

**ANÁLISES DE PARÂMETROS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS DE
ALGUMAS ESPÉCIES DE ALGAS MARINHAS, PARA INCLUSÃO
EM RAÇÕES UTILIZADAS NA PISCICULTURA, VISANDO
MODIFICAR O “FLAVOR” DE PEIXES DE ÁGUA DOCE**

JOSÉ WILSON CALÍOPE DE FREITAS

**FORTALEZA – CEARÁ
AGOSTO / 2002.**

**ANÁLISES DE PARÂMETROS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS DE
ALGUMAS ESPÉCIES DE ALGAS MARINHAS, PARA INCLUSÃO
EM RAÇÕES UTILIZADAS NA PISCICULTURA, VISANDO
MODIFICAR O “*FLAVOR*” DE PEIXES DE ÁGUA DOCE**

JOSÉ WILSON CALÍOPE DE FREITAS

**TESE SUBMETIDA À COORDENAÇÃO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOQUÍMICA, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE
DOUTOR EM BIOQUÍMICA**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FORTALEZA – CEARÁ

2002

ii

Esta tese foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Bioquímica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca de Ciências e Tecnologia da referida Universidade.

A transcrição de qualquer trecho desta Tese é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

JOSÉ WILSON CALÍOPE DE FREITAS
Doutorando

Tese aprovada em: 28 de agosto de 2002.

Prof^ª. Dra. Ana Lúcia Ponte Freitas
Depto. de Bioquímica e Biologia Molecular.
Universidade Federal do Ceará.
Orientadora

Prof. Dr. Moisés Almeida de Oliveira
Departamento de Engenharia de Pesca
Universidade Federal do Ceará
Examinador

Prof. Dr. Fernando Araújo Abrunhosa
Professor visitante da
Universidade Federal do Pará
Examinador

Prof^ª. Dra. Eliane Marinho Soriano
Departamento de Oceanografia
Universidade Federal do RN
Examinadora

Prof. Dr. Fernando Monteiro de Paula
Depto. de Bioquímica e Biologia Molecular
Universidade Federal do Ceará
Examinador

À minha família

Leni, Livia, Lucas, Natyana e Danley.

Dedico com carinho

AGRADECIMENTOS

À Dra. Ana Lúcia Ponte Freitas, pela orientação criteriosa, pelos ensinamentos, pela ética e, principalmente, pelo relacionamento amigo, dispensado a mim e a todos os seus orientandos.

Aos Professores Dr. Afrânio Craveiro (PADETEC), Dr. Fernando Monteiro de Paula (Bioquímica), Dra. Ilka Maria Vasconcelos (Bioquímica), Dr. Renato Moreira (Bioquímica) Dra. Cristina Moreira (UNIFOR), pelos ensinamentos, orientações e nas realizações de algumas análises químicas e/ou bioquímicas, integrantes dos objetivos deste trabalho.

Aos Professores Dr. Moisés Almeida de Oliveira (Eng. de Pesca-UFC), Dr. Fernando Araújo Abrunhosa (UFPA), Dr. Fernando Monteiro de Paula (Bioquímica-UFC) e Dra. Eliane Marinho Soriano (UFRN) pelas participações e sugestões, como membros da Comissão Avaliadora de defesa deste trabalho.

À Professora Dra. Fátima Fuentes (Deptº de Zootecnia UFC), pelas orientações e fornecimento dos ingredientes (soja, milho e suplemento de vitaminas e minerais) utilizados para elaboração de todas as dietas-teste desta pesquisa.

À Dra. Débora Garruti (EMBRAPA), pelos ensinamentos e realizações das análises sensoriais, passo importante para os objetivos deste trabalho.

Aos amigos e Técnicos da Estação de Piscicultura Dr. Rodolpho von Ilhering do DNOCS - Pentecoste – Ce., Maria Inês (Eng. de Pesca e Chefe da Estação), Pedro Eymard (Agrônomo com Mestrado em Eng. de Pesca), Maria do Socorro (Eng. de Pesca Msc) e o funcionário José Roque, por terem participado diretamente na execução dos trabalhos de piscicultura, orientando, ensinando, fornecendo os alevinos para a pesquisa e alguns materiais acessórios, para utilização nas amostragens. Especialmente ao casal de amigos Pedro Eymard e Maria do Socorro, meus sinceros agradecimentos.

Aos amigos e colegas de Laboratório (Barraca), Profª Tereza, Profª Nilka, Dárlio, Bartolomeu, Dráulio, Carlos, Márcio, Luiziete, Márcia Rúbia, Lídia, Rômulo, Queilane e

Fábia, pela convivência alegre, saudável e pelo espírito de colaboração existente entre nós

Ao amigo e funcionário do Laboratório de Nutrição de Peixes do DEP/UFC, Antônio Ferreira, pela colaboração na execução de algumas análises químicas deste trabalho.

À amiga Olga , Funcionária da UFC, responsável pelo setor de GC-MS (Cromatografia gasosa – espectrometria de massa) do PADETEC, pela valorosa colaboração na execução de algumas análises cromatográficas.

Aos Professores do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, que de forma direta ou indireta, contribuíram para minha formação. A todos, meus sinceros agradecimentos. Que “DEUS” nos abençoe.

Este trabalho foi realizado graças ao auxílio das seguintes Instituições:

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular do Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ce.

Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará.

Estação de Piscicultura Dr. Rodolpho von Ilhering, do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas – DNOCS, Pentecoste – Ceará – Brasil.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Laboratório de Análise Sensorial, Campus Universitários do Pici, Fortaleza, Ce.

Pátio de Desenvolvimento Tecnológico – PADETEC, Laboratório de Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massa – GC-MS, Campus Universitários do Pici – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ce.

Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará – Setor de Avicultura, Campus Universitários do Pici, Fortaleza, Ce.

Fundação Cearense de Amparo à Pesquisa e Tecnologia do Estado do Ceará (FUNCAP).

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE TABELAS	xiv
RESUMO	xxi
ABSTRACT	xxiii
O FUNDAMENTO DESTE TRABALHO DE TESE	xxv

CAPÍTULO I

ESTUDO BIOQUÍMICO E NUTRICIONAL DE ESPÉCIES DE ALGAS MARINHAS DO LITORAL CEARENSE: ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E UTILIZAÇÃO COMO FONTE POTENCIAL DE ALIMENTO

1 – INTRODUÇÃO	2
1.1 – O potencial nutricional dos componentes da dieta para peixes	2
1.2 . Componentes antinutricionais de algas	4
1.2.1. Considerações gerais sobre lectinas de algas marinhas	6
1.2.2. Atividade tóxica de proteínas de algas marinhas	9
1.2.3. Inibidores de proteases	10
2 – OBJETIVOS	12
2.1. Objetivos gerais	12
2.2. Objetivos específicos	12
3 – MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 – Coleta de algas	13
3.2. – Análise química elementar	13
3.2.1 – Determinação de umidade	13
3.2.2 – Determinação de cinzas	14
3.2.3 – Determinação de nitrogênio total	14
3.2.4 – Determinação de lipídios totais	15

	Página
3.2.5 – Determinação de fibra bruta	15
3.2.6 – Determinação de cálcio e fósforo	16
3.3 – Determinação da composição em ácidos graxos	16
3.4 – Análise de aminoácidos	17
3.5 – Estudo bioquímico dos extratos de algas	18
3.5.1 – Preparação dos extratos protéicos	18
3.5.2 – Determinação quantitativa de proteína solúvel	20
3.5.3 – Determinação da atividade hemaglutinante	20
3.5.4 – Avaliação da atividade tóxica das algas (DL ₅₀)	20
3.5.5 – Determinação da atividade inibidora de tripsina	21
4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
4.1 – Composição química dos ingredientes	22
4.2 – Análise da composição de aminoácidos das algas marinhas	24
4.3 – Análise da composição em ácidos graxos das algas marinhas e dos peixes	27
4.4 – Outros testes bioquímicos	31
4.4.1 – Atividade hemaglutinante	31
4.4.2 – Atividade tóxica das algas	34
4.4.3 – Atividade inibidora de tripsina	36
5 – CONCLUSÃO	38
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

CAPÍTULO II

ATIVIDADE BROMOPEROXIDÁSICA EM ESPÉCIES DE ALGAS MARINHAS DO LITORAL CEARENSE

1 – INTRODUÇÃO	49
1.1 – Considerações gerais	49
1.2. Biossíntese de substâncias fenólicas	50
2 – OBJETIVOS	59
3 – MATERIAL E MÉTODOS	60
3.1. – Alga marinhas	60

	Página
3.2. Outros materiais	60
3.3. Preparação dos extratos de algas marinhas	60
3.4. Determinação da atividade bromoperoxidásica	61
3.5. Efeito do pH sobre a atividade bromoperoxidásica	61
4- RESULTADOS E DISCUSSÕES	62
4.1. Atividade das bromoperoxidases de algas marinhas	62
4.2. Efeito do pH para a atividade bromoperoxidásica	64
5- CONCLUSÃO	67
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

CAPITULO III

CULTIVO DE PEIXES E INCLUSÃO DE ALGAS MARINHAS EM RAÇÕES PARA tilapia do Nilo *Oreochromis niloticus* Vr. “Chitralada”

1 – INTRODUÇÃO	73
1.1 – Aquicultura no mundo	73
1.1.1 - Evolução e situação atual.	73
1.1.2 – A tilapia no contexto mundial	78
1.1.3 – Fatores que influenciam a aquicultura	79
1.2 – Aquicultura no Brasil	84
1.2.1 – Evolução e situação atual	84
1.2.2 – Cultivo de tilapias no Brasil	86
1.3 – Alimentação e nutrição de peixes	91
1.3.1 – Tipos de dietas	100
1.3.2 – Arraçoamento de peixes	101
1.3.3 – Conversão alimentar	104
1.3.4 – Utilização de algas em rações para peixes	104
2 – OBJETIVOS	106
2.1 – Objetivos Gerais	106
2.2 - Objetivos Específicos	106
3 – MATERIAL E MÉTODOS	107

	<i>Página</i>
3.1 – Espécie de peixe utilizada	107
3.2 – Estudo do crescimento do peixe	108
3.2.1- Ingredientes utilizados nas rações	109
3.2.2 - Testes de arraçoamento de peixes	110
3.2.2.1– Delineamento dos tratamentos	110
3.2.2.1.1– Tratamento A	111
3.2.2.1.2 - Tratamento B	111
3.2.2.1.3 -Tratamento C	111
3.2.2.1.4 – Tratamento D	112
3.2.2.1.5 - Tratamento Padrão	112
3.2.3 - Formulações das rações	113
3.2.4 – Análises biométricas	119
3.2.5 - Análises estatísticas	119
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	120
4.1– Testes de arraçoamento de peixes	120
4.1.1– Formulações das rações	120
4.1.2 – Estudo do crescimento dos peixes	122
4.1.2.1– Crescimento em comprimento	122
4.1.2.2– Crescimento em peso	131
4.1.2.2.1– Ganho de peso médio	131
4.1.2.2.2– Ganho de biomassa média	139
4.1.2.2.3– Ganho de peso médio diário (MDWG)	140
4.1.3 - Consumo de ração	142
4.1.4 – Índice de conversão alimentar	142
4.1.5 – Produção e produtividade	149
4.1.6 – Taxa de sobrevivência	151
4.1.7 – Análises estatísticas	151
5 – CONCLUSÃO	160
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	161

CAPITULO IV

ANÁLISES SENSORIAIS

	Página
1 – INTRODUÇÃO	170
1.1 – O “flavor” de animais marinhos e de água doce	170
1.2 – Testes sensoriais	172
2 – OBJETIVOS	173
3 – MATERIAL E MÉTODOS	174
3.1 – Análises sensoriais	174
4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES	183
5 – CONCLUSÃO	185
6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	186
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	187

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

	Página
1 – Protocolo de extração de proteínas de algas marinhas.	19
2 a e b – Estrutura molecular dos ácidos graxos Linolênico (18:3) e Linoléico (18:2), mostrando a localização da primeira dupla ligação, contando a partir da extremidade metil da cadeia carbônica do ácido graxo.	28

CAPÍTULO II

3 – Atividade bromoperoxidásica de extratos de algas marinhas em pH 7,0 – controle (1), <i>Vidália obtusiloba</i> (2), <i>Ulva fasciata</i> (3), <i>Ulva Lactuca</i> (4), <i>Gracilaria caudata</i> (5) e <i>Gracilaria cornea</i> (6) (reação do substrato MCD 5 mM, H ₂ O ₂ 15 mM, NaBr 125 mM e 50 µL de extrato de alga). Tempo máximo de reação = 5 min.	63
4 – Efeito do pH na velocidade de reação de bromoperoxidases das algas marinhas <i>Gracilaria cornea</i> (1), <i>Gracilaria caudata</i> (2), <i>Ulva fasciata</i> (3), <i>Ulva lactuca</i> (4), e <i>Vidalia obtusiloba</i> (5).	65

CAPÍTULO III

5 – Diversos modelos de comedouros utilizados nos cultivos de tanques-rede: 5a) anéis de contenção; 5b) comedouros de superfície; 5c) bandeja; e 5d) pêndulo.	102
6 – Tanque circular de cimento armado, esvaziado para limpeza, no início do cultivo de tilapias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr “Chitralada”.	114
7 – Tanque de cimento armado em seu nível máximo de repleção, onde se visualiza o sistema de enchimento e circulação permanente de água.	115

	Página
8– Bateria de tanques circulares de cimento armado, utilizados nos tratamentos (com 3 repetições para cada ração), do cultivo de tilapia do Nilo <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada	116
9 – Balança mecânica e Ictiômetro, utilizados para medições dos pesos e comprimentos das tilapias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada.	117
10 – Ictiômetro usado nas medições dos comprimentos das tilapias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada.	118
11 – Comprimentos médios das tilapias do Nilo <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento A (A-1, A-2 e A-3), por período de 60 dias.	124
12 – Comprimentos médios das tilapias do Nilo <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento B (B-1, B-2 e B-3), por período de 60 dias.	125
13 - Comprimentos médios das tilapias do Nilo <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento C (C-1, C-2 e C-3), por período de 30 dias.	129
14 - Comprimentos médios das tilapias do Nilo <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento D (D-1, D-2 e D-3), por período de 30 dias.	130
15 – Pesos médios das tilapias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento A (A-1, A-2 e A-3), por período de 60 dias.	133
16 – Pesos médios das tilapias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento B (B-1, B-2 e B-3), por período de 60 dias	134
17 – Pesos médios das tilapias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento C (C-1, C-2 e C-3), por período de 30 dias.	136
18 – Pesos médios das tilapias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento D (D-1, D-2 e D-3), por período de 30 dias.	137

	Página
19 – Índice do Conversão Alimentar (ICA) dos cultivos de tilapias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento A (A-1, A-2 e A-3), por período de 60 dias.	145
20 – Índice do Conversão Alimentar (ICA) dos cultivos de tilapias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento B (B-1, B-2 e B-3), por período de 60 dias.	146

CAPÍTULO IV

21 – Ficha utilizada na Análise Sensorial – Teste Triangular.	175
22 – Filés de tilapias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada, alimentadas com dietas Padrão - sem inclusão de alga (filé 1), com a dieta D-1- contendo a alga <i>Ulva fasciata</i> (filé 2), com a dieta D-2 - contendo a alga <i>Ulva lactuca</i> (filé 3) e, com a dieta D-3 – contendo a alga <i>Vidalia obtusiloba</i> (filé 4)	177
23 – Amostras de filés de tilapias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada, preparadas para a Análise Sensorial (Teste Triangular), seguindo sempre o sequenciamento (AAB) aleatório, pré-estabelecido para formação de três amostras por provador.	178
24 – Amostras preparadas para a distribuição na Análise Sensorial dos filés de peixes (Teste Triangular), sempre em grupos de 3 amostras por cada provador.	179
25 – Vista frontal das janelinhas das cabines de Análises Sensoriais, por onde as amostras são entregues aos provadores.	180
26 – Cabines utilizadas para as Análises Sensoriais, vista internamente.	181
27 – Provadora por ocasião da Análise Sensorial dos peixes (Teste Triangular)	182

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO I

- 1 – Composição química elementar (g/100g da matéria seca) dos ingredientes das rações utilizadas para tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr “Chitralada”. 23
- 2 – Composição do NUTRON – suplemento de vitaminas e minerais, utilizado nas dietas para alimentação de alevinos de tilápias do Nilo. 25
- 3 – Composição em aminoácidos de espécies de algas marinhas da costa cearense, e de outros ingredientes utilizados em rações para alimentação de tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr “Chitralada”. 26
- 4 – Composição em ácidos graxos das algas e dos peixes tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus* Vr “Chitralada”, alimentados com dietas dos Tratamentos Padrão e D (dietas D-1, D-2 e D-3), em seguida aos testes de arraçoamento. 29
- 5 – Proteína bruta, concentração de proteína extraída e atividade hemaglutinante testadas no extrato concentrado de cinco espécies de algas marinhas da costa cearense, utilizadas na alimentação de tilápias do Nilo. 33
- 6 – Concentração de proteína aplicada e atividade tóxica de extratos protéicos de cinco algas marinhas do litoral cearense. 35
- 7 – Dosagens de inibidor de tripsina nas algas marinhas vermelhas *Gracilaria cornes* e *G. caudata*. 37

CAPÍTULO II

Página

- 8 – Oligofenóis de algas marinhas. 52

CAPÍTULO III

- 9 – Produção de pescado oriundo da aquicultura referente ao ano (1977). 76
- 10 – Produção aquícola brasileira por região geográfica, no período de 1995 – 1997. 88
- 11 – Requerimento mínimo de aminoácidos na dieta para peixes. 93
- 12 – Exigências nutricionais de vitaminas, requerida por Salmões, Trutas e Carpas (mg/kg da dieta seca). 95
- 13 – Níveis de minerais recomendados para cultivos de diversas espécies de peixes. 96
- 14 – Composição de aminoácidos e análise proximal de algumas fontes protéicas. 98
- 15 – Composição de aminoácidos essenciais (mg/g), dos principais alimentos de origem animal. 99
- 16 – Composição de dietas experimentais utilizadas no arraçoamento de tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus* Vr “Chitralada”. 121
- 17 – Ganhos de comprimentos médios das tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr “Chitralada”., alimentadas com dietas dos Tratamentos A e B, contendo 5, 10 e 15% de inclusão das algas marinhas *Gracilaria cornea* e *Gracilaria caudata*, respectivamente, tendo como termo de comparação uma dieta (padrão), utilizada comercialmente para engorda de galináceos, por período de 60 dias. 123
- 18 - Ganho de peso, biomassa e comprimento médios das tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr “Chitralada”., alimentadas com dietas para engorda de galináceos constituindo o Tratamentos C (dietas C-1, C-2 e C-3), com inclusão de 135, 270 e 405 mg de bromofenol/kg da ração, respectivamente, tendo como Termo de comparação, a mesma dieta (para galináceos), porém, sem inclusão de bromofenol, cultivadas por período de 30 dias. 127

- 19 - Ganho de peso, biomassa e comprimento médios das tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus* Vr “Chitralada”., submetidas ao Tratamentos D (dietas D-1, D-2 e D-3), com inclusão das algas marinhas *Ulva fasciata*, *Ulva lactuca* e *Vidalia obtusiloba*, na proporção de 10% de alga/kg de ração, respectivamente, tendo como termo de comparação a mesma dieta para galináceos, por período de 30 dias. 128
- 20 – Ganhos de peso e biomassa médios das tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dietas do Tratamento A e B, contendo 5, 10 e 15% de inclusão das algas marinhas *Gracilaria cornea* e *G. caudata*, respectivamente, tendo como termo de comparação uma dieta utilizada comercialmente para engorda de galináceos, por período de 60 dias. 132
- 21 – Ganho de peso médio diário (MDWG) em g/dia, dos peixes alimentados com dietas dos Tratamentos A, B e Padrão, por período de 60 dias. 141
- 22 – Consumo de ração e Conversão Alimentar das tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr “Chitralada”., alimentadas com dietas dos Tratamentos A e B, contendo 5, 10 e 15% de inclusão das algas marinhas *Gracilaria cornea* e *Gracilaria caudata*, respectivamente, tendo como termo de comparação, uma dieta utilizada comercialmente para engorda de galináceos, por período de 60 dias. 144
- 23 - Consumo de ração e Conversão Alimentar das tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr “Chitralada”., alimentadas com dietas do Tratamento C (dietas C-1, C-2 e C-3), contendo 135, 270 e 405 mg de bromofenol/kg da dieta, respectivamente, e, como termo de comparação, uma dieta utilizada comercialmente para engorda de galináceos, porém sem a adição do bromofenol, por período de 30 dias. 147
- 24 – Consumo de ração e conversão alimentar das tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com as dietas do Tratamento D (dietas D-1, D-2 e D-3), com inclusão das algas marinhas *Ulva fasciata*, *Ulva lactuca* e *Vidalia obtusiloba*, respectivamente, na proporção de 10 g de alga “in natura” triturada por

	Página
cada 100 g de ração, tendo como termo de comparação, uma dieta utilizada comercialmente para engorda de galináceos, porém, sem a adição de algas, por período de 30 dias.	148
25 – Produção e produtividade obtidas pelas tilápias do Nilo, alimentadas com dietas dos Tratamentos A, B e Padrão, na densidade de estocagem de 5 peixes/m ² , por período de 60 dias.	150
26 – Análise de variância dos valores médios de ganho de comprimento das tilápias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada”, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento A (dietas A-1, A-2 e A-3), com inclusão de 5, 10 e 15% de farinha da alga <i>Gracilaria cornea</i> , por período de 60 dias.	152
27 - Análise de variância dos valores médios de ganho de comprimento das tilápias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> Vr “Chitralada”, alimentadas com a dieta Padrão e dieta A-3 do Tratamento A, com inclusão de 15% de farinha da alga <i>Gracilaria cornea</i> , por período de 60 dias.	153
28 - Análise de variância dos valores médios de ganho de comprimento das tilápias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr. “Chitralada”, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento B (dietas B-1, B-2 e B-3), com inclusão de 5, 10 e 15% de farinha da alga <i>Gracilaria caudata</i> , por período de 60 dias.	154
29 - Análise de variância dos valores médios de ganho de comprimento das tilápias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> Vr “Chitralada”, alimentadas com a dieta Padrão e dieta B-3 do Tratamento B, com inclusão de 15% de farinha da alga <i>Gracilaria caudata</i> , por período de 60 dias	155
30 - Análise de variância dos valores médios de ganho de peso das tilápias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr “Chitralada”, alimentadas com a dieta Padrão e as dietas do Tratamento A (dietas A-1, A-2 e A-3), com inclusão de 5, 10 e 15% de farinha da alga <i>Gracilaria cornea</i> , por período de 60 dias	156
31 - Análise de variância dos valores médios de ganho de peso das tilápias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> Vr “Chitralada”, alimentadas com a	

	Página
dieta e com a dieta de menor desempenho aparente do Tratamento A (dieta A-3, com 15% de inclusão da alga <i>Gracilaria cornea</i>), em comparação com as médias de ganho de peso das tilápias do Nilo, alimentadas com a ração usada como termo de comparação (Padrão), por período de 60 dias.	157
32 - Análise de variância dos valores médios de ganho de peso das tilápias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr “Chitralada”, alimentadas com a dieta Padrão e as dietas do Tratamento B (dietas B-1, B-2 e B-3), com inclusão de 5, 10 e 15% de farinha da alga <i>Gracilaria caudata</i> , por período de 60 dias	158
33 - Análise de variância dos valores médios de ganho de peso das tilápias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , Vr “Chitralada”, alimentadas com dieta Padrão e com a dieta de menor desempenho aparente do Tratamento B (dieta B-3, com 15% de inclusão da alga <i>Gracilaria caudata</i>), em comparação com as médias de ganho de peso das tilápias do Nilo, alimentadas com a ração usada como termo de comparação (Padrão), por período de 60 dias.	159

RESUMO

No presente trabalho, foram selecionadas cinco espécies de algas marinhas (*Gracilaria cornea* Maze et Schram, *Gracilaria caudata* J. Agardh, *Ulva fasciata* Delile, *Ulva lactuca* Linnaeus e *Vidalia obtusiloba* (Mertens) J. Agardh), utilizadas na busca de enzimas bromoperoxidases que levam à produção de oligofenóis, os quais, segundo alguns autores, conferem sabor e odor característicos dos organismos marinhos. A utilização destas espécies de algas na alimentação de peixes de água doce (tilapia do Nilo), teve como objetivo específico, promover alterações no “Flavor” da carne desses animais. As algas foram analisadas sob os pontos de vista químico e bioquímico, com determinações da composição química elementar (proteína bruta, umidade, gordura, cinzas, fibras, carboidratos, cálcio e fósforo), composição em aminoácidos e composição em ácidos graxos. Alguns fatores biológicos foram examinados, tais como: toxicidade (DL_{50}), presença de inibidor de tripsina e atividade hemaglutinante. Após estas análises, foi delineado um experimento de arraçoamento de tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr “Chitralada”, dividido em 5 tratamentos: Tratamento A, constando de uma dieta à base de soja, milho e suplemento de vitaminas e minerais, com inclusão de 5, 10 e 15% de farinha da alga *Gracilaria cornea*, formando as dietas A-1, A-2 e A-3, respectivamente; O Tratamento B, utilizou o mesmo procedimento do A, com inclusão da alga *Gracilaria caudata*, formando as dietas B-1, B-2 e B-3; O Tratamento C, constou da dieta básica (soja e Milho), com inclusão de 135, 270 e 405 mg/bromofenol.kg⁻¹ da dieta, formando as dietas C-1, C-2 e C-3, respectivamente; O Tratamento D, também constou da elaboração de três dietas, a partir da dieta básica, com inclusão de 10% de alga marinha, na forma de extrato aquoso, sendo que, a dieta D-1, continha alga *Ulva fasciata*, a D-2, a alga *Ulva lactuca* e, a D-3, a alga *Vidalia obtusiloba*; e, o Tratamento utilizado como termo de comparação, constou da dieta básica, sem a adição de algas marinhas. Após os cultivos, os peixes foram submetidos à Análise Sensorial e obtiveram os seguintes resultados: os peixes alimentados com dietas dos Tratamentos A, B e C, não apresentaram alterações no odor dos animais testados, provavelmente, pela manipulação inadequada por ocasião da elaboração das

dietas. Os peixe alimentados com dietas o Tratamento D, apresentaram moderada alteração no odor e na cor desses indivíduos, porém, não o suficiente para comparar com odor de peixe marinho.

Alguns provadores (Teste Triangular), classificaram as alterações detectadas como sendo de um odor mais agradável. Diante do exposto, pode-se concluir que, provavelmente, os extratos de algas inaturas, preparados para umedecer à ração, por ocasião das refeições, como também, a solução de bromofenóis, pode ser o caminho para promover as alterações desejadas. Recomenda-se o uso das dietas A-1, B-1 e Padrão, quando o objetivo principal for somente o crescimento em peso e comprimento dos animais cultivados. No caso das rações dos Tratamentos C e D, estudos devem ser realizados para determinar melhorias nos percentuais de inclusão e manejo adequado.

ABSTRACT

In the present study, five species of marine algae (*Gracilaria cornea* Maze et Schram, *Gracilaria caudata* J. Agardh, *Ulva fasciata* Delile, *Ulva lactuca* Linnaeus e *Vidalia obtusiloba* (Mertens) J. Agardh) were used to detect the presence of bromoperoxidases that are responsible for the production of oligophenols, which are believed to confer the characteristic flavor present in marine organisms. In a view to promote flavor alterations in meet from the fresh water fish (Nile tilapia), we have used these five marine algae species as a component in the food diet. The algal samples were used to determine the chemical composition (total protein, water content, fat, ash, fiber, carbohydrate, calcium and phosphorous), amino acid and fatty acids composition. Some biological factors have been determined such as: toxicity (DL₅₀), the presence of trypsin inhibitor and haemagglutinating activity. After these analyses we carried out a study of feeding using the fresh water fish Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, Vr "Chitralada", that was composed of five treatments. Treatment A consisted of a food diet prepared with soybean, corn, mineral and vitamin supply, and the addition of 5, 10 and 15% of algal flour from *Gracilaria cornea*, resulting in diets A-1, A-2 and A-3, respectively. The same procedure was used for treatment B, but with the addition of flour from the alga *Gracilaria caudata*, resulting in diets B-1, B-2 and B-3. The treatment C was composed of a basic diet (soybean and corn) with the addition of 135, 270 and 405 mg/bromphenol.kg⁻¹ of the diet, leading to diets C-1, C-2 and C-3, respectively. The treatment D was also composed of three diets, from the basic one, with the inclusion of 10% of marine alga, as an aqueous extract, with the D-1 diet composed of *Ulva fasciata* while the D-2 and D-3 diets with *Ulva lactuca* and *Vidalia obtusiloba*, respectively. The standard treatment was composed of the basic diet without the addition of marine algae. After cultivation, the fish were submitted to sensorial analysis and exhibiting the following results. The fish feed with diets from treatment A, B and C did not show alterations in the flavor in the tested animals, probably due to the inadequate manipulation during the elaboration of the diets. Fish feed with diets from treatment D exhibited a moderate alteration in flavor and color but without achieving the characteristic flavor of a marine fish.

Some testers (Triangular test) classified the alterations observed as a more agreeable flavor. From these, we may conclude that the crude extracts from the algae used to humidify the ration and also the bromophenol solution could be the right way to promote the desirable alterations in the flavor. The diets A-1, B-1 and the standard one are recommended when the main aim is only the growth in weight of the cultivated animals. In regard to the treatments C and D, studies should be conducted to ascertain the percentage of inclusion and adequate handling.

O FUNDAMENTO DESTE TRABALHO DE TESE

Até o presente, as rações destinadas a animais aquáticos têm sido preparadas, preferencialmente, incluindo alimentos à base de peixe, inclusive do próprio óleo de peixe, como fontes de proteína e lipídio. Porém, a indústria de alimentos tem se deparado com um déficit na disponibilidade destes ingredientes, em decorrência do declínio no número de peixes capturados livremente e, do aumento da demanda humana para algumas das espécies que são atualmente utilizadas na elaboração destas rações. Em decorrência deste fato, em várias partes do mundo, em grandes centros de pesquisa nesta área, tem aumentado o interesse na busca de ingredientes alternativos de qualidade, que sejam ao mesmo tempo de baixo custo e prontamente disponíveis para uso apropriado em dietas. Os dados encontrados na literatura mostram que pelo menos uma proporção da ração à base de peixe e do óleo de peixe, poderia ser substituída por outras fontes de proteína e lipídio. O padrão de dieta ideal seria aquele que, por um lado, garantisse praticidade, baixo custo e disponibilidade de matéria prima e, por outro lado, também fosse efetivo para manter uma boa saúde dos peixes e elevada resistência à doenças, em decorrência de melhores respostas imunes.

A utilização de ingredientes alternativos, de origem vegetal, já vem sendo explorada em vários centros de aquicultura, inclusive, empregando algas marinhas. No trabalho aqui apresentado, experimentando a utilização de algas marinhas da costa cearense na formulação de rações para peixes de água doce, determinamos a composição química e o perfil aminoacídico de cinco espécies de algas marinhas (2 verdes e 3 vermelhas), comparativamente ao farelo de soja e milho, na intenção de reunir dados mais compreensíveis sobre o valor nutricional desse material. Além disto, foram também analisadas algumas propriedades bioquímicas e fisicoquímicas, a fim de ser avaliado o potencial de utilização destas espécies de algas marinhas, como ingrediente na preparação de alimentos para engorda e modificação do sabor e aroma de peixes de água doce, tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) Vr..”Chitralada”:

Para a execução do projeto de pesquisa proposto, os experimentos foram divididos em etapas complementares, com diferentes enfoques, que após realizadas e concluídas, tiveram os seus dados reunidos em quatro capítulos, como descritos a seguir:

Capítulo I

Nesta etapa do trabalho foram realizados alguns testes dos parâmetros químicos, físicoquímicos e bioquímicos dos ingredientes utilizados na composição das dietas. O conhecimento destes dados (teores de proteína, lipídio, carboidratos, presença de toxicidade, etc...), foi imprescindível para o balanceamento das dietas administradas para peixes tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) V. “Chitralada” cultivados em tanques mantidos na Estação de Piscicultura do DNOCS, em Pentecostes-Ce.

Capítulo II

Nesta segunda etapa, toda atenção esteve voltada para as análises enzimáticas. Um estudo do levantamento da presença de atividade bromoperoxidásica foi conduzido nos extratos aquosos de cinco espécies de algas marinhas, empregando o substrato Monoclorodimedona (MCD) em presença de brometo de sódio (NaBr), tendo o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) como catalisador. As enzimas bromoperoxidasas presentes em algas são responsáveis pela síntese de bromofenóis, compostos secundários, presentes em maior ou menor concentração, na maioria das espécies de algas marinhas, especialmente nas vermelhas e pardas. A presença desta atividade em um extrato de alga implica em uma via biossintética funcionante e, portanto, indica a presença de bromofenóis nas espécies ativas. Os bromofenóis são compostos fenólicos responsáveis, em grande parte, pelo aroma e sabor indicadores de organismos marinhos. Tais características estão, evidentemente, ausentes em peixes de água doce. Portanto, um dos principais objetivos do presente trabalho foi testar a inclusão de algas marinhas, ricas em bromofenóis, nas dietas dos peixes tilápia do Nilo *O. niloticus* (Linnaeus) V. “Chitralada”, visando alcançar as alterações consideradas desejáveis do “flavor”. Como produto final esperado seria um peixe de água doce, com aroma e sabor de peixe do mar.

Capítulo III

Os experimentos realizados nesta etapa consistiram nos testes de arraçoamento de tilapias do Nilo, *O. niloticus* (Linnaeus) Vr.. “Chitralada”, utilizando rações contendo inclusões de algas marinhas. Os experimentos constaram de quatro tratamentos/teste e um outro, funcionando como termo de comparação, sem inclusão de algas. Os tratamentos/teste tiveram como objetivo inicial, a avaliação do crescimento e ganho de peso dos peixes submetidos às dietas balanceadas, incluindo algas como fontes de proteína e carboidratos e, em seguida, foram também avaliadas as alterações do aroma, sabor e coloração dos peixes alimentados com dietas encerrando algas marinhas como ingredientes também ricos em bromofenóis.

Capítulo IV

Como última etapa do presente trabalho foram realizados os testes de análises sensoriais. Amostras de peixes alimentados ou não, com dietas contendo algas marinhas (nos diversos tratamentos), foram preparadas para avaliação por um grupo de pessoas/provadores, a fim de ser detectada a possível presença de alguma alteração no aroma dos peixes. Análises complementares incluíram a observação das mudanças na coloração das amostras tratadas, com relação aos controles. Estes testes foram realizados de acordo com as normas exigidas para o controle e confiabilidade (análise estatística) dos resultados obtidos.

CAPÍTULO I

*ESTUDO BIOQUÍMICO E NUTRICIONAL DE
ESPÉCIES DE ALGAS MARINHAS DO LITORAL
CEARENSE: ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E
UTILIZAÇÃO COMO FONTE POTENCIAL DE
ALIMENTO*

1. INTRODUÇÃO

1.1. O Potencial Nutricional dos Componentes da Dieta para Peixes

A utilização de técnicas adequadas de nutrição de peixes requer um conhecimento prévio, das características físicoquímicas e bioquímicas de todos os ingredientes da ração, para que se possa balancear adequadamente os teores de proteínas e aminoácidos essenciais, lipídios e ácidos graxos, carboidratos e fibras, vitaminas, minerais, dentre outros componentes. O ajuste qualitativo e quantitativo destes nutrientes favorece e eleva a eficiência metabólica destes animais, com a conseqüente melhoria da conversão alimentar, diminuição do tempo de cultivo e redução nos custos de produção. Os peixes necessitam de bons nutrientes em suas dietas não apenas para o seu crescimento e reprodução, mas também para a regeneração dos tecidos e outras funções fisiológicas normais. A taxa metabólica (processo biológico da utilização da energia) varia com a espécie e, dentro das espécies em função do estágio de desenvolvimento, sexo, estágio reprodutivo e variações ambientais (SCHIMITTOU, 1997).

Diversas fontes de ingredientes são utilizadas para elaboração de rações para peixes, e dentre estas são encontrados o farelo de soja, o milho, a farinha de carne e a farinha de peixe, além de complexos de vitaminas e sais minerais. A qualidade protéica de um ingrediente é um dos fatores mais importantes na elaboração de uma ração nutricionalmente adequada para a alimentação de peixes, sendo necessário o conhecimento tanto do teor de proteína bruta, bem como a composição de aminoácidos essenciais. Farelo de soja tem se apresentado como uma boa fonte protéica, sendo comumente incorporado em dietas comerciais (LIM e DOMINY, 1989; LOVELL, 1990; AKIYAMA, 1990).

As proteínas são os nutrientes mais importantes para a vida, crescimento e produção dos peixes, perfazendo em torno de 65 a 75% da matéria seca. Excetuando a água, as proteínas formam a maior porção corpórea dos peixes (15 a 20% de seu peso seco). As gorduras, em quantidades moderadas ou pequenas e, os carboidratos e fibras são praticamente ausentes nos peixes.

Quanto aos lipídios, estes são importantes fontes de energia e os ácidos graxos são essenciais ao crescimento normal e à sobrevivência dos peixes, principalmente os polinsaturados da família cis-ômega-3. Estes ácidos graxos fornecem o veículo indispensável para a absorção de vitaminas lipossolúveis e outros compostos como os

esteróis. As quantidades mínimas e os tipos de gordura para o crescimento eficiente dos peixes, ainda não foram bem determinadas. Entretanto, os dados obtidos na literatura recomendam, para a nutrição de peixes, a inclusão de uma taxa de lipídeos em torno de 4 a 10% da dieta. Estas moléculas são prontamente aproveitadas pelos peixes na dieta (20 a 30% da quantidade fornecida), desde que provida de teores adequados de colina, metionina e tocoferol. Estudos indicam que os peixes assimilam melhor o óleo de peixes do que o óleo vegetal (SCHIMITTOU, 1997).

Em relação aos ácidos graxos essenciais, se faz necessário um breve comentário sobre a estrutura de dois desses importantes ácidos graxos: o Ácido linolênico (Ômega-3) e ácido linoléico (Ômega 6). A palavra Ômega é um termo químico que indica a posição da dupla ligação na cadeia insaturada da molécula do ácido graxo. Nos ácidos graxos das famílias Ômega - 3 e Ômega-6, as primeiras duplas ligações se encontram nas posições 3 e 6, respectivamente, a partir do final metil (CH_3) da cadeia de hidrocarboneto. O que parece ser uma diferença insignificante de estrutura, realmente pode fazer uma enorme diferença na atividade química e biológica destas substâncias, tais como: prevenção da arterosclerose, da trombose, do câncer, da hipertensão arterial, como também, são precursores das prostaglandinas (hormônios essenciais à atividade vital dos animais), leucotrienos e participam da formação do HDL (molécula de colesterol de alta densidade) em detrimento do LDL (molécula de colesterol de baixa densidade) que é o colesterol prejudicial à saúde dos animais.

No que se refere às vitaminas, estas são requeridas em quantidades bem pequenas, estando na dependência do tamanho, idade, velocidade de crescimento, estágio de manutenção gonadal e fatores ambientais dos peixes. Deve ser ressaltado, entretanto, que elas são necessárias à saúde, vida e crescimento destes animais. O caráter de essencialidade varia de uma espécie para outra.

Os minerais são utilizados pelos peixes para formação de tecidos e vários processos metabólicos, sendo adquiridos diretamente da água pela difusão dos seus íons através das brânquias ou tegumento (SCHIMITTOU, 1997).

PAVANELLI *et al.* (1998) citaram que os conhecimentos adquiridos até então, por vários autores, permitiram a determinação aproximada dos requerimentos nutricionais para peixes cultivados de forma intensiva. No geral esses requerimentos são os seguintes:

- proteína na dieta, contendo os dez aminoácidos essenciais;
- lipídeos na forma de ácidos graxos Omega-3, na quantidade de no mínimo 1% da dieta;

- pigmentos carotenóides;
- vitaminas, a presença das consideradas essenciais, em número de 14 tipos;
- minerais, sob certas condições de alimentação, tem sido adotada uma suplementação com dez minerais considerados importantes.

A composição química das algas marinhas varia de acordo com a espécie, habitat, grau de maturidade e condições ambientais (ITO & HORI, 1989). Em geral estes organismos são ricos em carboidratos complexos (galactanas ou galactomananas) (MELO, 2000), abundantes em minerais e vitaminas (DARCY-VRILLON, 1993), com fibra total variando de 50,3 a 55,4% da matéria seca e cinzas com taxas mínimas de 1,42 a 1,64%. Embora as algas marinhas vermelhas apresentem, normalmente, uma maior taxa de proteína bruta que as algas verdes, nas espécies em geral, os teores de aminoácidos essenciais variam um pouco, de uma espécie para outra, mas são considerados adequados aos requerimentos exigidos pela FAO (WONG & CHEUNG, 2000). O baixo teor lipídico, detectado nas algas marinhas, contribui apenas com reduzido incremento calórico, quando presente em dietas (JURKOVIC & COLIC, 1995).

No mundo, várias espécies de algas marinhas já foram empregadas na formulação de rações para engorda de peixes marinhos e de água doce (MATTY & SMITH, 1978; APPLER, 1985). Vários são os trabalhos que demonstram que pequenas quantidades de algas marinhas, incorporadas em rações, incrementam o crescimento, o metabolismo de lipídeos, a composição protéica do músculo e, tornam os peixes mais resistentes às doenças (YONE *et al.* 1986; SATOH *et al.* 1987).

1.2. Componentes Antinutricionais de Algas

O cultivo de microalgas destinadas à alimentação não é uma atividade recente. Na Ásia, a produção de microalgas e a criação complexa de algas bentônicas, por fertilização e manejo de água vem sendo feita há anos. O produto colhido e seco, não apresenta toxicidade. No Japão e em outras partes do sudeste da Ásia, as algas são comidas cruas ou cozidas, compondo saladas. Os japoneses se referem às algas como vegetais do mar (BROWN *et al.*, 1997).

Microalgas são produtores primários que compõem a base de ciclos alimentares marinhos e de água doce. Muitas de suas espécies também produzem substâncias que

exibem potentes atividades biológicas. Tais substâncias são consideradas metabólitos secundários, e que estão presentes em grupos próximos do ponto de vista taxonômico. A biossíntese de metabólitos secundários é também comum em bactérias e em microorganismos eucarióticos e, em plantas superiores. Reconhecidamente, muitos destes produtos estão envolvidos em mecanismos de defesa química, conferindo vantagens ao hospedeiro sobre outros organismos, atenuando a predação (CEMBELLA, 1998). A diversidade de toxinas de algas, com importância na saúde humana é um reflexo da grande variedade de produtos que evoluíram dos procariotes para organismos eucariotes. A toxicidade não é uma característica que foi conservada filogeneticamente entre as microalgas, uma vez que na maioria dos exemplos, espécies intimamente relacionadas a outras toxicogênicas (baseado na filogenia, morfologia ou molecularmente) podem não ser tóxicas. Desta forma, a vantagem seletiva de produção de toxina, por algumas espécies é bem difícil de ser estabelecida. Considerando que o gene envolvido na produção de toxina não seja expresso para uma determinada espécie de alga, atualmente seria possível determinar se a capacidade para produção de toxina está presente e silenciada, ou verdadeiramente ausente em variedades não-tóxicas. YASUMOTO (1998) e LEGRAND (1998) comentaram que com o avanço da biologia molecular de microalgas, um maior entendimento seria alcançado a esse respeito.

No que diz respeito aos fatores antinutricionais ou tóxicos de algas marinhas, até o presente, pouco foi publicado com este enfoque. Inclusive as propriedades nutricionais, de grande número de espécies, são geralmente estimadas apenas a partir da composição química (DARCY-VRILLON, 1993). Comparativamente às plantas terrestres, a composição química das algas é pouco investigada e a maioria da informação disponível se refere a espécies de algas japonesas (WONG & CHEUNG, 2000).

Ainda dentro deste contexto, e procurando focalizar características importantes encontradas em plantas superiores, seria importante ressaltar que embora o percentual de proteínas em leguminosas seja muitas vezes superior, aos teores detectados em algas marinhas, muitas sementes de leguminosas de espécies importantes do ponto de vista nutricional, como a soja, contém componentes considerados antinutricionais e/ou tóxicos como inibidores de proteases, lectinas, antivitaminas, saponinas, taninos, fatores de flatulência, alérgenos, fitatos (LIENER, 1994) e toxinas (VASCONCELOS *et al*, 2001), que podem contribuir para reduzir o seu valor nutricional.

Considerando a presença de lectinas e algumas indicações da presença de toxicidade, em algumas espécies de algas marinhas da costa cearense (FREITAS *et al*, 1997;

BENEVIDES *et al.*, 1998), parte do estudo relatado neste capítulo, diz respeito à avaliação da presença destes e de outros componentes antinutricionais, nas algas marinhas testadas nas rações para peixes.

1.2.1. Considerações Gerais sobre Lectinas de Algas Marinhas

Lectinas são glicoproteínas (OHYAMA *et al.*, 1986), de origem não imune, exibindo um ou mais sítios de ligação a carboidrato por subunidade, os quais são destituídos de atividade enzimática. Tais proteínas, além de interagirem reversivelmente com açúcares específicos, precipitam polissacarídeos, glicoproteínas e glicolipídeos, atuam no reconhecimento de células através de ligação seletiva com porções glicídicas da superfície de membranas. Algumas lectinas também podem conter um segundo tipo de sítio de ligação, não específico para carboidratos, que pode interagir com outras moléculas. Assim, as lectinas possuem várias especificidades que estão associadas com a capacidade dessas moléculas para interagir com carboidratos (simples ou complexos) e, precipitam polissacarídeos, glicoproteínas e glicolipídeos que encerrem em suas estruturas porções glicídicas específicas (SINGH *et al.*, 1999).

O conhecimento sobre lectinas tem revelado sucessivas definições para esta proteína especial, dentre as quais, mais recente e mais apropriada é aquela citada por PEUMANS & VAN DAMME (1995), que as definiram como “proteínas de origem não imune que possuem um ou mais sítios ligantes de carboidratos os quais, no caso de enzimas, não são requeridos para a atividade catalítica”.

Uma grande diversidade de estruturas de carboidratos têm sido detectadas em associação com glicoconjugados solúveis ou ligada à superfície. Essa diversidade é considerada significativa do ponto de vista biológico, tendo em vista que em muitos casos, os carboidratos modificam as atividades de proteínas as quais estão associados e também servem como marcadores de diferenciação celular, desenvolvimento e estados patológicos (FUKUDA, 1985; MURAMATSU, 1988).

A presença de hemaglutininas em algas foi observada inicialmente por BOYD *et al.* (1966), quando estes realizaram um estudo com 24 espécies de algas coletadas em Porto Rico. A partir de então, os estudos continuaram, mas durante alguns anos as publicações sobre hemaglutininas de algas foram esporádicas. No início da década de oitenta, entretanto, esta área de estudos passou a ser interesse de diversos grupos de pesquisa de

excelência, como os liderados por D.J. ROGERS, K. HORI, J. FABREGAS, A. MUNÓZ, G. BLUNDEN, I. L. AINOZ, dentre outros. Até o presente, muitas espécies de algas já foram analisadas quanto à presença de atividade hemaglutinante, entretanto, apenas 50 % das espécies testadas foram capazes de aglutinar pelo menos um tipo de célula testada.

A maioria das lectinas de algas marinhas é capaz de aglutinar eritrócitos de coelho tratados enzimaticamente, não apresentam afinidade por monossacarídeos, sendo mais específicas por oligossacarídeos complexos, não requerem íons metálicos, apresentam baixas massas moleculares e ocorrem em formas monoméricas (ROGERS & HORI, 1993; HORI *et al.*, 1990).

As lectinas de algas marinhas contêm grandes quantidades de aminoácidos ácidos (ácido aspártico e ácido glutâmico) e aminoácidos hidroxilados (serina e treonina) e baixas concentrações de aminoácidos básicos (lisina, arginina e histidina) (SHIOMI *et al.*, 1981; FABREGAS *et al.*, 1988; HORI *et al.*, 1990; OKAMOTO *et al.*, 1990). Conseqüentemente, o ponto isoelétrico encontrado para as hemaglutininas de algas marinhas está situado entre pH 4,0 e 6,0.

As lectinas de algas vermelhas existem em três categorias: 1. moléculas de baixo peso molecular que se ligam a glicoproteínas, mas não a monossacarídeos e não requerem cátions divalentes; 2. Lectinas que se ligam a monossacarídeos e são moléculas pequenas, mas não necessitam de cátions divalentes; 3. Lectinas grandes (M.W. > 64000) que se ligam a monossacarídeos na presença de cátions divalentes (ROGERS, 1993).

Como as lectinas de vegetais superiores, as hemaglutininas de algas marinhas também têm sido usadas na tipagem de grupos sanguíneos humanos. A hemaglutinina de *Ptilota plumosa* aglutina especificamente eritrócitos que expressam o antígeno B (B, A₁B e A₂B), mas não reage com eritrócitos dos grupos A e O (ROGERS *et al.*, 1977).

Eritrócitos do grupo A tratados com papaína são rapidamente distinguidos dos outros pelas aglutininas de *Codium fragile*. O uso mais significativo destas hemaglutininas é que elas podem identificar subgrupos de sangue tipo A mais rapidamente do que os anticorpos utilizados (ROGERS *et al.*, 1984).

A hemaglutinina presente na alga verde *Ulva lactuca* mostrou especificidade por eritrócitos humanos do grupo O(H), podendo ainda distinguir por intensidade de aglutinação os grupos A₂, A₂B de A₁ e A₁B (GILBOA-GARBER *et al.*, 1988).

HORI *et al.* (1986) comparando resultados entre as concentrações necessárias para que houvesse a aglutinação de células tumorais tipo FM3A de camundongo, demonstrou que as lectinas das algas marinhas *Boodleia coacta*, *Codium fragile*, *Hypnea japonica*,

Carpopeltis flabellata e *Gracilaria bursa-pastoris* foram mais efetivas para aglutinar células tumorais que as de plantas superiores (*Triticum vulgare*, *Ricinus communis* e *Phaseolus vulgaris*), sugerindo então o uso dessas proteínas para estudos do câncer.

As aglutininas da alga marinha vermelha *Solieria robusta* (solninas A, B e C) inibem o crescimento *in vitro* de células leucêmicas de camundongo (L1210). Essas lectinas também inibiram o crescimento *in vitro* de células tumorais de camundongos (FM3A). Interessante observar que as solninas estimulam a mitose e o crescimento de células normais envolvidas no sistema imune, enquanto que inibem o crescimento de células transformadas (HORI *et al.*, 1988).

As lectinas isoladas do extrato de quatro algas marinhas *Bryothamnion triquetrum* (BT), *Bryothamnion seaforthii* (BS), *Amansia multifida* (AM) e *Gracilaria caudata* (GC) apresentaram atividade indutora de migração de neutrófilos *in vivo* e *in vitro*. Quando o ensaio foi realizado em ratos, a lectina mais potente foi a de (BT), contudo, quando testada em camundongos a lectina de (AM) induziu melhor a migração. Nos testes *in vitro*, todas as lectinas induziram significativamente a migração de neutrófilos humanos, sendo (BT) e (GC) as mais efetivas. A avaliação do envolvimento de glicoproteínas ou açúcares simples no efeito inflamatório das lectinas demonstrou que D-manose reduziu tanto *in vitro* como *in vivo* a migração de neutrófilos para o foco inflamatório, com exceção da lectina de (AM). Entretanto, as glicoproteínas avidina e mucina não foram capazes de inibir significativamente a migração. Esses resultados mostram um padrão surpreendente de inibição, visto que as lectinas de algas são inibidas por glicoproteínas e não por açúcares simples (NEVES *et al.*, 2001).

Recentemente, foram isolados os carboidratos sulfatados totais e uma nova lectina de *B.seaforthii* para utilização em testes de caracterização química, fisicoquímica e farmacológica. Um estudo comparativo, foi realizado após o isolamento e avaliação da ação antinociceptiva dos carboidratos sulfatados, das algas marinhas vermelhas *B.triquetrum* e *Botryocladia occidentalis* (PINTO-VIEIRA, 2002).

As lectinas de algas marinhas vem despertando o interesse de pesquisadores das mais diversas áreas, em decorrência do conhecimento de suas propriedades peculiares, que as tornam valiosas ferramentas biotecnológicas.

1.2.2. Atividade Tóxica de Proteínas de Algas Marinhas

A concentração e a qualidade das proteínas das algas diferem de acordo com a espécie e conforme a variação sazonal. Poucas informações são disponíveis sobre o valor nutricional destas proteínas, especialmente, no que diz respeito aos fatores que diminuem sua digestibilidade. Em geral o teor protéico das algas pardas é baixo (3-15% do seu peso seco), comparado com o das algas verdes ou vermelhas (10-47% do seu peso seco) (ARASAKI & ARASAKI,1983).

Certas algas produzem toxinas potentes, de variada natureza química, que podem exercer influência na saúde humana, através do consumo de produtos marinhos contaminados. Nas últimas três décadas, constatou-se um aumento na frequência e distribuição global de incidentes provocados por algas tóxicas. Este fato tem preocupado bastante as autoridades e ecologistas que têm comparado a recente evidência, com grandes perturbações ecológicas decorrentes do efeito estufa. Ao que parece, o surgimento de novas fontes de algas pode justificar os danos causados aos apreciadores de frutos do mar (Van DOLAH, 2000).

Em algas marinhas da costa cearense, BENEVIDES *et al.* (1998) observaram que algumas espécies são tóxicas para camundongos, quando os seus extratos foram injetados por via intraperitoneal. Uma letalidade em torno de 75% foi encontrada para a fração F0/70 da alga marinha vermelha *Amansia multifida*.

Extratos e frações protéicas de nove espécies de algas marinhas da costa cearense, foram analisados por BEZERRA *et al.* (2000), quanto ao estudo da presença de atividade tóxica. Os resultados obtidos mostraram que as amostras de apenas quatro espécies, mostraram-se tóxicas quando injetadas em camundongos, por via intraperitoneal, no período de 1-12 horas, e de acordo com a dose administrada. As espécies tóxicas para camundongos foram: *Bryothamnion seaforthii* ($DL_{50} = 63 \pm 2,40$), *B. triquetrum* ($DL_{50} = 53,21 \pm 0,58$), *Hypnea musciformis* ($DL_{50} = 83,0 \pm 2,20$) e *Meristiella echinocarpum* ($DL_{50} = 75,35 \pm 1,65$). Os efeitos indicativos de toxicidade observados, incluíram convulsões e morte dos animais. Estes efeitos foram também detectados em extratos e frações protéicas de sementes de leguminosas como a soja. VASCONCELOS *et al.* (1994), isolaram e caracterizaram uma proteína tóxica (soyatoxina), com massa molecular de 21kDa altamente tóxica para camundongos. Neste caso, após injeção intraperitoneal, de doses variadas das amostras testadas, foram visualizados efeitos muito mais fortes pois além de convulsões, foi também observada paralisia flácida antes da morte do animal.

NELSON *et al.*, (2002) estudando as propriedades alelopáticas de extratos de algas, demonstraram uma inibição do desenvolvimento larval de invertebrados pelos extratos de *Ulva*

sp. O efeito de extratos de *U. fenestrata* e de *Ulvaria obscura* foi testado em sistemas enzimáticos de larvas de ostra, do desenvolvimento do zigoto de *Fucus gardneri*, do crescimento de diatomácea e do crescimento de *Ulva* e *Ulvaria*. Os extratos de *Ulvaria* em pH 8,2 e 5,5 inibiram a atividade das enzimas tripsina e amiloglucosidase. Os extratos preparados e testados tardiamente, mostraram-se mais ativos. A maior taxa de inibição foi alcançada quando os extratos foram testados após 6 horas do preparo.

1.2.3. Inibidores de Proteases

Encontramos na literatura relatos de investigações em plantas, relacionadas à presença de fatores de diferentes naturezas químicas, com efeitos biológicos adversos. Um destes, os inibidores de proteases, são capazes de inibir a atividade proteolítica de certas enzimas, como tripsina, quimotripsina e pepsina. Estas substâncias são encontradas no reino vegetal, especialmente em sementes de leguminosas, cereais, tubérculos e em alimentos de origem animal, foram detectadas na clara de ovo de várias espécies de aves (LIENER, 1994).

Dos inibidores encontrados em vegetais, os de soja são os mais estudados e são conhecidos como inibidores de Bowman-Birk e de Kunitz. Os inibidores de Bowman-Birk caracterizam-se por apresentarem massas moleculares em torno de 7 a 10 kDa, sítios de ligação separados e independentes para tripsina (Lys 16 e Ser 17) e quimiotripsina (Leu 43 e Ser 44), ausência ou baixas quantidades de glicina e triptofano, altos teores de cisteína, número elevado de pontes dissulfeto (normalmente 7 a 9 pontes) e resistência à desnaturação térmica e química. Já os inibidores de kunitz possuem massas moleculares em torno de 21kDa, um sítio de ligação com alta especificidade para a tripsina (Arg 63 e Ile 64), quatro resíduos de cisteína envolvidos na formação de duas pontes dissulfeto e maior susceptibilidade à inativação pelo calor, por condições ácidas, e pepsina do que os inibidores de Bowman-Birk (LIENER, 1994; SGARBIERI, 1996).

Do ponto de vista nutricional, os inibidores de tripsina têm sido bastante estudados por serem capazes de causar uma série de danos para os consumidores quando usados na alimentação. Experimentos nutricionais realizados com ratos que receberam dieta contendo inibidores de tripsina, mostraram que os animais responderam a esse tratamento com uma secreção exacerbada de tripsina e quimiotripsina, resultando na hiperplasia e hipertrofia pancreática (LIENER & KAKADE, 1980; GRANT *et al.*, 1995).

Fatores com efeitos biológicos desfavoráveis em algas têm sido pouco estudados. Há muito tempo se especula sobre suas fontes, seus mecanismos de ação, e suas possíveis

funções na planta (talvez agindo num mecanismo de defesa). Sabe-se que uma variedade de doenças são mediadas por excessiva ação proteolítica. Muitos patógenos utilizam uma variedade de protease para invadir tecidos.

A princípio pensou-se que a descoberta e identificação de inibidores destas enzimas em microorganismo, criariam um potencial para o desenvolvimento de novas drogas. A procura de inibidores de tais enzimas tem sido feita, porém este estudo tem se concentrado em algumas gêneros ou espécies, como por exemplo, em Streptomyces. Vários inibidores de proteases de baixa massa molecular foram detectados e alguns destes, mostraram potencial considerável como possíveis drogas. Além disso, compostos com atividades inibitórias sob enzima, surpreendentemente mostraram exibir outras atividades biológicas.

CANNELL *et al.* (1987) realizaram o primeiro trabalho de levantamento da presença de inibidores de proteases em algas. Foram testadas, 300 espécies de algas de água doce, 200 algas marinhas eucarióticas e 70 culturas de alga doce e 10 culturas de cianobactérias marinhas. A atividade inibitória foi detectada em extratos metanólicos de 39 espécies, quando utilizada a enzima papaína.

Em microalgas e em algas marinhas são muito poucos os trabalhos conduzidos no levantamento de espécies com atividade inibidora de proteases. Dados mais recentes, descrevendo esta atividade em extratos de algas marinhas, não foram encontrados na literatura.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

Determinação da composição química e avaliação de alguns parâmetros bioquímicos e nutricionais das algas marinhas *Gracilaria cornea*, *Gracilaria caudata*, *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata*, *Vidalia obtusiloba* e de outros ingredientes básicos (soja e milho), utilizados no presente trabalho, na formulação de rações para peixes tilapia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) vr. Chitralada.

2.2. Objetivos Específicos

Determinar a composição química elementar e o perfil aminoacídico das algas marinhas *Gracilaria cornea*, *Gracilaria caudata*, *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata*, *Vidalia obtusiloba*, comparativamente ao farelo de soja e milho, na intenção de reunir dados mais compreensíveis sobre o valor nutricional deste material.

Analisar a presença de atividade hemaglutinante e inibidora de proteases, além da presença de atividade tóxica (determinação da DL50) destes ingredientes, a fim de ser avaliado o potencial de utilização destas espécies de algas marinhas, na preparação de alimentos para engorda e modificação do sabor e aroma de peixes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta de Algas

As algas foram coletadas em ocasião de maré baixa de sizígia, arribadas ou presas às rochas do meso-litoral das Praias de Flecheiras (*Gracilaria cornea*, *G. caudata* e *Ulva lactuca*) (Trairi-Ce) e Pacheco (*Vidalia obtusiloba* e *Ulva fasciata*) (Caucaia-Ce), ambas no Estado do Ceará. Posteriormente as algas foram conduzidas ao laboratório, (Bioquímica/UFC/Fortaleza) onde foram separadas por espécie, retiradas as epífitas, lavadas, submetidas ao congelamento rápido, através do nitrogênio líquido e trituradas em liquidificador doméstico. As farinhas de algas foram armazenadas em recipientes herméticos, sob a temperatura de -20°C até devida utilização

3.2. Análise Química Elementar

Os ingredientes das rações (soja, milho e algas marinhas) foram submetidos aos diversos procedimentos para obtenção da composição química elementar, sendo realizadas as seguintes determinações: Umidade, Cinzas, Proteína bruta (NT. x 6,25), Lipídeos totais e Fibra bruta. A determinação de Carboidratos foi feita por diferença.

Todas as análises químicas realizadas nas espécies algais, farelo de soja e milho foram conduzidas sempre com três repetições.

3.2.1. Determinação de Umidade

Para determinação do teor de umidade, pesa-filtros previamente tarados, contendo 02 gramas dos alimentos de origem vegetal (em base seca) foram colocados em estufa a 105°C durante 24 horas. Posteriormente, foram mantidos em dessecador para equilíbrio com a temperatura ambiente e pesados. Os pesa-filtros foram então recolocados em estufa por mais 12 horas, pesados e, assim sucessivamente, até que nas diversas pesagens se estabeleceu um peso constante. O teor de umidade foi calculado pela diferença entre os

pesos inicial e final das amostras, sendo este valor expresso em percentagem, AOAC (1995).

3.2.2. Determinação de Cinzas

Na determinação do teor de cinzas, cadinhos de porcelana, previamente tarados, contendo 02 gramas dos alimentos de origem vegetal (matéria seca), foram colocados em forno Mufla a 550 - 600 °C durante 4 horas. Em seguida, os cadinhos encerrando o material orgânico totalmente incinerado foram mantidos em dessecador até atingir a temperatura ambiente, quando foram pesados. O teor de cinzas foi obtido através da diferença entre os pesos inicial e residual e expresso em percentagem, AOAC (1995).

3.2.3. Determinação de Nitrogênio Total

O nitrogênio total dos ingredientes de origem vegetal (matéria seca), foi determinado pelo método descrito por BAETHGEN & ALLEY (1989). À amostra (500 mg) foi adicionado 1,1 g da solução catalisadora (100 g de KH_2SO_4 , 10 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ e 1 g de selênio) e 1,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi deixada mineralizar por 30 minutos e diluída para 50 mL com água destilada. À 100 mL da amostra diluída foram adicionados 0,9 mL do diluente, 5,5 mL de tampão (contendo Na_2HPO_4 0,1 M, tartarato de sódio e potássio a 5% e NaOH a 5,4%), 4,0 mL de uma solução de salicilato de sódio (15%), nitroprussiato de sódio a 0,03% e 2,0 mL de hipoclorito de sódio a 6%. As amostras foram colocadas em banho-maria a 37 °C por 15 minutos e feitas as leituras das absorbâncias a 650 nm em espectrofotômetro. A determinação de nitrogênio total foi calculada em relação a uma curva padrão obtida com sulfato de amônio. Para o cálculo do teor de proteína bruta foi usado o fator 6,25.

3.2.4. Determinação de Lipídios Totais

O teor de lipídios totais dos alimentos de origem vegetal (matéria seca) foi determinado conforme a metodologia descrita por TRIEBOLD (1946), sendo o éter substituído por hexano.

Amostras contendo 02 gramas dos alimentos de origem vegetal, foram pesadas em cartuchos de papel de filtro e colocadas em um aparelho extrator de Soxhlet, contendo hexano normal. Após um tempo de extração de quatro horas, o solvente foi evaporado em banho-Maria a 70 °C e, logo após, o material resultante foi pesado. O teor de lipídios foi calculado através da relação entre o peso dos lipídios extraídos e o peso inicial da amostra e expresso em percentagem.

3.2.5. Determinação de Fibra Bruta

Os ensaios foram feitos de acordo com o método de Henneberg, citado por WINTON & WINTON (1958), para análises de alimentos. Aproximadamente, 1 g de amostra foi pesada e desengordurada, e em seguida foi transferida diretamente para um Erlenmeyer de 500 mL, ressuspensa em 200 mL de ácido sulfúrico (1,25%) previamente aquecido. Esta preparação foi fervida, em refluxo, por 30 minutos, efetuando-se, após este tempo, uma filtração em papel de filtro qualitativo. Em uma próxima etapa, foram feitas sucessivas lavagens com água quente, até não haver mais reação ácida (testando com papel indicador de pH). O resíduo obtido, contido no papel, foi transferido para o mesmo Erlenmeyer de 500 mL, ressuspensa em 200 mL de hidróxido de sódio 1,25%, quente. Seguiu-se a uma nova fervura, em refluxo, por 30 minutos, com uma segunda filtração em papel filtro quantitativo (faixa preta). O resíduo foi previamente aquecido em estufa a 105°C por 1 hora e pesado. Em seguida o resíduo foi lavado com água quente até não mais haver reação básica conferida com o papel indicador de pH, em seguida lavado três vezes com álcool etílico e duas vezes com éter etílico. Após a evaporação do solvente, o material foi levado para a estufa a 105 °C, deixado secar até ser obtido um peso constante do papel com o resíduo. Finalizando a operação, o resíduo foi colocado em um cadinho de porcelana, previamente tarado, queimado em bico de Bunsen e incinerado em forno Mufla a 550 °C, seguindo-se às pesagens até obtenção do peso constante.

3.2.6. Determinações de Cálcio e Fósforo

As determinações de Cálcio e Fósforo foram realizadas de acordo com Métodos descritos pela AOAC (1995). A determinação de Cálcio foi realizada através de titulação com Permanganato de Potássio e, o Fósforo, por Espectrometria.

3.3. Determinação da Composição em Ácidos Graxos

Para determinação de ácidos graxos os seguintes procedimentos foram realizados da metodologia descrita por BLIGH & DYER (1959).

Em uma amostra de 2 g de farinha de alga foram adicionados 10 mL de clorofórmio, 10 mL de metanol e 10 mL de H₂O destilada, agitada e deixada em repouso por alguns minutos, para extração dos lipídios. Após a homogeneização, o material foi centrifugado à 3.000 g/15 minutos. Em seguida retirou-se a fase inferior (Clorofórmio + lipídios), com a utilização de pipeta Pasteur, reservando-se, esse material num Becker em geladeira. Na fase superior, adicionou-se 10 mL de clorofórmio e procedeu-se a uma nova centrifugação, para uma segunda extração dos lipídios remanescentes. A fase lipídica (inferior) foi retirada juntando-se com o material reservado da primeira extração. O solvente foi evaporado com nitrogênio gasoso e os lipídios ressuspensos em 2 mL de cloroformio.

Os ácidos graxos dos músculos dos peixes, também foram analisados segundo metodologia descrita por BLIGH & DYER (1959), com pequenas alterações nos volumes de clorofórmio (20 mL), metanol (40 mL) e H₂O destilada (20 mL), para a primeira extração de lipídios e, na segunda, 20 mL de clorofórmio.

As fases seguintes, de saponificação e metilação, utilizaram mesma metodologia para algas e peixes.

A saponificação tem a função de liberar os ácidos graxos da molécula do glicerol, tornando-os livres. Neste procedimento, seguindo metodologia descrita por METCALFE *et al.* (1966), retirou-se uma alíquota de 1 mL do extrato de lipídios totais, utilizando nitrogênio gasoso para a evaporação do solvente. Os lipídios foram redissolvidos em 4 mL de NaOH metanólico 0,5 N, sob agitação em banho Maria, por 15 min a 65 °C em tubos de ensaio fechados (tampados), para evitar evaporação do metanol e também a

oxidação pelo oxigênio. Após, o tubo foi esfriado em água corrente ou banho frio e procedeu-se a metilação.

A metilação tem a função de diminuir o ponto de fusão dos ácidos graxos, e foi realizada através de procedimento descrito por METCALFE *et al.* (1966). Colocou-se 2 mL de BF_3 – Trifluoreto de Boro em Metanol, no tubo contendo o material saponificado. A manipulação deste reagente se deu sempre em capela, pois trata-se de substância muito tóxica. Após, o material foi submetido a banho Maria por 15 minutos a $65\text{ }^\circ\text{C}$ e, em seguida, resfriado em água corrente. Foram adicionados 10 mL de Hexano, sob agitação e 2 mL de H_2O destilada, agitando, novamente, para posteriormente, deixa-lo em repouso para decantação (± 30 minutos). Em seguida, retirou-se os ésteres de ácidos graxos metilados presentes na fase sobrenadante do tubo, utilizando pipeta Pasteur, o hexano evaporado em nitrogênio gasoso e os ésteres metílicos ressuspensos em 1 mL de clorofórmio, e armazenados em pequenos frascos de vidro (volume de 3 mL), conservados em atmosfera de nitrogênio e armazenados a $-30\text{ }^\circ\text{C}$ até o momento de serem separados e identificados pelo sistema CG/EM (Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa).

A análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi feita através da injeção da solução hexânica (ésteres metílicos) em aparelho Hewlet Packard CG/EM modelo 5995 de cromatografia gás-líquida, de coluna capilar (fenil-metil-silicone 5% em sílica fundida, 25 m x 0,20 mm; programação de temperatura: $50-180\text{ }^\circ\text{C}/4\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ e $180-250\text{ }^\circ\text{C}/20\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$), acoplada à espectrometria de massa.

A identificação dos ácidos graxos foi realizada com base no procedimento descrito por MATOS *et al.* (1992), utilizando-se os valores relativos de tempo de retenção e dados dos espectros de massas dos respectivos ésteres metílicos.

3.4. Análise de Aminoácidos

A análise de aminoácidos da proteína de cada uma das algas marinhas (em base seca), após delipidação da farinha de alga com hexano, foi conduzida em um sistema Biochrom 20 da Pharmacia-LKB. A amostra (± 2 mg, em média) foi hidrolisada com HCL 6 N (1 mL), contendo 1% (m/v) de fenol. A hidrólise foi feita em ampolas de vidro seladas, sob atmosfera de Nitrogênio, a $110\text{ }^\circ\text{C}$ em estufa, durante 22 horas. Após a hidrólise, a ampola foi aberta e o HCL e Fenol evaporados, sob pressão reduzida, em presença de NaOH. O hidrolisado foi lavado com água grau milli-Q e seco sob pressão

reduzida, em presença de pentóxido de fósforo. Depois de seca, a amostra foi redissolvida em tampão citrato de sódio pH 2,2, filtrada em membrana de 0,45 μm (Milipore) e submetida à análise. O conteúdo de aminoácidos foi determinado pelo método de SPACKMAN *et al.* (1958), adaptado para o uso do Sistema Biochrom 20 da Pharmacia-LKB.

Com relação ao aminoácido triptofano foi feita uma tentativa visando a realização desta determinação, porém, não foram alcançados os resultados satisfatórios.

3.5. Estudo Bioquímico dos Extratos de Algas

3.5.1. Preparação dos Extratos Protéicos

Os extratos das diversas algas em estudo foram preparados conforme apresentado na FIGURA 1. As amostras de alga foram trituradas em presença de nitrogênio líquido com a utilização de um liquidificador, com obtenção de uma farinha de alga. Em seguida, as amostras de farinha de cada alga foram postas em contato com tampão fosfato de sódio e potássio ($\text{KH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$) 0,02 M pH 7,0, na proporção 1:3 (300 g de alga : 900 mL de tampão, p/v), por um período de três horas, à temperatura ambiente (25°C). Após filtração em tecido fino, o extrato foi centrifugado a 6.000 x g, durante 30 minutos a 4 °C, o precipitado foi desprezado e o sobrenadante (extrato total) foi concentrado por liofilização, até atingir aproximadamente 1/10 do volume inicial. O extrato total foi armazenado sob refrigeração para posterior utilização nos testes de toxicidade e atividade hemaglutinante e atividade inibidora de proteases.

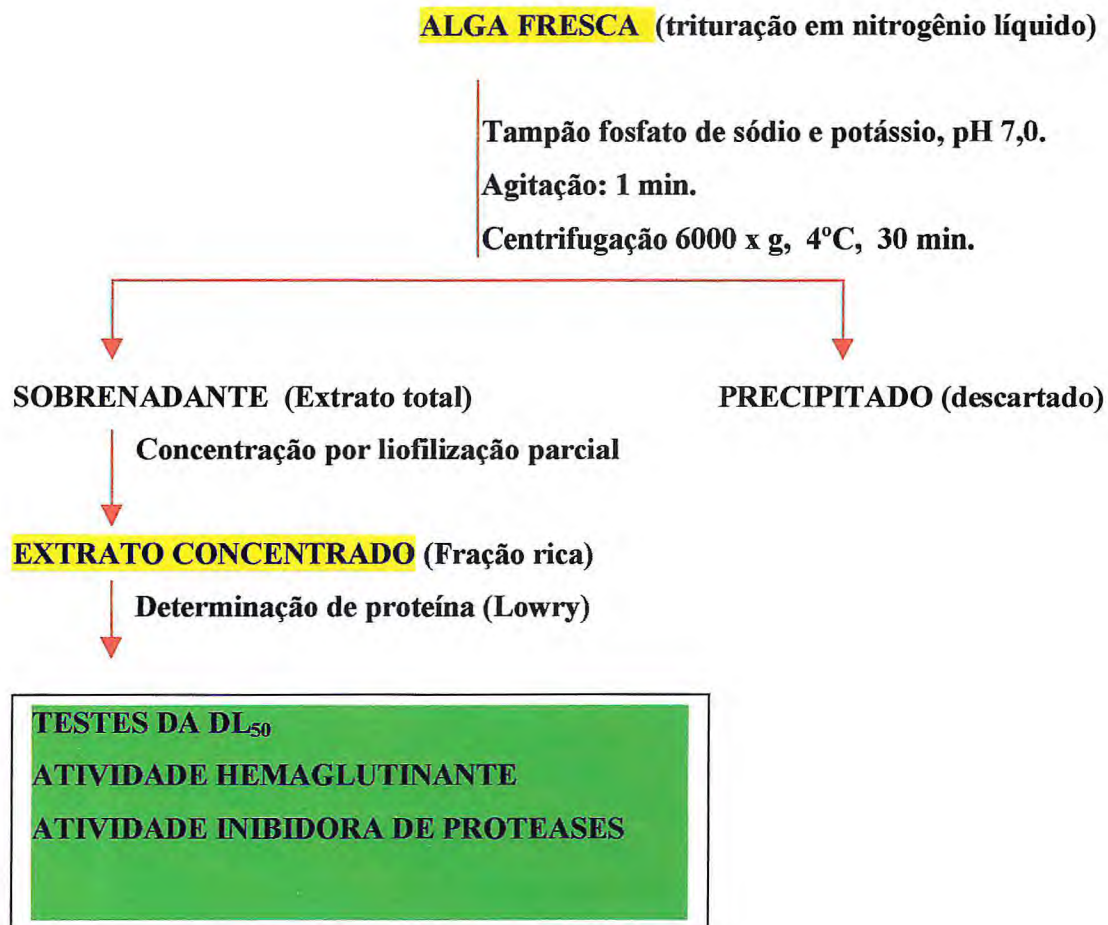


FIGURA 1 – Protocolo de Extração de Proteínas de Algas Marinhas

3.5.2. Determinação Quantitativa de Proteína solúvel

As dosagens de proteínas solúveis foram feitas segundo o método de Folim descrito por LOWRY *et.al.*, (1951). As absorvâncias foram obtidas através de espectrofotômetro, a 750 nm. A concentração de proteínas foi estimada com relação a uma curva padrão obtida com albumina sérica bovina.

3.5.3. Determinação da Atividade Hemaglutinante

Os ensaios de atividade hemaglutinante nos diversos extratos das algas em estudo foram feitos através de diluições seriadas em tubos de ensaio. Em cada tubo foram adicionados 0,2 mL de NaCl 0,15 M. No primeiro tubo foram adicionados 0,2 mL de extrato de uma das algas e uma série de diluições duplas foram feitas (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, etc.), homogeneizando-se completamente antes de cada transferência. À cada diluição foram adicionados 0,2 mL de eritrócitos tripsinizados de coelho a 2% e a reação foi incubada à temperatura ambiente (± 25 °C), por 60 minutos. Posteriormente, o ensaio foi centrifugado a 2000 x g por 30 segundos e os resultados foram lidos macroscopicamente, sendo o título expresso em unidade de hemaglutinação (UH/mL), que é o inverso da maior diluição da amostra que apresentou nítida aglutinação

3.5.4. Avaliação da Atividade Tóxica das Algas (DL₅₀)

Nos testes de determinação da DL₅₀ (dose letal que mata 50% dos camundongos tratados), foi determinada a possível atividade tóxica das diversas algas em estudo. Os experimentos foram conduzidos em camundongos pesando entre 20 e 28 g. Durante os testes, os camundongos receberam doses de extratos de algas, de acordo com seus pesos. A dose máxima adotada foi de 0,3 mL de extrato por cada 10 gramas de peso corpóreo do camundongo tratado. As doses intermediárias foram de : 0,25, 0,20 e 0,15 mL/10 g de camundongo. A atividade tóxica é definida como a mortalidade ocorrida durante as 24 horas subseqüentes à aplicação da dose. Uma unidade de DL₅₀ é definida como a quantidade de proteína (em g/kg de peso corpóreo) capaz de produzir convulsões e morte nos animais testados VASCONCELOS *et al.* (1994).

3.5.5. Determinação da Atividade Inibidora de Tripsina

Os ensaios para determinação da atividade inibidora de tripsina foram realizados de acordo com a técnica originalmente descrita por Kakade, tendo sido ligeiramente modificada, HAMERSTRAND *et al.* (1981). Farinhas das algas *Gracilaria cornea* e *G. caudata* foram suspensas em 1 mL de NaOH 0,01 N, deixadas sob agitação constante por 3 horas à temperatura ambiente e, em seguida, deixada em repouso por 30 minutos. Após esse tempo foram retiradas alíquotas de 0,5 mL dos sobrenadantes, que foram misturadas com 0,5 mL de NaOH 0,01 N. As soluções resultantes foram centrifugadas a 14.000 x g por 5 minutos. Após centrifugação, alíquotas de 0,1 mL destas soluções foram retiradas e incubadas a 37 °C num meio de reação que consistia de 1,6 mL de Tris-HCL 0,05 M, pH 8,2, contendo CaCl₂ 0,02 M, 0,1 mL de tripsina (solução estoque de 0,4 mg tripsina em 10 mL de HCL 0,001 N) e o substrato N α -L Benzoil-D1-Arginina – p – Nitroanilida (BAPNA). A reação foi parada com ácido acético 30% (v/v) e a leitura feita a 410 nm. Os resultados foram calculados considerando a curva padrão obtida com Inibidores de Tripsina de soja (SBTI) e expressos como a quantidade em mg de tripsina inibida (UI) por kg de farinha.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Composição Química dos Ingredientes

O percentual de umidade de algas marinhas é extremamente elevado, como observado no presente estudo. Os valores obtidos estão mostrados na TABELA 1 e variaram de 77 a 89%. Como observado, o percentual de umidade do farelo de soja e do milho mostraram-se bem mais baixos, visto que estes ingredientes foram adquiridos comercialmente na forma praticamente desidratada.

Analisando os demais resultados da tabela acima citada, nos deparamos com os dados de composição química centesimal dos ingredientes utilizados nas formulações das dietas testadas na alimentação de tilápias do Nilo. Os valores de carboidratos, obtidos por diferença, seguido da proteína bruta, foram os percentuais mais elevados desta análise. Entre as algas testadas, as mais ricas em proteínas foram *G. caudata* (15,50%), *U. fasciata* (13,73 %) e *G. cornea* (13,0 %), todas encerrando apenas a terça parte do teor protéico presente no farelo de soja (45,5 %). Por outro lado, os percentuais observados nas algas foram superiores ao teor de proteína encontrado no milho utilizado nas rações (9,2 %). As algas apresentaram baixo conteúdo lipídico, tendo sido a *Vidalia obtusiloba* a espécie cujo teor obtido (1,60%), foi um pouco superior ao teor lipídico do farelo de soja (1,50%). Todos os valores até aqui descritos para estas espécies mostraram-se concordantes com dados demonstrados para outras algas marinhas da costa cearense (BENEVIDES *et al.*, 1996; 1998).

Os dados obtidos para fibra bruta de algas foram muito baixos, comparativamente aos valores encontrados na literatura (WONG & CHEUNG, 2000). Os teores obtidos variaram entre 4,20 e 6,30% enquanto na literatura estes valores se situam em torno de 50% da matéria seca (WONG & CHEUNG, 2000). Ao que parece o método empregado para dosagem de fibras, não dosou efetivamente o teor de fibra total, mas apenas estimou as fibras solúveis. Como observado, baixos teores de fibra encontrados para as algas em estudo, ainda que um pouco inferiores, se aproximam dos valores registrados para fibras solúveis registrados na literatura (DARCY-VRILLON, 1993; ITO & HORI, 1989).

Analisando os teores de cinzas nas algas foi observado que estes dados variaram de 3,80 a 6,80%. Os valores mais elevados foram apresentados para as algas *Vidalia obtusiloba* (6,8%) e *G. caudata* (4,90%). De acordo com o observado, estes resultados não estão em concordância com os dados da literatura. MABEAU *et al.*, (1992) e MABEAU &

TABELA 1 - Composição química elementar (g/100g material seco), dos ingredientes das rações utilizadas para tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr Chitralada.

INGREDIENTES	COMPOSIÇÃO QUÍMICA ELEMENTAR (g/ 100g de material seco)									
	UMIDADE (%)	MATÉRIA SECA (%)	PROTEÍNA BRUTA	LIPÍDEO	CINZA	FIBRA BRUTA	ENN*	CÁLCIO	FÓSFORO	ENERGIA LÍQUIDA DISPONÍVEL (Kcal/Kg)
Farelo de Soja	8,00	92,0	45,50	1,50	8,50	7,00	29,50	2,00	0,30	2.321,00
Milho Triturado	12,80	87,20	9,20	3,70	2,60	2,80	68,90	0,40	0,20	1.748,00
<i>G. caudata</i>	86,80	13,20	15,50	1,20	4,90	6,30	66,20	0,40	0,50	1.680,20
<i>G. cornea</i>	87,50	12,50	13,0	0,40	4,40	6,20	71,00	0,10	0,30	1.385,80
<i>U. lactuca</i>	88,07	11,93	5,68	0,70	3,80	4,40	74,20	0,05	0,02	1.459,04
<i>U. fasciata</i>	89,01	10,99	13,73	1,00	4,20	4,20	61,17	0,06	0,04	1.580,46
<i>V. obtusiloba</i>	77,70	22,30	10,00	1,60	6,80	5,80	67,63	0,25	0,10	1.588,18
Nutron (Vit + Min)**								18,90	6,00	

*ENN – Extratos não nitrogenados (carboidratos)

** Dados fornecidos pela NUTRIMAIS, fabricante do NUTRON.

FLEURENCE, (1993) apresentaram valores de cinzas para várias espécies de algas marinhas bem maiores, como o demonstrado para *U. lactuca* (24,0%) e *U. pertusa* (24,7%). Cabe neste instante uma outra discussão que traz a observação da atenção que se deve ter com a variação sazonal. Como mostrado por BENEVIDES *et al.* (1999), os níveis de cinzas, carboidratos, lipídeos e proteínas solúveis apresentaram variações ao longo do período de 12 meses durante o qual as coletas e análises foram realizadas em duas espécies de algas marinhas vermelhas da costa cearense, *Gracilaria domingensis* e *Gelidium pusillum*. No período analisado, os teores de cinza da alga *G. domingensis* variaram de 5 a 20%.

A composição dos elementos do NUTRON – Suplemento de vitaminas e minerais, encontra-se na TABELA 2, com os dados fornecidos pelo fabricante do produto.

4.2. Análise da Composição de Aminoácidos das Algas Marinhas

A composição de aminoácidos das algas utilizadas no presente trabalho foram analisadas e comparadas com os dados obtidos para o farelo de soja e milho triturado. De acordo com os resultados na TABELA 3 pode ser observado, para todas as espécies, que o ácido aspártico e ácido glutâmico constituem juntos, a maior porção da fração de aminoácidos. Esta observação é concordante com trabalhos anteriores realizados por outros autores (FLEURENCE, 1999; BENEVIDES *et al.*,2001). É possível constatar que o percentual determinado para Asp e Glu foi maior nas algas verdes que nas vermelhas, com exceção de *Vidalia obtusiloba* (Asp 10,78 e Glu 13,27%) que apresentou valores mais altos, intermediários, entre *U. lactuca* (Asp 7,07 e Glu 8,98%) e *U. fasciata* (Asp 16,04 e Glu 20,03 %).

Com relação a todas as algas testados, e particularmente as espécies mais ricas em proteína (*G. caudata*, *G. cornea* e *U. fasciata*), a comparação de suas composições aminoacídicas com a do farelo de soja e do milho, nos permite fazer uma primeira avaliação sobre o valor nutricional destas proteínas. Para todas as espécies o percentual dos aminoácidos essenciais, leucina e valina, mostrou-se superior ao encontrado no farelo de soja e milho. Nas algas verdes *U. lactuca* e *U. fasciata* o teor de metionina (aminoácido essencial) foi pelo menos dez vezes maior que no milho. Por outro lado, os percentuais dos aminoácidos essenciais, isoleucina e treonina, obtidos para as algas *Ulva lactuca*, *U. fasciata* e *V. obtusiloba* são similares aos encontrados na literatura para ovoalbumina (ILE 4,8 e TRE 3,0%) e proteínas de leguminosas (ILE 3,6 e TRE 4,0%), (FLEURENCE, 1999).

TABELA 2. Composição do NUTRON¹ – suplemento de vitaminas e minerais, utilizado nas dietas para alimentação de alevinos de tilápia.

COMPONENTES	Por kg da dieta		Por kg da mistura	
Vitamina A	7.000,00	UI	200.000	UI
Vitamina D ₃	1.925,00	UI	55.000	UI
Vitamina E	9,62	mg	275	mg
Vitamina K ₃	1,58	mg	45	mg
Vitamina B ₁ (Tiamina)	1,72	mg	49	mg
Vitamina B ₂ (Riboflavina)	4,38	mg	125	mg
Vitamina B ₆ (Piridoxina)	2,91	mg	83	mg
Vitamina B ₁₂ (Cianocobalamina)	11,38	mcg	325	mcg
Pantotenato de Cálcio	10,50	mg	300	mg
Niacina	31,51	mg	900	mg
Ácido Fólico	0,70	mg	20	mg
Selênio ^{Sc}	0,12	g	3,5	g
Cálcio	6,30	g	180	g
Fósforo	2,80	g	80	g
Cloreto de colina	0,44	g	12,5	g
Metionina	1,31	g	37,5	g
Agente anticoccidiano	0,88	g	25,0	g
Promotor do Crescimento	0,04	g	1,0	g
Antioxidante	0,08	g	2,5	g
Manganês	63,88	mg	1.825	mg
Ferro	35,00	mg	1.000	mg
Cobre	8,75	mg	250	mg
Zinco	43,75	mg	1.250	mg
Iodo	0,88	g	1.000	g
Veículo q. s. p.	35,00	g	1.000	g

¹Composição do produto comercial, de acordo com o fabricante NUTRIMAIS

TABELA 3 – Composição de aminoácidos de espécies de algas marinhas da costa cearense e de outros ingredientes utilizados em rações para alimentação de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* Vr Chitralada).

ESPÉCIES	AMINOÁCIDOS (mg / g)																	
	LIS*	VAL	ILE	LEU	TRP	MET*	FEN	TRE	HIS	ARG	ASP	GLU	ALA	CIS*	GLI	SER	PRO	TIR
<i>G. caudata</i>	0,79	1,32	1,04	1,50	ND	0,07	0,71	0,67	0,18	0,87	2,19	2,13	1,35	0,13	1,12	0,56	0,66	0,30
<i>G. cornea</i>	0,19	0,49	0,27	0,58	ND	0,03	0,26	0,24	0,01	0,27	0,85	0,61	0,42	0,05	0,32	0,21	0,23	0,06
<i>U. fasciata</i>	4,82	8,40	5,81	10,21	ND	2,65	7,95	7,90	1,41	9,56	16,04	20,03	12,66	1,32	8,00	7,38	6,62	6,54
<i>U. lactuca</i>	2,40	3,85	2,58	4,32	ND	1,20	3,05	3,02	0,68	2,69	7,07	8,98	5,49	0,40	3,51	3,22	2,30	2,04
<i>V. obtusiloba</i>	5,78	5,63	4,23	6,90	ND	0,92	5,12	5,68	0,93	6,26	10,78	13,27	6,09	1,70	4,85	5,30	9,23	6,83
F. Milho	0,21	0,07	0,22	0,81	0,35	0,14	0,29	0,28	0,25	0,35	0,35	1,30	0,53	0,15	0,18	0,26	0,64	0,36
F. Soja	2,40	0,52	1,66	3,11	1,74	0,31	1,74	1,38	1,01	3,61	4,36	7,54	1,53	0,52	1,48	1,80	2,12	0,96

* Aminoácidos limitantes das proteínas dos vegetais.

Do ponto de vista nutricional, os altos níveis de aminoácidos essenciais encontrados para as algas testadas, com relação ao farelo de soja e milho, principalmente os teores de MET (0,07 a 2,65%), pode ser um fator preponderante para utilização desta nova fonte de proteína, como aditivo nutricional na formulação de rações balanceadas para peixes.

4.3. Análise da Composição em Ácidos Graxos das Algas Marinhas e dos Peixes

Em geral, o teor lipídico nas algas marinhas é muito baixo, em relação ao peso seco, podendo variar na faixa de 1,0 a 3,0% como demonstrado por MABEAU & FLEURENCE (1993). No presente trabalho, a composição lipídica, variou de 0,4 a 1,6%, sendo estes valores os obtidos para as algas *Gracilaria cornea* e *Vidalia obtusiloba*, respectivamente. O conteúdo de lipídeo bruto das algas verdes *Ulva lactuca* (0,70%) e *U. fasciata* (1,00%), foram mais baixos que os encontrados por PORTUGAL *et al.*, (1983) para espécies de *Ulva* das Filipinas (1,64%). Apesar dos baixos teores lipídicos, a composição em ácidos graxos polinsaturados das espécies de algas marinhas verdes e vermelhas estudadas (TABELA 4), mostrou-se bastante diversificada, incluindo os ácidos graxos essenciais: (18:3) Linolênico ((FIGURA 2 a) e (18:2) Linoléico ((FIGURA 2b), e o ácido graxo polinsaturado (20:4) Araquidônico.

Como mostrado na TABELA 4 as algas *Gracilaria caudata*, *Gracilaria cornea* e *Vidalia obtusiloba*, apresentaram altas concentrações do ácido (20:4) Araquidônico, com 11,41, 10,19 e 18,93%, respectivamente. A alga *Vidalia obtusiloba*, além do elevado percentual de Araquidônico, apresentou ainda um alto teor do ácido (18:3) Linolênico, da ordem de 16,01%. Estes resultados estão em conformidade com o relatado na literatura que apresenta as algas vermelhas como importantes fontes de ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) com 20 átomos de carbono, especialmente os ácidos eicosapentaenoico (EPA) e araquidônico (AA). Por terem estes ácidos, atividades biológicas únicas e interessantes, além de serem precursores de prostaglandinas e leucotrienos, é que tem aumentado o interesse por estas moléculas a partir desta fonte.

As algas marinhas verdes, *Ulva fasciata* e *Ulva lactuca*, também se destacaram com relação aos ácidos graxos polinsaturados, apresentando percentuais elevados para os ácidos

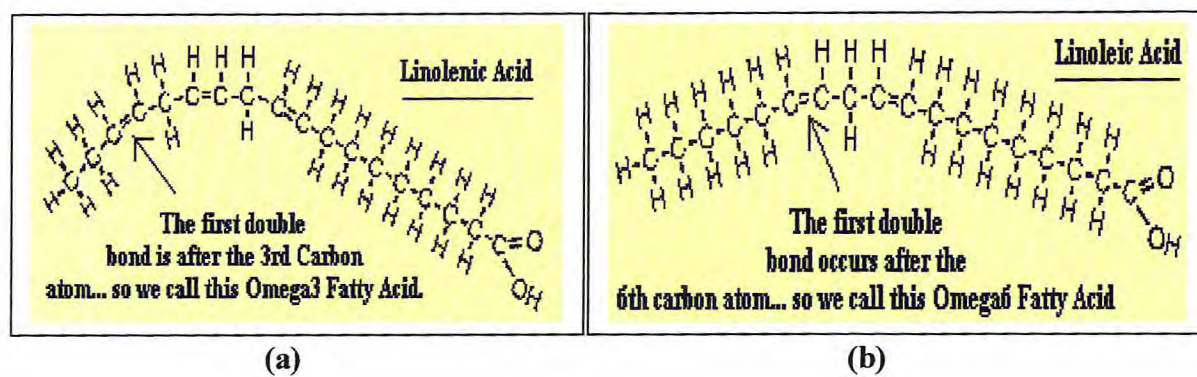


FIGURA 2a e b. Estrutura molecular dos ácidos graxos Linolênico (18:3) e Linoléico (18:2), mostrando a localização da primeira dupla ligação, contada a partir da extremidade metil da cadeia carbônica do ácido graxo.

TABELA 4 – Composição em ácidos graxos de algas marinhas e dos peixes tilapias do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Vr Chitralada), alimentados com dietas dos Tratamentos Padrão e D (dietas D-1, D-2 e D-3) em seguida aos testes de arraçamento.

AMOSTRAS	ÁCIDOS GRAXOS (%)							
	< 16 : 0 Diversos	16 : 0 Palmitico	16 : 1 palmitoléico	18 : 0 Esteárico	18 : 1 Oléico	18 : 2 Linoléico	18 : 3 Linolênico	20 : 4 Araquidônico
<i>Gracilaria caudata</i>	5,44	72,51	-	2,41	5,76	2,28	-	11,41
<i>Gracilaria cornea</i>	0,92	80,96	-	2,03	3,77	2,16	-	10,19
<i>Ulva fasciata</i>	5,00	72,17	-	-	10,91	4,82	7,12	-
<i>Ulva lactuca</i>	7,92	59,87	-	-	13,10	5,50	13,58	-
<i>Vidalia obtusiloba</i>	5,31	52,02	-	0,72	6,13	0,91	16,01	18,93
Ração padrão (Termo de comparação)	8,92	61,88	5,50	15,53	6,36	1,77	0,04	-
Peixe alimentado c/ração sem alga	3,24	31,79	9,38	13,48	38,05	4,07	-	-
Peixe alimentado c/ração + <i>Ulva fasciata</i>	2,36	32,93	6,31	13,47	14,65	11,78	8,30	9,33
Peixe alimentado c/ração + <i>Ulva lactuca</i>	2,43	26,42	8,51	14,96	41,79	4,85	-	1,06
Peixe alimentado c/ração + <i>Vidalia obtusiloba</i>	2,97	31,92	1,45	9,59	47,27	5,29	-	1,53

Obs: Os peixes alimentados com dietas dos Tratamentos A e B, não foram avaliados sob o ponto de vista de incorporação de ácidos graxos, em virtude das referidas dietas terem apresentado alterações por umidade e desenvolvimento de fungos.

oléico (10,91 e 13,10%), linoléico (4,82 e 5,50%) e linolênico (7,12 e 13,58%, respectivamente).

Como pode ser observado, os teores dos ácidos graxos polinsaturados, na composição da ração utilizada como termo de comparação, são baixos. Este fato, provavelmente justifica a ausência do ácido graxo (20:4) Araquidônico e linolênico (18:3), na composição química dos músculos dos peixes que não consumiram algas marinhas em suas dietas (Tratamento Padrão).

No que se refere aos peixes que consumiram algas marinhas “in natura”, (Tratamento D, dietas D-1, D-2 e D-3), todos apresentaram o ácido (20:4) Araquidônico em suas composições químicas, ausente nos peixes que consumiram a ração padrão. Com relação à incorporação de Ômega-6 e Ômega-3, nos músculos de peixes, foi observado que a ração que continha *Ulva fasciata*, foi a que apresentou os melhores resultados. As análises por cromatografia gasosa de extratos da alga marinha *U. fasciata* demonstraram os seguintes teores de ácidos graxos: (16:0) Palmítico 72,17%, (18:1) Oléico 10,91%, (18:2) Linoléico 4,82, (18:3) Linolênico 7,12 e ausência de (20:4) Araquidônico. De acordo com os dados obtidos houve uma incorporação direta de Omega-3 - (18:3) Linolênico (traços na ração controle e ausente nos músculos de peixes tratados com esta ração) e Omega-6, (18:2) Linoléico, concentração na ração controle: 1,77%; nos músculos de peixes tratados com a ração controle: 4,07%; nos músculos de peixes tratados com ração encerrando *U. fasciata*: 11,78%). O valor nutricional das 5 espécies de algas marinhas utilizadas no presente trabalho pode também ser avaliado através deste tipo de análise, que conclui ser a espécie *Ulva fasciata* (alface do mar) uma fonte alternativa de nutriente para dietas destinadas a peixes. Estes ácidos são requeridos em dietas de peixes, para manter a estrutura e integridade dos fosfolipídeos de membrana. Intensa é a investigação sobre o efeito destas moléculas na saúde do homem e de outros animais. Ao que parece a ingestão de quantidades suficientes destes ácidos Omega-3 pode reduzir a pressão arterial, a agregação plaquetária e prevenir contra o câncer. Plantas, algas e peixes são excelentes fontes destes nutrientes.

4.4. Outros Testes Bioquímicos

4.4.1. Atividade Hemaglutinante.

Os resultados obtidos revelaram que todas, dentre as 5 espécies estudadas apresentaram atividade hemaglutinante frente aos eritrócitos de coelho, previamente tratados com bromelaína e/ou, com tripsina. Com exceção dos extratos aquosos da alga *Gracilaria caudata* que foram capazes de causar aglutinação preferencial de eritrócitos de galinha, tratados com bromelaína, todas as demais espécies, aglutinaram mais fortemente, eritrócitos tripsinizados de coelho. O tratamento enzimático das células sanguíneas, conduz a uma maior exposição de porções glicídicas de membranas, que são reconhecidas seletivamente pelas lectinas de diferentes espécies. O tratamento dos eritrócitos com enzimas proteolíticas (tripsina, papaína, bromelaína, subtilisina, pronase e outras) tem sido empregados por vários autores (AINOUZ *et al.*, 1995; FREITAS *et al.*, 1997; BENEVIDES *et al.*, 1998).

A TABELA 5 reúne os dados obtidos com relação aos teores de proteína bruta, proteína extraída, atividade hemaglutinante (UH) e CMA (concentração mínima de proteína capaz de causar aglutinação), das espécies *Gracilaria caudata*, *G. cornea*, *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata* e *Vidalia obtusiloba*. Os teores de proteína extraída variaram de 0,25 a 1,20 mg/mL de extrato bruto, para *Ulva lactuca* e *Gracilaria cornea*, respectivamente, enquanto a atividade hemaglutinante nas espécies variou entre 13,33 e 1.347,37 UH/mg P (Unidades de Hemaglutinação Total / Proteína Total do extrato). As espécies que apresentaram os melhores CMA (Concentração mínima de proteína, capaz de causar aglutinação) foram: a *Vidalia obtusiloba* (0,74 µg) e *Ulva fasciata* (13,12 µg), sendo portanto, as algas mais ativas.

AINOUZ *et al.* (1991) e (1992), relataram a atividade hemaglutinantes dos extratos aquosos das algas marinhas *Gracilaria cornea*, *Ulva fasciata*, *Ulva lactuca* e *Vidalia obtusiloba*, frente a eritrócitos de diversos animais (coelho, galinha, boi, porco, ovelha, etc.), previamente tratados com diversas enzimas (tripsina, bromelaína, papaína, subtilisina e/ou sem tratamento), como também, do sistema ABO de eritrócitos humanos.

Os relatos feitos pelos autores acima, com relação a atividade hemaglutinante das algas testadas por eles, confirmam os resultados obtidos nesse trabalho, para todas as algas estudadas. Embora a alga *Ulva lactuca*, não tenha aglutinado eritrócitos de coelho e

galinha, previamente tratados com enzimas, AINOUZ & SAMPAIO (1991), relataram a atividade de aglutinação de eritrócitos de humano do tipo O, tratados com tripsina.

A presença de lectina nas algas marinhas estudadas não representa, segundo nossa avaliação, um fator limitante para o emprego desta fonte alternativa na alimentação de peixes. De modo geral, as concentrações deste tipo de proteína em algas marinhas é muito baixa, e raramente pode ser tóxica.

TABELA 5– Proteína bruta, concentração de proteína extraída e atividade hemaglutinante, testadas no extrato concentrado de cinco espécies de algas marinhas da costa cearense, utilizadas na alimentação de tilápias do Nilo.

Espécies	Proteína Bruta (%)	Proteína Extraída Extrato Total (mg/mL)	Volume Total (mL)	Proteína Total (mg)	Eritrócitos Tratados	Atividade Hemaglutinante		CMA* (µg)
						UH/Total	UH/mgP	
<i>Gracilaria caudata</i>	15,00	1,10	90	99	Galinha B ¹	-	-	-
					Galinha T ²	1.440	14,54	68,75
<i>Gracilaria cornea</i>	5,10	1,20	96	115,2	Coelho B	1.536	13,33	75,00
					Coelho T	6.144	53,33	187,50
<i>Ulva Fasciata</i>	13,73	0,21	92	19,32	Coelho B	368	19,05	52,50
					Coelho T	1.472	76,19	13,12
<i>Ulva Lactuca</i>	5,68	0,25	99	24,75	Coelho B	-	-	-
<i>Vidalia obtusiloba</i>	9,95	0,19	102	19,38	Coelho B	6.528	336,84	2,97
					Coelho T	26.112	1.347,37	0,74

* CMA = Concentração mínima de proteína, capaz de causar aglutinação (CMA= Prot. Total (mg)/UH Total X 1.000)

1 = B - Bromelaína.

2 = T - Tripsina.

4.4.2. Atividade Tóxica das Algas.

Os extratos e frações protéicas de cinco espécies de algas marinhas da costa cearense, foram analisados quanto à presença de atividade tóxica. Os resultados obtidos e expostos na **TABELA 6**, mostraram que dentre as amostras testadas, apenas uma espécie, apresentou toxicidade quando injetada em camundongos, por via intraperitoneal, dentro de 1-24 horas, de acordo com a dose administrada ($DL_{50} = 50,56 \pm 0,15$). A espécie tóxica para camundongos foi a alga *Gracilaria cornea*

Os efeitos indicativos de toxicidade observados, incluíram convulsões e morte dos animais. Estes efeitos têm sido detectados comumente em extratos e frações protéicas de sementes de leguminosas. Como observado para soja, VASCONCELOS *et al.* (1994), isolaram e caracterizaram uma proteína tóxica (soyatoxina), com massa molecular de 21kDa altamente tóxica para camundongos. Neste caso, após injeção intraperitoneal, de doses variadas das amostras testadas, foram visualizados efeitos muito mais fortes pois além de convulsões, foi também observada paralisia flácida antes da morte do animal. Uma letalidade em torno de 75% foi encontrada por BENEVIDES *et al.* (1998) para a fração F 0/70, da alga marinha vermelha *Amansia multifida*, obtida a partir da precipitação salina do extrato total desta espécie. BEZERRA *et al.*, (2000), analisaram a presença de atividade tóxica em nove espécies de algas marinhas da costa cearense, injetando extratos dessas algas em camundongos, via intraperitoneal, tendo sido detectado toxicidade nas algas: *Bryothamnium seaforthii* ($DL_{50} = 63,00 \pm 2,40$), *Bryothamnium triquetrum* ($DL_{50} = 53,21 \pm 0,58$), *Hypnea musciformis* ($DL_{50} = 83,00 \pm 2,20$), *Meristiella echinocarpa* ($DL_{50} = 75,35 \pm 1,65$) e *Gracilaria cornea* ($DL_{50} = 50,00 \pm 0,25$).

Embora a alga *Gracilaria cornea* tenha apresentado toxicidade em nossos testes, a utilização da mesma como componente de rações para peixes, aparentemente, não afetaram de forma contundente, os resultados obtidos para ganhos de peso e comprimento, dos peixes cultivados.

TABELA 6 - Concentração de proteína aplicada e atividade tóxica de extratos protéicos de cinco algas marinhas do litoral cearense.

ESPÉCIE	EXTRATO TOTAL		DL ₅₀ (mgP.kg ⁻¹)
	PROTEÍNA (mgP.kg ⁻¹)	ATIVIDADE TÓXICA	
<i>Gracilaria caudata</i>	34,22*	Ausência	ND
<i>Gracilaria cornea</i>	64,32*	++	(50,56± 0,15),
<i>Ulva Fasciata</i>	4,83*	Ausência	ND
<i>Ulva lactuca</i>	5,06*	Ausência	ND
<i>Vidalia obtusiloba</i>	4,06*	Ausência	ND

• Concentração máxima testada.

(-) Não testado.

(ND) Não detectado

4.4.3. Atividade Inibidora de Tripsina.

No presente trabalho, realizou-se um estudo em duas espécies de algas marinhas da costa cearense, investigando a presença de inibidores de tripsina. Os resultados obtidos revelaram que os extratos aquosos mostraram baixas taxas de inibição, sendo a espécie *Gracilaria caudata* (0,716 UI/gF) a que se mostrou mais ativa. Comparativamente a esses dados, a espécie *Gracilaria cornea*, apresentou teor de inibidor de tripsina, seis (6) vezes mais reduzido (0,110 UI/gF), que a *G. caudata* (TABELA 7).

Estes resultados indicaram que há diferenças significativas nos teores de inibidor de tripsina em algas, quando os valores são comparados aos obtidos nos extratos aquosos de sementes de soja, cujos resultados variaram de 62,50 a 30,60 para as cultivares Bays e Rio Balsas, respectivamente (MAIA 1998). Estes teores correspondem a valores elevados, que variaram em torno de 87 a 500 vezes mais, os valores observados para as algas marinhas em estudo.

Em microalgas, CANNELL *et al.* (1987) publicaram dados de um estudo de levantamento da presença de inibidores de proteases em 300 espécies de algas de água doce, 200 espécies de algas marinhas e, em culturas de 70 microalgas de água doce e 10 cianobactérias. Os extratos metanólicos destas espécies foram testados, em ensaios de placa, na detecção de inibidores das proteases carboxipeptidase A, quimiotripsina, tripsina, colaginase, elastase, leucina aminopeptidase e papaína. Os autores detectaram a presença de inibidores na maioria dos extratos, com valores de atividade próximos aos obtidos para soja, demonstrando assim que as microalgas são fontes importantes destes compostos.

Em microalgas e em algas marinhas são muito poucos os trabalhos conduzidos no levantamento de espécies com atividade inibidora de proteases. Dados mais recentes, descrevendo esta atividade em extratos de algas marinhas, não foram encontrados na literatura. Diante do que foi relatado, pode-se concluir que, por falta de um método de ensaio adequado, talvez não tenha sido possível detectar teores mais elevados de inibidores de tripsina nas duas espécies de algas testadas. Estes experimentos deverão ser repetidos, utilizando-se desta feita um meio extrator mais forte (extratos metanólicos). Ao que parece, estes inibidores são proteínas hidrofóbicas, estando portanto, mais presas às estruturas celulares.

TABELA 7 - Dosagens de inibidor de tripsina nas algas marinhas vermelhas *Gracilaria caudata* e *Gracilaria cornea*.

DADOS	ESPÉCIES	
	<i>GRACILARIA CAUDATA</i> UI/gF	<i>GRACILARIA CORNEA</i> UI/gF
1	0,725	0,199
2	0,722	0,177
3	0,702	0,034
4	0,702	0,026
5	0,644	0,160
6	0,748	0,153
7	0,740	0,151
8	0,748	0,144
9		0,147
M	0,716	0,110
DESV.	0,034	0,005
CV.	4,811	4,556

5. CONCLUSÃO

Considerando os teores protéicos e suas composições de aminoácidos, as espécies de algas marinhas estudadas parecem ser uma importante fonte de proteínas de valor nutricional, para emprego na alimentação de peixes. Estas algas, também são excelentes fontes de ácidos graxos essenciais, particularmente no caso da *Ulva fasciata* e *Ulothrix obliquata*, ricas em ácidos graxos Ômega-3 e Ômega-6, facilmente incorporados nos músculos dos peixes, como também, as algas *Gracilaria cornea* e *G. caudata*, ricas em ácidos graxos polinsaturados (20:4) Araquidônico. A ausência de atividade tóxica na maioria das algas testadas e a baixa concentração de fatores antinutricionais, como lectinas e inibidores de tripsina, contribuem para reforçar a indicação destas algas como fonte complementar de proteína, aminoácidos essenciais e lipídios na nutrição de peixes tilapia do Nilo *Oreochromis niloticus*, Vr Chritralada.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AINOUZ, I. L. & SAMPAIO, A. H. **Screening of brasilian marine algae for hemagglutinins.** *Botânica Marina*. V. 34 . 211-214p. 1991.

AINOUZ, I. L.; SAMPAIO, A. H.; FREITAS, A.L.P.; BENEVIDES, N M B.; COSTA, F.H.F.; CARVALHO, M.R.; JOVENTINO, F.P. **Agglutination of enzyme treated erythrocytes by brasilian marine algal extracts.** *Botânica Marina*. V. 35 475-479p. 1992.

AINOUZ, I. L.; SAMPAIO, A. H.; FREITAS, A.L.P.; BENEVIDES, N M B.; MAPURUNGA, S. **Comparative study on hemagglutinins from the red algal *Bryothamnion seaforthii* and *Bryothamnion triquetrum*.** *Marina. R. Bras. Fisiol Veg.* V. 7 15-19p. 1995.

AOAC **Official methods of analysis.** Washington DC, USA: Association of Official Analytical Chemists. 1995.

AKIYAMA, D.M., **The use of soy products and other plant protein supplements in aquaculture feeds.** *Am. Soybean Ass. Tech. Bull.*, AQ27: 1-18p. - 1990.

APPLER, H.N. **Evaluation of *Hydrodictyon reticulatum* as protein source in meals *Oreochromis (Tilapia) niloticus* and *Tilapia zillii*.** *Journal of fish biology*, V.27: 327-334p. - 1985.

ARASAKI, A and ARASAKI T. **Low calories, high nutrition.** *Vegetables from the sea to help you look and feel better*, 39-42p, Japan Publications Inc. 1983.

BENEVIDES, N M B.; LEITE, A M.; FREITAS A L P. **Atividade hemaglutinante na alga vermelha *Solieria filiformis*** *Ver. Bras. Fisol.* V. 8:117-122p. - 1996.

BENEVIDES, N.M.B.; HOLANDA, M.L.; MELO, F.R.; FREITAS, A.L.P.; SAMPAIO, A.H. **Purification and partial characterization of the lectin from the red marine alga *Enantiocladia duperreyi* (C. Agardh).** Faalkemberg Bot. Marina, V. 41:521-525p. – 1998.

BENEVIDES, N.M.B.; OLIVEIRA, S.R.M.; HOLANDA, H.L.; MELO, F.R.; FREITAS, A.L.P. e SAMPAIO, A.H. **Seasonal variation in hemagglutinating activity and chemical composition of two red marine algae *Gracilaria domingensis* and *Gelidium pusillum*.** R. Bras. Fisol. Veg., V.11: (2), 91-95p, 1999.

BENEVIDES, N. M. B., HOLANDA, M. L., MELO, F. R., PEREIRA, M. G., MONTEIRO, A. C. O. & FREITAS, A. L. P. **Purification and partial characterization of the lectin from the marine green alga *Caulerpa cupressoides* (Vahl) C. Agardh.** Botanica Marina, V. 44p, 2001.

BEZERRA, M. A. **Estudos bioquímicos e nutricionais de algas marinhas do Nordeste brasileiro.** Monografia de graduação apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca-UFC. 2000.

BAETHGEN, W.E. AND ALLEY, M.M.,. **A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant kjeldahl digests.** Commun. In Soil Sci. Plant. Anal., V.20(9/10): 961 – 969p. – 1989.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. **A rapid method of total lipid extraction and purification.** Can. J. Biochem. Physiol. V.37: 911-917p, 1959.

BOYD, W.C.; ALMODIVAR, L.R. & BOYD, L.G. **Agglutinin in marine algae for human erythrocytes.** Comparative Biochemistry and Physiology. V.6: 82-83p, 1966.

BROWN, M.R., JEFFREY, S.W., VOLKMAN, J.K., DUNSTAN, G. A. **Nutritional properties of microalgae for mariculture.** *Aquaculture*. V. (151) 315-331p, 1997.

CANNEL, R.J.; RELAM, S.J.; OWSIANKA, A M.; WALKER, J.M. **Microalgae and cyanobacteria as a source of glycosidase inhibitors.** *Journal Gen. Microbiol.* Jul. 1987.

CEMBELLA, AD.. **Ecophysiology and mechanism of paralytic shellfish toxins in microalgae.** . In: DM Anderson, AD Cembella, GM Hallegraeff, eds. *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms.* New York: Springer-Verlag, 1998, 381-404p. 1998

DARCY-VRILLON,B. **Nutritional aspects of the developing use of marine macroalgae for the human food industry.** *International Journal of Food Science and Nutrition* V.(44), 23-35p, 1993.

FABREGAS, J.; MUNÑOZ, A; LLOVO, J.; CARRACEDO, A. **Purification and partial purification of tormentine. Na N-acetylglucosamine – specific lectin from green alga *Codium tomentosum* (huds).** *Stack. J. Exp. Mar. Biol. Ecology*, V.124: 21-30p. 1988.

FLEURENCE, J. **Seaweeds proteins: biochemical nutritional aspects and potencial uses.** *Trends. Of Food Sciene and Technology.* V.10; 25-28p. 1999.

FREITAS, A.L.P.; TEIXEIRA, D.I.A.; COSTA, F.H.F.; FARIAS, W.R.L.; LOBATO, A.S.C.; SAMPAIO, A.H.; BENEVIDES, N.M.B. **A new survey of brazilian marine algae for lectin activity.** *Journal of Applied Phycology*, (Aceito p/ publicação ,paper 511, 1997).

FUKUDA, M. **Cell surface glyconjugates as differentiation markers in haematopoietic cells.** *Biochem. Biophys. Acta* V.780: 119-150p, 1985.

GILBOA-GARBER, N.; CITROMBAUN, R.; LEVEME, C. A ; SELA, R.H. **Blood group detection by the L-fucose binding lectin of the green marine algae *Ulva lactuca*.** *Developmental and Comparative Immunology*, V.12: 695-705p. 1988.

GRANT, G.; DORWARD, P.M.; ARMOUR, J.C.; PUSZTAI, A. Consumption of diets containing raw soya beans (*Glycine max*), Kidneys beans (*Phaseolus vulgaris*), cowpeas (*Vigna unguiculata*) or lupin seeds (*Lupinus angustifolius*) by rats for up too days: effects on body composition and organ weights. *British Journal of Nutrition*. V 73: 17-19p, 1995.

HAMERSTRAND, G. H.; BLACK, L. T.; GLOVER, J. D. Trypsin inhibitors in soy products: modificatio of standart analytical producere. *Cereal Chemistry*. V. 58: 42 – 45p, 1981.

HORI, K.; MIYAZAWA, K.; FUSETANI, N.; HASHIMOTO K.; ITO, K. Hypnins, low-molecular weight peptidic agglutinins isolated froma marine red algae, Hypnea japonic. *Biochim Biophysis Acta* 873: 228-236p. 1986.

HORI, K., OIWA, C., MIYAZAWA, K. & ITO, K. Evidence for wide distribution of agglutinins in marine algae. *Botanica Marina*, V.31(2): 133-138p, 1988a.

HORI, K., MIYAZAWA, K. & ITO, K. Some properties of lectins from marine algae. *Hydrobiology Bulletin*, V.204/205: 561-566p, 1990.

ITO, K.; HORI, K. Seaweed: chemical composition and potential food uses. *Food Review International*, V.5: 101-144p. 1989.

JURKOVIC, N.; KOLB, N.; COLIC, I. Nutritive value of marine algae *Laminarie japonica* and *Undaria pinnatifide*. *Die Nahrung*, V.39: 63-66p. 1995.

LIENER, I.E.; KAKADE, M.L. Protease inhibitoris In: Liener, I.E. (Ed). *Toxic Constituintes of plant foodstuff*. 2nd. Ed New York: Academic Press, cap. 2: 7-71p. 1980.

LIENER, I.E. Implications of antinutritional components in soybean foods. *Critical Reviews In Food Science and Nutrition*, Boca Raton, V.34, N.1, 31-67p, 1994.

LEGRAND, AM. **Ciguatera toxins: origin, transfer, through the food chain and toxicity to humans.** In: B.Reguera, J Blanco, ML Fernandez, T Wyatt, eds. Harmful Algae. Santiago del Compostela, Spain: Xunta de Galicia and IOC. 39-43p, 1998

LIM, C. AND DOMINY W.,. **Utilization of plant proteins by warmwater fish.** Am. Soybean Ass. Tech. Bull., AQ15: 1-13p. - 1989.

LOVELL, P. T., **Use of soybean products in diets for aquaculture species (revised).** Am. Soybean Ass. Tech. Bull., AQ21: 1-16p. - 1990.

LOWRY, O H.; ROSEBROUG, N. J.; FARR, A L.; RANDALL, R. J. **Protein measurement with Folin phenol reagent.** J. Biol. Chem. V.193: 266 – 275p. - 1951.

MABEAU, S.; CAVALOC, F.; FLEURENCE, J.; LAHAYE, M. **New seaweed based ingredients for the food industry.** International Food Ingredients, V.3. 38-45p. 1992.

MABEAU, S. and FLEURENCE, J. **Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects.** Trends in Food Science and Technology, V.4, 103-107p. 1993.

MAIA, A A A.B. **Estudos bioquímicos e nutricionais de cultivares de soja (*Glycine max* (L./ Marr) adaptadas a condições de plantio na Região Nordeste.** Dissertação de Mestrado (Curso de Biologia UFC). 1998.

MATTY, A.J. AND SMITH, P. **Evaluation of a yeast, a bacterium and na alga as a protein source for rainbow trout, I. Effect of protein level on growth, gross conversion efficiency and protein conversion efficiency.** Aquaculture, V.14: 235-246p. - 1978.

METCALFE, L.D.; SCHEMITZ, A A.A; PELKA, J.R. **Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis.** Anal. Chem. V.38: 514-515p, 1966.

MATOS, F. J. A., ALENCAR, J. W., CRAVEIRO, A. A., MACHADO, M. I. L. **Ácidos graxos de algumas oleaginosas tropicais em ocorrência no nordeste do Brasil.** Química Nova, V.15 (3): 181-185p. - 1992.

MELO, M.R.S. **Isolamento, caracterização e aplicação biotecnológica de carboidratos das algas marinhas vermelhas *agardhiella ramossissima* (harv.) kylin e *gracilaria cornea* (j.agardh).** Fortaleza. 102f. Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará. 2000.

MURAMATSU, T. **Developmentally regulated expression of cell surface carbohydrates during mouse embryogenesis.** Journal Cell Biochemistry, V.36: 1-14p, 1988.

NEVES, S A .; DIAS-BARUFFI, M.; FREITAS, ALP.; ROQUE-BARREIRA, M.C. **Neutrophil migration induced in vivo and vitro by marine algal lectins.** Inflamm. Ves. V.50: 486-490p. 2001.

NELSON, T.A; DEJAH, L.; BRIDGET, C.S., AND RENEE, P. **Are green tides harmful algal blooms? Allelopathic properties of extracts from *Ulva fenestrada* and *Vivaria obscura*.** <http://www.botany2002.org/section8/abstracts>.

OHYAMA, Y., HIHABAYASHI, J., ODA, Y., OHNO, S., KAWASAKI, H., SUZUKI, K., & KASAI, K. **Nucleotide sequence of chick 14K β -galactoside-binding lectin mRNA.** Biochem. Biophys. Res. Commun. V.134: 51-56p, 1986.

OKAMOTO, R.; HORI, K.; MIYAZAWA, R; ITO, K. **Isolation and characterization of a new hemagglutinin from the red alga *Gracilaria bursa-pastori*.** Experientia, V.46:975-977p. – 1990.

PAVANELLI, Gilberto C.; EIRAS, Jorge C.; TAKEMOTO, Ricardo M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento.** Ed. EDUEM: CNPq: Nupélia, 1^a ed., Maringá, 264 p. - , 1998.

PEUMANS, W. J. & VAN DAMME, W. J. N. **Lectin as plant defense protein.** *Plant Physiology*, V.109: 347-352p, 1995.

PINTO-VIEIRA, L.A . **Estudos bioquímicos e farmacológicos das alga *Bryothamnion seaforthii* (Turner) Kütz, *B. triquetrum* (S.G.Gmel) M. Howe e *Botryocladia occidentalis* (Borgesen) Kylin.** Dissertação de Mestrado – Bioquímica – UFC. Fortaleza, 2002.

PORTUGAL, T.R.; LADINES, E.º; ARDENA, S.S.; RESURRECCION, L.; MEDINA, C.R.; MATIBAG, P.M. **Nutritive value of some Philippine seaweeds part II: proximate, amino acids and vitamin composition.** *Phillipine Journal of Nutrition*, October-December, 166-172p. 1983.

ROGERS, D. J., BLUNDEN, G. & EVANS, P. R. ***Ptilota plumosa*, a new source of a blood-group B specific lectin.** *Medical Laboratory Sciences*, V.34: 193-200p, 1977.

ROGERS, D.J. & HORI, K. **Marine algal lectins: new developments.** *Hydrobiologia*, V.260/261: 589-593p, 1993.

ROGERS, D.J.; LOVELESS, R.W. & NORTHCOTT, M.J. **Specificity studies on lectin-type haemagglutinins from *Codium fragile*.** *J. Pharmacol.*, 36: 71p. 1984.

SATOH, K., NAKAGAWA, H. AND KASAHARA, S. **Effect of *Ulva* meal supplementation on disease resistance of red sea bream.** *Nippon Suisan Gakkaishi*, V.53(7): 1115-1120p. – 1987.

SCHMITTOU, H. R. **Produção de Peixes em Alta Densidade em Tanques-rede de Pequeno Volume.** ASA – Associação Americana de Soja. 1ª ed., São Paulo, 78 p. – 1997.

SHIOMI, K.; YAMANAKA, H.; and KIKUCHI, T. **Purification and physicochemical properties of a hemagglutinin (GVA-1) in the red alga *Gracilaria verrucosa*.** *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* V.47: 1079-1084p, 1981.

SINGH, R. S., TIWARY, A. K. & KENNEDY, J. F. **Lectins: sources, activities, and applications.** *Critical Reviews in Biotechnology*, V.19 (2): 145-178p, 1999.

SGARBIERI, V.C. **Fontes de proteínas, In: Sgarbieri V.C. (ed.) Proteínas em alimentos protéicos. Propriedades – Degradação – Modificações.** S. Paulo Livrocerec Varele Ltda, cap 2, 139-257p, 1996.

SPACKMAN, D. H.,; STEIN, N. H. & MOORE, E. S. – **Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids.** *Anal. Chem.*, V. 30, 1190-1198p, - 1958.

TRIEBOLD, H.O. **Quantitative Analysis with Applications to Agricultural and food Products.** 331p, D. Van Nostrand Co., New York. - 1946.

VanDOLAH. **Marine algal toxins: Origins health effects, and their increased occurrence.** *Environmental Health Perspectives*. V. 108, Supplement 1, march 2000.

VASCONCELOS, I. M.; TRENTIN, A .; GUIMARÃES, J. A . & CARLINI, C. R. – **Purification and physicochemical characterization of soyatoxin, a novel toxic protein isolated from soybeans (Glycine max).** *Archives of Biochemistry and Biophysics*. V.312: 375 – 366p. - 1994.

VASCONCELOS, I.M. *et al.* **Nutritional study of two brazilian soybean (Glycine max) cultivars differing in the contents of antinutritional and toxic proteins.** *Journal of Nutritional Biochemistry*, New york, V.12, n.1, 55-62p, 2001.

WINTON, A L & WINTON, K B. – **Analysis de alimentos.** 2 ed. Barcelona, 1805 p. – 1958.

WONG, K.H & CHEUNG, C..K. **Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds Part I – proximate composition, amino acid profiles and some physico-chemical properties.** *Food Chemistry* V.(971), 475-482p, 2000.

YASUMOTO, T. **Fish poisoning due to toxins of microalgal origins in the Pacific.** *Toxicon* V.36: 1515-1518p, 1998.

YONE, Y., FURUICHI, M. AND URANO, K. **Effects of dietary wakame *Undaria penatifida* and *Ascophyllum nodosum* supplements on growth, feed efficiency, and proximate compositions of liver and muscle of red sea bream.** *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, V.52(8): 1465-1468p. - 1986.

CAPÍTULO II

***ATIVIDADE BROMOPEROXIDÁSICA EM ESPÉCIES
DE ALGAS MARINHAS DO LITORAL CEARENSE.***

1- INTRODUÇÃO

1.1 – Considerações Gerais

Quando pensamos na origem da vida, logo imaginamos os grandes oceanos, onde com certeza aconteceram as primeiras reações químicas nos seres vivos. Estabeleceu-se de início uma relação produtiva entre os organismos aquáticos e o ambiente abiótico, o que vem se mantendo até hoje. Estes organismos (animais e vegetais) marinhos adaptaram-se às condições de elevada salinidade e, desenvolveram mecanismos para aproveitar os solutos disponíveis no seu habitat.

Dentre os mais importantes íons presentes no ambiente marinho estão o sulfato, o cloreto, o brometo e o iodeto, em concentrações de 885, 19.000, 65 e 0,06 mg.L⁻¹, respectivamente (STUMM & MORGAN, 1981). Portanto, não é de surpreender que os organismos marinhos produzam substâncias halogenadas e sulfatadas em abundância, com maior ou menor eficiência.

O interesse crescente ligado à química de produtos naturais permitiu a constatação de que as algas marinhas são grandes produtoras de compostos halogenados e sulfatados sendo, no entanto, as algas vermelhas (Rhodophyta) aquelas que mais se sobressaem. As algas marinhas pardas (Phaeophyta) e verdes (Chlorophyta) são menos eficientes na produção de substâncias halogenadas, sendo que ambas apresentam polissacarídeos sulfatados (PERCIVAL & McDOWELL, 1985; HOECK *et al.* 1997).

Segundo FENICAL (1975) os halofenóis e particularmente os bromofenóis, já foram investigados em um grande número de espécies de algas marinhas vermelhas de várias localidades. O autor sugere que estas substâncias certamente não atuam em uma rota metabólica primária, mas funcionam em um sistema exócrino, favorecendo a alga de uma vantagem ambiental seletiva.

Na realidade, o papel dos halometabólitos nas algas, ainda não foi completamente elucidado. LANGLOIS (1975) e RAGAN & JENSEN (1978) sugeriram que tais moléculas poderiam ser apenas sobras do metabolismo, mas poderiam também ser produzidas ativamente como substâncias antibióticas.

Inúmeras atividades biológicas foram atribuídas aos bromofenóis *in vitro*. Por exemplo, o lanosol é estimulador do crescimento de sementes (KUBO *et al.* 1990) e apresenta também, como outros bromofenóis simples, efeito algicida (McLACHLAN &

CRAIGIE, 1966), antiinflamatório (NIANG & HUNG, 1984)* e antibiótico (GLOMBITZA *et al.* 1974).

A análise de bromofenóis voláteis, em vários organismos, tem mostrado que tais compostos produzem “flavors” (aroma e sabor) semelhante ao iodo, como detectado no camarão, caranguejo e frutos do mar, e tradicionalmente em peixes marinhos. Os peixes de água doce não apresentam este sabor marinho, e ao que parece são os bromofenóis os componentes responsáveis, pelo menos em parte, pela presença destes “flavors” em peixes marinhos e frutos do mar (WHITFIELD *et al.*, 1988; WHITFIELD, 1990; ANTHONI *et al.*, 1990; e BOYLE *et al.*, 1992). Segundo estes mesmos autores, os bromofenóis voláteis são derivados da dieta disponível aos animais no seu meio ambiental. Por isto, tem-se intensificado a pesquisa no intuito de estudar os mecanismos envolvidos na transferência destes compostos para peixes e frutos do mar. Eles sugerem ainda, que a análise de bromofenóis, em uma gama de organismos, nos vários níveis da cadeia alimentar marinha, poderia fornecer subsídios para uma melhor compreensão da variedade de “flavors” em peixes e frutos do mar, e também formaria uma base para a aquicultura, no desenvolvimento de produtos de pesca com aroma e sabor semelhantes aos das produções naturais (selvagens).

1.2 – Biossíntese de Substâncias Fenólicas

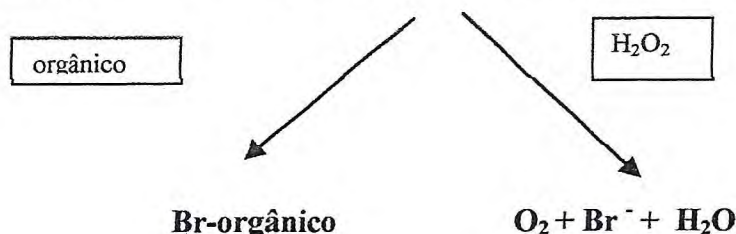
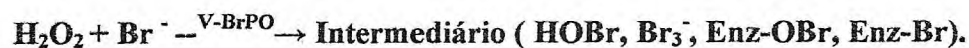
A origem biossintética de grande maioria das substâncias fenólicas é indicada pelo seu padrão de hidroxilação. Assim, as vias de síntese conhecidas são as seguintes:

1. *Síntese a partir dos aminoácidos fenilalanina ou tirosina*: os monofenóis resultantes são p-hidroxilados e os polifenóis, O-di ou 1, 2,3 triidroxilados. Eles podem assemelhar-se ao catecol, a hidroquinona ou ao pirogalol, dependendo do grau de hidroxilação (HIGA, 1983; NEISH, 1964; MANN, 1996).
2. *Síntese via Malonato/acetato*: os fenóis são formados através da condensação cabeça-cauda de quatro unidades de acetato, ocorrendo após a ciclização, reações de descarboxilação, redução e oxidação. As substâncias assim obtidas são metahidroxiladas e dependendo do número de hidroxilas presentes, repetem o padrão do resorcinol ou do floroglucinol (HIGA, 1983; NEISH, 1964; MANN, 1996).

A bromação ocorre depois da construção do anel aromático sendo mediada por *enzimas bromoperoxidasas*, das quais se conhecem duas classes:

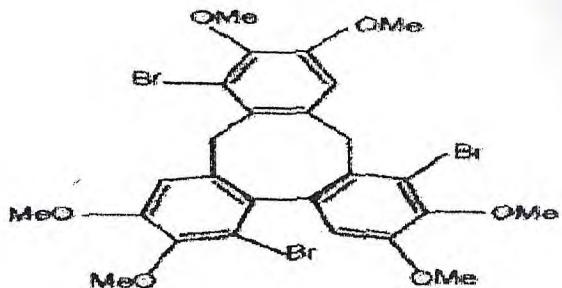
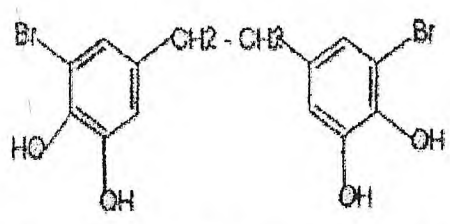
1. Enzimas FeHeme-bromoperoxidasas (Fe-BrPO)
2. Enzimas vanádio-bromoperoxidasas (V-BrPO) – mais abundantes. As enzimas bromoperoxidasas catalizam a oxidação do brometo por peróxido de hidrogênio, com a conseqüente halogenação de substratos orgânicos adequados (BUTTLER & WALTER, 1993 - citado por DE CARVALHO & ROQUE (2000)).

A vanadium-bromoperoxidase (V-BrPO) foi descoberta pela primeira vez na alga marinha marrom *Ascophyllum nodosum* (VILTER, 1984). Esta enzima catalisa a bromação do substrato Monoclorodimedona (2-cloro-5,5-dimetil-1,3-dimedona, MCD), tendo o peróxido de hidrogênio como agente oxidante do brometo (WEVER *et al.* 1995). Na ausência de um substrato orgânico, a V-BrPO catalisa a formação de oxigênio (O₂), como no esquema de reação abaixo:

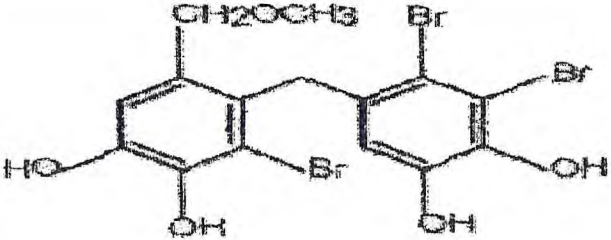
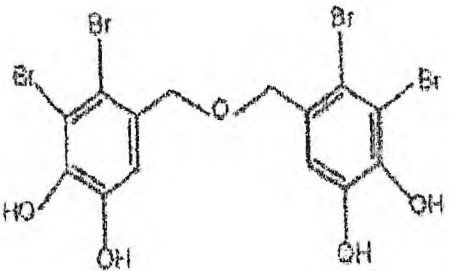


A TABELA 8 apresenta alguns oligofenóis pertencentes a rodófitas, clorófitas e feófitas. As duas primeiras biossintetizam as substâncias fenólicas a partir dos ácidos aminados tirosina ou fenilalanina, enquanto que a última o faz através da rota do acetato/malonato.

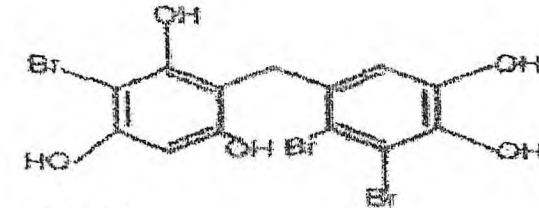
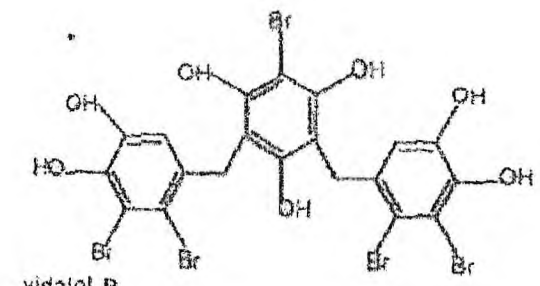
TABELA 8. Oligofenóis de Algas Marinhas.

DIVISÃO	ESPÉCIE	SUBSTÂNCIA	REFERÊNCIA
Rhodophyta	<i>Halopytis pinastroides</i>	 <p>ciclotribromoveratríeno</p>	COMBAUT <i>et al</i> (1978)
	<i>Polysiphonia urceolata</i>	 <p>3,3' - dibromo - 4, 4', 5, 5' - tetrahidroxibenzile</p>	KURATA <i>et al</i> (1976)

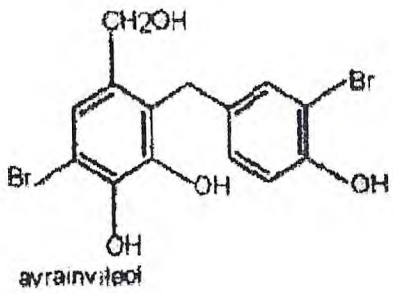
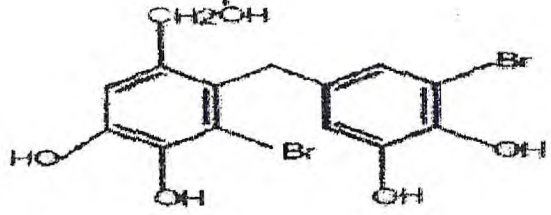
Cont. TABELA 8.

DIVISÃO	ESPÉCIE	SUBSTÂNCIA	REFERÊNCIA.
Rhodophyta	<i>Rodhomela larix</i>	 <p>2, 2', 3, - tribromo 3,4, 4', 5 - tetrahidroxi - 6' metoxidifenilmetano</p>	KURATA <i>et al</i> (1976)
	<i>Rodhomela larix</i>	 <p>éter bi - [2, 3 - dibromo, 4, 5 dihidroxi] benzílico</p>	SUSUKI <i>et al</i> (1980)

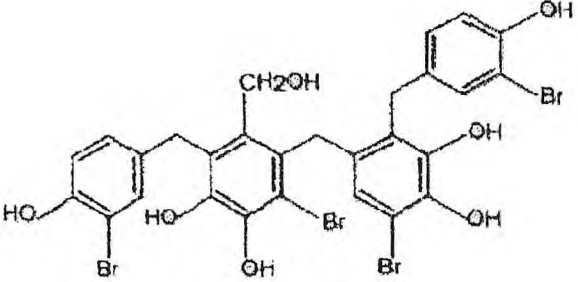
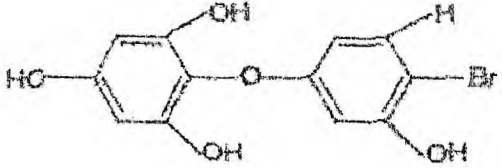
Cont. TABELA 8.

DIVISÃO	ESPÉCIE	SUBSTÂNCIA	REFERÊNCIA.
Rhodophyta	<i>Vidalia obtusiloba</i>	 <p>vidalol A</p>	WIEMER <i>et al</i> (1991)
	<i>Vidalia obtusiloba</i>	 <p>vidalol B</p>	WIEMER <i>et al</i> (1991)

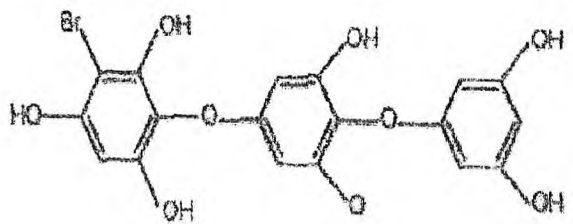
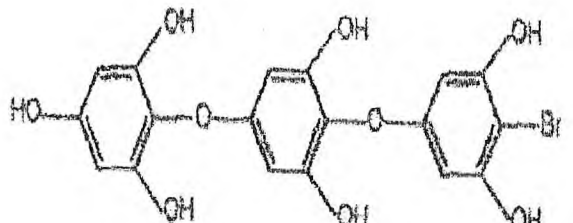
Cont. TABELA 8.

DIVISÃO	ESPÉCIE	SUBSTÂNCIA	REFERÊNCIA.
Chlorophyta	<i>Avrainvillea longicaulis</i>	 <p>avrainvileol</p>	SUN <i>et al</i> (1983)
	<i>Avrainvillea nigricans</i>	 <p>5' - hidroxisocavrainvileol</p>	COLON <i>et al</i> (1987)

Cont. TABELA 8.

DIVISÃO	ESPÉCIE	SUBSTÂNCIA	REFERÊNCIA.
Chlorophyta	<i>Avrainvillea rawsonii</i>	 <p style="text-align: center;">isorraussonol</p>	CHEN & GERWICK (1994)
Phaeophyta	<i>Cystophora congesta</i>	 <p style="text-align: center;">3 - bromo diflorotol</p>	COCK & GREGSON (1984)

Cont. TABELA 8

DIVISÃO	ESPÉCIE	SUBSTÂNCIA	REFERÊNCIA.
Phaeophyta	<i>Cystophora congesta</i>	 <p>bromo - triflorotol A1</p>	COCK & GREGSON (1984)
	<i>Cystophora congesta</i>	 <p>bromo - triflorotol A2</p>	COCK & GREGSON (1984)

FONTE: DE CARVALHO & ROQUE (2000)

O primeiro relato da presença de atividade peroxidásica em algas marinhas foi publicado por ATKINS (1914). Segundo relato de HEWSON & HAGER (1980), o referido autor mostrou, através dos dados obtidos, que 6 dentre 29 espécies de algas marinhas testadas, apresentaram atividade.

Em experimento mais recente, do que ATKINS (1914), HEWSON & HAGER (1979), coletaram 72 espécies de algas marinhas e verificaram a presença de enzimas peroxidases, capazes de realizarem bromação através da oxidação do ion brometo. Os autores conduziram os ensaios em espectrofotômetro, usando MCD (monoclorodimedone) para medir o nível de bromação enzimática (pH 5,0 a 8,0), sendo que, das 72 espécies de algas testadas para bromoperoxidases, 55 apresentaram-se ativas e, dentre essas as Rhodophytas mostraram-se ricas em bromoperoxidases, enquanto que as Phaeophytas, foram as mais pobres.

WEVER *et al.* (1995), isolou uma enzima bromoperoxidase proveniente da alga marrom *Ascophyllum nodosum* verificando que a mesma foi capaz de catalisar a bromação do MCD, na presença do brometo (Br^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), com pH ótimo variando entre 4,5 e 6,0.

Outros pesquisadores como SOEDJAK & BUTTER (1990), isolaram e purificaram a enzima Vanádio-bromoperoxidase (V-BrPO) das algas marinhas marrons – *Fucus distichus* e *Macrocystis pyrifera*, verificando que essa enzima realiza a oxidação de brometos através do peróxido de hidrogênio, resultando na bromação de certos compostos orgânicos.

A alga marinha *Ulva lactuca* é conhecida por conter altas concentrações de bromofenóis, porém, o caminho da biossíntese destes compostos, não está muito bem definido, FLODIN & WHITHFIELD (1999). Estes autores estudaram conteúdos de bromofenóis e atividade bromoperoxidásica em algas marinhas, visando identificar os possíveis precursores dos bromofenóis. As enzimas bromoperosidases foram incubadas com várias moléculas (possíveis precursoras) e os produtos da reação de bromação foram identificados através de sistema GC-MS (Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa). Os resultados mostraram que a *Ulva lactuca* contém uma bromoperoxidase que pode converter fenol, ácido 4-hidroxibenzóico e o álcool 4-hidroxybenzil em bromofenóis. Os autores observaram ainda, que a L-tirosina e o 4-hidroxibenzaldeído não puderam ser convertidos em bromofenóis e que o conteúdo de bromofenóis e a atividade bromoperoxidásica apresentaram variações sazonais, com alta produtividade no verão e baixa, no inverno.

2. OBJETIVOS

- Avaliar a presença de atividade bromoperoxidásica em algumas espécies de algas marinhas da costa cearense, utilizando o Monoclorodimedone (MCD) como substrato.
- Utilizar as espécies de algas contendo bromoperoxidases, na formulação de rações para peixes de água doce.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Algas Marinhas

Das várias espécies de algas encontradas no litoral cearense foram selecionadas as algas marinhas *Gracilaria córnea*, *Gracilaria caudata*, *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata* e *Vidalia obtusiloba* principalmente, por apresentarem maior abundância e odor indicativo da presença de bromofenóis. (Indicação feita em comparação com o odor de uma pequena quantidade de iodofórmio – substância química pura adquirida em uma farmácia de Fortaleza – Ceará).

3.2 – Outros Materiais

- Monoclorodimedone (MCD) – Sigma Chemical Co., St. Louis, EUA
- Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂) – Merck KGaA, Darmstadt, Germany

Os demais reagentes, todos de grau analítico foram obtidos no comércio local.

3.3 – Preparação dos Extratos de Algas Marinhas

Para a preparação dos extratos 10 g da farinha de cada espécie de alga foram postas em contato, sob agitação, com 50 mL de tampão fosfato de sódio e potássio 20 mM, pH 7,0, por um período de 30 min. Em seguida, o extrato foi filtrado em tecido de nylon com malha fina e deixado em repouso em banho de gelo até início das análises espectrofotométricas HEWSON & HAGER (1980).

Para a determinação da velocidade de reação da bromoperoxidase em função do pH, extratos de todas as espécies estudadas foram preparados da mesma maneira que para pH 7,0 utilizando, entretanto, como meios de extração, os tampões acetato 50 mM, pH 4,0; citrato-fosfato 50 mM, pH 6,0; e Tris-HCl 50 mM, pH 8,0.

3.4- Determinação da Atividade Bromoperoxidásica

Para as análises, colocou-se em uma cubeta 2 mL de tampão (conforme o pH), 0,5 mL de NaBr 125 mM, 6 μ L de MCD 5 mM e 100 μ L de H₂O₂ 15 mM. Imediatamente procedeu-se a leitura da absorbância a 275 nm (leitura = \pm 1.000 nm) e o aparelho foi zerado com esta amostra. Em seguida, adicionou-se à cubeta 50 μ L de extrato de alga, medindo-se de imediato, a leitura da absorbância (a 275 nm) e após, as leituras subseqüentes, foram aferidas a cada 1 min, até estabilização da leitura. O peróxido de hidrogênio reage diretamente com o MCD levando a um decréscimo da absorbância em presença ou ausência de bromoperoxidase. No entanto, a queda das absorbâncias é muito mais acentuada em presença da enzima ativa que catalisa a bromação do substrato (MCD 5mM). Os valores das absorbâncias nos tempos T-0, T-1, T-2, T-3, T-4 e T-5 foram registrados para posterior utilização nos cálculos da atividade enzimática. O tempo total de reação foi de 5 min. A velocidade de decomposição do substrato MCD, pelo peróxido de hidrogênio, foi seguida na ausência de enzima (curva controle). O espectro da curva controle foi subtraído dos espectros obtidos para cada ensaio (tampão, H₂O₂ 15 mM, NaBr 125 mM, 6 μ l de MCD e 50 μ l de extrato de alga). Estes testes foram realizados segundo o método descrito por HEWSON & HAGER (1980).

3.5 – Efeito do pH sobre a Atividade Bromoperoxidásica

Os extratos de *Gracilaria cornea*, *Gracilaria caudata*, *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata* e *Vidalia obtusiloba*, foram avaliados para a determinação do pH ótimo de atividade bromoperoxidásica, nos pH 4,0; 6,0; 7,0 e 8, 0. Os ensaios seguiram o mesmo protocolo experimental que o descrito em pH 7,0 e os valores das absorbâncias nos tempos T-0, T-1, T-2, T-3, T-4 e T-5 foram registrados para cálculo da velocidade de reação, através da seguinte fórmula:

Velocidade de Reação = $\Delta A/\text{min}/\mu\text{L}$, onde:

- ΔA = variação da absorbância entre leituras subseqüentes;
- 1 min; - tempo entre as leituras
- μL = volume de extrato de alga utilizado no ensaio (50 μL)

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 – Atividade das Bromoperoxidasas de Algas Marinhas

O estudo comparativo, apresentado na **FIGURA 3** para a atividade enzimática dos extratos das algas marinhas *Gracilaria cornea*, *Gracilaria caudata*, *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata* e *Vidalia obtusiloba*, sobre o substrato MCD, demonstrou a presença de atividade bromoperoxidásica em todas as espécies das algas marinhas estudadas.

Os extratos mais ativos em pH 7,0, foram os das algas *Gracilaria cornea*, *G. caudata* e *Ulva lactuca*, citados em ordem decrescente de atividade. A atividade presente no extrato de *U. lactuca* mostrou-se 30% inferior aos valores observados para a atividade de *U. fasciata*. Os extratos de *Vidalia obtusiloba* foram os que se mostraram menos ativos, com uma atividade 70% inferior a da espécie encerrando maior atividade, *G. cornea*.

No estudo de levantamento da presença de bromoperoxidasas em algas marinhas realizado por HEWSON & HAGER (1980), 76% das espécies analisadas apresentaram atividade enzimática sobre o substrato MCD na presença de peróxido de hidrogênio e NaBr. A velocidade enzimática foi expressa como (U.A= unidade de atividade) sendo a variação da absorbância/minuto/ μ l de extrato de alga ($\Delta A/\text{min}/\mu\text{l}$). Neste estudo, o autor acima citado, mostrou que as espécies mais ativas eram as algas verdes *Udotea wilsoni* e *U. flabellum* com 170 e 95 (U.A x 10^4). A alga verde *Ulva lactuca* apresentou uma atividade correspondente a 3,0 (U.A x 10^4).

No presente trabalho a atividade detectada para esta mesma espécie (*Ulva lactuca*) foi dez vezes maior 30 (U.A x 10^4). Isto pode ser explicado pela procedência do material (diferentes condições ambientais) e à variação sazonal. Segundo FLODIN & WHITHFIELD (1999), o teor de bromofenóis e a atividade bromoperoxidásica presentes em algas marinhas estão sujeitos à variação sazonal.

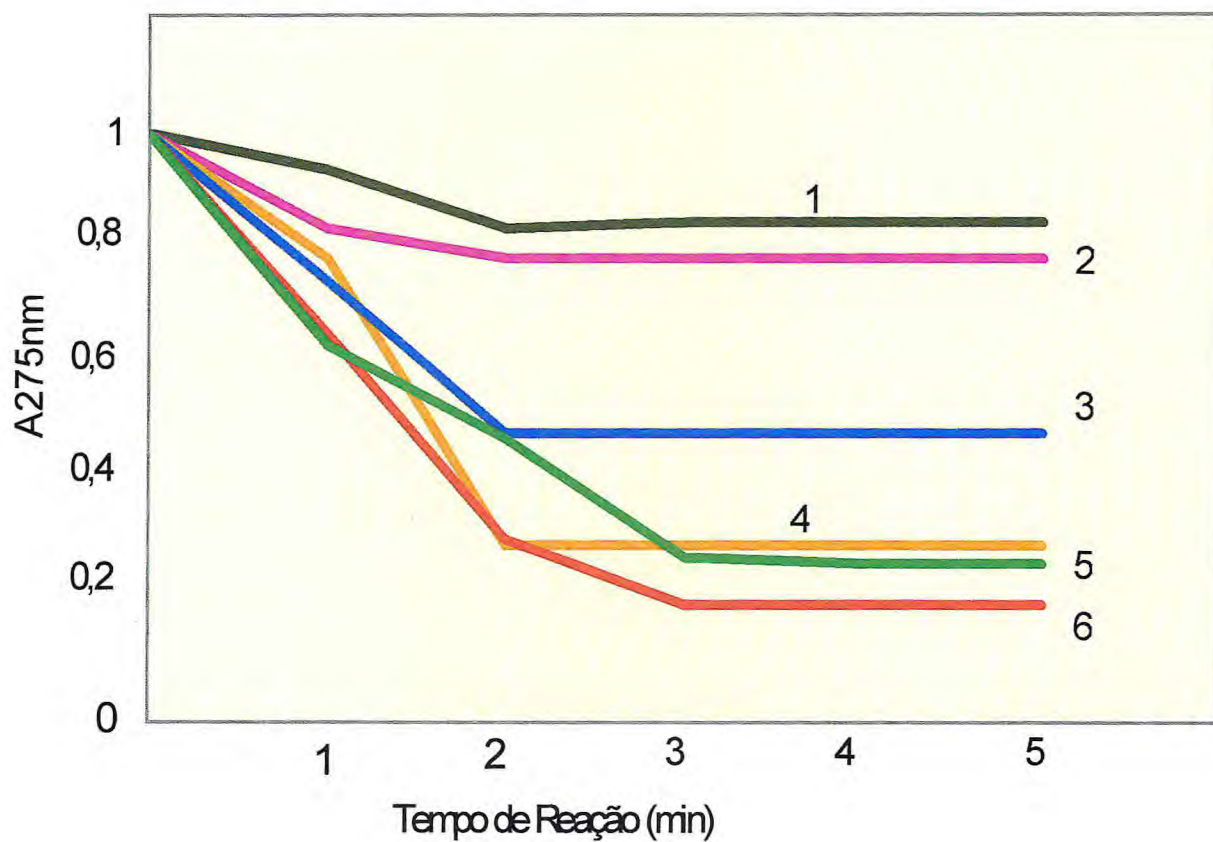


FIGURA 3 - Atividade bromoperoxidásica de extratos de algas marinhas em pH 7,0: Controle (1), *Vidalia obtusiloba* (2), *U. fasciata* (3), *U. lactuca* (4), *G. caudata* (5) e *G. córnea* (6). (Reação do Substrato MCD 5mM, H₂O₂ 15 mM, NaBr 125 mM e 50 µl de extrato de alga). Tempo máximo de reação: 5 min.

Entre as algas vermelhas HEWSON & HAGER (1980), trabalharam com uma única espécie do gênero *Gracilaria* (*Gracilaria sp.*) que apresentou uma baixa atividade bromoperoxidásica, correspondendo apenas a 30 e 50% da atividade de *G. cornea* e *G. caudata*, observada em nossos experimentos. Atividade comparável à encontrada para *G. cornea* foi a dos extratos da alga marinha verde *Codium isthmocladum* onde os autores encontraram um valor de 94 (U.A x 10⁴).

Na FIGURA 3, a atividade bromoperoxidásica dos extratos das algas em estudo foi calculada através da velocidade de decomposição (decréscimo de absorbância em 275 nm x tempo de reação) do substrato MCD, pelo peróxido de hidrogênio. A reação foi também seguida na ausência de enzima (curva controle). O espectro da curva controle foi subtraído dos espectros obtidos para cada ensaio (tampão, H₂O₂ 15 mM, NaBr 125 mM, 6µl de MCD e 50 µl de extrato de alga).

4.2 - Efeito do pH para a Atividade Bromoperoxidásica

A velocidade de bromação do monoclorodimedone (MCD) foi analisada em função do pH nos extratos das algas marinhas *Gracilaria cornea*, *Gracilaria caudata*, *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata* e *Vidalia obtusiloba*. Como mostrado na FIGURA 4 as bromoperoxidasas presentes em todos os extratos tiveram o pH 7,0 como o ótimo de atividade, sendo que a *G. cornea* foi a que apresentou maior velocidade de reação. Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores (HEWSON & HAGER, 1980; SOEDJAK & BUTLER, 1990).

De acordo com os resultados obtidos, as espécies foram ativas em uma ampla faixa de pH, variando entre 6,0 e 8,0. As mesmas condições de ensaio, descritas no experimento anterior, foram seguidas nestes ensaios.

Os resultados obtidos em função do pH de extração e também do ensaio revelaram diferenças nas taxas de atividade bromoperoxidásica entre as cinco espécies estudadas. Pode-se considerar que além de uma possível variação sazonal, sob a qual estejam regulados os níveis de bromoperoxidasas nas algas, um outro aspecto importante merece destaque: a exudação de compostos para o meio marinho. Como analisado por HEWSON & HAGER (1980), os compostos halogenados não são necessariamente retidos nos tecidos algais, mas são, em maior ou menor concentração, liberados no meio ambiente. Aliás, a

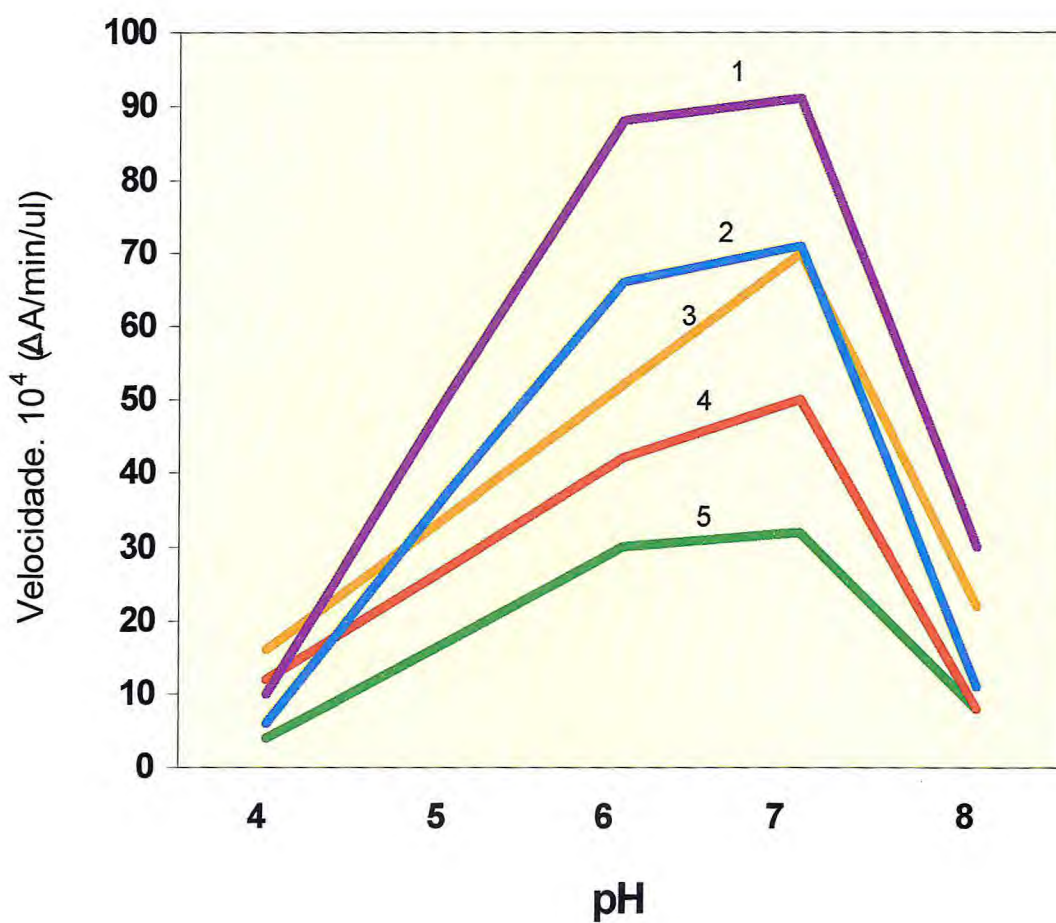


FIGURA 4 – Efeito do pH na velocidade de reação de bromoperoxidasas, das algas marinhas *G. cornea* (1), *G. caudata* (2), *U. fasciata* (3), *U. lactuca* (4) e *Vidalia obtusiloba* (5). Os ensaios foram realizados como descrito em material e métodos.

exudação de taninos, polifenóis e outras substâncias redutoras por certas algas pardas é um fato bem conhecido (WANGERSKY, 1978 citado por PHILLIPS & TOWERS, 1982).

5. CONCLUSÕES

As algas marinhas *Gracilaria cornea*, *Gracilaria caudata*, *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata* e *Vidalia obtusiloba* coletadas na costa cearense, contém bromoperoxidases possivelmente do tipo vanadium-bromoperoxidases (V-BrPO), em virtude do agente oxidante ter sido o peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

Este fato em combinação com a abundância destas espécies em nossas praias sugere que a utilização destas algas, como fonte de bromofenóis, poderão ser útil na formulação de rações para peixes de água doce, visando a alteração do aroma e sabor destes animais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTHONI, U.; LARSEN, C.; NIELSEN, P H.; and CHRISTOPHERSEN, C. – **Off flavor from commercial crustaceans from the North Atlantic Zone.** *Biochemical Systematic & Ecology*, V.18: 377p. – 1990.

ATKINS, W.R.G. **Oxydases and their inhibitors in plant tissues. Part III: The localization of oxidases and catalase in some marine algae.** *Sci. Proc. Roy. Dublin Soc.* V.14: 199-206p, 1914.

BOYLE, J L.; LINDSAY, R C.; and STUBIER, D A – **Bromophenol distribution un salmom and selected seafoods of fresh – and salt water origin.** *Journal Off Food Science*, V. 57 n° (4): 918-922p. – 1992.

BUTTLE, A; WALKER, J. V. **Marine halopeptidases.** *Chem. Rev.* V.93: (5) 1937-1944p, JUL - AUG, 1993.

CARVALHO, L.R.; ROQUE, N.F. **Fenóis halogenados e/ou sulfatados de macroalgas marinhas: Revisão.** *Química Nova*, V.23 (6), 2000.

CHEN, J.L.; GERWICK, W.H. **Isorawsonol and related IMP- deshydrogenase inhibitors from the tropical green alga *Avrainvillea rawsonii*.** *J. Nat. Prod.* V. 57: (7) 947-952p, 1994.

COLON, M.; GUEVARA, P.; GERWICK, W.H. **5"- hydroxiyisoavrainvilleol, A new diphenylmethane derivative from the tropical green alga *Avrainvillea nigricans*.** *J. Nat. Prod.* V.50: (3) 368-374p, MAY-JUN, 1987.

COMBAUT, G.; CHANTRAINE, J.N.; TESTE, J.; GLOMBITZA, K.W. **Bromophenols from the red alga *Cyclotribromoveratrylene*, new derivatives extracted from Halophytes-Pinastroides.** *Phytochemistry* V.17 (10): 1791-1792p, 1978.

FENICAL, W. **Halogenation in the Rhodophyta: A Review.** *J. Phycol.* V.11: 245-59p, 1975.

FLODIN, C.; WHITFIELD, F.B. – **Biosynthesis of bromophenols in marine algae.** Ed. Elsevier Science Ltd. *Wat, Sci. Tech.* V. 40 n° 6, 53-58p. 1999.

GLOMBITZA, K.W.; STOFFELEN, H.; MURAWSKY, U.; BIELACZEC, J.; EGGE, H. **Antibiotics from algae. Bromophenols from Rhodomelaceae.** *Planta Med.* V.25 (2) 105-114p, 1974.

HEWSON, D. W.; HAGER, L. P. **Mechanism of the chlorination reaction catalysed by horseradish peroxidase with chlorite.** *J. Biol. Chem.* V.254: 3175-81p, 1979.

HEWSON, D. W.; HAGER, L. P. **Bromoperoxidases and Halogenated Lipids in Marine Algae.** *J. Phycol.* V.16: 340-345p, 1980.

HIGA, T.; **in Marine Natural Products. Chemical and Biological Perspectives.** 1983.

HOECK, C. van den.; MANN, D.G.; JOHNS, H.M. **Algae an introduction to phycology.** Cambridge University Press. Cambridge, 1997.

COCK, M.; GREGSON, R.P. **Brominated phlorethols and nohalogenated phlorotannins from the brown alga *Cystophora congesta*.** *Phytochemistry* V.23 (11): 2633- 2637p, 1984

KURATA, K.; AMIYA, T.; NAKANO, N. **3,3' - Dibromo- 4,4',5,5'-tetrahydroxybiphenyl, A new bromophenol from the red alga *Polysiphonia urceolata*.** *Chem. Lett* V.(8): 821-822p, 1976.

KUBO, I.; OCHI, M.; SHIBATA, K.; HANKE, F.J.; NAKATSU, T.; TAN, K. S. **Effect of the dietary brominated phenol, lanosol, on chemical biotransformation enzymatic.** *J. Nat. Prod.* V.53: (50), 1990

LANGLOIS, G. A. **Effects of algal exudates on substratum selection by motile telotrochs of the marine peritrich ciliate *Vorticella marina*.** *J. Protozool.* V. 22, 115-123p, 1975.

MANN, J. **Secondary metabolism.** 2^a ed. Atkins, P.W.; Holker, J.S.E, Holliday, A K.,; Eds. Oxford Univ. Press. Oxford, 1996.

McLACHLAN, J.; CRAIGIE, J.S. **Antialgal activity of some simple phenols.** *J. Physiol.* V.2: (4) 133p, 1966.

NEISH, A. C.; in **Biochemistry of phenolic compounds**, Harbone, J. B.; Ed.; Academic Press, New York, 295p., 1964.

NIANG, L. L.; HUNG, X. **Studies on the biologically-active compounds of the algae from the yellow sea.** *Hidrobiologia* V.116: (SEP) 168-170p, 1984.

PERCIVAL, E.; McDOWELL, R.H. – **Biochemistry of storage carbohydrates in green plants.** Dey, P. ; Dixon, R. A, Eds. Academic Press. Nova York, 305p. 1985.

PHILLIPS, D.W.; TOWERS, G.H.N. **Chemical ecology of red algal bromophenols II. Exudation of bromophenols by *Rhodomela larix* (Turner) C. Agardh.** *J. Exp. Mar. Ecol.* Elsevier Biomedical Press. V. 58, 295-302p. 1982.

RAGAN, M. A.; JENSEN, A. **Quantitative studies on brown algal phenols II. Seasonal variation in polyphenol content of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. And *Fucus vesiculosus* (L.)** *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* V. 34, 245-258p, 1978.

SOEDJAK,S.H.; BUTLER, A. **Characterization of Vanadium Bromoperoxidase from *Macrocystis* and *Fucus*: Reactivity of Vanadium Bromoperoxidase toward Acyl and Alkyl Peroxides and Bromination of Amines.** *Biochemistry* V.29: 7974-7981p, 1990.

STUMM, W.; MORGAN, J.J.; **Aquatic chemistry – an introduction emphasizing chemical in natural waters.** 2^a ed. Jonh Wiley & Sons, eds.; Pasadena. 1981.

SUN, H.H.; PAUL, V.J.; FENICAL, W. **Avrainvilleol, a brominated diphenylmethane derivative with feeding deterrent properties from the tropical green alga *Avrainvillea longicaulis*.** *Phytochemistry* V.22: (3) 743- 745p, 1983

SUZUKI, M.; KOWATA, N.; KUROSAWA, E. **Constituents of marine plants bromophenols from the red alga *Rhodomela larix*.** *Bull. Chem. Soc. Jpn.* V.53: (7) 2099-2100p, 1980.

VILTER, H. **Peroxidase from phaeophyceae: A vanadium (V)-dependent peroxidase from *Ascophyllum nodosum*.** *Phytochemistry*. V. 23, Issue 7: (1387-1390)p, 1984

WANGERSKY, P.J. – **Production of dissolved organic matter.** In: *Marine Ecology IV Dynamics*. Edited by O Kinne, J. Wiley and Sons N.Y. 114 –220p. 1978.

WEVER, R.; BARNETT, P. SIMONS, L.H.; HEMRIKA, W. **Vanadium peroxidases: structure and function.** *Journal of Inorganic Biochemistry*. V. 59. Issue 2-3, 584p. August, 1995.

WHITFIELD, F. B.; LAST, J. H.; SHAW, K. J. and TINDALE, C. R. **Dibromophenol: the cause of an iodoform-like off-flavour in some Australian crustacea.** Food Research Laboratory. CSIRO. Division of Food Research. P.O Box 52, North Ryde, NSW 2113, Australia. V.46 - P-(29-42). - 1988.

WHITFIELD, F. B. **Flavour of prawns and lobsters.** *Food Ver. International*, (ed) R. Teramish, A Kabayashi and T Gill. V.6(04): 505p. – 1990.

WIEMER, D.F.; IDLER, D.D.; FENICAL, W. **Vidalols A and B, new antiinflammatory bromophenols from the Caribbean marine red alga *Vidalia obtusiloba*.** *Experientia* V.47: (8) 851- 853p, AUG. 15, 1991

CAPÍTULO III

***CULTIVO DE PEIXES E INCLUSÃO DE ALGAS
MARINHAS EM RAÇÕES PARA
tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* Vr. “Chitralada”***

1 – INTRODUÇÃO

1.1. Aquicultura no mundo

1.1.1. Evolução e situação atual

Os registros mais antigos sobre a aquicultura datam de um período anterior a 2000 a.C, quando os egípcios utilizavam tilápias para povoamento de tanques ornamentais, visando o consumo em ocasiões especiais. Entretanto, apenas em 475 a.C foi que os chineses começaram a desenvolver atividades zootécnicas, quando passaram a cultivar carpas em represas. Apesar da captura dos alevinos em ambiente natural, o cultivo de peixes apresentou um bom desenvolvimento na área de manejo. Entretanto, no início do século XIX teve início a produção intensiva de alevinos de carpa comum e truta arco-íris, tornando as espécies mais cultivadas no mundo. Em 1934, o brasileiro Rodolfo von Ihering desenvolveu uma nova técnica (hipofisacção) que permite a produção de milhões de alevinos a partir de um plantel pequeno de reprodutores, promovendo um grande desenvolvimento na piscicultura mundial (PROENÇA & BITTENCOURT, 1994).

Contrariamente à agricultura, que tem sido o mais importante meio de obtenção de alimentos na terra durante milhares de anos, a aquicultura em décadas passadas, pouco contribuiu com a produção mundial de pescado, sendo grande parte desta oriunda da pesca extrativista (BEVERIDGE, 1996).

A aquicultura, ou o cultivo de organismos aquáticos, vem se apresentando como um sistema de produção de alimentos que mais cresce no mundo e que poderá contribuir para o atendimento de uma crescente demanda mundial de pescado, associada a depleção das principais áreas pesqueiras do mundo. De acordo com os dados da FAO (2000), a produção de pescado mundial proveniente da aquicultura cresceu de 10,15 para 36,05 milhões de toneladas, entre 1984 e 1997, com crescimento anual médio de 10,2% no período.

Mundialmente a aquicultura apresentou, na última década, um crescimento anual cinco vezes superior ao apresentado pela bovinicultura, avicultura e suinicultura, sendo que nos últimos anos, a aquicultura vem se firmando como a atividade agropecuária de maior crescimento (ASSAD & BURSZTYN, 2000). Este aumento foi de praticamente

2500% nos últimos 20 anos, e a maior parte deste crescimento se deve, no caso da piscicultura, ao cultivo de peixes em tanques-rede, principalmente das espécies marinhas como o salmão (ZIMMERMANN & WINKLER, 1993), e ao aumento da produção aquícola dos países asiáticos, principalmente a China, que no ano 2000, produziu mais de 15 milhões de toneladas de produtos pesqueiros (FAO, 2000). Este crescimento tem contrariado a grande maioria das projeções traçadas pelos especialistas: estimativas de produção da FAO/FIDI (1995), projetadas para 2010 foram alcançadas antecipadamente já em 1998 e, segundo o World Watch Institute, a aquicultura no ano 2000, já produziu mais pescado para o consumo humano direto (excluindo a produção reduzida à farinha de pescado e outros subprodutos) que a pesca extrativista (ASSAD & BURSZTYN, 2000).

As estatísticas do Departamento de Comércio dos Estados Unidos (SEAFOOD BUSINESS, 1998), indicaram que desde o segundo semestre de 1992, as importações de tilápias passaram de 4.417 para 28.185 toneladas. Paralelamente a este período, a produção local sofreu um incremento de 4.309 para 8.619 toneladas. Pode-se dizer, então, que o mercado norte-americano consumiu 8.619 toneladas em 1992, chegando a 36.804 toneladas em 1996.

A aquicultura apresenta-se atualmente como uma atividade agropecuária de grande importância econômica, tendo gerado, segundo as estimativas da FAO (1999), 50,3 bilhões de dólares referentes a uma produção de 36,0 milhões de toneladas de pescado, obtida no ano de 1997 (TABELA 09). Dessa produção, destacamos as tilápias que contribuíram com mais de 800 mil toneladas, representando o segundo grupo de espécies mais importante na aquicultura a nível mundial (LOVSHIN, 1997), sendo no ano 1998, o terceiro produto pesqueiro de importação dos Estados Unidos, depois do camarão marinho e do salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (SEAFOOD BUSINESS, 1998).

Segundo os últimos números da FAO/FIDI (1993), em 1992 os países da América Latina e do Caribe, juntos, produziram através da aquicultura, somente 1,93 % de todo pescado cultivado no mundo. Não coincidentemente, são esses os mesmos países que também ocupam os primeiros lugares em estatísticas menos nobres como a da fome, da miséria, da violência e de tantas outras mazelas sociais e, curiosamente, são países privilegiados geograficamente. Na sua maioria estão situados em regiões tropicais, com relevo generoso, excelentes bacias hidrográficas, e muita mão-de-obra carente de trabalho e alimento. Enfim, compõem um cenário ideal para o cultivo de peixes, (em tanques-rede) camarões, rãs, algas, moluscos, etc.

Vale destacar que essa pequena produção, menos de 2% da produção mundial, contém um crescimento médio de 258 % em relação ao ano anterior; crescimento esse empurrado pela florescente indústria chilena de salmonídeos e pela carcinicultura equatoriana. Mesmo com uma desprezível parcela na produção mundial, a aquicultura gerou, para a América Latina e Caribe, a soma de US\$ 1.311.017.000,00 (FAO/FIDI, 1993).

Quanto ao Brasil, a FAO/FIDI (1993) revela que este, contribuiu com apenas 18,5 % das 145.100 toneladas de peixes produzidos na região latino-americana em 1992, sendo muito pouco para as suas possibilidades e quase nada para as suas necessidades de produção de alimentos. Desse percentual, as regiões Sul e Sudeste respondem pela maioria absoluta dessa produção. O Nordeste, mesmo tendo sido o palco das primeiras pesquisas no campo da piscicultura, vem tendo sua produção reduzida a cada ano.

Existe um provérbio entre os aquicultores israelenses que diz: para se cultivar peixes, não se precisa de água, pois onde há água, não se pode criar peixes. Esta frase, aparentemente absurda e sem sentido, reflete a necessidade da tecnologia que foi desenvolvida nos últimos 50 anos pela aquicultura israelense: os peixes não consomem a água, apenas crescem no ambiente aquático: a água é consumida pelas áreas irrigadas, portanto, a produção aquícola é subproduto da agricultura (ZIMMERMANN, 1993).

Israel está localizada no centro de uma zona árida do Oriente Médio, na margem leste do Mar Mediterrâneo. Caracterizada por um clima subtropical a temperado, possui uma estação de chuvas que vai de dezembro a março (inverno) e um índice pluviométrico de 50 a 500 mm, a maior parte concentrado no Norte do País. A principal fonte de água é o Mar da Galiléia, 200 m abaixo do nível do mar. Israel é, portanto, um desastre ecológico. Entretanto, a utilização de água nos anos 60 aumentou de 17 para 95 %, período em que o Sistema de Suprimento Nacional foi construído, conduzindo a água de Norte a Sul. Cerca de 8 a 10 % das fontes de água em Israel são salobras, não servindo para a irrigação, porém, sendo utilizadas em aquicultura. A aquicultura de água doce em Israel apresenta-se como um caso único, uma vez que o País está localizado numa zona árida, com severas limitações de água e com cerca de 60 % do solo desértico. Possui ainda um clima subtropical, limitando o crescimento das espécies tropicais e subtropicais a apenas 6 a 8 meses por ano, diferente do Nordeste do Brasil, onde os peixes podem ser cultivados o ano todo.

TABELA 09 – Produção de pescado oriundo da aquicultura, referente ao ano de 1997.

Produtor	Produção Total (%)	Produção (tom)	Produção (US\$)
<i>Ásia</i>	90,90	32.770.370	42.048.422.000,00
<i>América do Sul</i>	1,78	642.998	2.200.023.000,00
<i>Chile</i>	0,75	272.346	918.652.000,00
<i>Brasil</i>	0,19	70.480	272.416.000,00
<i>Produção Mundial</i>	100,00	36.050.168	50.369.096.000,00

Fonte: FAO (1999).

O Estado do Ceará possui uma área de 146.817 km², dos quais cerca de 200.000 hectares são de área inundada, ocupando uma posição nitidamente tropical, amplamente favorável ao desenvolvimento da piscicultura. Para se ter uma idéia, o Ceará possui área cinco vezes maior que a do Estado de Israel, contudo este produz mais em piscicultura que quase todo o Nordeste do Brasil. Esta citação, por si só, justifica a importância do desenvolvimento da piscicultura no Estado. Dessa forma, o Estado do Ceará poderá ser um pólo de piscicultura intensiva se houver a realização de um trabalho sério, suportado por instituições de pesquisas solidamente apoiadas.

No atual momento, é por demais importante a retomada de pesquisas que viabilizem a piscicultura no Nordeste, principalmente no Ceará. Para se ter uma idéia, se utilizarmos dados referentes à dita piscicultura extensiva ou pesca em açudes e barragens administrados pelo DNOCS, a produção de pescado do Nordeste apresentou uma redução de 46% entre os anos de 1986 a 1992, passando de 18.308,6 para 9.903,2 ton. Se analisarmos o Estado do Ceará, observaremos que a produção de pescado, em açudes e barragens, teve redução mais drástica, superior a 50%, para o mesmo período (LIMA, 1993).

Apesar da queda de produção localizada, segundo os últimos números da estatística aquícola (citados anteriormente), em 1992, os países da América Latina e Caribe, tiveram um crescimento médio em sua produção de 258 % em relação ao ano anterior (FAO/FIDI, 1994). E isso, não se deve somente à expansão das áreas de cultivo, mas ao melhoramento genético e ao desenvolvimento de outras técnicas que fizeram com que a produtividade passasse de 2,5 toneladas/hectare/ano, na década de 50, para 60 ton/ha/ano, na década de 70, alcançando na década seguinte, a produtividades em torno de 500 ton/ha/ano (MACLEAN, 1984).

Atualmente mais de 20.000 espécies de peixes são conhecidas no mundo, destas, 200 já foram ou são cultivadas comercialmente como alimento e, 30 a 35 são cultivadas em quantidades significativas. Sabe-se que dentre os milhares de espécies conhecidas, algumas apresentam alto percentual para cultivo, ainda que não estudadas. Entre as poucas espécies cultivadas, apenas duas como a carpa comum e a truta arco-íris, foram geneticamente selecionadas em diferentes variedades para o cultivo (SCHMITTOU, 1997).

1.1.2. A tilápia no contexto mundial

O grupo denominado de tilápia pertence à família Cichlidae e compreende, aproximadamente, 1.200 espécies que ocupam uma enorme diversidade de nichos (FRYER & ILES, 1972; KORFIELD, 1984).

A distribuição original das tilápias vai desde o centro-sul da África até a Síria. A tilápia de Moçambique, *Oreochromis mossambicus* foi aparentemente a primeira espécie de tilápia exportada da África para a Ilha de Java, na Indonésia em 1993. Durante a segunda guerra mundial, os japoneses introduziram essa espécie em diversas ilhas do Pacífico. Durante as décadas de 50 e 60, muitas pessoas e organizações, encorajadas por sua fácil reprodução em cativeiro, tolerância às condições ambientais adversas e hábito alimentar herbívoro/onívoro, introduziram a tilápia de Moçambique, em vários países da América Central, América do Sul, Ilhas do Caribe, Sudeste da Ásia, Índia, Bangladesh, Paquistão e Austrália. Entretanto, o entusiasmo por esta cultura como fonte de alimento, rapidamente diminuiu com o problema da superpopulação e precocidade em viveiros estocados com machos e fêmeas de tilápias (POPMA & PHELPS, 1998).

Experimentos para controlar a reprodução em viveiros usados na aquicultura, incluíam a introdução de outras espécies de tilápias, com crescimento rápido, nas diversas condições de cultivo e, com maturação sexual ocorrendo numa idade e tamanho superiores a da tilápia de Moçambique. Hoje, as duas principais espécies cultivadas de tilápias, além da tilápia de Moçambique, são a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* e a tilápia azul, *Oreochromis aureus*. A tilápia Nilótica é a espécie mais popular, contabilizando 72% das 660.000 toneladas produzidas mundialmente em 1995 (TACON, 1998).

Nos países tropicais e subtropicais, além dos africanos, a tilápia do Nilo é encontrada em vários países da Ásia, Américas Central e do Sul (incluindo o Brasil).

A tilápia azul participa com menos de 2% da produção mundial de tilápias e sua distribuição abrange, além dos países africanos, as Filipinas, Taiwan, México, El Salvador, Porto Rico e Panamá. Às espécies seguintes (tilápias do Nilo, Moçambique e azul), somam-se os seus mutantes e híbridos, com cores variando do branco ao vermelho.

A tilápia vermelha híbrida (*Oreochromis sp.*), tem demonstrado ser um animal com boas condições de manejo, conversão, produtividade, crescimento e reprodução, em condições de cativeiro, no cultivo em regiões de águas tropicais (ÁVILA & GONZALES, 1995), porém, é justamente sua reprodução nos tanques que faz com que as fêmeas das

espécies de tilapia, como um todo, destinem parte de sua energia para esta atividade, produzindo, rapidamente uma superpopulação e uma constante competição por espaço e alimento, o qual afeta negativamente o rendimento. O fato das fêmeas do gênero *Oreochromis* incubarem seus ovos na boca durante vários dias faz com que elas não convertam tanto alimento em carne como os machos (ÁVILA & GONZALES, 1995).

O avanço da tilapicultura no mundo inteiro está levando a uma intensificação dos cultivos. A busca por linhagens de desempenho superior é uma prova disto e, atualmente, se dispõe de diversas populações de tilápias com excelente desempenho zootécnico. Uma das populações mais procuradas é a "Chitralada", linhagem desenvolvida na Tailândia, no palácio real e na Estação Experimental do ASIAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY (AIT). Esta linhagem foi introduzida no Brasil em 1996 a partir de alevinos doados pelo AIT (ZIMMERMANN, 1999).

Na América Latina e no Caribe o interesse pela aquicultura durante a década passada foi voltado para a tilápia vermelha híbrida. O termo tilápia vermelha é popularmente aplicado, não somente em peixes totalmente vermelhos, mas também em peixes cor-de-rosa, claros e irregularmente marcados com as cores brancas, pretas e vermelhas. A tilápia vermelha se tornou altamente popular pelo fato de se perceber que seu incremento de valor de mercado é devido à sua similaridade com os peixes vermelhos marinhos "red snapper", do gênero *Lutjanus* (conhecidos popularmente como pargos). Um aspecto que aumenta o valor de mercado da tilápia vermelha é que a cor vermelha identifica o peixe melhor cultivado, evitando a possibilidade do consumidor adquirir um peixe oriundo de águas poluídas (POPMA & PHELPS, 1998).

1.1.3. Fatores que influenciam a aquicultura

Em virtude de a piscicultura ser um processo zootécnico, ela depende em grande parte dos fatores naturais, porém, é importante o conhecimento das características biológicas dos recursos a serem explorados, a fim de se obter sucesso e, segundo ZAVALA-CAMIN (1996), dentre estes aspectos temos:

a) **Variedade Domesticada** - Espécies com uma variedade "domesticada" que tenha sido cultivada por várias gerações, pois geralmente elas apresentam uma maior produtividade e menos problemas de manejo (p. ex. tilápia do Nilo da variedade Chitralada);

b) Hábito Reprodutivo - Espécies como a enguia e o "milkfish" são exclusivamente provenientes de estoques naturais. Entretanto, todas as demais espécies cultivadas se reproduzem em cativeiro ou podem ser induzidas a se reproduzir através da hipofisacção (p. ex. o tambaqui, *Colossoma macropomum*; pacu caranha, *Piaractus mesopotamicus* etc.). Assim, pode-se estabilizar o mercado de alevinos com um suprimento constante (evitando a oferta sazonal) e em quantidades suficientes para uma produção em escala industrial, realizar uma domesticação e seletividade genética dos estoques, além de controlar a transmissão de doenças, parasitas e patógenos;

c) Necessidade de Ovos e Larvas - A grande maioria das espécies utilizadas em piscicultura produzem ovos grandes, conseqüentemente, em menor número, gerando larvas maiores e menos delicadas (a maioria das espécies cultivadas). Salienta-se, porém, que nos peixes marinhos, ocorre o contrário.

d) Idade e Tamanho de Primeira Maturação Sexual - Optar por espécies que atinjam o tamanho de primeira maturação sexual somente depois de alcançarem o tamanho comercial. Geralmente é vantajoso que as espécies se reproduzam precocemente, pois são reduzidos os riscos de perdas e custos de alimentação, espaço, mão-de-obra e administração. Entretanto, deve-se desenvolver corretamente um programa de reprodução, a fim de se evitar a consangüinidade e perda do melhoramento genético da espécie.

e) Taxa de Crescimento e Tamanho - Buscar espécies que atinjam o tamanho mínimo de comercialização num período de crescimento razoável, porém, com uma elevada taxa de crescimento a fim de que a conversão alimentar seja eficiente. Esta eficiência se traduz na economia de alimento para produzir um dado peso vivo, tornando maior a viabilidade econômica do cultivo, visto a obtenção de um produto comerciável no mais curto espaço de tempo. Excluindo outros fatores, a taxa de crescimento absoluto geralmente é diretamente proporcional ao tamanho máximo que a espécie atinge. Espécies semelhantes podem apresentar diferenças de até 100% ou mais na sua taxa de crescimento. Em geral, peixes de clima quente têm taxa de crescimento superior aos de clima frio.

Geralmente a maioria das espécies cultiváveis possui um crescimento diferenciado, o que exige uma colheita seletiva (embora aumente os custos operacionais, pode-se aumentar a eficiência do processo produtivo).

f) Hábitos Alimentares - O ambiente aquático tem uma zona de produção de alimento tridimensional que inclui a superfície do fundo, a superfície da água e a coluna d'água. Portanto, os ecossistemas aquáticos têm mais fontes de alimentos (nichos) e níveis tróficos que o ecossistema terrestre.

A qualidade e a magnitude de cada nicho e nível trófico das espécies cultivadas são à base de todos os sistemas de aquicultura que dependem ou não de alimento artificial. Um policultivo chinês (sistema extensivo) é uma aplicação desse princípio, pois nele inclui-se uma espécie filtradora (carpa prateada e cabeça grande), herbívora que se alimenta de folhagens (carpa capim), omnívoros facultativos (carpa comum), outras que se alimentam de moluscos (carpa negra), insetívoros (tilápia) e piscívoros (bass).

Aliado à taxa de conversão alimentar deve-se ter o conhecimento das exigências alimentares das espécies, em função do tamanho, da temperatura do ambiente, e das condições de crescimento e reprodução, pois são fatores que podem provocar diferenciação alimentar. Já em monocultivos (sistema intensivo) atentar para o nível trófico, pois da aceitação ou não, do alimento artificial dependerá o sucesso no empreendimento.

Verificar o balanceamento das dietas para o melhor crescimento e a sobrevivência das espécies cultiváveis, pois os custos com alimentação são significativos em cultivos. Assim, para as espécies do início da cadeia trófica, deve-se utilizar ração de baixo ou nenhum custo e, para aquelas de nível mais alto, ração de alto custo, rica em proteína/carboidrato.

g) Adaptação à Superlotação - A densidade de estocagem refere-se ao número ou ao peso dos indivíduos, por unidade volume ou por área do ambiente aquático. A adaptação à superlotação está relacionada, com a taxa de oxigênio dissolvido e de estocagem, visto que a superlotação ocasiona: redução do oxigênio dissolvido; redução na taxa de crescimento (competição por alimento); transmissão de doenças; canibalismo (que pode ser controlado com a construção de abrigo adequado ou alimentação). Assim, deve-se escolher espécies com hábitos sociais ou gregários que se adaptem bem a superlotação (cultivos intensivos ou superintensivos como o cultivo em gaiolas ou em tanques-rede), visto que o comportamento agressivo/canibalismo pode gerar grandes custos, que poderá inviabilizar o projeto.

De um modo geral os peixes podem ser estocados de forma tão adensada que o espaço individual ou coletivo pode se tornar um fator limitante na produtividade, além de prejudicar o acesso ao alimento e a qualidade da água.

h) Tolerância ao Manuseio - O manuseio da espécie cultivada causa estresse ao animal, havendo incidência de doenças por organismos oportunistas (fungos e bactérias) podendo levar à mortalidade. Portanto, optar por espécies com grande rusticidade (tambaqui, tilápias, pacus etc.) é mais vantajoso em termos do manuseio (o bagre

americano, *Channel catfish* sob as mesmas condições de manuseio de uma tilápia, apresentará maior incidência de doenças bacteriana e mortalidade).

i) Tolerância à Temperatura - Utilizar espécies que sejam tolerantes à temperatura do local de cultivo. De um modo geral, os Salmonídeos são peixes de clima temperado, mas os Ciclídeos, são de clima tropical. Quanto aos Ciprinídeos estes podem ser cultivados tanto no clima temperado quanto no tropical. Assim, dependendo da região de cultivo, deve-se atentar para a escolha da espécie.

j) Tolerância à Salinidade - Deve-se ficar atento à escolha da espécie, principalmente em regiões costeiras e, em algumas regiões interiores, onde a quantidade de sal no solo ou na água proporciona uma salinidade maior que 3‰. A maioria das espécies de água doce tolera salinidade de até 10‰, porém tem sua taxa de crescimento reduzida, ou não reproduz. Já as espécies marinhas não sobrevivem em salinidade menor ou igual a 15‰ e maior ou igual a 45‰. Há exceções (o "milkfish", *Chanos chanos* uma espécie marinha e a *Tilapia mossambica*) que sobrevivem em salinidade 0 a 85‰.

l) Aceitação pelo Consumidor - Para que um empreendimento aquícultural tenha sucesso é necessário que a venda do produto tenha garantia de lucro. Isto está na dependência da aceitação da espécie pelo consumidor, o que freqüentemente não é levado em consideração quando se escolhe uma espécie para ser introduzida numa região. Assim, deve-se levar em consideração fatores como a aparência da espécie, palatabilidade, crenças religiosas etc., que podem influenciar a aceitação da espécie pelo consumidor.

De um modo geral não existe a espécie de peixe perfeita para a piscicultura, porém, deve-se escolher a mais adequada para o sistema que se pretende utilizar. Segundo BOZANO & COELHO (2001), dentre os sistemas de cultivos atuais, temos:

a) Extensivo - Geralmente os cultivos extensivos são dotados de viveiros, drenados ou não, onde não existem o controle do suprimento de água e a alimentação é exclusivamente a natural. Neste tipo de cultivo, a densidade de estocagem é baixa, a produtividade fica em torno de 400 a 800 kg/ha/safra e a coleta dos peixes é difícil e incompleta. Podem ser utilizadas pequenas ou grande áreas inundadas, como: pequenos viveiros escavados cuja finalidade principal não seja a piscicultura, pequenas barragens, lagoas, açudes no Nordeste do Brasil e as grandes represas no Sul e Sudeste do país, etc.

b) Extensivo com fertilização - A unidade de produção, normalmente é um viveiro drenado ou não, com fluxo e controle de água, incompletos. Usa reservatórios semelhantes aos citados para o sistema do item anterior, conseqüentemente a despesca também é difícil

e não total. Pratica-se a adubação orgânica e/ou química, como estímulo ao aumento do alimento natural. A produtividade gira em torno de 1.000 a 2.500 kg/ha/ano.

c) Semi-Intensivo – Caracteriza-se pela utilização de alimentos ou subprodutos agrícolas. A unidade de criação é um viveiro drenável, com controle do fluxo de água que permite despesca total da produção. O tamanho dos viveiros é variável, a adubação normalmente é feita apenas nos primeiros anos de produção e os subprodutos agrícolas são adicionados para complementação do alimento natural. As produtividades se situam entre 3.000 a 4.000 kg/ha/ano. Neste processo, elimina-se a competição interespecífica, através do monocultivo (monosexo) e, pelo controle da reprodução e densidade de estocagem. Constitui-se uma das formas eficientes de obtenção de biomassa dos recursos aquáticos, porém, exige certas características das espécies tais como: elevada taxa de crescimento; aceitar alimento artificial; suportar altas densidades de estocagem, e; acasalar em cativeiro.

d) Semi-intensivo com utilização de ração complementar - Utiliza viveiro drenável com controle total do fluxo de água, possibilitando a despesca total dos animais criados. O tamanho dos viveiros normalmente varia de 1.000 a 5.000 m², com vazão de água, superior a 10 L/Seg/ha. As rações utilizadas são de boa qualidade, adicionadas aos viveiros em quantidades adequadas e sobretudo, divididas em várias refeições (2 a 4 vezes/dia), para que não seja necessário o uso de aeração forçada. Nesse tipo de cultivo, a produtividade proporciona valores da ordem de 7.000 a 8.000 kg/ha/ano, podendo chegar a 15.000 kg/ha/ano, dependendo da densidade de estocagem e da qualidade da água.

e) Intensivo com aeração contínua – Os viveiros são semelhantes aos do tipo anterior, porém providos de aeradores que mantêm quantidade adequada de oxigênio dissolvido na água. As produtividades variam entre 10.000 e 25.000 kg/ha/safra, dependendo da renovação de água. A ração deve ser de alta qualidade e distribuída adequadamente.

f) Intensivo com fluxo contínuo (raceway) – Geralmente a unidade de criação é um pequeno tanque retangular ou circular, de 100 a 400 m³, com uma a três trocas de água completas por hora. A ração utilizada deve ser nutricionalmente completa, e a produtividade varia de 40 a 200 kg/m³/safra.

g) Tanques-rede – A unidade de criação é uma estrutura de tela de arame ou de Nylon, que retém os peixes em seu interior, mas permite troca de água suficiente para que sejam mantidos os bons parâmetros de qualidade de água, permitindo bem estar e crescimento dos peixes. Os tanques podem ser instalados em lagos, reservatórios e rios, com o tamanho dos mesmos variando entre 1 e 128 m³. A produtividade varia entre 300 e

600 kg/m³/safra, com o sistema necessitando de ração altamente completa, já que os peixes não tem acesso a outro tipo de alimentação.

Segundo PAVANELLI *et al.* (1998), com a maximização do processo produtivo, há grandes possibilidades do aparecimento de diversas doenças nos peixes, sejam elas infecciosas ou não, causadas por agentes patogênicos; pelo próprio sistema de manejo, principalmente na piscicultura superintensiva onde há grande densidade de estocagem, seja por m² ou m³. O uso de espécies exóticas que muitas vezes não passam por qualquer inspeção sanitária ou quarentena, bem como o uso exclusivo de ração balanceada, no cultivo, causam estresse crônico, debilitando o animal, tornando-o um alvo fácil para organismo patogênicos oportunistas, principalmente, fungos e bactérias. Tais organismos, s podem prejudicar todo o sistema produtivo, levando a perdas consideráveis ou até total da produção, ou ainda, pela deficiência nutricional ou pela degradação da qualidade da água.

Assim, devido a esses fatores presentes em um sistema de cultivo, a homeostasia dos peixes fica mais ou menos comprometida, verificando-se que algumas espécies não conseguem se adaptar às condições estressantes do cativeiro, tendo como consequência o não cultivo das mesmas. Dessa forma os surtos epizooticos se manifestam quando as condições favorecem as doenças (presença do hospedeiro + agente patogênico + meio ambiente adequado), sendo necessária uma terapia correta, visto que em um reduzido período de tempo a doença voltará a ocorrer caso o tratamento não seja adequado, não se faça um manejo tecnicamente recomendado ou não se tome às devidas medidas profiláticas.

1.2. Aquicultura no Brasil

1.2.1. Evolução e situação atual

No Brasil a piscicultura obteve um grande desenvolvimento nos últimos anos, visto que várias espécies de peixes estão sendo cultivadas, sejam elas nativas ou provenientes de outros países. Há um crescente aumento do número de empreendimentos que visam à produção de alevinos ou de exemplares para o consumo, bem como, aqueles que exploram o lazer como o pesque pague, gerando com isso uma grande demanda (PAVANELLI *et al.*, 1998).

Apesar da origem milenar, somente nos últimos anos a aquicultura vem se destacando como atividade produtora de alimentos, estando hoje diante do desafio de se moldar ao conceito de sustentabilidade, a qual dependerá das condições locais, incluindo recursos, atividades econômicas, políticas, ações individuais, além das características particulares de cada comunidade (PHILLIPS & MACINTOSH, 1997). Assim, uma proposta para o desenvolvimento sustentável da aquicultura deve estar voltada para o atendimento simultâneo dos aspectos ecológicos, econômicos, sociais e político-institucionais (SZE, 1997).

Em todo o mundo, a piscicultura vem assumindo importância cada vez maior no panorama do abastecimento alimentar, uma vez que a alta taxa de crescimento demográfico está em ritmo de colisão com a oferta de alimentos, notadamente os de origem animal, que requerem um esforço maior para serem produzidos.

Infelizmente a prática da criação de peixes, embora antiga, não tem sido devidamente disseminada no Brasil. Apesar de ser um alimento de excepcional valor nutritivo, as estatísticas mostram que o brasileiro consome quantidades muito baixas de peixe, com uma média semanal “per capita” de somente 122 g, enquanto no Japão esse consumo atinge 1,5 kg (CARVALHO, 1998).

Segundo VALENTI (2000), a aquicultura moderna está baseada em três princípios: produção lucrativa, preservação ambiental e aceitabilidade social. SACHS (1993), cita que para que o desenvolvimento seja efetivamente sustentável é preciso que ele contemple, pelo menos, cinco dimensões: seja economicamente viável (pré-requisito), socialmente justo, a dimensão ecológica deve ser considerada e a equidade espacial e cultural (preservar as características de cada grupo social).

A aquicultura nacional começou a ganhar força no cenário sócio-econômico, quando se percebeu suas imensas potencialidades frente a outras atividades produtivas, pois apresenta índices relativamente baixos de impacto sobre o ambiente de que se utiliza, permite a transformação de subprodutos e resíduos agrícolas em proteína animal de excelente qualidade, possibilita a aproveitamento de áreas improdutivas, de pequeno tamanho ou de baixo rendimento agropecuário, convertendo-as em áreas altamente produtivas e caracteriza-se como uma opção de diversificação da atividade produtiva de pequenas ou mesmo de grandes propriedades rurais (BORGHETTI & OSTRENSKY, 1998).

A aquicultura brasileira é responsável por apenas 10,4% da produção aquícola da América Latina. Considerando-se o potencial produtivo que o país possui e, o fato de

América do Sul ser responsável por 1,78% da produção mundial, não seria exagero afirmar que a aquicultura brasileira é ainda inexpressiva fazendo com que o Brasil ocupe uma modesta 33ª posição no *ranking* mundial da aquicultura (BORGHETTI & OSTRENSKY, 1998; FAO (1999).

As estimativas oficiais indicavam que o Brasil produziu em 1996, 60,7 mil toneladas de produtos de origem aquícola, sendo 28% de origem marinha (camarões marinhos) e 72% de águas interiores, o que significa um aumento de quase 50% em relação à safra de 1995 (BORGHETTI & OSTRENSKY, 1998; CYRINO *et al.*, 1999). No que se refere à produção aquícola do ano de 1997, os dados oficiais indicam que o Brasil produziu, naquele ano, 70,5 mil toneladas de produtos de origem aquícola (FAO, 1999) obtendo, portanto, um incremento de 16% em relação ao ano anterior.

A produção nacional está concentrada na região Sul, seguida pelas regiões Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e Norte. Entretanto, mais impressionantes são os dados relativos ao período entre 1995 e 1997, que mostraram uma acentuada taxa de crescimento nas regiões Nordeste e Centro-Oeste (TABELA 10), verificando-se um aumento de 115,2% e 86,2%, respectivamente (BORGHETTI & OSTRENSKY, 1998).

Apesar do incremento da produção de pescado através da aquicultura, a importação brasileira de pescado vem crescendo consideravelmente nos últimos anos, passando de 190 milhões (1993) para 455 milhões de dólares (1996). Em 1997, a importação se manteve em torno de 190 mil toneladas, correspondendo a 400 milhões de dólares, gerando um déficit de 298 milhões de dólares na balança comercial de pescado, equivalente a 166 mil toneladas (KUBITZA *et al.*, 1998).

1.2.2. Cultivo de tilapia no Brasil

No Brasil, a tilápia do Nilo foi introduzida através do DNOCS – DEPARTAMENTO NACIONAL DE OBRAS CONTRA AS SECAS – no ano de 1971, através da importação de 60 alevinos, os quais foram aclimatizados e utilizados como reprodutores. A partir de então, gerações sucessivas (F1, F2, F3,.... Fn.), obtidas dos alevinos importados foram utilizadas como reprodutores que produziam proles para programas de peixamento de açudes, bem como, para cultivos. Além do mais, a partir dos alevinos introduzidos e suas diversas gerações, houve a disseminação da tilápia do Nilo, para todo o país.

Nestas três últimas décadas, pôde-se observar que este peixe perdeu algumas características ideais necessárias em cultivos intensivos e superintensivos, como rápido crescimento, conversão alimentar satisfatória, rendimento de filé (hoje na faixa de 30%) devido, principalmente, à ausência de trabalhos relacionados com a seleção de indivíduos com um excelente patrimônio genético. Como consequência, muitos cultivos de tilápias apresentam baixa produtividade e tempo de cultivo prolongado, não apresentando rentabilidade econômica.

Um grande sucesso na tilapicultura mundial se denomina tilápia da Tailândia ou “Chitralada”, que é uma tilápia do Nilo melhorada geneticamente e que foi importada para o Brasil pelo “ASIAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY” (AIT). Foram embarcados, em setembro de 1996, 20.800 reprodutores avós oriundos de 1.000 diferentes desovas de 20 famílias. Esta linhagem possui um desempenho muito superior ao registrado nas linhagens utilizadas pelos melhores criadores de tilápias (principalmente no que se refere à velocidade de crescimento e rendimento de carcaça). Atualmente, a larvicultura brasileira se destaca na incubação artificial de tilápias da linhagem “Chitralada”. Na safra 98/99, 14,7 milhões de alevinos foram produzidos.

A tilápia de Zanzibar, *O hornorum*, foi introduzida no Brasil pelo DNOCS, também em 1971, mais precisamente no seu CENTRO DE PESQUISAS ICTIOLÓGICAS (Pentecoste – Ceará). A partir de então, as tilápias de Zanzibar e do Nilo foram difundidas para outros estados brasileiros e outros países, notadamente, da América do Sul e Central. Os objetivos da introdução destas duas espécies de tilápia foram obter híbridos 100% machos, através de cruzamentos entre as duas espécies (macho da tilápia de Zanzibar X fêmea da tilápia do Nilo), e o povoamento de águas interiores do Nordeste, exclusivamente com a tilápia do Nilo.

A tilápia do Congo, *Tilapia rendalli*, foi introduzida no Brasil em 1953, chegando no Nordeste em 1957, trazida pelo DNOCS. A espécie é fitófaga e por isto indicada para povoar coleções de águas onde prolifera vegetação aquática, submersa ou não.

TABELA 10 – Produção aquícola brasileira por região geográfica, no período de 1995 a 1997.

Regiões	1995 (ton.)	1997 (ton.)	Aumento da Produção (%)
<i>Norte</i>	2.079	2.244	7,9
<i>Nordeste</i>	4.199	9.036	115,2
<i>Centro-Oeste</i>	6.334	11.794	86,2
<i>Sudeste</i>	10.390	11.963	15,1
<i>Sul</i>	17.564	25.683	46,2

Fonte: (BORGHETTI & OSTRENSKY, 1998).

A tilápia vermelha híbrida foi introduzida no Brasil em 1970, proveniente dos Estados Unidos, mais precisamente da Flórida. O citado híbrido, conhecido como “red Flórida”, seria derivado do cruzamento entre o macho de *O. moçambicus* e a fêmea de *O. hornorum*. As tilápias foram doadas ao Centro de Pesquisas Ictiológicas do DNOCS, onde foram acasalados e se reproduziram, ao mesmo tempo em que necessitaram de seleção contínua para manter a linhagem vermelha (MESQUITA *et al.*, 1998).

Dos cruzamentos entre diferentes espécies de tilápias que resultam em proles 100% machos, sem a necessidade do uso de hormônios para a reversão sexual, o mais famoso é, sem dúvida, o resultante entre o macho da tilápia de Zanzibar X a fêmea da tilápia do Nilo, com a condição de que, ambas as espécies utilizadas pertençam às linhagens puras. Este híbrido começou a ser produzido no Brasil, em meados da década de 70, no Centro de Pesquisas Ictiológicas do DNOCS (Pentecoste – Ceará) e, atualmente é produzido com sucesso na ESTAÇÃO DE PISCICULTURA DA CHESF (Companhia Hidrelétrica do Vale do São Francisco, localizado na Bahia). O citado híbrido oferece ao piscicultor as vantagens de um crescimento e ganho de peso mais rápido, aumento da resistência às doenças, aumento de rendimento de carne e maior eficiência da conversão alimentar.

Passados muitos anos desde que foi introduzida no Brasil e, após ser confirmada como o maior fracasso da piscicultura brasileira nas últimas décadas, sendo indesejável e até considerada como praga, a tilápia reapareceu nos viveiros brasileiros, bem como em dezenas de outros países. O ressurgimento do cultivo da tilápia foi proporcionado por novas tecnologias, manejos e sofisticadas seleções genéticas capazes de estimular seus atuais criadores, fazendo-os crer que não estavam totalmente errados aqueles que acreditavam que a tilápia seria capaz de revolucionar um dia a piscicultura brasileira e mundial.

A tilápia do Nilo é uma espécie precoce que apresenta excelente desempenho em diferentes regimes de criação. Em regimes extensivos, apenas com adubação dos viveiros, alcançam produtividades de até 3.500 kg/ha/ano, em densidades entre 8.000 e 10.000 peixes/ha. Em regimes semi-intensivos, com renovação de água (10 l/s/ha) e rações de boa qualidade, chega a produzir 15.000 kg de pescado/ha/ano. Utilizando-se sistemas de alta renovação de água e aeração é possível a produção de 49.500 a 402.000 kg de tilápia/ha/safra (CARBERRY & HANLEY, 1997).

CASTAGNOLLI (2000), relatou que para se aumentar a rentabilidade de um cultivo, será necessário o aumento da produtividade, com conseqüente redução dos custos de produção. O mesmo autor citou ainda, que em uma aquicultura intensiva o custo da

alimentação deve corresponder a mais da metade do custo de produção e que a busca de ingredientes de menor custo e de fontes alternativas, especialmente da fração protéica, geralmente a mais onerosa da dieta, deve se constituir na preocupação final dos produtores, visando tornar mais econômica a alimentação dos peixes e, conseqüentemente, mais lucrativa a criação (CASTAGNOLLI & CYRINO, 1986).

O desenvolvimento da aquicultura no Brasil tem enfrentado vários problemas relacionados à falta de rações nutricionalmente adequadas e de baixo custo, que possam viabilizar o processo de produção (CASTRO *et al.*, 1998). Estes mesmos autores citam ainda que, na região Nordeste do Brasil, onde praticamente não existem unidades produtoras de dietas para organismos aquáticos, as rações extrusadas, com 24 a 30% de proteína bruta, chegam a atingir preços de venda que variam de 65 centavos a um Real e dez centavos/kg, dependendo da quantidade a ser adquirida. Considerando-se o preço de venda da tilápia, em nível de produtor, na faixa de 2,00 Reais/kg de peixe inteiro, e uma conversão alimentar média de 2:1, os preços das rações tornam-se proibitivos.

PEREIRA *et al.* (2000), afirmam serem dignas de registro, embora com poucos resultados concretos, iniciativas realizadas no Nordeste do Brasil com cultivos experimentais de ostras, mexilhões, peixes estuarinos e algas. Afirmam ainda que, atualmente, dois segmentos da aquicultura regional vêm se destacando no cenário nacional: a carcinicultura marinha (*Litopenaeus vannamei*) e a piscicultura de água doce (*O niloticus*), mesmo que esta última possua poucos dados estatísticos.

Quando criada em tanques-rede, a tilápia do Nilo apresenta índices de desempenho muito bons. De acordo com COCHE (1982), uso de rações completas e tanques-rede de pequeno volume permitem produtividades de 10 a 70 kg de pescado/m³, em baixas densidades de estocagem (< 100 indivíduos/m³). Segundo SCHMITTOU (1997), tilápias permitem produtividades de até 250 kg/m³ e ainda, segundo LOVSHIN (1997), a produção pode chegar a 300 kg/m³ neste tipo de sistema, quando se trabalha com altas densidades de estocagem (> 300 peixes/m³). COSTA *et al.* (1997), obtiveram produtividade de 160 kg/m³/ano (200 peixes/m³) em cultivos realizados em açudes do Estado do Ceará.

1.3 - Alimentação e nutrição de peixes

A alimentação visa a obtenção de energia e o fornecimento de elementos necessários para a reposição e crescimento dos organismos, a partir de substâncias denominadas nutrientes (alimento). A divisão mais simples dos alimentos de acordo com sua estrutura física seria gasoso (oxigênio), líquido (água) e sólido. De um modo geral, o consumo de alimento sólido é uma atividade, geralmente cíclica, com períodos de ingestão (tomada do alimento), digestão (quebra dos elementos em moléculas assimiláveis pelo organismo) e descanso (NIKOLSKI, 1963; ZAVALA-CAMIN, 1996).

Os estudos da nutrição de peixes tiveram início na década de 60 com o surgimento das grandes fazendas de bagre americano (“catfish”), carpa comum e enguia. No Nordeste do Brasil, este interesse praticamente teve início em 1970 no Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), através dos programas de levantamento qualitativo-quantitativo de ingredientes para rações, produzidas na região; elaboração de rações balanceadas; testes de rações balanceadas em cultivos de peixes em gaiolas, tanques e viveiros.

O desenvolvimento e a rentabilidade do cultivo de peixes depende da incorporação de alimentos que satisfaçam suas necessidades de nutrientes essenciais, e que sejam aceitos por estes indivíduos em quantidades adequadas para assegurar-lhes um ótimo crescimento. Um bom manejo alimentício e uma dieta bem balanceada resultará em uma boa produção, bem como, fornecerá nutrientes adequados a boa sanidade dos peixes.

Os peixes necessitam de proteínas, lipídios, carboidratos, vitaminas e minerais em sua dieta para o crescimento, reprodução, regeneração dos tecidos e outras funções fisiológicas normais. A taxa metabólica (processo biológico da utilização da energia) varia com a espécie e, dentro das espécies em função do estágio de desenvolvimento, sexo, estágio reprodutivo e variações ambientais (SCHIMITTOU, 1997).

Atualmente a formulação das rações visam as exigências energéticas dos peixes. Desse modo, as fontes de energia mais visadas são as proteínas, gorduras, carboidratos e fibras. As fibras quase não são digeridas pelos peixes, merecendo atenção especial. Assim, a relação energia/proteína merece atenção prioritária quando das exigências nutritivas da espécie que se pretende criar. Salienta-se que nenhum animal é capaz de digerir e assimilar 100% da energia que ingere através dos alimentos.

Diversas fontes de ingredientes são utilizadas para elaboração de rações para peixes, entre elas, pode ser citado o farelo de soja, o milho, a farinha de carne e a farinha

de peixe, além de complexos de vitaminas e sais minerais. A qualidade protéica de um ingrediente é um dos fatores mais importantes na elaboração de uma ração nutricionalmente adequada para a alimentação de peixes, sendo necessário o conhecimento do teor de proteína bruta, bem como, a composição de aminoácidos essenciais. Dos principais ingredientes, a farinha de peixe tem sido usada como a fonte protéica mais tradicional em dietas de peixes, devido ao seu alto valor nutritivo. Entretanto, a indústria de cultivo de peixes vem contando cada vez menos com a farinha de peixe, devido ao incremento da demanda em consequência da expansão da aquicultura e decréscimo dos recursos pesqueiros, em vista da sobrepesca (YAMAMOTO *et al.*, 1994).

Muitos estudos tem sido conduzidos na utilização de proteínas de origem vegetal, especialmente de produtos da indústria alimentícia, como fontes protéicas alternativas para a farinha de peixe. Farelo de soja tem se apresentado como uma boa fonte protéica, sendo comumente incorporado em dietas de peixes comerciais (LIM & DOMINY, 1989; LOVELL, 1990; AKIYAMA, 1990). Um outro ingrediente que começa a ser utilizado, na indústria de rações como substituto da farinha de peixe, é a farinha protéica do malte, um resíduo de cervejaria com cerca de 50 % de proteína bruta. Experimentos demonstram a eficiência da farinha protéica do malte como substituto parcial da farinha de peixe em dietas de alevinos de truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (YAMAMOTO *et al.*, 1994; YAMAMOTO *et al.*, 1995; AKIYAMA *et al.*, 1995). Como a maioria dos cereais, a farinha protéica do malte apresenta-se deficiente em lisina e rica em aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína), funcionando como um complemento aminoacídico na elaboração de rações à base de farinha protéica do malte, farelo de soja e farinha de peixe (TABELA 11).

TABELA 11 - Requerimento mínimo de aminoácidos essenciais na dieta para peixes.

Aminoácidos	% Mínima na Dieta	% Proteína na Dieta
<i>Arginina</i>	2,4	6,0
<i>Histidina</i>	0,7	1,8
<i>Isoleucina</i>	0,9	2,2
<i>Leucina</i>	1,6	3,9
<i>Lisina</i>	2,0	5,0
<i>Metionina</i>	1,6	4,0
<i>Fenilalanina</i>	2,1	6,0
<i>Treonina</i>	0,9	2,2
<i>Triptofano</i>	0,2	0,5
<i>Valina</i>	1,3	3,2

Fonte: FAO/FIDI (1993)

As proteínas são os nutrientes mais importantes para a vida, crescimento e produção dos peixes, perfazendo em torno de 65 a 75% da matéria seca. Excetuando a água, as proteínas formam a maior porção do corpo dos peixes (15 a 20% de seu peso seco). As gorduras em quantidades moderadas ou pequenas e, os hidratos de carbono e fibras são praticamente ausentes nos peixes (YAMAMOTO *et al.*, 1994). Geralmente os peixes carnívoros parecem crescer melhor, quando consomem dietas com altos teores protéicos (35% da matéria seca); já os herbívoros prosperam bem com baixos níveis (\pm 20% da matéria seca). No entanto, as características biológicas de cada espécie determinam o seu nível de consumo protéico. Assim, na elaboração de uma ração balanceada para os peixes, freqüentemente é necessária a adição de pequenas quantidades de aminoácidos puros (geralmente, metionina e lisina,) (YAMAMOTO *et al.*, 1994).

Quanto aos lipídios, estes são importantes fontes de energia e os ácidos graxos são essenciais ao crescimento normal e sobrevivência dos peixes. Eles fornecem o veículo para a absorção de vitaminas lipossolúveis e outros compostos, como os esteróis. As quantidades mínimas e os tipos de gordura, para o crescimento eficiente dos peixes, ainda não são bem conhecidos. Entretanto, vários pesquisadores em nutrição de peixes recomendam quantidades de 4 a 10% da dieta. Os lipídeos são prontamente aproveitados pelos peixes na dieta (20 a 30% da quantidade na dieta), desde que provida de teores adequados de colina, metionina e tocoferol. Estudos indicam que os peixes assimilam melhor o óleo de peixes do que o óleo vegetal (YAMAMOTO *et al.*, 1994).

Já as vitaminas, são requeridas em quantidades bem pequenas, estando na dependência do tamanho, idade, velocidade de crescimento, estágio de maturação gonadal e fatores ambientais. Porém, são necessárias à saúde, vida e crescimento dos peixes. Algumas são essenciais para uma determinada espécie, mas não para outra (TABELA 12) FAO/FIDI (1993).

Os minerais são utilizados pelos peixes para formação de tecidos e vários processos metabólicos, sendo adquiridos diretamente da água pela difusão dos seus íons através das brânquias ou tegumento. No entanto, estes elementos devem constar das rações balanceadas em quantidades que, em certos casos, estão na dependência da sua maior ou menor presença na água de abastecimento das pisciculturas FAO/FIDI (1993). Dentre os minerais, como mostrado na TABELA 13, os mais requeridos são: íons carbonatos, cálcio (formação dos ossos, coagulação do sangue); fósforo (formação dos ossos e de ATP); enxofre; potássio (balanço iônico dos fluidos corporais); Iodo (tiroxina); sódio (balanço iônico); cloro (balanço iônico). Já o cobre (sistema enzimático), magnésio (formação dos

TABELA 12 - Exigências nutricionais de vitaminas, requeridas por salmões, trutas e carpas (mg/kg da dieta seca).

Vitaminas	Salmão	Truta	Carpa
<i>Tiamina</i>	10 - 15	10 - 12	2 - 3
<i>Riboflavina</i>	5 - 25	20 - 30	7 - 10
<i>Piridoxina</i>	10 - 20	10 - 15	5 - 10
<i>Pantotenato</i>	40 - 50	40 - 50	30 - 40
<i>Niacina</i>	150 - 200	120 - 150	30 - 50
<i>Ac. Fólico</i>	6 - 10	6 - 10	-
<i>B - 12</i>	0,015 - 0,020	-	-
<i>Mio - inositol</i>	300 - 400	300 - 400	200 - 300
<i>Colina</i>	600 - 800		500 - 600
<i>Biotina</i>	1 - 1,5	1 - 1,5	1 - 1,5
<i>Vit. C</i>	100 - 150	100 - 150	30 - 50
<i>Vit. A, U.I.</i>		2.200 - 2.500	1.000 - 2.000
<i>Vit. E*</i>	40 - 50	-	80 - 100
<i>Vit. D</i>		1.000	

Fonte: FAO/FIDI (1993).

* Requerimento dependente da quantidade de gordura insaturada na dieta.

TABELA 13 – Níveis de minerais recomendados para o cultivo de diversas espécies de peixes.

Elemento	mg/kg da dieta	Espécie
<i>Cálcio</i>	2.700	Tilápia do Congo
<i>Magnésio</i>	400 – 500	Carpa
	400	Tilápia do Congo
	500 – 700	Truta Arco-íris
<i>Fósforo</i>	6.000 - 7.000	Carpa
	4.500 - 8.000	Bagre
	6.000	Salmão do Atlântico
	6.800	Red sea bream
<i>Ferro</i>	7.000 - 8.000	Truta Arco-íris
	2.900	Tilápia do Congo
	150	Red sea bream
	170	Tilápia do Congo
	15 – 30	Carpa e Truta
<i>Zinco</i>		
<i>Cobre</i>	3	Carpa e Truta
<i>Magnésio</i>	12 – 13	Carpa e Truta
<i>Selênio</i>	0,07 - 0,38	Truta Arco-íris
<i>Iodo</i>	0,6 - 1,1	Salmão

Fonte: FAO/FIDI. (1993).

ossos e processo enzimáticos), ferro (constituição da hemoglobina) zinco (insulina), manganês (sistema enzimático), selênio (antioxidante); cobalto (formação da vitamina B₁₂) merecem atenção especial quando incluídos na preparação das rações, visto serem pouco difusos (FAO/FIDI (1993).

Segundo PAVANELLI *et al.*, (1998), os conhecimentos adquiridos até então, por vários autores, permitiram a determinação aproximada dos requerimentos nutricionais dos peixes cultivados de forma intensiva. No geral esses requerimentos são os seguintes:

- proteína na dieta, contendo os dez aminoácidos essenciais;
- lipídios na forma de ácidos graxos Omega - 3;
- vitaminas, a presença das consideradas essenciais, em número de 14 tipos;
- minerais, sob certas condições de alimentação, tem sido adotada uma suplementação com dez minerais considerados importantes;
- pigmentos carotenóides.

As **TABELAS 14 e 15** mostram, respectivamente, a composição de aminoácidos e a análise proximal de algumas fontes protéicas de origem vegetal (PANORAMA DA AQUICULTURA, 1995) e a composição de aminoácidos essenciais (mg/g), dos principais alimentos de origem animal, destacando o leite e o ovo, como padrões mundiais para todos os outros alimentos protéicos (FAO/FIDI, 1993).

De um modo geral, os componentes de uma ração, seja ela peletizada ou extrusada, são semelhantes, havendo, entretanto, uma adição maior na quantidade de vitaminas sensíveis ao calor quando na preparação da ração extrusada (SCHIMITTOU, 1997)

A tilápia exibe grande plasticidade em seu regime alimentar e a preferência por itens de origem vegetal, deve ser considerada quando da escolha dos ingredientes para a formulação de rações para esses indivíduos. Segundo TWIBELL & BROWN (1998), esses peixes são capazes de utilizar proporções relativamente altas de vegetais com tanta eficiência, quanto o fazem com a farinha de peixe, além de aproveitarem com muita habilidade, percentuais (40 a 50%) consideráveis de carboidratos na ração.

TABELA 14 - Composição de aminoácidos e análise proximal de algumas fontes protéicas.

% AMINOÁCIDOS	FONTES PROTÉICAS				
	FP	FPM	FGM	FS	FC
<i>Arginina</i>	5,69	5,66	2,98	7,15	6,79
<i>Histidina</i>	3,20	1,86	1,62	1,93	1,51
<i>Isoleucina</i>	3,90	4,41	4,21	4,66	3,50
<i>Leucina</i>	7,25	9,08	18,82	8,22	7,06
<i>Lisina</i>	7,41	3,51	1,94	6,28	4,62
<i>Metionina</i>	2,85	2,03	2,39	1,29	1,46
<i>Cisteína</i>	0,99	2,13	1,73	1,29	1,68
<i>Fenilalanina</i>	3,91	6,13	6,93	5,33	3,92
<i>Tirosina</i>	3,22	4,29	5,62	3,78	2,81
<i>Treonina</i>	4,70	3,99	3,44	4,09	4,07
<i>Triptofano</i>	0,93	0,63	0,40	0,49	0,68
<i>Valina</i>	4,78	5,34	4,04	4,42	5,07
<i>Alanina</i>	6,69	5,43	10,11	4,69	7,80
<i>Ac. Aspártico</i>	8,68	6,86	5,85	10,99	7,18
<i>Ac. Glutâmico</i>	14,34	25,98	27,79	22,14	14,23
<i>Glicina</i>	7,22	4,14	2,75	4,55	13,15
<i>Prolina</i>	4,46	9,88	9,47	5,17	8,12
<i>Hidroxiprolina</i>	1,43	N.D.	N.D.	N.D.	5,17
<i>Serina</i>	3,97	4,71	5,23	5,00	5,67
<i>Taurina</i>	1,62	N.D.	N.D.	N.D.	0,70
Análise Proximal (%)					
Umidade	4,70	6,00	12,10	8,70	7,50
Proteína	67,70	52,70	65,40	45,00	70,30
Gordura	10,50	11,80	3,00	1,70	12,70
Carboidratos	1,90	15,40	13,60	18,30	2,80
Energia Líquida Disponível (kcal/100 g)					
Kcal/100 g	479,00	547,00	500,00	424,00	519,00

Legenda: FP = Farinha de Peixe; FPM = Farinha Protéica de Malte.

FGM = Farinha de Glúten do milho; FS = Farelo de Soja; FC = Farinha de carne.

Fonte: PANORAMA DA AQUICULTURA (1995)

TABELA 15 - Composição de aminoácidos essenciais (mg / g), dos principais alimentos de origem animal.

Aminoácidos Essenciais	Leite	Ovo	Carne Bovina	Peixe
<i>Lisina</i>	8,1	6,8	9,3	8,8
<i>Triptofano</i>	1,6	1,9	1,1	1,0
<i>Histidina</i>	2,6	2,2	3,8	2,0
<i>Fenilalanina</i>	5,3	5,4	4,5	3,8
<i>Leucina</i>	10,2	8,4	8,2	8,4
<i>Isoleucina</i>	7,2	7,1	5,2	6,0
<i>Treonina</i>	4,4	5,5	4,2	4,6
<i>Metionina</i>	2,1	2,8	2,1	2,7
<i>Cisteína</i>	4,3	3,3	2,9	4,0
<i>Valina</i>	7,6	8,1	5,0	6,0

Fonte: FAO/FIDI (1993)

1.3.1 - Tipos de dietas

Segundo SCHIMITTOU, (1997), as dietas para peixes podem ser classificadas como a seguir.

a) Dieta Suplementar – são fornecidas aos peixes como suplemento ao alimento natural. São constituídas, geralmente, por grãos (milho, trigo etc.) e de seus subprodutos (farelos etc.), diversas frutas, vegetais e farinha (peixe, carne, sangue etc.).

b) Dieta Balanceada – surgiram com o desenvolvimento da aquicultura e visam suprirem as necessidades do peixe. Podem ser:

b-1) Dieta completa – constituída de peixe fresco, resíduos domésticos, minhocas e outros animais, fornecidos sobre as mais variadas formas (cru, congelado etc.).

b-2) Dieta farelada úmida ou granulada úmida – mistura de alimento úmido e farelo seco.

b-3) Dieta peletizada – uma das mais usadas em piscicultura, constitui-se de grânulos (péletes duros que afundam na água), caracterizam-se por permanecerem intactos na água pelo menos 10 minutos, antes da desintegração. Estas dietas são produzidas pela indústria envolvendo um processo de pré-cozimento, havendo perdas parciais de alguns compostos (vitamina C) os quais são colocados em maior quantidade durante a produção.

b-4) Dieta extrusada – são grânulos expandidos (contém bolhas de ar internamente) que flutuam na água, permitindo aos piscicultores um melhor controle da quantidade de alimento consumido.

b-5) Alimento pastoso – desenvolvido no Japão para alimentação da enguia; trata-se de uma ração balanceada contendo amido seco de batata e gelatinizado, que na hora de ser fornecida deve receber igual parte de água, agitada vigorosamente para formar uma pasta, sendo em seguida fornecida ao animal.

1.3.2 – Arraçoamento de peixes

O fornecimento da ração ou arraçoamento pode ser feito das mais diversas formas (lançamento, em comedouro automático, bandeja etc.), variando-se a quantidade conforme o estágio de vida dos animais. As taxas de alimentação variam de 1 a 10% da biomassa estocada.

No caso do confinamento extremo, como os cultivos em tanques-rede, a alimentação é toda artificial, obedecendo rigorosamente quantidades e horários previstos para aplicação do alimento. A ração pode ser na forma moída, peletizada e extrusada, oferecida manualmente a lanço ou em comedouros, bem como, mecanicamente.

O processo de lanço a mão permite verificar o apetite e o estado geral dos peixes. No caso dos comedouros, estes concentram a ração em uma área do tanque, o que pode gerar uma dominância de alguns indivíduos, no entanto, reduz-se drasticamente as perdas de ração.

Os comedouros são estruturas mecânicas, as quais podem ser adaptadas a superfície do viveiro, quando se usa ração extrusada ou ao fundo, no caso de uso da ração peletizada. Vários materiais são utilizados na confecção (bacias plásticas, canos de PVC, cordas de nylon, madeira compensada, etc.) o que proporciona os mais diversos modelos de comedouros, desde aqueles constituídos por simples anéis de contenção da ração até aqueles com sistemas automáticos utilizados em ambientes marinhos, em locais de acesso difícil ou em grandes cultivos comerciais (SCHIMITTOU, 1997). Segundo este mesmo autor, os modelos de comedouros para o fornecimento da ração ou arraçoamento são os seguintes:

a) Anéis de Contenção – utilizado em sistemas com o uso de ração extrusada, a qual é colocada dentro de anéis flutuantes, evitando as perdas pelas laterais do tanque (**FIGURA 5-a**). Tais anéis devem ser colocados no centro do viveiro.

b) Comedouros de superfície – são estruturas quadradas ou retangulares utilizadas para o uso de ração extrusada, ocupando uma área de 20% do viveiro e posicionada no centro, tendo 40 cm para baixo e 25 cm para cima do nível da água. Em grandes viveiros esses comedouros são uniformemente distribuídos, para evitar estresse pela competição no momento da alimentação (**FIGURA 5-b**).

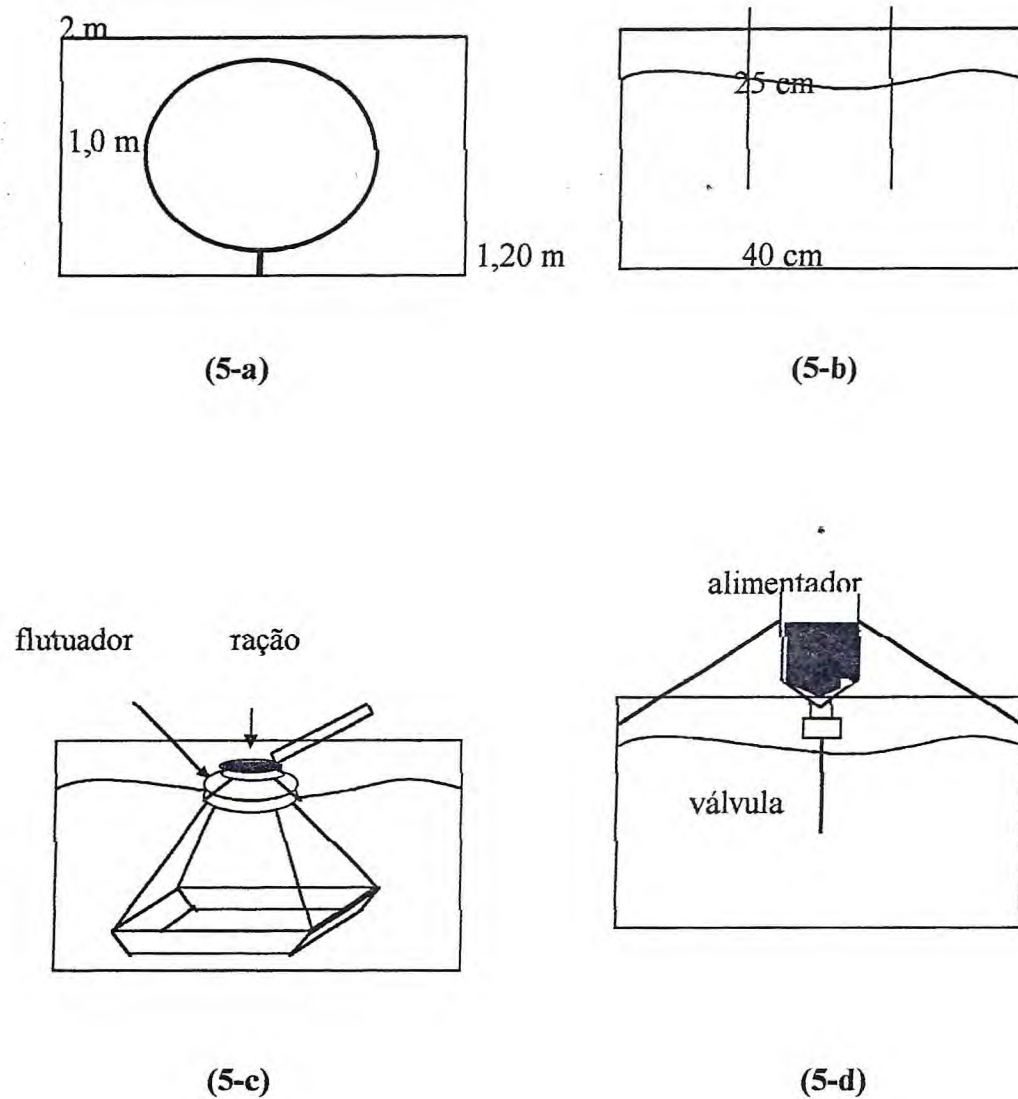


FIGURA 5 – Diversos Modelos de Comedouros utilizados nos Cultivos de Tanques-rede.
 5-a). Anéis de Contenção, 5-b) Comedouros de Superfície, 5-c) Bandeja e
 5-d) Pêndulo.

c) Comedouro de bandeja telada é colocada no fundo do viveiro sendo utilizada em sistemas que utiliza ração peletizada. A posição do comedouro na coluna d'água pode ser regulável, podendo-se adaptá-lo ao hábito alimentar da espécie cultivada (**FIGURA 5-c**). Em águas interiores os alimentadores de demanda e os de bandejas teladas são muito utilizados devido a sua praticidade.

d) Comedouro de Demanda – neste tipo de alimentador a mão-de-obra restringe-se a colocar, periodicamente, a ração no comedouro, pois o ritmo alimentar dependerá unicamente dos peixes (**FIGURA 5-d**).

SOARES *et al.* (2001) testaram a substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de canola em dietas para tilápias do Nilo, utilizando rações à base de soja, milho e farinha de peixe, com 32% de proteína bruta (PB). No início do experimento, os peixes alimentados com a ração padrão, apresentaram peso médio de 22,17 g e no final de 90 dias, 60,71 g, com um incremento de 173% , conversão alimentar aparente (CAA) de 1,79 : 1, e ganho de peso médio diário de 0,43 g/dia.

FURUYA *et al.* (2001) conduziram experimentos de alimentação de tilápias do Nilo Vr. Chitralada, visando determinar o nível ótimo de inclusão da enzima fitase, para melhor aproveitamento do fósforo fitico. Os autores utilizaram ração com 28,9% de proteína bruta (PB), à base de soja, milho, trigo e canola, como termo de comparação. Neste tratamento, os peixes apresentaram 8,88 g e 34,28 g para os pesos médios, inicial e final, respectivamente, com incremento de 286% em um período experimental de 45 dias. O Índice de Conversão Alimentar Aparente encontrado foi de 1,97 : 1, e o ganho de peso médio diário foi de 0,56 g/dia.

Analisando o trabalho de BOSCOLO *et al.* (2001), quando conduziram experimentos de arraçamento de tilápias do Nilo V. Chitralada, para testar a atratividade de diversos ingredientes de origem animal, utilizando como termo de comparação, uma ração com 32,0% de proteína bruta, à base de soja, milho e suplemento de vitaminas e minerais, relataram nos dados deste tratamento, que os peixes apresentaram 0,72g de peso médio inicial, 9,47 g de peso médio no final de 45 dias de cultivo, com conversão alimentar aparente (CAA) de 1,63 :1, e ganho de peso médio diário de 0,19 g/dia.

1.3.4 - Conversão alimentar

Este termo refere-se à quantidade de alimento ingerido que é convertido em peso vivo, satisfazendo assim às necessidades do organismo dos peixes. A conversão alimentar ideal é aquela em que, para cada quilograma de ração consumida pelo peixe, seria obtida idêntica relação em quilograma de peso vivo (1 kg de ração : 1 kg de peso vivo).

A obtenção rápida do alimento melhora a conversão alimentar, porém há que se selecionar melhor o tipo de alimento, qualidade, quantidade, consistência e forma de apresentação, bem como, a distribuição conforme a cronologia alimentar natural, pois se a quantidade do alimento a ser fornecido em um dia for ofertada em única refeição, causará diminuição na conversão alimentar (ZAVALA-CAMIN, 1996).

A conversão pode ainda sofrer influencia da variação dos parâmetros ambientais, tamanho do peixe, condições gerais do animal (quando doente converte menos), preferências alimentares da espécie e densidade de estocagem.

1.3.4 - Utilização de algas em rações para peixes

Na natureza, as algas marinhas podem estar envolvidas na cadeia alimentar de diversas espécies de peixes e outros animais. Como verificaram FRIEDLANDER *et al.* (1996), algumas espécies de peixes podem se alimentar, natural e preferencialmente, de *Gracilaria conferta*, *Ulva lactuca*, *Enteromorpha compressa*, *Cladophora pellucida* e *Ectocarpus confervoides*. Além de peixes, camarões (PEÑAFLORES & GOLEZ, 1996) e moluscos (KNAUER & SOUTHGATE, 1996) também foram alimentados com algas marinhas.

No mundo, várias espécies de algas marinhas têm sido utilizadas em engorda de peixes marinhos e de água doce (MATTY & SMITH, 1978; APPLER, 1985). Vários são os trabalhos que demonstram que pequenas quantidades de algas marinhas incorporadas em rações incrementam o crescimento, o metabolismo de lipídios, a composição protéica do músculo e, tornam os peixes mais resistentes à doenças (YONE *et al.*, 1986; SATOH *et al.*, 1987).

Alevinos conhecidos vulgarmente por “red sea bream”, *Pagrus major*, alimentados com uma dieta contendo 5% de farinha de *Ulva pertusa*, tiveram o seu crescimento

ligeiramente incrementado em relação ao grupo controle - ração convencional (NAKAGAWA & KASAHARA, 1986). Alevinos "black sea bream", *Acanthopagrus schlegeli*, alimentados com uma dieta contendo 10 % de farinha de *Ulva pertusa*, tiveram um incremento no teor de lipídios totais e de triglicerídeos, sofrendo uma redução no conteúdo de colesterol e de fosfolipídios (NAKAGAWA *et al.*, 1987).

Segundo TOLÊDO (1993), não há dúvida de que, em cultivos super-intensivos de peixes, a ração é a base essencial para a produção dos mesmos. As características físicas e químicas do alimento e as técnicas de alimentação, influenciam diretamente na eficiência da conversão do alimento em músculo, pelos peixes e conseqüentemente em seu desenvolvimento (ganho de peso e crescimento).

MUSTAFA *et al.* (1995) utilizaram três espécies de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*, *Porphyra yezoensis* e *Ulva pertusa*) como ingredientes para formulação de ração para o peixe "red sea bream", *Pagrus major*. Em relação ao grupo controle, todas as rações contendo algas marinhas proporcionaram um maior crescimento para o este peixe.

As microalgas também, têm sido importantes na alimentação de peixes. A microalga *Spirulina máxima*, utilizada na dieta humana, tem sido incorporada em dietas para truta, *Oncorhynchus mykiss*, incrementando o crescimento (MATTY & SMITH, 1978), enquanto que a microalga *Haematococcus pluvialis* é importante no incremento de pigmentos no músculo do peixe, principalmente os carotenóides (SOMMER *et al.*, 1992).

O Nordeste do Brasil apresenta uma enorme diversidade de algas marinhas, em quantidades consideráveis, para serem aproveitadas industrialmente no setor de Engenharia de Pesca, porém, apenas duas espécies do gênero *Gracilaria*, são exploradas comercialmente para a produção de "ágar ágar", restando centenas de espécies subexploradas.

2 - OBJETIVOS

2.1 – Objetivos gerais

Aumentar a eficiência metabólica dos animais tratados, com a conseqüente melhoria da conversão alimentar, diminuição do tempo de cultivo e redução nos custos de produção, estimulando a atividade e proporcionando um aumento significativo na produtividade aquícola de nossos reservatórios.

2.2 – Objetivos específicos

Ajustar as características físicas, químicas e bioquímicas dos ingredientes (soja, milho, algas marinhas e suplemento de vitaminas e minerais), aos reais requerimentos dos peixes.

Proceder ao balanceamento adequado dessas algas marinhas, com o propósito de melhorar os ganhos de peso e comprimento, e alteração do “flavor” dos indivíduos alimentados com tais rações, haja vista a presença de fatores de crescimento desconhecidos e compostos aromáticos, como os bromofenóis, que conferem odor e sabor aos animais marinhos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Espécie de peixe utilizada

No desenvolvimento desta pesquisa, foram estudados machos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagem Chitralada, oriundos da Tailândia, revertidos sexualmente, os quais foram produzidos na Estação de Piscicultura Rudolpho von Ihering, do DNOCS, em Pentecoste – Ceará.

A pesquisa desenvolveu-se no período de 16 de junho à 16 de agosto de 2000, para os Tratamentos A e B, de, de 28 de novembro à 28 de dezembro de 2000, para as rações do Tratamento C e, de 28 de agosto à 28 de setembro de 2001 para o Tratamento D..

Os alevinos foram transferidos dos viveiros de alevinagem para os tanques circulares de cimento armado, dentro da própria Estação de Piscicultura, ou seja, sem o estresse que ocorreria, se os mesmos fossem transportados da Estação para uma outra localidade distante.

O manejo adequado foi rigorosamente observado, não só nas medições do início da pesquisa, como também, durante todo o período de cultivo. Estes cuidados foram imprescindíveis para que o cultivo se desenvolvesse sem problemas para com os animais e, conseqüentemente, maior rentabilidade nos resultados de ganho de peso e comprimento.

Os períodos de cultivos dos diversos Tratamentos deste trabalho, variaram de acordo com a finalidade de cada Tratamento, como a seguir: Os Tratamentos A e B, cujos objetivos estavam relacionados aos ganhos de peso e comprimento, como também, alterações no “flavor” da carne dos indivíduos tratados, o período de cultivo foi de 60 dias, com medições totais quinzenais. Nestes Tratamentos, os peixes iniciaram com peso médio em torno de 3,0 g e comprimento médio em torno de 5,0 cm e a densidade de estocagem foi de 5 peixes/m². Nos Tratamentos C e D, cujos objetivos estavam relacionados (especificamente), às alterações do “flavor” da carne dos animais tratados, os períodos respectivos foram de 30 dias pra cada um, com medições totais no início e no final de cada cultivo.

3.2. Estudo do crescimento dos peixes

A pesquisa foi desenvolvida em tanques circulares de cimento, com capacidade para 1000 litros de água, com área aproximada de 2m², localizados na Estação de Piscicultura Dr Rodolpho von Ilhering – DNOCS, em Pentecoste – Ceará, distante 110 km de Fortaleza-Ce.

Para a estocagem foram colocados 10 exemplares de tilapia,, em cada tanque e, para cada tratamento foram utilizados três tanques, constituindo três repetições. Os indivíduos foram estocados na densidade de 5 peixes/m², ou seja, 50.000 peixes / hectare, (FIGURAS 6, 7 e 8).

Na estocagem, todos os indivíduos foram medidos biometricamente em peso (g) e comprimento (cm), utilizando-se uma balança digital com capacidade máxima de 2 kg e ictiômetro com escala em centímetros e divisão milimétrica, (FIGURAS 9 e 10).

Os peixes foram alimentados diariamente, com a dieta sendo oferecida sempre no mesmo horário (09 horas) e a taxa de alimentação com base em 5 % da biomassa dos peixes/dia, durante todo o período de cultivo.

No caso específico das dietas do Tratamento D, antes de serem lançadas nas águas dos tanques, era preparado um triturado das algas deste tratamento, onde o peso em alga, correspondia a 10 % do peso da refeição, de cada uma das respectivas dietas. Desta forma, após liquidificar essa quantidade de alga, os triturados serviam para umedecer suas respectivas rações, formando um bolo alimentar com boa agregação das partículas dos ingredientes.

Os peixes dos tratamentos A e B foram medidos e pesados quinzenalmente, para correção da taxa de alimentação em função da nova biomassa. Neste caso, a pesquisa se desenvolveu em torno dos objetivos de ganho de peso e comprimento, como também, para verificação das alterações no ‘FLAVOR’ desses animais . O período de cultivo teve a duração de 60 dias.

Nos tratamentos C e D, os parâmetros biométricos foram também observados, porém, os objetivos específicos destes tratamentos, enfatizaram as alterações no “FLAVOR” dos animais tratados. O período de cultivo nesses dois tratamentos foi de 30 dias corridos, para cada um deles.

Ao final do trabalho, procedeu-se a despesca para a contagem dos peixes e obtenção do peso e comprimento médios. Posteriormente, foram feitos os cálculos da biomassa média, ganho de peso total (peso final - peso inicial) e diário (ganho de peso

total/dias de cultivo), conversão alimentar (consumo de ração/ganho de peso total), mortalidade (n.º de peixes na última despesca / n.º de peixes estocados), produtividade em kg/m²/tempo de cultivo, nos tratamentos A e B.

Os peixes dos tratamentos C e D, além de algumas avaliações biométricas foram submetidos a testes sensoriais, com vistas às alterações ocorridas (ou não), no “FLAVOR” desses animais.

O ganho de peso médio diário (MDWG, g/dia) foi calculado a partir de $MDWG = (W_f - W_i)/t$, (RICKER, 1975).

O consumo de ração durante um intervalo de amostragem foi expresso como o total de ração ofertada e acumulada em cada intervalo amostral, sendo que, o consumo para a duração do presente experimento, correspondeu a soma dos consumos de todos os intervalos de amostragens (WATANABE *et al.*, 1990).

3.2.1. Ingredientes utilizados nas rações

Os ingredientes utilizados neste estudo, foram escolhidos dentre aqueles que já fazem parte de rações vendidas comercialmente para peixes, como: o farelo de soja, milho e um suplemento de vitaminas e minerais. Estes alimentos são utilizados, principalmente, pelo baixo custo, disponibilidade no mercado e pela qualidade, fatores essenciais, para o bom desenvolvimento de um projeto de piscicultura.

Os ingredientes selecionados foram transformados em farinha, mediante secagem em estufa a 65 °C, por um período de 24 a 48 horas e, posteriormente, triturados, armazenados em sacos plásticos e estocados em temperatura de refrigeração (+ 5°C), para posterior utilização.

As algas marinhas, embora não sejam comercializadas normalmente como ingredientes para a alimentação de peixes, foram utilizadas por possuírem fatores de crescimento (desconhecidos) e por serem responsáveis por grande parte do “flavor” dos animais marinhos.

As algas marinhas, em número de cinco (05) espécies, três vermelhas e duas verdes foram coletadas como descrito no CAPÍTULO I.

Os exemplares coletados foram transportados para laboratório em recipientes isotérmicos. Após lavagem com água corrente e remoção de epífitas, o material foi estocado em sacos plásticos a -20 °C para posterior utilização.

Das várias espécies de algas encontradas no litoral cearense foram selecionadas dentre *Chlorophyceae* e *Rhodophyceae*, principalmente, aquelas que apresentavam maior abundância e odor que indicasse a presença de bromofenóis. (Indicação feita em comparação com o odor de uma pequena quantidade de iodofórmio – substância adquirida em uma farmácia de Fortaleza – Ceará).

As espécies escolhidas foram as seguintes:

Gracilaria caudata

- *Gracilaria cornea*
- *Ulva fasciata*
- *Ulva lactuca*
- *Vidalia obtusiloba*

3.2.2 – Testes de arraçoamento de peixes

3.2.2.1 – Delineamento dos tratamentos

Para os testes de arraçoamento de peixes, foi delineado um experimento de cultivo de tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus* V. Chitralada, constituído por cinco Tratamentos. Os Tratamentos A e B visavam o ganho de peso e comprimento dos animais cultivados e possíveis alterações no “flavor”. Nestes Tratamentos, os peixes utilizados tinham em média 3,0 g de peso e 5,7 cm de comprimento (alevinos).

Nos Tratamentos C e D, os peixes foram alimentados, basicamente, visando somente as alterações no “flavor” desses animais, embora os parâmetros biométricos, também tenham sido analisados. Portanto, para que tivessemos filés maiores e bem definidos, para serem usados nas análises sensoriais, os peixes selecionados encontravam-se na fase juvenil, apresentando peso médio inicial de 50,08 g e comprimento médio de 13,10 cm para o Tratamento C e, peso médio inicial de 119,3 g e comprimento médio de 13,74 cm para o Tratamento D.

3.2.2.1.1 - Tratamento A:

Constou da elaboração de três rações, tendo por base a ração utilizada como termo de comparação, onde se fez a inclusão de uma espécie de alga marinha, para compor cada uma delas, variando o percentual em 5, 10 e 15 % respectivamente. Portanto, neste tratamento foram elaboradas as seguintes rações:

Ração A – 1 - com inclusão de 5 % de farinha da alga *Gracilaria cornea*;

Ração A – 2 - com inclusão de 10 % de farinha da alga *Gracilaria cornea*; e

Ração A – 3 - com inclusão de 15 % de farinha da alga *Gracilaria cornea*.

3.2.2.1.2 - Tratamento B:

A elaboração das três rações deste tratamento, também teve por base a ração utilizada como termo de comparação, onde se fez a inclusão de uma segunda espécie de alga marinha, para compor cada uma delas, variando o percentual de inclusão em em 5, 10 e 15 %. Portanto, neste tratamento, igualmente, constaram as seguintes rações:

Ração B – 1 - com inclusão de 5 % de farinha da alga *Gracilaria caudata*;

Ração B – 2 - com inclusão de 10 % de farinha da alga *Gracilaria caudata*; e

Ração B – 3 - com inclusão de 15 % de farinha da alga *Gracilaria caudata*.

3.2.2.1.3 - Tratamento C:

Neste tratamento foram elaboradas três rações, com base na ração utilizada como termo de comparação, onde se fez a inclusão de uma solução de bromofenol (composto químico responsável pelo odor e sabor de animais marinhos), para compor cada uma delas, variando a concentração da solução em 135, 270 e 405 mg de bromofenol por kg de ração elaborada. Neste tratamento, constaram as seguintes rações:

Ração C – 1 - com inclusão de 135 mg de bromofenol.kg⁻¹ de ração elaborada;

Ração C – 2 - com inclusão de 270 mg de bromofenol.kg⁻¹ de ração elaborada; e

Ração C – 3 - com inclusão de 405 mg de bromofenol.kg⁻¹ de ração elaborada;

Obs: Os valores atribuídos para as concentrações do bromofenol nas soluções elaboradas, estão relacionados com o valor da DL₅₀ para este composto químico, que é de 270 mg / kg

de camundongo injetado. Neste caso optou-se pelo uso de 50 % da DL_{50} , na concentração da solução da primeira ração, 100 % na segunda e 150 % na terceira.

3.2.3.1.4 - Tratamento D:

Da mesma forma que os tratamentos anteriores, o tratamento D, também constou da elaboração de três rações, tendo por base a ração utilizada como termo de comparação, porém, em cada ração, foi feita a inclusão de uma espécie distinta de alga marinha. As algas foram introduzidas em suas respectivas rações, por ocasião da colocação diária, das refeições nos diversos tanques de cultivos dos peixes. Neste momento, a alga era triturada em liquidificador (com um pouco de água), na proporção de 10% de alga para cada quilograma de ração e o homogenado, imediatamente umedecia a refeição, formando um bolo, sendo em seguida lançada aos peixes, de seu respectivo Tratamento. Este procedimento foi adotado para evitar a volatilização dos bromofenóis presentes nos extratos aquosos de algas. A recomendação para o uso de algas na alimentação de peixes é que se use em torno de 5% na dieta. O percentual de 10% adotado, justifica-se pelo fato de que, prioritariamente levou-se em consideração as alterações no “flavor” em função da presença de bromofenóis nas algas estudadas e, certamente, 10% proporcionará maior quantidade desses compostos nas rações. Portanto, neste tratamento, constaram as seguintes rações:

Ração D – 1 - com inclusão de 10 % da alga *Ulva fasciata*;

Ração D – 2 - com inclusão de 10 % da alga *Ulva lactuca*; e

Ração D – 3 - com inclusão de 10 % da alga *Vidalia obtusiloba*.

3.2.2.1.5 – Tratamento Padrão.

Este tratamento constou de uma ração à base de soja, milho e suplemento de vitaminas e minerais, formulada pelo Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará – UFC e que serviu como base para as formulações de todas as rações que receberam inclusões de algas marinhas, como também, foi utilizada como termo de comparação para analisar os diversos resultados dos testes de arraçoamentos.

3.2.3 – Formulações das rações.

Após o conhecimento da composição química elementar, composição do suplemento de vitaminas e minerais e análise de aminoácidos dos ingredientes de origem vegetal foram elaboradas as diversas rações (num total de 13 formulações) através do Método do Quadrado de Pearson, citado por ISLABÃO (1985).

As rações elaboradas foram, então, utilizadas no arraçoamento de tilapias do Nilo, cultivadas em tanques circulares de cimento, para verificação de suas eficiências alimentares. A formulação de cada ração foi calculada, levando-se em conta, os parâmetros das composições químicas percentuais (proteína, gordura, umidade, fibra, cinza e carboidrato) de cada um dos ingredientes.

A formulação da ração termo de comparação foi calculada pela divisão de avicultura do Departamento de Zootecnia da UFC, onde a mesma é utilizada para engorda de aves (frango de corte), e consta, basicamente, de farelo de soja desengordurado, milho triturado e um suplemento de vitaminas e minerais.

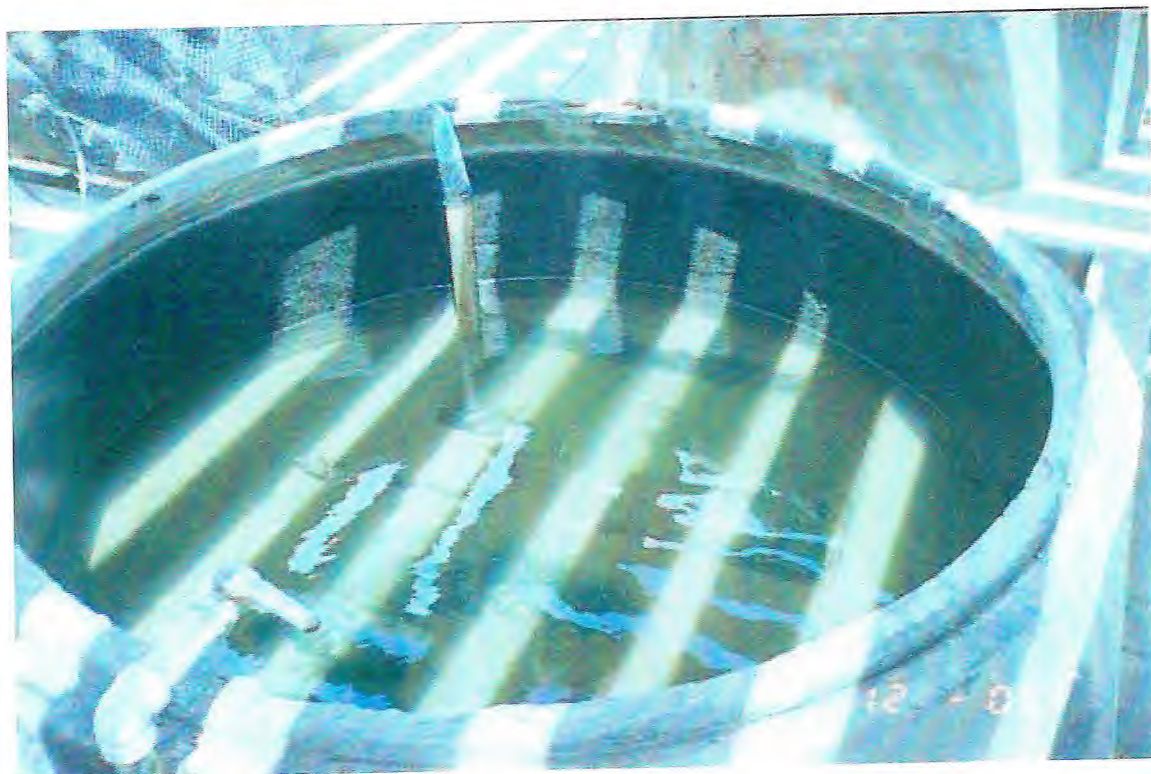


FIGURA 6 – Tanque circular de cimento armado, esvaziado para limpeza, no início do cultivo de tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”.

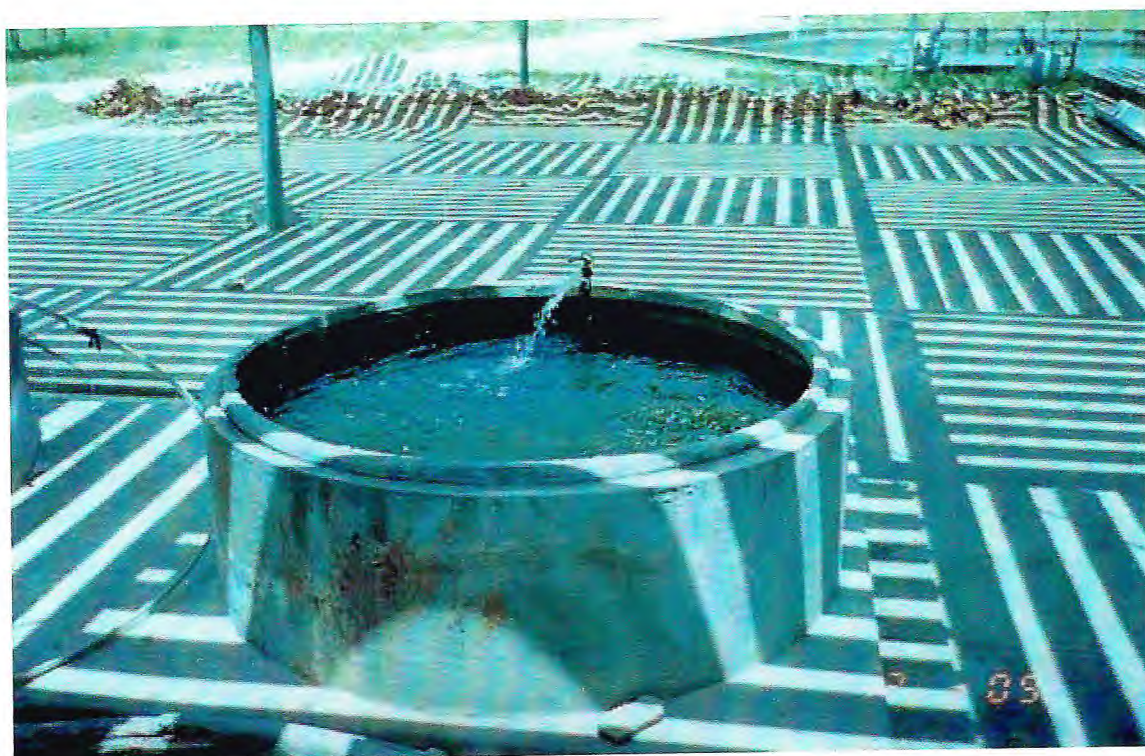


FIGURA 7 – Tanque circular de cimento armado, em seu nível máximo de repleção, onde se visualiza o sistema de enchimento e circulação permanente de água.



FIGURA 8 – Bateria de tanques circulares de cimento armado, utilizados nos tratamentos (com 3 repetições para cada ração), do cultivo de tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”.



FIGURA 9 – Balança mecânica e Ictiômetro utilizados para as medições dos pesos e comprimentos das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”.



FIGURA 10 –Ictiômetro usado nas medições dos comprimentos das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”.

3.2.4 – Análises biométricas

As medições morfológicas e anatômicas foram realizadas através de amostragens de 100 % dos exemplares de cada tratamento, utilizando-se Ictiômetro, para a medições de comprimento e balança mecânica, para o peso (FIGURAS 8 e 9), dentro do período estipulado para cada um deles.

3.2.5 – Análises estatísticas

Os valores médios de crescimento e ganho de peso, obtidos por ocasião das amostragens quinzenais, dos tratamentos A e B dos testes de arraçoamento de tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, *vr Chitralada* foram submetidos a análise estatística e o teste F (Análise de Variância) foi aplicado, para detectar ou não, diferenças significativas entre as rações de mesmo grupo (rações A-1, A-2, A-3 e B-1, B-2, B-3) e entre a ração de menor rendimento aparente (A-3 e B-3) de cada um dos dois grupos, relacionando-as com a ração usada como termo de comparação (padrão), SNEDECOR & COCHRAN (1967).

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Testes de arraçamento de peixes

4.1.1 – Formulações das rações

Nas diversas formulações das dietas (TABELA 16), observa-se pequenas variações entre os valores protéicos de cada uma delas, que giraram em torno de 27,0% de proteína bruta, podendo-se considerá-las isoprotéicas, com exceção das dietas do Tratamento D, em virtude do uso de 10% de alga “in natura”, cujo percentual elevado de umidade, diminui os valores de todos os outros elementos. Da mesma forma, os valores para Energia Líquida Disponível (kcal/kg), apresentaram o mesmo comportamento, para a maioria das dietas, ou seja, valores em torno de 1.900,0 kcal/kg, podendo-se considerá-las isocalóricas, com exceção do Tratamento D, pelos motivos anteriormente citados.

Todos os outros elementos químicos (fibras, carboidratos, gordura, umidade e cinzas), componentes das dietas, apresentaram valores dentro dos padrões de requerimentos para a espécie em estudo. A relação cálcio e fósforo, cuja proporção ideal é de 2:1 mostrou-se perfeitamente balanceada. O cálcio apresentou sempre, valores em torno do dobro dos valores do fósforo, dentro de uma faixa aceitável com relação ao recomendado pela literatura, significando boa participação destes compostos químicos, na formação óssea dos animais cultivados. Este fato foi observado no ganho de crescimento dos animais tratados com as citadas rações.

TABELA 16 - Composição das dietas experimentais utilizadas no arraçamento de tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus* Vr. "Chitralada".

Ingredientes	DIETAS												PADRÃO
	A-1	A-2	A-3	B-1	B-2	B-3	C-1	C-2	C-3	D-1	D-2	D-3	
Farelo de Soja %	51,95	51,95	51,95	50,60	50,60	50,60	51,09	51,09	51,09	46,09	46,09	46,09	51,09
Milho Triturado %	39,90	34,90	29,90	41,25	36,25	31,25	45,76	45,76	45,76	40,76	40,76	45,76	45,76
<i>Gracilaria cornea</i> %	5,00	10,00	15,00										
<i>Gracilaria caudata</i> %				5,00	10,00	15,00							
Solução Bromofenol - mg/kg							135,00	270,00	405,00				
<i>Ulva fasciata</i> %										10,00			
<i>Ulva Lactuca</i> %											10,00		
<i>Vidalia obtusiloba</i> %												10,00	
Nutren* %	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Sal %	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição Calculada:													
Proteína Bruta %	27,57	27,36	27,15	27,58	27,91	28,21	27,45	27,45	27,45	24,89	25,29	28,44	27,45
Gordura %	2,27	2,14	1,99	2,31	2,14	1,98	2,46	2,46	2,46	2,20	2,26	2,82	2,46
Carboidrato %	45,86	45,47	45,07	46,65	46,52	46,38	46,63	46,63	46,63	42,51	45,75	53,17	46,63
Umidade %	9,90	9,89	9,88	9,66	9,36	9,05	9,96	9,96	9,96	8,91	9,99	10,18	9,96
Fibra %	5,07	5,24	5,41	5,00	5,18	5,35	4,86	4,86	4,86	4,42	4,81	5,44	4,86
Cinza %	6,17	6,76	7,35	5,61	5,73	5,84	5,53	5,53	5,53	5,03	5,36	6,83	5,53
Cálcio %	1,132	1,130	1,139	0,764	0,783	0,801	0,748	0,748	0,748	0,731	0,731	0,755	0,743
Fósforo %	0,442	0,458	0,464	0,329	0,355	0,381	0,313	0,313	0,313	0,301	0,301	0,311	0,317
ELD** (kcal/kg)	1.964,50	1.938,39	1.912,28	1.979,49	1.976,10	1.972,71	1.985,68	1.985,68	1.985,68	1.802,14	1.906,54	2.156,98	1.985,68

* NUTRON = Suplemento de Vitaminas e Minerais.

** ELD = Energia Líquida Disponível.

4.1.2 – Estudo do crescimento dos peixes

4.1.2.1 – Crescimento em comprimento

As rações formuladas apresentaram rendimentos satisfatórios sob o ponto de vista de ganho de comprimento.

Analisando a **TABELA 17** e **FIGURA 10**, observa-se que no tratamento A, os peixes alimentados com rações A-1, A-2 e A-3, apresentaram, no início do experimento, comprimentos médios de 5,67, 5,93 e 5,17 cm, e no final de 60 dias, 12,57, 13,17 e 11,67 cm, com incremento percentual médio de 123%. Neste tratamento, a dieta A-3, apresentou o melhor incremento para o ganho de comprimento (125,7%).

Verificando o rendimento da ração utilizada como padrão, pode-se observar a semelhança dos resultados desta, com os obtidos pelas rações do tratamento A, já que no início do experimento, o comprimento médio dos peixes alimentados com a ração padrão foi de 6,20 cm e no final de 60 dias, 12,83 cm, com incremento de 107%, um pouco abaixo do percentual médio obtido pelas rações do tratamento A.

Observando o desenvolvimento dos peixes alimentados com as rações A-1, A-2 e A-3, verifica-se que os resultados alcançados por eles são praticamente iguais e que, sob o ponto de vista estatístico, a análise de variância mostrou que não existem diferenças significativas ($p < 0,05$), nem entre as médias de comprimentos obtidas pelos peixes alimentados com rações do tratamento A, nem entre estas, e as médias dos peixes alimentados com ração padrão, (**VER ITEM 4.1.7**)

Os peixes alimentados com dietas do tratamento B (rações B-1, B-2 e B-3) (**TABELA 17** e **FIGURA 11**), também apresentaram um comportamento semelhante, quando comparados com os resultados dos peixes alimentados com dietas do tratamento A e Padrão. No início, os comprimentos médios foram de 5,67, 5,03 e 6,53 cm, chegando ao final de 60 dias com 12,23, 11,67 e 11,63 cm, apresentando um incremento percentual médio de 108 %, quase igual ao incremento apresentado pelos peixes alimentados com a dieta do tratamento Padrão (107%).

Analisando o menor desempenho dos peixes alimentados com ração B-3, pode-se observar uma diferença aparente destes em relação aos outros peixes alimentados com as dietas B-1, B-2, todas as dietas do tratamento A e a dieta padrão. Neste tratamento (B-3),

TABELA 17 - Ganhos de comprimentos médios, das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. "Chitralada", alimentadas com dietas dos tratamentos "A e B", contendo 5, 10 e 15 % de inclusão das algas marinhas *Gracilaria cornea* e *Gracilaria caudata*, respectivamente, tendo como termo de comparação uma dieta utilizada comercialmente para engorda de galináceos, por período de 60 dias.

Trata- Mentos	C*. Médio Inicial (cm)	C*. Médio 15 dias (cm)	C*. Médio 30 dias (cm)	C*. Médio 45 dias (cm)	C*. Médio 60 dias (cm)	GTCM (CMF-CMI) ¹ (cm)
Padrão	6,20	8,10	9,50	11,70	12,83	6,63
A - 1	5,67	7,66	9,23	11,23	12,57	6,90
A - 2	5,93	8,23	10,06	11,75	13,17	7,24
A - 3	5,17	7,26	9,20	10,76	11,67	6,50
B - 1	5,67	7,56	9,00	11,00	12,23	6,56
B - 2	5,03	7,06	9,10	10,33	11,67	6,64
B - 3	6,53	6,93	8,73	10,26	11,63	5,10

1 - Ganho Total de Comprimento Médio (GTCM) = (CMF-CMI) = Comprimento médio final - Comprimento médio inicial.

* C* = Comprimento

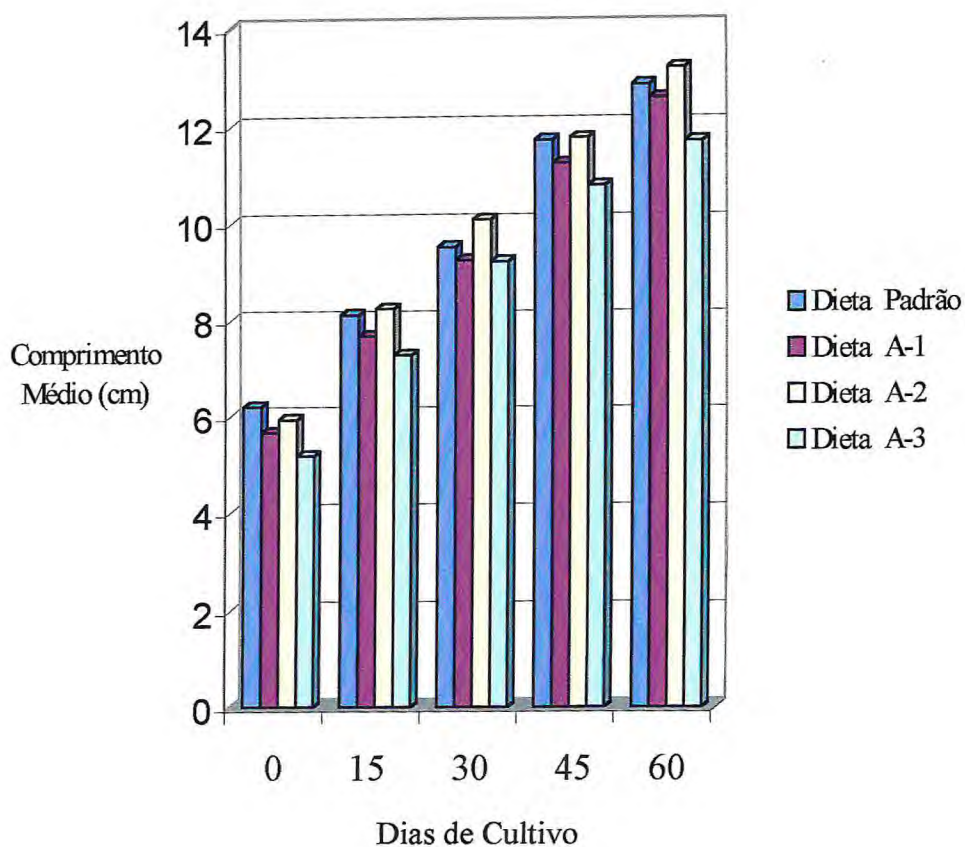


FIGURA 11 – Comprimentos médios das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus* Vr. “Chitralada”, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento A (dietas A-1, A-2 e A-3), por período de 60 dias.

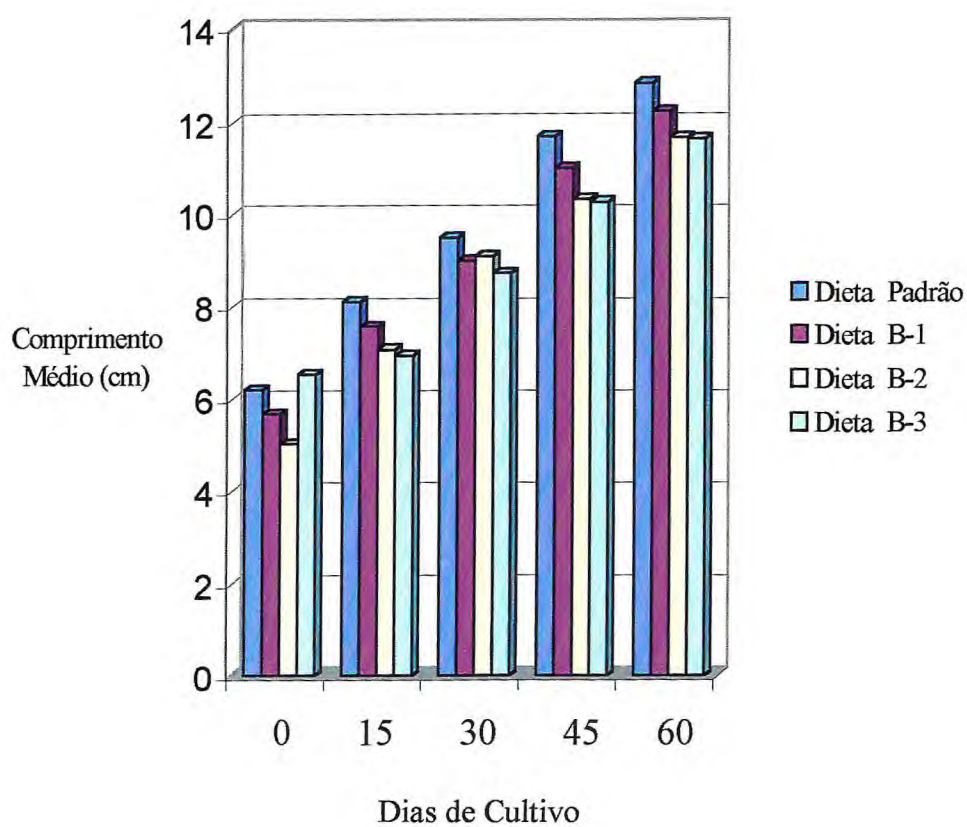


FIGURA 12 - Comprimentos médios das tilapias do Nilo (*Oreochromis niloticus* Vr. “Chitralada”, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento B (B-1, B-2 e B-3), por período de 60 dias.

pode-se observar um ligeiro decréscimo no ganho de comprimento à medida em que se aumentava o percentual de inclusão de farinha da alga *G. caudata* (5, 10 e 15%), nas rações. A taxa de incremento de ganho de comprimento destes peixes foi somente de 78%, porém, sob a ótica da estatística, a análise de variância destes dados em relação às dietas citadas, não apresentaram diferenças significativas entre eles ($p < 0,05$), (VER ITEM 4.1.7).

O tratamento C (dietas C-1, C-2 e C-3), TABELA 18 e FIGURA 12, foi delineado basicamente, com o propósito de promover alterações no “flavor” dos animais tratados com essas dietas, contendo inclusões de soluções de bromofenol, porém, os parâmetros biométricos, também foram observados. Com relação ao ganho de comprimento médio dos peixes desse tratamento, pode-se constatar que, na montagem do experimento, os mesmos mediam 13,97, 13,25 e 12,17 cm e, no final de 30 dias, 17,47, 17,43 e 17,16 cm, respectivamente para as dietas C-1, C-2 e C-3.

A taxa de incremento nesse tratamento ficou em torno de 32%, percentual mais baixo, em virtude da fase de vida em que se encontravam esses animais – juvenil para adulto. A ração C-1 apresentou o menor incremento de 25,1% e a ração C-3, o maior, com 41%.

Paralelamente ao tratamento C, foi montado o tratamento padrão (TABELA 18), constando da mesma dieta básica utilizada nas rações do tratamento C, porém sem a adição da solução de bromofenol. Os comprimentos médios dos indivíduos alimentados com essa ração foram os seguintes: inicial, 13,57 cm e final, 17,33 cm, com incremento percentual de 27%, um pouco menor que a média (32%) das rações do tratamento C.

O tratamento D (dietas D-1, D-2 e D-3), tal qual o tratamento C, também foi delineado visando a obtenção de alterações no “flavor” dos peixes alimentados com essas dietas, contendo inclusões de extratos elaborados a partir da trituração da alga “in natura”. No início do cultivo, os peixes mediram 14,02, 13,30 e 13,90 cm e, no final de 30 dias, 18,50, 17,10 e 17,85 cm, respectivamente para as dietas D-1 (com inclusão da alga *Ulva fasciata*), D-2 (com inclusão da alga *Ulva lactuca*) e D-3 (com inclusão da alga *Vidalia obtusiloba*). A taxa de incremento no crescimento desses animais foi em média 29%, com a dieta D-1 apresentando 31,9% e a D-3, 28,4%, (TABELA 19 e FIGURA 13).

O tratamento padrão apresentou valores médios para o comprimento dos peixes alimentados com esta ração, semelhantes aos dos peixes alimentados com as demais rações do tratamento D. No início mediram 14,90 cm e no final, 19,10 cm, com incremento de 28% no ganho de comprimento.

TABELA 18 - Ganhos de peso, biomassa e comprimento médios das tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr “Chitralada”, alimentadas com dieta para engorda de galináceos, constituindo o Tratamento C (dietas C- 1, C - 2 e C - 3), com inclusão de 135, 270 e 405 mg de bromofenol. Kg⁻¹ da ração, respectivamente, tendo como termo de comparação, a mesma dieta para galináceos, sem a inclusão do bromofenol, cultivadas por período de 30 dias.

TRATAMENTOS	Peso Médio Inicial (g)	Peso Médio 30 dias (g)	GTPM (PMF-PMI) ¹ (g)	Biomassa Média Inicial (g)	Biomassa Média 30 dias (g)	GTPC (BMF – BMI) ² (g)	C. Médio ³ Inicial (cm)	C. Médio ³ 30 dias (cm)	GCM (CMF-CMI) ⁴ (cm)
Padrão	51,65	108,80	57,15	516,50	1.088,00	571,50	13,57	17,33	3,76
C – 1 (135 mg BF)	51,68	110,92	59,24	516,83	1.072,51	555,68	13,97	17,47	3,50
C – 2 (270 mg BF)	49,73	111,56	61,82	497,33	1.078,17	580,84	13,25	17,43	4,18
C – 3 (405 mg BF)	48,83	103,45	54,62	488,33	1.001,67	513,34	12,17	17,16	4,99

1 Ganho Total de Peso Médio (GTPM) = (PMF – PMI)¹ = Peso médio final - peso médio inicial.

2 Ganho Total de Peso Corporal (GTPC) = (BMF – BMI)² = Biomassa média final - Biomassa média inicial).

3 C. Médio = Comprimento Médio.

4 Ganho de Comprimento M(CMF-CMI)⁴ = Comprimento médio final - Comprimento médio inicial.

TABELA 19 - Ganhos de peso, biomassa e comprimento médios das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr “Chitralada”, submetidas ao Tratamento D (dietas D-1, D-2 e D-3), com inclusão das algas marinhas *Ulva fasciata*, *Ulva lactuca* e *Vidlia obtusiloba*, na proporção de 10% de alga.kg^{-1} da ração, respectivamente, tendo como termo de comparação, a mesma dieta para galináceos, por período de 30 dias.

TRATAMENTOS	Peso Médio Inicial (g)	Peso Médio 30 dias (g)	GTPM (PMF-PMI) ¹ (g)	Biomassa Média Inicial (g)	Biomassa Média 30 dias (g)	GTPC (BMF – BMI) ² (g)	C. Médio ³ Inicial (cm)	C. Médio ³ 30 dias (cm)	GCM (CMF-CMI) ⁴ (cm)
Padrão	140,60	251,20	110,60	703,00	1.256,00	553,00	14,90	19,10	4,20
D – 1 (<i>U. fasciata</i>)	136,00	236,60	100,60	640,00	1.183,00	543,00	14,02	18,50	4,48
D – 2 (<i>U. lactuca</i>)	105,33	220,80	115,47	526,65	1.104,20	577,55	13,30	17,10	3,80
D - 3 (<i>V. obtusiloba</i>)	116,50	225,30	108,80	582,50	1.126,50	544,00	13,90	17,85	3,95

1 Ganho Total de Peso Médio (GTPM) = (PMF – PMI) = Peso médio final - peso médio inicial.

2 Ganho Total de Peso Corporal (GTPC) = (BMF – BMI) = Biomassa média final - Biomassa média inicial).

3 C. Médio = Comprimento Médio

4 Ganho de Comprimento Médio (GCM) = (CMF-CMI) = Comprimento médio final - Comprimento médio inicial.

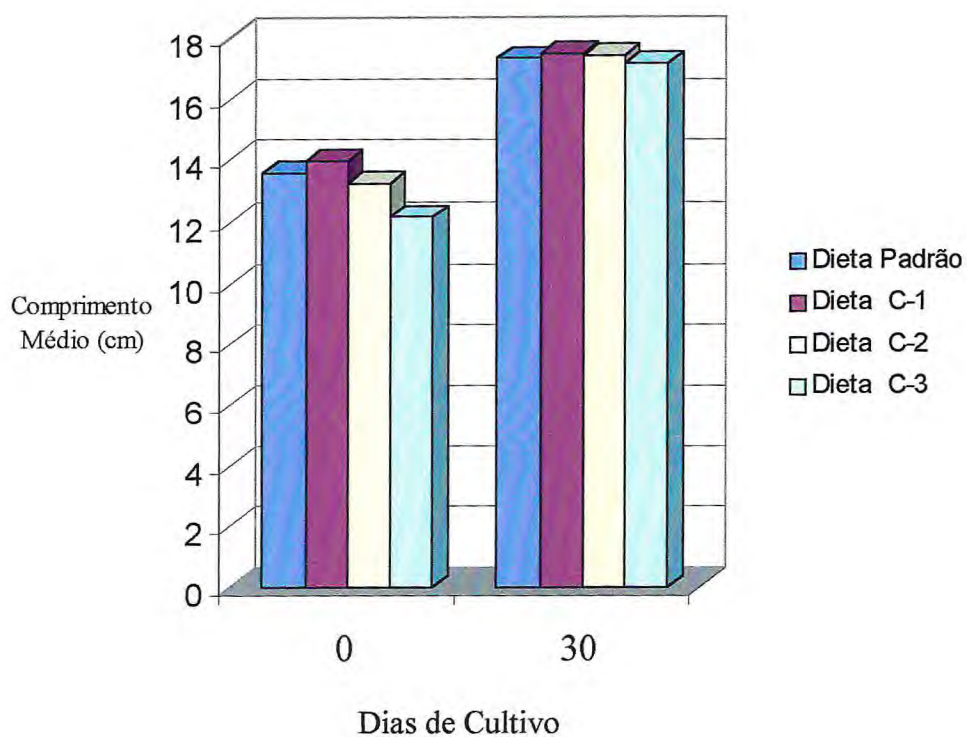


FIGURA - 13 - Comprimentos médios das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dieta Padrão e com dietas do Tratamento C (C-1, C-2 e C-3), por período de 30 dias.

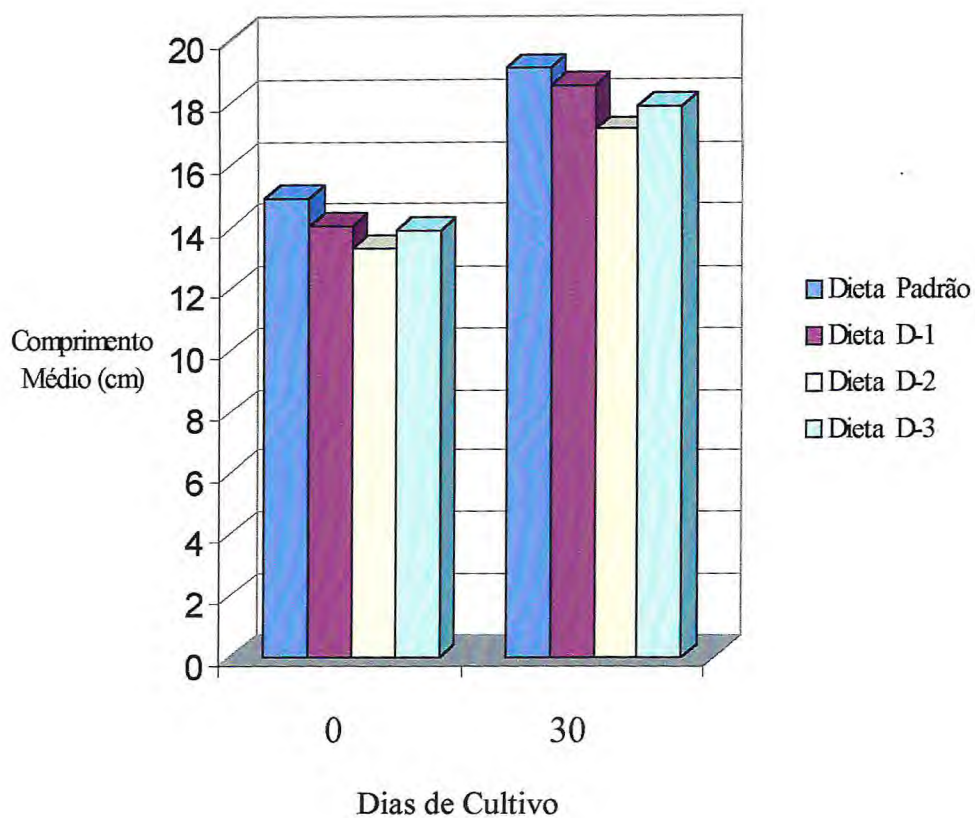


FIGURA - 14 - Comprimentos médios das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento D (D-1, D-2 e D-3), por período de 30 dias.

4.1.2.2 – Crescimento em peso

4.1.2.2.1 – Ganho de peso médio

O desenvolvimento dos indivíduos arraçoados com as diversas dietas testadas neste experimento, apresentaram resultados análogos aos obtidos para ganho de comprimento. Os peixes alimentados com as dietas do tratamento A (dietas A-1, A-2 e A-3), tiveram seus pesos médios iniciais (2,92, 3,88 e 3,10 g), multiplicados mais de 10 vezes (43,23, 44,07 e 33,43 g), durante o período amostral de 60 dias, com incremento percentual médio de 1.131%. Neste tratamento, a dieta A-1, apresentou o melhor incremento para o ganho de peso médio – 1.380% e A-3, o menor – 978%, **TABELA 20 e FIGURA 14.**

O desempenho dos peixes alimentados com a ração utilizada como termo de comparação (padrão), foi semelhante ao desempenho obtido pelos peixes alimentados com rações do tratamento A. No início do cultivo, o peso médio desses peixes foi de 3,65 g e no final de 60 dias, 31,93g, alcançando um incremento de 1.130%, um pouco abaixo do incremento alcançado pela dieta A-1 (1.380%) e acima do percentual da dieta A-3 (978%).

Observando-se os pesos médios dos peixes alimentados com as rações A-1, A-2 e A-3, verifica-se que os resultados alcançados apresentam relação inversamente proporcional ao percentual de inclusão (5, 10 e 15%) de farinha da alga *Gracilaria cornea* nestas dietas. Apesar da dieta A-3 (maior percentual de inclusão da farinha de alga) ter apresentado um menor rendimento aparente (menor ganho de peso médio total), a análise de variância dessas médias mostrou que não existem diferenças significativas ($p < 0,05$), entre as médias obtidas pelos peixes alimentados com rações do tratamento A, e entre as médias dos peixes alimentados com a dieta Padrão, em comparação com as dos peixes alimentados com a dieta A-3, (VER ITEM 4.1.7).

Os peixes alimentados com dietas do tratamento B (rações B-1, B-2 e B-3), também apresentaram um comportamento semelhante, quando comparados com os resultados dos peixes alimentados com dietas do tratamento A e Padrão, **TABELA 20 e FIGURA 15.** No início, os pesos médios foram de 3,00, 2,40 e 2,30 g, chegando ao final de 60 dias com 41,00, 29,93 e 29,80 g, apresentando um incremento percentual médio de 1.202%. Os peixes alimentados com a dieta B-1 (1.266% de incremento), apresentaram ganho de peso médio levemente superior, aos das dietas B-2 (1.147%) e B-3

TABELA 20 - Ganhos de peso e biomassa médios, das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dietas dos tratamentos “A e B”, contendo 5, 10 e 15% de inclusão das algas marinhas *Gracilaria cornea* e *Gracilaria caudata*, respectivamente, tendo como termo de comparação uma dieta utilizada comercialmente para engorda de galináceos, por período de 60 dias.

TRATA- MENTOS	Peso Médio Inicial (g)	Peso Médio 15 dias (g)	Peso Médio 30 dias (g)	Peso Médio 45 dias (g)	Peso Médio 60 dias (g)	Ganho total de peso médio (PMF-PMI) ¹ (g)	Biomassa Média Inicial (g)	Biomassa Média 15 dias (g)	Biomassa Média 30 dias (g)	Biomassa Média 45 dias (g)	Biomassa Média 60 dias (g)	Ganho total de peso corporal (BMF – BMI) ² (g)
Padrão	3,65	9,60	15,42	31,93	44,90	41,25	36,50	96,33	154,23	319,46	449,16	412,66
A – 1	2,92	8,80	15,13	29,80	43,23	40,31	29,23	88,00	150,83	298,00	432,66	403,43
A – 2	3,88	10,19	20,78	30,89	44,07	40,19	39,17	98,16	200,50	286,50	440,70	401,53
A – 3	3,10	6,93	16,01	23,23	33,43	30,33	31,00	66,00	154,16	223,16	334,67	303,67
B – 1	3,00	8,30	13,98	28,40	41,00	38,00	30,00	83,00	139,98	284,00	410,33	380,33
B – 2	2,40	7,20	15,08	21,57	29,93	27,53	24,00	69,33	145,33	208,23	299,30	275,30
B – 3	2,30	6,76	14,54	24,47	29,80	27,50	23,00	63,33	139,66	196,00	298,00	275,00

1 (PMF – PMI)¹ = Peso médio final - peso médio inicial.

2 (BMF – BMI)² = Biomassa média final - Biomassa média inicial).

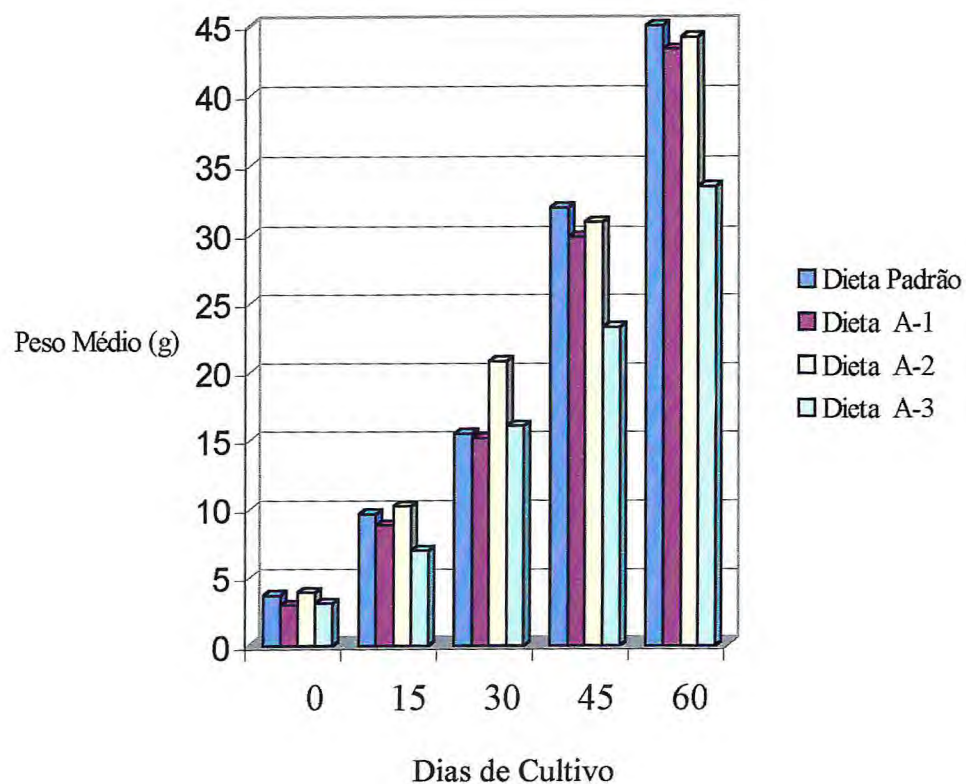


FIGURA 15 - Pesos médios das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dieta Padrão e dietas do Tratamento A (A-1, A-2 e A-3), por período de 60 dias.

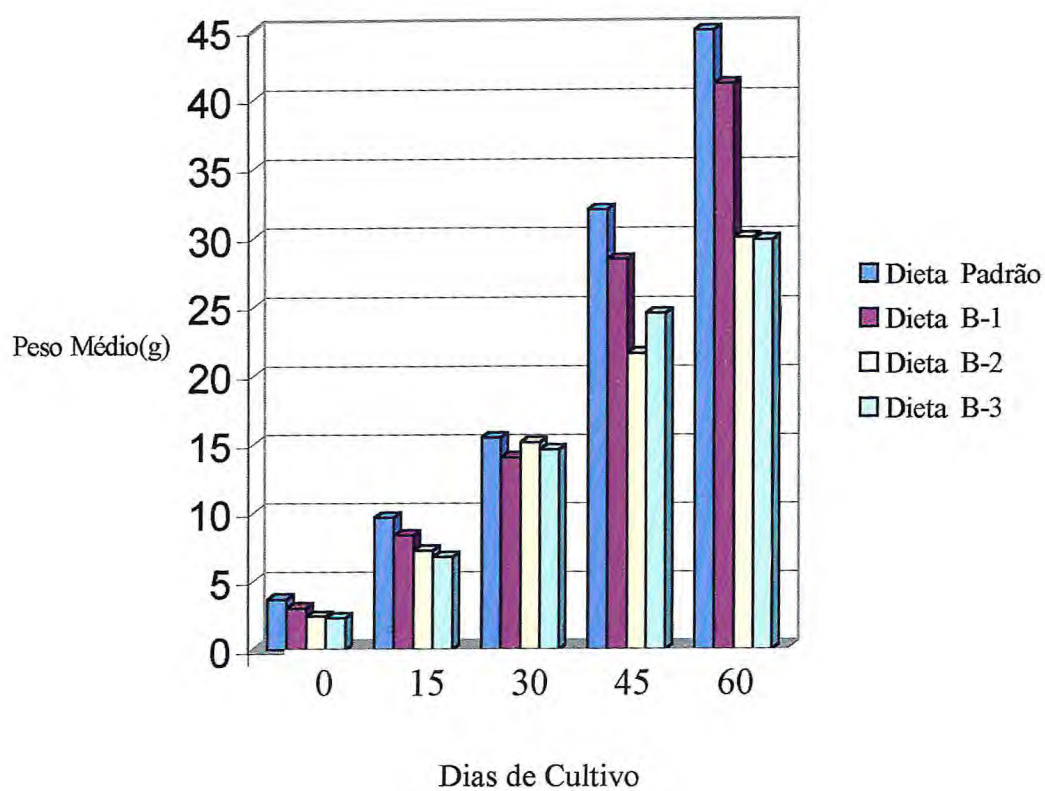


FIGURA 16 - Pesos médios das tilapias do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com a dieta Padrão e dietas do Tratamento B (B-1, B-2 e B-3), por período de 60 dias.

(1.195%) e, as três, superaram o rendimento dos peixes alimentados com a dieta padrão (1.130%).

Na análise do melhor desempenho aparente, dos peixes alimentados com a ração B-1, pode-se observar uma diferença deste, em relação ao dos peixes alimentados com as dietas B-2 e B-3, provavelmente, pelo maior percentual de inclusão da farinha de alga (*Gracilaria caudata*) nessas duas dietas.

Como no ganho de comprimento, observar-se, um gradiente decrescente no ganho de peso médio, à medida em que se aumentava o percentual de inclusão de farinha da alga *Gracilaria caudata* (5, 10 e 15%), nas rações, porém, sob o ponto de vista estatístico, as análises de variâncias destes dados em relação às dietas do tratamento B e entre os dados da dieta B-3 e a dieta Padrão, não apresentaram diferenças significativas, ($p < 0,05$), (VER ITEM 4.1.7).

Os tratamentos C (dietas C-1, C-2 e C-3) e D (dietas D-1, D-2 e D-3), apesar de terem sido delineados para fornecerem dados para as análises sensoriais, visando alterações no sabor, cor e odor da carne dos animais tratados, também apresentaram resultados satisfatórios em relação aos ganhos de pesos médios.

No tratamento C, verifica-se que no início do experimento, os peixes pesavam 51,68, 49,73 e 48,83 g e, no final do cultivo (30 dias), 110,92, 11,56 e 103,45 g, respectivamente, para as dietas C-1, C-2 e C-3. A média da taxa de incremento nesse tratamento ficou em torno de 116,8%. A ração C-3 apresentou o menor incremento (110,9%) e a ração C-2, o maior (124,3%), **TABELA 18 e FIGURA 16**.

O termo de comparação (tratamento padrão) foi montado (**TABELA 18**), constando da dieta básica (soja, milho + Vit e Min), utilizada para a formação das rações dos diversos tratamentos desta pesquisa, porém sem a adição da solução de bromofenol. Os pesos médios dos indivíduos alimentados com essa ração foram os seguintes: inicial, 51,65 g e final, 108,80 g, com incremento percentual de 110,7%, um pouco mais baixo, em comparação com as rações do tratamento C.

O tratamento D (dietas D-1, D-2 e D-3), cuja finalidade era a mesma do tratamento C, (alterações no “flavor” dos peixes), apresentou desempenho regular para o parâmetro ganho de peso médio, **TABELA 19 e FIGURA 17**. No início do cultivo, os peixes pesaram 128,0, 105,33 e 116,50 g e, no final de 30 dias, 236,60, 220,80 e 225,30 g, respectivamente, para as dietas D-1, D-2 e D-3. A taxa de incremento no

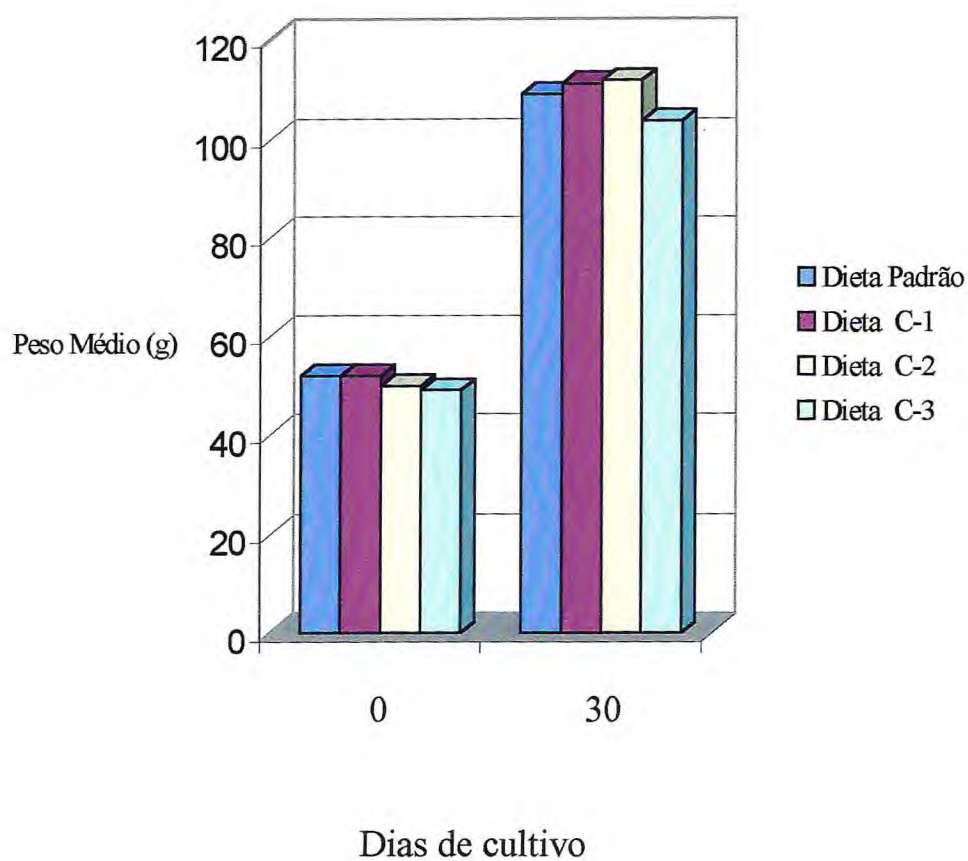


FIGURA 17 - Pesos médios das tilapias do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com a dieta Padrão e dietas do Tratamento C (C-1, C-2 e C-3), por período de 30 dias.

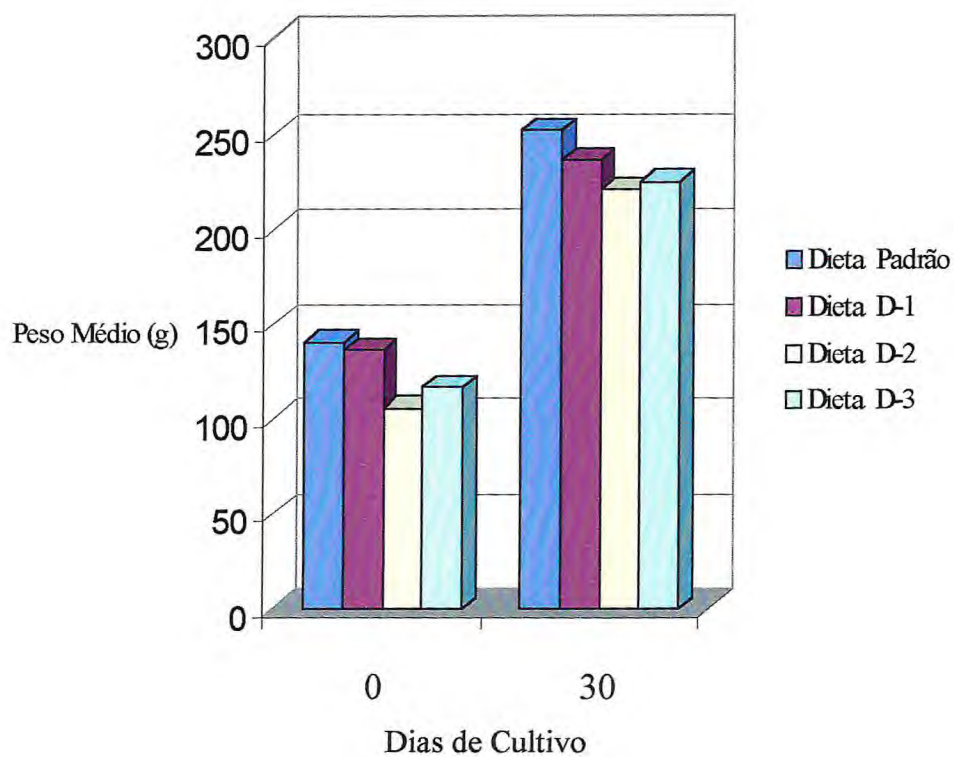


FIGURA 18 - Pesos médios das tilapias do Nilo (*Oreochromis niloticus* Vr. “Chitralada”, alimentadas com a dieta Padrão e dietas do Tratamento D (D-1, D-2 e D-3), por período de 30 dias.

ganho de peso médio desses animais foi em média 92,30%, com a dieta D-1 apresentando o menor incremento de 84,00% e a D-2, o maior, com 109,60%.

O tratamento padrão (termo de comparação usado no Tratamento D) apresentou peso médio dos peixes alimentados com esta ração, semelhante aos dos peixes alimentados com as demais rações do tratamento D. No início, pesaram 140,60 g e no final, 251,20 g, com incremento de 78,7% .

Nos Tratamentos C e D, não foram realizadas as análises estatísticas de ganho de peso e comprimento, por não serem os objetivos principais destes Tratamentos e pela pequena quantidade de medições (duas).

Experimentos de arraçoamentos de tilapias do *Nilo Oreochromis niloticus* Vr. *Chitralada*, foram conduzidos por FURUYA *et al.* (2001), visando determinar o nível ótimo de inclusão da enzima fitase nas dietas. Os autores utilizaram ração padrão com 28,9% de proteína bruta, à base de soja, milho, trigo e canola, e peixes com pesos médios inicial de 8,88 g e final, de 34,28 g, apresentando incremento de apenas 286%, no período de 45 dias. Comparando-se os resultados da presente pesquisa, com os obtidos pelos autores citados, verifica-se que, para o mesmo período de tempo (45 dias), a dieta A-1 que apresentava peso médio de 8,80 g na segunda amostragem (15 dias) e no final de 60 dias, 43,23 g, apresentou rendimento percentual de 458% para este período (45 dias), bem acima do valor (246%) relatado por eles.

SOARES *et al.* (2001), alimentando tilapias do Nilo com rações à base de soja, milho e farinha de peixe, com 32% de PB, partindo de peso médio de 22,17 g, chegaram no final de 90 dias, com 60,71 g, valor esse que representa, somente, 173% de incremento para o ganho de peso médio. Os peixes do Tratamento A-2, com 30 dias de cultivo apresentaram peso médio de 20,78 g e, com mais 30 dias, 44,07 g, com incremento percentual de 112%, proporcionalmente, muito superior ao valor relatado pelos autores, tendo em vista, que os mesmos trabalharam 90 dias, para alcançarem um incremento de apenas 173% no final.

4.1.2.2.2 - Ganho de Biomassa Média

O ganho de biomassa média (TABELA 20) dos alevinos de tilapia do Nilo, alimentados com dietas contendo inclusão de 05, 10 e 15% de farinha da alga *Gracilaria cornea* (Tratamento A), apresentaram rendimentos decrescentes, inversamente proporcional ao percentual de inclusão da alga marinha, ou seja, a medida em que se aumentava a participação da alga numa ração, os rendimentos dos peixes alimentados com a mesma, diminuía. Este fato já foi observado na análise do ganho de peso médio, evidentemente, por ser a biomassa, uma projeção do peso médio.

O comportamento dos peixes alimentados com as dietas do tratamento B (inclusão de 05, 10 e 15% da alga *G. caudata*) foi análogo ao comportamento dos peixes do tratamento A. À medida em que se aumentava o percentual de inclusão de farinha de alga, a biomassa média diminuía, (TABELA 20).

Apesar dos tratamentos A e B terem apresentados valores decrescentes para os ganhos de biomassas médias, a diferença entre as biomassas médias das dietas A-1 e A-3 ($403,43 - 303,67 = 99,76$ g) foi menos acentuada (menor) do que a diferença entre as dietas B-1 e B-3 ($380,33 - 264,17 = 116,16$ g).

O fato das dietas dos tratamentos A e B terem apresentado o comportamento acima descrito, pode ser atribuído, provavelmente, aos fatores antinutricionais e/ou, a alguma toxicidade existente nas algas marinhas utilizadas, que não pode ser detectada nas análises realizadas nesta pesquisa. No caso da alga *Gracilaria cornea*, o teste da DL_{50} , demonstrou existir toxicidade no extrato concentrado da mesma, fato que não ocorreu nos testes das demais algas, nas condições em que foram desenvolvidos neste trabalho, utilizando somente o extrato concentrado dessas algas.

Analisando o desempenho dos peixes alimentados com a dieta C-2, com inclusão de 270 mg de Bromofenol, verifica-se que, neste caso, a biomassa média superou os valores das obtidas pelos peixes alimentados com as dietas C-1, C-3 e padrão, (TABELA 18).

No caso das dietas do tratamento D, ocorreu uma semelhança nos resultados das biomassas médias, quando comparadas com os resultados do tratamento C. Aqui, também, a biomassa média da dieta D-2, (inclusão de 10% do extrato da alga *U. lactuca*), superou os resultados das demais (dietas D-1, D-3 e padrão) (TABELA 19).

4.1.2.2.3 – Ganho de peso médio diário (MDWG)

Os indivíduos alimentados com as dietas dos tratamentos A e B, apresentaram uma certa regularidade na obtenção dos ganhos de pesos médios diários. Na **TABELA 21**, os peixes alimentados com a dieta A-2, apresentaram a maior regularidade, mantendo este parâmetro em torno de 0,68 g/dia, nas quatro amostragens realizadas durante os 60 dias de cultivo, demonstrando bom desempenho no ganho de peso dos animais tratados. As dietas A-1 e B-1 mostraram regularidade no começo, mas da metade do cultivo em diante, os valores de peso médio diário aumentaram consideravelmente, passando de 0,50 para 0,67 g/dia na dieta A-1, e, de 0,47 para 0,63 g/dia, na dieta B-1.

Os peixes que apresentaram os melhores resultados para os ganhos de pesos médios diários, foram os indivíduos alimentados com as dietas A-2 e padrão.

SOARES *et al.*, (2001) alimentaram tilápias do Nilo com ração à base de soja, milho e farinha de peixe, com 32% de proteína bruta e, no final de 90 dias de cultivo, obtiveram 0,43 g/dia de ganho de peso médio diário, um pouco abaixo da média encontrada para os peixes cultivados neste trabalho.

BOSCOLO *et al.*, (2001), conduziram experimentos de arraçamento de tilápias do Nilo Vr. Chitralada, utilizando ração à base de milho, soja e suplemento de vitaminas e minerais, com 32% de proteína bruta e, no final de 45 dias de cultivo, os peixes apresentaram ganho de peso médio diário de apenas 0,19 g/dia, muito abaixo dos valores encontrados nesta pesquisa.

TABELA 21 – Ganho de peso médio diário (MDWG) em g/dia, dos peixes alimentados com as dietas dos Tratamentos A, B e Padrão, por período de 60 dias.

GANHO DE PESO MÉDIO DIÁRIO (MDWG)				
(g / dia)				
Tratamentos	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
Padrão	0,64	0,51	0,71	0,69
A – 1	0,59	0,50	0,66	0,67
A – 2	0,68	0,69	0,69	0,67
A – 3	0,46	0,53	0,52	0,51
B – 1	0,55	0,47	0,63	0,63
B – 2	0,48	0,50	0,48	0,46
B – 3	0,45	0,49	0,54	0,46

4.1.3 – Consumo de ração

O consumo de ração em todos os tratamentos apresentou uma certa regularidade em função do ganho de peso dos animais tratados, não configurando desperdício, em nenhum período amostral. Desta forma, todos os peixes apresentaram desempenho satisfatório no que se refere a conversão desta em músculo. O consumo nos tratamentos foi sempre crescente e proporcional ao ganho de biomassa, sendo que, as dietas com inclusão de farinha de alga (A e B), apresentaram o mesmo comportamento inverso, anteriormente observado para o ganho de peso, ou seja à medida em que aumentava-se o percentual de participação da alga na ração, o consumo desta diminuía. Este fato já foi comentado quando da análise do ganho de peso e foi atribuído, provavelmente, a algum componente tóxico das algas.

Na **TABELA 22**, observa-se maior consumo (454,88 g) pelos animais alimentados com a dieta padrão e, menor, pelos da dieta B-3 (316,72).

4.1.4 – Índice de conversão alimentar (ICA)

O índice de conversão alimentar é um dos mais importantes parâmetros, analisados em qualquer cultivo de animais aquáticos, em virtude de refletir, de forma direta e clara, o bom ou mal desempenho dos organismos alimentados. Portanto, o sucesso biológico e econômico de um projeto de aquicultura, encontra-se intrinsecamente relacionado com a conversão do alimento em músculo, do tempo e dos custos de produção.

Na primeira amostragem realizada em todos os tratamentos (A e B), observou-se que as conversões alimentares ocorreram em patamares muito inferiores ao índice de 1,0: 1,0. Analisar esses resultados e levá-los em consideração, sem atribuir, a maior parte da conversão ao alimento natural, é ter uma visão utópica da realidade. Portanto, índices menores que 1,0 : 1,0, devem ser analisados, levando-se também em consideração, a participação do alimento natural.

Nas **TABELAS 22, 23 e 24, e FIGURAS 18 e 19**, observa-se índices satisfatórios na amostragem final de todos os tratamentos, onde, no tratamento B, os peixes alimentados com a dieta B-1, apresentaram o melhor índice de conversão (1,41 : 1) e, o menor índice, foi apresentado pelos peixes da dieta padrão (1,84 : 1). Os peixes dos Tratamentos A e

Padrão, apesar dos índices de conversão menores que B apresentaram biomassas maiores, em função do maior consumo de ração.

No geral, todos os índices de conversão dos tratamentos desta pesquisa podem ser considerados bons resultados, haja vista, que índices abaixo de 2,0 : 1,0 são altamente desejáveis, para todos os organismos envolvidos na aquicultura.

Vários autores (FURUYA *et al.*, 2002; SOARES *et al.*, 2001; BOSCOLO 2001 e FREITAS 1993) desenvolveram arraçamento com tilapias do Nilo, utilizando rações à base de soja, milho, e obtiveram 1,97:1, 1,79:1, 1,63:1 e 1,90:1, respectivamente, para o Índice de Conversão Alimentar de seus trabalhos. Comparando estes resultados com os deste trabalho (< 1,9:1), verifica-se a similaridade entre eles, sendo que, todos os resultados podem ser considerados satisfatórios.

TABELA 22 - Consumo de ração e conversão alimentar das tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dietas dos tratamentos “A e B”, contendo 5, 10 e 15% de inclusão das algas marinhas *Gracilaria cornea* e *Gracilaria caudata*, respectivamente, tendo como termo de comparação uma dieta utilizada comercialmente para engorda de galináceos, por período de 60 dias.

TEMPO DE CULTIVO (DIAS)	CONSUMO DE RAÇÃO (g)							CONVERSÃO ALIMENTAR Consumo acumulado de ração (g) / ganho de peso corporal (g)						
	DIETAS DOS TRATAMENTOS PADRÃO, A e B							DIETAS DOS TRATAMENTOS PADRÃO, A e B						
	Padrão	A-1	A-2	A-3	B-1	B-2	B-3	Padrão	A-1	A-2	A-3	B-1	B-2	B-3
0 - 15	27,37	21,92	29,10	23,25	22,50	18,24	17,49	0,46 : 1	0,38 : 1	0,49 : 1	0,66 : 1	0,42 : 1	0,41 : 1	0,44 : 1
16 - 30	72,25	66,00	73,62	49,50	62,25	51,99	47,49	1,25 : 1	1,05 : 1	1,39 : 1	0,56 : 1	10,9 : 1	0,68 : 1	0,62 : 1
31 - 45	115,67	113,12	150,37	115,62	104,98	108,99	104,74	1,42 : 1	0,78 : 1	1,75 : 1	1,68 : 1	0,73 : 1	1,73 : 1	1,86 : 1
46 - 60	239,59	223,50	214,87	167,37	178,50	156,17	147,00	1,84 : 1 *	1,69 : 1	1,74 : 1	1,50 : 1	1,41 : 1	1,71 : 1	1,61 : 1
TOTAL	454,88	424,54	467,96	355,74	368,23	335,39	316,72							
GPCT (g)*								412,66	403,43	371,00	303,67	380,33	275,17	264,17
CAT**								1,10 : 1	1,05 : 1	1,26 : 1	1,17 : 1	0,96 : 1	1,22 : 1	1,20 : 1

* - GPCT = (Ganho de Peso Corporal Total) = Ganho de Peso Final – Ganho de Peso Inicial

** - CAT = (Conversão Alimentar Total) = Consumo Total de Ração / Ganho de Peso Corporal Total

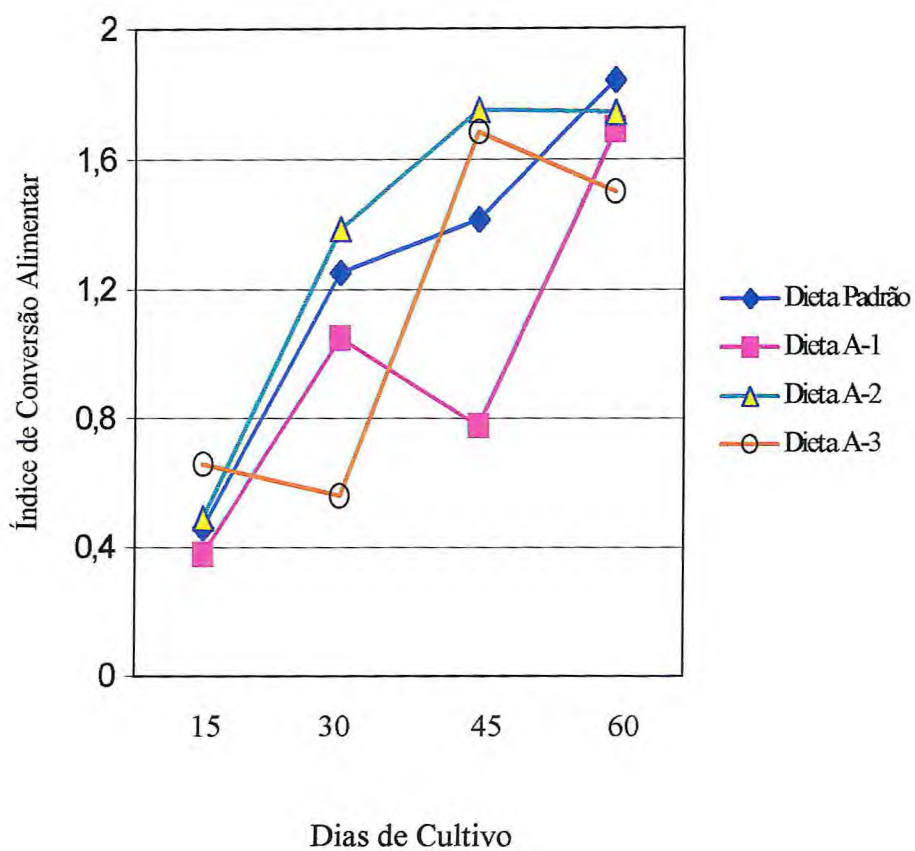


FIGURA 19 - Índices de conversão alimentar dos cultivos das tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com a dieta Padrão e dietas do Tratamento A (A-1, A-2 e A-3), por período de 60 dias.

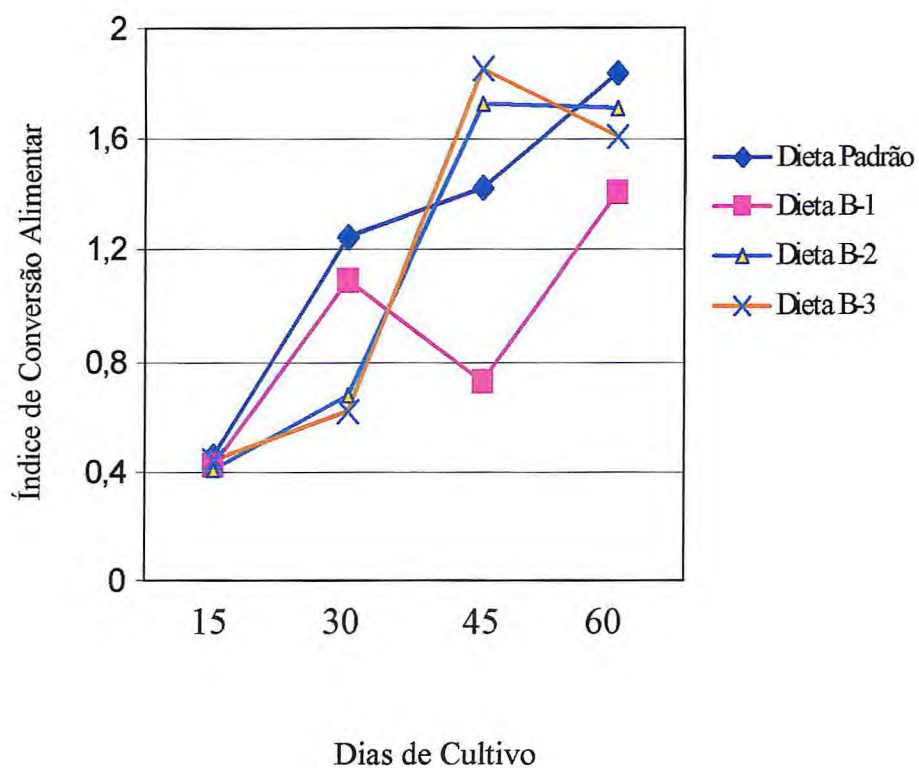


FIGURA 20 - Índices de conversão alimentar dos cultivos das tilapias do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com a dieta Padrão e dietas do Tratamento B (B-1, B-2 e B-3), por período de 60 dias

TABELA 23 - Consumo de ração e conversão alimentar das tilapias do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Vr. "Chitralada", alimentadas com dietas do tratamento C (dietas C - 1, C - 2 e C - 3), contendo 135, 270 e 405 mg de bromofenol. Kg⁻¹ da dieta, respectivamente, e como termo de comparação, uma dieta utilizada comercialmente para engorda de galináceos, porém, sem a adição do bromofenol, por período de 30 dias.

TEMPO DE CULTIVO (DIAS)	CONSUMO DE RAÇÃO (g)				CONVERSÃO ALIMENTAR Consumo acumulado de ração (g) / ganho de peso corporal (g)			
	Padrão	Dieta C-1	Dieta C-2	Dieta C-3	Padrão	Dieta C-1	Dieta C-2	Dieta C-3
0 - 30	774,00	775,24	747,00	732,50	1,40 : 1	1,40 : 1	1,30 : 1	1,50 : 1
GPC (g) *	571,50	555,68	580,84	513,34				

* - GPC (g) = Ganho de Peso Corporal (gramas)

TABELA 24 - Consumo de ração e conversão alimentar das tilapias do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com as dietas do tratamento D (D -1, D -2 e D - 3), com inclusão das algas marinhas *Ulva fasciata*, *Ulva lactuca* e *Vidalia obtusiloba*, respectivamente, na proporção de 10 g de alga “in natura” triturada por cada 100 g de ração, tendo como termo de comparação uma dieta utilizada comercialmente para engorda de galináceos, porém, sem a adição de algas, por período de 30 dias.

TEMPO DE CULTIVO (DIAS)	CONSUMO DE RAÇÃO (g)				CONVERSÃO ALIMENTAR Consumo acumulado de ração (g) / ganho de peso corporal (g)			
	Padrão	Dieta D-1	Dieta D-2	Dieta D-3	Padrão	Dieta D-1	Dieta D-2	Dieta D-3
0 - 30	1.054,50	960,00	789,97	873,75	1,90 : 1	1,80 : 1	1,40 : 1	1,60 : 1
GPC (g)*	553,00	543,00	577,35	544,00				

* - GPC (g) = Ganho de Peso Corporal (gramas)

4.1.5 – Produção e produtividade

A produção em um cultivo de peixes é representada pela biomassa final expressa em kg/área/tempo de cultivo, e a produtividade, kg/ha/ano. Na TABELA 25, observa-se o melhor desempenho dos peixes alimentados com a dieta padrão, para produção (0,413 kg/2m²/2 meses) e, conseqüentemente, para produtividade (6.900,0 kg/ha/ano). Analisando os tratamentos A e B, os peixes alimentados com a dieta A-1, obtiveram produção de 0,403 kg/2m²/2 meses e produtividade de 6.600,0 kg/ha/ano, enquanto que, o menor rendimento foi obtido pelos peixes alimentados com a dieta B-3, onde a produção foi somente de 0,264 kg/2m²/2 meses e produtividade de 4.200,0 kg/ha/ano.

TABELA 25 – Produção e produtividade obtidas pelas tilápias do Nilo, alimentadas com dietas dos tratamentos A, B e padrão, na densidade de estocagem de 5 peixes/m², por período de 60 dias.

Tratamentos	Produção* (kg/2m ² / 2 meses)	Produtividade (kg/há/ano)
Padrão	0,413	6.900,0
A-1	0,403	6.600,0
A-2	0,371	6.300,0
A-3	0,303	5.100,0
B-1	0,380	6.300,0
B-2	0,275	4.500,0
B-3	0,264	4.200,0

* Soma dos pesos dos 10 peixes de cada tratamento.

4.1.6 – Taxa de sobrevivência

Durante o período de cultivo, três peixes foram mortos por ataques de gatos oportunistas, sendo que, dois deles foram capturados na borda dos tanques e o terceiro, capturado quando caiu da bancada de amostragem. Os peixes mortos foram substituídos por outros de mesmo tamanho e peso. A substituição se deu em virtude da morte dos animais ter ocorrido, ainda na fase inicial de cultivo, e não ter sido por alterações ligadas diretamente aos parâmetros químicos, físicos e ou bioquímicos, que regem esse tipo de cultivo. Portanto, pode-se considerar que a taxa de mortalidade desse cultivo foi 0%.

4.1.7 – Análises estatísticas

Analisando as TABELAS 26 a 33, verifica-se que os cálculos estatísticos foram realizados utilizando os valores dos ganhos de comprimentos e pesos médios dos peixes alimentados com as dietas dos tratamentos A, B, e Padrão (SNEDECOR & COCHRAN, 1967).

As médias dos peixes alimentados com as dietas que apresentaram menor rendimento para ganhos de pesos médios, dietas A-3 e B-3, também foram analisadas em relação ao Padrão.

Todos os parâmetros analisados apresentaram valores para “F” calculado, sempre inferiores aos valores tabelados, representando a aceitação da Hipótese H_0 , ou seja, todas as médias testadas, não apresentaram diferenças significativas, a nível de $\alpha = 5\%$ ($p < 5\%$). Os valores de “F” calculados foram 0,1197, -2,16, 0,21, -2,26, -10,51, 0,078, 0,0012 e -17,017 e, para “F” tabelado, 3,35, 3,35, 4,41, 4,41, 2,84, 2,84, 4,41 e 8,40, respectivamente, para os graus de liberdade (3 X 30), (2 X 20) e (4 X 40) e $\alpha = 5\%$.

TABELA 26 – Análise de variância dos valores médios de ganho de comprimento das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dieta padrão e dietas do tratamento A (dietas A-1, A-2 e A-3), com inclusão de 5, 10 e 15% de farinha da alga *Gracilaria cornea*, por período de 60 dias.

Causas de Variação	GL Graus de Liberdade	SQ Soma dos Quadrados	QM Quadrado Médio	F Calculado	F Tabelado	
					$\alpha \leq 1\%$	$\alpha \leq 5\%$
Tratamentos	3	- 27,71037	- 9,23679	- 10,511	2,84	4,31
Resíduos	36	31,6354	0,878763			
Total	39	3,92503	-			

Obs: Não existem diferenças significativas para $\alpha \leq 1\%$ nas médias testadas, ou seja, aceita-se a Hipótese de nulidade (H_0 = Homogeneidade).

TABELA 27 – Análise de variância dos valores médios de ganho de comprimento das tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dieta padrão e dieta A-3 do tratamento A, com inclusão de 15% de farinha da alga *Gracilaria cornea*, por período de 60 dias.

Causas de Variação	GL Graus de Liberdade	SQ Soma dos Quadrados	QM Quadrado Médio	F Calculado	F Tabelado	
					$\alpha \leq 1\%$	$\alpha \leq 5\%$
Tratamentos	1	0,001	0,001	0,0012	4,41	8,40
Resíduos	18	14,460	0,80			
Total	19	14,461	-			

Obs: Não existem diferenças significativas para $\alpha \leq 1\%$ nas médias testadas, ou seja, aceita-se a Hipótese de nulidade ($H_0 =$ Homogeneidade).

TABELA 28 – Análise de variância dos valores médios de ganho de comprimento das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dieta padrão e dietas do tratamento B (dietas B-1, B-2 e B-3), com inclusão de 5, 10 e 15% de farinha da alga *Gracilaria caudata*, por período de 60 dias.

Causas de Variação	GL Graus de Liberdade	SQ Soma dos Quadrados	QM Quadrado Médio	F Calculado	F Tabelado	
					$\alpha \leq 1\%$	$\alpha \leq 5\%$
Tratamentos	4	0,17141	0,05713	0,078	2,84	4,31
Resíduos	36	26,33099	0,731416			
Total	39	26,5024				

Obs: Não existem diferenças significativas para $\alpha \leq 1\%$ nas médias testadas, ou seja, aceita-se a Hipótese de nulidade ($H_0 =$ Homogeneidade).

TABELA 29 – Análise de variância dos valores médios de ganho de comprimento das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dieta padrão e dieta B-3 do tratamento B, com inclusão de 15% de farinha da alga *Gracilaria caudata*, por período de 60 dias.

Causas de Variação	GL Graus de Liberdade	SQ Soma dos Quadrados	QM Quadrado Médio	F Calculado	F Tabelado	
					$\alpha \leq 1\%$	$\alpha \leq 5\%$
Tratamentos	1	- 11,6129	- 11,6129	- 17,017	4,41	8,40
Resíduos	18	12,2829	0,6824			
Total	19	0,6700				

Obs: Não existem diferenças significativas para $\alpha \leq 1\%$ nas médias testadas, ou seja, aceita-se a Hipótese de nulidade ($H_0 =$ Homogeneidade).

TABELA 30 – Análise de variância dos valores médios de ganho de peso das tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dietas do tratamento A (dietas A-1, A-2 e A-3), com inclusão de 5, 10 e 15% de farinha da alga *Gracilaria cornea*, por período de 60 dias.

Causas de Variação	GL Graus de Liberdade	SQ Soma dos Quadrados	QM Quadrado Médio	F Calculado	F Tabelado	
					$\alpha \leq 1\%$	$\alpha \leq 5\%$
Tratamentos	2	6,5212	3,2606	0,1197	3,35	5,49
Resíduos	27	735,4254	27,2379			
Total	29	741,9466	-			

Obs: Não existem diferenças significativas para $\alpha \leq 1\%$ nas médias testadas, ou seja, aceita-se a Hipótese de nulidade (H_0 = Homogeneidade).

TABELA 31 – Análise de variância dos valores médios de ganho de peso das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com a dieta de menor desempenho aparente do tratamento A (dieta A-3 – com 15% de inclusão da alga *Gracilaria cornea*), em comparação com as médias de ganho de peso, das tilapias alimentadas com dieta usada como termo de comparação, por período de 60 dias.

Causas de Variação	GL Graus de Liberdade	SQ Soma dos Quadrados	QM Quadrado Médio	F Calculado	F Tabelado	
					$\alpha \leq 1\%$	$\alpha \leq 5\%$
Tratamentos	1	5,9223	5,9223	0,21	4,41	8,28
Resíduos	18	501,2129	27,8452			
Total	19	507,1352	-			

Obs: Não existem diferenças significativas para $\alpha \leq 1\%$ nas médias testadas, ou seja, aceita-se a Hipótese de nulidade (H_0 = Homogeneidade).

TABELA 32 – Análise de variância dos valores médios de ganho de peso das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dietas do tratamento B (dietas B-1, B-2 e B-3), com inclusão de 5, 10 e 15% de farinha da alga *Gracilaria caudata*, por período de 60 dias.

Causas de Variação	GL Graus de Liberdade	SQ Soma dos Quadrados	QM Quadrado Médio	F Calculado	F Tabelado	
					$\alpha \leq 1\%$	$\alpha \leq 5\%$
Tratamentos	2	- 85,7009	- 42,8505	- 2,16	3,35	5,49
Resíduos	27	535,8116	19,8487			
Total	29	450,1107	-			

Obs: Não existem diferenças significativas para $\alpha \leq 1\%$ nas médias testadas, ou seja, aceita-se a Hipótese de nulidade (H_0 = Homogeneidade).

TABELA 33 – Análise de variância dos valores médios de ganho de peso das tilapias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dieta de menor desempenho aparente do tratamento B (dieta B-3 – com 15% de inclusão da alga *Gracilaria caudata*), em comparação com as médias de ganho de peso, das tilapias alimentadas com ração usada como termo de comparação, por período de 60 dias.

Causas de Variação	GL Graus de Liberdade	SQ Soma dos Quadrados	QM Quadrado Médio	F Calculado	F Tabelado	
					$\alpha \leq 1\%$	$\alpha \leq 5\%$
Tratamentos	1	- 59,2968	- 59,2967	- 2,26	4,41	8,40
Resíduos	18	471,7290	26,2072			
Total	19	412,4322	-			

Obs: Não existem diferenças significativas para $\alpha \leq 1\%$ nas médias testadas, ou seja, aceita-se a Hipótese de nulidade (H_0 = Homogeneidade).

5 – CONCLUSÃO

Todas as rações dos Tratamentos Padrão, A e B, testadas nesta pesquisa, podem ser recomendadas para serem utilizadas em quaisquer cultivos de tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, principalmente as rações Padrão, A-1 e B-1. Essas rações, apesar de não terem alterado o “flavor” da carne dos animais tratados, proporcionaram aos mesmos, bons Índices de Conversão Alimentar (1,84:1, 1,69:1 e 1,41:1, respectivamente) e, valores abaixo de 2,0:1, certamente, representam bom ganho de peso, viabilidade econômica e biológica.

As rações dos Tratamentos C e D, apesar de não terem sido delineados para obtenção de ganho de peso e comprimento, também se enquadram nas recomendações acima.

As rações dos Tratamentos A, B e C, não foram conduzidas para serem analisadas sensorialmente, em virtude de não terem apresentado indícios suficientes para tal procedimento, ou seja, alterações perceptíveis no odor e cor da carne desses animais, fato que não ocorreu com os peixes do Tratamento D.

Tendo em vista os resultados não satisfatórios dos Tratamentos A, B e C, com relação às alterações do “flavor” dos animais tratados, sugerimos a continuidade das pesquisas, com a utilização de extratos de algas “in natura” (como no Tratamento D), para determinação dos parâmetros: quantidade de alga no extrato, tempo de cultivo adequado, visando otimizar alterações de cor, odor e sabor da carne dos peixes de água doce.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIYAMA, D.M., **The use of soy products and other plant protein supplements in aquaculture feeds.** Am. Soybean Ass. Tech. Bull., AQ27: 1-18p. - 1990.

AKIYAMA, T., UNUMA, T., YAMAMOTO, T., MARCOULI, P. AND KISHI, S., **Combinational Use of Malt Protein Flour and Soybean Meal as Alternative Protein Sources of Fish Meal in Fingerling Rainbow Trout Diets.** Fisheries Science V. 61(5): 828-832p., - 1995.

APPLER, H.N. **Evaluation of Hydrodictyon reticulatum as protein source in meals Oreochromis (Tilapia) niloticus and Tilapia zillii.** Journal of fish biology, V. 27: 327-334p - 1985.

ASSAD, L. T. & BURSZTYN, M. - **Aquicultura sustentável.** Aquicultura no Brasil - bases para um desenvolvimento sustentável. Editor Wagner Cotroni Valenti. Brasília: CNPq / Ministério da Ciência e Tecnologia, - 2000.

AVILA, M. C. Y., & GONZALES, M. A C. - **Ensayo de androgenesis diploide en tilapia roja (Oreochromis sp.), Trewavas (1981), mediante manipulacion cromosomal.** Boletin Científico INPA, V.3: 66-78p. Santa Fé de Bogotá. - 1995.

BEVERIDGE, M.C.M. **Cage aquaculture.** Fishing News Books, Osney Mead, Oxford, 346 p. - 1996.

BORGHETTI, J. R. & OSTRENSKY, A - **Estratégia e ações governamentais para incentivar o crescimento da atividade aquícola no Brasil.** In: Anais do Aquicultura Brasil 98, V.1: 437-47p. - 1998.

BOSCOLO,, W. R.; HAYASHI, C. MEURER, F.; e SOARES, C. M. **Farinhas de peixe, carne e ossos, vísceras e crisálida como atractantes em dietas para alevinos de tilapia do Nilo (Oreochromis niloticus).** Ver. Bras. Zootec. V.30 n.5 Viçosa set./out. - 2001.

BOZANO, G.L.N.; e COELHO, R.S.de C. – **Ciclo de produção de peixes tropicais.** Revista Bras. De Agropecuária, V.11:31-35p. 2001.

CASTRO, P. F. de – **Utilização de dietas a base de sorgo em rações de crescimento para a tilápia vermelha (*Oreochromis spp*), V. 2,** Anais da Aquicultura Brasil 98, Recife 2 a 6 de novembro de 1998.

CASTAGNOLLI, N. & CYRINO, J. E. P. – **Piscicultura nos trópicos.** São Paulo, Ed. Manole, 152p. – 1986.

CASTAGNOLLI, N. – **Piscicultura intensiva e sustentável.** Aquicultura no Brasil – bases para um desenvolvimento sustentável. Editor Wagner Cotroni Valenti. Brasília: CNPq / Ministério da Ciência e Tecnologia, - 2000.

CARVALHO, J. F. – **Editorial .** Revista Panorama da Aquicultura, V. 8, Nº 46, - 1998

CARBERRY, J. & F. HANLEY. – **Commercial intensive tilapia culture in Jamaica. 64-67.** In: D. E. alston, B. W. Green and H. C. Clifford, editors. IV Symposium on Aquaculture in Central América: Focusing on shrimp and tilapia. Asociacion Nacional de Acuicultores de Honduras and The Latin American Chapter of the Wolrd Aquaculture Society. Tegucigalpa, Honduras. – 1997.

CYRINO, J. E. P.; CARNEIRO, P. C. F. ; BONTANO, G. L. N.; & CASEIRO A C. – **Desenvolvimento da criação de peixes em tanques-rede.** In: Anais do Aquacultura 98, V.1: 409-433p. – 1999.

COCHE, A.G., **Cage culture of tilapia.** In: R.S.V. Pullin and R.H. Lowe-McConell (Editors), The Biology and Culture of Tilapia. ICLARM, Manila, . 205-246p., - 1982.

COSTA, F. H. F.; FREITAS, J. W. C. de.; LIMA, F.M.; FRANÇA-NETO, L. V.; DUBOM, J.A M. & SILVA, A C. – **Cultivo de machos revertidos de tilapia do Nilo *Oreochromis niloticus* (L., 1766), em gaiolas flutuantes, em pequenos açudes do Estado**

do Ceará. In: Livro de Resumos do X Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca, 23p. - 1997.

FAO/FIDI, **Estatística da aquicultura mundial no ano de 1992.** FAO, Rome, Italy – 1993.

FAO/FIDI, **Estatística da aquicultura mundial no ano de 1993.** FAO, Rome, Italy – 1994.

FAO/FIDI, **Estatística da aquicultura mundial no ano de 1994.** FAO, Rome, Italy – 1995.

FAO. – **Aquaculture production statistics 1988-1997.** V.11. FAO, Rome, Italy. 203p. 1999.

FAO – **Aquaculture News Letter.** . 4-9p. April, Rome, Italy – 2000.

FREITAS, J.W.C., **Desempenho de híbridos de tilapias do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L 1766 x *Oreochromis hornorum* Trew.), aliemntadas com rações contendo farinha de resíduos da filetagem de tilapias.** Dissertação apresentada ao Depatamento de Tecnologia de Alimentos - UFC, para obtenção do Grau de Mestre – Fortaleza, Ce., outubro de 1993.

FRYER, G. & ILES, T. D. – **The cichlid fishes of the great lakes of Africa: their biology and evolution.** Oliver and Boyd, Edingurgh. 642p. – 1972.

FRIEDLANDER, M., WEINTRAUB, N., FREEDMAN, A., SHEER, J., SNOVSKY, Z., SHAPIRO, J. AND KISSIL, G.W. **Fish as potential biocontrollers of *Gracilaria* (*Rhodophyta*) culture.** Aquaculture, V.145: 113-118p. - 1996.

FURUYA, W. M.; GONÇALVES, G. S.; FURUYA, V. R. B.; e HAYASHI, C. **Fitase na alimentação da tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e digestibilidade.** Ver. Bras. Zootec. V.30 n.3 supl. 1 Viçosa maio/jun, - 2001.

KNAUER, J.; SOUTHGATE, P.C. **Nutritional value of a spray-dried freshwater alga, Spongiococcum excentricum, for Pacific oyster (Crassostrea gigas) spat.** Aquaculture, V.146: 135-146p. - 1996

KORNFIELD, I. – **Descriptive genetics of cichlid fishes.** In: Turner B. J. (Ed). Evolutionary Genetics of fishes, Plenum Press, New York and London, p.591-616p. – 1984.

KUBITZA, F.; CAMPOS, J.L.; & BRUM, J. A. - **Produção intensiva de surubins no projeto Pacu Ltda. E Agropeixes Ltda.** In: Anais do Aquacultura 98, V.1: 393-407p. - 1998.

ISLABÃO, NARCISO. **Manual de Cálculo lo de rações,** Ed. Livroceres, São Paulo - SP, - 1985.

LIM, C. AND DOMINY W.,. **Utilization of plant proteins by warmwater fish.** Am. Soybean Ass. Tech. Bull., AQ15: 1-13p. – 1989.

LIMA, F.M. **Análise da Produção Pesqueira dos Açudes Nordestinos Adminstrados pelo DNOCS, nos anos de 1986 a 1992.** Dissertação apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte das exigências para a obtenção do título de Engenheiro de Pesca. – 1993.

LOVELL, P. T., **Use of soybean products in diets for aquaculture species (revised).** Am. Soybean Ass. Tech. Bull., AQ21: 1-16p. - 1990.

LOVSHIN, L. L. **Tilapia farming: A growing wolrdwide aquaculture industry.** 137-164p, In: J. E. P. Cyrino e F. Kubitza, Editores. Anais sobre simpósio de manejo e nutrição de peixes. CBNA, Campinas – SP. – 1997.

MACLEAN, J., **Tilapia-the aquatic chicken.** ICLARM Newsletter, .17p. – 1984.

MATTY, A.J. AND SMITH, P. **Evaluation of a yeast, a bacterium and na alga as a protein source for rainbow trout, I. Effect of protein level on growth, gross**

- conversion efficiency and protein conversion efficiency.** *Aquaculture*, V.14: 235-246p. - 1978.
- MESQUITA, P. E.; VIEIRA, M. J. A F. & NOBRE, M. I. S. – **Produção de alevinos revertidos de tilapia vermelha, *Oreochromis sp.*, para engorda em tanques-rede.** In: *Anais do Aquacultura* 98. V.1: 250-263p. – 1998.
- MUSTAFA, MD. G., WAKAMATSU, S., TAKEDA, T., UMINO, T. AND NAKAGAWA, H. **Effects of algae meal as feed additive on growth, feed efficiency, and body composition in red sea bream.** *Fisheries Science* V.61(1): 25-28p. - 1995.c
- NAKAGAWA, H. AND KASAHARA, S. **Effect of *Ulva* meal supplement to diet on the lipid metabolism of red sea bream.** *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, V.52(11): 1887-1893p. - 1986.
- NAKAGAWA, H., KASAHARA, S. AND SUGIYAMA, T. **Effect of *Ulva* meal supplementation on lipid metabolism of black sea bream, *Acanthopagrus schlegeli* (Bleeker).** *Aquaculture*, V.62: 109-121. - 1987.
- NIKOLSKY, G. V. **The ecology of fishes.** Academic Press, London. 352 p. - 1963.
- PAVANELLI, GILBERTO C.; EIRAS, JORGE C.; TAKEMOTO, RICARDO M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento.** Ed. EDUEM: CNPq: Nupélia, 1ª ed., Maringá, 264 p. - , 1998.
- PANORAMA DA AQUICULTURA **Aquacultura para o ano 2000.** *Revista Panorama da Aquicultura*, V.5 (30): 11p, 1995.
- PEREIRA, J. A.; SILVA, A. L. N.; CORREIA, E. S. **Situação atual da aquicultura na região Nordeste.** *Aquicultura no Brasil – bases para um desenvolvimento sustentável.* Editor Wagner Cotroni Valenti. Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000.
- PEÑAFLORES, V. AND GOLEZ, N.V. **Use of seaweed meals from *Kappaphycus alvarezii* and *Gracilaria heteroclada* as binders in diets for juvenile shrimp *Penaeus monodon*.** *Aquaculture* V.143: 393-401p. - 1996.

PHILLIPS, M. J. & MACINTOSH, D. J. – **Aquaculture and the environment: challenges and opportunities**. In: Nambiar, KPP & Singh, T. (Ed.). Sustainable aquaculture: International Conference on Aquaculture. INFOFISH-AQUATECH 96. Kuala Lumpur, INFOFISH, 247p. – 1997.

PROENCA, C. E. M., BITTENCOURT, P. R. L. **Manual de piscicultura tropical**. Brasília: IBAMA, 196 p. - 1994.

POPMA, T. J. & PHELPS, R. P. – **Status report commercial tilapia producers on monosex fingerling production techniques**. In: Anais do Aquacultura 98, V.1: 127-145p. – 1998.

RICKER, W.E. **Computation and interpretation of biological statistics of fish populations**. Bull. Fish. Res. Board Can. 191p. - 1975.

SATOH, K., NAKAGAWA, H. AND KASAHARA, S. **Effect of Ulva meal supplementation on disease resistance of red sea bream**. Nippon Suisan Gakkaishi, V.53(7): 1115-1120p. – 1987

SCHMITTOU, H. R. **Produção de peixes em alta densidade em tanques-rede de pequeno volume**. ASA – Associação Americana de Soja. 1ª ed., São Paulo, 78 p. – 1997.

SNEDECOR, G. W. & COCHRAN, W. G. – **Statistical methods**. 6ª ed. Ames, Iowa State College Press, p 45-69p. 1989.

SOARES, C. M.; HAYASHI, C.; FARIA, A C E A de; e FURUYA W. M. **Substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de cânola em dietas para tilapia do Nilo (*Oreochomis niloticus*) na fase de crescimento**. Ver. Bras. Zootec. V.30 n.4 Viçosa jul./ago. - 2001.

SEAFOOD BUSINESS. – **Tilapia takes off**. V.17 (1): 12-16p 1998.

- SZE, C. P. – **The use of mangroves for aquaculture – can it be sustainable.** Infofish International, Kuala Lumpur, V.(6): 42-44p. – 1997.
- SACHS, I. – **Estratégias de transição para o século XXI.** In: Bursztyn, M. (Ed.). Para pensar o desenvolvimento sustentável. Brasiliense, Brasília. V.29-56p. – 1993.
- SOMMER, T.R., D'SOUZA, F.M.L. AND MORRISSY, N.M. **Pigmentation of adult rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using the green alga *Haematococcus pluvialis*.** Aquaculture, V.106: 63-74p - 1992.
- TWIBELL, R. G. ; BROWN, P. B. – **Optimal dietary protein concentration for hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* X *O. aureus* fed all-plant diets.** Journal of the World Aquaculture Society, Baton Rouge, V. 29, n. 1, 9-16p, 1998.
- TACON, A G J - **Global trends in aquaculture and aquafeed production 1984-1985.** Intern. Aquafeed Directory: 5-37p. – 1998.
- TOLÊDO, M. I. - **I curso regional de capacitação em controle de qualidade de insumos e dietas aquícolas.** F.A.O. Universidade Católica de Valparaíso - Santiago – Chile - 1993.
- VALENTI, W. C. - **Aquaculture for a sustainable development.** Aquicultura no Brasil – bases para um desenvolvimento sustentável. Editor Wagner Cotroni Valenti. Brasília: CNPq / Ministério da Ciência e Tecnologia, - 2000.
- WATANABE, W.O., CLARK, J.H., DUNHAN, J.B., WICKLUND, R.I. AND OLLA, B.L. **Culture of Florida red tilapia in marine cage: the effect of stocking density and dietary protein on growth.** Aquaculture, V.90: 123-134p. - 1990.
- YAMAMOTO, T., UNUMA, T. AND AKIYAMA, T. **The effect of combined use of several alternative protein sources in fingerling rainbow trout diets.** Fisheries Science V.61(6): 915-920p. - 1995.

YAMAMOTO, T., MARCOULI, P.A., UNUMA, T. AND AKIYAMA, T. **Utilization of Malt Protein Flour in Fingerling Rainbow Trout Diets.** Fisheries Science V.60(4): 455-460p. - 1994.

YONE, Y., FURUICHI, M. AND URANO, K. **Effects of dietary *wakame Undaria penatifida* and *Ascophyllum nodosum* supplements on growth, feed efficiency, and proximate compositions of liver and muscle of red sea bream.** Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, V.52(8): 1465-1468p. - 1986.

ZAVALA-CAMIN, L. A. **Introdução aos estudos sobre Alimentação Natural em Peixes.** Ed. EDUEM, Maringá, 129 p. - 1996.

ZIMMERMANN, S. & WINKLER, L.T. **O cultivo de peixes em gaiolas flutuantes visando um melhor aproveitamento dos recursos hídricos do sul do Brasil.** IV Encontro Rio-grandense de Técnicos em Aquicultura, 124-150p. - 1993.

ZIMMERMANN, S. **A experiência da indústria da aquicultura de águas interiores em Israel e suas aplicações para o sul do Brasil.** IV Encontro Rio-grandense de Técnicos em Aquicultura, 40-64p. - 1993.

ZIMMERMANN, S. **“Incubação Artificial: técnica que permite a incubação de tilápia-do-Nilo geneticamente superiores”.** Panorama da Aquicultura, V.54 (1999) – 15-21p. - 1999.

CAPÍTULO IV

ANÁLISES SENSORIAIS

1. INTRODUÇÃO

1.1 - O “flavor” de animais marinhos e de água doce

Os peixes de água doce, em geral, apresentam menor aceitação e, conseqüentemente, menor consumo que os peixes marinhos. Consumidores alegam odor e sabor desagradáveis, como gosto de lama, nesses animais, porém uma parcela desses consumidores, reclamam também, do odor forte que o peixe marinho possui.

Peixes comestíveis e crustáceos de origem marinha ou de água doce, são frequentemente afetados por odores e sabores que podem ser providos pelas dietas ou pelo meio ambiente em que vivem. Salmões e bacalhaus podem apresentar odores de petróleo e amora-preta; camarões e lagostas, odores de alho e/ou areia; camarões e peixes, odores semelhantes ao do “iodofórmio”; e camarões e peixes de água doce, odores de lama, barro ou de terra, WITHFIELD (1999).

Bromofenóis voláteis têm demonstrado estar associados ao aroma e sabor de peixes e alimentos marinhos (BOYLE *et al.*, 1992). Esses autores citaram ainda, que em pesquisas envolvendo peixes, crustáceos e moluscos marinhos, encontraram consideráveis concentrações de bromofenóis nesses animais. Entretanto, em peixes de água doce, somente esporadicamente, baixas concentrações foram detectadas, dando suporte a hipótese de que os bromofenóis são largamente distribuídos através dos alimentos marinhos. Tem sido sugerido por diversos pesquisadores (WHITFIELD *et al.*, 1988; WHITFIELD, 1990; ANTHONI *et al.*, 1990) que esses compostos voláteis são biossintetizados por algas, esponjas e bryozoas marinhos e chegam aos peixes, crustáceos e mariscos através da cadeia alimentar.

O “flavor” dos crustáceos tais como, camarões e lagostas são muito dependentes do meio ambiente em que eles se encontram. Quando vivem em águas não poluídas, eles podem concentrar odores provenientes de compostos que ocorrem naturalmente na cadeia alimentar. Alguns desses compostos, produzem odores que podem conferir aceitabilidade ou serem causa de rejeição por parte dos consumidores, WHITFIELD (1990). Segundo este mesmo autor, o “flavor” desses animais pode ser formado a partir da atividade microbiana ou enzimática, durante a manipulação e processamento dos mesmos.

WHITFIELD *et al.* (1988), identificaram os compostos 2-bromofenol, 4-bromofenol, 2,4-dibromofenol, 2,6-dibromofenol e o 2,4,6-triibromofenol, como a causa

de um “flavor” semelhante ao iodofórmio, em camarões *Metapenaeus endeavouri*, em concentrações que variaram de 60 ng a 200 µg/kg, na carne desses animais. Segundo esses mesmos autores, foram detectados em algas marinhas e bryozoas, compostos que, provavelmente, conferem o “flavor” desses animais, em concentrações consideráveis.

BEMELMANS & BRABER (1983) pesquisaram arenques estragados (em processo de deterioração) por possuírem um odor agressivo e gosto descritos como iodofórmio e fenólico. Esses pesquisadores isolaram a gordura desses animais, analisaram-na através de GC-MS (Cromatografia gasosa e Espectrometria de massa) e constataram que a causa do “flavor” dos arenques estragados era uma contaminação por bromofenóis. Porém, estes compostos não foram encontrados em arenques de boa qualidade (alto grau de frescor), sugerindo que pode ocorrer reações químicas entre brometos e fenóis, durante a degradação desses animais, entretanto, nenhuma evidência foi encontrada para apoiar essa hipótese.

WHITHFIELD *et al.* (2000), examinaram, através de sistema GC-MS (Cromatografia gasosa acoplado ao Espectrômetro de massa), as carcaças e conteúdos estomacais de dez espécies de peixes marinhos e encontraram bromofenóis em oito delas, com concentrações que variaram de 3 a 40 ng/g. Isto sugere que o conteúdo de bromofenóis entre as espécies analisadas, pode ser explicado através da dieta, com contribuições relativas de organismos bentônicos e algas marinhas, pois foram encontrados bromofenóis em todos os carnívoros e em diversos onívoros bentônicos, porém, não foram encontrados bromofenóis em carnívoros pelágicos.

Acredita-se que a alimentação de peixes de água doce com rações contendo algas marinhas que possuem bromofenóis, poderá provavelmente, conferir sabor e odor característicos de produtos marinhos, ou pelo menos, modificar o “flavor” desses animais, ao ponto de mascarar o sabor e odor de lama, tornando-os mais aceitáveis, sob o ponto de vista do consumidor.

1.2 – Testes sensoriais

Para a comprovação de mudanças no “flavor” de produtos alimentícios, a análise sensorial é utilizada como instrumento de fundamental importância.

Durante toda a sua existência, o homem aceita ou rejeita os alimentos, de acordo com as sensações que experimenta ao observar ou ingerir tais alimentos. Essa qualidade sensorial do alimento que determina a reação do consumidor, não é uma característica própria do alimento, mas sim o resultado da interação entre o alimento e o homem, ou seja, é função tanto dos estímulos procedentes do alimento, como das condições fisiológicas, psicológicas e sociológicas do indivíduo que avalia o alimento, GARRUTI *et al.* (2001).

O Método Analítico Discriminativo de Diferença designado de “TESTE TRIANGULAR” (diferença simples ou global), permite a constatação de diferenças significativas, porém, não determina o que, ou o quanto elas são diferentes (ABNT, 1993).

A análise sensorial, hoje, é definida como sendo uma disciplina usada para evocar, medir, analisar e interpretar as reações produzidas pelas características dos alimentos e materiais, como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (ABNT, 1993). Constitui-se uma medida integrada e multidimensional com três vantagens importantes: identifica a presença de diferenças perceptíveis, identifica e quantifica as características sensoriais importantes de forma rápida, e identifica problemas particulares que não podem ser detectados por outros procedimentos analíticos Nakayama & Wessmam (1979), citados por (GARRUTI *et al.*, 2001).

Portanto cabe à Análise Sensorial:

- Identificar as características de interesse na qualidade sensorial do alimento: identificar o que medir (sabor, cor, aroma, etc.)
- Selecionar o método estatístico sensorial mais adequado para descrever e quantificar a sensação percebida pelo homem em resposta ao estímulo provocado pelo alimento: identificar como medir.
- Aplicar o método estatístico mais adequado para avaliar os resultados: analisar e interpretar os resultados GARRUTI *et al.* (2001).

2 - OBJETIVOS

Analisar sensorialmente, através do teste Triangular, os músculos dos peixes alimentados com rações contendo inclusões de algas marinhas em suas composições, para verificar possíveis alterações no odor e sabor, dos indivíduos testados, comparando-os com indivíduos que não receberam algas em suas refeições.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Análises sensoriais

Para os testes sensoriais, os peixes foram descongelados, descamados e filetados. Os filés foram cortados em blocos de aproximadamente 2 cm² X 1 cm de espessura. Foram realizados 3 testes consecutivos, onde cada tratamento foi confrontado com as amostras controle:

1º Teste: A x B, onde B corresponde à amostra do peixe alimentado com a Alga *Ulva fasciata*

2º Teste: A x C, onde C corresponde à amostra do peixe alimentado com a Alga *Ulva lactuca*.

3º Teste: A x D, onde D corresponde à amostra do peixe alimentado com a Alga *Vidalia obtusiloba*.

Obs: Nos 3 testes acima, "A" corresponde à amostra do peixe alimentado com a dieta padrão, ou seja, sem inclusão de alga marinha.

As porções das amostras foram casualizadas entre os julgadores em todas as combinações possíveis: (AAB) (ABA) (ABB) (BAB) (BBA) e (BAA), procedendo-se da mesma maneira para os conjuntos das amostras (A e C) e (A e D).

As combinações que identificaram as amostras foram colocadas em uma ficha adequada para este tipo de teste, **FIGURA 21**

TESTE TRIANGULAR			
NOME: _____		DATA – 25/09/01 - TESTE 02	
Você está recebendo três amostras codificadas de peixe. Duas são iguais e uma é diferente. Por favor, cheire as amostras da esquerda para a direita e identifique, com um círculo, a amostra de odor diferente.			
	372	455	653
Comentários: _____			

FIGURA 21 – Ficha utilizada na análise sensorial - TESTE TRIANGULAR

Vinte e cinco julgadores, variando entre 20 e 45 anos, recrutados dentre os funcionários e bolsistas da EMBRAPA AGROINDÚSTRIA TROPICAL, avaliaram a diferença sensorial no aroma das amostras dos peixes dos diversos tratamentos, através do Teste Triangular (ABNT 1993).

As amostras foram apresentadas à temperatura de 22 °C dentro de um copinho de plástico transparente, fechado por uma tampinha, também de plástico, codificadas com números de três dígitos. Foi informado a cada provador que, duas amostras eram iguais e uma diferente. Neste caso ele deveria identificar, através do odor, a amostra diferente, circulando o número correspondente a esta amostra na ficha de avaliação, **FIGURA 20**. Caso o julgador não conseguisse identificar a amostra diferente, ele deveria fazer uma escolha forçada. A probabilidade da amostra diferente ser selecionada ao acaso é de 1/3 (**FIGURAS 22, 23 e 24**).

Nas cabines onde os provadores fizeram os testes, a iluminação foi feita com luzes vermelhas, para mascarar possíveis diferenças de cor entre as amostras, (**FIGURAS 25, 26 e 27**).



FIGURA 22 – Filés de tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, alimentadas com dieta Padrão, sem inclusão de alga (filé 1), dieta D-1, contendo a alga *Ulva fasciata* (filé 2), dieta D-2, contendo a alga *Ulva lactuca* (filé 3) e dieta D-3, contendo a alga *Vidalia obtusiloba* (filé 4).



FIGURA 23 – Amostras de filés de tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, Vr. “Chitralada”, preparadas para a Análise Sensorial (Teste Triangular), seguindo sempre o seqüenciamento (AAB) aleatório pré-estabelecido, para a formação de três amostras por provador.



FIGURA 24 – Amostras preparadas para distribuição na Análise Sensorial dos filés de peixe (Teste Triangular), sempre em grupos de 3 amostras por cada provador.



FIGURA 25 – Vista frontal das janelinhas das cabines de análises sensoriais, por onde as amostras são entregues aos provadores.



FIGURA 26 – Cabines utilizadas para as Análises Sensoriais, vista internamente.



FIGURA 27 – Provedora, por ocasião da Análise Sensorial dos peixes (Teste Triangular).

4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

O uso de rações com inclusões de algas marinhas, contendo bromofenóis em suas composições químicas, visando alterações no “flavor” dos peixes alimentados com as mesmas, constituía-se o principal objetivo deste trabalho.

No primeiro experimento, os peixes alimentados com dietas do Tratamento A (A-1, A-2 e A-3), com inclusão de 5, 10 e 15% de farinha da alga marinha *Gracilaria cornea*, respectivamente, no final de 60 dias de cultivo, a análise sensorial, realizada por Engenheiros de Pesca, alunos do Curso de Engenharia de Pesca/UFC e técnicos ligados ao setor de piscicultura, não detectaram diferenças significativas, entre estes e o “flavor” dos animais alimentados com a ração padrão (sem alga marinha).

Os peixes alimentados com dietas do tratamento B (B-1, B-2 e B-3), com inclusão de 5, 10 e 15% de farinha da alga marinha *Gracilaria caudata*, apresentaram comportamento análogo aos do tratamento A, ou seja, também não alteraram o “flavor”.

No segundo experimento, designado de tratamento C (dietas C-1, C-2 e C-3), contendo inclusão de 135, 270 e 405 mg de bromofenol/kg de ração, respectivamente, os peixes alimentados com essas dietas, ao final de 30 dias de cultivo, também não apresentaram alterações no “flavor”.

Os resultados negativos, para as pretendidas alterações no “flavor”, dos animais tratados nos cultivos acima, encontram justificativas, provavelmente, na manipulação inadequada, quando da elaboração das dietas. Os bromofenóis são compostos voláteis e, nos casos dos tratamentos A e B, as algas envolvidas foram secadas em estufa (65 °C) , por período de 72 horas, trituradas em moinho elétrico, misturadas aos outros ingredientes das rações e peletizadas em picador de carne, processo que envolve temperatura e pressão elevadas, com liberação de calor. Após passagem por todas essas etapas, provavelmente, os compostos fenólicos existentes nas algas, volatilizaram. Este fato passou despercebido na montagem do experimento, e só foi cogitado, quando da busca de respostas para essa questão.

No caso do tratamento C (dietas C-1, C-2 e C-3), com inclusão de uma solução de bromofenol, os erros cometidos na elaboração das dietas contendo algas marinhas, também se repetiram neste tratamento, cujas justificativas, provavelmente, são as mesmas citadas no primeiro caso.

Após os insucessos alcançados nos dois primeiros experimentos, partiu-se para uma terceira tentativa, com o delineamento do tratamento D (dietas D-1, D-2 e D-3),

contendo inclusões de extratos de três algas marinhas, *Ulva fasciata*, *Ulva lactuca* e *Vidalia obtusiloba*, com comprovada existência de bromofenóis em suas composições químicas, feita através de ensaios enzimáticos (FIGURA 3 - atividade bromoperoxidásica), como também, através da literatura. Desta forma, no final de 30 dias de arraçoamento, os peixes foram conduzidos para o Laboratório de Análise Sensorial da Embrapa, para realização dos testes sensoriais, visando detectar ou não, alterações no odor das amostras de músculos de peixes tratados com algas marinhas e os que foram alimentados com dieta padrão. Os resultados dos testes, identificaram como sendo diferentes, as amostras dos peixes que foram alimentados com rações contendo algas marinhas, em relação ao odor das amostras dos peixes que se alimentaram com dieta padrão.

No Teste envolvendo as amostras A e B (Padrão e *Ulva fasciata*), 15 dentre 26 julgadores acertaram a amostra diferente (B), o que corresponde, na TABELA TE-02 do Teste Triangular, a uma diferença significativa entre as amostras testadas, ao nível de significância de 1% ($p \leq 0,01$). Nas amostras A e C (padrão e *Ulva lactuca*), 16 dos 24 provadores foram capazes de identificar a amostra diferente, correspondendo, na TABELA TE-02, a um nível de significância de 0,1% ($p \leq 0,001$).

No terceiro Teste, entre as amostras A e D (Padrão e *Vidalia obtusiloba*), os 28 julgadores acertaram 15 vezes a amostra correta (D), constituindo, segundo a TABELA TE-02, um nível de diferença significativa de 5% ($p \leq 0,05$).

A coloração dos filés dos peixes alimentados com dietas do Tratamento D (dietas D-1, D-2 e D-3), que continham inclusões de algas marinhas, visivelmente apresentaram coloração avermelhada, conforme pode ser visto na FIGURA 21, filés 2, 3 e 4, enquanto que, nos peixes alimentados com dieta Padrão, a coloração do filé não foi alterada, permanecendo branca, como nas tilapias do Nilo encontradas na natureza.

Após os testes, os provadores foram argüidos sobre as diferenças detectadas e alguns citaram que, essas diferenças conferiram um odor mais agradável ao pescado, não chegando a relacionar com o odor de peixe marinho.

Acredita-se que o uso de extratos de algas marinhas “*in natura*”, seja um caminho a ser percorrido para obtenção de alterações no “flavor” de peixes de água doce, porém, será preciso definir melhor, um percentual adequado de inclusão das algas marinhas nos extratos aquosos e a concentração desses extratos.

5 -CONCLUSÃO

Com base nos resultados dos Testes Sensoriais, pode-se concluir que as algas marinhas contendo bromofenóis em suas composições químicas, certamente poderão modificar o odor, a cor e, conseqüentemente, o sabor dos peixes de água doce, que se alimentarem com rações contendo inclusões dessas algas.

Sugerimos que, futuras pesquisas deverão dar continuidade a este trabalho, visando determinar os parâmetros adequados de utilização dessas algas marinhas (percentual de inclusão, manejo, tempo de cultivo, espécies de algas, de peixes, etc.).

6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

As algas marinhas *Gracilaria cornea*, *Gracilaria caudata*, *Ulva fasciata*, *Ulva lactuca* e *Vidalia obtusiloba*, coletadas na costa cearense, foram inicialmente analisadas quanto às suas composições bioquímicas.

O valor nutricional destas algas foi comparado com o de alguns ingredientes utilizados na alimentação de peixes, como a soja e o milho.

Este estudo comparativo mostrou que as espécies pesquisadas parecem ser uma importante fonte de proteínas e lipídeos, de alto valor nutricional para emprego na alimentação de peixes.

A ausência de atividade tóxica na maioria das espécies analisadas e, a baixa concentração de alguns fatores antinutricionais, como lectinas e inibidores de tripsina, acentuou o nosso interesse na utilização destas algas como fonte complementar de proteína e ácidos graxos essenciais, especialmente, o araquidônio, Omega-3 e Omega-6, na nutrição de peixes tilapia do Nilo *Oreochromis niloticus*, Vr. Chitralada.

Estas algas marinhas são também fontes de bromofenóis, o que pode ser visto como essencial para promover as alterações de aroma e cor nos músculos de peixes alimentados com as rações aqui formuladas.

A partir da análise dos demais resultados obtidos no presente trabalho, apontamos, dentre todos os experimentos de arraçamento testados, o Tratamento D (utilização da alga “in natura”) como o mais adequado, especialmente, para a obtenção das alterações de “flavor” nos indivíduos cultivados.

Visando a produção de uma ração de valor nutricional e comercial, sugerimos a continuidade destes experimentos, em busca dos percentuais ótimos de inclusões destas algas nas dietas, bem como desenvolver a melhor forma de inclusão e tempo de duração do cultivo da telaria do Nilo, a partir das condições empregadas neste trabalho de tese.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – **Teste triangular em análise sensorial dos alimentos e bebidas** – NBR 12995. São Paulo: ABNT, 1993.

ANTHONI, U.; LARSEN, C.; NIELSEN, P H.; and CHRISTOPHERSEN, C. – **Off flavor from commercial crustaceans from the North Atlantic Zone.** *Biochemical Systematic & Ecology*, 18: 377. – 1990.

BEMELMANS, J. M. H., den BRABER, H.J.A – **Investigation of na iodine-like teste in hering from the baltic sea.** *Water Sci Technol.*, vol. 105-133. – 1983.

BOYLE, J L.; LINDSAY, R C.; and STUBIER, D A – **Bromophenol distribution un salmom and selected seafoods of fresh – and salt water origin.** *Journal Off Food Science*, vol. 57 n° (4): 918-922. – 1992.

GARRUTI, D. S.; LIMA, J. R.; & NASSU, R.T. – **Análise sensorial na indústria de alimentos.** Curso Oferecido ao CENTEC. EMBRAPA, Fortaleza. Ce. 2001.

WHITFIELD, F. B.; LAST, J. H.; SHAW, K. J. and TINDALE, C. R. **Dibromophenol: the cause of na iodoform-like off-flavour in some australian crustacea.** *Food Research Laboratory. CSIRO. Division of Food Research. P.O Box 52, North Ryde, NSW 2113, Australia. V.46 - P-(29-42).* - 1988.

WHITFIELD, F. B. **Flavour of prawns and lobsters.** *Food Ver. International*, (ed) R. Teramish, A Kabayashi and T Gill. 6(04): 505. – 1990.

WHITFIELD, F. B. **Biological origins of off-flavours in fish and crustaceans.** *Water Science and Technology. V.40, Issue 6. Food Science Australia, P.º Box 52, North Ryde, NSW, Australia. P-(265-272).* - 1999.

WHITFIELD, F. B.; HELIDONIOTIS, F.; SVORONOS, D. SHAW K. J. and FORD, G.L. **The source of bromophenols in some species os Australian ocean fish.** *Water Science*

and Technology. V.31, Issue 11. Division of Food Science and Technology, Food Research Laboratory, P.O Box 52, North Ryde, NSW, Australia. P-(113 - 120). - 2000.