

Digestibilidade aparente e suplementação de fitase em alimentos vegetais para tilápia do Nilo

Giovani Sampaio Gonçalves^{1*}, Luiz Edivaldo Pezzato², Margarida Maria Barros², Hamilton Hisano², Edson de Souza Freire² e Jeisson Emerson Casimiro Ferrari²

¹Centro de Aqüicultura da Unesp - Caunesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. ²Departamento de Nutrição Animal, FMVZ, Universidade Estadual Paulista, C.P. 560, 18618-000, Botucatu, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: goncalves@fca.unesp.br

RESUMO. Alimentos de origem vegetal utilizados em rações comerciais para peixes contêm fatores antinutricionais tais como o fitato, molécula capaz de complexar com minerais, aminoácidos, amido e que pode, também, atuar de forma negativa nas reações enzimáticas digestivas. Desse modo, esse estudo teve por objetivo avaliar o efeito da enzima fitase (0, 1.000 e 2.000 UF/kg) na digestibilidade aparente de 5 alimentos energéticos (milho, milho extrusado, farelos de trigo, de arroz e de sorgo) e 5 protéicos (soja extrusada, farelos de soja, de girassol, de algodão e glúten de milho) utilizando uma ração à base de albumina e gelatina e 0,10% de óxido de crômio (Cr₂O₃) como referência. Foram determinados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca, a proteína bruta e energia bruta. Foram utilizados 100 juvenis de tilápia do Nilo com peso médio de 100,0 g os quais foram alojados em 10 gaiolas para o manejo de alimentação e coleta de fezes. Alimentos de origem vegetal respondem à presença da enzima fitase de forma diferenciada. Os valores digestíveis da matéria seca, da proteína bruta e energia bruta dependem do valor biológico dos alimentos, da concentração e da natureza do fitato e do nível de suplementação de enzima.

Palavras-chave: nutrição, enzima, fitase, peixes, ração.

ABSTRACT. Apparent digestibility and supplementation of phytase in vegetable feedstuff for Nile tilapia. Vegetable feedstuff used in commercial fish diets contains antinutrients, such as phytate, molecule able to complex minerals, amino acids, starch and, which can also acts in a negative way on the digestive enzymatic reactions. Thus, this study aimed to evaluate the effect of phytase enzyme (0; 1,000; 2,000 UF/kg) on the apparent digestibility of five energetic feedstuff (corn, extruded corn, wheat middling, rice meal and sorghum) and five protein feedstuff (soybean meal, extruded soybean meal, sunflower meal, cottonseed meal and gluten meal) using an albumin-gelatin diet and 0.10% of chromic oxide (Cr₂O₃), as indicator. Apparent digestibility coefficient (ADC) of dry matter, crude protein and gross energy were determined. One hundred Nile tilapia juveniles, 100.0g average weight, were stocked in 10 cages for feeding and feces collect. Phytase acts in different way on vegetable feedstuffs. The digestible values of dry matter, crude protein and gross energy depend on the biological values of feedstuffs, concentration and nature of phytate and enzyme level supplementation.

Key words: nutrition, enzyme, phytase, fish, diet.

Introdução

Os peixes na natureza suprem com facilidade suas exigências nutricionais com base nos alimentos disponíveis no meio. Atualmente, a prática da produção de peixes em sistema intensivo e super-intensivo vem aumentando de forma expressiva e, aliado, a essa produção, uma maior atenção tem sido dada ao alimento utilizado nesses sistemas, uma vez que a ração é o único alimento a ser oferecido aos peixes.

As rações utilizadas para o arraçoamento dos peixes, mesmo dos onívoros tropicais, contêm fontes

protéicas de origem animal. Dentre estas, as mais empregadas são as farinhas de peixe, de carne, de vísceras de aves e de sangue. A indústria de ração animal se preocupa em produzir rações de boa qualidade nutricional, tendo os responsáveis por sua formulação utilizado alguns alimentos energéticos e/ou protéicos alternativos de menor custo e que estejam disponíveis durante a maior parte do ano, sem que haja prejuízo à qualidade do produto final. Esses alimentos, na grande maioria de origem vegetal, ao serem utilizados nas rações comerciais incorporam à água de cultivo elevados níveis de nutrientes, sendo o

nitrogênio o de maior destaque. Atribui-se tal quadro a alguns alimentos, por apresentarem baixa qualidade nutricional (digestibilidade) ou ainda teor protéico além do necessário.

O avanço da tecnologia de processamento de alimentos, a engenharia genética, a disponibilidade de novos pró-nutrientes e aditivos, além do maior número de informações acerca das exigências nutricionais dos peixes, têm possibilitado a elaboração de rações exclusivamente vegetais, minimizando custos de produção e proporcionando menor descarga de nitrogênio e de outros nutrientes ao meio ambiente.

Os alimentos de origem vegetal podem conter até 81,00% dos fosfatos presente, na forma de fósforo fítico (Riche e Brown, 1996), sendo este capaz de complexar com cátions, proteínas, lipídeos e amido (Cheryan, 1980), tornando assim grande parte destes nutrientes não digestíveis para os peixes, uma vez que, de acordo com Vielma *et al.* (1998), a mucosa intestinal dos peixes não secreta a enzima fitase, uma fosfatase que remove o fosfato do fósforo fítico.

Deve ser considerado, além do valor nutritivo das rações formuladas, a carga de nutrientes, principalmente o nitrogênio o qual é continuamente excretado devido à sua baixa absorção ou ao seu excesso. É importante o conhecimento do valor energético e do coeficiente de digestibilidade dos nutrientes dos alimentos que possam compor as rações comerciais para peixes. Sendo assim, a utilização de pró-nutrientes na alimentação animal vem aumentando e, com destaque, a fitase, que melhora a eficiência de utilização dos nutrientes, dentre eles a proteína, a energia e os minerais, entretanto pouca atenção tem sido dada ao uso dessa enzima para aumentar a digestibilidade de outros nutrientes que não os minerais. Kornegay (1999) relata a capacidade do ácido fítico em influenciar negativamente na digestão da proteína e aminoácidos da dieta, pelo fato de inibir a ação de enzimas proteolíticas tais como a pepsina e a tripsina no trato digestório de animais monogástricos e acordo com Ravindran (1999), o amido presente nos alimentos de origem vegetal, fonte esta de energia para animais monogástricos, pode ser influenciado negativamente pelo ácido fítico de uma ou mais maneiras, ou seja, através da ligação da α -amilase ou quelação do Ca^{+2} necessário para a atividade normal da amilase, e/ou através da ligação do amido diretamente com a proteína, formando um complexo menos digestível.

O presente estudo teve por objetivo avaliar com a tilápia do Nilo a ação da enzima fitase na digestibilidade aparente da matéria seca, da proteína bruta e da energia bruta de alguns alimentos protéicos e energéticos de origem vegetal.

Material e métodos

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Aquanutri - Unesp Campus de Botucatu, Estado de São Paulo, laboratório associado ao Centro de Aqüicultura da Unesp. Teve por objetivo avaliar os efeitos da utilização da enzima fitase 0, 1.000 e 2.000 unidades de fitase ativa (UF) por kg de alimento teste, sobre a digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta e energia bruta de alimentos vegetais pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Foram avaliados 5 alimentos protéicos (farelo de soja, farelo de soja extrusada, farelo de girassol, farelo de algodão e glúten de milho) e, 5 alimentos energéticos (milho, milho extrusado, sorgo baixo tanino, farelo de arroz e farelo de trigo) (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e energia bruta (EB) dos alimentos utilizados nas rações experimentais. Valores expressos em 100% da matéria seca¹.

Alimento	MS (%)	PB(%)	EB (kcal/kg)
Energético			
Milho	88,63	8,06	4.108
Milho extrusado	88,98	8,43	4.202
Farelo de trigo	88,99	18,40	4.377
Sorgo baixo tanino	89,45	10,69	4.233
Farelo de arroz	87,56	14,28	4.730
Protéico			
Farelo de soja	89,56	50,25	4.509
F. de soja extrusado	94,60	52,15	4.727
Glúten de milho	91,38	70,97	5.615
Farelo de algodão	91,92	30,74	4.467
Farelo de girassol	92,49	38,76	5.548

¹Análise realizada no laboratório de bromatologia da FMVZ, Unesp Botucatu, Estado de São Paulo.

Para a determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), foi elaborada ração referência denominada de purificada, segundo o Instituto de Nutrição Americano (INA, 1977) com base na proteína da albumina e da gelatina, formulada para conter 32,0% de proteína digestível (PD) e 3.000 kcal de energia digestível (ED) / quilograma de ração. A ração referência foi adicionada na proporção de 40,0%, aos alimentos a serem avaliados, conforme apresentado na Tabela 2, segundo metodologia proposta por (Pezzato, 2001).

Foram confeccionadas 31 rações, sendo 10 rações sem a suplementação da enzima fitase, 10 rações com 1.000 UF/kg e 10 rações com 2.000 UF/kg, além da ração controle (purificada) sem adição de enzima. A ração controle foi utilizada como referência para a determinação dos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes.

Tabela 2. Composição percentual das rações experimentais (base na matéria natural).

Ingrediente	Alimento Energético			Alimento Protéico			
	Controle	Unidades de Fitase (UF)		Unidades de Fitase (UF)			
		0	1.000	2.000	0	1.000	2.000
Albumina	30,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Dextrose	25,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Amido de milho	25,00	10,11	10,09	10,07	10,11	10,09	10,07

Gelatina	10,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Óleo de soja	4,38	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75
α -celulose	5,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Supl.vit.Min. ⁽¹⁾	0,50	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
(BHT) ⁽²⁾	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Óxido de crômio	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Fitase	-	-	0,02	0,04	-	0,02	0,04
Energético							
Milho	-	60,00	60,00	60,00	-	-	-
Milho extrusado	-	60,00	60,00	60,00	-	-	-
Sorgo baixo tanino	-	60,00	60,00	60,00	-	-	-
Farelo de arroz	-	60,00	60,00	60,00	-	-	-
Farelo de trigo	-	60,00	60,00	60,00	-	-	-
Protéico							
Farelo de soja	-	-	-	-	60,00	60,00	60,00
F. de soja extrusado	-	-	-	-	60,00	60,00	60,00
Farelo de girassol	-	-	-	-	60,00	60,00	60,00
Farelo de algodão	-	-	-	-	60,00	60,00	60,00
Glúten de milho	-	-	-	-	60,00	60,00	60,00
Total (%)	100,00						

¹ Supl. Vit. Min. = Suplementação mineral e vitamínica: níveis de garantia por kg do produto: Vit. A = 1200.000UI; vit. D3 = 200.000UI; vit. E = 12000mg; vit. K3 = 2.400mg; vit. B1 = 4.800mg; vit. B2 = 4.800mg; vit. B6 = 4.000mg; vit. B12 = 4.800mg; ác. fólico = 1.200mg; pantotenato de Ca = 12000mg; vitamina C = 48.000mg; biotina = 48mg; colina = 65.000mg; niacina = 24.000mg; ferro = 10.000mg; cobre = 600mg; manganês = 4.000mg; zinco = 6.000mg; iodo = 20mg; cobalto = 2mg e selênio = 20mg;² BHT = antioxidante - Butil hidroxi toluene.

A fitase (comercial) apresentava concentração de 5.000 UF por grama do produto (Natuphos[®]), sendo uma unidade de fitase de ativa (UFA) definida como a quantidade de fitase que libera fósforo inorgânico do fitato de sódio (5,1 mM) a uma taxa de 1 μ mol/min em pH 5,5 e temperatura de 37°C (Kornegay, 1999).

Na confecção das rações-teste, após a pesagem, a homogeneização dos alimentos e, quando necessário, o acréscimo da enzima fitase, sendo esta acrescida na forma seca juntamente ao alimento teste, foi adicionado, água (50,0 \pm 2,0°C) na proporção de 30,00% do peso total da mistura. A mistura foi então peletizada em equipamentos eletrônico e desidratada em estufa de ventilação forçada (50,0 \pm 1,0°C), durante um período de 24 horas. Após secagem, os grânulos foram quebrados em moinho apropriado, o que possibilitou a obtenção de grânulos homogêneos com diâmetro condizente ao tamanho dos peixes em estudo (\approx 4,00 mm).

Para a obtenção das fezes, foi adotada a metodologia de Pezzato *et al.* (2001) segundo o qual os peixes (100 juvenis de tilápia do Nilo com peso médio de 100,0 \pm 5,0g) receberam as rações em aquários separados do sistema de coleta de fezes. Durante o período de alimentação os peixes foram alojados em gaiolas de formato circular (80,0cm de diâmetro e 60,0cm de altura), confeccionados em tela plástica (malha de 1,5cm entrenós). Cada gaiola fez parte de um conjunto de aquários circulares (aquários de alimentação), confeccionados em fibra de vidro, com capacidade para 250-L de água, em um sistema fechado de circulação, com renovação a cada 60 minutos. O sistema de alimentação era dotado de filtro físico e biológico, com aeração e controle digital para manutenção da temperatura na faixa de conforto para a espécie (26,0 \pm 1,0°C). Nos aquários de alimentação os peixes permaneceram durante o

dia, das 08h às 17h, onde receberam as rações à vontade, com maior frequência durante o final do período vespertino. As 10 gaiolas de alimentação foram divididas em 2 grupos (alimentos energéticos e protéicos) que em dias subsequentes eram submetidos aos 5 aquários de coleta de fezes. Tal medida foi aplicada a fim de se obter cinco repetições por tratamento.

Às 18h as gaiolas eram transferidas para os aquários de digestibilidade, um para cada gaiola, com capacidade para 300L, confeccionados em fibra de vidro. Os aquários de digestibilidade apresentam seu terço inferior em formato cônico, o qual é provido de registro que se acopla hermeticamente a um frasco transparente de 200mL, para coleta de fezes. Os aquários de digestibilidade foram providos de sistema individual de aeração e controle de temperatura. Os tanques-rede permaneceram nos aquários de digestibilidade até a manhã do dia seguinte, quando retornaram aos tanques de alimentação para um novo ciclo de coleta. Tal procedimento possibilitou a obtenção de fezes sem que houvesse a contaminação desse material pela dieta e/ ou pela água, em consequência da lixiviação dos nutrientes da ração. Após a retirada dos tanques-rede, por meio de centrifugação manual da água, as micropartículas presentes também foram coletadas com o conteúdo já presente nos frascos coletores. Toda água utilizada nos aquários de digestibilidade foi substituída a fim de evitar contaminações nas coletas seguintes.

As fezes presentes em cada frasco foram congeladas a -20°C, armazenadas e posteriormente desidratadas a 55,0°C por 48 horas, quando presentes, as escamas foram retiradas com auxílio de lupa após a secagem; em seguida, as amostras foram moídas e homogeneizadas, apresentando-se prontas para as análises químicas. Os CDA foram determinados pelo método indireto usando óxido de crômio III como indicador inerte (0,10%), seguindo metodologia proposta por Lovell (1988).

As análises para determinação da concentração de crômio, nas fezes e nas rações, foram realizadas a partir da mineralização ácida das amostras em forno de microondas e posterior quantificação do crômio por espectrometria de absorção atômica por chama (Shimadzu, 2000). As análises químico-bromatológicas dos alimentos, das rações e das fezes foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ - Unesp, Botucatu, segundo os protocolos da AOAC (1984).

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes foram calculados com base na seguinte fórmula (Nose, 1960):

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

Em que:

CDA = coeficiente de digestibilidade aparente (%);
 $\%Cr_2O_3r$ = percentagem de óxido de crômio na ração;
 $\%Cr_2O_3f$ = percentagem de óxido de crômio nas fezes;
 $\%N_f$ = percentagem de matéria seca, proteína ou energia nas fezes;
 $\%N_r$ = percentagem de matéria seca, proteína ou energia na ração.

A digestibilidade aparente da energia e dos nutrientes dos alimentos foi calculada de acordo com a fórmula descrita por Cho e Slinger (1979):

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

Em que:

CDA_N = coeficiente de digestibilidade aparente da energia ou nutriente;
 CDA_{RT} = coeficiente de digestibilidade aparente da energia ou nutriente na ração teste;
 CDA_{RR} = coeficiente de digestibilidade aparente da energia ou nutriente na ração referência;
 x = proporção da ração referência;
 y = proporção do alimento teste.

Os parâmetros de oxigênio dissolvido (mg/L) e pH foram determinados semanalmente e a temperatura da água acompanhada diariamente por meio de termostato digital.

Para a análise estatística, foi utilizado o programa de Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - Saeg (Universidade Federal de Viçosa, 1982). Os resultados dos estudos foram avaliados através da técnica da análise de variância (5% de probabilidade) e, quando significativo, aplicado o teste de comparações múltiplas de médias de Tukey, no nível de 5% de significância.

Resultados e discussão

Os valores médios obtidos para temperatura, oxigênio dissolvido e pH da água dos aquários experimentais foram $26,00 \pm 1,00^\circ C$, $7,20 \pm 1,00 mg/L$ e $7,5 \pm 0,60$ respectivamente, estando estes valores dentro da faixa recomendada por Popma e Green (1990) para as tilápias.

As médias dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) das frações matéria seca (MS) e da proteína bruta (PB) e, a energia digestível (ED) dos cinco alimentos protéicos e cinco energéticos, de origem vegetal, suplementados ou não com a enzima fitase, estão apresentadas nas Tabelas 3, 4 e 5, respectivamente.

Tabela 3. Digestibilidade aparente (%) da matéria seca (MS) de alimentos de origem vegetal, suplementados ou não com a enzima fitase para a tilápia do Nilo. Valores expressos em 100% da matéria seca.

Alimento	Coeficiente de Digestibilidade Aparente (%)		
	Níveis de suplementação de fitase (UF/kg)		
	0	1.000	2.000
Energético			
Milho	69,27 ± 2,92a	74,24 ± 0,75a	70,80 ± 2,19a
Milho extrusado	71,98 ± 1,57ab	69,96 ± 0,56b	74,53 ± 1,66a
Farelo de trigo	68,10 ± 1,61b	72,04 ± 1,36ab	70,99 ± 0,99a
Sorgo baixo tanino	70,05 ± 1,63b	74,24 ± 0,75a	67,85 ± 1,59b
Farelo de arroz	69,99 ± 1,68b	69,96 ± 0,56b	74,50 ± 2,03a
Protéico			
Farelo de soja	68,70 ± 2,36b	69,21 ± 0,64b	74,93 ± 1,90a
F. de soja extrusado	72,79 ± 1,34a	73,26 ± 1,74a	72,08 ± 1,28a
Glúten de milho	70,02 ± 3,18ab	69,44 ± 0,99b	73,54 ± 2,42a
Farelo de algodão	74,90 ± 0,99a	74,29 ± 1,20a	69,25 ± 2,51b
Farelo de girassol	66,64 ± 1,22b	70,68 ± 1,64a	70,26 ± 1,50a

Médias seguidas de letras iguais, na mesma linha, não diferem significativamente ($P > 0,05$).

Pode ser verificado na Tabela 3, que, entre os alimentos energéticos sem a suplementação de fitase, ocorreu variação muito pequena para o CDA da MS, o mesmo não ocorrendo para os alimentos protéicos, em que o farelo de algodão apresentou o maior CDA_{MS} (74,90%) em contrapartida ao farelo de girassol, o qual apresentou um CDA_{MS} de apenas 66,64%.

Após serem submetidos à análise de variância (Anova) e ao teste de comparação de médias (Tukey), foi verificado efeito estatisticamente significativo ($P < 0,05$) para CDA de alguns alimentos do tratamento controle (sem a suplementação da enzima fitase) em relação aos tratamentos com suplementação de 1.000 e 2.000 unidades de fitase (UF/kg).

Tabela 4. Digestibilidade aparente (%) da proteína bruta (PB) de alimentos de origem vegetal, suplementados ou não com a enzima fitase para a tilápia do Nilo. Valores expressos em 100% da matéria seca.

Alimento	Coeficiente de Digestibilidade Aparente (%)		
	Níveis de suplementação de fitase (UF/kg)		
	0	1.000	2.000
Energético			
Milho	91,01 ± 1,18a	90,45 ± 1,12a	91,53 ± 0,86a
Milho extrusado	83,89 ± 2,68a	85,67 ± 1,94a	75,16 ± 2,42b
Farelo de trigo	88,54 ± 0,63a	84,66 ± 1,76b	86,95 ± 0,79a
Sorgo baixo tanino	82,50 ± 1,24a	78,93 ± 1,45b	80,60 ± 0,81ab
Farelo de arroz	77,48 ± 1,00a	72,19 ± 1,98b	76,57 ± 1,40a
Protéico			
Farelo de soja	91,31 ± 0,66a	89,24 ± 1,88ab	88,67 ± 1,33b
F. de soja extrusado	86,68 ± 1,39a	83,91 ± 1,83a	85,97 ± 1,94a
Glúten de milho	51,54 ± 2,14a	53,14 ± 1,62a	51,62 ± 2,42a
Farelo de algodão	89,75 ± 0,91a	89,25 ± 1,95a	88,50 ± 0,81a
Farelo de girassol	89,05 ± 0,95a	86,29 ± 1,10b	89,84 ± 1,44a

Médias seguidas de letras iguais, na mesma linha, não diferem significativamente ($P > 0,05$).

Tabela 5. Energia digestível (ED) de alimentos de origem vegetal, suplementados ou não com a enzima fitase, para a tilápia do Nilo. Valores expressos em 100% da matéria seca.

Alimento	Energia Digestível (kcal/kg)		
	Níveis de suplementação de fitase (UF/kg)		
	0	1.000	2.000
Energético			
Milho	3.150b	3.287a	3.112b
Milho extrusado	3.127a	3.025b	3.196a
Farelo de trigo	3.109a	2.948b	3.133a
Sorgo baixo tanino	2.933a	2.997b	3.052a
Farelo de arroz	3.679a	3.389a	3.692a
Protéico			
Farelo de soja	3.482a	3.080b	3.409a

F. de soja extrusado	3.608a	3.471a	3.483a
Glúten de milho	3.755a	3.760b	3.995a
Farelo de algodão	3.277a	3.349a	3.313a
Farelo de girassol	3.973b	4.046b	4.201a

Médias seguidas de letras iguais, na mesma linha, não diferem significativamente ($P>0,05$).

Pode ser observado na Tabela 3, que o milho extrusado (CDA_{MS} 71,98%) e a soja extrusada (CDA_{MS} 72,79%) não tiveram seus CDA_{MS} aumentados com a suplementação da enzima fitase. Tal fato pode ser atribuído ao processamento pelo qual esses alimentos foram submetidos, tornando-os, portanto, mais digestíveis quando comparados aos não-processados (Bertipaglia 2002).

Resultado semelhante foi verificado para o farelo de algodão (CDA_{MS} 74,90%) e glúten de milho (CDA_{MS} 70,02%) que também não apresentaram um aumento do CDA com a suplementação da enzima fitase. Esses resultados confirmam os de Foster *et al.* (1999) e Lanari *et al.* (1998) os quais também não encontraram melhores respostas para o CDA_{MS} com a suplementação de fitase em rações à base de alimentos de origem vegetal, ambos para a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).

Os valores de CDA_{MS} sem a suplementação da enzima fitase obtidos nesse estudo são inferiores aos obtidos por Pezzato (2001) que, em pesquisa com a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), objetivando avaliar o CDA de vários alimentos utilizados em rações para peixes tropicais, obteve os valores de CDA_{MS} 88,91% e 90,00% para o farelo de algodão e glúten de milho, respectivamente.

Constata-se que o milho e o farelo de trigo, apesar de não diferirem estatisticamente entre os níveis de suplementação de enzima avaliados, apresentaram tendência de melhora do CDA_{MS} para o milho de 4,97% e para o farelo de trigo de 3,94%, quando suplementados com 1.000 UF/kg. Esse valor para o CDA_{MS} do farelo de trigo (68,10%) e semelhante aos encontrados por Furuya (2000) e Pezzato (2001) ambos para tilápia do Nilo, em que obtiveram valores de 67,33% e 66,05%, respectivamente. Os resultados encontrados confirmam as citações de Oliva-Teles *et al.* (1998) que, em pesquisa com juvenis de seabass (*Dicentrarchus labrax*) alimentados com rações cuja fonte energética utilizada foi o farelo de trigo além do farelo de soja como fonte protéica, suplementadas com 1.000 UF, obtiveram melhores valores de CDA_{MS} .

Entretanto os resultados de CDA_{MS} obtidos nesse estudo foram superiores aos encontrados por Pezzato (2001) com a tilápia do Nilo para o milho e milho extrusado o qual obteve valores de 52,52% e 69,87%, respectivamente. Diferem ainda, dos resultados obtidos por Khan (1994) com o bagre tropical (*Mistus nemorus*) em que apresentou o valor de CDA_{MS} 49,00% para o milho.

Dentre os 10 alimentos avaliados, apenas 4 apresentaram melhora significativa ($P<0,05$) do

CDA_{MS} com os diferentes níveis de suplementação da enzima fitase. Quando submetidos ao teste de comparação de médias, foi observada melhora significativa ($P<0,05$) do CDA_{MS} para o sorgo baixo tanino (74,24%) e para o farelo de girassol (70,68%) com a suplementação de 1.000 UF.

No sentido de melhor visualizar esses resultados, o tratamento controle (sem suplementação da enzima fitase) foi escolhido como o tratamento padrão. Quando se empregou o Índice Relativo de Comparação (IRC) e foi atribuído o índice 100% ao CDA_{MS} , foi verificado que sorgo baixo tanino e o farelo de girassol apresentaram CDA_{MS} superiores ao seu controle em 6,00%. Esse valor o sorgo, superior ao obtido por Freire (2002) (60,68%) em estudo com a tilápia do Nilo cujo objetivo foi avaliar a digestibilidade aparente do sorgo para essa espécie.

Para o farelo de soja e o farelo de arroz, não foi verificado aumento significativo com a utilização de 1.000 UF. Entretanto no nível de 2.000 UF/kg, foi verificado um aumento significativo ($P<0,05$) do CDA_{MS} desses alimentos de 68,70% para 74,93% e de 69,99% para 74,50%, para o farelo de soja e o farelo de arroz, respectivamente. Por meio do índice relativo de comparação, verificou-se uma melhora no CDA_{MS} de 9,10% para o farelo de soja e 6,40% para o farelo de arroz, quando comparados ao tratamento controle, o qual foi escolhido como padrão. Valores de suplementação próximos aos deste estudo (0, 800, 1.300 e 2.400 UF/kg) também foram avaliados em rações à base de farelo de soja, trigo e glúten de milho para alevinos de “striped bass” (*Morone saxatilis*) por Hughes e Soares (1998). Entretanto esses autores não observaram efeito significativo para os diferentes níveis de suplementação quanto o CDA_{MS} .

Por outro lado, observa-se na Tabela 3 que o sorgo baixo tanino e o milho apresentaram menores CDA_{MS} com o aumento do nível de suplementação da enzima fitase de 1.000 UF para 2.000 UF, entretanto estes não diferiram significativamente do tratamento controle.

Os resultados de CDA obtidos para a proteína bruta encontram-se na Tabela 4. Para a proteína bruta, não foi verificado efeito significativo dos níveis de suplementação da enzima fitase quanto ao coeficiente de digestibilidade aparente (CDA).

Pode ser observado na Tabela 4 que somente o milho extrusado (83,89%) e o glúten de milho (51,54%) apresentaram tendência de aumento do CDA_{PB} com a suplementação de 1.000 UF, aumentando seus coeficientes em 1,78% e 1,60%, respectivamente. Vários estudos indicam a possibilidade de aumento da disponibilidade de aminoácidos e conseqüentemente, uma melhor digestibilidade da proteína em rações à base de alimentos vegetais suplementados com a enzima fitase. Tal fato se atribui à hidrólização do complexo proteína-ácido fítico e/ou à suspensão ou redução do

efeito inibidor do ácido fítico sobre a atividade das enzimas digestíveis (Spinelli *et al.*, 1983). Observações como essas também foram apresentadas por Kornegay (1999), que relata a capacidade do ácido fítico em influenciar negativamente na digestão da proteína e dos aminoácidos da dieta, pelo fato de inibir a ação de enzimas proteolíticas tais como a pepsina e a tripsina no trato digestório de animais monogástricos.

Verifica-se, também, que, dentre os alimentos avaliados, o milho (91,01%), os farelos de trigo (88,54%), de soja (91,31%), de algodão (89,75%) e de girassol (89,05%) e, a soja extrusada (86,68%) foram os que apresentaram os maiores CDA_{PB}. Destaca-se a baixa digestibilidade do glúten de milho (51,54%), seguida pelo farelo de arroz (77,48%) e pelo milho extrusado (83,89%).

Os resultados deste estudo são semelhantes aos de Oliva-Teles *et al.* (1988), os quais, em pesquisa objetivando avaliar a suplementação de fitase nos níveis iguais ao deste estudo (0, 1.000 e 2.000 UF) em rações à base de farelo de soja e farelo de trigo para juvenis de seabass, não encontraram diferença significativa para o CDA da proteína bruta, obtendo valores de 93,70, 92,60 e 94,30%, respectivamente e aos de Vielma *et al.* (1998), que também não observaram efeito da suplementação de 1.000 UF em rações à base de farelo de soja quanto a excreção de nitrogênio ao meio ambiente.

Resultados semelhantes foram encontrados também para a truta arco-íris por Lanari *et al.* (1998), que não obtiveram melhores CDA_{PB} com a suplementação de 1.000 UF em rações à base de farinha de sangue, amido de milho e farelo de soja. Entretanto, são contrários aos de Storebakken *et al.* (1998) que em pesquisa realizada com juvenis de salmão do atlântico (*Salmo salar*), alimentados com ração formulada à base de farelo de soja, observaram que a fitase (500 UFA/kg) aumentou a digestibilidade aparente da proteína de 85,00% para 88,20%, resultando em menores descargas de nitrogênio ao meio.

Segundo Champagne e Phillippy (1989), o poder de complexação do ácido fítico com a proteína pode ser influenciado pelo alimento utilizado na ração. Esse mesmo autor afirmou, ainda, que o ácido fítico se liga a proteínas tais como a do farelo de soja, de trigo, de canola e de amendoim, mas não com aquelas do farelo de arroz, do germe de milho e do farelo de algodão.

Os CDA_{PB} obtidos nesse estudo mostram-se semelhantes aos encontrados com o milho (91,01%) por Takeuchi *et al.* (1994) com a tilápia híbrida (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) (97,90%), por Hernandez *et al.* (1997) com a carpa comum (93,30%) e por Pezzato (2001) com a tilápia do Nilo (91,66%). Resultados semelhantes foram apresentados também pelo farelo de arroz (77,48%) aos de Khan (1994)

com o bagre tropical (*Mistus nemorus*) (81,00%) e pelo farelo de soja (91,31%) aos de Hanley (1987) (91,00%), Furuya (2000) (92,72%) e por Pezzato (2001) (91,56%), todos com a tilápia do Nilo.

Por outro lado, esses resultados de CDA_{PB} foram maiores para o milho quando comparado aos 87,10% obtidos com a tilápia do Nilo por Furuya (2000), aos 30,00% com o bagre africano (*Clarias gariepinus*) por Clay (1991) e aos 51,90% para o bagre tropical por Khan (1994). Foram ainda, maiores para os farelos de girassol e de soja, quando comparados aos resultados de Clay (1991), em pesquisa com alevinos de bagre africano (*Clarias gariepinus*), em que obteve valores de CDA_{PB} de 65,40% e 84,30%, respectivamente, ao de Degani *et al.* (1997) que obtiveram 69,80% para o CDA_{PB} do farelo de soja em pesquisa com juvenis de carpa comum e ao de Fernandez *et al.* (1998), que encontraram com o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) CDA_{PB} de 79,20% também para o farelo de soja.

Furuya *et al.* (2001) atribuíram melhor ganho de peso, rendimento de carcaça e conversão alimentar aos efeitos positivos da adição de fitase em rações com alimentos de origem vegetal (soja, milho e trigo). Esses autores relataram ainda um aumento na digestibilidade aparente da proteína bruta de 88,83% para 92,59% em rações suplementadas com 500 UF/kg. Entretanto, nesse estudo, a utilização de níveis maiores da enzima fitase não se mostrou eficaz para a melhora do CDA_{PB}. Esses resultados confirmam as respostas obtidas para diferentes espécies e por vários autores, dentre eles Oliva-Teles (1998), Hughes e Soares (1998), Lanari *et al.* (1998) e Foster *et al.* (1999).

Quanto aos valores de energia digestível (Tabela 5), pode ser observado que os resultados se mostraram semelhantes aos dos CDA apresentados para a proteína bruta. Assim, com exceção do milho e do farelo de girassol, os quais aumentaram significativamente ($P < 0,05$) os seus CDA_{EB} com a suplementação de 1.000 e 2.000 UF/kg, respectivamente, todos os demais alimentos não apresentaram diferenças significativas independentes do nível de suplementação da enzima avaliada.

Entre os alimentos energéticos e protéicos, destaca-se o aumento da energia digestível (ED) do milho de 3.150 para 3.287 kcal/kg e do farelo de algodão de 3.277 para 3.349 kcal/kg com a suplementação de 1.000 UF/kg.

Nesse sentido, Thompson e Yoon (1984) relataram que, no estado nativo, o fitato pode se complexar com o amido e, destacaram a ação da enzima fitase no metabolismo energético a partir de estudos realizados com frango de corte. Algumas rações à base de alimentos de origem vegetal foram avaliadas com sucesso utilizando a enzima fitase como suplemento para o aumento do coeficiente de digestibilidade da energia bruta. Dentre esses

alimentos, destacam-se os farelos de soja, de algodão, de arroz, de trigo, o sorgo e o milho (Selle *et al.*, 1999).

A ação do fitato na digestibilidade do amido dos alimentos foi explicada por Ravindran (1999), o qual relatou que a digestão do amido pode ser influenciada negativamente pelo ácido fítico de uma ou mais maneiras, ou seja, através da ligação da α -amilase ou quelação do Ca^{+2} necessária para a atividade normal da amilase, e/ou através da ligação do amido diretamente com a proteína, formando um complexo menos digestível.

Embora muitos trabalhos tenham sido realizados com a enzima fitase, eles não avaliaram o efeito dessa enzima sobre a digestibilidade aparente da energia bruta em alimentos de origem vegetal para peixes. Entretanto destaca-se o de Lanari *et al.* (1998), os quais em pesquisa cujo objetivo foi avaliar a suplementação de fitase (0 e 1.000 UF/kg) no CDA das rações para juvenis de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), concluíram que o CDA da energia não aumentou com a suplementação dessa enzima.

Com exceção do farelo de arroz (3.679 kcal ED/kg), o qual se destacou entre os alimentos energéticos por apresentar o maior valor de ED, todos os demais apresentaram menores valores de ED, sendo assim representados: sorgo baixo tanino 2.933 kcal/kg, farelo de trigo 3.109 kcal/kg, milho extrusado 3.127 kcal/kg e milho 3.150 kcal ED/kg. Esses valores se assemelham aos obtidos para o farelo de trigo e o farelo de arroz e ainda para o milho extrusado, por Pezzato (2001) com a tilápia do Nilo, quando obteve para a ED valores de 3.126, 3.577 e 3.126 kcal ED/kg, respectivamente.

No grupo dos alimentos protéicos, o farelo de girassol foi o que apresentou o maior valor de ED (3.973 kcal ED/kg). Além disso, a presença da enzima aumentou em 228 kcal de ED com a suplementação de 2.000 UF, passando esse farelo a apresentar 4.201 kcal ED/kg.

Pode ser observado na Tabela 5, que a soja extrusada (3.608 kcal ED/kg) apresentou valor energético superior ao farelo de soja não-processado (3.482 kcal ED/kg). Segundo Bertipaglia (2002), isso pode ser explicado pelo efeito do processo de extrusão, o qual aumenta a digestibilidade como consequência da melhor gelatinização do amido.

Os valores de ED encontrados nesse estudo para o farelo de soja foram superiores aos obtidos por Hanley (1987) (2.336 kcal ED/kg) e Pezzato (2001) (3.064 kcal ED/kg) ambos com a mesma espécie, a tilápia do Nilo. O mesmo foi observado por Khan (1994) (2.828 kcal ED/kg) com o bagre tropical (*Mistus nemorus*) e por Degani *et al.* (1997), que obtiveram o valor de 3.116 kcal ED/kg com a carpa comum. Para o glúten de milho (3.755 kcal ED/kg) e para o farelo de algodão (3.277 kcal ED/kg) os

valores se mostram superiores aos obtidos por Pezzato (2001) em estudo com essa mesma espécie, em que obteve valores de 3.564 e 2.111 kcal ED/kg, respectivamente.

As diferenças observadas quanto à eficiência da enzima fitase em melhorar a digestibilidade dos nutrientes dos alimentos e ainda sua ação como resultado dos níveis empregados está relacionada ao valor biológico desses alimentos, a natureza e a quantidade de ácido fítico que estes possam conter.

Deve-se ressaltar, ainda, que as melhores respostas na digestibilidade da matéria seca podem ser atribuídas à significativa ação que a enzima fitase apresenta em disponibilizar diversos minerais com funções importantes nos diferentes processos metabólicos. Dentre estes destacam-se o fósforo, o cálcio, o magnésio, o manganês, o zinco e o cobre, os quais podem ter sua disponibilidade em muito aumentada pela presença dessa enzima, segundo estudos desenvolvidos por Spinelli *et al.* (1983), Gatlin e Phillips (1989), Cain e Garling (1995), Schäfer *et al.* (1995), Rodehutsord e Pfeffer (1995), Robinson *et al.* (1996), Riche e Brown (1996), Vielma *et al.* (1998), Hughes e Soares (1998), Forster *et al.* (1999) e Furuya *et al.* (2001). Nas condições em que foi realizado o presente estudo, pode-se concluir que os alimentos de origem vegetal respondem à presença da enzima fitase de forma diferenciada. Assim, os valores digestíveis da matéria seca, proteína e energia podem ser aumentados em função do valor biológico desses alimentos e da quantidade que o ácido fítico apresenta e da sua natureza. A suplementação de até 2.000 UF/kg não foi suficiente para melhorar a digestibilidade da matéria seca, proteína e energia do milho extrusado, do farelo de trigo, sorgo baixo tanino, da soja extrusada e do farelo de algodão. A utilização de 1.000 UF/kg aumenta a digestibilidade da MS e da energia do milho, enquanto 2.000 UF proporciona tal resposta para o farelo de soja e o farelo de girassol.

Referências

- AOAC. *Official Methods of Analysis*. 12.ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1975.
- BERTIPAGLIA, L.M.A. *Alterações bioquímicas de soja e milho extrusados*. 2000. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.
- CAIN, K.; GARLING, D.L. Pretreatment of soybean meal with phytase for salmonid diets to reduce phosphorus concentrations in hatchery effluents. *Progr. Fish-Cult.*, Bethesda, v.57, n.2, p.114-119, 1995.
- CHAMPAGNE, E.T.; PHILLIPPY, B.Q. Effects of pH on calcium, zinc, and phytate solubilities, and complexes following in vitro digestion of soy protein isolates. *J. Food Sci.*, Chicago, v.54, p.587-592, 1989.
- CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, Boca Raton, v.13, p.179-335,

- 1980.
- CHO, C.Y.; SLINGER, S.I. Apparent digestibility measurement in feedstuff for rainbow trout. In: WORLD SYMPOSIUM ON FINFISH NUTRITION AND FISHFEED TECHNOLOGY, Hamburg, 1979.
- CLAY, D. Utilization of plant materials by juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*) and its importance in fish culture. *Journal Limnology*, Verbania Pallanza, v.7, n.2, p.47-56, 1981.
- DEGANI, G. et al. Apparent digestibility coefficient of protein sources for carp (*Cyprinus carpio*). *Aquacult. Res.*, Oxford, v.28, p.23-28, 1997.
- FERNANDES, J.B.K. et al. Fontes e níveis de proteína bruta para alevinos e juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, Recife, Pernambuco, 1998.
- FOSTER, I. et al. Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorus output in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 11°C fresh water. *Aquaculture*, Amsterdam, v.179, p.109-125, 1999.
- FURUYA, W.M. *Digestibilidade aparente de aminoácidos e substituição da proteína da farinha de peixes pela proteína do farelo de soja com base no conceito de proteína ideal em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)*. 2000. Tese (Doutorado), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.
- FURUYA, W.M. et al. Fitase na alimentação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e digestibilidade. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 30, n. 3, p.924-929, 2001.
- GATLIN, D.M.; PHILLIPS, H.F. Dietary calcium, phytate and zinc interactions in channel catfish. *Aquaculture*, Amsterdam, v.79, p.259-266, 1989.
- HANLEY, F. The digestibility of foodstuffs and effects of feeding selectivity and digestibility determinations in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, Amsterdam, v.66, p.163-179, 1987.
- HERNÁNDEZ, M. et al. Effect of gelatinized corn meal as a carbohydrate source on growth performance, intestinal evacuation, and starch digestion in common carp. *Fish. Sci.*, Tokyo, v.60, n.5, p. 579-582, 1997.
- HUGHES K.P.; SOARES JR, J.H. Efficacy of phytase on phosphorus utilization in practical diets fed to striped bass *Morone saxatilis*. *Aquac. Nutr.*, Oxford, v. 4, p. 133-140, 1998.
- INA. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.*, Bethesda, v.107, p.1340-1348, 1997.
- KHAN, M.S. Apparent digestibility coefficients for common feed ingredients in formulated diets for tropical catfish (*Mystus nemurus*). *Aquac. Fish Manag.*, Amsterdam, v.25, n.2, p.167-174, 1994.
- KORNEGAY, E.T. Feeding to reduce nutrient excretion: effects of phytase on phosphorus and other nutrients. *Biotechnology in the feed industry*, 1999.
- LANARI, D. et al. Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, Amsterdam, v.161, p.345-356, 1998.
- LOVELL, T. *Nutrition and Feeding of fish*. Auburn: Auburn University, 1988.
- NOSE, T. On the digestion of food protein by gold-fish (*Carassius auratus*) L. and rainbow trout (*Salmo irideus* G.). *Bulletin of Freshwater Fisheries Research Laboratory*, Hino -City, v.10, p.11-22, 1960.
- OLIVA-TELE, A. et al. Utilization of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquat. Living Resour.*, Montrouge, v.11, n.4, p. 255-259, 1998.
- PEZZATO L.E. *Digestibilidade em peixes*. 2001. Tese (Livre Docência), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.
- POMPA, T.J.; GREEN, B.W. *Sex Reversal of Tilapia in Earthen Ponds*. Auburn: International Center for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, 1990.
- RAVINDRAN, V. et al. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. *Poult. Sci.*, Savoy, v.78, p.699-706, 1999.
- RICHE, M.; BROWN, P.B. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, Amsterdam, v.142, p.269-282, 1996.
- ROBINSON, E.H. et al. *Aquaculture Magazine*, May/June, p.80-82, 1996.
- RODEHUTSCORD, M.; PFEFFER, E. Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Water Sci. Technol.*, Kidlington, v.31, n.10, p.143-147, 1995.
- SCHÄFER, A. et al. Effects of microbial phytase on utilization of native phosphorus carp in a diet based on soybean meal. *Water Sci. Technol.*, Kidlington, v.31, n.10, p.140-155, 1995.
- SELLE, P.H. The potential of microbial phytase the sustainable production of pigs and poultry. *Short Course and Feed Technology*. Korean Society of Animal Nutrition and Feedstuffs, 1997.
- SPINELLI, J. et al. The effect of phytate on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. *Aquaculture*, Amsterdam, v.30, p.71-83, 1983.
- STOREBAKKEN, T. et al. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, Amsterdam, v.61, p.365-379, 1998.
- TAKEUCHI, T.T. et al. Nutritive value of gelatinized corn meal a carbohydrate source to glass carp and hybrid tilapia. *Fish. Sci.*, Tokyo, v.60, n.5, p. 573-577, 1994.
- THOMPSON, L.U.; YOON, J.H. Starch digestibility as affected by polyphenols and phytic acid. *J. Food Sci.*, Chicago, v.49, p.12-28, 1984.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA-UFV. *Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - SAEG*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1982.
- VIELMA, J. et al. Mattila, P. Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, Amsterdam, v.163, n. 3/4, p.309-323, 1998.

Received on February 05, 2004.

Accepted on September 13, 2004.