

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**

**CONCENTRADO PROTÉICO DE FOLHAS DE MANDIOCA COMO
COMPLEMENTO ALIMENTAR PARA TILÁPIAS DO NILO**

LEANDRO BOHNENBERGER

CASCADEL – Paraná – Brasil

Julho – 2008

LEANDRO BOHNENBERGER

**CONCENTRADO PROTÉICO DE FOLHAS DE MANDIOCA COMO
COMPLEMENTO ALIMENTAR PARA TILÁPIAS DO NILO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola, área de concentração em Engenharia de Recursos Hídricos e Meio Ambiente.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Simone
Damasceno Gomes

CASCAVEL – Paraná – Brasil

Julho – 2008

1 Ficha catalográfica

2 Elaborada pela Biblioteca Central do Campus de Cascavel - Unioeste

B667c Bohnenberger, Leandro
Concentrado protéico de folhas de mandioca como complemento alimentar para tilápias do Nilo / Leandro Bohnenberger— Cascavel, PR: UNIOESTE, 2008.
54 f. ; 30 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Simone Damasceno Gomes
Dissertação (Mestrado) – Engenharia Agrícola, área de concentração em Engenharia de Recursos Hídricos e Meio Ambiente, Universidade Estadual do Oeste do Paraná.
Bibliografia.

1. Tilápia do Nilo (Nutrição). 2. Folhas de mandioca (Complemento alimentar). I. Gomes, Simone Damasceno. II. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. III. Título.

CDD 21ed. 639

Bibliotecária: Jeanine Barros CRB 9-1362

LEANDRO BOHNENBERGER

**CONCENTRADO PROTÉICO DE FOLHAS DE MANDIOCA COMO
COMPLEMENTO ALIMENTAR PARA TILÁPIAS DO NILO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola, área de concentração em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, **aprovada** pela seguinte banca examinadora:

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Simone Damasceno Gomes

Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, UNIOESTE

Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate

Departamento de Engenharia de Alimentos, UEPG

Prof^ª. Dr^ª. Silvia Renata Machado Coelho

Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, UNIOESTE

Cascavel, 23 de julho de 2008.

A Deus

Pelo dom da vida... Pela coragem de seguir em frente... Por erguer-me quando eu fraquejava... E a Ti, meu Deus, toda honra e toda glória, eternamente.

Aos meus pais Odilo Bohnenberger e Leonida Bohnenberger

Pela graça da vida... Pela amizade, apoio, incentivo, respeito, sabedoria e oportunidade... Pelo amor incondicional a mim dedicado.

A minha noiva Juliana Eitel

Pelo amor, dedicação, companheirismo e paciência... O tempo era curto, rápido e não me esperava... mas tu me compreendias e torcias por mim.

A minhas irmãs Viviane e Rosangela, meu cunhado Rodrigo, e minha sobrinha Isabela

Pelo incentivo, confiança e amizade... Muitas vezes estive ausente... mas agradeço por suas insistentes presenças.

A professora orientadora Dr^a. Simone Damasceno Gomes

Pela oportunidade, dedicação e ensinamentos... Por fazer do aprendizado não um trabalho... mas um contentamento.

DEDICO E OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da vida e por guiar meu caminho.

À minha família e minha noiva, que muito me apoiaram nos momentos difíceis.

À orientadora professora Dr^a. Simone Damasceno Gomes, pela oportunidade, sabedoria, compreensão, respeito, amizade e apoio.

Ao professor Dr. Wilson Rogério Boscolo, pela disponibilidade, amizade e cooperação na realização deste trabalho.

À professora Dr^a. Sílvia Renata M. Coelho, pela disponibilidade e colaboração.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, pela oportunidade de realização do curso de mestrado, e à CAPES, pelo apoio financeiro.

Ao Grupo de Estudos em Manejo na Aqüicultura – GEMAQ – UNIOESTE – *Campus* de Toledo, e a todos os seus técnicos e estagiários, que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

À Aquicultura Tupi – Guairá – Paraná, pelo fornecimento das larvas.

À Angela, técnica dos laboratórios do Curso de Engenharia de Pesca – UNIOESTE – *Campus* Toledo, pela paciência.

Aos professores das disciplinas cursadas, pela amizade e conhecimentos transmitidos.

A todos os colegas de Pós-Graduação, pela amizade e apoio.

Ao amigo e guerreiro Iedo Madalozzo pelos conselhos e incentivos.

Ao imortal tricolor, pelas alegrias e conquistas.

A todos que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

<u>1 Ficha catalográfica</u>	<u>ii</u>
<u>2 Elaborada pela Biblioteca Central do Campus de Cascavel - Unioeste.....</u>	<u>ii</u>
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO x	
ABSTRACT.....	xi
<u>3 INTRODUÇÃO.....</u>	<u>1</u>
<u>4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</u>	<u>3</u>
<u>4.1 Aspectos Gerais da Cultura da Mandioca.....</u>	<u>3</u>
<u>4.2 Produtividade de Folhas de Mandioca.....</u>	<u>4</u>
<u>4.3 Utilização das Folhas de Mandioca.....</u>	<u>5</u>
<u>4.4 Aspectos Nutricionais e Antinutricionais das Folhas de Mandioca.....</u>	<u>7</u>
<u>4.5 Obtenção do Concentrado Protéico de Folhas de Mandioca.....</u>	<u>9</u>
<u>4.5.1 Extração de proteínas de folhas de mandioca por precipitação isoeletrica</u> <u>.....</u>	<u>11</u>
<u>4.6 Aplicação do Concentrado Protéico de Folhas de Mandioca.....</u>	<u>12</u>
<u>4.7 Piscicultura.....</u>	<u>13</u>
<u>4.8 Tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus).....</u>	<u>15</u>
<u>4.9 Digestibilidade em Peixes.....</u>	<u>16</u>
<u>5 MATERIAL E MÉTODOS.....</u>	<u>19</u>
<u>5.1 Obtenção e Preparo das Folhas de Mandioca.....</u>	<u>19</u>
<u>5.2 Obtenção do Concentrado Protéico de Folhas de Mandioca Desidratadas</u>	<u>20</u>
<u>5.3 Análises Químicas de Caracterização.....</u>	<u>23</u>
<u>5.3.1 Umidade.....</u>	<u>23</u>
<u>5.3.2 Proteína bruta.....</u>	<u>23</u>
<u>5.3.3 Extrato etéreo.....</u>	<u>23</u>
<u>5.3.4 Cinzas.....</u>	<u>24</u>
<u>5.3.5 Composição mineral.....</u>	<u>24</u>
<u>5.4 Avaliação da Digestibilidade.....</u>	<u>24</u>

<u>5.5 Rações com a Inclusão do CPFM para Tilápias.....</u>	<u>29</u>
<u>5.6 Avaliação do Desenvolvimento e Sobrevivência da Tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus).....</u>	<u>31</u>
<u>5.7 Composição Química da Tilápia do Nilo.....</u>	<u>32</u>
<u>5.8 Análise Estatística dos Dados.....</u>	<u>32</u>
<u>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</u>	<u>33</u>
<u>6.1 Obtenção do Concentrado Protéico de Folhas de Mandioca (CPFM).....</u>	<u>33</u>
<u>6.2 Caracterização do Concentrado Protéico de Folhas de Mandioca.....</u>	<u>35</u>
<u>6.3 Coeficientes de Digestibilidade Aparente (CD).....</u>	<u>39</u>
<u>6.4 Inclusão do Concentrado Protéico de Folhas de Mandioca para Tilápias...41</u>	
<u>6.4.1 Desenvolvimento e sobrevivência da tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus).....</u>	<u>41</u>
<u>6.4.2 Composição química da tilápia do Nilo.....</u>	<u>43</u>
<u>7 CONCLUSÕES.....</u>	<u>45</u>
<u>8 SUGESTÕES DE CONTINUIDADE DE PESQUISA.....</u>	<u>46</u>
<u>REFERÊNCIAS.....</u>	<u>47</u>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição percentual das dietas referência e teste, utilizadas para a determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente do concentrado protéico de folhas de mandioca para a tilápia do Nilo	27
Tabela 2 - Composição percentual das rações experimentais, com diferentes níveis de inclusão do concentrado protéico de folhas de mandioca (CPFM), utilizadas para larvas de tilápia do Nilo (matéria natural)	30
Tabela 3 - Composição química das rações experimentais, com diferentes níveis de inclusão de concentrado protéico de folhas de mandioca, utilizadas para larvas de tilápia do Nilo (matéria natural).....	31
Tabela 4 - Valores médios da composição da farinha de folhas de mandioca desidratada e do concentrado protéico de folhas de mandioca (matéria natural).....	35
Tabela 5 - Teores de minerais encontrados no concentrado protéico de folhas de mandioca.....	37
Tabela 6 - Coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, energia bruta e proteína bruta e valores de proteína e energia digestíveis do concentrado protéico de folhas de mandioca para a tilápia do Nilo.....	39
Tabela 7 - Valores médios de peso final, ganho de peso, comprimento final e sobrevivência de tilápias do Nilo, na fase de reversão sexual, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de inclusão de concentrado protéico de folhas de mandioca.....	42
Tabela 8 - Valores médios de umidade, cinzas, extrato etéreo e proteína bruta das tilápias do Nilo, alimentadas com diferentes níveis de inclusão de concentrado protéico de folhas de mandioca.....	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Folhas de mandioca (<i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	3
Figura 2 - Fluxograma do processo de obtenção do CPFM desidratado.....	10
Figura 3 - Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	15
Figura 4 - Secagem das folhas de mandioca.....	20
Figura 5 - Folhas sendo trituradas, peneiradas e filtradas em tecido de algodão.	21
Figura 6 - Suco de folhas (à esquerda) e sobrenadante e precipitado após repouso por 24 horas a 4°C (à direita).....	21
Figura 7 - Líquido sobrenadante e concentrado protéico, depois da centrifugação.....	22
Figura 8 - Fluxograma da extração de concentrado protéico da folhas de mandioca por precipitação isoelétrica.....	22
Figura 9 - Tanques de coleta de 150 L. No detalhe: sifão na extremidade inferior.....	25
Figura 10 - Válvula de abertura e sifão para coleta das excretas.....	25
Figura 11 - Alimentos moídos e misturados. Ração teste (à esquerda) e ração referência (à direita).....	26
Figura 12 - Rações peletizadas. Dieta teste (à esquerda) e dieta referência (à direita).	27
Figura 13 - Rações com 0, 5, 10, 15 e 20% de inclusão de concentrado protéico de folhas de mandioca (da esquerda para a direita).....	30
Figura 14 - Resíduo fibroso (à esquerda). Concentrado protéico de folhas de mandioca antes do processo de secagem em estufa a 60°C (à direita).	34
Figura 15 - Concentrado protéico de folhas de mandioca após secagem a 60°C e trituração (matéria natural).....	34

RESUMO

Folhas de mandioca são ricas em proteínas, vitaminas e minerais e, apesar de serem facilmente encontradas a baixo custo, seu consumo direto fica limitado devido à presença de substâncias antinutritivas e/ou tóxicas. Na busca de criar alternativas para o uso dessas folhas, o presente trabalho objetivou determinar os coeficientes de digestibilidade aparente (CD) da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), e energia bruta (EB) do concentrado protéico de folhas de mandioca (CPFM) para a tilápia do Nilo, e avaliar sua inclusão na alimentação da tilápia. O concentrado foi extraído das folhas de mandioca por precipitação isoelétrica, método descrito por CEREDA & VILPOUX (2003). Foram determinados no concentrado protéico de folhas de mandioca (CPFM) o percentual de proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas, matéria seca (MS) e energia bruta (EB), que apresentaram, 48,42%, 13,57%, 3,48%, 93,01% e 5527 Kcal/Kg, respectivamente. Foram utilizadas 24 tilápias com peso médio de $86,92 \pm 36,70$ g. Os animais foram submetidos à metodologia de coleta de fezes, por sedimentação, em tanques afunilados. A MS, PB e EB do CPMF apresentaram CD de 33,06%, 66,57% e 30,06%, respectivamente. Apresentando valores de proteína e energia digestíveis de 32,23% e 1661,13 Kcal de ED/Kg. Para avaliar a inclusão do CPMF na alimentação da tilápia, foram utilizadas 300 larvas com idade de sete dias, distribuídas em 20 aquários com capacidade para 30 L de volume útil, em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo a unidade experimental constituída por um aquário com 15 larvas de tilápia. Foram elaboradas cinco rações isoprotéicas e isoenergéticas com 38,6% de proteína digestível e 3300 Kcal de ED/Kg de ração com níveis de 0, 5, 10, 15 e 20% de inclusão do CPMF. Ao final do período experimental, não foram observadas diferenças ($P>0,05$) nas médias de peso final, ganho de peso, comprimento final e sobrevivência das larvas alimentadas com rações, incluindo CPMF. Conclui-se que o CPMF é um alimento protéico e que pode ser utilizado em rações para tilápias em fase inicial em até 20% de inclusão sem causar prejuízos no desempenho e sobrevivência.

Palavras-chave: digestibilidade aparente, nutrição, *oreochromis niloticus*, proteína vegetal.

ABSTRACT

CASSAVA LEAF PROTEIN CONCENTRATE AS FOOD COMPLEMENT FOR NILE TILAPIA

Although cassava leaves are rich in proteins, vitamins and minerals and are easily found at low prices, their direct consumption is limited due to the presence of anti-nutritious and/or toxic substances. Aiming to create alternatives to the use of these leaves, the present paper aimed to determine the coefficients of apparent digestibility (AD) from the dry matter (DM), crude protein (CP) and crude energy (CE) of cassava leaf protein concentrate (CLPC) for Nile Tilapia, and to evaluate its inclusion in Nile Tilapia food. The CLPC has been extracted through isoelectric precipitation, method described by CEREDA & VILPOUX (2003). In the CLPC, it has been determined the perceptual of crude protein (CP), ether extract (EE), ashes, dry matter (DM) and crude energy (CE), which have shown 48.42%, 13.57%, 3.48%, 93.01% and 5527 Kcal/kg., respectively. 24 tilapias with an average weight of 86.92 ± 36.70 g have been used. The animals have been submitted to fecal collection methodology, through sedimentation, in tanks with funneled shapes. The DM, CP, and CE of CLPC have presented AD of 33.06%, 66.57% and 30.06%, respectively, thus, showing digestible protein and energy values of 32.23% and 1661.13 kcal of DE/kg. In order to evaluate CLPC inclusion in Nile Tilapia food, 300 larvae at the age of 7 days old have been used, which were distributed in 20 aquariums with capacity for 30 liters of useful volume, in a fully randomized outline with five treatments and four repetitions, pointing out that the experimental unit is consisted of an aquarium with 15 tilapia larvae. Five isoproteic and isoenergetic diets have been elaborated containing 38.6% of digestible protein and 3300 kcal of DE/kg of diets with level of 0, 5, 10, 15 and 20% of CLPC inclusion. At the end of the experimental time, differences have not been noticed ($W>0.05$) on the final average weight, weight gain, final length and survival of larvae which were fed with diets containing CLPC. It is concluded that CLPC is a protean food and it may be used in diets for tilapia in initial phase in up to 20% of inclusion without causing performance and survival harms.

Key-Words: apparent digestibility, nutrition, *Oreochromis niloticus*, vegetal protein.

3 INTRODUÇÃO

Um dos resíduos gerados na cultura da mandioca, especificamente no processo de colheita das raízes, é a folha. Segundo SAGRILO *et al.* (2001), estimativas da produção de folhas por hectare, estabeleceram o potencial de folhas desidratadas em torno de 2.250 Kg por hectare. Alguns pesquisadores têm estudado as folhas de mandioca, procurando uma possível alternativa para substituir alimentos convencionais, pois seu teor em proteínas, vitaminas e minerais é relativamente alto, quando comparado a hortaliças folhosas e a grãos de cereais, além de apresentarem baixo custo e disponibilidade.

Embora as folhas de mandioca sejam ricas em proteínas, vitaminas e minerais, seu consumo direto fica limitado por fatores como a presença de substâncias antinutritivas e/ou tóxicas e também devido ao elevado teor de fibras alimentares que não podem ser digeridas no estômago de humanos e de animais monogástricos.

A produção de concentrados protéicos de folhas (CPF) permite a utilização das proteínas foliares como alimento, contendo baixo teor de fibras e melhor qualidade nutritiva.

Técnicas de extração de proteínas vêm sendo estudadas com a intenção de produzir um concentrado protéico que proporcione redução de fatores tóxicos e antinutricionais das folhas de mandioca, para serem utilizados como complemento alimentar para humanos e animais, buscando valorizar a folha de mandioca e reduzir este tipo de resíduo agroindustrial.

A extração por precipitação isoelétrica, descrita por CEREDA & VILPOUX (2003), é uma das técnicas utilizadas na extração de proteínas. Essa técnica apresenta rendimentos de extração mais elevados que os demais métodos, com a vantagem de que o método de extração por precipitação isoelétrica produz concentrados em menor tempo de extração.

Além de ser uma espécie de grande potencial para a piscicultura no Brasil, a tilápia do Nilo apresenta características que facilitam a avaliação de

novos alimentos, pois aceita grande variedade de alimentos e responde com a mesma eficiência à ingestão de proteínas de origem vegetal e animal.

A produção de concentrados protéicos de folhas (CPF) permite a utilização das proteínas foliares como alimento, contendo baixo teor de fibras e melhor qualidade nutritiva. No entanto, não foram encontrados na literatura trabalhos que utilizem o concentrado protéico de folhas de mandioca (CPFM) como alimento suplementar para peixes, especificamente para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), sendo de grande importância avaliar sua utilização em substituição ao farelo de soja, principal fonte de proteína de origem vegetal utilizada na formulação de rações para esta espécie.

Diante das necessidades de reutilização de folhas de mandioca e na busca de novas fontes protéicas de origem vegetal, o presente trabalho teve como objetivo: obter concentrado protéico de folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) pelo método de precipitação isoelétrica, descrito por CEREDA & VILPOUX (2003), e avaliar o desempenho e sobrevivência de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a diferentes níveis de inclusão de concentrado protéico de folhas de mandioca em substituição ao farelo de soja.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Aspectos Gerais da Cultura da Mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma planta perene, arbustiva, pertencente à família *Euphorbiaceae*. Algumas cultivares podem atingir cerca de 1 metro, outras podem alcançar 5 metros de altura. Suas folhas são palmadas, podendo variar em tamanho, coloração, número e forma de lóbulos. Geralmente elas contêm de cinco a sete lóbulos, mais ou menos estreitos e longos ou estrangulados (Figura 1) (LORENZI & DIAS, 1993) .



Figura 1 - Folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz).
Fonte: ABAM (2007).

De acordo com LORENZI & DIAS (1993), a mandioca é uma planta originária de regiões tropicais e, segundo SILVA, ROEL & MENEZES (2001), tem sua origem na América do Sul, possivelmente do Brasil e é cultivada nas diversas regiões do mundo por apresentar tolerância às condições adversas de clima e solo.

Qualquer tipo de solo proporciona boas colheitas de mandioca, sendo mais propícios os que se apresentam com textura arenosa, boa aeração e drenagem e com bom teor de matéria orgânica. Em solos argilosos também são obtidos bons rendimentos, porém, o desenvolvimento das raízes, bem como a sua colheita, tornam-se difíceis, não sendo rara a perda e quebra no campo. Além disso, possui características que facilitam sua difusão, pois se adapta a solos pobres, é resistente à seca, consegue sobreviver junto a ervas daninhas e apresenta ampla adaptação às mais variadas condições climáticas, não necessitando de técnicas refinadas para o seu cultivo (LORENZI & DIAS, 1993).

Existem dois tipos de mandioca: a mansa e a brava. A mandioca mansa é a mandioca de mesa, consumida cozida, frita, na forma de bolos e outros tipos de alimentos, porém não é utilizada na fabricação de farinha, pois, origina um produto de pouca aceitação no mercado. A mandioca brava é destinada ao uso industrial (fabricação de farinha), e apresenta ácido cianídrico acima de 50 mg/Kg, o que é considerado altamente tóxico no estômago do homem e dos animais (LANCASTER *et al.*, 1982; MENDONÇA, MOURA & CUNHA, 2003).

4.2 Produtividade de Folhas de Mandioca

As folhas de mandioca fornecem um alimento rico em proteínas, vitaminas e minerais a baixo custo, todavia, são, na maioria das vezes, desperdiçadas em todas as regiões brasileiras (MOTTA *et al.*, 1994; MADRUGA & CÂMARA, 2000).

CARVALHO, CHAGAS & JUSTE (1991), estudando a influência da idade da colheita sobre a produtividade e o valor nutritivo da parte aérea de seis cultivares de mandioca, observaram que, para se ter simultaneamente altas produtividades de parte aérea e altos teores de proteína, a colheita da parte aérea deve ser efetuada entre 12 e 16 meses após o plantio.

A produtividade das folhas de mandioca varia consideravelmente, dependendo da cultivar, do solo, da fertilidade, da densidade de plantio, da idade da planta, da frequência da colheita e do clima (RAVINDRAN, 1993). Alguns estudos têm demonstrado ser possível colher folhas de mandioca mantendo-se uma produtividade aceitável de raízes e aumentando-se a produtividade das folhas (RAVINDRAN & RAJAGURU, 1988).

Embora o conteúdo de proteína das folhas de mandioca seja superior ao encontrado na maioria das gramíneas e leguminosas, o desperdício de folhas de mandioca é grande em todas as regiões do Brasil (CEREDA & VILPOUX, 2003). Cerca de 14 a 16 milhões de toneladas da parte aérea são deixadas no campo e se perdem (CARVALHO & KATO, 1987). Apenas no Estado do Paraná, maior produtor de mandioca do Brasil, estima-se que são perdidas a cada ano mais de 178.000 toneladas de folhas. De acordo com SAGRILO *et al.* (2001), estimativas da produção de folhas por hectare estabeleceram o potencial de folhas desidratadas em torno de 2.250 Kg por hectare.

4.3 Utilização das Folhas de Mandioca

Toda a parte aérea da mandioca pode ser considerada como aproveitável para alimentação animal e/ou humana, sendo que o terço superior, ou seja, a parte com mais folhas é, conseqüentemente, mais rica do ponto de vista nutricional, tendo alta produtividade (CARVALHO & KATO, 1987).

O conteúdo protéico nas folhas e na parte superior da planta (folhas + talos) é significativamente mais alto que o conteúdo protéico do caule (maniva),

mesmo quando considerada a parte superior mais tenra e verde (CHAVES, 1987).

Dessa forma, rendimentos mais altos em concentrados protéicos podem ser obtidos somente pelo processamento da parte superior da planta, folhas e talos. A fração de mais baixo teor protéico pode ser ensilada ou seca ao sol, sem gasto expressivo de energia, reservando a sua utilização aos ruminantes (CARVALHO & KATO, 1987).

As folhas podem ser aproveitadas para a fabricação de alguns produtos como sopas ou em misturas com outras farinhas de baixo teor protéico tais como a da própria mandioca, objetivando seu enriquecimento (VITTI, FIGUEREDO & ANGELUCCI, 1972).

Em alguns países da África as folhas de mandioca constituem uma parte significativa da dieta. Em vários locais, são muito utilizadas na preparação de pratos regionais e também como hortaliças (GIDAMIS, O'BRIEN & POULTER, 1993).

No Brasil, o consumo de folhas de mandioca não constitui um hábito alimentar e por essa razão não é tão difundido como o da raiz. As regiões Norte e Nordeste destacam-se como as principais consumidoras, essencialmente na dieta alimentar humana, sendo suas folhas empregadas no combate à desnutrição. Trata-se de uma farinha composta de uma mistura de subprodutos alimentares, como farelo de trigo e arroz, fubá, casca de ovo, além de pós de folhas (mandioca, cenoura, taioba, abóbora) e sementes de melão, gergelim, entre outros, dependendo da disponibilidade da matéria-prima. Na região Norte, são feitos pratos típicos como a maniçoba, utilizando-se folhas de mandioca trituradas e fervidas com água por vários dias (MOTTA *et al.*, 1994; MADRUGA & CÂMARA, 2000; CEREDA & VILPOUX, 2003).

Segundo FAUSTINO *et al.* (2003), têm-se utilizado folhas de mandioca em grandes quantidades para produção de silagens para alimentação de gado, pois a quantidade de proteína encontrada é maior que a encontrado na maioria das forragens tropicais.

Muitos trabalhos têm sido desenvolvidos com o objetivo de avaliar o uso da farinha de folhas de mandioca desidratada (FFMD) nas rações de animais, porém a presença de fatores antinutricionais ainda é uma das limitações do uso dessa farinha.

4.4 Aspectos Nutricionais e Antinutricionais das Folhas de Mandioca

O consumo direto de folhas verdes está fortemente limitado, não só pelo alto teor de fibras, como também pela presença de substâncias tóxicas, fatores antinutritivos e pelo sabor (MOLINA, 1989).

Os fatores nutricionais e antinutricionais dos vegetais e, particularmente, os da mandioca sofrem influência varietal, da época de colheita, das condições climáticas, da maturidade e altura da planta e da fertilidade do solo. WOBETO (2003), estudando alguns constituintes presentes em folhas de mandioca, em plantas com idades de 12, 15 e 17 meses, observou níveis mais elevados para alguns nutrientes e mais baixos para a maioria dos antinutrientes, aos 12 meses de idade.

As proteínas das folhas de mandioca constiuem-se como alternativa de proteínas vegetais. Devido à disponibilidade, podem ser utilizadas como suplemento alimentar para homens e animais. As folhas de mandioca podem exercer um papel importante na nutrição humana e animal uma vez que são fontes de proteínas, que desempenham várias funções nos processos biológicos, atuando, principalmente na formação e renovação de tecidos. Teores elevados de proteína em folhas de mandioca têm sido observados em vários trabalhos, com faixa variando de 20,77 a 36,55 g/100g de matéria seca, entre eles: MADRUGA & CÂMARA (2000), WOBETO (2003), ORTEGA-FLORES *et al.* (2003), CORRÊA *et al.* (2004), MELO (2005), FERRI (2006), MODESTI (2006) e SILVA (2007).

Foram determinados, em folhas de mandioca, teores de vitamina C de 43,64 a 257,64 mg/100g de matéria seca e de betacaroteno de 14,09 a 137,38 mg/100g de matéria seca o que faz com que as folhas de mandioca sejam consideradas fontes desses nutrientes (WOBETO, 2003; CORRÊA *et al.*, 2004; MELO, 2005).

Os teores de extrato etéreo e cinzas das folhas de mandioca variam entre cultivares. Na literatura são encontrados teores na faixa de 3,30 a 16,00 g

de extrato etéreo/100g de matéria seca e de 4,62 a 8,30 g de cinzas/100g de matéria seca (MOLINA, 1989; ALETOR & ADEOGUN, 1995; ORTEGA-FLORES, 1998; MADRUGA & CÂMARA, 2000; ORTEGA-FLORES *et al.*, 2003; MELO, 2005; MODESTI, 2006).

As folhas de mandioca são ricas em minerais, especialmente ferro, magnésio, manganês e zinco (RAVINDRAN, 1993; ALETOR & ADEOGUN, 1995; ALETOR; OSHODI & IPINMOROTO, 2002; WOBETO, 2003; MELO, 2005).

São encontrados, nas folhas de mandioca, teores de ferro variando de 61,50 a 225,60 mg/Kg de matéria seca (CHAVEZ *et al.*, 2000; MADRUGA & CÂMARA, 2000; WOBETO, 2003; MELO, 2005; MODESTI, 2006).

O magnésio apresenta teores de 0,16 a 0,38 g/100g de matéria seca (ORTEGA-FLORES, 1998; MADRUGA & CÂMARA, 2000; WOBETO, 2003; MELO, 2005; MODESTI, 2006).

Na literatura foram encontrados teores de manganês variando de 50,30 a 333,69 mg/Kg de matéria seca, e de zinco de 4,05 a 93,38 mg/Kg de matéria seca (CHAVEZ *et al.*, 2000; WOBETO, 2003; MELO, 2005; MODESTI, 2006).

As fibras existentes nas folhas possuem fatores positivos e negativos quanto à sua utilização. A ingestão de alimentos com certa quantidade de fibras é essencial para o funcionamento gastrointestinal. Elas influenciam positivamente na regulação do peso e no metabolismo de carboidratos e lipídeos. No entanto, o elevado teor de fibras presente nas folhas de mandioca é fator limitante para a sua utilização, por ser responsável pela baixa digestibilidade de proteínas e, assim, pela redução do seu aproveitamento pelo ser humano e pelos animais (PENTEADO & FLORES, 2001).

As folhas de mandioca apresentam elevado teor de fibras, de 26,50 a 48,35 g/100g de matéria seca e, também, antinutrientes, como polifenóis e inibidores de proteases (REED *et al.*, 1982; ORTEGA-FLORES, 1998; CORRÊA *et al.*, 2004; MELO, 2005).

Os polifenóis podem interagir com as proteínas formando complexos muito estáveis, interferindo na extratibilidade e na digestibilidade protéica. Além disso, afetam a palatabilidade dos alimentos por acarretarem sabor adstringente, por sua habilidade de se ligar às proteínas da saliva e membranas da mucosa (NATIVIDADE, 1992; RAVINDRAN, 1993).

Os inibidores de proteases estão associados ao mecanismo de defesa das plantas e são capazes de inibir as atividades das enzimas tripsina, quimotripsina e carboxipeptidases. Sua presença na dieta pode levar à redução da taxa de crescimento de animais, acompanhada por uma diminuição da digestibilidade protéica (GENOVESE & LAJOLO, 2000). Teores de inibidor de tripsina em folhas de mandioca podem variar de 0,57 a 11,14 UTI/mg de matéria seca (WOBETO, 2003; CORRÊA *et al.*, 2004).

No entanto, é possível fazer uso das proteínas de folhas de mandioca se o material foliar for submetido a processos tecnológicos apropriados que permitam eliminar consideravelmente os agentes tóxicos e antinutricionais, visando também eliminar a parte fibrosa.

4.5 Obtenção do Concentrado Protéico de Folhas de Mandioca

Uma das formas de se melhorar a qualidade protéica das folhas de mandioca seria a produção de um concentrado protéico, que removeria as fibras e reduziria os polifenóis, possibilitando melhor digestibilidade.

Os concentrados protéicos de folhas de mandioca (CPFM) apresentam quantidade e rendimento protéicos que podem ser considerados elevados, quando comparados a outros tipos de concentrados produzidos. As folhas de mandioca, apesar de apresentarem elevado teor em proteínas, têm digestibilidade relativamente baixa, provavelmente devido às fibras e polifenóis. Além disso, outros fatores antinutricionais que também comprometem o aproveitamento das folhas poderiam ser igualmente reduzidos.

De acordo com CEREDA & VILPOUX (2003), uma alternativa para melhorar o aproveitamento de folhas de mandioca é a extração de proteínas e o seu aproveitamento direto, eliminando assim todos os produtos antinutricionais e tóxicos.

Segundo SGARBIERI (1996), o método mais comum para a obtenção de proteínas de folhas está baseado na extração da proteína pela ação combinada de solvente e do rompimento celular. Podem ser utilizados como

agentes de extração, tanto água quanto soluções moderadamente alcalinas (DERENZO & ALDEIA, 2000).

São vários os procedimentos descritos pela literatura para a obtenção de concentrado protéico de folhas (CPF). Em geral, os processos consistem de uma extração utilizando-se uma solução extratora combinada com uma operação mecânica que provoca ruptura celular e a liberação dos nutrientes solúveis, produzindo um suco verde e um resíduo fibroso. O resíduo fibroso é separado do suco verde por meio de métodos convencionais de filtração ou prensagem. A próxima etapa é a de precipitação do suco, seguida de centrifugação, obtendo-se o sobrenadante e o concentrado protéico de folhas de mandioca, finalizando-se o processo com a desidratação (Figura 2).

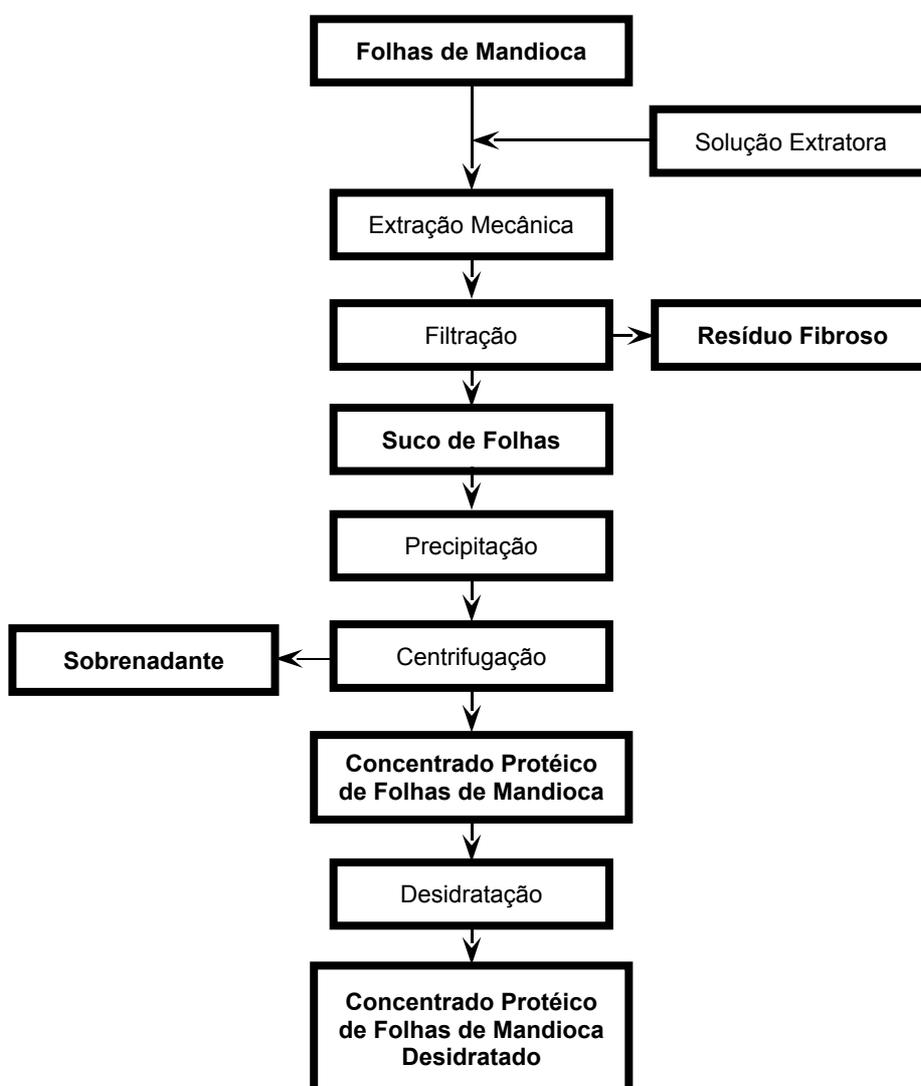


Figura 2 - Fluxograma do processo de obtenção do CPFM desidratado.

Os métodos de precipitação mais utilizados são os que empregam ácidos ou aquecimento. Há outras diferentes técnicas, como a fermentação, o uso de flocculantes ou a redução da constante dielétrica pela adição de solventes orgânicos, como acetona, butanol, éter ou etanol (OHSHIMA & UEDA, 1984; SZYMCZYK, GWIAZDA & HANCZAKOWSKI, 1995; HEINEMANN *et al.*, 1998).

A extração das proteínas de folhas dependerá, em grande parte, do grau de desintegração celular, que afeta a quantidade de proteína que se obtém durante o processo (PIRIE, 1978; SGARBIERI, 1996). Isso porque, quanto maior for o rompimento, maior a destruição do material das paredes das células e, conseqüentemente, maior quantidade de proteínas serão obtidas no suco (PIRIE, 1978).

A extração de proteínas pode se dar em três diferentes níveis de extração (CHAVES, 1987; CEREDA & VILPOUX, 2003):

- Deságua: o objetivo dessa extração é a máxima remoção de água com o mínimo de perdas de fração sólida;
- Extração parcial: o objetivo desta extração é a produção de um material melhor balanceado, contendo a quantidade correta de proteína para animais ruminantes;
- Extração exaustiva: o objetivo desta extração é a máxima extração de proteína vegetal para a alimentação humana.

4.5.1 Extração de proteínas de folhas de mandioca por precipitação isoelétrica

O conceito de ponto isoelétrico é derivado do comportamento ácido-básico dos aminoácidos. O ponto isoelétrico é o valor de pH em que as cargas positivas e negativas são iguais, ou seja, carga zero e solubilidade mínima (DERENZO & ALDEIA, 2000). Segundo SGARBIERI (1996), a maioria das proteínas possui pontos ou pHs isoelétricos entre 4,5 e 6,5.

De maneira geral, para a extração por precipitação isoelétrica são utilizadas soluções básicas e ácidas para ocorrer a precipitação das proteínas.

Inicialmente, utiliza-se uma solução básica para solubilizar a proteína presente nas folhas e, logo em seguida utiliza-se um solução ácida para que ocorra o abaixamento do pH para 4 a 5, precipitando as proteínas e formando um coágulo protéico. Vários autores utilizam para a extração soluções de hidróxido de sódio e ácido clorídrico para correção de pH.

FERRI (2006), estudando a extração de proteínas de folhas de mandioca para obtenção de concentrado protéico, com utilização de vários métodos para a precipitação das proteínas, observou maior rendimento de extração de proteínas em base seca no método por precipitação isoeletrica (73,71%) durante 24 horas em repouso, a 4°C. Ainda, segundo FERRI (2006), a extração de proteína de folhas frescas é mais fácil, porém, a extração de proteína de folhas desidratadas tem a vantagem das folhas apresentarem maior durabilidade, além de reduzir alguns componentes tóxicos, como o cianeto.

4.6 Aplicação do Concentrado Protéico de Folhas de Mandioca

O concentrado protéico de folhas de mandioca pode ser incorporado a diversos alimentos habituais. HEINEMANN *et al.* (1998) pesquisaram misturas feitas à base de farinha de trigo e CPFM, visando aumentar a qualidade nutricional dessa farinha. Para a obtenção do concentrado, os autores utilizaram hidróxido de sódio 0,1N para a extração e, para a precipitação, o método da fermentação natural por cinco dias. Em ensaios com ratos observaram um aumento do consumo quando adicionaram 10% de CPFM à farinha de trigo, concluindo que o sabor do CPFM não interferiu na aceitação do produto pelos animais.

CHAVES (1987) testou o uso do concentrado protéico de folhas de mandioca como complemento de ração para frangos e observou que, de 7% a 10% do peso da soja usada para fabricação de ração poderiam ser substituídos pelo CPFM, podendo seu resíduo fibroso substituir rações comerciais utilizadas na dieta alimentar de coelhos.

Foi constatado que o concentrado protéico de folhas de mandioca possui uma boa quantidade de aminoácidos essenciais e, devido ao seu alto conteúdo em lisina, poderia suplementar alguns alimentos que possuem deficiência nesse aminoácido, como é o caso dos cereais. Esse mesmo concentrado protéico de folhas de mandioca mostrou-se com alto valor nutritivo, com uma produção de baixo custo e bem simplificada, podendo, assim, ser muito atrativo como fonte de proteína na produção de alimentos e também na alimentação animal (FASUYI & ALETOR, 2005). Contudo, FASUYI (2005) concluiu que o CPFM não deve ser incorporado como única fonte de proteínas à dieta para humanos e animais e que deve ser suplementada com outras fontes protéicas.

4.7 Piscicultura

A piscicultura é uma atividade muito antiga (ROSSI, 1998; KUBITZA, 2000); registros que datam de 2.000 a.C. já se referiam à criação de tilápias em piscinas dos nobres egípcios (KUBITZA, 2000).

No Brasil, a piscicultura data do século XVII quando holandeses construía viveiros para cultivo de peixes nas zonas litorâneas. Os viveiros eram abastecidos pela maré, que além da água, trazia também peixes que ficavam aprisionados nesses locais e eram coletados quando atingiam o tamanho desejado. Porém, foi somente em 1970 que houve uma maior popularização do cultivo de peixes por todo o país (BORGHETTI, OSTRENSKY & BORGHETTI, 2003). Coincidentemente, no ano de 1971, foi introduzida, no Brasil, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), que se adaptou muito bem às condições climáticas do país (PINTO, VERANI & ANTONIUTTI, 1989).

A piscicultura é uma atividade zootécnica que visa o cultivo racional de peixes, além de exercer particular controle sobre o crescimento, a reprodução e a alimentação destes animais (GALLI & TORLONI, 1999). Ainda, segundo GALLI & TORLONI (1999), a piscicultura é o melhor meio para o incremento da produção de alimentos ricos em proteína de primeira qualidade, pois é a mais

econômica das atividades zootécnicas, por propiciar o aproveitamento de áreas improdutivas ou de baixo rendimento agropecuário, transformando-as e elevando sensivelmente sua produtividade. Além disso, peixes tropicais conseguem transformar subprodutos e resíduos agroindustriais em proteína animal de excelente qualidade, baixando substancialmente o custo de produção.

Assim como na criação de outros animais, o aumento na produtividade de forma economicamente viável é de fundamental importância na piscicultura. O aumento na produtividade requer a utilização de rações completas, pois o alimento natural não é capaz de atender às exigências dos peixes, principalmente quando criados em sistemas intensivos ou superintensivos, nos quais a elevada biomassa por área e as deficiências ou desbalanços de nutrientes podem acarretar perdas de produtividade e, conseqüentemente, menor retorno econômico (FURUYA *et al.*, 2001). Em sistemas de cultivo mais intensificados a alimentação representa mais de 50% dos custos operacionais (EL-SAYED, 1999), sendo que os alimentos protéicos representam a maior proporção dos custos da ração em sistemas de cultivo intensivo e semi-intensivo, pois, além de entrarem em grande quantidade na sua formulação, são mais caros que os alimentos energéticos (MEURER, HAYASHI & BOSCOLO, 2003).

O Brasil possui inúmeras espécies nativas com grande potencial para exploração, no entanto, são as espécies exóticas que dominam a aqüicultura brasileira, isso devido à falta de estudos científicos e tecnológicos, possibilitando assim poucas informações mais detalhadas sobre suas principais características biológicas, para que haja um melhoramento na hora do cultivo (BORGHETTI *et al.*, 2003).

A produção nacional de peixes se concentra principalmente nas carpas, na tilápia e nos peixes redondos (tambaqui e tambacu) que juntos concentram praticamente 80% da produção total (BORGUETTI *et al.*, 2003). Segundo KUBITZA (2003), a produção da piscicultura nacional é estimada em torno de 100 mil toneladas por ano. Acredita-se que o cultivo de tilápias represente 40 a 45% desta produção e estima-se que o Brasil esteja produzindo entre 40 e 50 mil toneladas de tilápia anualmente. No Paraná, o comércio de peixes, via “pesque-pague” chegou a 5.600 toneladas por ano em

1999 e estabilizou em 4.300 toneladas em 2000 e 2001, e a tilápia é a que mais se destaca na produção do estado devido às vantagens competitivas (KUBITZA, 2003).

4.8 Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

De acordo com KUBITZA (2000), a tilápia do Nilo, nativa do continente africano, é a espécie de tilápia mais cultivada em todo o mundo (Figura 3).

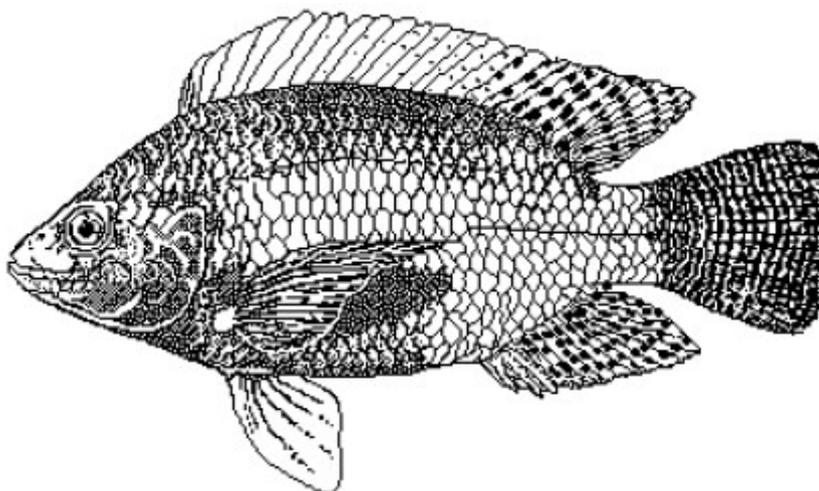


Figura 3 - Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Na aquicultura mundial, as tilápias são classificadas como o segundo grupo de peixes de maior importância (LOVSHIN, 1998). Embora, sendo uma espécie introduzida, a tilápia do Nilo é, sem dúvida, uma das principais espécies com potencial para alicerçar a expansão da piscicultura industrial no Brasil.

Segundo BORGHETTI *et al.* (2003) a tilápia do Nilo apresenta características que a colocam como um dos peixes com maior potencial para a piscicultura nacional, tais como:

- alimenta-se dos itens básicos da cadeia trófica;
- aceita uma grande variedade de alimentos;

- responde com a mesma eficiência à ingestão de proteínas de origem vegetal e animal;
- apresenta resposta positiva à fertilização (adubação) dos viveiros;
- é bastante resistente a doenças, superpovoamento e baixos teores de oxigênio dissolvido;
- desova durante todo o ano nas regiões mais quentes do país.

Suas características zootécnicas e a alta qualidade de sua carne tornam a tilápia apta ao processamento industrial e muito bem aceita pelo mercado consumidor (TOYAMA, CORRENTE & CYRINO, 2000; BOSCOLO, 2003). Além disso, é um peixe muito apreciado em “pesque-pagues” para a pesca esportiva (BOSCOLO, 2003).

De hábito alimentar fitoplanctófago, alimenta-se principalmente de algas clorofíceas (CHELLAPPA, CHELLAPPA & CAMPERO, 1996), mas aceita qualquer outro tipo de alimento, o que facilita o seu cultivo. Essas características contribuem para o aumento verificado na produção mundial da espécie.

4.9 Digestibilidade em Peixes

Rações para peixes exigem altos níveis de proteína que são provenientes de alimentos de origem animal e vegetal. As proteínas correspondem ao nutriente de máxima importância, pois são os componentes constituintes do organismo de animais em crescimento e são responsáveis pela formação de enzimas e hormônios (PEZZATO, 1997).

A futura expansão da criação de peixes dependerá principalmente da utilização de dietas balanceadas. Para a obtenção dessas dietas, os ingredientes mais utilizados na confecção de rações para a piscicultura são a farinha de peixe, o farelo de soja e o milho.

Vários estudos vêm sendo realizados no sentido de encontrar alimentos alternativos que possam atender às exigências dos animais com a mesma qualidade, porém com menor custo. Esses estudos vêm tentando

encontrar fontes protéicas que possam substituir parcial ou totalmente o farelo de soja, que apresenta boa qualidade, mas alto custo.

O conhecimento da digestibilidade da energia e nutrientes dos alimentos permite a formulação de rações de custo mínimo que atendam às exigências nutricionais dos animais (AKSNES & OPSTVEDT, 1998).

A digestibilidade é um dos aspectos mais relevantes para avaliar a capacidade de uma determinada espécie em utilizar os nutrientes de um determinado alimento ou ração completa (HANLEY, 1987). Estimativas da digestibilidade tem sido prioridade para a nutrição na aquicultura, tanto para avaliar ingredientes quanto a qualidade de rações completas. Estudos têm revelado diferentes disponibilidades de energia para as diferentes espécies, de acordo com as diferenças na fisiologia da digestão (DEGANI, VIOLA & YEHUDA, 1997a).

O coeficiente de digestibilidade pode ser calculado basicamente por dois métodos: o método indireto, em que a coleta de excretas é parcial, utilizando-se de indicadores como substância referência; e o método direto, no qual a quantificação do alimento ingerido e a coleta de excretas são totais (PEZZATO et al., 1988; NRC, 1993). Tanto o método direto quanto o método indireto, consideram a inclusão de material endógeno na excreta. Porém, os dados de digestibilidade obtidos atualmente estão, aparentemente, bastante próximos aos valores verdadeiros (NRC, 1993).

A quantificação do alimento consumido e a coleta total das fezes são dificultados pelo meio aquático. Em função disso, utiliza-se preferencialmente o método indireto de determinação de digestibilidade (MORALES *et al.*, 1999).

No estudo de digestibilidade pelo método indireto o indicador deve ser distribuído homogeneamente na ração, ser de fácil análise mesmo em baixas concentrações, ser indigestível e não afetar o metabolismo animal, passar pelo trato digestivo na mesma taxa que os demais nutrientes, não ser prejudicial às pessoas e ao meio ambiente e não influenciar na microflora do trato digestivo (RICHE, WHITE & BROWN, 1995).

O óxido crômico é o indicador inerte mais utilizado em experimentos de digestão e balanço de nutrientes para animais domésticos. Este indicador tem sido utilizado com sucesso para a determinação da digestibilidade aparente em peixes (DEGANI, VIOLA & YEHUDA, 1997b; BOSCOLO, HAYASHI &

MEURER, 2002b). Utilizando-se óxido crômico como indicador, o nutriente componente da dieta é calculado através da taxa do indicador para o nutriente no alimento e nas fezes (HANLEY, 1987).

5 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de Saneamento Ambiental do curso de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *Campus* de Cascavel – PR, e nos laboratórios de Tecnologia do Pescado e Aqüicultura do curso de Engenharia de Pesca da UNIOESTE, *Campus* de Toledo – PR.

5.1 Obtenção e Preparo das Folhas de Mandioca

As folhas da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), cultivada na região de Toledo – PR, foram coletadas aleatoriamente pela manhã, no mês de novembro de 2007 (aproximadamente aos 12 meses após o plantio), acondicionadas em sacos plásticos e transportadas rapidamente para o Laboratório de Aqüicultura.

As folhas de mandioca foram lavadas em água tratada para a retirada de sujidades maiores e, posteriormente, com água destilada/deionizada e os pecíolos presentes nas folhas foram retirados. As folhas foram colocadas sobre lonas plásticas, onde ficaram secando à sombra, em temperatura ambiente por sete dias, sendo revolvidas duas vezes ao dia a fim de se evitar a degradação (Figura 4). Posteriormente, as folhas foram levadas à estufa com renovação e circulação de ar (marca¹ TECNAL modelo TE-394/3) a 55°C, para completar a sua secagem. As folhas desidratadas foram acondicionadas em sacos plásticos hermeticamente fechados para evitar a absorção de umidade.

¹ A citação de marcas e as especificações de produtos neste trabalho não constituem recomendação comercial, somente identificação necessária para esclarecer os dados da pesquisa



Figura 4 - Secagem das folhas de mandioca.

5.2 Obtenção do Concentrado Protéico de Folhas de Mandioca Desidratadas

Para a obtenção do concentrado protéico de folhas de mandioca (CPFM) foi utilizado o método de extração por precipitação isoelétrica, citado por (CEREDA & VILPOUX, 2003).

Inicialmente as folhas secas foram trituradas com água destilada em liquidificador Walita (600 Watts de potência), na relação de 1:10 (p/v), durante 5 minutos. Em seguida o pH do suco de folhas foi ajustado para 8,0 com solução de NaOH 0,1 N, peneirado em peneira de malha de, aproximadamente, 2 mm de diâmetro, e posteriormente filtrado em tecido de algodão (Figura 5).



Figura 5 - Folhas sendo trituradas, peneiradas e filtradas em tecido de algodão.

O pH do suco de folhas filtrado foi então corrigido para 4,0 com solução de HCl 0,1 N, e deixado em repouso por 24 horas em geladeira à temperatura aproximada de 4°C (Figura 6). Após esse repouso, o sobrenadante foi descartado (por sifonação) e o precipitado foi centrifugado (centrífuga CELM modelo LS-3 Plus) por 10 minutos a 3200 rpm, obtendo-se novamente uma fração sobrenadante e um precipitado (Figura 7). O precipitado (concentrado protéico) foi seco em estufa com renovação e circulação de ar, em temperatura de 60°C.



Figura 6 - Suco de folhas (à esquerda) e sobrenadante e precipitado após repouso por 24 horas a 4°C (à direita).



Figura 7 - Líquido sobrenadante e concentrado protéico, depois da centrifugação.

Na Figura 8 é apresentado um fluxograma com os procedimentos envolvidos na obtenção do concentrado protéico de folhas de mandioca.

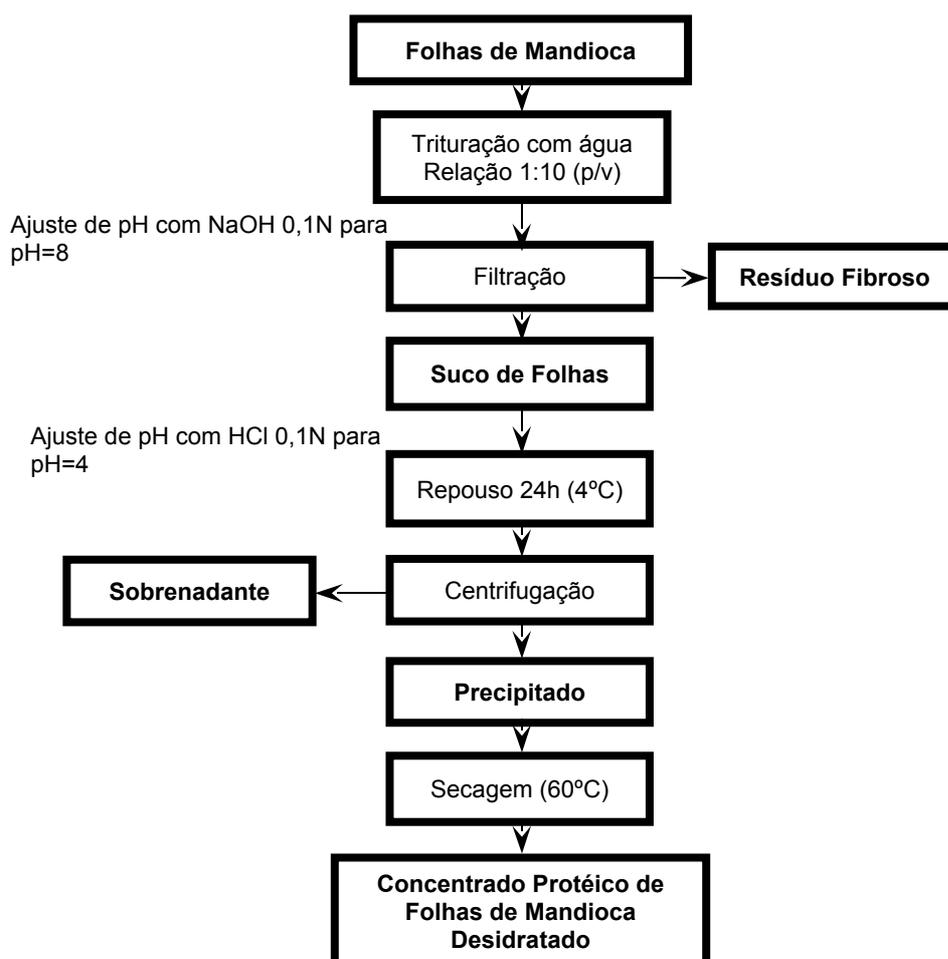


Figura 8 - Fluxograma da extração de concentrado protéico da folhas de mandioca por precipitação isoelétrica.

Fonte: CEREDA & VILPOUX (2003).

5.3 Análises Químicas de Caracterização

Para caracterização da farinha de folhas de mandioca desidratada (FFMD) e do concentrado protéico de folhas de mandioca (CPFM) os parâmetros analisados foram: umidade, proteína bruta, extrato etéreo, cinzas e composição mineral.

5.3.1 Umidade

A umidade foi determinada por aquecimento em estufa, em temperatura de 105°C, até peso constante (AOAC, 1995).

5.3.2 Proteína bruta

A proteína bruta (PB) foi determinada com base no conteúdo de nitrogênio total, dosado pelo método Kjeldahl. O fator 6,25 foi utilizado para a obtenção do teor de proteína bruta (AOAC, 1995).

5.3.3 Extrato etéreo

O processo foi baseado na extração de substâncias solúveis em éter etílico, utilizando-se o extrator contínuo tipo Soxhlet. Após a evaporação do solvente, o teor de extrato etéreo (EE) foi determinado por diferença de peso (AOAC, 1995).

5.3.4 Cinzas

A determinação de cinzas foi realizada por incineração das amostras em forno tipo mufla, a 550°C, determinando-se a quantidade de resíduo resultante (AOAC, 1995).

5.3.5 Composição mineral

Foram determinados os teores dos seguintes minerais: P, Ca, Mg, Fe, Mn e Zn. As amostras foram digeridas com ácido nítrico e perclórico na proporção de 3:1 em bloco digestor, até clarificação da solução. O P foi determinado por colorimetria e o Ca, Mg, Fe, Mn e Zn por espectrofotometria de absorção atômica.

5.4 Avaliação da Digestibilidade

Na avaliação da digestibilidade do CPFM foram utilizadas 24 tilápias (*Oreochromis niloticus*), com peso vivo médio de $86,92 \pm 36,70$ g, distribuídas em dois tanques de digestibilidade com forma afunilada e capacidade para 150 L cada, com sistema de sifão na extremidade inferior para coleta das excretas. Os tanques eram providos de sistema de aeração artificial por um compressor de ar. Cada tanque de coleta de 150 L com 12 animais, foi considerado como uma unidade experimental (Figuras 9 e 10).



Figura 9 - Tanques de coleta de 150 L. No detalhe: sifão na extremidade inferior.



Figura 10 - Válvula de abertura e sifão para coleta das excretas.

Os animais foram submetidos a um período de adaptação de seis dias às instalações e manejo, antes do início do experimento. Após o período de adaptação, as fezes dos tanques de coleta foram retiradas e congeladas

separadamente para posterior análise, perfazendo uma amostra composta (fezes de seis dias), para cada unidade experimental.

O arraçoamento durante o período de adaptação foi realizado à vontade, cinco vezes ao dia, duas no período da manhã e três à tarde. Durante o período de coleta, os animais recebiam ração duas vezes no período da manhã, uma vez no início da tarde, sendo que das 16:30h às 18:30h o arraçoamento era realizado a cada 15 minutos. Após 30 minutos da última refeição os tanques de coleta foram lavados a fim de evitar que restos alimentares fossem adicionados às excretas. Diariamente pela manhã após a coleta das excretas os tanques eram lavados novamente.

Foram determinados os coeficientes de digestibilidade aparente (CD) da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e energia bruta (EB) do concentrado protéico de folhas de mandioca (CPFM). Para determinação do coeficiente de digestibilidade aparente desse alimento, foi utilizada uma ração referência purificada, segundo FURUYA *et al.* (2001) e BOSCOLO, HAYASHI & MEURER (2002a) e uma ração teste com até 20% de inclusão do concentrado protéico de folhas de mandioca, em função de não se conhecer a qualidade nutricional desse alimento.

O alimento avaliado foi moído em moinho tipo faca com peneira de 0,5 mm, conforme HAYASHI *et al.* (1999). As dietas teste e referência foram umedecidas com água e posteriormente peletizadas (Figuras 11 e 12).



Figura 11 - Alimentos moídos e misturados. Ração teste (à esquerda) e ração referência (à direita).



Figura 12 - Rações peletizadas. Dieta teste (à esquerda) e dieta referência (à direita).

Na Tabela 1 estão apresentadas as dietas referência e teste, utilizadas para a determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente do concentrado protéico de folhas de mandioca para a tilápia do Nilo.

Tabela 1 - Composição percentual das dietas referência e teste, utilizadas para a determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente do concentrado protéico de folhas de mandioca para a tilápia do Nilo

ALIMENTOS	RAÇÃO REFERÊNCIA	RAÇÃO TESTE
Arroz Quirera	10,00	8,00
Antioxidante BHT	0,02	0,016
Farelo de Soja	30,95	24,76
Farelo de Trigo	10,00	8,00
Farinha de Peixe	5,00	4,00
Farinha de Vísceras	9,16	7,33
Milho	34,06	27,25
Suplemento (min. + vit.) ¹	0,50	0,50
Sal	0,30	0,30
Óxido Crômico	0,10	0,10
Alimento Teste	0,00	19,80
Total	100,00	100,00

Nota: 1. Níveis de garantia por quilograma do produto (Rovimix peixes): Vit. A, 500.000UI; Vit. D₃, 200.000UI; Vit. E, 5.000mg; Vit. K₃, 1.000mg; Vit. B1, 1.500mg; Vit. B6, 1.500mg; Vit. B12, 4.000mg; Ác. Fólico, 500mg; Pantotenato Ca, 4.000mg; Vit. C, 15.000mg; Biotina, 50mg; Inositol, 10.000; Nicotinamida, 7.000; Colina, 40.000mg; Co, 10mg; Cu, 500mg; Fe, 5.000mg; I, 50mg; Mn, 1500mg; Se, 10mg; Zn, 5.000mg.

Para determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente, foi utilizada a metodologia indireta, tendo como indicador o óxido crômico (Cr_2O_3), segundo NRC (1993), incorporado na proporção de 0,1% da ração.

Após o período de coleta, as fezes foram descongeladas, secas em estufa de circulação forçada a 55°C por 24 horas, peneiradas para a retirada das escamas e moídas para as análises bromatológicas, segundo AOAC (1995). Foram analisadas também as rações teste e referência. As análises de energia bruta (EB) do concentrado protéico de folhas de mandioca, fezes e ração teste e referência foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal – Universidade Federal de Viçosa – UFV. A análise para a determinação da concentração do cromo nas fezes e nas rações teste e referência, foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica.

Os cálculos do coeficiente de digestibilidade aparente (CD) da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e energia bruta (EB) foram realizados de acordo com as equações utilizadas por MUKHOPADHYAY & RAY (1997), e de acordo com NRC (1993).

$$Dtd = 100 - 100 \left(\frac{\%Id}{\%If} \right) \quad (1)$$

$$Dand = 100 - 100 \left(\frac{\%Id}{\%If} \times \frac{\%Nf}{\%Nd} \right) \quad (2)$$

$$Dams = \frac{100}{\%ing} \left(Dtdtes - \frac{\%dref}{100} \times Dtdref \right) \quad (3)$$

$$Daning = \frac{100}{\%ing} \left(Dandtes - \frac{\%dref}{100} \times Dandref \right) \quad (4)$$

Em que:

- Dtd = digestibilidade total da dieta referência e da dieta teste (%);

- $Dand$ = digestibilidade aparente do nutriente nas dietas referência e teste (%);
- Id = indicador (%Cr) na dieta;
- If = indicador (%Cr) nas fezes;
- Nf = nutriente (MS/PB/EB do CPFM) nas fezes;
- Nd = nutriente (MS/PB/EB do CPFM) na dieta;
- $Dams$ = digestibilidade aparente da matéria seca do ingrediente (CPFM);
- $\%ing$ = porcentagem de ingrediente;
- $Dtdtes$ = digestibilidade total da dieta teste;
- $dref$ = dieta referência;
- $Dtdref$ = digestibilidade total da dieta referência;
- $Daning$ = digestibilidade aparente do nutriente do ingrediente;
- $Dandtes$ = digestibilidade do nutriente da dieta teste;
- $Dandref$ = digestibilidade do nutriente da dieta referência.

As variáveis químicas da água, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido, foram monitoradas a cada três dias às 16h30min. A temperatura foi medida diariamente às 7h30min e 16h30min.

5.5 Rações com a Inclusão do CPFM para Tilápias

Com base nos valores de cálcio, fósforo, extrato etéreo, proteína bruta, proteína digestível e energia digestível do concentrado protéico de folhas de mandioca, foram elaboradas cinco rações com níveis de 0; 5; 10; 15 e 20% de inclusão do concentrado protéico de folhas de mandioca, que foi obtido pelo método de extração por precipitação isoelétrica, citado por (CEREDA & VILPOUX, 2003) (Figura 13). As rações experimentais foram formuladas de acordo com a recomendação do NRC (1993) e de HAYASHI *et al.* (2002), sendo isoprotéicas, isocalóricas, isocálcicas e isofosfóricas (Tabelas 2 e 3). Para a elaboração das rações experimentais, os alimentos foram moídos

individualmente em um moinho tipo faca, conforme HAYASHI *et al.* (1999) e posteriormente misturados.



Figura 13 - Rações com 0, 5, 10, 15 e 20% de inclusão de concentrado protéico de folhas de mandioca (da esquerda para a direita).

Tabela 2 - Composição percentual das rações experimentais, com diferentes níveis de inclusão do concentrado protéico de folhas de mandioca (CPFM), utilizadas para larvas de tilápia do Nilo (matéria natural)

ALIMENTOS	NÍVEIS DE INCLUSÃO (%)				
	0	5	10	15	20
Antioxidante (BHT)	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020
Calcário calcítico	0,152	0,114	0,076	0,038	0,000
Fosfato bicálcico	0,994	1,075	1,157	1,238	1,319
Farelo de soja	40,468	37,142	33,817	30,491	27,165
Farinha de vísceras	40,000	40,000	40,000	40,000	40,000
Milho	15,524	12,622	9,720	6,818	3,916
Óleo de soja	1,542	2,727	3,911	5,096	6,280
Suplemento (min. + vit.) ¹	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Sal	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300
CPFM	0,000	5,000	10,000	15,000	20,000
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Nota: 1. Níveis de garantia por quilograma do produto (Rovimix peixes): Vit. A, 500.000UI; Vit. D₃, 200.000UI; Vit. E, 5.000mg; Vit. K₃, 1.000mg; Vit. B1, 1.500mg; Vit. B6, 1.500mg; Vit. B12, 4.000mg; Ác. Fólico, 500mg; Pantotenato Ca, 4.000mg; Vit. C, 15.000mg; Biotina, 50mg; Inositol, 10.000; Nicotinamida, 7.000; Colina, 40.000mg; Co, 10mg; Cu, 500mg; Fe, 5.000mg; I, 50mg; Mn, 1500mg; Se, 10mg; Zn, 5.000mg.

Tabela 3 - Composição química das rações experimentais, com diferentes níveis de inclusão de concentrado protéico de folhas de mandioca, utilizadas para larvas de tilápia do Nilo (matéria natural)

NUTRIENTES	NÍVEIS DE INCLUSÃO (%)				
	0	5	10	15	20
Energia digestível ¹ (kcal/kg)	3300,0 0	3300,00	3300,00	3300,00	3300,00
Proteína digestível ¹	38,60	38,60	38,60	38,60	38,60
Proteína bruta	44,34	44,95	45,56	46,17	46,78
Cálcio	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14
Fósforo total	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Extrato etéreo	7,19	8,90	10,61	12,31	14,02

Nota: 1. Exigência nutricional baseada no NRC (1993) e HAYASHI *et al.* (2002). Baseados nos valores de energia e proteína digestíveis para tilápia do Nilo propostos por BOSCOLO, HAYASHI & MEURER (2002a), MEURER, HAYASHI & BOSCOLO, (2003) e BOSCOLO (2003).

5.6 Avaliação do Desenvolvimento e Sobrevivência da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Foram avaliados o desenvolvimento e a sobrevivência da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), submetidas a diferentes níveis de inclusão de CPFM nas rações, durante um período de 28 dias.

Nesta avaliação foram utilizadas 300 larvas de tilápia do Nilo com sete dias após a eclosão, distribuídas em 20 aquários com capacidade para 30 L de volume útil. O delineamento experimental foi totalmente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo a unidade experimental constituída por um aquário com 15 larvas.

Os aquários apresentaram sistema de aeração individual por meio de um soprador. Foi realizada a renovação diária de cerca de 50% do volume total no início do experimento e 100% nos últimos 15 dias, por meio de duas sifonagens realizadas diariamente, uma no período da manhã antes da primeira alimentação e outra no final da tarde antes da última alimentação. As

rações foram fornecidas quatro vezes ao dia às 8h30min, 11h30min, 14h30min e 17h30min, à vontade.

O pH, a condutividade elétrica e o oxigênio dissolvido da água foram medidos semanalmente, e a temperatura foi aferida diariamente pela manhã às 8h30min e à tarde às 17h30min.

Ao final do período experimental os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas, em seguida foram efetuadas as medidas individuais de peso (g) e comprimento total (cm) dos peixes de cada unidade experimental.

5.7 Composição Química da Tilápia do Nilo

Após serem efetuadas as medidas de peso e comprimento total, os peixes de cada unidade experimental foram secos em estufa de renovação e circulação de ar a 55°C por 72 horas, triturados em liquidificador, para posterior análise de umidade, cinzas, extrato etéreo e proteína bruta, conforme (AOAC, 1995).

5.8 Análise Estatística dos Dados

Para avaliação dos efeitos das diferentes composições de ração no peso final, ganho de peso, comprimento final e sobrevivência, e para comparação da umidade, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas de tilápias de cada unidade experimental, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, pelo sistema de análises estatísticas, SISVAR, versão 4.3.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Obtenção do Concentrado Protéico de Folhas de Mandioca (CPFM)

As folhas de mandioca foram coletadas aos 12 meses após o plantio, pois, segundo WOBETO (2003), níveis mais elevados para alguns nutrientes e mais baixos para a maioria dos antinutrientes podem ser observados em plantas com essa idade. Para CARVALHO & KATO (1987) é a fase na qual ocorre maior enfolhamento da planta com maiores teores de proteínas.

Dentre os procedimentos existentes para o processamento de folhas de mandioca, a desidratação é um dos mais empregados, tendo como principal objetivo, inativação de enzimas e fatores antinutricionais e melhoria da digestibilidade, prolongando também a conservação (SALLES, 1996; CORRÊA *et al.*, 2002).

Ao avaliar sete métodos de extração de proteínas de folhas de mandioca, FERRI (2006) constatou que o método de extração por precipitação isoelétrica de CEREDA & VILPOUX (2003) e o método de extração por fermentação, citado por CHAVES (1987) apresentaram rendimentos de extração mais elevados que os demais métodos, com a vantagem de que o método de extração por precipitação isoelétrica produz concentrados em menor tempo de extração. Ainda segundo FERRI (2006), esse método é o mais apropriado, quando se considera a necessidade de uma indústria alimentícia que venha a utilizar esse concentrado em larga escala.

Nos procedimentos envolvidos no método descrito por CEREDA & VILPOUX (2003), inclui-se a correção do pH do suco de folhas de mandioca para o valor 8,0, para promover a lixiviação das proteínas da folha e a solubilização das mesmas no suco de folhas. De acordo com FERRI (2006), as proteínas ficam solubilizadas a partir de pH 8,0, no entanto é a partir de pH 11,0 que as proteínas ficam completamente solubilizadas. Porém, pH acima

de 10,0, ou seja, soluções altamente alcalinas podem degradar as proteínas (DERENZO & ALDEIA, 2000). Com a finalidade de se obter um concentrado protéico de boa qualidade e evitar a degradação da proteína das folhas da mandioca, adotou-se pH 8,0 para a sua extração.

Depois da retirada do resíduo fibroso por filtração em tecido de algodão, o pH do suco de folhas foi ajustado para 4,0, possibilitando a precipitação das proteínas e sua posterior separação por centrifugação. A centrifugação permite a secagem em estufa a 60°C e a obtenção do concentrado protéico de folhas de mandioca, propriamente dito. Considerou-se o concentrado seco a 60°C como sendo a matéria natural (Figura 14 e 15).



Figura 14 - Resíduo fibroso (à esquerda). Concentrado protéico de folhas de mandioca antes do processo de secagem em estufa a 60°C (à direita).

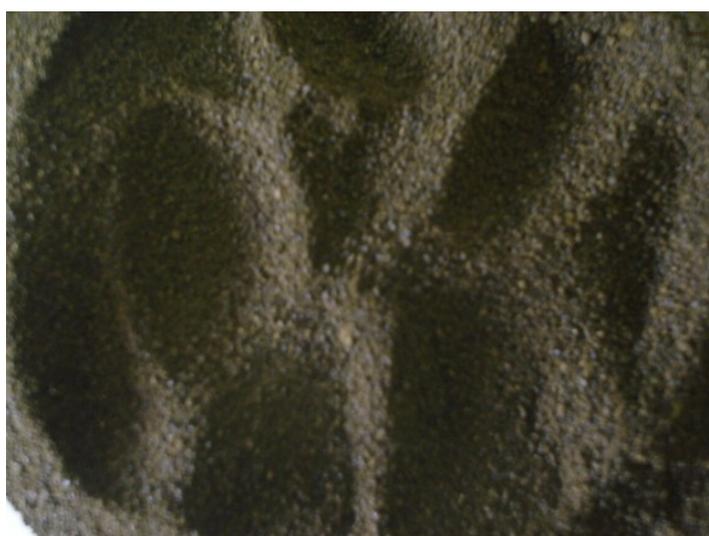


Figura 15 - Concentrado protéico de folhas de mandioca após secagem a 60°C e trituração (matéria natural).

6.2 Caracterização do Concentrado Protéico de Folhas de Mandioca

De acordo com a idade da planta, a composição química e o valor nutricional da folha da mandioca podem apresentar grandes variações, que são observadas na literatura. Essas variações de valores encontradas para as folhas, estão diretamente relacionadas com as condições climáticas e práticas culturais, às quais a cultura foi submetida.

Na Tabela 4 estão apresentados os valores médios de umidade, matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas, e energia bruta (EB) da farinha de folhas de mandioca desidratada (FFMD) e do concentrado protéico de folhas de mandioca (CPFM).

Tabela 4 - Valores médios da composição da farinha de folhas de mandioca desidratada e do concentrado protéico de folhas de mandioca (matéria natural)

AMOSTRAS	MS (%)	PB (%)	EE (%)	Cinzas (%)	EB (Kcal/ Kg)
FFMD	92,12 ± 0,12	33,04 ± 0,47	5,84 ± 0,59	5,73 ± 0,01	nd ²
CPFM	93,01 ± 0,10	48,42 ± 0,52	13,57 ± 0,54	3,48 ± 0,01	5527,00

Notas: FFMD = farinha de folhas de mandioca desidratada; CPFM = concentrado protéico de folhas de mandioca; nd = não determinado.

A matéria seca da farinha de folhas de mandioca desidratada encontrada no presente trabalho foi de 92,12%. Já no concentrado protéico de folhas de mandioca, após o processo de secagem em estufa com circulação e renovação de ar a 60°C, foi de 93,01%.

O teor de proteína bruta da farinha de folhas de mandioca desidratadas e do concentrado protéico de folhas de mandioca encontrado foi de 33,04% e 48,42%, respectivamente. Na obtenção de concentrados protéicos foliares, a idade ou estágio de maturação das folhas na colheita, podem influenciar na quantidade de proteína extraída (MODESTO *et al.*, 2001).

CEREDA & VILPOUX (2003) citam que vários autores relatam variação no teor de proteína nas folhas entre 15 e 40% da matéria seca.

O teor de proteína bruta do concentrado protéico de folhas de mandioca (48,42%), aumentou 46,55% em comparação ao teor de proteína bruta da farinha de folhas de mandioca desidratada (33,04%). O concentrado protéico de folhas de mandioca apresentou teor protéico dentro da faixa relatada pela literatura que varia de 25,10 a 65,00% (SALGADO & SANTOS, 1986; MOLINA, 1989; HEINEMANN *et al.*, 1998; TANGKA, 2003; FERRI, 2006; MODESTI, 2006; SILVA, 2007). Valores de proteína bruta do farelo de soja, principal fonte protéica de origem vegetal em alimentos, encontrados na literatura variam de 45,62 a 51,40% (MARQUES *et al.*, 2000; BOSCOLO, HAYASHI & MEURER, 2002a; PEZZATO *et al.*, 2002).

O teor do extrato etéreo da farinha de folhas de mandioca desidratadas (5,84%) se encontrou dentro dos valores observados na literatura, 3,30 a 16,00% (RAVINDRAN & RAVINDRAN, 1988; MOLINA, 1989; ALETOR & ADEOGUN, 1995; MADRUGA & CÂMARA, 2000; ORTEGA-FLORES *et al.*, 2003; MELO, 2005). Essa diferença de valores, possivelmente, deve-se a idade da planta, maturidade das folhas, cultivar, entre outros.

O concentrado protéico de folhas de mandioca apresentou teor de extrato etéreo de 13,57%, mostrando que há um aumento considerável em relação ao teor de extrato etéreo encontrado na farinha de folhas de mandioca desidratada. Possivelmente, isso ocorra, em função dos lipídeos serem arrastados juntamente com as proteínas para o fundo. O teor de extrato etéreo encontrado no concentrado protéico de folhas de mandioca está próximo aos valores encontrados por MOLINA (1989): 12,15 a 15,89% e por HEINEMANN *et al.* (1998): 12,26%. O concentrado protéico de folhas de mandioca apresenta valores de extrato etéreo bastante superiores aos encontrados em outras fontes protéicas de origem vegetal, como é o caso do farelo de soja que, de acordo com a literatura, tem valores entre 0,79% (PEZZATO *et al.*, 2002) e 2,32% (BOSCOLO, HAYASHI & MEURER, 2002a).

Alguns autores encontraram variação de 4,62 a 8,30% para o teor de cinzas da farinha de folhas de mandioca, entre eles: MOLINA (1989), ALETOR & ADEOGUN (1995), ORTEGA-FLORES *et al.* (2003), WOBETO (2003), MELO (2005) e MODESTI (2006), o que indica que o teor de cinzas da farinha de folhas de mandioca desidratada do presente trabalho (5,73%) está dentro da faixa encontrada por pesquisadores da área. Com o processo de extração, o

teor de cinzas do concentrado protéico de folhas de mandioca (3,48%) foi reduzido. O teor de cinzas do concentrado protéico de folhas de mandioca encontrado é inferior aos valores observados na literatura: 5,68 a 8,59% (MOLINA, 1989; HEINEMANN *et al.*, 1998).

O concentrado protéico de folhas de mandioca do presente trabalho apresentou energia bruta de 5.527,00 Kcal/Kg, valor superior aos encontrados na literatura para o farelo de soja, entre 4.187,00 Kcal/Kg (PEZZATO *et al.*, 2002) e 4.283,60 Kcal/Kg (BOSCOLO, HAYASHI & MEURER, 2002a).

Na Tabela 5 estão apresentados os teores dos minerais: P, Ca, Mg, Fe, Mn e Zn encontrados no concentrado protéico de folhas de mandioca.

Tabela 5 - Teores de minerais encontrados no concentrado protéico de folhas de mandioca

AMOSTRA	(g/100g)*			(mg/Kg)*		
	P	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
CPFM	0,23	0,09	0,29	442,00	36,00	37,00

Notas: CPFM = concentrado protéico de folhas de mandioca.

* Valores com base em matéria seca (MS).

FRANCO (2000) comenta que os minerais desempenham importantes funções nos organismos vivos, como o equilíbrio de íons nos líquidos extracelulares, eletrólitos que participam do controle osmótico do metabolismo, catalisadores de certos sistemas enzimáticos.

O teor de P observado no concentrado protéico de folhas de mandioca (0,23 g/100g) é inferior ao encontrado por MODESTI (2006), que obteve um valor médio de 0,32 g/100g. O autor observou pequeno aumento no teor de P do concentrado protéico de folhas de mandioca em comparação ao P encontrado na farinha de folhas de mandioca. GERBER, PENZ JÚNIOR & RIBEIRO (2006), avaliando o efeito da composição do farelo de soja sobre o desempenho e o metabolismo de frangos de corte encontraram teores de P de 0,59 g/100 g de farelo de soja, valor este superior ao encontrado no presente trabalho para o concentrado protéico de folhas de mandioca.

Teores de Ca encontrados na literatura variam de 0,67 a 1,43 g/100 g para farinha de folhas de mandioca (MADRUGA & CÂMARA, 2000; WOBETO,

2003; MELO, 2005). O concentrado protéico de folhas de mandioca apresentou baixo teor de Ca (0,09 g/100g). De acordo com ESPÍNDOLA (1987), e NATIVIDADE (1992) ao produzir concentrado protéico de folhas o nível de Ca tende a baixar. Para o farelo de soja foram encontrados teores de Ca de 0,28 g/100 g, valor superior ao encontrado no concentrado protéico de folhas de mandioca (GERBER, PENZ JÚNIOR & RIBEIRO, 2006).

O magnésio apresentou teores de 0,16 a 0,38 g/100g de folhas de mandioca desidratadas (ORTEGA-FLORES, 1998; MADRUGA & CÂMARA, 2000; WOBETO, 2003; MELO, 2005; MODESTI, 2006).

MODESTI (2006), em seu trabalho de obtenção de concentrado protéico de folhas de mandioca por diferentes métodos, encontrou baixo valor de Mg: 0,04 g/100 g, quando comparado ao determinado no concentrado protéico de folhas de mandioca utilizado no presente trabalho: 0,29 g/100 g.

As folhas de mandioca são geralmente ricas em ferro. Na literatura foram encontradas variações de 61,50 a 225,6 mg/Kg de Fe em folhas de mandioca desidratadas (CHAVEZ *et al.*, 2000; MADRUGA & CÂMARA, 2000; WOBETO, 2003; MELO, 2005; MODESTI, 2006). ORTEGA-FLORES (1998) observou valores de até 442,00 mg/g deste mineral em folhas de mandioca desidratadas. De acordo com MODESTI (2006), o teor de Fe no concentrado protéico de folhas de mandioca aumentou em 56,91%, quando comparado com a farinha de folhas de mandioca.

Na literatura foram encontrados teores de manganês, variando de 50,30 a 333,69 mg/Kg de folhas de mandioca desidratadas (CHAVEZ *et al.*, 2000; WOBETO, 2003; MELO, 2005; MODESTI, 2006).

O teor de Mn observado no concentrado protéico de folhas de mandioca: 36,00 mg/Kg é superior ao determinado por MODESTI (2006): 27,70 mg/Kg, o qual observou redução no teor de Mn do concentrado protéico de folhas de mandioca, quando comparado à farinha de folhas de mandioca: 188,00 mg/Kg. ORTEGA-FLORES (1998) demonstrou que as folhas de mandioca desidratadas possuem concentrações de Mn bastante elevadas, com teores de 351 mg/g.

Na literatura foram encontrados teores zinco em folhas de mandioca, entre 4,05 a 93,38 mg/Kg de matéria seca (CHAVEZ *et al.*, 2000; WOBETO, 2003; MELO, 2005; MODESTI, 2006). MODESTI (2006) determinou na farinha

de folhas de mandioca teor médio de Zn de 93,38 mg/Kg, e observou que a extração do concentrado protéico de folhas de mandioca causou uma redução de 56,95% no teor desse mineral, chegando a 40,20 mg/Kg, valor que está muito próximo ao encontrado no presente trabalho: 37,00 mg/Kg.

6.3 Coeficientes de Digestibilidade Aparente (CD)

Os valores médios de temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica, encontrados durante o período experimental, foram de $23,00 \pm 0,48^{\circ}\text{C}$; $7,30 \pm 0,18$; $3,58 \pm 0,55 \text{ mg/L}$ e $93,04 \pm 6,66 \mu\text{S/cm}$, respectivamente, permanecendo dentro da faixa recomendada para a aquicultura (BOYD, 1990).

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CD) da matéria seca (MS), energia bruta (EB), proteína bruta (PB) e valores de proteína e energia digestíveis do concentrado protéico de folhas de mandioca estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, energia bruta e proteína bruta e valores de proteína e energia digestíveis do concentrado protéico de folhas de mandioca para a tilápia do Nilo.

NUTRIENTES	COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE (%)
Matéria seca (MS)	33,06
Energia bruta (EB)	30,06
Proteína bruta (PB)	66,57
Proteína digestível ¹ (PD)	32,23
Energia digestível ² (ED)	1661,13

Notas: 1,2. (%), (Kcal/Kg), respectivamente (valores expressos com base na matéria natural).

Na literatura não foram encontrados trabalhos avaliando o coeficiente de digestibilidade aparente e valores de proteína e energia digestíveis do

concentrado protéico de folhas de mandioca. Porém, tendo em vista o objetivo de encontrar fontes alternativas de alimentos protéicos de origem vegetal, foram feitas comparações com o farelo de soja (FS), principal alimento protéico de origem vegetal e outros alimentos de menor importância, como farelo de canola e farelo de algodão.

O concentrado protéico de folhas de mandioca apresentou coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca de 33,06%, valor inferior ao coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca obtido para o farelo de soja, que varia de 65,49 a 87,00% (PEZZATO *et al.*, 1988; BOSCOLO, HAYASHI & MEURER, 2002a; PEZZATO *et al.*, 2002), para a tilápia do Nilo. Avaliando o coeficiente de digestibilidade aparente de outros ingredientes pela tilápia do Nilo, PEZZATO *et al.* (2002) encontraram coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca de 66,38 e 53,11%, respectivamente, para farelo de canola e farelo de algodão.

A energia de um alimento é derivada de seus nutrientes, principalmente das proteínas, carboidratos e lipídios, sendo o coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta do alimento, dependente da habilidade dos peixes em digerir e absorver estes nutrientes (NRC, 1993). A tilápia do Nilo é um peixe onívoro que, potencialmente é capaz de utilizar estes nutrientes de diversos alimentos convencionais e alternativos, como fonte de energia (FURUYA *et al.*, 2001; BOSCOLO, HAYASHI & MEURER, 2002ab; PEZZATO *et al.*, 2002; MEURER, HAYASHI & BOSCOLO, 2003). No concentrado protéico de folhas de mandioca, o coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta foi de 30,06%, apresentando 1661,13 Kcal de energia digestível por quilo do ingrediente, valores inferiores aos encontrados por BOSCOLO, HAYASHI & MEURER (2002a) que foi de 71,38% para energia bruta e 3057,63 Kcal de energia digestível por quilo do farelo de soja e por HANLEY (1987) que foi de 56,58% para energia bruta e 2236 Kcal de energia digestível por quilo do farelo de soja, respectivamente. De acordo com PEZZATO *et al.* (2002), são encontrados valores de energia digestível de 3064,00 Kcal/Kg de farelo de soja, 3074,00 Kcal/Kg de farelo de canola e 2111,00 Kcal/Kg de farelo de algodão, respectivamente, em tilápias do Nilo. A explicação para o baixo aproveitamento da energia bruta do concentrado protéico de folhas de mandioca pode estar no fato de que, apesar da extração da proteína das folhas

de mandioca aumentar o teor de proteína bruta e eliminar parte das fibras, uma parte remanescente das fibras interfira no bom aproveitamento da energia desta proteína.

O concentrado protéico de folhas de mandioca apresentou coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta de 66,57%, valor inferior aos valores encontrados na literatura para o farelo de soja, que variam de 89,28 a 94,61% (HANLEY, 1987; DEGANI, VIOLA & YEHUDA, 1997b; BOSCOLO, HAYASHI & MEURER, 2002a; PEZZATO, 2002), e para o farelo de canola e algodão, 87,00 e 74,84%, respectivamente, todos estes para a tilápia do Nilo. Comparando a proteína digestível do concentrado protéico de folhas de mandioca (32,23%) do presente trabalho, com a proteína digestível do farelo de soja (42,19%) determinada por BOSCOLO HAYASHI & MEURER (2002a), observa-se que a tilápia do Nilo tem maior habilidade em digerir e absorver a proteína presente no farelo de soja.

6.4 Inclusão do Concentrado Protéico de Folhas de Mandioca para Tilápias

6.4.1 Desenvolvimento e sobrevivência da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Os valores médios de temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica, encontrados durante o período experimental, foram: $23,90 \pm 1,35^{\circ}\text{C}$; $7,23 \pm 0,30$; $5,15 \pm 0,84$ mg/L e $105,91 \pm 4,73$ $\mu\text{S/cm}$, respectivamente. Todos os valores encontrados para os parâmetros físico-químicos da água encontram-se dentro da faixa recomendada para a aqüicultura (BOYD, 1990).

Os valores médios de peso final, ganho de peso, comprimento final e sobrevivência de tilápias do Nilo na fase de reversão sexual, alimentadas com

rações contendo diferentes níveis de inclusão de concentrado protéico de folhas de mandioca estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Valores médios de peso final, ganho de peso, comprimento final e sobrevivência de tilápias do Nilo, na fase de reversão sexual, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de inclusão de concentrado protéico de folhas de mandioca

PARÂMETROS	NÍVEIS DE INCLUSÃO DO CPFM (%)					CV (%)
	0*	5*	10*	15*	20*	
Peso final (g)	1,15a	1,30a	1,30a	1,31a	1,28a	10,51
Ganho de peso (g)	1,12a	1,27a	1,27a	1,27a	1,25a	10,79
Comprimento final (cm)	4,06a	4,20a	4,22a	4,22a	4,21a	3,14
Sobrevivência (%)	96,67 a	93,33 a	95,00 a	93,33 a	96,67 a	6,96

Nota: * Valores na mesma linha, seguidos da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey, ($P>0,05$).

Na literatura consultada não foram encontrados trabalhos com a inclusão de concentrado protéico de folhas de mandioca em rações sobre o desempenho e sobrevivência de peixes.

Ao final do período experimental os valores médios de peso final e ganho de peso dos diferentes tratamentos, com inclusão de 5, 10, 15 e 20% de concentrado protéico de folhas de mandioca, não diferiram do tratamento controle (0% de inclusão), ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey. O comprimento final também não apresentou diferenças entre os tratamentos. Observa-se que essas variáveis de desempenho produtivo não foram afetadas pelos diferentes teores de inclusão do concentrado protéico de folhas de mandioca, mostrando que esse alimento pode ser incluído na dieta da tilápia do Nilo na fase de reversão sexual sem ocasionar prejuízos ao seu desempenho.

Durante o período experimental houve baixa mortalidade de peixes, não havendo diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos. Isso demonstra que os diferentes níveis de inclusão do concentrado protéico de folhas de mandioca não afetaram a sobrevivência das larvas de tilápia do Nilo na fase de reversão sexual. Este fato se deve, principalmente, à formulação das rações isonutritivas, com base em nutrientes digestíveis e a inexistência

aparente de fatores antinutricionais no concentrado protéico de folhas de mandioca.

6.4.2 Composição química da tilápia do Nilo

As análises de composição química da tilápia do Nilo se fazem importantes, pois quando se avaliam alimentos para peixes, as características de carcaça, como gordura e proteína, podem indicar um possível desbalanço nutricional da ração testada ou ainda indicar a presença de fatores antinutricionais nos alimentos avaliados (BOSCOLO, HAYASHI & MEURER, 2002a).

Na Tabela 8 estão apresentados os valores médios obtidos neste trabalho para umidade, cinzas, extrato etéreo e proteína bruta das tilápias do Nilo, alimentadas com diferentes níveis de inclusão de concentrado protéico de folhas de mandioca.

Tabela 8 - Valores médios de umidade, cinzas, extrato etéreo e proteína bruta das tilápias do Nilo, alimentadas com diferentes níveis de inclusão de concentrado protéico de folhas de mandioca

PARÂMETROS	NÍVEIS DE INCLUSÃO DO CPFM (%)					CV (%)
	0*	5*	10*	15*	20*	
Umidade	82,92a	83,23a	82,44a	82,76a	81,56a	1,15
Cinzas	8,43a	8,19a	8,48a	8,11a	8,16a	4,65
Extrato Etéreo	27,74a	27,32a	28,66a	27,98a	28,85a	3,11
Proteína Bruta	50,41a	50,26a	50,28a	49,77a	47,80a	2,58

Notas: * Valores na mesma linha, seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey, ($P > 0,05$).

Na Tabela 8 pode-se observar que os teores médios de umidade, cinzas e extrato etéreo dos diferentes tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey. A proteína bruta também não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, porém, pode-se observar que a partir da ração contendo 10% de

inclusão de concentrado protéico de folhas de mandioca, a proteína bruta começa a sofrer uma leve redução.

7 CONCLUSÕES

Considerando os objetivos e os resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que:

- O concentrado protéico de folhas de mandioca pode ser utilizado em rações para tilápia do Nilo na fase de reversão sexual em até 20% de inclusão sem causar prejuízo no desempenho e sobrevivência dos animais.

8 SUGESTÕES DE CONTINUIDADE DE PESQUISA

Pelos resultados obtidos e tendo-se em vista que a inclusão em até 20% de concentrado protéico de folhas de mandioca na ração não influenciou significativamente o desempenho e a sobrevivência da tilápia do Nilo, pode-se considerar a possibilidade de inclusão de novos teores de concentrado protéico de folhas de mandioca (CPFM), permitindo chegar a valores de inclusão mais precisos, sem causar prejuízos ao seu desenvolvimento.

Outro estudo importante, considerando-se os resultados deste trabalho, é o da viabilidade econômica do processo de obtenção do concentrado protéico de folhas de mandioca, comparativamente aos custos de produção do farelo de soja.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE AMIDO DE MANDIOCA – ABAM. Desenvolvimento de novas variedades de mandioca. 1991. Disponível em: <<http://www.abam.com.br/>>. Acesso em: 11 maio 2007.

AKSNES, A.; OPSTVEDT, J. Content of digestible energy in fish feed ingredients determined by the ingredient-substitution method. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 161, p. 45-53, 1998.

ALETOR, O.; OSHODI, A. A.; IPINMOROTO, K. Chemical composition of common leaf vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. **Food Chemistry**, Oxford, v. 78, n. 1, p. 63-68, July 2002.

ALETOR, V. A.; ADEOGUN, O. A. Nutrient and antinutrient components of some tropical leafy vegetables. **Food Chemistry**, Oxford, v. 53, n. 3, p. 375-379, 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the association of the analytical chemists**. 16. ed. Washington: AOAC, 1995.

BORGHETTI, N. R. B.; OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R. **Aqüicultura**. Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo. Curitiba - Paraná: Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais, 2003. 128 p.

BOSCOLO, W. R. **Farinha de resíduos da indústria de filetagem de tilápias na alimentação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2003. 83 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá - PR, 2003.

BOSCOLO, W. R., HAYASHI, C., MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa - Minas Gerais, v. 13, n. 2, p. 539-545, 2002a.

BOSCOLO, W. R., HAYASHI, C., MEURER, F. Farinha de varredura de mandioca (*Manihot esculenta*) na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa - Minas Gerais, v. 13, n. 2, p. 545-551, 2002b.

BOYD, C. **Water quality in ponds for aquaculture**. London: Birmingham Publishing, 1990. 482 p.

CARVALHO, V. D.; CHAGAS, S. J. R.; JUSTE JR, E. S. G. Influência da idade na colheita sobre a produtividade e valor nutritivo da parte aérea de seis cultivares de mandioca. **Revista Brasileira de Mandioca**, Cruz das Almas - Bahia, v. 10, n. 1/2, p. 47-58, 1991.

CARVALHO, V. D.; KATO, M. S. A. Potencial de utilização da parte aérea da mandioca. **Revista Informe Agropecuário**, Belo Horizonte – Minas Gerais, v. 13, n. 145, p. 23-28, jan. 1987.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. Potencialidades das Proteínas de Folhas de Mandioca, 2003. In: CEREDA, M. P. **Tecnologias, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino-americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. p. 683-693, v. 3.

CHAVES, J. G. Extrato protéico das folhas de mandioca. **Revista Informe Agropecuário**, Belo Horizonte – Minas Gerais, v. 13, n. 145, p. 47-52, jan. 1987.

CHAVEZ, A. L.; BEDOYA, J. M.; SÁNCHEZ, T.; IGLESIAS, C.; CEBALLOS, H.; ROCA, W. Iron, carotene, and ascorbic acid in cassava roots and leaves. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 21, n. 4, p. 410-413, 2000.

CHELLAPPA, N. T.; CHELLAPPA, S.; CAMPERO, D. C. F. Os hábitos alimentares e os tipos de alimento da tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 9, 1996; Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba: ABRAq. 1996. p.106.

CORRÊA, A. D.; SANTOS, C. D.; NATIVIDADE, M. A. E.; ABREU, M. C. P.; XISTO, A. L. R. P.; CARVALHO, V. D. de. Farinha de folhas de mandioca: I. efeito da secagem das folhas sobre a atividade da linamarase. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 2, p. 368-374, 2002.

CORRÊA, A. D.; SANTOS, S. R.; ABREU, C. M. P.; JOKL, L.; SANTOS, C. D. Remoção de polifenóis da farinha de folhas de mandioca. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 2, p. 159-164, abr./jun. 2004.

DEGANI, G., VIOLA, S., YEHUDA, Y. Apparent digestibility coefficient of protein sources for carp, (*Cyprinus carpio* L). **Aquaculture Research**, v. 28, n. 1, p. 23-28, 1997a.

DEGANI, G.; VIOLA, S.; YEHUDA, Y. Apparent digestibility of protein and carbohydrate in feed ingredients for adult tilapia (*Oreochromis aureus* X *O. niloticus*). **The Israeli Journal Aquaculture**, v. 49, n. 3, p. 115-123, 1997b.

DERENZO, S.; ALDEIA, W. Estudo das condições operacionais da etapa de extração de proteína do capim elefante (*pennisetum purpureum schum*), utilizado como fonte energética. In: ENCONTRO DE ENERGIA DO MEIO RURAL, 3, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: 2000.

EL-SAYED, A. F. M. Alternative Dietary Protein Sources for Farmed Tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 179, p. 149-168, 1999.

ESPÍNDOLA, F. S. **Fracionamento dos vegetais verdes e obtenção de concentrados protéicos de folhas (CPF) para suplementação de alimentos e ração animal, com o aproveitamento de subprodutos**. 1987. 130 f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 1987.

FASUYI, O. A. Nutritional evaluation of cassava (*Manihot esculenta*, crantz) leaf protein concentrates (CLPC) as alternative protein sources in rat assay. **Pakistan Journal of Nutrition**, Faisalabad, v. 4, n. 1, p. 50-56, jan., 2005.

FASUYI, O. A.; ALETOR, V. A. varietal composition and functional properties of cassava (*Manihot esculenta*, crantz) leaf meal and leaf protein concentrates. **Pakistan Journal of Nutrition**, Faisalabad, v. 1, n. 1, p. 43-49, jan., 2005.

FAUSTINO, J. O.; SANTOS, G. T.; MODESTO, E. C.; SILVA, D. C.; JOBIM, C. C.; SAKAGUTI, E. S. *et al.* Efeito da ensilagem do terço superior da rama de mandioca triturada ou inteira e dos tempos de armazenamento. **Acta Scientiarum**. Animal Sciences, Maringá, Paraná, v. 25, n. 2, p. 403-410, 2003.

FERRI, P. **Extração de proteínas de folha de mandioca (*Manihot esculenta* crantz) para obtenção de concentrado protéico**. 2006. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel - PR, 2006.

FRANCO, G. V. E. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9. ed. São Paulo: Atheneu, 2000. 307 p.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. C.; PEZZATO, A. C.; BARROS, M. M. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para Tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa - Minas Gerais, v. 30, p. 1143-1149, 2001.

GALLI, L. F.; TORLONI, C. E. C. **Criação de peixes**. São Paulo: Nobel, 1999. p. 116.

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, M. F. Inativação dos inibidores de proteases de leguminosas: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, São Paulo. v. 34, n. 2, p. 107-112, jul./dez., 2000.

GERBER, L. F. P.; PENZ JÚNIOR, A. M.; RIBEIRO, A. M. L. Efeito da composição do farelo de soja sobre o desempenho e o metabolismo de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa - Minas Gerais, v. 35, n. 4, p. 1359-1365, 2006.

GIDAMIS, A. B.; O'BRIEN, G. M.; POULTER, N. H. Cassava detoxification of traditional tanzanian cassava foods. **International Journal Food Science Technology**, Oxford, v. 28, n. 2, p. 211-218, April, 1993.

HANLEY, F. The digestibility of foodstuffs and the effects of feeding selectivity determinations in tilápia, (*Oreochromis niloticus* L). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 66, n. 2, p. 163-179, 1987.

HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R.; SOARES, C. M.; BOSCOLO, V. R.; GALDIOLI, E. M. Uso de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase de crescimento. **Acta Scientiarum**, Maringá, Paraná, v. 21, n. 3, p. 733-737, 1999.

HAYASHI, C., BOSCOLO, W.R., SOARES, C.M., MEURER, F. Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa - Minas Gerais, v 31, n. 2, p. 823-828, 2002.

HEINEMANN, R. B.; COSTA, N. M. B.; CRUZ, R.; PIROZI, M. R. Valor nutricional de farinha de trigo combinada com concentrado protéico de folha de mandioca. **Revista de Nutrição de Campinas**, Campinas, São Paulo. v. 11, n. 1, p. 51-57, 1998.

KUBITZA, F. A evolução da tilapicultura no Brasil: produção e mercados. **Panorama da Aqüicultura**, São Paulo, v. 13, n. 76, mar./abr., 2003.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. São Paulo: Degaspari, 2000. 289 p.

LANCASTER, P. A.; IGRAM, M. Y.; LIM, M. Y.; COURSEY, D. G. Traditional cassava-based foods: survey of processing techniques. **Economic Botany**, Bronx, v. 36, n. 1, p. 12-45, 1982.

LORENZI, J. O.; DIAS, C. A. C. Cultura da mandioca. **Boletim Técnico CATI**, Campinas, São Paulo, n. 211, p. 41, 1993.

LOVSHIN, L. L. Red tilapia or Nile tilapia: which in the best culture fish? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CBNA, 1998. p.179-198.

MADRUGA, M. S.; CÂMARA, F. S. The chemical composition of multimistura as a food supplement. **Food Chemistry**, Oxford, v. 68, n. 1, p. 41-44, January, 2000.

MARQUES, J. A.; PRADO, I. N. do; ZEOULA, L. M.; ALCALDE, C. R.; NASCIMENTO, W. G. do. Avaliação da mandioca e seus resíduos industriais em substituição ao milho no desempenho de novilhas confinadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa - Minas Gerais, v. 29, n. 5, p. 1528-1536, 2000.

MELO, D. S. **Farinha de folhas de mandioca: efeitos sobre a peroxidação e o perfil lipídico plasmático e hepático de ratos**. 2005. 74 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2005.

MENDONÇA, H. A.; MOURA, G. M.; CUNHA, E. T. Avaliação de genótipos de mandioca em diferentes épocas de colheita no estado do Acre. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 6, p. 761-770, jun., 2003.

MEURER, F., HAYASHI, C., BOSCOLO, W.R. Digestibilidade aparente dos nutrientes e energia de alguns alimentos protéicos para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa - Minas Gerais, v. 32, n. 6, p.1801-1809, 2003.

MODESTI, C. F. **Obtenção e caracterização de concentrado protéico de folhas de mandioca submetido a diferentes tratamentos**. 2006. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2006.

MODESTO, E. C. ; SANTOS, G. T. ; VIDIGAL FILHO, P. S. ; ZAMBOM, M. A. ; VILELA, D. ; JOBIM, C. C. *et al.* Composição química das folhas de cinco cultivares de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) em diferentes épocas de colheita. 38º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2001, PIRACICABA, SP. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. p. 1033-1034.

MOLINA, C. R. **Caracterização bioquímica e nutricional de concentrado protéico de folhas de mandioca (*Manihot esculenta* crantz) obtido por ultrafiltração**. 199 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1989.

MORALES, A. E.; CARDENETE, G.; SANZ, A.; HIGUERA, M. Re-avaluation of crude fiber and acid-insoluble ash as intermarkers, alternative to cromic oxide, in digestibility studies with rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v.179: 71-79. 1999.

MOTTA, J. S.; FUKUDA, W. M. G.; SOUZA, L. C. B.; COSTA, Z. M. F. A farinha da folha de mandioca: uma alternativa como complemento alimentar. **Mandioca em Foco**, Cruz das Almas - Bahia, v. 4, p. 1-2, 1994.

MUKHOPADHYAY, N.; RAY, A. K. The apparent total and nutrient digestibility of sal seed (*Shorea robusta*) meal in rohu, *labeo rohita* (Hamilton), fingerlings. **Aquaculture Research**, v. 28, p. 683-689, 1997.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of warmwater, fishes and shellfishes: nutrient requirements of domestic animals**. Washington, DC, 1993. 114 p.

NATIVIDADE, M. A. E. **Estudo químico e nutricional do concentrado protéico de folhas de cana-de-açúcar (*saccharum officinarum* L.) obtido por termocoagulação.** Dissertação 149 f. (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 1992.

OHSHIMA, M.; UEDA, H. Effects of some treatments on the yield and the nutritive value of lucerne leaf protein concentrate. **Japanese Journal of Zootechnical**, Tokyo, v. 55, n. 8, p. 584-590, aug., 1984.

ORTEGA-FLORES, C. I. **Avaliação nutricional da folha de mandioca (*Manihot esculenta* crantz) desidratada.** 165 f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, 1998.

ORTEGA-FLORES, C. I.; COSTA, M. A. I.; CEREDA, M. P.; PENTEADO, M. V. C. Avaliação da qualidade protéica da folha desidratada de mandioca (*Manihot esculenta* crantz). **Sociedade Brasileira de Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 47-59, junho, 2003.

PENTEADO, M. V. C.; FLORES, C. I. O. **Folhas de mandioca como fonte de nutrientes.** São Paulo. Fundação Cargill. p. 48-67, 2001. (Série Culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas, v. 4).

PEZZATO, L. E. O estabelecimento das exigências nutricionais das espécies de peixes cultivadas. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 1997, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, 1997. p. 45-62.

PEZZATO, L. E.; PEZZATO, A. C.; SILVEIRA, A. C.; BARROS, M. M. Digestibilidade aparente de fontes protéicas pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO, 6, SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 5, 1988, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SIMBRAC, 1988. p. 373-378.

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

PINTO, C. S. R. M.; VERANI, J. R.; ANTONIUTTI, D. M. Estudo comparativo do crescimento de machos de *oreochromis niloticus* em diferentes períodos de cultivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo - SP, n. 6. p. 19-27, 1989.

PIRIE, N. W. **Leaf protein and other aspects of fodder fractionation.** Cambridge: Cambridge University Press, 1978. 183 p.

RAVINDRAN, G.; RAVINDRAN, V. Changes in the nutritional composition of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves during maturity. **Food Chemistry**, Oxford, v. 27, n. 4, p. 299-309, 1988.

RAVINDRAN, V. Cassava leaves as animal feed: potential and limitations. **Journal of the Science of Food and Agricultural**, London, v. 61, n. 2, p. 141-150, 1993.

RAVINDRAN, V.; RAJAGURU, A. S. B. Effect of Stem Pruning on Cassava Root Yield and Leaf Growth. **Journal Agricultural Science**, New York, v. 25, n. 1, p. 32-37, 1988.

REED, J. D.; McCOWELL, R. E.; VAN SOEST, P. J.; HORVATH, P. J. Condensed tannins: a factor limiting the use of cassava forage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 33, n. 3, p. 213-220, mar. 1982.

RICHE, M.; WHITE, D. V. M.; BROWN, P. B. Barium carbonate as an alternative indicator to chromic oxide for use in digestibility experiments with rainbow trout. **Nutrition Reserarch**, v. 15, n. 9, p. 1323-1331, 1995.

ROSSI, F. Criação de peixes. **Empreendedor Rural e Urbano**, Minas Gerais, Ano 9, n. 32. 1998.

SAGRILO, E.; VIDIGAL FILHO, P. S.; PEQUENO, M. G.; RIMOLDI, F. Quantificação e caracterização dos resíduos agrícolas de mandioca no estado do Paraná. In: CEREDA, M. P. (Coord.). **Agricultura: tuberosas amiláceas latino-americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001, v. 2, cap. 19, p. 413-434. (Série Culturas de tuberosas latino-americanas).

SALGADO, J. S.; SANTOS, A. C. Estudo do concentrado protéico de folhas de mandioca, obtenção, análise química e suplementação com aminoácidos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 36, n. 3, p. 483-494, 1986.

SALLES, A. M. Processos de desidratação de alimentos e perdas nutricionais. In: WORKSHOP DE INTEGRAÇÃO ENSINO/PESQUISA. 2, Botucatu, 1995. **Relatório...** Botucatu: Centro de Raízes e Amidos Tropicais, Universidade Estadual Paulista, 1996.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.

SILVA, J. L. **Obtenção de concentrado protéico de folhas e parte aérea da mandioca (*Manihot esculenta crantz*)**. 2007. 70 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel - PR, 2007.

SILVA, M. J.; ROEL, A. R.; MENEZES, G. P. **Apontamento dos cursos**: cultivo da mandioca e derivados; engorda de frango caipira; 1. mandioca, frango, ração, silo, feno. Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 2001. 100 p.

SZYMCZYK, B.; GWIAZDA, S.; HANCZAKOWSKI, P. Nutritive value for rats of unextracted and defatted green fractions of leaf protein concentrate from red clover. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 56, n. 1/2, p. 169-175, nov. 1995.

TANGKA, J. K. Analysis of the thermal energy requirements for the extraction of leaf protein concentrate from some green plants. **Biosystems Engineering**, San Diego, v. 86, n. 4, p. 473-479, dec. 2003.

TOYAMA, G. N.; CORRENTE, J. E.; CYRINO, J. E. P. Suplementação de vitamina c em rações para reversão sexual de tilápia do Nilo. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 221-228, 2000.

VITTI, P.; FIGUEREDO, I. B.; ANGELUCCI, E. Folhas de mandioca desidratadas para fins de alimentação humana. **Coletâneas do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, São Paulo, v. 4, p. 117-125, 1972.

WOBETO, C. **Nutrientes e antinutrientes da farinha de folhas de mandioca (*Manihot esculenta crantz*) em três idades da planta**. 2003. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 2003.