

# **DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DA PROTEÍNA DA TORTA DE CUPUAÇU (*Theobroma grandiflorum*) Schum. E SUA VIABILIDADE COMO INGREDIENTE ALTERNATIVO PARA RAÇÕES DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*).**

Ana Cristina Coêlho MASCARENHAS<sup>1</sup>; Alexandre HONCZARYK<sup>2</sup>; Esaú Aguiar CARVALHO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC/FAPEAM/INPA; <sup>2</sup>Orientador CPAQ/INPA; <sup>3</sup>Colaborador PPGBIOTEC/CAPES/UFAM.

## **1. Introdução**

A piscicultura é uma atividade produtiva que favorece um controle particular do crescimento, reprodução e alimentação dos peixes, bem como o equilíbrio entre o interesse econômico e a exploração racional da natureza. Desses parâmetros, a alimentação representa de 40% a 60% dos custos operacionais da atividade (Cheng, *et al.*, 2003). Na Amazônia alguns trabalhos têm sido desenvolvidos abordando aspectos nutricionais como a inclusão de fontes alternativas vegetais em rações para peixes tropicais, contribuindo para a redução dos índices econômicos nos cultivos (Roubach, 1994; Silva *et al.*, 2003; Oishi, 2007).

Devido ao elevado custo (Sá & Fracalossi, 2002), a ração torna-se um fator muito importante para a administração nas criações modernas. A proteína é a fração da ração que adiciona maior custo à mesma, logo, é fundamental a concentração mínima desse nutriente em dietas balanceadas de forma que atenda às exigências nutricionais dos peixes (Guimarães *et al.*, 2009).

Dentre os ingredientes de origem protéica a farinha de peixe apresenta maior qualidade, mas este recurso tem um alto custo, e em vista disso, existe a necessidade de elaboração de rações com ingredientes substitutos que atendam às demandas nutricionais, econômicas e de cultivo. Uma alternativa seria o aproveitamento do descarte da agroindústria do despulpamento de frutos consumidos pela população, como o cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) Schum.

A torta do cupuaçu (*T. grandiflorum*) Schum. é o resíduo da extração do óleo da semente seca, livre de qualquer resíduo da polpa, por prensagem mecânica, de onde se retira 80% do óleo total da semente, obtendo-se um resíduo com aproximadamente 11% de extrato etéreo total (Pereira, 2009). O uso dessa torta como ingrediente alternativo nas rações para peixe pode contribuir para redução dos custos de produção, logo estudos sobre a digestibilidade desse ingrediente se fazem necessários.

Informações sobre a digestibilidade têm viabilizado o uso de uma variedade de ingredientes em rações completas para peixes, sendo a que determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (*in vivo*) dos nutrientes empregados em rações para diferentes espécies comerciais fornecem valores próximos da precisão daquilo que o animal realmente aproveita na digestão, contudo, consomem muito tempo, são mais caros e requerem técnicas de manuseio dos animais. Métodos *in vitro*, têm avaliado mais rapidamente o valor nutricional de ingredientes para rações (Lazo *et al.*, 1998; Tonheim *et al.*, 2007) e apresentam boa correlação com valores alcançados pelo método *in vivo* (Fernecci & Sener, 2005).

Uma das espécies atualmente mais cultivadas na Amazônia é o tambaqui (*Colossoma macropomum*) devido sua grande aceitação no mercado, bem como a facilidade que possui para adaptar-se ao confinamento e arraçoamento. É um peixe que tem hábito alimentar onívoro com tendência frugívora, e se destaca por ter uma grande capacidade de digerir proteína vegetal e animal (Nunes *et al.*, 2006). Por estas razões, o objetivo do trabalho foi determinar, por método *in vitro*, a digestibilidade da fração protéica total da torta de cupuaçu (*T. grandiflorum*) Schum., visando à substituição parcial da farinha de peixe diminuindo o custo de produção das rações.

## **2. Material e Métodos**

**Local de Estudo-** Foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Peixes, da Coordenação de Pesquisas em Aquicultura – CPAQ.

**Obtenção dos ingredientes-** A farinha de peixe comercial foi obtida no varejo de rações e a torta de cupuaçu (*T. grandiflorum*, Schum.) junto à empresa Cupuama, localizada na cidade do Castanho, município do Careiro.

**Análises Químico Bromatológicas-** Foram realizadas no Laboratório de Nutrição de Peixes – CPAQ – INPA, conforme metodologia descrita pela A.O.A.C (1997) afim de determinar: energia bruta (EB), umidade (UM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinza total (CZ), fibra bruta (FB) e extrato não-nitrogenado (ENN) dos ingredientes.

*Delineamento experimental*- Composto de 3 tratamentos, 2 representativos - teste (T1 e T2) e 01 controle (T0) assim distribuídos: farinha de peixe (T1), torta de cupuaçu (T2) e caseína (T0). Cada tratamento com 3 réplicas.

*Digestibilidade in vitro*- Seguiu-se a metodologia descrita por Lazo *et al.*, (1998). A enzima utilizada foi a Tripisina tipo IX (14.900 BAEE unidades/MG de proteína Sigma Company, St. Louis, Missouri, USA), de pâncreas suíno. Para cada ensaio, os ingredientes foram finamente moídos em peneira de malha de 0,8 mm, pesados de forma a fornecerem 321,5 mg de PB, determinada pelas análises bromatológicas, em seguida, imersos em água destilada (50 mL) a fim de produzir uma suspensão de ingrediente que contivesse 6,25 mg de PB/mL (A.O.A.C,1997). O hidratado (ingrediente + água destilada) ficou em repouso por 1 h a temperatura ambiente de 25°C, em um Becker de 250 mL. Para a solução da enzima (SE), foram pesados 7,5 mg de tripisina adicionando-se, em seguida, 5 mL de tampão Tris-HCl pH 8,0 (1,5 mg/mL). Para cada réplica foi preparada uma solução enzimática (15 minutos antes de completar 1 h de repouso dos hidratados). Essas soluções foram usadas dentro de 2 h após seu preparo. A SE foi adicionada ao hidratado, que estava previamente em banho maria (Banho Dubnoff TE-053/TECNAL), por 5 minutos após o repouso de 1 h. Em seguida foram medidos os valores de pH, em intervalos de 1 minuto, por um tempo total de 10 minutos de experimento. A variação de pH foi utilizada como índice de digestibilidade da proteína dos ingredientes e relacionada ao índice de digestibilidade da proteína referência (caseína), pela fórmula proposta por Lazo *et al.*, (1998). Digestibilidade Relativa da Proteína (DRP) =  $[(-\Delta\text{pH}_{\text{ingrediente}}) : (-\Delta\text{pH}_{\text{caseína}})] \times 100$ . A caseína foi escolhida como proteína referência devido, *in vivo*, à sua alta digestibilidade aparente da proteína (aproximadamente 99%), registrada para camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Akiyama *et al.*, 1989) e de 95,2% registrada para truta arcoíris (Asknes *et al.*, 1996).

*Análise estatística*: Uma análise de variância (ANOVA), foi aplicado para determinar se as estimativas obtidas, *in vitro*, para digestibilidade da proteína dos ingredientes diferirão significativamente ao nível de 5% ( $p < 0,05$ ).

### 3. Resultados e Discussão

A Tabela 1 representa os valores obtidos nas análises bromatológicas dos ingredientes. A torta de cupuaçu apresentou 19,0% de PB, valor considerável posto que é um ingrediente vegetal. A figura 1 representa a diminuição do pH (média dos valores de pH dos tratamentos) dos ingredientes ao longo dos 10 minutos de experimento. A ação enzimática durante os 10 minutos de experimento para torta de cupuaçu e caseína esteve dentro de condições de pH próximos (faixa: 7,71-7,35).

A magnitude da diminuição do pH de cada ensaio representou os valores de DRP dos ingredientes e foram aplicados na fórmula  $(\text{DRP}) = [(-\Delta\text{pH}_{\text{ingrediente}}) : (-\Delta\text{pH}_{\text{caseína}})] \times 100$ . Os resultados da digestibilidade *in vitro* estão representados na Tabela 2., cujos valores não apresentaram diferença entre os tratamentos (ANOVA). Observou-se que, os valores de digestibilidade *in vitro* determinados para torta de cupuaçu foram significativos ( $p < 0,05$ ), mesmo este sendo de origem vegetal. Segundo Pires *et al.*, (2006), proteínas de origem animal têm maiores valores de digestibilidade do que as de origem vegetal, devido à ausência de fatores antinutricionais, portanto, podemos atribuir a esta razão os baixos valores encontrados de digestibilidade para a torta de cupuaçu. Os valores obtidos para torta de cupuaçu de 91,58% corroboram com os valores encontrados por Satterlee *et al.* (1979) que utilizaram um método multi-enzimático sob diferentes temperaturas de incubação das réplicas, obtendo DRP de 87,35% para a farelo de soja, mostrando o potencial nutritivo que essas fontes vegetais apresentam como substitutivo em rações para peixe.

A digestibilidade de uma fonte protéica pode variar dependendo da procedência, da origem, de tratamentos térmicos ou de outros métodos de averiguação do grau de hidrólise das fontes alimentares (Pires *et al.*, 2006). Técnicas *in vitro* podem ser utilizadas para predizer a digestibilidade de novos ingredientes com menor custo/benefício, pois são empregadas em menor tempo, predizendo muitas vezes valores relativos aos encontrados em ensaios aparentes. Neste trabalho a DRP da torta do cupuaçu, obtida pelo método da queda do pH foi significativa. Segundo Ezquerria *et al.* (1997), o conhecimento sobre a digestibilidade das proteínas é importante para formulação das dietas devido o suprimento desse ingrediente ser baseado no consumo protéico dietético, contudo importando o suprimento em aminoácidos. Peixes não têm requisitos absolutos de proteínas e sim dos aminoácidos que as compõem (Olivia-Teles, 2000).

Tabela 1. Análise químico-bromatológica (%) dos ingredientes utilizados nos ensaios.

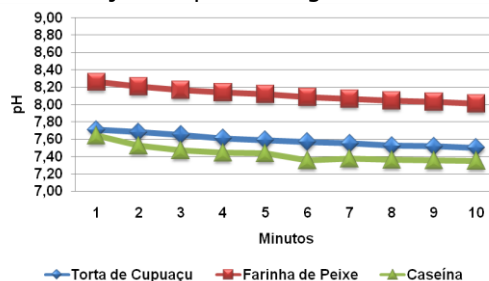
INGREDIENTES	UM	CZ	EE	PB	FB	ENN
CASEÍNA*	6,71	1,49	...	58,2	3,89	30,59
FARINHA DE PEIXE	12,4	15,0	9,8	55,0	-	-
TORTA DE CUPUAÇU	9,1	5,6	11,7	19,0	16,6	47,0

UM= umidade; CZ= cinza; EE= extrato etéreo; PB= proteína bruta; EEN=extrato não nitrogenado.  
\*Sigma® (Chong *et al.*, 2002).

Tabela 2. Digestibilidade *in vitro* dos ingredientes

Ingrediente	Média ± Desvio padrão	Coefficiente de Variação (%)	ANOVA <i>p</i>	Levene
Torta de Cupuaçu	91.58 ± 55.69	60.8%		
Farinha de Peixe	120.17 ± 93.35	77.7%	0,86	0,46
Caseína	100.00 ± 0.00	0.0%		

Figura 1. Diminuição do pH dos ingredientes durante 10 minutos.



#### 4. Conclusão

Através do método *in vitro* (método da queda do pH) a torta de cupuaçu apresentou uma boa digestibilidade relativa em relação à farinha de peixe e à caseína, apresentando potencial substitutivo parcial de fonte protéica em rações para tambaqui, contribuindo para redução de custos na produção em relação à criação dessa espécie, no entanto ensaios *in vivo* são necessários para estabelecer comparações com o método *in vitro* na predição da digestibilidade da torta de cupuaçu, a fim de fornecer acurados valores e maiores garantias para sua utilização como ingrediente substitutivo de fonte protéica.

#### 5. Referências

Akiyama, D.M.; Coehlo, S.R.; Lawrence, A.L. and Robinson, E. H.1989.Apparent digestibility of feedstuffs by marine shrimp *Penaeus vannamei* Boone. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 55: 91-98.

Aksnes, A.; Hjerntes, T.; Opstvededt, J.1996.Comparison of two assay methods for determination of nutrient and energy digestibility in fish.*Aquaculture*, 140: 343-359.

A.O.A.C - Association of official analytical chemists.*Official methods of analysis*. 1997.12<sup>th</sup>Edition. George Banta Co. Inc. Manasha, Winsconsin, USA. 937pp.

Cheng, Z.J.; Hardy, R.W.; Usry, J.L. 2003. Effects of lysine supplementation in plant protein-based diets on the performance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and apparent digestibility coefficients of nutrients. *Aquaculture*, 215 (1-4): 255-265.

Chong, A.S.C.; Hashim, R.; Ali, A.B. 2002. Assessment of dry matter and protein digestibilities of selected raw ingredients by discus fish (*Symphysodon aequifasciata*) using *in vivo* and *in vitro* methods. *Aquaculture Nutrition*, v.8, p.229-238.

Ferneci, S.; Sener, E. 2005. *In vivo* and *in vitro* protein digestibility of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972) fed steam pressured or extruded feeds. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 5: 17-22.

Guimarães, I.G.; Falcon, D.R.; Schich, D.; Barros, M.M.; Pezzato, L.E. 2009. Digestibilidade aparente de rações contendo complexo enzimático para tilápia-do-nilo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.61, n.6, p.1397-1402.

Lazo, J.P.; Romaine, R.P.; Reigh, R.C. 1998. Evaluation of three *in vitro* enzyme assays for estimating protein digestibility in the pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. *Journal of the world Aquaculture Society*, 29(4):442-450.

Nunes, E.S.S.; Cavero, B.A.S.; Pereira-Filho, M.; Roubach, R. 2006. Enzimas digestivas exógenas na alimentação do tambaqui. *Pesq. Agrop. Bras.* v.41, n.1, p.139-143.

Oishi, C.A. 2007. Resíduo da castanha da Amazônia (*Bertholletia excelsa*) como ingrediente em rações para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, 1-6pp.

Olivia-Teles, A. 2000. Recent advances in European sea bass and gilthead sea bream nutrition. *Aquaculture Int.*, v.8, p.477-492.

Pereira, E.M. de O. 2009. Torta de Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) Schum. na alimentação de ovinos. Tese (Doutorado em zootecnia/Produção Animal). Universidade Estadual Paulista de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal/São Paulo.

Pires, C.V.; Oliveira, M.G.A.; Rosa, J.C.; Cruz, G.A.D.R.; Mendes, F.Q.; Costa, N.M.B. 2006. Digestibilidade *in vitro* e *in vivo* de proteínas de alimentos: estudo comparativo. v.17, n.1, p.13-23.

Roubach, R.; Saint-Paul, U. 1994. Use fruits and seeds from Amazonian inuntade forest in feeding trials with *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Pisces, Characidae). *Journal of Applied Ichthyology*, (10): 134-140.

Sá, M.V. do Carmo; Fracalossi, D.M. 2002. Exigência protéica e relação energia/proteína para alevinos de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) Ver. *da Socie. Bras. de Zootec.*, v.31, p.1-10.

Satterlee, L.D.; H.F. Marshall and J.M. Tennyson. 1979. Measuring protein quality. *Journal of the Americam Oil Chemists Society* 56:103-109.

Silva, J.A.M. da.; Pereira-Filho, M.; Oliveira-Pereira, M.I. de. 2003. Frutos e sementes consumidos pelo tambaqui, *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818) incorporados em rações, digestibilidade e velocidade de trânsito pelo trato gastrointestinal. *Ver. Bras. Zootec.*, 32(6): 1815-1854.

Tonheim, S. K.; Nordgreen, A.; Hogoy, L.; Hamre, K.; Ronnestad, I. 2007. *In vitro* digestibility of water-soluble and water-insoluble protein fractions of some common fish larval feed ingredients. *Aquaculture*, 262:426-435.