração tem a finalidade de melhorar o valor nutritivo, a aceitação e a estabilidade da ração na água, o que facilita estes estudos (KUBITZA, 2000). Além disso, a futura expansão da aquicultura dependestes processamentos e da utilização de alimentos balanceados. Portanto, estudos no sentido de avaliar o desempenho, assim como a análise econômica da utilização de rações submetidas a diferentes processamentos, são de grande importância, particularmente no cultivo da tilápia do Nilo, onde poucos são os estudos realizados com essa finalidade (FURUYA et al., 1998).

A extrusão constitui processo contínuo, versátil e muito utilizado na tecnologia de transformação de alimentos (ASCHERI et al., 2006). Este processo expõe os nutrientes à alta

pressão, umidade e temperatura; O que ocasiona melhor disponibilidade dos nutrientes, conferindo também maior durabilidade e flutuação na água (ROBINSON et al., 2001).

A temperatura utilizada no processo de extrusão exerce papel importante nas mudanças das propriedades físico-químicas dos produtos extrusados (ASCHEI et al., 2006). Juntamente com a pressão elevada ocasiona maior gelatinização do amido e exposição dos nutrientes contidos no interior das células vegetais à ação digestiva, melhorando, assim, a eficiência alimentar para os peixes (KIANG, 1993).

Embora a extrusão resulte em aumento do custo final do produto, este custo adicional, em relação ao da ração peletizada, acaba sendo compensado pela melhora na eficiência alimentar para os peixes e pela menor deterioração da qualidade da água, possibilitando um crescimento mais rápido do animal e um melhor aproveitamento dos nutrientes, reduzindo, com isto, os custos com alimento por unidade de peixe produzida (KUBITZA, 1997).

Além da melhoria do valor nutricional constatado com o processo de extrusão, há que se considerar também que a possibilidade de o peixe se alimentar na superfície da água proporciona maior eficiência na ingestão do alimento e, também, melhor controle no manejo alimentar, pois esse tipo de processamento permite um controle visual quanto ao apetite do peixe e a eventuais sobras da ração. Tais vantagens são de fundamental importância nos sistemas de criação intensiva (SUSSEL, 2008).

### 3-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANFINSEN, C.B. **Principles that govern the folding of protein chains.** 181 ed. Charleroi:Science, 1973. 223-230p.

ASCHERI, D.P.R.; ANDRADE, C.T.; CARVALHO, C.W.P.; ASCHERI, J.L.R. Efeito da extrusão sobre a adsorção de água de farinhas mistas pré-gelatinizadas de arroz e bagaço de jaboticaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p.325-335, 2006.

ARARIPE, M.N.B.A.; FRANÇA SEGUNDO, L.F.; LOPES, J.B.; ARARIPE, H.G.A. Efeito do cultivo de peixes em tanques rede sobre o aporte de fósforo para o ambiente. **Revista Científica de Produção Animal**, v.8, n.2, p.56-65, 2006.

APPLEYARD, S.A.; RENWICK, J.M.; MATHER, P.B. Individual heterozygosity levels and relative growth performance in *Oreochromis niloticus* (L.) cultured under Fijian conditions. **Aquaculture Research**, v.32, n.4, p.287-296, 2001.

BARTLEY, D.M., RANA, K.; IMMINK, A. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. **Reviews Fish Biology and Fisheries**, n.3, v.10, p. 325-337, 2001.

BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition.** 2.ed. New York: Cabi, 2001. 273p.

BITTENCOURT, F. **Cultivo de pacu *Piaractus mesopotamicus* sob diferentes densidades em tanque-rede no reservatório de Itaipu.** 2008. 46p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.

BOCK, C. L.; PEZZATO, L. E.; CANTELMO, O. A.; BARROS, M. M. Fitase e digestibilidade aparente de nutrientes de rações por tilápias do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2198-2202, 2006.

CAIRES, C.M; FAGUNDES, N.S; FERNANDES, E.A; CARVALHO, A.P. Enzimas na alimentação de frangos de corte. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.5, n.1, p.491-497, 2008.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M.; APPET, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-267, 2005.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. Enzimas. In: CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. (Eds.). **Bioquímica ilustrada.** 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1989. 53-66p.

DE SILVA, S.S.; ANDERSON, T.A. **Fish Nutrition in Aquaculture**. 4.ed. Londres: Chapman & Hall, 1995. 319p.

EL-SAYED, A.-B. M. **Tilapia culture**. Wallingford:publishing, 2006. 277p.

FIGUEIREDO-JÚNIOR, C. A. & VALENTE-JÚNIOR, A. S. **Cultivo de tilápias no Brasil: origens e cenário atual**. In: XLVI congresso da sociedade brasileira de economia, administração e sociologia rural. Fortaleza, 2008.

FRASCÁ-SCORVO, C.M.D. & SCORVO-FILHO, J.D. A piscicultura. *Pesquisa & Tecnologia*, v.8, n.2, p.1-4, 2011.

FURUYA, W.M.; SOUZA, S.R.; FURUYA, V.R.B.; HAYASHI, C.; RIBEIRO, R.P. Dietas peletizada e extrusada para machos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), na fase de terminação. **Ciência Rural**, v.28, n.3, p.483-487, 1998.

FURUYA, W.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V.R.B. et al. Exigência de proteína para alevino revertido de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.1912-1917, 2000.

FURUYA, W.M.; GONÇALVES, G. S.; FURUYA, V. R. V.; HAYASHI, C. Fitase na alimentação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) desempenho e digestibilidade. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.30, n.3, p.924-929, 2001.

FURUYA, W.M., SANTOS, V.G., BOTARO, D., HAYASHI, C. E SILVA, L.C.R. Níveis de proteína e fitase em rações de terminação para a tilápia do-nilo (*Oreochromisniloticus*). **Arquivo Ciência Veterinária e Zootecnia**, v.8, n.1, p. 1-17, 2005.

FURUYA, W.M. **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo: GFM, 2010, 100p.

GENTILINI, F.P.; GONÇALVES, F.M.; NUNES, P.M.; LADEIRA, S.R.L.; ANCIUTI, M.A.; RUTZ, F. Efeito de um complexo enzimático na produção e na qualidade de ovos, nos níveis de proteínas plasmáticas e na população bacteriana cecal em poedeiras semipesadas. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.2, p.504-510, 2009.

GOMES, E., GUEZ, M.A.U., MARTIN, N., SILVA, R. Enzimas termoestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. **Química Nova**, v.30, n.1, p.136-145, 2007.

GONÇALVES, A.C.S.; MURGAS, L.D.S.; ROSA, P.V. E; NAVARRO, R.D.; COSTA, D.V.; TEIXEIRA, E.A. Desempenho produtivo de tambacus alimentados com dietas suplementadas com vitamina E. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.9, p.1005-1011, 2010.

GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. et al. Disponibilidade aparente do Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe e suplementação de fitase em alimentos vegetais para a tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2155-2163, 2005.

GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; PADILHA, P.M.; BARROS, M.M. Disponibilidade aparente do fósforo em alimentos vegetais e suplementação da enzima fitase para tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.36, n.5, p.1473-1480, 2007.

GONTIJO, V. P. M., OLIVEIRA, G. R., CARDOSO, E. L., MATTOS, B.O., SANTOS, M. D. **Cultivo de tilápias em tanques-rede**. Boletim Técnico, nº 86. Belo Horizonte: EPAMIG, 2008. 44p.

ILLANES, A. Stability of biocatalysts. **Process Biotechnology**. v.2, n.1, p.1-9, 1999.

KIANG, M.J. La extrusion como herramienta para mejorar el valor nutritivo de los alimentos. In: **Síposium Internacional De Nutrición Y Tecnología De Alimentos Para Acuicultura**. Nuevo León. Anais... Nuevo León: Universidad de Nuevo León. 1993, p. 415-429. 1993.

KOLKOVSKI, S.; YACKEY, C.; CZESNY, S. The effect of microdiet supplementation of dietary enzymes and a hormone on growth and enzyme activity in yellow perch juveniles. **North American Journal of Aquaculture**, v.62, n.2, p.130-134, 2000.

KUBITZA, F. **Qualidade do alimento, qualidade da água e manejo alimentar na produção de peixes**. In: Simpósio Sobre Manejo E Nutrição De Peixes. Piracicaba, 1997.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: edição do autor, 2000, 285p.

LEITE, P. R. S. C.; LENADRO, N. S. M.; STRINGHINI, J. H.; CAFÉ, M. B.; GOMES, N. A.; JARDIM FILHO, R. M. Desempenho de frangos de corte e digestibilidade de rações com sorgo ou milho e complexo enzimático. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.3, p.280-286, 2011.

MANZKE, N.E.; SOARES, N.N.; BAVARESCO, C.; PROVENCINI, M.; MOREIRA, C.V.; NUNES, J.K.; GENTILINI, F.P.; ANCIUTI, M.A.; RUTZ, F. **Complexo enzimático e farelo de arroz desengordurado na dieta de poedeiras sobre a qualidade de ovos**. In: XVIII CIC. XI ENPOS. Pelotas. 2009.

MORAIS, R.M. **Determinação da concentração espermática para melhor taxa de fertilização do híbrido tambacu (*Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*)**. Dissertação (Mestrado em tecnologia em aquicultura continental). Goiânia, 2009.

MOREIRA, A.A.; HILSDORF, A.W.S.; SILVA, J.V.; SOUZA, R.V. Variabilidade genética de duas variedades de tilápia nilótica por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.4, p.521-526, 2007.

MOURA, G.S.; LANNA, E.T.A.; QUADROS, M.; CUNHA, P.S.; TAKISHITA, S.S.; VIANNA, R.A. **Enzyme complex SSF in diets for Nile tilapia fingerling**. In: WORLD AQUACULTURE, 2011.

MOURA, G.S.; LANNA, E.T.A.; FILER, K.; FALKOSKI, D.L.; DONZELE, J.L.; OLIVEIRA, M.G.A.; REZENDE, S.T. Effects of enzyme complex SSF (solid state fermentation) in pellet diets for Nile tilapia. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.41, n.10, p.2139-2143, 2012.

MPA, **Boletim estatístico da pesca e aquicultura**. Brasília: Ministério da Pesca e Aquicultura, 2011. Disponível em:

<[http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes\\_e\\_Estatisticas/Boletim%20MPA%202011FINAL.pdf](http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20MPA%202011FINAL.pdf)> acesso em: 18/06/2014.

OLIVEIRA, R. A. de.; DENÍCULI, W.; ITABORAHY, C. R.; CECON, P. R. Redução da Demanda Bioquímica de Oxigênio de Águas Residuárias da Suinocultura com o Emprego da Macrófita Aquática. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.1, p. 81-86, 2000.

OLIVEIRA, G.R.; LOGATO, P.V.R.; FREITAS, R.T.F. et al. Digestibilidade de nutrientes em rações com complexo multienzimático para a tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.1945-1952, 2007.

PEREIRA-FILHO, M. Alternativas para alimentação de peixes em cativeiro. In: VAL, A.L.; HONCZARYK, A. (Ed.). **Criando peixe na Amazônia**. Manaus: MCT: INPA, 1995. 75-82p.

POTRICH, F.R.; SIGNOR, A.A.; DIETERICH, T.G. **Estabilidade e lixiviação de nutrientes com rações de diferentes níveis protéicos**.v.4, n.3, p.77-87,2011.

RAJESH, N., IMELDA-JOSEPH, RAJ R.P. Value addition of vegetable wastes by solid-state fermentation using *Aspergillus niger* for use in aquafeed industry. **Waste Management**, v.30,

n.11, p.2223–2227, 2010.

ROBINSON, E. H.; LI, M. H.; MANNING, B. B.; **A Practical Guide to Nutrition, Feeds, and Feeding of Catfish. Missisipi: bo, 2001, 1113.**

SIGNOR, A.A., BOSCOLO, W.R., BITTENCOURT, F., FEIDEN, A., GONÇALVES, G.S. E FREITAS, J.M.A. Desempenho de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com rações contendo complexo enzimático. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.39, n.5, p.977-983, 2010.

SILVA, H.O; FONSECA, R.A; FILHO, R.S.G. Características produtivas e digestibilidade da farinha de folhas de mandioca em dietas de frangos de corte com e sem adição de enzimas. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.29, n.3, p.823-829, 2000.

SILVA, F. **Biorremoção de nitrogênio, fósforo e metais pesados (Fe, Mn, Cu, Zn) do efluente hidropônico, através do uso de *Chlorella vulgaris*.** (mestrado em agrossistemas) Florianópolis, 2006. 85 p.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H. Qualidade da água em aquicultura. **Revista eletrônica de ingeniería em producción acuícola**, v.1, n.1, p.1-14, 2004.

SOUZA, J.G.; SOARES, R.T.R.N.; BONAPARTE, T.P. **Efeitos do nível de proteína bruta e energia metabolizável em dietas suplementadas com complexo multienzimático para leitões recém desmamados.** In: V CONFICT. Campos dos Goytacases. 2013

SUSSEL, F. R.; **Alimentação na criação de peixes em tanques-rede.** 1.ed. Assis: APTA (Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios), 2008, 320p.

TACHIBANA, L.; GONÇALVES, G.S.; GUIMARÃES, I.G.; FALCON, D.R.; BARROS, M.M. E PEZZATO, L.E. Substituição do milho pelo triticale na alimentação de tilápias do Nilo. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.39, n.2, p.241-246, 2010.

TEIXEIRA, R.N.G.; CORRÊA, R.O.C.; FARIA, M.C.; MEYER, G. **Piscicultura em tanques-rede.** 1.ed. Brasília: Embrapa, 2009, 87p.

VIEILLE, C. AND ZEIKUS, J. Thermoenzymes: identifying molecular determinants of protein structural and functional stability. **Trends in Biotechnology**, v.14, n.1, p.183-190, 1996.

WATANABE, W.O.; LOSORDO, T.M. FITZSMMONS, K.; HANLEY, F. Tilápia production systems in the Américas: technological advances, trends, and challenges. **Review of Fisheries Science**. v.10, n.3, p.465-498, 2002.

## 4- ARTIGOS

### 4.1- JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO ALIMENTADA COM RAÇÕES EXTRUSADAS CONTENDO SSF ADICIONADO EM DIFERENTES NÍVEIS E ETAPAS DO PROCESSAMENTO

**RESUMO** - Objetivou-se avaliar o desempenho de tilápias do Nilo submetidas a rações contendo o complexo enzimático SSF (solid station fermentation), adicionado em diferentes níveis e etapas do processamento de extrusão. Para avaliar a atividade enzimática foram selecionadas as seguintes enzimas:  $\beta$ -glicosidase, pectinase, xilanase, endoglucanase (carboximetil-celulase), amilase e protease. Os peixes foram submetidos a cinco tratamentos alimentares: ração sem adição de enzima (sem enzima), com adição de 400 ppm de SSF na mistura antes da extrusão (AE400), com 800 ppm de SSF na mistura antes da extrusão (AE800), 400 ppm de SSF adicionados “on top” após a extrusão (DE400) e 800 ppm de SSF adicionados “on top” após a extrusão (DE800). O experimento teve um delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, contendo sete peixes por aquário, totalizando 140 animais, com peso médio inicial  $10,37 \text{ g} \pm 0,95$ . Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia (8, 11, 14 e 17 h), até a saciedade evitando sobras de alimento, durante 56 dias. Os seguintes índices foram obtidos: peso inicial, peso final, ganho de peso, conversão alimentar (CA), sobrevivência, taxa de crescimento específico (TCE) e composição corporal. Os resultados foram comparados utilizando-se ANOVA e teste de Tukey a 0,05 de probabilidade. Todas as enzimas perderam atividade enzimática parcial ou total quando submetidas ao processo de extrusão. Não foram observadas diferenças entre as sobrevivências e composição corporal. A inclusão “on top” proporcionou um melhor rendimento, verificado pelo aumento do peso e do ganho de peso entre os tratamentos AE400 e DE400, e entre o AE800 e DE800 e pela diminuição do CA do tratamento AE800 para o DE800. Já o efeito do aumento do nível de enzima é detectado pela diminuição da CA das tilápias do tratamento sem enzima para o DE400 e do DE400 para o DE800. Comparando-se a ração sem adição com os demais tratamentos, verifica-se aumento do rendimento com adição da enzima, com aumento do nível e com a forma de inclusão “on top”. Sugere-se que o complexo enzimático SSF seja adicionado “on top” após a extrusão por proporcionar melhor desempenho para tilápias do Nilo, sendo recomendado a inclusão de 800 ppm.

**Palavras-chave:** *Aspergillus niger*, enzimas, GIFT, nutrição de peixes, solid station fermentation.

## **YOUTH OF NILE TILAPIA FED DIETS WITH SSF EXTRUDED CONTAINING ADDED IN DIFFERENT LEVELS AND STAGES OF PROCESSING**

**ABSTRACT** -This study aimed to evaluate the performance of tilapia fed with diet containing the enzyme complex SSF (solid station fermentation), added at different levels and stages of the extrusion process. To evaluate the enzymatic activity, the following enzymes were chosen:  $\beta$ -glycosidase, pectinase, xylanase, endoglucanase (carboxy methyl cellulase), amylase, protease and phytase. The fish were submitted to five diets: no enzyme addition (without enzyme), with addition of 400 ppm of SSF in the mixture before extrusion (AE400), with addition of 800 ppm of SSF in the mixture before extrusion (AE800), 400 ppm SSF added "on top" after extrusion (DE400), and 800 ppm SSF added "on top" after extrusion (DE800). The experiment had a random design, each group with four replications, seven fish per group, totalizing 140 animals, with an average initial weight of  $10.37 \pm 0.95$  g. The fish fed four times a day (8, 11, 14 and 17 h) to satiation avoiding remnants of food for 56 days. The following values were obtained: initial weight, final weight, weight gain, feed conversion (FC), survival, specific growth rate (EER) and body composition. The results were compared using ANOVA and Tukey's test at 0.05 probability. All enzymes lost partial or total activity when subjected to the extrusion process. No differences between the survival and body composition were observed. The inclusion "on top" provided a better income, verified by increased weight and weight gain between treatments DE400 and AE400, and between the treatments AE800 and DE800, and decrease of the FC in the treatments AE800 and DE800. The effect of the increased enzyme level is detected by a decrease in the FC of the tilapia without enzyme for the treatment DE400 and for DE400 to DE800. Comparing the diet without enzyme to the other treatments, there is increase in yield with the addition of the enzyme, increasing the level and the form of inclusion "on top". It is suggested that the SSF enzyme complex is added "on top" after extrusion by providing better performance for Nile tilapia, and recommended the inclusion of 800 ppm.

**Keywords:** *Aspergillus nigger*, enzymes, GIFT, fish nutrition, solid fermentation station.

## 1-INTRODUÇÃO

A aquicultura é uma atividade que vem se destacando na produção mundial de alimentos, impulsionando produtores e pesquisadores a buscarem técnicas que possibilitem melhorias nos lucros e na produtividade. Dessa forma, a utilização de aditivos alimentares pode ser considerada promissora, pois, de acordo com Campestrini et al. (2005), estas substâncias têm a finalidade de conservar, intensificar ou modificar as suas propriedades, sem prejudicar o seu valor nutricional.

Dentre as alternativas, as enzimas podem ser consideradas um dos aditivos mais promissores, pois se caracterizam por aumentar a disponibilidade de nutrientes e energia, o que pode acarretar melhor desempenho e redução nos dejetos (JEGANNATHAN & NIELSEN, 2013). Do mesmo modo que ocorre com outros monogástricos, os peixes são incapazes de aproveitar muitos nutrientes devido a produção insuficiente ou ausência de enzimas específicas (Taniguchi e Takano, 2004), o que justifica a sua inclusão exógena.

Durante a degradação de um substrato, várias enzimas podem agir em associação para uma digestão eficiente. Esse modo de atuação caracteriza o complexo enzimático SSF (solid state fermentation), que combina de forma natural e equilibrada, algumas enzimas ( $\beta$ -glicosidase, pectinase, xilanase, endoglucanase, amilase, protease e fitase) (CHAUYNARONG et al., 2008).

A atividade das enzimas adicionadas em rações para animais pode ser afetada por vários fatores, como produtos químicos, pH e principalmente pelas variações de temperatura (CARLSON & POULSEN, 2003). Na produção de peixes são utilizadas rações extrusadas, as quais envolvem altas temperaturas durante o processamento. Deste modo, a inclusão de enzimas nas rações deve ser feita de forma criteriosa, pois devido a sua natureza proteica, pode ocorrer perda parcial ou total da atividade biológica.

Portanto, objetivou-se avaliar a estabilidade das enzimas presentes no complexo enzimático SSF às etapas do processo de extrusão e posterior efeito no desempenho de tilápia do Nilo.

## 2- MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido de maio à julho de 2014. Os ensaios de atividade enzimática foram conduzidos no Laboratório de Análises Bioquímicas da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Para avaliar a atividade das enzimas presentes no complexo enzimático SSF, incluso antes e após o processo de extrusão, preparou-se 5 misturas basais, com a mesma composição da ração controle, todas contendo gelatina e inicialmente sem SSF (tabela 1) sendo utilizada a temperatura de 90 °C.

Nas duas últimas misturas basais a gelatina foi separada para ser inclusa com o SFF na forma “on top”. Para representar a referência, sem inclusão de complexo enzimático SSF, esta mistura basal foi levada a extrusora e secadora. Para representar os tratamentos com inclusão anterior ao processo de extrusão (AE), AE400 e AE800, foi substituído 4 e 8%, respectivamente, da mistura basal por complexo enzimático SSF e levado à extrusora e posteriormente à secadora. Já para os tratamentos com a inclusão do SSF depois do processo de extrusão (DE), DE400 e DE800, a mistura basal sem a inclusão do complexo enzimático SSF foi levada a extrusora. Após sua extrusão e secagem, foi substituído 4 e 8% de ração por SSF inclusos sob a forma “on top” com as gelatinas separadas no início da fabricação previamente derretidas em água. Todas as amostras foram moídas e separadas para posterior análise.

Para determinação das atividades enzimáticas, 0,5 g de amostra de cada uma das rações foi macerada com 10 mL de água destilada. Em seguida este material foi colocado em tubo de polietileno e centrifugado a 13000 rpm por 10 minutos. Após este procedimento, com auxílio de uma pipeta, foi retirado o sobrenadante para a determinação da atividade das enzimas. Todas as análises enzimáticas foram feitas em triplicata. Foram selecionadas as seguintes enzimas:  $\beta$ -glicosidase, pectinase, xilanase, endoglucanase (carboxi-metil-celulase), amilase e protease.

**Tabela 1.** Composição da ração experimental (matéria natural)

Ingredientes (%)	Tratamentos		
	Controle (sem SSF)	AE400 e DE400	AE800 e DE800
Farelo soja 45%	71,88	71,88	71,88
Milho grão	20,12	20,12	20,12
Farelo de trigo	3,00	3,00	3,00
Fosfato bicálcico	2,83	2,83	2,83
Calcário calcítico	0,76	0,76	0,76
Óleo de soja	0,20	0,20	0,20
Premix <sup>(1)</sup>	0,50	0,50	0,50
Vitamina C	0,05	0,05	0,05
Sal comum	0,50	0,50	0,50
Inerte	0,08	0,04	-
SSF <sup>(2)</sup>	-	0,04	0,08
Gelatina <sup>(4)</sup>	0,06	0,06	0,06
BHT <sup>(3)</sup>	0,02	0,02	0,02
Composição calculada <sup>(5)</sup> e analisada <sup>(6)</sup>			
Matéria seca <sup>(6)</sup>	87,38	87,45	87,24
Proteína bruta <sup>(6)</sup>	33,31	34,02	34,05
Matéria mineral <sup>(6)</sup>	5,99	6,04	6,06
ED (Kcal/Kg) <sup>(5)</sup>	3000	3000	3000
Fibra bruta <sup>(5)</sup>	4,92	4,92	4,92
Extrato etéreo <sup>(6)</sup>	1,69	1,87	1,71
Cálcio total <sup>(6)</sup>	1,12	1,09	1,10
Fósforo total <sup>(6)</sup>	1,71	1,65	1,69
Lisina total <sup>(5)</sup>	2,07	2,07	2,07
Ácido linoleico <sup>(5)</sup>	1,06	1,06	1,06

(1)Suplemento vitamínico e mineral comercial para peixes; níveis de garantia (por kg do produto): vit. A - 1,200,000 IU; vit. D3 - 200,000 IU; vit. E - 1,200 mg; vit. K3 - 2,400 mg; vit. B1 - 4,800 mg; vit. B2 - 4,800 mg; vit. B6 - 4,800 mg; vit. B12 - 4,800 mg; vit. C - 48 g; ácido fólico - 1,200 mg; Pantotenato de cálcio - 12,000 mg; biotina - 48 mg; Cloreto de colina - 108 g; niacina - 24,000 mg.(2)O complexo SSF tem como nome comercial Allzyme®SSF e é advindo da empresa Alltech Inc. (3) BHT – butylatedhydroxytoluene. (4) Nos tratamentos DE400 e DE800 a gelatina foi inclusa após o processo de extrusão, juntamente com o complexo enzimático sob a forma “on top”. (5) Valores estimados com base nos coeficientes de digestibilidade dos ingredientes para os aminoácidos e fósforo, de acordo com Rostagno et al. (2011) e Furuya et al (2000), e de energia, de acordo com Boscolo et al. (2002) e Pezzato et al. (2002). (6)Análises realizadas no laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFVJM.

Mensurou-se a  $\beta$ -glicosidase, a qual faz parte do grupo da celulase, mais especificamente é uma exocelulase com especificidade para a variedade de substratos  $\beta$ - $\Delta$ . Esta enzima hidroliza os resíduos não redutores terminal em  $\beta$ - $\Delta$ glicosídeos com liberação de glicose. No ensaio de  $\beta$ -glicosidase, utilizou-se 100  $\mu$ L do extrato enzimático, 100  $\mu$ L de solução tampão acetato de sódio (100 mM, pH 5), e 250  $\mu$ L de solução de 2 mM de substratos sintéticos. A reação foi conduzida por 15 minutos a 50 °C e paralisada com 500  $\mu$ L de carbonato de sódio 0,5 M. A solução foi levada ao espectrofotômetro, sendo lida a absorvância na faixa de 410 nm, e posteriormente sua atividade foi determinada.

Para o ensaio da pectinase, utilizou-se 25  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático, 75  $\mu\text{L}$  de tampão acetato de sódio (100 mM, pH 5), 400  $\mu\text{L}$  de solução de ácido galacturônico 0,25%. A reação foi conduzida por 30 minutos a 50 °C e paralisada com 500  $\mu\text{L}$  de DNS e posteriormente incubada em banho de água fervente por 5 minutos para o desenvolvimento da cor. Em seguida, as soluções foram centrifugadas em tubos de polietileno a 13000 rpm durante 5 minutos. A solução foi levada ao espectrofotômetro, sendo lida a absorvância na faixa de 540 nm, e posteriormente sua atividade foi determinada.

A atividade da xilanase foi determinada usando 80  $\mu\text{L}$  de solução tampão acetato de sódio (100 mM, pH 5), 20  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático e 400  $\mu\text{L}$  de solução xilanobirchwood (1,25% p/v). A reação foi conduzida por 15 minutos a 50 °C e paralisada com 500  $\mu\text{L}$  de DNS e posteriormente incubada em banho de água fervente por 5 minutos para o desenvolvimento da cor. A solução foi levada ao espectrofotômetro, sendo lida a absorvância na faixa de 540 nm, e posteriormente sua atividade foi determinada.

Para o ensaio da endoglucanase (carboxi-metil-celulase), 25  $\mu\text{L}$  da solução de enzima foi misturada com 400  $\mu\text{L}$  de carboximetilcelulose (CMC) (1,25% p/v), sendo diluída em 75  $\mu\text{L}$  de tampão acetato de sódio (100 mM, pH 5). Esta solução foi colocada em banho-maria à 50 °C por 30 minutos, sendo a reação paralisada segundo metodologia de Miller (1956), utilizando-se de 500  $\mu\text{L}$  de DNS e em seguida sendo as soluções levadas em banho de água fervente por 5 minutos. A solução foi levada ao espectrofotômetro, sendo lida a absorvância na faixa de 540 nm, e posteriormente sua atividade foi determinada.

A atividade de  $\alpha$ -amilase foi baseada na hidrólise do amido, com liberação de moléculas de dextrina e maltose. Pela adição de iodo, o amido não hidrolisado adquire coloração azul. A atividade da amilase é inversamente proporcional à intensidade de cor azul e calculada pela comparação com um controle de substrato. A atividade foi determinada em espectrofotômetro óptico, em comprimento de onda de 660 nm, utilizando-se o kit de amilase colorimétrica da Bioclin, segundo metodologia de Caraway (1959), 0,5 mL do reagente 1 do kit foi levado a banho-maria à 37°C por 2 minutos. Após este período 10  $\mu\text{L}$  de solução de enzima foi incluído e incubado a 7 minutos e 30 segundos. Para desenvolvimento da cor, foram adicionados 0,5 mL do reagente 2 do kit e 4,0 mL de água destilada, e o conjunto levado ao espectrofotômetro para obtenção de leituras em absorvância, e posteriormente sua atividade foi determinada.

Para o ensaio de protease, 150  $\mu\text{L}$  de azocaseína a 2% foram incubadas a 37 °C com 125  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático por 30 minutos. Após esse tempo, 600  $\mu\text{L}$  de TCA a 10% (ácido tricloroacético) foram adicionados e a mistura deixada em repouso, por 15 minutos, em banho de gelo. Depois disso, fez-se uma centrifugação, por cinco minutos, a 14000 rpm. Do

sobrenadante, transferiram-se 600 µL para um tubo contendo 700 µL de NaOH 0,1 M e fez-se a leitura da absorbância a 440 nm, e posteriormente sua atividade foi determinada.

O ensaio de desempenho foi conduzido no Laboratório de Aqüicultura e Ecologia Aquática da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), campus Diamantina, Minas Gerais, com durabilidade de 8 semanas de ensaio (56 dias). Foram utilizadas tilápias da linhagem GIFT, com peso médio inicial de  $10,37 \pm 0,38$  g, dispostas em aquários de 35 litros com sistema de recirculação com biofiltração, limpeza três vezes na semana, ultravioleta (UV), aeração constante e controle de temperatura.

Os animais receberam ração *ad libitum* até a saciedade aparente, 4 vezes ao dia, 8,11, 14 e 17 h. A quantidade de ração ofertada a cada aquário diariamente e seus resíduos, coletados ao final do dia, 18 h, foram pesados, em balança analítica com precisão de 0,001g. Uma vez por semana os parâmetros de qualidade de água foram mensurados, sendo eles: temperatura, pH, oxigênio dissolvido (sonda multiparamétrica para qualidade da água YSI Proplus multiparameter) e amônia (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1989).

Foi utilizado uma ração à base de ingredientes de origem vegetal, com a mesma composição inicial da ração utilizada no ensaio enzimático, formulada conforme tabela 1. Diferindo-se apenas no nível de inclusão do complexo enzimático SSF e o modo de inclusão; antes da extrusão (AE) e “on top” depois da extrusão (DE), sendo os tratamentos: sem enzimas (Controle); inclusão de 400ppm antes da extrusão (AE400); de 800ppm antes da extrusão (AE800); inclusão de 400ppm depois da extrusão (DE400) e de 800ppm depois da extrusão (DE800). Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições e sete animais por aquário, totalizando 140 animais e 20 unidades experimentais. Todas as rações extrusadas foram processadas na Fábrica de Rações do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Aos 28 dias os animais foram capturados e imersos em solução com eugenol (25 mg/L durante 1 minuto) para pesagem em balança analítica com precisão de 0,001 g e obtenção da sobrevivência, retornando após o procedimento para o aquário de origem. Aos 56 dias de experimento todas as tilápias permaneceram 12 h sem alimentação para esvaziamento do trato digestivo e avaliação da composição corporal, sendo na sequência capturadas e imersas em eugenol (37,5 mg/L durante 30 minutos) para pesagem e posterior abate.

Foram avaliados: consumo de ração (g/dia), ganho de peso (g), conversão alimentar (g/g), taxa de crescimento específico (%/dia), biomassa inicial (g), biomassa final (g), e ganho em biomassa (g) e sobrevivência (%).

A partir dos registros do consumo total de ração e do ganho de peso [GP = (peso final - peso inicial)], foram calculadas a taxa de crescimento específico [TCE =  $100 \times (\ln \text{ peso médio final} - \ln \text{ peso médio inicial}) / \text{dia}$ ] e a conversão alimentar [CA = (consumo de ração/ganho de peso)]. E a partir dos registros da sobrevivência e peso foram calculados a biomassa inicial e final (número de indivíduos x peso médio), e o ganho de biomassa estimada (número de indivíduos x ganho de peso).

As carcaças foram secas em estufas de circulação de ar forçado, moídas e levadas para o Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (DZO) da UFVJM, conforme as metodologias descritas por Van Soest et al. (1991), sendo avaliada a composição corporal: matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca), e fósforo (P).

Os dados de atividade enzimática e zootécnicos foram submetidos à análise de variância ao nível de probabilidade de 0,05 e para a comparação das médias foi aplicado o teste de Tukey, sendo utilizado o programa SAEG – Sistemas para Análises Estatísticas e Genéticas – UFV (2004). Para a análise de sobrevivência, os dados foram transformados para arcosen, mas na tabela são apresentados valores em porcentagem. Já para os parâmetros de qualidade de água foram calculadas médias e desvios para caracterização do ambiente de cultivo.

### 3- RESULTADOS

A inclusão do complexo enzimático SSF na ração antes da extrusão resultou em perda parcial ou total da atividade das enzimas. Para  $\beta$ -glicosidase e amilase percebeu-se uma perda parcial da atividade enzimática no processo de extrusão. Já para pectinase, xilanase e endoglucanase, percebeu-se que a atividade enzimática é totalmente perdida no processo de extrusão, para os dois níveis testados e não diferenciando-se também do tratamento controle, sem SSF (tabela 3). Para protease, observou-se que o tratamento controle se igualou aos tratamentos de inclusão antes do processo de extrusão (AE400 e AE800). O mesmo tratamento AE800 foi estatisticamente igual ao DE400, que por sua vez foi estatisticamente igual ao maior nível de inclusão depois da extrusão (DE800).

**Tabela 3.** Análise da atividade de enzimas (UI/g ração<sup>1</sup> e UA/g ração<sup>2</sup>) selecionadas (média e desvio) presentes em complexo enzimático SSF incluído em rações para juvenis detilápia do Nilo, antes e após o processo de extrusão, e em dois níveis 4 e 8%

Enzimas	Tratamentos					CV (%)
	Controle	AE400	AE800	DE400	DE800	
$\beta$ -glicosidase <sup>1</sup>	0,17 ±0,01e	80,00 ±1,20d	144,00 ±32,00c	264,00 ±8,00b	680,00 ±8,00a	6,93
Pectinase <sup>1</sup>	0,69 ±0,06c	0,36 ±0,03c	0,58 ±0,02c	11264,36 ±282,4b	13127,41 ±416,30a	5,45
Xilanase <sup>1</sup>	0,63 ±0,23c	0,75 ±0,24c	0,49 ±0,03c	168,21 ±14,25b	216,30 ±14,44a	22,82
Endoglucanase <sup>1</sup>	0,49 ±0,07c	0,44 ±0,18c	0,41 ±0,06c	255,88 ±102,35b	316,11 ±126,84a	6,13
Amilase <sup>2</sup>	9,48 ±7,44d	77,9 ±5,95c	128,43 ±20,84b	145,97 ±23,18b	252,64 ±11,90a	11,98
Protease <sup>1</sup>	907,42 ±0,10c	915,37 ±0,02c	997,58 ±0,01bc	1123,02 ±0,02ab	1236,15 ±0,00a	4,50

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si na mesma linha pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ );

Os parâmetros de qualidade de água encontram-se na tabela 4.

**Tabela 4.** Valores (média e desvio) de parâmetros de qualidade de água obtidos durante o período experimental de juvenis tilápias do Nilo alimentados com rações contendo complexo enzimático SSF

Parâmetros	Médias	CV (%)
pH	6,56 ± 0,17	3,41
Amônia total (mg/L)	0,19 ± 0,11	7,93
Temperatura(°C)	27,05 ± 1,34	4,28
Oxigênio dissolvido (ppm)	9,03 ± 1,87	3,01
Condutibilidade ( $\mu$ Sm/cm)	40,90 ± 9,90	2,82

Aos 56 dias de experimento, o peso final e o ganho de peso das tilápias foram superiores para os tratamentos com adição de complexo enzimático “on top” observado comparando-se o tratamento AE400 e DE400 ( $p < 0,05$ ) e o AE800 e DE800 ( $p < 0,05$ ) e os tratamentos “on top” ao controle ( $p < 0,05$ ). Comparando-se o tratamento controle a adição de complexo enzimático antes da extrusão, percebe-se que não houve aumento no peso final e ganho de peso ( $p < 0,05$ ). Os níveis de enzima não interferiram ( $p > 0,05$ ) no peso final e ganho de peso, sendo iguais nos tratamentos AE400 e AE800 e entre os tratamentos DE400 e DE800. Sendo assim, o tratamento DE800 obteve ganho de peso superior ( $p > 0,05$ ) em 40,29% e 18,43% em relação aos tratamentos, controle e AE800, respectivamente.

Quanto a conversão alimentar foi observado diferença ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos, o que está associado a uma melhor disponibilidade e absorção de nutrientes. Os peixes alimentados com ração e inclusão de complexo enzimático SSF pós extrusão, necessitam de 0,38 g de ração para manter o mesmo ganho de peso durante o período avaliado. Verificou-se também que qualquer tratamento com a inclusão do complexo enzimático SSF apresenta melhoria na conversão alimentar.

Comparando-se os tratamentos controle e DE800, observou-se para a TCE que a máxima inclusão enzimática associada ao processo “on top” (DE800), proporcionou melhor taxa que a não inclusão do SSF ( $p > 0,05$ ). A conversão alimentar e a taxa de crescimento específico foram melhores no tratamento DE800, em 31,96 e 22,22%, respectivamente, que o tratamento controle.

Foi observado que não houve influência ( $p > 0,05$ ) dos níveis e da etapa de inclusão enzimática sob a biomassa final, ganho em biomassa e sobrevivência. Da mesma forma, não foram verificados efeitos ( $p < 0,05$ ) do complexo enzimático SSF sob as variáveis de análise corporal avaliadas (tabela 7).

**Tabela 6.** Desempenho de juvenis de tilápiado Nilo, aos 56 dias, alimentados com rações contendo complexo enzimático SSF adicionado em diferentes etapas do processamento

Parâmetros	Tratamentos					CV (%)
	Controle	AE400	AE800	DE400	DE800	
Peso inicial (g)	10,50a	10,34a	10,33a	10,36a	10,34a	4,10
Peso Final (g)	33,63c	34,89c	37,74bc	39,61ab	42,79a	5,58
Ganho de peso (g)	23,13c	24,55c	27,40bc	29,25ab	32,45a	8,18
CA (g/g) <sup>1</sup>	1,22c	1,03b	1,01b	0,95b	0,83a	4,44
Biomassa inicial (g)	73,48a	72,38a	72,34a	72,50a	72,36a	4,10
Biomassa final (g)	219,07a	237,35a	236,80a	237,65a	277,67a	11,10
Ganho em biomassa (g)	150,75a	170,09a	169,66a	175,51a	210,36a	14,06
TCE (%) <sup>2</sup>	2,07b	2,23ab	2,22ab	2,38ab	2,53a	4,95
Sobrevivência (%)	92,85a	92,85a	92,85a	85,7a	92,85a	8,07

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) na mesma linha; <sup>1</sup>CA: conversão alimentar; <sup>2</sup>TCE: Taxa de crescimento específico.

**Tabela 7.** Análise corporal de juvenis detilápia do Nilo alimentados com rações contendo complexo enzimático SSF adicionado em diferentes etapas do processamento

Nutrientes*	Tratamentos				
	Controle	AE400	AE800	DE400	DE800
MS (%)	20,78	19,98	18,57	19,46	19,85
MM (%)	13,26	13,73	13,46	12,53	12,63
Ca (%)	3,53	3,83	3,63	3,25	3,22
EE (%)	13,33	13,51	13,35	13,28	13,27
PB (%)	56,68	55,84	56,07	56,28	55,5
P (%)	2,03	2,49	2,17	2,14	2,11

Não houve diferença entre as porcentagens de nutrientes analisados entre as linhas segundo ANOVA a 0,05 de significância. \* MS: matéria seca; MM: matéria mineral; Ca: Cálcio; EE: extrato etéreo; PB: proteína bruta; P: fósforo.

## 4-DISCUSSÃO

O presente trabalho demonstrou que a atividade das enzimas do complexo enzimático SSF pode ser alterada ou perdida em função do momento de inclusão. O comportamento catalítico e a estabilidade das enzimas são específicos, o que deve ser levado em consideração na formulação e processamento de rações.

A enzima  $\beta$ -glicosidade, é um tipo de celulase, que atua na etapa final do processo de decomposição da celulose, pela hidrolisação dos resíduos de celobiose (AJWA & TABATABAI, 1994). Como observado no ensaio de atividade enzimática, esta enzima teve sua atividade parcialmente reduzida quando submetida ao processo de extrusão. Passos et al. (2008), verificaram a redução da atividade da  $\beta$ -glicosidade quando submetida a altas temperaturas, concordando com os resultados encontrados no presente trabalho. Isto ocorre devido a desnaturação parcial pela elevação da temperatura acima da faixa ótima, assim como no processo de extrusão.

Gomes et al. (2007), menciona que a pectinase e a xilanase são enzimas fundamentais que atuam na degradação da parede celular. A pectinase hidrolisa a pectina presente na lamela média e parede primária das células vegetais. Já a xilanase atua nas moléculas de xilana por meio de mecanismos endógenos e exógenos, decompondo a hemicelulose, um dos principais componentes da parede celular das plantas. Os mesmos autores ainda ressaltam que altas temperaturas podem ocasionar perda da atividade da pectinase e xilanase assim como comprovado no ensaio de atividade enzimática desenvolvido no presente estudo, onde a estas enzimas tiveram a perda total de sua atividade quando submetida ao processo de extrusão.

Este comportamento enzimático ainda corrobora com Uenojo & Pastore (2007), os quais ainda ressaltam que a pectinase tem sua atividade ótima em 50 °C, e que a partir desta temperatura sua atividade tende a reduzir ou a se perder, como observado no ensaio enzimático do presente estudo. Observando xilanases de diferentes fontes e sua aplicação em rações a base de trigo, Reis et al (2001), ressaltaram que alguns tipos de xilanase tem sua atividade ótima em 75 °C, e outras a 50 °C, e que a partir destas temperaturas ótimas sua atividade tende a reduzir ou a se perder, como observado no ensaio enzimático do presente estudo.

A endoglucanase é responsável pelo início da hidrólise da celulose e realizam uma clivagem randômica das ligações glicosídicas internas da fibra lignocelulolósica, tornando-as mais expostas (ARAÚJO et al., 2013). Os autores ainda ressaltam que a endoglucanase requer um controle rigoroso da temperatura do processo, para que não ocorra a desnaturação das enzimas,

como demonstrado no presente estudo, onde a endoglucanase perdeu totalmente sua atividade devido as condições do processo de extrusão.

A amilase é uma das enzimas digestivas, de origem pancreática, que age no intestino delgado sobre o polissacarídeos presentes no quimo (MOURA et al., 2007). Biazuset al., (2006), em seu trabalho de caracterização da atividade amilásica do malte de milho, percebeu uma redução parcial da atividade desta enzima quando a temperatura foi superior a 90 °C, e uma atividade ótima na temperatura de 55 °C. Estes resultados corroboram com os do presente estudo, onde a atividade da amilase reduziu parcialmente devido ao processo de extrusão.

Quanto as proteases, Giongo (2006), menciona que estas enzimas executam uma grande variedade de funções fisiológicas, conduzem o metabolismo essencial e as funções regulatórias, através da catalização de proteínas. Em seu trabalho o autor observou perda parcial da atividade enzimática da protease quando submetida a elevação de temperatura, corroborando com os resultados do presente estudo.

Durante todo o período experimental, o sistema de recirculação manteve a qualidade de água dentro dos níveis compatíveis para a espécie, similarmente ao observado por Kubitz et al., 2000 (Tabela 4), não interferindo assim no desenvolvimento dos animais.

Aos 56 dias de experimento, o peso final, ganho de peso, conversão alimentar e a taxa de crescimento específico das tilápias foram superiores para os tratamentos com adição de complexo enzimático “on top”. Estes resultados superiores observados nos tratamentos sem que a adição do complexo enzimático é feita após o processo de extrusão (“on top”), reforçam a idéia de que as altas temperaturas deste processo podem ocasionar desnaturações nas enzimas, resultando assim na redução de sua atividade, assim como observado por Vieille & Zeikus (1996).

O mesmo é comprovado nos ensaios de atividade enzimática realizados anteriormente ao ensaio animal (tabela 3), onde todas as enzimas presentes no complexo enzimático SSF testadas, tiveram perda parcial ou total de atividade.

Shibao e Bastos (2011) ainda afirmam que altas temperaturas além da desnaturação de enzimas podem ocasionar a reação de Maillard, resultando no agrupamento de proteínas e carboidratos, afetando assim a biodisponibilidade de minerais, o valor biológico de proteínas e aminoácidos essenciais, com conseqüentes alterações da estrutura proteica ou, ainda, inibição de enzimas exógenas e digestivas.

Mesmo assim, quando o complexo enzimático foi adicionado antes da extrusão, observou-se melhoria ( $p < 0,05$ ) na conversão alimentar, indicando que o produto perdeu parcialmente as suas características biológicas, o que é comprovado através dos dados de

atividade enzimática em  $\beta$ -glicosidade e amilase, onde estas enzimas perderam parcialmente sua funcionalidade devido ao processo de extrusão. Ao se adicionar 800 ppm do complexo na ração antes da extrusão, verificou-se melhora de 20,79% na conversão alimentar quando comparado à ração controle, mas houve piora de 21,69% para o mesmo parâmetro em relação ao tratamento com 800 ppm após a extrusão. Desta forma, o complexo enzimático SSF pode ser utilizado em ambas às etapas do processamento, porém recomenda-se adição de 800 ppm de SSF “on top”.

Utilizando rações peletizadas à 75 °C com adição de complexo enzimático, Silveira et al. (2010) relataram que não houve efeito deletério na atividade enzimática. Estes autores justificaram que a menor temperatura do processo de peletização não desnaturou as enzimas. Contrariamente ao que normalmente ocorre na extrusão, comprovado pelo ensaio de atividade enzimática desenvolvido previamente ao ensaio animal, onde todas as enzimas presentes tiveram perda parcial ou total de atividade enzimática.

De acordo com Robinson et al. (2001), a temperatura de extrusão pode ser variável de 88 a 149°C, o que pode prejudicar a atividade enzimática. Moro et al. (2013), ressalta em seu trabalho que o processo de extrusão combina altas temperaturas e pressão (34 a 37 atm), o que pode resultar na redução, parcial ou total, da atividade enzimática devido a desnaturação.

Os resultados, deste estudo evidenciam os efeitos do processamento em relação à inclusão de complexos enzimáticos em rações extrusadas, e demonstram as vantagens da utilização do SSF.

O nível de inclusão de 800 ppm foi o melhor nível utilizado, pois gerou melhor peso final, ganho de peso e TCE, o que resultaria, segundo a literatura, uma redução com os custos de alimentação e uma redução no tempo de engorda (CAMPESTRINI et al, 2005). Outros experimentos com suplementação enzimática para tilápias reforçam a idéia de que ocorre melhora no aproveitamento dos nutrientes, refletindo em melhores índices zootécnicos (GONÇALVES et al., 2007; MOURA et al., 2007; GUIMARÃES et al., 2009), como também verifica-se para adição do complexo enzimático SSF (BELAL & KHALAFALLA, 2011; MOURA ET AL., 2012). Esta otimização gera diminuição de gastos (BELAL & KHALAFALLA, 2011).

A composição bromatológica de tilápia do Nilo, submetida a rações elaboradas com diferentes níveis e etapa de inclusão de complexo enzimático não diferiu entre os tratamentos do presente estudo, corroborando com os resultados observados por Signoret al. (2010), que em seu trabalho com suplementação de complexo enzimático (amilase, protease, celulase, lipase, pectinase, xilanase,  $\beta$ -glucanase and fitase) com 3 níveis de inclusão (1000, 1500 e 2000ppm) para tilápias do Nilo, não observaram diferenças significativas nos níveis de nutrientes analisados das

carcaças. Porém os autores, contrariamente ao presente trabalho, observaram diferença nos níveis de extrato etéreo que apresentaram redução linear com a inclusão de enzimas.

Porém, similarmente ao observado para tilápia do Nilo neste experimento, Oliva-Teles et al. (1998), também não obteve diferenças nos níveis de extrato etéreo, em seu trabalho com suplementação enzimática de fitase microbiana para juvenis de seabass (*Dicentrarchus labrax*).

Valores semelhantes foram encontrados por Rocha et al. (2007), em seu trabalho com diferentes níveis de suplementação enzimática de fitase microbiana para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*), onde não ocorreu diferença significativa nos seguintes nutrientes: matéria seca, matéria mineral e proteína bruta. Silva et al. (2007), em seu trabalho com juvenis de tilápia do Nilo com diferentes níveis de suplementação de fitase líquida, não observaram diferença estatística nos níveis de cálcio.

## **5-CONCLUSÃO**

Quando adicionado antes do processamento, as enzimas do complexo enzimático SSF têm sua atividade catalítica reduzida ou perdida, refletindo no desempenho animal, sendo recomendado a inclusão de 800 ppm na forma “on top” no cultivo de tilápias do Nilo.

## 6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJWA, H. A.;M. A. TABATABAI. Decomposition of different organic materials in soils. **Biology and Fertility of Soils**, v.18, n.3, p.175-182. 1994.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION **Standard methods for the examination of water and wastewater.16.ed. Washington:** American Public Health Association, 1989.

ARAÚJO,L.C.; GOULDING, M. **Os frutos do tabaqui:**Ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. Manaus: Sociedade Civil Mamirauá, 1998.

ARAÚJO, C.R.; GARRIDO, C.V.S.; LEAL, S.C.S.; CAMPOS, L.M.A.; **Estudo das rotas de hidrólise química e biológica para a produção de etanol de segunda geração a partir de resíduos lignocelulósicos.** In: XII SEPA – Seminário Estudantil de Produção Acadêmica, UNIFACS, 2013.

BELAL E.B.; KHALAFALLA M.M.E. Biodegradation of *Panicumrepens* residues by *Pleurotostreatus* for its use as a non-conventional feedstuff in diets of *Oreochromis niloticus*. **African Journal of Microbiological Research**, v.5, n.19, p.3038-3050, 2011.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para a tilápia do Nilo (*Oreochromisniloticus*, L.) **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.539-545, 2002.

BIAZUS, J. P. M.; SANTANA, J.C.C.;SOUZA, R.R.; TAMBOURGI, E.B.; Caracterização da atividade amilásica do malte de milho (*Zea mays*). **Acta Scientiarum: Technology**, v.28, n.1, p.13-19, 2006.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M.; APPET, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-267, 2005.

CARAWAY, W.T. A stable starch substrate for the determination of amylase in serum and other body fluids. **American Journal of Clinical Pathology**, v.32, n.1, p.97-99, 1959.

COUSINS, B. **Enzimas na Nutrição de Aves.** In: I Simpósio Internacional ACAV—Embrapa sobre Nutrição de Aves, Concórdia, 1999.

FURUYA, W.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V.R.B. et al. Exigência de proteína para alevino revertido de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1912-1917, 2000.

FURUYA, W.M.; GONÇALVES, G. S.; FURUYA, V. R. V.; HAYASHI, C. Fitase na Alimentação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e Digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.924-929, 2001.

FURUYA, W.M.; SANTOS, V.G.; BOTARO, D.; HAYASHI, C.; SILVA, L.C.R. Níveis de proteína e fitase em rações de terminação para a tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*), **Arquivos de ciência veterinária e zoologia**, v.8, n.1, p.11-17, 2005.

GIONGO, J. L. **Caracterização e aplicação de proteases produzidas por linhagens de Bacillus sp.** Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. 2006.

GOMES, E., GUEZ, M.A.U., MARTIN, N., SILVA, R. Enzimas termoestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. **Química Nova**, v.30, n.1, p.136-145, 2007.

GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; PADILHA, P.M.; BARROS, M.M. Disponibilidade aparente do fósforo em alimentos vegetais e suplementação da enzima fitase para tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.36, n.5, p.1473-1480, 2007.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial.** Jundiaí: edição do autor, 2000.

MORO, G. V.; SILVA, S. C.; DAIRIKI, J. K.; PENA, S. V.; BALDESSIN JÚNIOR, V.; CYRINO, J. E. P. **Digestibilidade de diferentes fontes de carboidratos para o dourado (Salminus brasiliensis), em rações peletizadas e extrusadas.** In: congresso da sociedade brasileira de aquicultura e biologia aquática, Palmas, 2012.

MOURA, G.S.; OLIVEIRA, M.G.A.; LANNA, E.T.A.; MACIEL-JÚNIOR, A.; MACIEL, C.M.R.R. Desempenho e atividade de amilase em tilápias-do-nilo submetidas a diferentes temperaturas. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.42, n.11, p.1609-1615, 2007.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v.31, n.3, p.426-428, 1956.

NUNES, E.S.S.; CAVERO, B.A.S.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R.; Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p.139-143, 2006.

OLIVA-TELES, A.; PEREIRA, J. P.; GOUVEIA, A.; GOMES, E. Utilisation of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquatic Living Resources**, v.11, n.4, p.255-259, 1998.

PASSOS, S.R.; REIS-JUNIOR, F.B.; RUMJANEK, N.G.; MENDES, I.C.; BAPTISTA, M.J.; XAVIER, G.R. Atividade enzimática e perfil da comunidade bacteriana em solo submetido à solarização e biofumigação. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.43, n.7, p.879-885, 2008.

PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M.; QUINTERO-PINTO, G.; FURUYA, W.M.; PEZZATO, A.C. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.

REIS, T. A. F. C.; DIAS, F. M. V.; FONTES, C. M. G. A.; SOARES, M. C.; FERREIRA, L. M. A. Avaliação do potencial biotecnológico de xilanases do *Clostridium termophilum* e *Cellvibrio mixtus*: sua utilização na suplementação de dietas à base de trigo para frango de corte. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.96, p.125-134, 2001.

ROBINSON, E. H.; LI, M. H.; MANNING, B. B.; **A Practical Guide to Nutrition, Feeds, and Feeding of Catfish**. 1113.bo. Missisipi, 2001.

ROCHA, B. C.; POUHEY, J. L. O. F.; ENKE, D. B. S.; XAVIER, E. G.; ALMEIRA, D. B. Suplementação de fitase microbiana na dieta de alevinos de jundiá: efeito sobre o desempenho produtivo e as características de carcaça. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p.1772-1778, 2007.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T.; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011.

SHIBAO, J.; BASTOS, B.H.M.; Produtos da reação de Maillard em alimentos: implicações para a saúde. **Revista de Nutrição**. v.24, n.6, p. 895-904, 2011

SIGNOR, A.A., BOSCOLO, W.R., BITTENCOURT, F., FEIDEN, A., GONÇALVES, G.S. E FREITAS, J.M.A. Desempenho de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com rações contendo complexo enzimático. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.39, n.5, p.977-983, 2010.

SILVA, T.S.C.; FURUYA, W.M.; SANTOS, L.D.; FUJII, K.M.; MICHELATO, M.; IWAMOTO. Fitase líquida em dieta extrusada para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) **Acta Scientia Animal Sciences**, v.29, n.4, p.449-455, 2007

SILVEIRA, M. H. D.; USSO, J. T. Z.; ROSSI, P.; RUTZ, F.; ANCIUTI, M. A.; ZAUK, N. F.; RIBEIRO, C. L. G. BRUM R. P. A.; NUNES, J.K. Effect of pelletization on diets containing an enzymatic complex for broiler chickens. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.2, p.326-333, 2010.

UENOJO, M.; PASTORE, G.M. Pectinolytic enzymes. Industrial applications and future perspectives. **Química Nova**, v.30, n.2, 2007.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **SAEG**: sistemas para análises estatísticas e genéticas: versão 9.0. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 2004.

VAN SOEST P. J.; ROBERTSON J. B.; LEWIS B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p. 3583-3597, 1991.

VIEILLE, C. AND ZEIKUS, J. Thermoenzymes: identifying molecular determinants of protein structural and functional stability. **Trends in Biotechnology**, v.14, n.1, p.183-190, 1996.

#### 4.2- INCLUSÃO DE COMPLEXO ENZIMÁTICO SSF EM RAÇÕES PARA JUVENIS DE TAMBACU

**RESUMO-** Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da inclusão de diferentes níveis de um complexo enzimático SSF, adicionados na forma “on top” após a extrusão em rações para tambacu. Foram avaliados os parâmetros de desempenho: peso, ganho de peso, conversão alimentar, sobrevivência, comprimento total, biomassa, ganho em biomassa e comprimento padrão. O experimento foi composto por seis tratamentos sendo eles: 0, 200, 400, 600, 800, 1000 ppm de SSF/ton de ração, em um delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Cada aquário continha dez peixes, totalizando 240 animais, com peso médio inicial  $0,42 \pm 0,015$ g. Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia (8, 11, 14 e 17 horas), até a saciedade evitando sobras de alimento, durante 56 dias. Os resultados foram avaliados utilizando-se regressão em nível de significância de 0,05 de probabilidade. Percebeu-se que inclusão de 600 ppm de SSF “ontop” proporcionou melhores índices de conversão alimentar. Não foram observadas tendências em sobrevivência, peso final, ganho de peso, comprimento total, biomassa final, ganho em biomassa e comprimento padrão. Portanto, recomenda-se a inclusão “on top” de 600 ppm de SSF em rações para tambacus.

**Palavras-chave:** *Aspergillus niger*, híbrido, enzimas, nutrição de peixes, solid station fermentation.

## INCLUSION COMPLEX OF ENZYME SSF IN DIETS FOR JUVENILE OF TAMBACU

**ABSTRACT** – The objective of this study was to evaluate the effect of different inclusion levels of an enzyme complex SSF, added as "on top" after extrusion in feed tambacu. Weight, weight gain, feed conversion, survival, total length, biomass, and biomass gain in standard length: performance parameters were evaluated. The experiment consisted of six treatments which were: 0, 200, 400, 600, 800, 1000 ppm SSF / ton of feed, in a completely randomized design with four replications. Each aquarium contained ten fish, and totaling 240 animals, with initial average weight  $0.42 \pm 0.015$  g. The fish were fed four times a day (8, 11, 14, 17 hours) to satiation avoiding remnants of feed for 56 days. Results were evaluated using regression at a significance level of 0.05 probability. It was noticed that inclusion of 600 ppm SSF "on top" provided better feed conversion ratios. No trends in survival, final weight, weight gain, total length, the final biomass and biomass gain in standard length was observed. Therefore, it is recommended to include "on top" of 600 ppm SSF in diets for tambacus.

**Keywords:** *Aspergillus nigger*, hybrid, enzymes, fish nutrition, solid fermentation station.

## 1-INTRODUÇÃO

A hibridação, para a aquicultura, permite gerar indivíduos com características desejáveis tais como: resistência a doenças, ganho de peso acelerado, melhor qualidade da carne, resistência a mudanças no ambiente (BARTLEY, 2001).

O híbrido tambacu, resultado do cruzamento de fêmea de tambaqui (*Colossoma macropomum*) com macho de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), vem se destacando nos últimos anos na piscicultura, por gerar um produto de excelente qualidade de carne, com características que agradam o consumidor, dentre elas, a baixa quantidade de gordura quando comparado aos seus parentais (GONÇALVES et al., 2010).

Devido a baixa quantidade de estudos na área da nutrição para tambacus, torna-se necessário a realização de trabalhos com a espécie. Além disso, vale ressaltar que a maior parte dos custos de uma produção na piscicultura estão relacionados com a alimentação (50 a 80%), o que motiva pesquisadores e produtores a buscar alimentos alternativos e a inclusão de aditivos. (PEREIRA FILHO, 1995)

Considera-se como aditivo toda a substância adicionada ao alimento que não influencie no seu valor nutricional, dentre elas, destacam-se as enzimas exógenas (CAMPESTRINI et al, 2005).

O SSF (*solid state fermentation*) é um complexo de enzimas produzido através de técnicas de fermentação naturais em um substrato sólido por fungos (*Aspergillus niger*), gerando uma série de enzimas como protease,  $\alpha$ -amilase, lipase, celulase, xilanase,  $\alpha$ -galactosidase, pectinase, fitase e endoglucanase (carboxi-metil-celulase), que atuam em diferentes componentes da ração tornando-os acessíveis, o que resulta em uma maior disponibilidade de aminoácidos, energia, cálcio e fósforo (MOURA et al., 2012).

As rações utilizadas na piscicultura são na sua maioria extrusadas, pois embora a extrusão resulte em aumento do custo final do produto, este custo acaba sendo compensado pela melhora na eficiência alimentar para os peixes e pela menor deterioração da qualidade da água, possibilitando um crescimento mais rápido do animal e um melhor aproveitamento dos nutrientes, reduzindo, com isto, os custos com alimento por unidade de peixe produzida (KUBITZA, 1997).

Porém, vale ressaltar que a extrusão é um processo de cozimento à alta pressão, umidade e temperatura, que pode chegar a 88 a 149 °C (ROBINSON et al., 2001). Estas condições podem ocasionar a inativação enzimática, produzindo efeitos opostos sobre a atividade enzimática e a estabilidade (VIEILLE & ZEIKUS, 1996); sendo portanto, necessário que este complexo enzimático seja incluso após o processo de extrusão.

Portanto, objetivou-se com o presente estudo avaliar a inclusão do complexo enzimático SSF, após a extrusão, em diferentes níveis sob o desempenho de tambacus.



Sal comum	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Inerte	0,10	0,08	0,06	0,04	0,02	-
SSF <sup>(2)</sup>	-	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
Gelatina <sup>(4)</sup>	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
BHT <sup>(3)</sup>	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
<b>Composição calculada<sup>(5)</sup></b>						
Matéria seca (%)	87,64	87,64	87,64	87,64	87,64	87,64
Proteína bruta (%)	35	35	35	35	35	35
ED (Kcal/Kg)	3000	3000	3000	3000	3000	3000
Fibra bruta (%)	4,92	4,92	4,92	4,92	4,92	4,92
Extrato etéreo (%)	1,99	1,99	1,99	1,99	1,99	1,99
Cálcio total (%)	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Fósforo total (%)	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02
Lisina total (%)	2,07	2,07	2,07	2,07	2,07	2,07
Ácido linoleico (%)	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06

<sup>(1)</sup>Suplemento vitamínico e mineral comercial para peixes; níveis de garantia (por kg do produto): vit. A - 1,200,000 IU; vit. D3 - 200,000 IU; vit. E - 1,200 mg; vit. K3 - 2,400 mg; vit. B1 - 4,800 mg; vit. B2 - 4,800 mg; vit. B6 - 4,800 mg; vit. B12 - 4,800 mg; vit. C - 48 g; ácido fólico - 1,200 mg; Pantotenato de cálcio - 12,000 mg; biotina - 48 mg; Cloreto de colina - 108 g; niacina - 24,000 mg.(2)O complexo SSF tem como nome comercial Allzyme<sup>®</sup>SSF e é advindo da empresa Alltech Inc. (3) BHT - butylatedhydroxytoluene(4) A gelatina foi incluída na ração após o processo de extrusão juntamente com o complexo enzimático sob a forma “on top”(5)Valores estimados com base nos coeficientes de digestibilidade dos ingredientes para os aminoácidos e fósforo, de acordo com Rostagno et al. (2011) e Furuya et al (2000), e de energia, de acordo com Boscolo et al. (2002) e Pezzato et al. (2002).

Aos 56 dias de experimento foi calculada a sobrevivência e todos os animais foram anestesiados com eugenol previamente dissolvido em álcool absoluto (25 mg/L durante 1 minuto), pesados em balança analítica de precisão 0,001 e medidos com paquímetro digital para obtenção dos comprimentos padrão e total. Posteriormente foram avaliados: consumo de ração (g/dia), ganho de peso (g), conversão alimentar (g/g), biomassa (g) e ganho em biomassa (g).

A partir dos registros do consumo total de ração e do ganho de peso [GP = (peso final - peso inicial)], foi calculada a conversão alimentar [CA = (consumo de ração/ganho de peso)]. E a partir dos registros de sobreviventes e peso foram calculados a biomassa inicial e final (número de indivíduos x peso médio), e o ganho de biomassa estimada (número de indivíduos x ganho de peso).

Os dados de desempenho foram submetidos a regressão através do programa SAEG – Sistemas para Análises Estatísticas e Genéticas – UFV (2004). Modelos lineares de cada

parâmetro em função do complexo enzimático SSF foram testados e a escolha da melhor equação foi dada pelo maior coeficiente de determinação ( $r^2$ ), para a significância dos coeficientes de regressão pelo teste t a 0,05 de probabilidade e para a sua adequação biológica. Anteriormente à análise de variância, os dados de sobrevivência foram transformados para arcosen, mas na tabela são apresentados valores em porcentagem.

### 3-RESULTADOS

Os parâmetros de qualidade de água encontram-se na tabela 2.

**Tabela 2.** Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) dos parâmetros de qualidade de água obtidos durante o período experimental de tambacu alimentado com rações contendo Allzyme SSF

Parâmetros	Médias	CV (%)
pH	7,33 $\pm$ 0,30	5,26
Nitrito (mg.L <sup>-1</sup> )	0,01 $\pm$ 0,01	1,11
Amônia total (mg.L <sup>-1</sup> )	0,02 $\pm$ 0,00	3,06
Temperatura (°C)	25,56 $\pm$ 3,68	1,72
Oxigênio dissolvido (ppm)	5,14 $\pm$ 0,60	1,45

Analisados no Laboratório de Aquicultura e Ecologia Aquática do DZO (UFVJM)

Aos 56 dias foram obtidos dados de desempenho (tabela 2).

**Tabela 3.** Desempenho de tambacus, aos 56 dias, alimentados com rações contendo diferentes níveis de Allzyme SSF

Parâmetros	Níveis de inclusão de SSF (ppm)						CV (%)
	0	200	400	600	800	1000	
Peso inicial (g)	4,28	4,35	4,27	4,27	4,32	4,29	5,32
Peso Final (g)	11,86	11,83	11,89	12,33	12,16	12,00	4,14
Ganho de peso (g)	7,51	7,55	7,61	8,06	7,83	7,71	5,70
Conversão Alimentar (g/g) <sup>1</sup>	1,82	1,78	1,74	1,70	1,71	1,71	2,57
Comprimento Padrão(cm)	68,07	71,71	68,90	69,22	69,57	66,71	6,82
Consumo ração (g)	13,68	13,43	13,26	13,71	13,44	13,17	4,52
Biomassa inicial (g)	33,70	32,62	34,23	35,23	34,60	35,30	6,87
Biomassa final (g)	91,97	90,32	95,24	101,73	97,32	98,86	7,90
Ganho em biomassa (g)	58,27	57,69	61,00	66,49	62,72	63,55	9,48
Comprimento Total (cm)	85,86	86,07	85,82	88,85	87,21	87,50	6,50
Sobrevivência (%)	77,50	76,25	80,00	82,50	80,00	82,50	6,22

<sup>1</sup> Efeito linear ( $p < 0,05$ ):  $y = -0,0225569 + 1,82447x$ ;  $r^2 = 0,81$

Não foram observados efeitos ( $p > 0,05$ ) para as variáveis avaliadas, exceto para conversão alimentar ( $p < 0,05$ ), em função dos tratamentos. Até o nível de inclusão de 600 ppm, houve melhora na conversão alimentar, não sendo verificadas a partir deste valor alterações neste

parâmetro. Observou-se também que o nível de inclusão no qual foi obtido melhor conversão alimentar foi o nível de 600ppm, sugerindo que o acréscimo de SSF a partir deste valor não promove alterações neste parâmetro. Além disso, não houve influência ( $p>0,05$ ) dos níveis de inclusão enzimática sob o peso inicial, peso final, ganho de peso, consumo de ração, comprimento padrão, comprimento total, biomassa inicial e final, ganho em biomassa e sobrevivência.

#### 4-DISCUSSÃO

Durante todo o período experimental, o sistema de recirculação manteve a qualidade de água dentro dos níveis compatíveis para a espécie, similarmente ao observado na literatura (SIGNOR et al., (2010), MOURA et al., (2012), SILVA et al., (2007)).

A inclusão de 600 ppm de complexo enzimático SSF na forma “on top” após a extrusão para s de juvenis de tambacu proporcionou melhor conversão alimentar, porém não interferiu nos demais parâmetros de desempenho mensurados.

Moura et al. (2012) obteve resultados semelhante sem seu experimento incluindo níveis do complexo enzimático SSF em rações peletizadas para tilápias do Nilo. Os autores observaram melhoras gradativas na conversão alimentar com a inclusão do SSF até o maior nível de inclusão (150 ppm), ainda ressaltam que esta melhora ocorre em função da maior biodisponibilidade de nutrientes.

Em um estudo com juvenis tilápias no Nilo, Signor et al. (2010) observou que a inclusão de complexo enzimático contendo amilase, protease, celulase, lipase, pectinase, xilanase,  $\alpha$ -glucanase e fitase também não interferiu no ganho de peso, porém melhorou a conversão alimentar.

A similaridade dos demais dados de desempenho do presente estudo nos sugerem que o tambacu, assim como o tambaqui, sendo uma espécie onívora, com tendência a frugívoro no ambiente natural (LOPES et al., 2010), possui uma habilidade de digerir alimentos de difíceis digestão, principalmente frutos e sementes presentes na sua ração natural (SILVA et al., 2003). Esta capacidade de digerir alimentos menos assimiláveis, provavelmente, minimizou o efeito do complexo enzimático não ocasionando diferença nos demais parâmetros.

Em um trabalho com suplementação enzimática para tilápias do Nilo, Furuya et al. (2001), também não observa diferença nos índices de sobrevivência e ganho de peso, e estimando-se os valores de biomassa a partir dos seus dados, percebeu-se semelhança aos dados

de biomassa final e ganho em biomassa do presente trabalho. Já na conversão alimentar, os mesmos autores verificaram que a inclusão enzimática promove uma melhoria neste parâmetro.

Em um trabalho com suplementação de protease para tambacus, Nunes et al. (2006), também não observou diferença significativa no peso final, e no consumo de ração, assim como no presente trabalho. Furuya et al. (2005) em um trabalho em suplementação de fitase e níveis de proteína, também não observou diferenças significativas no peso final.

Mendonça et al. (2012), em seu trabalho com suplementação de fitase em rações para tambaquis, também não observou diferenças significativas no comprimento total e padrão, similarmente ao observado no presente estudo.

## **5-CONCLUSÃO**

Para melhorar a conversão alimentar de juvenis de tambacu, deve-se adicionar 600 ppm de complexo enzimático SSF na ração.

## 5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION **Standard methods for the examination of water and wastewater. 16.ed. Washington: American Public Health Association, 1989.**

BARTLEY, D.M., RANA, K.; IMMINK, A. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. **Reviews Fish Biology and Fisheries**, n.3, v.10, p.325-337, 2001.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.) **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.539-545, 2002.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M.; APPET, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-267, 2005.

FURUYA, W.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V.R.B. et al. Exigência de proteína para alevino revertido de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1912-1917, 2000.

FURUYA, W.M.; GONÇALVES, G. S.; FURUYA, V. R. V.; HAYASHI, C. Fitase na Alimentação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e Digestibilidade. **Rev. Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3, p.924-929, 2001.

FURUYA, W.M., SANTOS, V.G., BOTARO, D., HAYASHI, C. E SILVA, L.C.R. Níveis de proteína e fitase em rações de terminação para a tilápia do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivos Ciência Veterinária e Zootecnia**, v.8, n.1, p.11-17,2005.

GONÇALVES, A.C.S.; MURGAS, L.D.S.; ROSA, P.V. E; NAVARRO, R.D.; COSTA, D.V.; TEIXEIRA, E.A. Desempenho produtivo de tambacus alimentados com dietas suplementadas com vitamina E. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.9, p.1005-1011, 2010.

KUBITZA, F. **Qualidade do alimento, qualidade da água e manejo alimentar na produção de peixes.** In: Simpósio Sobre Manejo E Nutrição De Peixes, Piracicaba. Anais... Piracicaba: CBNA, 1997, p. 63-101. 1997.

LOPES, J.M.; PASCOAL, L.A.F.; SILVA-FILHO, F.P.; SANTOS, I.B.; WATANABE, P.H.; ARAÚJO, D.M.; PINTO, D.C.; OLIVEIRA, P.S.; Farelo de babaçu em dietas para tambaqui. **Revista Brasileira de Saúde na Produção Animal**, v.11, n.2, p.519-526, 2010.

MENDONÇA, P.P.; COSTA, P.C.; POLESE, M.F.; VIDAL-JUNIOR, M.V.; ANDRADE, D.R.; Efeito da suplementação de fitase na alimentação de juvenis de tambaqui. **Archives of Zootechnia**, v.61, n.235, 2012.

MOURA, G.S.; LANNA, E.T.A.; FILER, K.; FALKOSKI, D.L.; DONZELE, J.L.; OLIVEIRA, M.G.A.; REZENDE, S.T. Effects of enzyme complex SSF (solid state fermentation) in pellet diets for Nile tilapia. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.41, n.10, p.2139-2143, 2012.

NUNES, E.S.S.; CAVERO, B.A.S.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R.; Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.1, p.139-143, 2006.

PEREIRA-FILHO, M. Alternativas para alimentação de peixes em cativeiro. In: VAL, A.L.; HONCZARYK, A. (Ed.). **Criando peixe na Amazônia**. Manaus: MCT: INPA, 75-82 p. 1995.

PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M.; QUINTERO-PINTO, G.; FURUYA, W.M.; PEZZATO, A.C. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.

ROBINSON, E. H.; LI, M. H.; MANNING, B. B.; **A Practical Guide to Nutrition, Feeds, and Feeding of Catfish**.1113.bo. Missisipi, 2001.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T.; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**.3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 252p. 2011.

SIGNOR, A.A., BOSCOLO, W.R., BITTENCOURT, F., FEIDEN, A., GONÇALVES, G.S. E FREITAS, J.M.A. Desempenho de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com rações contendo complexo enzimático. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.39, n.5, p.977-983, 2010.

SILVA, J.A.M.; PEREIRA-FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M.I.; Frutos e Sementes Consumidos pelo Tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) incorporados em rações. digestibilidade e velocidade de trânsito pelo trato gastrointestinal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, n.6, p.1815-1824, 2003.

SILVA, T.S.C.; FURUYA, W.M.; SANTOS, L.D.; FUJII, K.M.; MICHELATO, M.; IWAMOTO. Fitase líquida em dieta extrusada para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) **Acta Scientiarum, Animal Sciences**, v. 29, n. 4, p. 449-455, 2007.

VIELLE, C. AND ZEIKUS, J. Thermo enzymes: identifying molecular determinants of protein structural and functional stability. **Trends in Biotechnology**, v.14, n.1, p.183-190, 1996.