UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

PRODUÇÃO DE ENCAPSULADO DE FARELO DE SOJA UTILIZADOS EM ALIMENTAÇÃO DE PEIXES

ESTEVÃO DA COSTA MIRANDA

Dissertação Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos para a Obtenção do Grau de Mestre em Ciências

Rio de Janeiro
2010

PRODUÇÃO DE ENCAPSULADOS DE FARELO DE SOJA UTILIZADOS EM ALIMENTAÇÃO DE PEIXES

ESTEVÃO DA COSTA MIRANDA

Dissertação Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos para a Obtenção do Grau de Mestre em Ciências

Orientadores:

Profª Selma Gomes Ferreira Leite, D.Sc.
Profª. Maria Helena Miguez da Rocha Leão, D.Sc.

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Escola de Química
2010

S237

Miranda, Estevão Miranda.
Produção de encapsulados de farelo de soja utilizados em alimentação de peixes / Estevão da Costa Miranda. – Rio de Janeiro: 2010
70p.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Escola de Química, Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, 2010.

1.Farelo de Soja 2.Alginato. 3. Amido Modificado. 4. Peixes – Teses. I. Leite, Selma, Gomes, Ferreira (Orient.). II. Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. III. Título
CDD: 658.4

PRODUÇÃO DE ENCAPSULADO DE FARELO DE SOJA UTILIZADOS EM ALIMENTAÇÃO DE PEIXES

ESTEVÃO DA COSTA MIRANDA

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências, sob orientação da Prof. Selma Gomes Ferreira Leite e Prof. Maria Helena Miguez da Rocha Leão.

Aprovada por:
ORIENTADORES:

Selma Gomes Ferreira Leite, DSc.
(Orientadora - Presidente da banca)

Maria Helena Miguez da Rocha Leão, DSc
(Orientadora)

Jean Miranda da Silva, DSc.

Andrea Salgado, DSc

PriscillaVanessa Finoteli, DSc

Rio de Janeiro, 17 de dezembro de 2010.

“A diferença entre o possível e o impossível está na vontade humana." (Louis Pasteur)

AGRADECIMENTOS

À DEUS, por ter me dado o dom da vida, dando me força para seguir em frente, realizando meu trabalho e fazendo a cada dia novas amizades

Aos meus pais, Ari e Ana Lúcia, por acreditarem tanto em mim e no meu potencial.

Vocês são o meu exemplo, a minha fortaleza, o meu porto seguro. A força, o apoio, o amor.

À minha namorada Thais, pelo companheirismo, apoio e paciência nas horas mais difíceis.

Às minhas orientadoras, Dra Selma Gomes Ferreira Leite e Dra Maria Helena Rocha Leão, pela orientação durante o desenvolvimento deste trabalho, pela confiança, apoio e amizade.

Quero agradecer também aos meus amigos da UERJ-FFP, Profº Fábio "Urubu" e minha amiga profª Laís Roberto, que foram grandes incentivadores no começo da vida acadêmica.

Aos amigos integrantes do laboratório LEMM em especial ao Profº Alexandre Rosado e Raquel Peixoto, por contribuírem na minha formação e sempre deixar as portas do seu laboratório abertas para qualquer ajuda necessária.

Aos amigos do laboratório de microbiologia Industrial da EQ: Everton, Daniela, Elizabete e Érika, Manuela, e Rafaela, por compartilhar as brincadeiras, as alegrias e os muitos estresses.

Aos meus amigos da UERJ, Jamille, Silviane , Bárbara, Neumara, Flávia, que de algum modo contribuíram para que eu chegasse ao final deste trabalho.

Ào Laboratorio de Bromatologia, CCS/UFRJ por ter aberto as portas do seu laboratório para as análises bromatologicas.

Ao IME, pela possibilidade de utilização da infra-estrutura de seus laboratórios

À CAPES, pelo suporte financeiro.

Resumo da Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química/UFRJ como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

PRODUÇÃO DE ENCAPSULADOS DE FARELO DE SOJA UTILIZADOS EM ALIMENTAÇÃO DE PEIXES

Estevão da Costa Miranda
Dezembro, 2010.

Orientadores: Profª Selma Gomes Ferreira Leite, D.Sc.
Profª. Maria Helena Miguez da Rocha. Leão, D.Sc.

A aquicultura é uma das atividades produtivas que mais crescem mundialmente, e com isso, novas tecnologias vem sendo estudadas, tais como técnicas de produção, manejo alimentar e diferentes formas de ração a fim de aumentar a produtividade. Entretanto, a questão ambiental é uma preocupação no setor, visto que a aquicultura pode causar impactos ambientais devido a sólidos em suspensão e nutrientes dissolvidos oriundos de rações não estáveis e não consumidas. O presente trabalho elaborou encapsulados de farelo de soja (fonte protéica) utilizando os polímeros alginato, Capsul® para serem usados na alimentação de peixes. Foi utilizado o planejamento experimental para avaliar a formulação ideal do percentual de farelo de soja presente nas cápsulas, analisando a cinética de liberação da proteína e a estabilidade dos encapsulados em ambiente aquoso. Os resultados obtidos foram a produção de cápsulas com propriedades de retenção e liberação lenta, com 4 mm de diâmetro, composta por 3 % de alginato (P/V), 4,0% de capsul (P/V) e 40% (S.T.) de farelo de soja aprisionada em seu interior. Após 24 horas, as cápsulas apresentaram grande potencial de retenção do material encapsulado (aproximadamente 74 %) e grande estabilidade em meio aquoso.

Abstract of a thesis submitted to the Postgraduate degree in Process Technology Chemistry and Biochemistry, School of Chemistry / UFRJ as part of the requirements for obtaining the degree of Master of Science.

PRODUCTION OF SOYBEAN MEAL ENCAPSULATED USED IN FISH FEEDING

Estevão da Costa Miranda
December, 2010.

Supervisor: Profª Selma Gomes Ferreira Leite, D.Sc.
Profª. Maria Helena Miguez da Rocha. Leão, D.Sc.

Aquaculture is the fastest growing production activities in the world, and new technologies, such as production techniques, management and various forms of food have been studied to increase the productivity. However, the environmental issue is a concern in the setor, since that activity can cause environmental impacts due to suspended solids and dissolved nutrients from feed that is not stable and consumed. This work has produced an encapsulated of soybean meal (protein source) by alginate and capsul ® polymers to use in fish feeding. Experimental design was used to evaluate the optimal formulation of the soybean meal percentage, analyzing the release kinetics and stability of the protein encapsulated in the aqueous environment. The results were the production of capsules with retention properties and slow release, with 4 mm in diameter, composed of 3% alginate (w/v), 4.0% capsul (w/v) and 40% (TS) of soybean meal trapped inside. After 24 hours, the capsules showed great potential for retention of encapsulated material (approximately 74%) and high stability in aqueous media

ABREVIATURAS

C - Celsius

CLC - Cápsulas de Liberação Controlada

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento

FAO – Food and Agriculture Organization

FDA - Food and Drug Administration

g - Grama

ha – hectare

HP – Horse Power

Kcal – Quilocaloria

Kg – Quilograma

Kj – Quilojoule

kV – Quilovolts

L - Litro

m – metro

M – Molar

M/G – Proporção Ácido Manuronico/Ácido Guluronico

mg - Miligrama

mm – Milímetro

MSR- Método de Superfície de Resposta

N - Normal

ONU – União das Nações Unidas

p – Peso

PB – Proteína Bruta

pH – Potencial hidrogeniônico

rpm – Rotações Por Minutos

S.T. – Sólidos Totais

v – volume

WCED – World Commission on Environment and Development

µl – Microlitro

ÍNDICE DE FIGURAS

Pag.

Figura 1: Estrutura química de ácidos algínicos: a) ácido manurônico, b) ácido gulurônico (FRANCHETTI & MARCONATO, 2006)..... 20

Figura 2: Estrutura Egg Box do alginato de cálcio (COULTATA, 1984)..... 21

Figura 3. Reação de obtenção do Capsul®..... 22

Figura 4. Fluxograma do planejamento de execução dos experimentos..... 28

Figura 5. Processo de gotejamento durante a formação das capsulas..... 29

Figura 6. Retirada e secagem do excesso de líquido durante a formação das capsulas..... 29

Figura 7. Fluxograma das etapas de produção das cápsulas e os pontos críticos de perdas de material..... 30

Figura 8. Amostras utilizadas na analise da cinética de liberação da proteína..... 33

Figura 9. Mensuração do diâmetro das esferas formadas..... 38

Figura 10. As rações encapsuladas produzidas..... 39

Figura 11. Calculo de perda de proteína durante todo o processo..... 41

Figura 12. Flotação das capsulas formadas..... 51

Figura 13. Ração encapsulada visualizadas através de Microscopia eletrônica de Varredura com aumento de 45x..... 57

Figura 14. Ração encapsulada visualizadas através de Microscopia eletrônica de Varredura com aumento de 650x..... 57

Figura 15. Ração encapsulada visualizadas através de Microscopia eletrônica de Varredura com aumento de 10000x..... 58

Figura 16. Visualização de um poro presente na esfera através da Microscopia eletrônica de Varredura com aumento de 6000x 58

Figura 17. Visualização do interior do poro presente na esfera através da Microscopia eletrônica de Varredura com aumento de 8000x 59

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Pag.

Gráfico 1. Composição da Soja e seus subprodutos (ABIOVE,2005)..... 16

Gráfico 2. Quantidade de proteína, em %, presente no Farelo de Soja e o valor indicado pelo fabricante..... 37

Gráfico 3 . Distribuição da perda média de material durante o processo de formação das esferas de farelo de soja..... 40

Gráfico 4. Gráfico de pertubação das variáveis soja e tempo em relação a concentração de proteína(mg/ml) presente nas capsulas..... 45

Gráfico 5. Gráfico de pertubação das variáveis soja e tempo em relação porcentagem de proteína presente nas capsulas de soja formada..... 46

Gráfico 6. Gráfico de superfície de resposta da concentração de proteína presente nas esferas..... 46

Gráfico 7. Gráfico de superfície de resposta da porcentagem de proteína presente nas esferas..... 47

Gráfico 8. Avaliação da cinética de liberação durante o período de 24 horas de experimentos..... 49

Gráfico 9: Avaliação da estabilidade das capsulas formadas durante o período de 24 horas 52

ÍNDICE DE TABELAS

Pag.

Tabela 1. Produção mundial de organismos aquáticos (em milhões de toneladas) na aqüicultura. (FAO, 2010)…….. 6

Tabela 2. Participação dos países produtores de pescado procedentes da aqüicultura. (FAO, 2010)…….. 6

Tabela 3. Análise da cinética de liberação de proteína……. 32

Tabela 4. Condições do experimento no Planejamento Experimental gerado pelo software Design Expert 7.1.6 trial…… 34

Tabela 5. Avaliação da perda de proteína e o rendimento final de retenção da proteína no interior das capsulas…….. 42

Tabela 6. Avaliação do percentual de proteína retida nas capsulas após 24 horas…... 50

Tabela 7. Comparação dos tipos de ração utilizadas na aqüicultura…… 53

Tabela 8. Valores nutricionais das rações encapsuladas elaboradas…… 54

Tabela 9. Valores nutricionais das rações encapsuladas submetidas a secagem overnight……... 56

ÍNDICE DE QUADROS

Pag.

Quadro 1. Composição nutricional do Farelo de Soja FUMEL..... 26

Quadro 2. Resultado do Planejamento Experimental (13 experimentos) com duas variáveis (Tempo e Soja) apresentando duas respostas (concentração de proteína e percentual de proteína retida)..... 44

Quadro 3. Analise de otimização do rendimento na formação da ração encapsulada..... 48

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO…….. 1
2. JUSTIFICATIVA …….. 3
3. OBJETIVOS …… . 4
3.1. OBJETIVO GERAL …… 4
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS…… 4
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA …… 5
4.1 AQUICULTURA …… 5
4.1.1 Definição …… 5
4.1.2 Histórico ……… 7
4.1.3 Sistema de Produção …… 8
4.2 AQUICULTURA MODERNA …… 9
4.2.1. Definição…… 9
4.2.2. Sustentabilidade …… 9
4.2.3 Impactos Ambientais …… 10
4.3. ALIMENTAÇÃO……. 11
4.3.1 Qualidade e quantidade do alimento…… 11
4.3.2 Importância da alimentação e metabolismo dos peixes…… 12
4.4 RAÇÃO…… 14
4.4.1. Definição …… 14
4.4.2 Manejo Alimentar …… 15
4.5. SOJA…… 15
4.5.1 Definição ……..…… 15
4.5.2 Farelo de Soja ……... 16
4.6. ENCAPSULAMENTO……. 18
4.6.1 Histórico……. 18
4.6.2 Definição …… 18
4.6.3 Matriz de revestimento …… 19
4.6.3.1 Alginato ……... 19
4.6.3.2 Capsul® …… 22
4.6.4 Principais aplicações do Encapsulamento…… 23

5. MATERIAIS E MÉTODOS …… 26
5.1 MATERIAIS …… 26
5.1.1 Farelo de Soja…… 26
5.1.2 Capsul® …… 27
5.1.3. Alginato de Sódio® …… 27
5.1.4 Cloreto de cálcio…… 27
5.1.5 Citrato de Sódio …… 27
5.1.6 Ácido Acético…… 27
5.2 EQUIPAMENTOS …… 27
5.2.1 Espectrofotômetros …… 27
5.2.2 Microscopia Eletronica de Varredura…… 28
5.3 CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS …… 28
5.3.1 Produção de Cápsulas de Ração…… 28
5.3.2 Quantificação da Concentração de Proteína…… 31
5.3.3 Cinética de Liberação de Proteína …… 32
5.3.4 Planejamento Experimental…… 33
5.3.5 Flotação e avaliação da Estabilidade…… 34
5.3.6 Análise Centesimal…… 34
5.3.6.1 Umidade…… 35
5.3.6.2 Cinzas…… 35
5.3.6.3 Proteínas…….. 35
5.3.6.4 Lipídeos…… 36
5.3.7 Microscopia Eletrônica de Varredura…… 36
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO…… 37
6.1 ANÁLISES DE PROTEÍNA NO FARELO DE SOJA……...…… 37
6.2 PRODUÇÃO INICIAL DA RAÇÃO ……...… 38
6.3 QUANTIFICAÇÕES DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA……. 39
6.4 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL …… 43
6.5 CINÉTICAS DE LIBERAÇÃO DO FARELO DE SOJA…… 49
6.6 FLOTAÇÃO…… 50
6.7 COMPARAÇÃO ENTRE AS RAÇÕES…… 52
6.8 VALOR NUTRICIONAL…… 53
6.9 MICROSCOPIA ELETRONICA DE VARREDURA…… 56

7. CONCLUSÃO …… 60
8. PERSPECTIVAS ……. 61
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ……..... 62

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura cresce mais rapidamente dentre os setores produtivos de alimentos animais. Mundialmente, o setor cresceu 82% nos últimos 10 anos (FAO, 2010). Em diversos países, a aquicultura se tornou uma atividade de produção de larga escala, fazendo com que a indústria dos cultivos aquáticos seja bastante expressiva na economia dessas nações (ARANA,1999).

No Brasil, somente a partir dos anos 80, a aquicultura assumiu características de atividade econômica. Essa nova posição é fruto de uma série de fatores que possibilitaram a sua real implantação. Pode-se citar como um deles a existência de tecnologia compatível com uma criação racional, viabilizando diferentes processos de produção que permitem o escoamento da produção, tanto em larga como em pequena escala. (MARTIN *et al.*,1995)

Utilizando-se de técnicas de criação extensiva e semi-intensiva, as tecnologias vêm sendo aprimoradas para melhorar a produtividade das criações, a qualidade dos produtos e o retorno economico da atividade (MAINARDES PINTO, 1989 ; CASTAGNOLLI, 1992).

Atualmente, a aquicultura enfrenta o desafio de moldar-se ao conceito de sustentabilidade, o que implica em agregar novos valores a produção de conhecimento e às práticas do setor. Deve–se entender, portanto, que a preservação ambiental é parte do processo produtivo (VALENTI *et al.*, 2000).

O desenvolvimento sustentável tem levado todas as nações a buscar um equilíbrio entre o crescimento e a proteção dos recursos naturais. Isto foi enfatizado na proposta elaborada na reunião da ONU em 1992 para o futuro sustentável, a denominada agenda 21. Este documento trata a água como um elemento vital, por ser um recurso finito e de distribuição irregular no planeta (SCARE, 2003).

Em qualquer sistema de cultivo intensivo, a alimentação corresponde à maior parte do custo da produção (EL-SAYED, 1999). Na aquicultura, este valor pode representar cerca de 70% dos custos de produção. Em se tratando de criação de peixes, o problema á ainda maior, isso porque as exigências protéicas são maiores, tornando-se necessária, então, a utilização de ração rica em proteína, onerando ainda mais os custos de produção. (BOSCOLO *et al*., 2001).

A utilização de rações desbalanceadas e não estáveis, além de provocar menor desempenho nos organismos cultivados, causa graves impactos para o meio ambiente como à

própria criação, uma vez que os nutrientes são eliminados, aumentando a eutrofização do meio aquático (ELLER, 2000).

Sendo assim, o farelo de soja é uma ótima alternativa para ser utilizado como fonte protéica, devido ao seu baixo valor em relação a outras fontes protéicas de origem animal e ao seu grande potencial protéico, aproximadamente de 43,5 à 49 % de proteína bruta. (ALMEIDA *et al*,1972)

Outra questão, é a busca por novas formas de rações, como por exemplo a ração encapsulada, com altos níveis energéticos, que apresentam estabilidade e tenha propriedades de retenção de nutrientes a fim de evitar impacto ao meio ambiente.

Esta ração encapsulada é formada através do processo de encapsulamento que é o processo de empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos em cápsulas de dimensões milimétricas, ou até micro e nanométricas, as quais podem liberar o conteúdo de forma controlada e sob condições específicas. Trata-se de uma tecnologia inovadora que tem sido empregada com êxito na indústria de cosméticos, farmacêutica e alimentícia. Essa técnica tem solucionado limitações no emprego de ingredientes alimentícios, visto que pode suprimir ou atenuar *flavors* indesejáveis, reduzir a volatilidade e a reatividade e aumentar a estabilidade destes em condições ambientais adversas, como na presença de luz, oxigênio e pH extremos. (FAVARO-TRINDADE *et al*, 2008).

2. JUSTIFICATIVA

Apesar dos benefícios sociais (geração de emprego) e econômicos, deve-se considerar que a aquicultura é uma atividade impactante ao meio ambiente, especialmente quando executadas de maneira inadequada e sem planejamento do uso de recursos naturais e as estratégias que assegurem o desenvolvimento pretendido. Neste escopo, conceitos como eco desenvolvimento, tecnologias apropriadas ou alternativas passaram a ocupar um crescente espaço nos debates acadêmicos (ASSAD & BURSZTYN, 2000; ALMEIDA ,2003) e empresariais. Assim, várias formas de avaliação de impactos e de gestão deste setor produtivo vem sendo desenvolvidas, procurando-se reduzir de forma exponencial os impactos ambientais decorrentes do crescimento da produção.

Um dos maiores impactos causados pela aquicultura é a eutrofização dos recursos hídricos que consiste nas alterações da qualidade da água dos mananciais, já que a maioria das pisciculturas não possui filtros e/ou tratamento dos efluentes dos tanques de cultivo. O efeito da qualidade do efluente sobre o corpo receptor está ligado principalmente à quantidade de sólidos suspensos na água e a quantidade de nutrientes dissolvidos. (ELLER, 2007)

Sendo assim, o presente trabalho propõe uma nova forma física de ração para ser utilizada na piscicultura. A ração proposta é encapsulada visando a retenção de nutriente, aumentando a sua estabilidade no ambiente aquático e diminuindo a quantidade de sólido em suspensão na água e nutrientes dissolvidos e conseqüentemente não prejudicando a qualidade da água dos efluentes.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo geral produzir cápsulas de liberação controlada de Farelo de Soja, a serem utilizadas como ração na alimentação de peixes em sistemas de criação.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Produzir cápsulas contendo farelo de soja a base de alginato de sódio e amido modificado (Capsul).

- ✓ Avaliar a taxa ou cinética de liberação do farelo de soja presente nas cápsulas quando expostas em ambiente aquático.

- ✓ Avaliar alguns parâmetros para melhor formulação da ração encapsulada, a fim de obter um melhor rendimento nutricional e uma melhor aplicabilidade.

- ✓ Avaliar a micro estrutura das cápsulas elaboradas

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. AQUICULTURA

4.1.1. Definição

A aquicultura pode ser definida como a produção em cativeiro de animais (peixes, moluscos, crustáceos, répteis, anfíbios e equinodermos) ou plantas que tenham um habitat predominantemente aquático em pelo menos uma fase de sua vida (MESTRE, 2008). Para considerar que um produto tem origem na aquicultura é necessário que durante o seu ciclo de vida este seja objeto de algum tipo de intervenção humana, tendo por objetivo o aumento da produção através de práticas como a alimentação artificial, a proteção contra predadores, a integração com outras espécies ou o controle populacional (FAO, 2006).

A aquicultura pode ser dividida em quatro áreas principais, a produção de crustáceos, de algas, de moluscos e de peixes. Cada um deste ramos possui características, aspectos teóricos e valores de mercado próprios, entretanto a produção de peixes, também chamada de piscicultura, corresponde a maior parcela desta atividade, tornando a aquicultura como termo referência para o cultivo do pescado. (MESTRE, 2008)

A pesca e a aquicultura são consideradas pela ONU como atividades estratégicas para a segurança alimentar sustentável do planeta, devido a sua alta capacidade de fornecimento de alimento protéico de alta qualidade, contribuindo também para a geração de emprego em diversos países. Contudo, a atividade pesqueira tem se mostrado frágil devido a excessiva atividade de pesca sofrido pelos estoques marinhos, o que impede sua renovação (ARANA, 1999).

De acordo com pesquisas realizadas pela FAO, a produção mundial da aquicultura (marinha, estuarina e continental) nos últimos 10 anos apresentou um crescimento acelerado, atingindo aproximadamente 82%. A aquicultura produziu em 2008, aproximadamente 52,54 milhões de toneladas de organismos aquáticos, conforme está expresso na Tabela 1. (FAO, 2010).

Tabela 1. Produção mundial de organismos aquáticos (em milhões de toneladas) na aquicultura. (FAO, 2010).

Ano Referencia	Produção (milhões de toneladas)
1999	30,73
2000	32,41
2001	34,61
2002	36,78
2003	38,91
2004	41,9
2005	44,3
2006	47,35
2007	49,9
2008	52,54

De acordo com essa mesma pesquisa, a China possui mais da metade da produção mundial, seguida pela India e Vietnã. O Brasil ocupa somente a 17º colocação neste mesmo "ranking".(Tabela 2)

Tabela 2. Participação dos países produtores de pescado procedentes da aquicultura. (FAO, 2010)

Posição	País produtor	Toneladas - 2008
1º	China	30.614.968
2º	Índia	2.472.335
3º	Vietnã	1.198.617
4º	Tailândia	1.172.866
5º	Indonésia	1.045.051
6º	Bangladesh	914.752
7º	Japão	776.421
8º	Chile	674.979
9º	Noruega	637.993
10º	EUA	606.549
17º	**BRASIL**	**289.648**

4.1.2 Histórico

A aquicultura teve inicio na China há mais de 2.500 anos, sendo então praticada de maneira rústica e destinando a produção apenas para consumo doméstico. Seu desenvolvimento deu-se a partir do momento em que as populações se tornaram sedentárias e começaram a aproveitar os recursos hídricos das culturas de arroz para o cultivo da carpa comum (*Cyprinus carpio*). Do Oriente, a aquicultura expandiu-se por toda Europa através da Grécia e Itália. No continente europeu os peixes eram criados inicialmente em tanques para abastecimento dos refeitórios dos mosteiros. Durante os dias de abstinência de carne, que chegavam a duzentos dias por ano, era permitido aos monges o consumo de peixes. Essa prática religiosa ajudou a popularizar o consumo de peixes. (REIDEL,2007 ; MESTRE,2008)

Sendo assim, a aquicultura desenvolveu-se como uma indústria mundialmente importante nos últimos 30 e 40 anos, através de avanços no campo técnico, como o aperfeiçoamento dos alimentos artificiais, principalmente quanto a sua estabilidade na água e composição nutricional, e o melhoramento das técnicas de arejamento artificial que passaram a ser adotadas em diferentes regiões (LANDAU, 1992).

No Brasil, a aquicultura começou a ser estudada no inicio do século passado, mais especificamente na década de 30. O país apresenta grande potencial de desenvolvimento para o cultivo de organismos aquáticos por possuir: (*i*) território com cerca de 12% da água doce disponível do planeta; (*ii*) costa marítima com 8.400 km de extensão; (*iii*) reservatórios de água doce ocupando 5.500.000 hectares; (*iv*) clima bastante favorável para essa atividade; (*v*) grande quantidade de terras disponíveis; (*vi*) mão-de-obra abundante e, (*vii*) demanda crescente no mercado (BORGHETTI *et al*, 2003. MERCADO DA PESCA, 2006).

A partir dos anos 80, a aquicultura assumiu características de atividade econômica. Essa nova posição é fruto de uma série de fatores que possibilitaram a sua real implantação, podendo citar como um deles: a existência de tecnologia compatível com uma criação racional, viabilizando diferentes processos de produção que permitem o escoamento da produção, tanto em larga como em pequena escala. (MARTIN *et al.*,1995)

No Brasil, em 1990 foram produzidas 30 mil toneladas, chegando a 176,5 mil toneladas em 2000 e 290 mil toneladas em 2008, sendo esta produção baseada em pequenas unidades de cultivo. Em 1998 estimava-se que existissem cerca de 100 mil produtores ocupando área de 80 mil hectares (FAO, 2010). Ainda de acordo com este órgão, aqui no Brasil, a produção de organismos aquáticos em 2003 era composta por 61% de peixes

(171.187 toneladas), seguido pelos crustáceos que representavam 32,4% (90.190 toneladas), moluscos com 3,9% (10.807 toneladas) e, por fim a ranicultura com 0,2% (629 toneladas). (REIDEL, 2007)

A produção nacional poderia crescer mais, porém, no hábito alimentar do brasileiro, não existe regularidade no consumo de pescado e alguns fatores culturais e econômicos interagem negativamente para o incremento desse hábito (BORGHETTI *et al*., 2003)

4.1.3 Sistema de produção

O avanço das técnicas de reprodução, manejo, alimentação e de melhoria das instalações desenvolvidas no pais e mesmo importadas de países onde a aquicultura atingiu elevado grau de desenvolvimento econômico e tecnológico, como Israel e Japão, gerou condições básicas para o início de expansão de uma aquicultura em bases empresarias (SAA-SP & IDEA-DECCO, 1989)

Com novas técnicas de criação, as tecnologias vêm sendo aprimoradas para melhorar a produtividade das criações, a qualidade dos produtos e o retorno financeiro da atividade (MAINARDES PINTO, 1989 ; CASTAGNOLLI, 1992).

De acordo com Martin *et al.* (1995) os sistemas de produção (criação) caracterizam-se da seguinte forma:

a) Sistema extensivo: tem por características principais a alimentação natural, com baixa renovação de água dos viveiros (menos de 5% ao dia), baixo nível de monitoramento da qualidade da água, com acompanhamento apenas da transparência da água pelo disco de Sechhi e com baixa produtividade anual por hectare (inferior a 5.500 kg de peixe/ha/ano). Geralmente, os viveiros não possuem planejamento (com dimensões variadas).

b) Sistema semi-intensivo: caracterizado por alimentação natural e suplementar, possui uma tecnologia de produção com renovação de 5% a 10% de água do viveiro ao dia, nível intermediário de monitoramento da qualidade da mesma, temperatura máxima e mínima, pH e alcalinidade e o uso de viveiros berçários, objetivando obter uma produtividade média anual entre 6.000 e 10.000kg/ha/ano. Os viveiros são construídos com planejamento prévio. É o sistema mais difundido na criação de peixes no mundo. No Brasil, cerca de 95 % da produção de peixes é proveniente deste sistema de criação

c) Sistema intensivo: utiliza uma alimentação completa. Os tanques são construídos com planejamentos e possui tecnologia de produção envolvendo renovação de mais de 10% da água do viveiro por dia, rigoroso monitoramento da água, temperatura máxima e mínima, pH, alcalinidade, oxigênio dissolvido e amônia, além da utilização de aeradores mecânicos na proporção de 4HP/ha e o uso de viveiros berçários, alcançando a produtividade anual acima de 10.000kg/ha/ano.

d) Sistema super-intensivo: Ocorre alta renovação de água nos tanques, a densidade de estocagem não é considerada por m^2, mas sim por biomassa/m^3. A ração deve ser nutricionalmente completa e ter estabilidade na água, pois é a principal fonte de alimento.

4.2. AQUICULTURA MODERNA

4.2.1 Definição

A aquicultura moderna está embasada em três pilares: a produção lucrativa, a preservação do meio ambiente e o desenvolvimento social. Os três componentes são essenciais e indissociáveis para que possa ter uma atividade perene. Deve-se entender, portanto, que a preservação ambiental é parte do processo produtivo (VALENTI *et al*, 2000 ; CASTAGNOLLI, 2005).

4.2.2 Sustentabilidade

O termo Desenvolvimento Sustentável propõe uma nova forma de modelo de desenvolvimento, especialmente a partir do relatório da comissão mundial, WECD (1987), para tratar de meio ambiente e desenvolvimento, mais conhecido como relatório de Brundtland. A comissão WECD definiu como desenvolvimento sustentável, aquele desenvolvimento que supre as necessidades do presente sem, contudo, comprometer as necessidades das gerações futuras.

O desenvolvimento sustentável tem levado as nações a buscar um equilíbrio entre o crescimento e a proteção dos recursos naturais. Isto foi enfatizado na proposta elaborada na reunião da ONU em 1992 para o futuro sustentável, a denominada AGENDA 21. Este documento trata a água como elemento vital, por ser um recurso finito e de distribuição irregular no planeta (SCARE, 2003).

Com a evolução da questão ambiental e das condições que o planeta apresenta, o cultivo racional de organismos aquáticos apresenta-se como atividade economicamente emergente na competição pelo recurso água.

Nos dias atuais, a aquicultura enfrenta o desafio de moldar-se ao conceito de sustentabilidade, o que implica em agregar novos valores à produção de conhecimento e as práticas do setor.

Apesar dos benefícios sociais (*e.g*. geração de emprego) e econômicos, deve-se considerar que todas as atividades produtivas são impactantes ao meio ambiente, especialmente quando executadas de maneira inadequada e sem considerar os princípios básicos de alteridade sócio-ambiental, dentre os quais, o planejamento do uso de recursos naturais e as estratégias que assegurem o desenvolvimento pretendido. Assim, dificilmente um princípio ou uma causa terá adquirido tanta adesão e consenso (ELER *et al*, 2007)

4.2.3. Impactos Ambientais

Invariavelmente, os modos de cultivo, afetam o ambiente por meio da ocupação e fragmentação dos habitats naturais e primitivos, pela redução da abundância e da diversidade da biota, com alterações do solo, da água e da qualidade da paisagem, contribuindo para que haja alterações nos fatores climáticos globais. De certa forma, as preocupações com esses impactos e a análise de custo-beneficios são essenciais para a avaliação da sustentabilidade da aquicultura a qual, até então, não era considerada como geradora de impacto ambiental. (ELLER,2000)

Um dos aspectos positivos da aquicultura é a manutenção de estoques de animais no mar e nos reservatórios, protegendo e conservando espécies em perigo de extinção, além de ressaltar como um aspecto positivo social e econômico as oportunidades de novas fontes econômicas e de trabalho. (BEVEIDGE, 1994)

Entretanto, a aquicultura não produz apenas impactos positivos. Analisando-se todos os sistemas de criação de peixes em cativeiro, tem sido verificado que os impactos negativos são muitos, com conseqüências diretas sobre o meio ambiente (ROSENTHAL,1994).

A eutrofização dos recursos hídricos é um dos maiores impactos causados pela aquicultura. Pillay (1992), ao monitorar 200 fazendas na Inglaterra, também mostrou os efeitos negativos da criação de peixes sobre o efluente, verificando que geralmente os

impactos estavam associados ao aumento de fósforo, florescimento de algas tóxicas, aumento do material em suspensão, culminando com a mortalidade de peixes.

Segundo Eller (2007), o efeito da qualidade do efluente sobre o corpo receptor está ligado principalmente a quantidade de sólido suspensos na água, a quantidade de nutrientes dissolvidos e a redução na concentração de oxigênio dissolvido. O enriquecimento orgânico afeta diretamente as taxas de consumo de oxigênio e quando a demanda pelo oxigênio dissolvido na água é maior que o disponível o sistema pode se tornar anóxico, principalmente na interface água-sedimento.

Além do efluente produzido pelos processos naturais e pelo enriquecimento de nutrientes e por fezes, a piscicultura também lança os resíduos de produtos químicos, os quais são utilizados na desinfecção, controles de pestes e predadores, tratamentos de doenças, hormônios para induzir a reprodução. (NUNES, 2002).

Um dos principais problemas nos sistemas de criação, são as rações não consumidas e expostas por longos períodos no corpo d'água. Essas rações não aproveitadas acabam sendo fontes de matéria orgânica aumentando o enriquecimento orgânico e intensificando os problemas já mencionados acima. (HUSSARL *et al.*, 2004)

4.3. ALIMENTAÇÃO

4.3.1. Qualidade e quantidade do alimento

Segundo Catagnolli *et al*. (1986), o sucesso na criação de peixes está diretamente relacionado ao fornecimento da alimentação, no que se refere a qualidade suficiente às necessidades de cada espécie. Kapoor *et al*. (1975), relataram que os peixes podem consumir uma grande variedade de alimentos e são caracterizados sob vários aspectos como: herbívoros, detritívoros, onívoros e carnívoros (FANGE&GROVE, 1979). Essas diferenças estão baseadas, principalmente, no seu comportamento alimentar, morfologia do trato gastrintestinal e fisiologia digestória (CHAKRABARTI *et al*., 1995; GERKING, 1994; HIDALGO *et al*., 1999).

Os peixes também podem ser subdivididos, de acordo com sua diversidade alimentar, em eurífagos, que consome uma dieta mista, em estenófagos, que consome uma seleção limitada de tipos de alimentos, ou monófagos, que consomem apenas um tipo de alimento (KAPOOR *et al*., 1975).

Segundo Pezzato (1995), a formulação de dietas que atendam as exigências das espécies é um desafio. Somente quando conhecermos as necessidades de cada espécie, o manejo mais funcional, conseguiremos garantir sucesso aos criadores e o desenvolvimento da atividade.

4.3.2 Importância da alimentação e metabolismo dos peixes.

As taxas metabólicas dos animais ectotérmicos, como os peixes, são de cinco a dez vezes menores, quando comparadas a dos animais endotérmicos de tamanho similar, mesmo estando, ambos, a mesma temperatura. Isso significa que as exigências para a manutenção dos peixes são menores quando comparados àquelas dos vertebrados endotérmicos, apresentando ainda um potencial considerável para a eficiência em conversão alimentar e crescimento somático (CARTER *et al*.,2000).

Em situações onde as condições ambientais são mantidas constantes, eventuais mudanças na alimentação terão reflexos no ciclo fisiológico; quando o período de alimentação diária é curto, a capacidade da porção anterior do trato gastrointestinal passa a não ser mais limitante, desde que o peixe consuma uma determinada quantidade de calorias (HOFER,1979).

De acordo com Buddington *et al*. (1997), se o valor calórico ou nutricional de uma determinada dieta é baixo, o peixe toma um grande volume de alimento e a taxa de alimentação passa a ser determinada pela fome ou saciedade, que depende do déficit metabólico.

Entretanto, o valor nutricional de uma dieta é determinado pela sua digestibilidade e absorção pelo animal, pois não é considerada proveitosa até ser absorvida e estar disponível para o metabolismo (LUNDSTEDT, 2003).

Segundo De Silva & Anderson (1995), a quantidade de proteína consumida pelos peixes, através da dieta, afeta diretamente seu estado metabólico.

Da mesma forma, Lovell (1989) concluiu em seus estudos que os peixes têm um requerimento energético menor que os animais terrestres, porque não precisam manter a temperatura do corpo constante, dependendo de menos energia do catabolismo protéico. Sendo assim, o requerimento em proteínas, como uma porcentagem da dieta, é geralmente, maior para os peixes.

Segundo Garling & Wilson (1976), os níveis de proteína da dieta entre 22 e 40% resultaram em crescimento máximo do bagre (*Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818), que foi atribuído a esta ampla variação de exigência protéica, como função das técnicas de produção e da composição das dietas. Daniels & Gallagher (2000) verificaram que linguados (*Paralichthys dentatus* Linnaeus, 1766) alimentados com 50% de proteína apresentaram um ganho de peso significativamente maior que os animais alimentados com menores teores de inclusão protéica, e não foram verificadas quaisquer alterações na composição de carcaça destes animais em função da proteína.

Lundstedt (2003) relatou que a quantidade de 20% de proteína não supriu os requerimentos nutricionais dos juvenis pintados (*Pseudoplatystoma corruscans* Spix & Agassiz, 1829) , mas, níveis altos de 50% proteína bruta (PB) significando um excesso de proteína em relação a energia disponível na dieta, podendo ser o principal responsável pelo crescimento reduzido em função da alta demanda energética para excreção de nitrogênio. O autor relatou também, que o crescimento não é otimizado somente elevando-se os níveis de proteína na dieta, mas levando-se em conta o balanço entre compostos energéticos e os teores de proteína

Machado *et al*. (1998) avaliaram o desempenho produtivo de juvenis de pintados (*Pseudoplatystoma corruscans* Spix & Agassiz, 1829) alimentados com diferentes níveis de proteína e energia, e concluíram que teores protéicos próximos a 30% foram efetivos para um bom desempenho, desde que houvesse um adequado aporte energético.

Heper (1989) destacou que a quantidade de proteína de uma dieta é determinada, em proporção, pela composição da proteína em relação aos aminoácidos essenciais e da presença de outros nutrientes essenciais como vitaminais e minerais. A composição em aminoácidos da proteína, sua configuração estrutural, digestibilidade da dieta, a eventual presença de inibidores de crescimento ou antinutricionais, determinam a eficiência de utilização da proteína para o crescimento e seu valor comparativo para o peixe (CATER *et al*., 2000)

Sendo assim, o balanço entre proteína e energia é o ponto central para o crescimento, onde a utilização da proteína como energia pode ser nutricionalmente vantajosa para o peixe, por produzir mais energia quando comparada ao catabolismo de carboidratos, com mesmo equivalente em peso (CARTER *et al*.., 2000).

Porém, a fração protéica é mais cara do que os carboidratos em geral. A proteína seria economicamente eficiente, se destinada para o crescimento, já as fontes não protéicas são mais baratas, como carboidratos e lipídios.

4.4. RAÇÃO

4.4.1. Definição

O tipo de alimentação utilizada na aquicultura vem sendo amplamente discutida, principalmente por representar cerca de 70% dos custos de produção em sistema de cultivo intensivo. Em relação à criação de peixes, este problema é geralmente mais grave. Isto porque suas exigências protéicas são maiores quando comparadas as demais espécies. Tornando-se necessário, então, a utilização de ração rica em proteína, onerando ainda mais os custos de produção (BOSCOLO *et al*., 2001).

Por estarem em meio aquático, as rações têm problemas de perda de nutrientes, principalmente os mais solúveis. Sendo assim, o processamento adequado da ração é fundamental na alimentação dos animais (FIRELLI *et al*. ,2000).

Existem atualmente três formas físicas distintas de ração que são fornecidas na criação de peixes. (BOOTH *et al.*, 2000). A forma mais simples é a ração farelada (*i*), onde os ingredientes são apenas moídos e misturados. Sua utilização não é recomendada, uma vez que as perdas de nutrientes são muito grandes, causando não somente um "déficit" nutricional para os peixes, como também, a poluição da água nos tanques de criação. Não possui estabilidade na água (CECCARELLI , 2000).

Outra forma física de ração é a peletizada *(ii).* Esta ração combina umidade, calor e pressão, através da aglomeração de partículas menores, dando origem a partículas maiores. Sua estabilidade na superfície da água deve estar em torno de 15 minutos, o que garante sua qualidade. Este tipo de ração reduz as perdas de nutrientes na água, porém, pode eliminar alguns compostos tóxicos. A sua produção possui um custo elevado quando comparada a ração farelada (KUBITZA, 2000).

O terceiro tipo de ração é a extrusada *(iii)* que consiste num processo de cozimento em alta temperatura, pressão e umidade controlada. Um ponto positivo desta ração é a sua estabilidade na superfície da água que pode chegar a 12 horas, tornando o manejo alimentar com esse tipo de ração mais fácil. Atualmente, tem sido a forma de ração mais utilizada na piscicultura. (LOGATO,1999; CHENG & HARDY, 2003)

4.4.2 Manejo Alimentar

A quantidade de ração fornecida aos peixes varia de acordo com a densidade de estocagem, a espécie, o tipo de ração, a fase de crescimento, as condições ambientais do viveiro e com a condição de saúde dos animais (HEPHER, 1988).

Normalmente, adota-se como parâmetro, o conceito de "biomassa", que é traduzido pelo número estimado de peixes existentes no tanque multiplicado pelo seu peso médio. Para isso, é necessária uma avaliação periódica dos peixes, a cada 30 a 45 dias (RODRIGUES *et al*,2006).

O número de vezes que os peixes devem ser alimentados por dia varia em função da temperatura, da espécie criada, da idade ou tamanho dos peixes e da qualidade da água do tanque. Geralmente, quando a temperatura diminui, o consumo de ração é menor e, portanto, o seu fornecimento também. Quanto mais jovem é o peixe, mais vezes por dia ele deve ser alimentado. Assim, na fase de alevinagem, a freqüência de alimentação passa a ser de duas a três vezes ao dia. Já na "engorda", essa freqüência cai para uma a duas vezes por dia. A qualidade da água é influenciada pela freqüência de alimentação, uma vez que o excesso de ração no tanque acaba provocando a diminuição do oxigênio dissolvido na água, e conseqüentemente, prejudicando os peixes (KUBITZA,1997 ; OSTRENSKY,1998).

4.5. SOJA

4.5.1 Definição

A soja, originária da China Continental, é uma planta que pertence a família das leguminosas denominadas cientificamente de ***Glycine max*** (L), compreende mais de 7000 espécies conhecidas a mais de 5000 anos (PENZ & BRUGALLI, 2001). Em 1712 foi introduzida na Europa e em 1984 chegou aos Estados Unidos. No Brasil, o primeiro registro de introdução da soja data de 1882 na Bahia, porém sem alcançar êxito. Diversos outros registros demonstram que a soja amarela foi inicialmente plantada na estação agronômica de Campinas em 1891. Mas somente na década de 60 seu desenvolvimento começou a ser significativo no Brasil (GOLDFLUS, 2001).

O grande incremento nacional na produção de soja é devido, especialmente, aos incentivos governamentais, a boa adaptação da cultura as nossas condições ecológicas, as

possibilidades de total mecanização no seu manejo e ao fato da colheita coincidir com a entressafra dos Estados Unidos, o que assegura bom mercado de exportação (GOLDFLUS,2001).

A soja é uma excelente cultura de rotação, uma vez que sendo uma leguminosa fixa nitrogênio do ar atmosférico ao solo, através da fixação simbiótica dos nódulos radiculares. O valor nutricional da soja prende-se ao seu alto teor de proteínas de fácil digestão, rica em aminoácidos essenciais e fonte de óleo de boa qualidade. (Gráfico 1) (ARAUJO,1986).

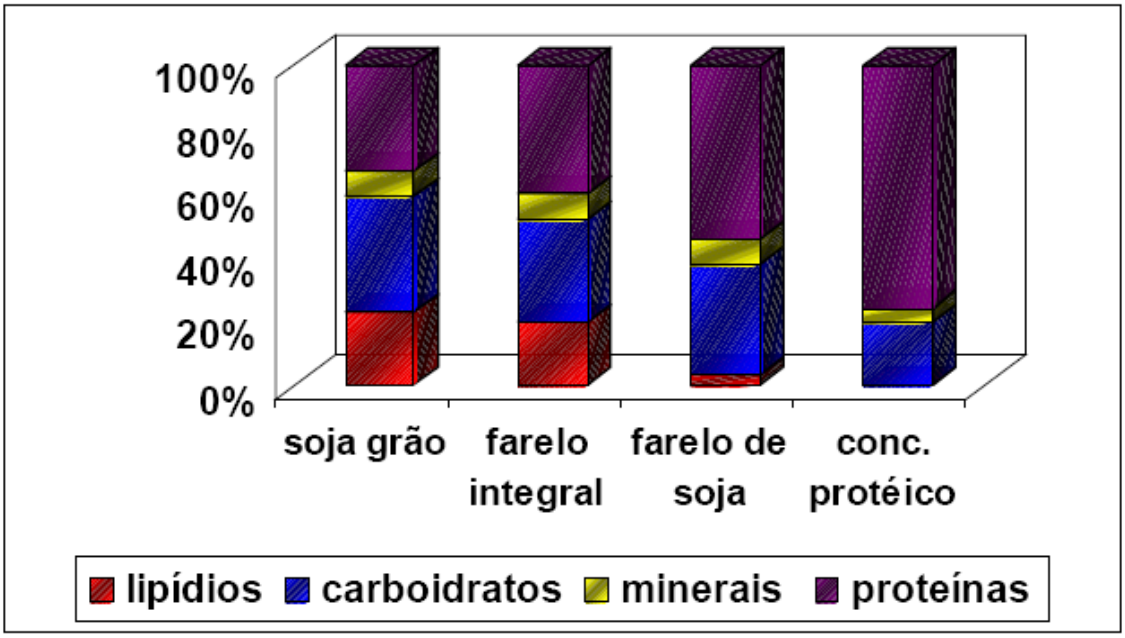

Gráfico 1 – Composição da Soja e seus subprodutos (ABIOVE, 2010)

Segundo dados do CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), houve um crescimento significativo na produção brasileira de soja nos últimos anos. Na safra 2008/09, a cultura ocupou uma área de 21,7 milhões de hectares, o que totalizou uma produção de 57,1 milhões de toneladas, representando boa parte da economia brasileira.(ABIOVE, 2010)

4.5.2 Farelo de Soja

Dentre os subprodutos de soja o mais utilizado na agroindústria é o farelo de soja, utilizado na nutrição de ruminantes, suínos e aves; sendo um ótimo complemento ao milho para formar a base de uma ração. O processamento do farelo de soja inicia-se com o recebimento dos grãos de soja que passam pelo processo de secagem, limpeza e retirada da

casca. Essa medida prévia ao processo de tostagem e remoção do solvente no processo de obtenção do farelo assegura também que os aminoácidos essenciais não sejam inativos pela ligação com compostos fribosos; a soja sem casca é condicionada e laminada para obtenção dos flocos com gordura. Algumas esmagadoras de soja usam atualmente expansoras para melhorar a eficiência da extração do óleo com solvente. Sua temperatura de 105-120^{0}C melhora a percolação e a drenagem do solvente nos flocos. Extrai-se óleo com solvente (hexano 65-70^{0}C), para a obtenção do farelo sem gordura, que passa pela dessolventização(33-35^{0}C) de hexano à 105-110°C de 15 a 30 minutos. O material é secado e novamente esfriado à -10^{0}C e moído (GOLDFLUS,2001).

O farelo de soja, sob o ponto de vista da nutrição, possui proteínas de alto valor biológico, e neste aspecto, assemelha-se mais a proteína animal do que a qualquer outra vegetal. Os farelos de soja comuns tem aproximadamente de 43,5 à 49 % de proteína bruta. Existem também os farelos “hipro” que possuem de 49 até 54% de proteína bruta, estes, geralmente são destinados a exportação (ALMEIDA *et al*., 1972).

Dentre a série de fatores que prejudicam a composição e a qualidade do farelo de soja destaca-se a qualidade do grão de soja utilizado, que é influenciado por condições ambientais, daí a necessidade de se conhecer a composição médias dos farelos de diferentes regiões brasileiras (SAKOMURA,1996). O controle do tratamento térmico também é de fundamental importância, pois pode comprometer a qualidade protéica, diminuindo seu aproveitamento no processo digestivo do animal (PARSONS *et al.,* 1992).

Na piscicultura, dentre as fontes de origem vegetal, o farelo de soja destaca-se como fonte sucedânea de proteína que apresenta o perfil de aminoácidos mais favorável e também mais palatável para a maioria dos peixes. Além disso, está disponível nos mercados mundiais a um custo relativamente baixo comparando-se à farinha de peixe (FERNANDES, 1998). PONGMANEERAT & WATANABE (1993) trabalharam com alevinos de carpas (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) concluindo que o farelo de soja constitui-se em boa alternativa como fonte protéica, porém salientam que existe a necessidade de suplementação de lisina, arginina, cistina e triptofano. Já para o bagre (*Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818), Wilson (1984) salienta que a proteína da soja não é deficiente em qualquer aminoácido essencial.

Outro ponto positivo a favor do farelo de soja é o fato do mesmo ser gerado como resíduo no processo de obtenção do biodiesel. Sendo assim, esse resíduo poria ser utilizado

como fonte protéica da ração elaborada, reduzindo os custos de compra do farelo e contribuindo também para a redução da geração de resíduos.

ENCAPSULAMENTO

4.6.1 Histórico

O conceito de microcápsula surgiu da idealização do modelo celular. Neste, a membrana que envolve e protege o citoplasma e os demais componentes exerce ao mesmo tempo outras funções, como controlar a entrada e saída de material da célula (FINOTELLI, 2002). Os primeiros registros de tentativas de aplicação dessa idéia datam dos anos 30, mas o primeiro produto reconhecido com material microencapsulado só surgiu em 1954. A empresa norte-americana National Cash Register foi a pioneira, ao comercializar um papel de cópia sem carbono, revolucionando a indústria de formulários. Esse papel recebia uma fina camada de microcápsulas, liberando a tinta incolor que, ao entrar em contato com reagente, tornava-se colorida, produzindo em outra folha uma cópia idêntica ao que estava sendo escrito no primeiro papel. De acordo com Thies (1995) as primeiras pesquisas na área farmacêutica, realizadas pela Universidade de Wiscosin (EUA), também datam dos anos 50. Na área de alimentos, os estudos foram iniciados nos anos 60 pelo Instituto de Pesquisas Southwest (EUA), com a microencapsulação de óleos essenciais para prevenir a oxidação e a perda de substâncias voláteis e controlar a liberação do aroma.

4.6.2 Definição

A microencapsulação é definida como a tecnologia do empacotamento de materiais sólidos, líquidos e gasosos, em minúsculas cápsulas seladas, isolando-os e protegendo-os das condições ambientais adversas, como luz, oxigênio, umidade e interações com outros compostos, as quais podem liberar seus conteúdos a taxas controladas em condições específicas. Essas embalagens em miniaturas, que são chamadas de microcápsulas, podem variar de “sub-micron” a alguns milímetros de tamanho e são idealmente esféricas; entretanto a estrutura é fortemente influenciada pela estrutura do material original. O material encapsulante é denominado filme ou material de parede, enquanto o encapsulado é chamado

de material ativo, núcleo ou fase interna (DZIEZAK,1988; MATIOLI & RODRIGUEZ-AMAYA, 2003; BASTOS, 2007).

A microcapsulação pode, potencialmente, oferecer inúmeros benefícios aos materiais que estão sendo encapsulados. Várias propriedades dos materiais ativos podem ser modificadas pela encapsulação. Por exemplo, propriedades de manuseamento e fluidez podem ser melhoradas pela conversão da forma líquida para a sólida encapsulada. Materiais higroscópicos podem ser protegidos da umidade. Ingredientes voláteis, sensíveis ao calor, luz e oxidação podem ser conservados. Materiais que a princípio são incompatíveis podem ser misturados e usados seguramente. (FINOTELLI, 2002).

4.6.3 Matriz de revestimento

Um dos principais passos na produção de um revestimento é a seleção do material de parede adequado. Substâncias de revestimento são basicamente materiais formadores de filme que podem ser selecionados a partir de uma ampla variedade de polímeros naturais ou sintéticos, dependendo do material a ser revestido e das características desejadas nas microcápsulas (ABURTO *et al*., 1998; FINOTELLI, 2002; ASCHERI *et al*., 2003; PIERUCCI, 2005; BASTO, 2007). O material de parede, para ser ideal necessita ser emulsificante, bom formador de filme, ter baixa viscosidade com altos níveis de sólidos, apresentar alta higroscopicidade, favorecer a adequada liberação do conteúdo quando reconstituído no produto final. Dentre os materiais de parede mais utilizados incluem-se carboidratos (amido, amido modificado, maltodextrinas, sacarose e ciclodextrinas), celulose (carboximetilcelulose e derivados), gomas (arábica, àgar), lipídeos (ceras, parafina e ácidos graxos), proteínas (glúten, caseína, gelatina e outros) (JACKSON apud BERTOLINI, 1999).

4.6.3.1 Alginato

Dentre os diversos polímeros utilizados na tecnologia de liberação controlada de substâncias bioativas, destacamos o alginato ou algin. Este corresponde a um polissacarídeo de parede celular, extraído com álcalis diluídos de várias espécies de algas marrons marinhas (Classe Phaeophyceae, espécies *Fucus serratus, Ascophyllum nodosum, Laminaria digitata, Laminaria cloustonii, Ecklonia maxima e Macrocystis pyrifera*), sendo constituído por resíduos de ácidos α-L-gulurônicos e ácidos β-D-manurônicos unidos por ligações 1 → 4 de

composição e estrutura seqüencial amplamente variada (BOBBIO & BOBBIO, 1992; RHIM, 2004; SANTACRUZ *et al*., 2002; WONG, 1989; BELlTZ & GROSCH, 1988). Os alginatos comerciais apresentam um grau de polimerização oscilando entre 100 e 1000 e a sua massa molecular costuma encontrar-se no intervalo compreendido entre 32.000 e 200.000 Dalton. Os grupos carboxílicos possuem valores de pKa entre 3,4 e 4,4. A figura 1 exemplifica as unidades constituintes dos alginatos (WONG, 1989; BELlTZ & GROSCH, 1988).

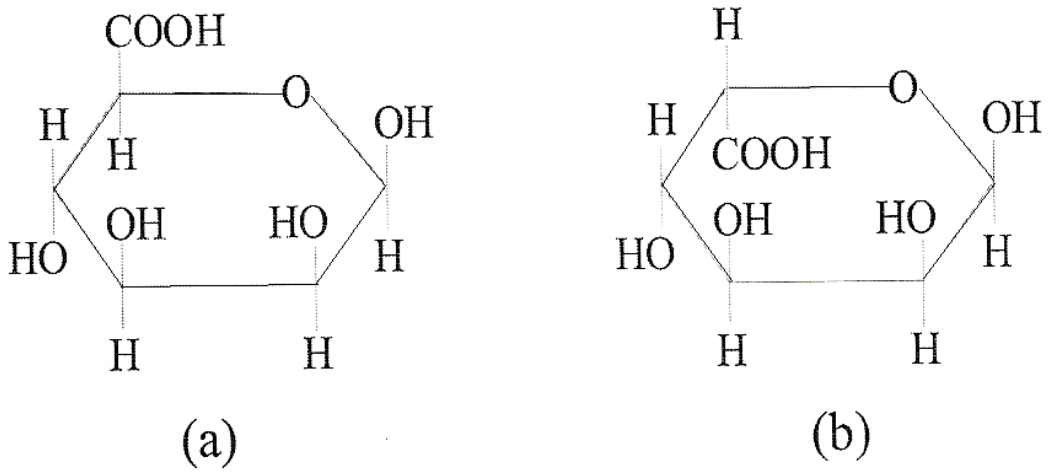

Figura 1: Estrutura química de ácidos algínicos: a) ácido manurônico, b) ácido gulurônico (FRANCHETTI & MARCONATO, 2006).

O ácido algínico e os sais de alginato formados com metais di e trivalentes (cálcio, por exemplo) são insolúveis em água, enquanto que os sais de alginato de metais alcalinos (sódio e potássio, por exemplo), magnésio, amônio quaternário e aminas, ao contrário, apresentam solubilidade em água (BELlTZ & GROSCH, 1988; COULTATA, 1984; WONG, 1989; FENNEMA, 1996). O ácido algínico é um polissacarídeo que naturalmente contém grupos carboxílicos em cada resíduo constituinte e possui várias habilidades para materiais funcionais. A propriedade mais útil dos alginatos é sua habilidade em reagir com cátions polivalentes, especialmente íons de cálcio, para produzir géis fortes ou polímeros insolúveis utilizados pela indústria de alimentos e biotecnologia (imobilização de células e enzimas). Em outras palavras, os íons cálcio são capazes de formar complexos com quatro ou mais resíduos de unidades de ácido gulurônico dando origem, com isso, a uma estrutura conhecida como "Egg Box", conforme demonstrado na figura 2 (RHIM, 2004; SANTACRUZ *et al*., 2002; COULTATA, 1984).

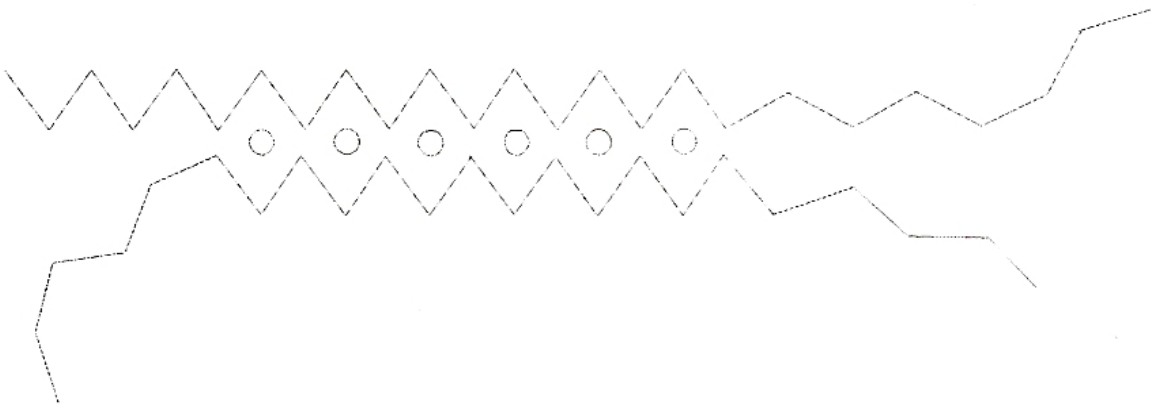

Figura 2: Estrutura Egg Box do alginato de cálcio (COULTATA, 1984)

Através da adição de íons cálcio ou por acidificação de soluções de alginato sódico, podem ser obtidos géis, películas ou fibras. Em outras palavras, além da gelificação em presença de baixa concentração de íons di e trivalentes à temperatura ambiente, o alginato apresenta também a capacidade de formar gel sem a presença de tais íons, porém em condições de pH igual ou inferior a três. Entretanto, para a formação homogênea de géis, é necessário que a reação ocorra lentamente (BELITZ & GROSCH, 1988; FENNEMA, 1996). Os resíduos de ácidos L-gulurônico e D-manurônico costumam encontrar-se arranjados em regiões compostas somente de uma ou outra unidade, chamadas de blocos-M e blocos-G, assim como podem apresentar regiões onde as duas unidades alternem. Destaca-se o fato de que os blocos homogêneos costumam apresentar-se mais resistentes a hidrólise que os blocos onde haja alternância de unidades (SHAHIDI & HAN, 1993; WONG, 1989). Tanto a proporção entre ácido manurônico e ácido gulurônico (M/G) quanto a estrutura do polímero determinam as propriedades de solubilidade do alginato. A proporção entre os resíduos componentes do alginato é em geral aproximadamente 1,5 (M/G) sendo esta variável em função da procedência do polissacarídeo (SHAHIDI & HAN, 1993; BELITZ & GROSCH, 1988). As soluções dos alginatos são muito viscosas com propriedades que dependem da relação M/G, do peso molecular e do íon que neutraliza os grupos ácidos, presente em solução. Em ausência de cátions di e trivalentes, a viscosidade da solução de alginato será pequena. Por outro lado, o congelamento ou descongelamento de soluções de alginato sódico, em presença de cálcio, pode conduzir ao aumento da viscosidade final da solução. (BELITZ & GROSCH, 1988) A viscosidade das soluções diminui conforme o aumento da temperatura e é ligeiramente influenciada por mudanças do pH entre 4,5-10, no entanto, aumenta a valores de pH inferiores a 4,5, alcançando o máximo ao redor de 3 - 3,5 (BELITZ & GROSCH, 1988; FENNEMA, 1996).

O alginato é de grande interesse e utilização na indústria de alimentos devido às suas propriedades coloidais únicas que incluem espessante, suspensão, formador de filme, gelificante e estabilizante de emulsão. Sendo assim, melhora e estabiliza, em concentrações entre 0,25 e 0,5%, a consistência de recheios, bombons, produtos a base de leite e impede a formação de cristais de gelo em sorvetes, durante sua elaboração e armazenamento. Além disso, é bastante útil no preparo dos mais diversos tipos de géis, incluindo pudins e gelatinas, assim como na estabilização de sucos de frutas e espuma de cerveja (BELITZ & GROSCH, 1988; RHIM, 2004).

4.6.3.2 Capsul®

A National Starch and Chemical Corporation dos Estados Unidos desenvolveu, após muitas pesquisas, um amido modificado chamado Capsul® que corresponde a um amido de milho ceroso enzimaticamente modificado. Esta modificação consiste em acrescentar um componente lipofílico - Succinato de octenil - o que, nas formulações, aumenta a capacidade e a estabilidade de emulsões. Em outras palavras, o Capsul®, também conhecido por amido octenilsuccinato, é obtido pela esterificação do amido com o ácido octenilsuccinato anidro resultando, com isso, num amido hidrofobicamente modificado. A figura 3 exemplifica a reação de obtenção do Capsul® (ABURTO *et al*., 1998; FINOTELLI, 2002; MAIA, 2004; SILVA , 2008).

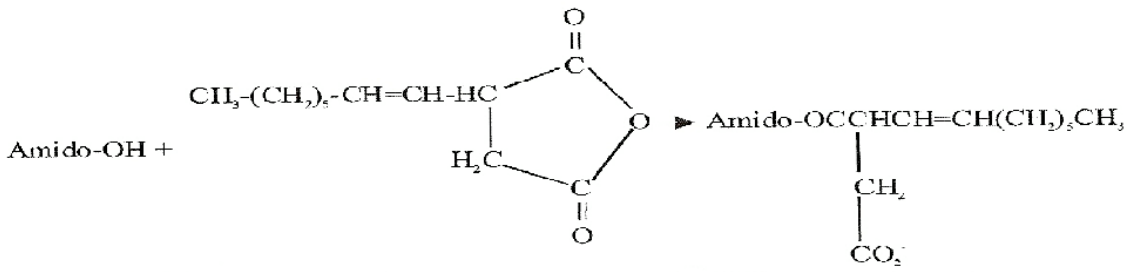

Figura 3. Reação de obtenção do Capsul®

A produção de amidos modificados é uma alternativa que vem sendo desenvolvida há algum tempo com o objetivo de superar uma ou mais limitações dos amidos nativos e assim aumentar a utilidade e aplicabilidade deste polímero pelas indústrias (SILVA *et al*., 2006). As razões que levam à modificação do amido incluem modificar as

características de gelatinização, diminuir a retrogradação e a tendência das pastas em formarem géis; aumentar a estabilidade das pastas ao resfriamento e descongelamento, a transparência das pastas ou géis e a adesividade; melhorar a textura das pastas ou géis e a formação de filmes; adicionar grupamentos hidrofóbicos e introduzir poder emulsificante (SILVA *et al*, 2006).

O amido representa um polímero com habilidade para o aprisionamento de moléculas em tecnologias de liberação controlada de substâncias bioativas. Esta habilidade encontrada no carboidrato ocorre devido a sua fração amilose que é capaz de formar estruturas helicoidais e, com isso, complexos muito estáveis. Entretanto, devido a sua natureza hidrofílica, o amido e seus hidrolisados não oferecem propriedades emulsificantes quanto aos ingredientes aprisionados em sistemas de liberação controlada (SHAHIDI & HAN, 1993). O Capsul® tem a capacidade de oferecer excelente propriedade emulsificante para óleos essenciais cítricos, óleos vegetais e uma grande variedade de mistura com voláteis, estabilizando-os para a secagem por atomização. O amido de milho modificado por inclusão de grupamento Iipofílico tem se tornado um substituto de proteínas e da goma arábica por custar em média 3 vezes menos, ser usado em menor quantidade (em peso), além de estar comercialmente disponível (FINOTELLI, 2002; ABURTO *et al*., 1998). A presença de grupos hidrofóbicos na estrutura do Capsul® torna este amido menos sensível à água. Além disso, a habilidade de formação de pontes de hidrogênio entre as cadeias deste amido é reduzida, resultando assim na formação de um filme mais flexível e, apesar de constituir-se em um amido modificado, a biodegradabilidade do amido é mantida (MAIA, 2004). O Capsul® é utilizado pelas indústrias farmacêutica e alimentícia com aprovação do FDA como um aditivo alimentar desde que o conteúdo de octenilsuccinato não exceda 3% (MAIA, 2004; BASTO,2007).

4.6.4 Principais aplicações do Encapsulamento

Atualmente no mercado, uma das mais conhecidas aplicações da tecnologia da encapsulação é na goma de mascar. Flavors de menta, canela, hortelã são microencapsulados e adicionados às gomas de mascar; desta forma, controla-se a liberação que deverá ocorrer na mastigação (PSZCZOLA, 1998; FINOTELLI, 2002).

Importantes aplicações da microencapsulação são encontradas principalmente nas indústrias de alimentos, envolvendo materiais cujos compostos são voláteis e óleos essenciais.

A encapsulação desses materiais sensíveis é possível transformando-os na forma seca, assim eles são protegidos pela “casca” contra a evaporação, oxidação, e reações químicas (ROSENBERG *et al*., 1990). A indústria de alimentos aplica a microencapsulação por algumas razões: para estabilizar o material ativo, para controlar a liberação do material ativo ou ainda para separar componentes de formulação reativos ou incompatíveis (BALASSA *et al*., 1971). No caso das vitaminas, estas podem ser adicionadas em misturas nutricionais secas para fortificar uma variedade de alimentos, incluindo cereais para café da manhã, produtos da indústria de laticínios, formulações infantis, e alimentos para animais. Tanto vitaminas lipossolúveis como hidrossolúveis podem ser microencapsuladas. A encapsulação reduz a possibilidade de perda de aroma, permite uma liberação controlada dos nutrientes, realça a estabilidade de vitaminas em temperatura e condições desfavoráveis, e ainda reduz a reatividade de cada nutriente com outros ingredientes (DZIEZAK, 1988; BASTOS, 2007). Quanto ao enriquecimento de alimentos este consiste em repor, suplementar, adicionar, ou padronizar nutrientes em teores desejáveis de maneira que garanta as exigências prescritas em uma dieta normal, a partir de alimentos veiculadores destes nutrientes. Já a fortificação é uma prática que visa adicionar especificamente qualquer nutriente nos alimentos que originalmente não os contém (PAIXÃO, 1998). Na área farmacêutica, as microcápsulas são usadas principalmente para aumentar a estabilidade de uma droga ou para modificar ou retardar sua liberação em locais específicos de ação. Substâncias anti-inflamatórias, por exemplo, podem ter seu tempo de atuação no plasma sanguíneo aumentado pela microencapsulação, prolongando seu efeito no organismo. (FINOTELLI, 2002). No meio ambiente o microencapsulamento vem sendo usado para suprir a necessidade do solo frente a escassez de alguns nutrientes necessários para o desenvolvimento de plantas e microorganismos. Isso faz com que o produto que foi encapsulado seja mais eficaz, reduzindo os riscos de toxidez para o homem durante o manuseio de alguns fertilizantes e ao controlar a liberação do produto, diminui o risco de concentrações elevadas no meio ambiente reduzindo assim o processo de eutrofização.(WU *et al*., 2008). Existem inúmeras outras aplicações industriais, entre elas, no setor agropecuário, na produção de pesticidas (herbicidas, inseticidas e parasiticidas) sintetizados quimicamente ou de natureza biológica (microrganismos com atividade específica contra uma praga alvo). A microencapsulação de pesticidas químicos torna a aplicação do produto mais eficaz de acordo com o citado no parágrafo anterior. No caso de biopesticidas, a microencapsulação mantém o poder do microrganismo de infectar a praga-

alvo, protegendo-o do meio ambiente e, principalmente, da inativação pela luz solar, antes que ele seja ingerido pela praga (lagartas, insetos, etc).(HANAFI, *et al*, 2000).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. MATERIAIS

5.1.1 Farelo de Soja

O farelo de soja utilizado nos experimentos como fonte protéica, de origem comercial, foi adquirido em uma casa de Produtos Naturais. O farelo de soja é da marca FUMEL (produtos naturais e integrais), extrato de soja, peso líquido de 1,0 Kg (Quadro 1).

INFORMAÇÕES NUTRICIONAIS **(porção de 30 g – 2 colheres de sopa)**	
Valor energético de 130 Kcal – 546Kj	
COMPOSIÇÃO	
Carboidratos	9,6 g
Proteínas	11 g
Gorduras totais	6,2 g
Gorduras saturadas	0,9 g
Gorduras trans	0 g
Fibra Alimentar	0,6 g
Calcio	62 mg
Ferro	1,9 mg
Sódio	0 mg

Quadro 1. Composição nutricional do Farelo de Soja FUMEL

5.1.2 Capsul®

Foi utilizado no experimento o amido de milho ceroso enzimaticamente modificado da empresa National Starch and Chemical Corporation dos Estados Unidos.

5.1.3 Alginato de Sódio®

O alginato utilizado é derivado de algas e foi adquirido na indústria Proquímios.

5.1.4 Cloreto de cálcio

O sal citado acima é da marca Vetec, produzido pela indústria Química Fina LTDA.

5.1.5 Citrato de Sódio

O citrato de sódio utilizado foi o Citrato de sódio P.A do fabricante ISOFAR

5.1.6 Acido Acético

Nos experimentos foi utilizado o ácido acético P.A de fabricação da REAGEN

5.1.7 Bicarbonato de Sódio

Foi utilizado o Bicarbonato de Sódio P.A do fabricante VETEC

5.2. EQUIPAMENTOS

5.2.1 Espectrofotômetro

Para a realização dos experimentos foi utilizado o espectrofotômetro de marca UV-Visible Spectrophotometer CAM SPEC, numero de série 021326.

5.2.2 MEV

A analise morfológica das cápsulas foi realizada em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), marca JEOL®, modelo JSM – 6460LV Scanning Electron.

5.3. CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Os experimentos realizados seguem o planejamento inicial elaborado, conforme o fluxograma descrito na figura 4.

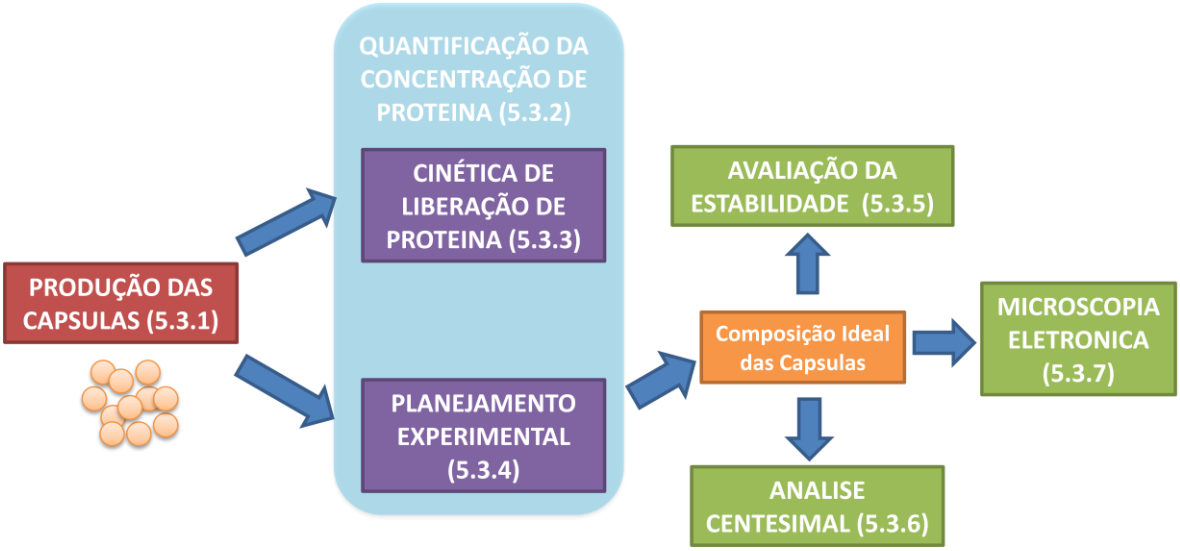

Figura 4. Fluxograma do planejamento de execução dos experimentos

5.3.1 Produção das Cápsulas

Inicialmente, foram dissolvidos e homogeneizados, separadamente, alginato de sódio (0,3g) em 5 mL de água destilada e capsul® (0,4g) em 5 mL de água destilada manualmente, com o auxilio da espátula, para a prevenção de formação de bolhas nas soluções. Em seguida, as soluções recém-preparadas foram misturadas e homogeneizadas para obtenção de uma solução composta de alginato de sódio (3% p/v) e capsul® (4% p/v) (Bastos, 2007). À solução formada, acrescentou-se e homogeneizou-se, manualmente, o farelo de soja comercial, nas concentrações de 20, 30 e 40 % de sólidos totais (S.T) (cerca de 140,0 mg; 210,0mg; 280,0 mg) e 35,0 mg de $NaHCO_3$. Em seguida, transferiu-se a solução formada, para um funil de separação (esterilizado) de 250 ml contendo uma ponteira de 5ml, fazendo

com que essas solução fosse gotejada (Figura 5) em 200 ml de uma solução de $CaCL_2$ a 0,3M (REIS, 2009) adicionada de 2% de ácido acético (STOCKWELL *et al*, 1986). O ácido acético tem por finalidade reagir com o $NaHCO_3$, gerando moléculas de CO_2 no interior da capsula, reduzindo a densidade da mesma, possibilitando a flutuação em meio líquido.

Figura 5. Processo de gotejamento durante a formação das capsulas

Com o término do gotejamento, as cápsulas foram peneiradas, com o objetivo de retirar o excesso de líquido do processo de formação e secas posteriormente em membrana de acetato de celulose (milipore) em temperatura ambiente. (Figura 6)

Figura 6. Retirada e secagem do excesso de liquido durante a formação das capsulas

Um dos pontos chaves descritos por Reis (2009) em seus estudos sobre encapsulamento foi a perda de material durante o processo de formação das cápsulas. Essa perda ocorre não somente na solução de $CaCl_2$ (0,3 M), mas durante todo o processo. Com isso, houve a preocupação de pontuar e quantificar todas as etapas de perdas de material.

As perdas foram verificadas e quantificadas a fim de se obter um cálculo exato do rendimento da retenção de proteína. Essas perdas foram quantificadas de acordo com o fluxograma mostrado na figura 7.

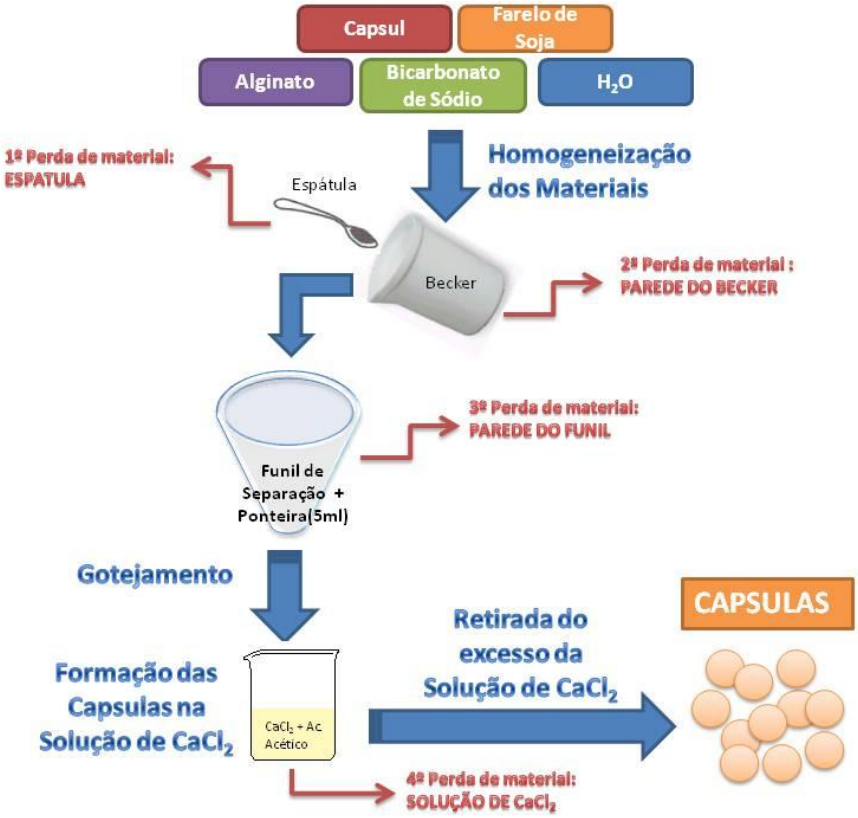

Figura 7. Fluxograma das etapas de produção das cápsulas e os pontos críticos de perdas de material

As perdas ocorridas nos instrumentos básicos de laboratório foram estimadas através de pesagens antes e depois do processo, verificando assim, a quantidade de material que ficou retido. Entretanto, as perdas de material na solução de $CaCl_2$ (0,3 M) , não puderam ser mensuradas diretamente através da quantificação de proteína, devido as suas características químicas. O sobrenadante quando submetido à quantificação, apresentou-se turvo, comprometendo os resultados. Sendo assim, a quantificação da perda na solução de $CaCl_2$ (0,3 M) foi realizado através da diferença entre a quantidade inicial de proteína, a perda nos equipamentos e a quantidade final presente nas capsulas. Essas avaliações serão melhores explicitadas nos resultados e discussão

5.3.2 Quantificação da Concentração de Proteína

Para avaliação da proteína presente nas cápsulas produzidas durante os experimentos, foi utilizado o método de Lowry e colaboradores, que se baseia numa mistura contendo molibdato, tungstato e ácido fosfórico, (Reagente Folin-Ciocalteau da fluka), que sofre uma redução quando reage com proteínas, na presença do catalisador cobre (II), gerando um produto colorido passível de leitura em espectrofotômetro. Esse método é recomendado por muitos autores em estudos comparativos de determinação de proteínas pois o mesmo mostrou-se mais sensível, com melhor exatidão, com menor consumo de amostra, dependendo do caso, com menor suscetibilidade a alguns tipos de interferentes (ZAIA *et al*., 1997). O método é descrito a seguir: Após a abertura das cápsulas com o Citrato(3M), foi retirado um volume de 500µl de amostra e adicionada a 2,0ml da Solução A, centrifugada a 100 rpm por 10 minutos. Em seguida foram adicionados aos frascos 200µl do reagente B que foi deixado em contato por mais 30minutos, seguido da leitura em espectrofotômetro a 660nm. O espectrofotômetro foi zerado com um branco, preparado da mesma forma como descrito anteriormente, utilizando, no entanto, água no lugar da amostra.

Composição Reagente A: Solução alcalina estoque - 2% de Na2CO3 (p/v) e solução de NaOH 0,1 mol/L Solução de tartarato de sódio e potássio 2% (p/v) Solução de Sulfato cúprico pentahidratado 1% (p/v) Composição do Reagente B: Solução de Folin Ciocalteus diluído em água destilada 1:1 Para poder relacionar a absorbância das amostras com a concentração de proteínas, foi preciso construir uma curva padrão de uma proteína com concentração conhecida (BSA – albumina bovina). Diferentes concentrações de BSA foram submetidas às reações do Método de Lowry, o que resultou em uma curva Absorbância versus Concentração protéica.

Somente 50 cápsulas de cada experimento foram adicionadas a uma solução de Citrato de Sódio (0,3M) e homogeneizadas no vórtex por 10 minutos, a fim de haver a “abertura” dessas cápsulas, ou seja, a dissolução das mesmas. Posteriormente foi retirada uma alíquota desse material, que foi analisado pelo Método de Lowry, descrito acima, obtendo como variável resposta a concentração de proteína encapsulada e o percentual de concentração de proteína presente em cada capsula.

5.3.3 Cinética de Liberação de Proteína

As cápsulas formadas foram submetidas à avaliação da cinética de liberação do farelo de soja. Para tal, foi utilizado como parâmetro de mensuração a quantidade de proteína retida na cápsula ao longo do tempo de exposição à água.

Os encapsulados formados na Seção 5.3.1 foram colocadas em Becker de 500 ml contendo água e durante 24 horas, foram retiradas amostras contendo 30 cápsulas e transferidas para tubos de ensaio contendo 10 ml de citrato de sódio a 0,3M, para "abertura" das cápsulas. Foram retiradas 5 amostragens, conforme tabela abaixo, entretanto a amostragem inicial ou To não foi colocada em contato com a água da torneira do laboratório, sendo considerada a amostra controle.(Tabela 3)

Tabela 3. Análise da cinética de liberação de proteína

AMOSTRAS	TEMPO
To	0 hora
T1	1 hora
T2	2 horas
T3	3 horas
T4	4 horas
T5	24 horas

Depois de transferidas para a solução de citrato de sódio, os tubos foram homogeneizados por 10 minutos em vórtex e analisada a concentração de proteína restante nas cápsulas usando a metodologia da quantificação da concentração de proteína, descrito na seção 5.3.2. As quantificações foram realizadas em triplicata. (Figura 8)

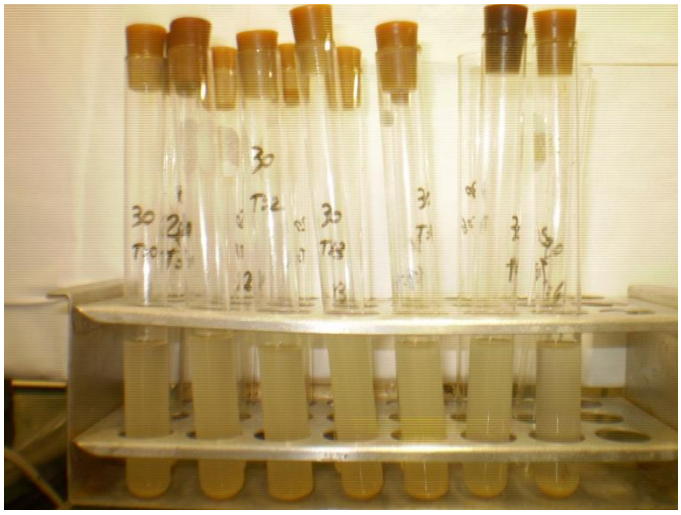

Figura 8. Amostras utilizadas na analise da cinética de liberação da proteína

5.3.4 Planejamento Experimental

Foi conduzida a realização do planejamento experimental visando a possibilidade de novas formulações na composição do encapsulado, a fim de obter uma formula ideal, assim como a otimização dos experimentos. Para tal, foi realizado um planejamento experimental MSR(Metodologia de Superfície de Resposta), com auxílio do *software Design Expert 7.1.6 trial*, onde foram variados os parâmetros: concentração de proteínas e tempo de exposição na solução de $CaCl_2$ (0,3 M). Esse planejamento contou com 13 experimentos (com 4 pontos normais,4 pontos axiais e 5 pontos centrais), conforme mostrado na tabela 4 . Foram elaboradas cápsulas com concentrações de 20, 30 e 40% de farelo de soja, expostas a solução de $CaCl_2$ por um período de 10,20 ou 30 minutos.

Tabela 4. Condições do experimento no Planejamento Experimental gerado pelo software Design Expert 7.1.6 trial

Variáveis	Níveis		
	-1	0	1
Percentual de Farelo de Soja	20%	30%	40%
Tempo de Exposição em solução de $CaCl_2$	10min	20min	30min

5.3.5 Avaliação da Estabilidade das Cápsulas

As amostras utilizadas para este experimento foram as que obtiveram melhores resultados segundo dados do planejamento experimental (Seção 5.3.4).A condução dos experimentos de flotação seguiram os mesmos princípios dos estudos de Stockwell *et al*,(1986).

Stockwell *et al.* em 1986, desenvolveram cápsulas flutuantes contendo mistura de alginato e de bicarbonato de sódio. O sistema flutuava durante os testes *in vitro* como conseqüência da geração de dióxido de carbono incorporado na estrutura do gel hidratante, após a exposição a um ambiente ácido.

As cápsulas produzidas nessas condições foram submetidas a testes de estabilidade na água. Aproximadamente 200 cápsulas uniformes foram colocadas em um Becker contendo 500 ml de água por um período de 24 horas e monitoradas visualmente quanto a sua flotação na água. Sendo assim, após 24horas, foram contadas os números de cápsulas que afundavam e subtraídas do número inicial.

5.3.6 Análise Centesimal

Após a avaliação do planejamento experimental (Seção 5.3.4) foi possível considerarmos uma composição ótima na formulação dos encapsulados, sendo assim, foi realizada a caracterização nutricional das amostras da cápsula "ideal" e do farelo de soja FUMEL através da análise centesimal.

A determinação da composição centesimal de um alimento é a proporção de nutrientes que aparece em 100g de um produto. Os dados fornecidos através da análise permitem conhecer o valor nutritivo dos alimentos e auxiliam no cálculo do valor calórico. (Terra,1988)

As substancias constituintes de um alimento são agrupadas em frações como: Umidade ou voláteis a 105°C, cinza ou resíduo mineral fixo, lipídeos ou extrato etéreo, proteínas e glicídios.

A análise centesimal foi realizada de acordo com os métodos físico-químicos para análise de alimento do Instituto Adolfo Lutz (Lutz, 1985)

5.3.6.1 Umidade

Foi pesado aproximadamente 2,0 g das amostras e colocados em cadinhos contendo areia, dentro da estufa a uma temperatura de 105°C, por um período de 1hora. Após este período, as cápsulas foram resfriadas em dessecador, até uma temperatura ambiente, e em seguida pesadas. Este procedimento foi repetido após 2 horas, até atingir a uma temperatura constante.

5.3.6.2 Cinzas

Aproximadamente 2,0 g das amostras foram colocados em cadinhos e carbonizadas lentamente em bico de Bunsen. Em seguida, as amostras foram colocadas na mufla e incinerada a 550°C por um período de 24 horas, até a obtenção de cinzas claras. Por fim, as amostras foram resfriadas em dessecador, até uma temperatura ambiente, e pesadas.

5.3.6.3 Proteínas

O processo mais comumente empregado na determinação de proteínas é o de Kjeldahl, para o qual inúmeras modificações técnicas já foram propostas. Entretanto, a base do processo é a mesma.

Foram pesadas 0,25g das amostras e colocadas em papel vegetal (isento de nitrogênio) e transferido para o balão digestor de Kjeldahl, acrescentando-se uma mistura catalítica e 10ml de ácido sulfúrico concentrado. A mineralização ocorreu até a obtenção de um líquido claro. O líquido mineralizado foi transferido para um balão volumétrico de 100ml e completado o volume com água destilada. Uma alíquota de 10 ml foi destilada produzindo um sal: borato de amônio. O produto da destilação foi titulado com solução padrão de HCL 0,1 N, com fator conhecido, até o ponto de viragem do indicador.

5.3.6.4 Lipídeos

Para a análise de lipídeos, foram pesados 2,0 g das amostras e realizada a secagem em estufa a 105°C. O resíduo seco foi transferido para o cartucho de papel e, colocado no tubo extrator. O balão de Soxhet foi previamente seco em estufa a 105°C e pesado. O sistema de soxhlet foi montado e adicionado solvente (éter etílico) até 2/3 da capacidade do balão. A extração contínua procedeu por aproximadamente 6 horas, com o auxílio da chapa aquecedora. Após este período, o sistema foi desmontado e recuperado o solvente. O balão com o resíduo foi colocado em estufa a 105°C por 2 horas, seguido de secagem em dessecador e posterior pesagem.

5.3.7 Microscopia Eletrônica de Varredura

O encapsulado com o melhor resultado encontrado no planejamento experimental (Seção 5.3.4) foi submetido a microscopia eletrônica de varredura.

A caracterização morfológica das cápsulas de alginato de cálcio e Capsul® foi realizada em microscópio eletrônico de varredura, operado a 10 KV em sala climatizada (18°C), segundo metodologia descrita por Fakhouri *et al*.(2003). A aceleração da voltagem utilizada foi de 15 kV.

Primeiramente, as cápsulas foram fixadas em suportes cilíndricos metálicos (*stubs*) com diâmetro de 10 mm usando fita adesiva dupla face sendo, em seguida, revestidos com carbono e analisados no MEV. O carbono é utilizado como ponta de prova e a pequena

voltagem empregada entre a prova e a espécime analisada provoca o tunelamento dos elétrons através do vácuo que separa as duas superfícies. Com a corrente de tunelamento constante, a prova faz a varredura de superfície do espécime e, graças aos movimentos da prova, consegue-se mapear esta superfície.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. ANÁLISE DE PROTEÍNA NO FARELO DE SOJA

Segundo, Dairiki (2009) o principal nutriente do farelo de soja é a proteína. Sendo assim, a proteína foi o melhor parâmetro de análise para se avaliar a concentração de farelo de soja presente nas cápsulas formadas. Para tal, foi necessário de antemão, mensurar o percentual do componente proteico em relação à quantidade de farelo de soja.

O experimento foi realizado com a quantificação da proteína pelo método de Lowry, já descrito anteriormente, e os resultados obtidos estão expressos no gráfico abaixo (Gráfico 2):

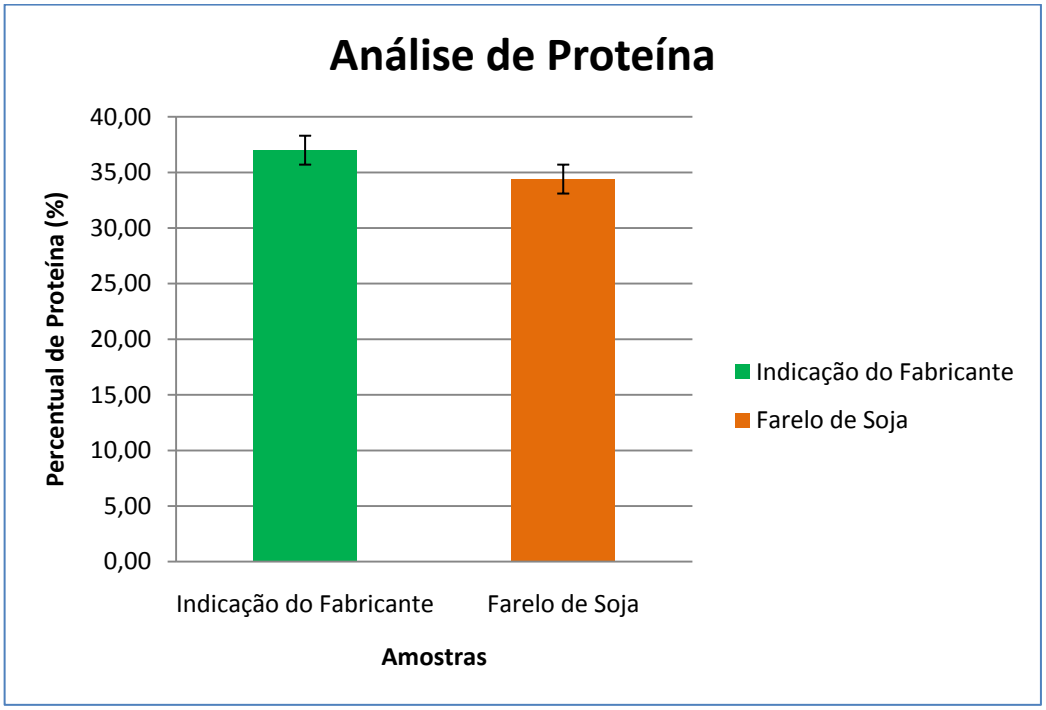

Gráfico 2. Quantidade de proteína, em %, presente no Farelo de Soja e o valor indicado pelo fabricante.

Os dados apresentados no gráfico mostram que os percentuais de proteína encontrados no farelo de soja, aproximadamente 34,4% (±2,0), estão abaixo nos indicados pelo o fabricante do farelo, 37% e os encontrado no estudo realizados por ALMEIDA *et al*. (1972), entre 49% e 54% de proteína bruta, presente em soja para exportação. Essa diferença pode ser explicada pela falta de precisão dos dados apresentados nas etiquetas dos fabricantes, já que o mesmo utiliza dados "padrão" e os valores mudam de acordo com cada safra. Além disso, segundo Sakomura (1996) e Parsons *et al.* (1992), existem outros fatores que podem influenciar no percentual de proteína presente no farelo de soja, tais como condições ambientais e tratamento térmico.

6.2. PRODUÇÃO DAS CÁPSULAS

A combinação e concentração dos polímeros constituintes da solução formadora das cápsulas permitiram a obtenção da ração de aparência esférica e bastante regular com cerca de 4,0 mm de diâmetro conforme mostrada na figura 9. As esferas obtidas foram visualmente semelhantes às produzidas por Reis (2009).

Figura 9. Mensuração do diâmetro das esferas formadas

Segundo, Pezzato *et al.* (2002), o diâmetro médio das rações utilizadas na alimentação de peixes deve ser entre 1,0mm a 5,0 mm.

Bastos (2007) também usou os mesmos polímeros nas concentrações de 3% de alginato e 4% de capsul para a retenção de vitamina C e obteve filmes alimentícios bastante uniformes.

6.3. QUANTIFICAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA

Com a elaboração inicial da ração (Figura 10) surgiu a necessidade de avaliar a eficiência da metodologia no aprisionamento do material encapsulado, no caso em estudo, o farelo de soja. Foi realizado um teste preliminar da concentração de soja aprisionada através da analise do percentual de proteína presente em cada cápsula. Seguindo a metodologia descrita no Seção 5.3.2, as cápsulas formadas por 20,30 e 40% de farelo de soja foram submetidas a testes para quantificar os valores de proteína retida após a etapa final do processo.

Figura 10. As rações encapsuladas produzidas

Entretanto, a fim de concluirmos o percentual de retenção de proteína nas diferentes composições das cápsulas, foi necessário avaliarmos e quantificarmos as perdas de

material durante todo o processo de formação das cápsulas. Além de identificarmos e quantificarmos os pontos críticos da perda e seus valores.

A perda de proteína foi identificada em etapas distintas durante o processo de fabricação das rações encapsuladas (Figura 7). Em um primeiro momento, a espátula (1), o becker (2) e o funil de separação(3) foram pesados antes, durante e depois do processo de produção das cápsulas e através da diferença de peso foi possível mensurar a quantidade de material que ficou retida nos recipientes e mecanismos durante a homogeneização (Perdas 1,2 e 3 da figura 7). Outro momento crítico ocorreu na formação das cápsulas de alginato de cálcio. A partir do momento que a ração, em forma líquida é gotejada na solução de cloreto, há obrigatoriamente uma perda do material encapsulado nesta solução(Perda 4 descrito na figura 7).

A perda média de material durante as etapas 1,2 e 3 na execução do processo foi de aproximadamente 11,6% (±1,27), podendo ser distribuído de acordo com o gráfico 3.

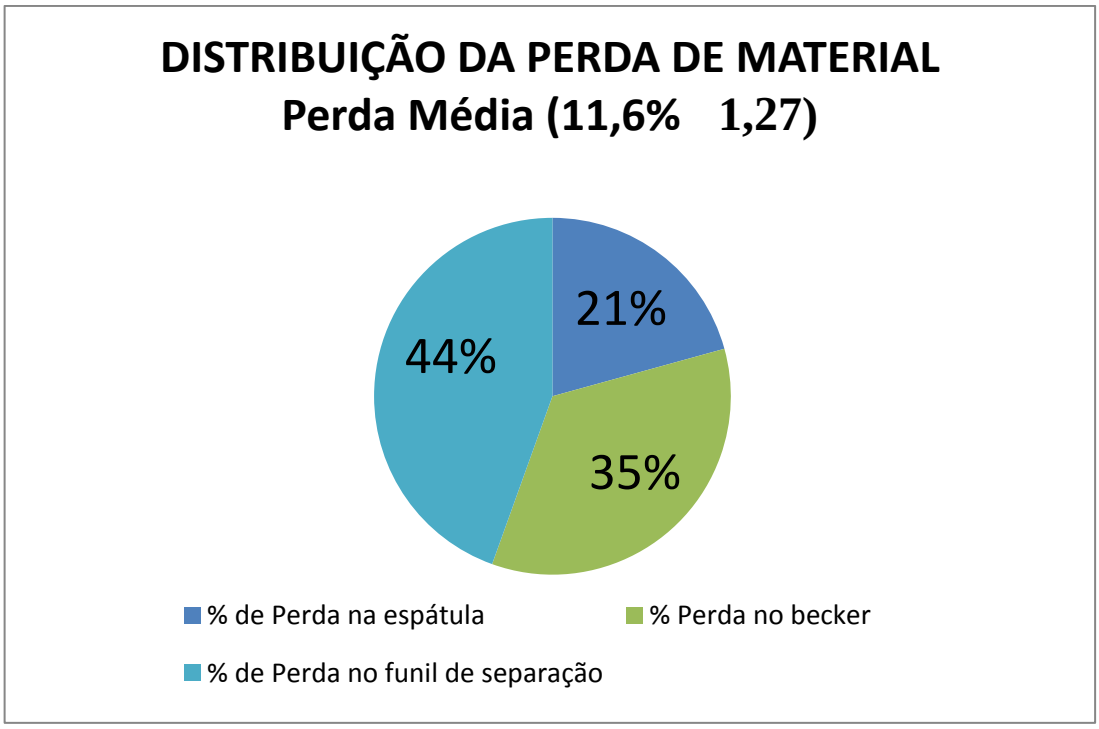

Gráfico 3 . Distribuição da perda média de material durante o processo de formação das esferas de farelo de soja

A partir desses dados, podemos calcular o percentual de proteína perdida no momento de homogeneização e gotejamento na solução de cloreto de cálcio. Sabendo que houve uma perda de 11,6% (±1,27) de farelo de soja e o percentual de proteína presente na

soja é de 34,4% (±2,0), concluímos que foi perdido uma média de 3,94% (±0,08) de proteína na espátula, paredes do Becker e funil de separação empregados na produção do material encapsulado.

Como citado anteriormente, não foi possível avaliar a quantidade de proteína presente no sobrenadante, com isso, o cálculo da perda de proteína na etapa de exposição das cápsulas em solução de $CaCl_2$ foi realizado através da diferença de percentual. Sabendo-se o percentual de proteína no farelo de soja, assim como, a quantidade de proteína presente nas cápsulas analisadas e mediante os dados apresentados nos cálculos da perda durante o processo de homogeneização e gotejamento, foi possível calcular a perda da proteína no período de exposição, e por fim fechar o balanço de perda em todo o processo. (Figura 11)

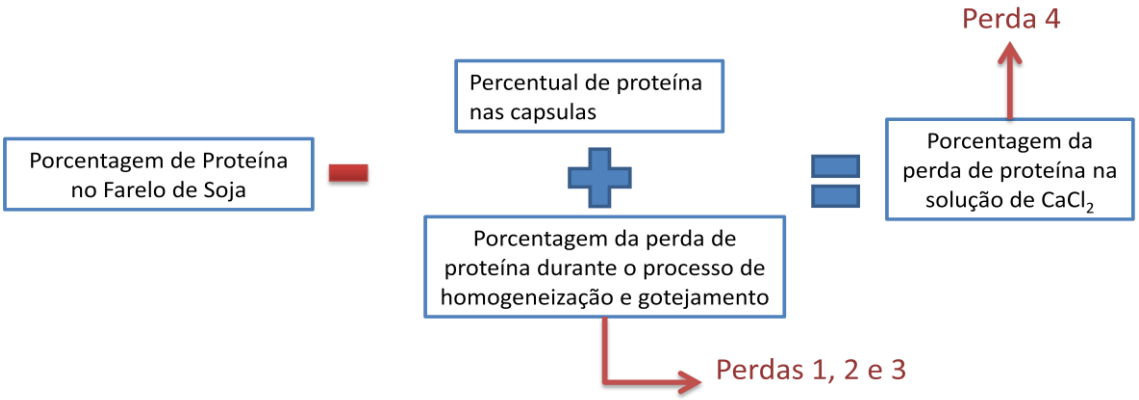

Figura 11. Cálculo de perda de proteína durante todo o processo

Primeiramente, foi possível avaliar todos os pontos de perda de proteína em relação ao percentual inicial adicionado nas cápsulas. Em seguida, foi analisado a quantidade de proteína perdida na solução de $CaCl_2$ (0,3 M) durante o gotejamento e por fim, analisada rendimento de retenção de proteína nas cápsulas produzidas. (Tabela 5).

Tabela 5. Avaliação da perda de proteína e o rendimento final de retenção da proteína no interior das capsulas.

CALCULO	AMOSTRAS		
	20 % de Farelo de Soja	30% de Farelo de Soja	40% de Farelo de Soja
Porcentagem de Proteína no Farelo de Soja	34,4 % (±2,0)	34,4 % (±2,0)	34,4 % (±2,0)
Percentual de proteína presente nas cápsulas	27,8% (±0,6)	27,5% (±1,0)	29,1% (± 0,8)
Porcentagem da perda de proteína durante o processo de homogeneização e gotejamento (PERDA 1,2 e 3)	3,87 % (±0,11)	4,02 % (±0,08)	3,94 % (±0,09)
Porcentagem da perda de proteína na solução de $CaCl_2$ (PERDA 4)	2,73 % (±0,71)	2,88%(±1,08)	1,36 %(±0,89)
RENDIMENTO FINAL DE RETENÇÃO DE PROTEINA NAS CÁPSULAS	80,81%	79,94%	84,59%

Após os cálculos, foi verificado uma pequena perda de proteína durante o processo de gotejamento. Essa perda na solução se deve pelo fato do processo de encapsulamento não estar completamente concluído. Após um período, o material já começa a ficar retido dentro da cápsula e já não se desprende mais com tanta facilidade.

Este fato pode ser explicado pela interação entre o material encapsulante: alginato e capsul ®. Durante a formação das esferas, há a formação de uma rede que acaba retendo o material que está sendo encapsulado, no caso em questão, o farelo de soja. Entretanto, na esfera formada, a parede é permeável, havendo a liberação controlada do farelo de soja através dos poros na camada externa das cápsulas.

As cápsulas formadas por 40% de farelo de soja em sua composição inicial apresentaram maior rendimento de retenção final de proteína, aproximadamente 84,59%. As amostras com 20% e 30% de farelo de soja na sua formulação apresentaram rendimentos

semelhantes próximo a 80% de rendimento. Isso pode ter acontecido, pois com maior concentração de farelo, a liberação da matriz fica mais difícil.

Através da análise fracionada da perda de material foi possível verificar que a diferença no rendimento da retenção esteve relacionada principalmente a diferença de material na solução de $CaCl_2$ (0,3 M). Ou seja, as perdas de material nos equipamentos não influenciaram na diferença de percentual de retenção das 3 formulações propostas.

Todos esses experimentos foram executados com o tempo de exposição das cápsulas em solução de cloreto de cálcio por um tempo médio de 20 minutos, supondo esse tempo ideal, pois quanto maior o tempo de exposição na solução, mais "fechada" se torne a cápsula, aumentando a barreira difusional e conseqüentemente a saída do material protéico da matriz encapsulante.

6.4. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Afim de obter melhores respostas sobre a concentração e o tempo de encapsulamento, foram feitos experimentos variando a percentual de farelo de soja na formulação dos encapsulados e o tempo de exposição das cápsulas em solução de $CaCl_2$(0,3 M), a fim de obtermos melhores desempenhos na retenção do farelo de soja. A metodologia usada para a avaliação da proteína presente nas cápsulas foi a descrita no seção 5.3.2.

A tabela 3 apresenta a matriz do Planejamento Experimental empregando as variáveis da porcentagem de farelo de soja e tempo de exposição das cápsulas em solução de $CaCl_2$ (0,3 M), tendo como resposta a concentração de proteína (mg/ml) presente dentro das rações esféricas e o percentual de concentração de proteína presente nas cápsulas em relação a concentração inicial. Analisou-se o efeito das variáveis independentes: concentração percentual de proteína e tempo de exposição das cápsulas na solução de cloreto de cálcio e com isso foi possível observar que a variação das mesmas resultou em diferentes valores protéicos nas rações.

Os dados apresentados do quadro 2 não podem ser interpretados de forma direta porque se faz necessária uma avaliação da significância dos parâmetros estudados, considerando também os efeitos das interações dos fatores por bases estatísticas. Na análise de variância pela ANOVA existe um parâmetro estatístico denominado *p-level*, que permite avaliar quais fatores e se suas interações são estatisticamente relevantes. Quando os valores do *p-level* para cada um dos fatores e interações são menores ou iguais a 0,05, estes

apresentam significância ou relevância estatística, quando são maiores que 0,05, os fatores e interações não apresentam relevância estatística (NETO et al ., 1995; MONTGOMERY, 1999). O valor quadrático das variáveis tempo e percentual de farelo de soja destacados apresentaram valores de *p-level* menores que 0,05, significando que os resultados de concentração de proteína e percentual final de proteína são relevantes

Com a finalidade de elucidar as melhores condições das variáveis proteína e tempo, e assim obter as melhores respostas de melhor rendimento protéico, utilizou-se o *software Design Expert 7.1.6 trial*, que possui uma ferramenta estatística para otimização do processo experimental, conforme podemos observar no Quadro 2.

Std	Run	Block	Factor 1 A:SOJA %	Factor 2 B:TEMPO Min	Response 1 Concentração mg/ml	Response 2 Porcentagem %
4	1	Block 1	40.00	30.00	3.551	29.57
1	2	Block 1	20.00	10.00	1.679	27.75
9	3	Block 1	30.00	20.00	2.432	27.31
3	4	Block 1	20.00	30.00	1.644	27.87
6	5	Block 1	44.00	20.00	3.898	30.13
5	6	Block 1	16.00	20.00	1.319	27.65
10	7	Block 1	30.00	20.00	2.43	27.38
11	8	Block 1	30.00	20.00	2.418	27.2
13	9	Block 1	30.00	20.00	2.429	27.29
2	10	Block 1	40.00	10.00	3.505	29.09
7	11	Block 1	30.00	6.00	2.38	27.2
8	12	Block 1	30.00	34.00	2.461	27.4
12	13	Block 1	30.00	20.00	2.452	27.31

Quadro 2. Resultado do Planejmanento Experiemental (13 experimentos) com duas variáveis (Tempo e Soja) apresentando duas respostas (concentração de proteína e percentual de proteína retida)

Após a elaboração da tabela inicial do planejamento experimental, foi possível analisar o grau de perturbação das variáveis em relação a resposta final estudada: concentração de proteína e porcentagem final de proteína

No gráfico 4, podemos avaliar o comportamento da resposta concentração em relação a variação do tempo e do percentual inicial de farelo de soja. Em se tratando da reta

A, verificamos uma forte inclinação na reta, o que indica que ao variarmos o percentual de farelo de soja de 20% para 40%, temos um aumento considerável na resposta concentração final. Essa resposta se apresenta de forma retilínea, sem uma curvatura aparente. Já a Reta B, se apresentou de forma paralela ao eixo das abscissas, concluindo que independente da variação do tempo entre 10 e 30 minutos, não há alteração da concentração final de proteína. Vale ressaltar que este resultado cabe somente ao intervalo estudado, podendo haver uma alteração caso tivéssemos selecionado um intervalo de tempo maior, o que não se aplicou, ao trabalho em questão.

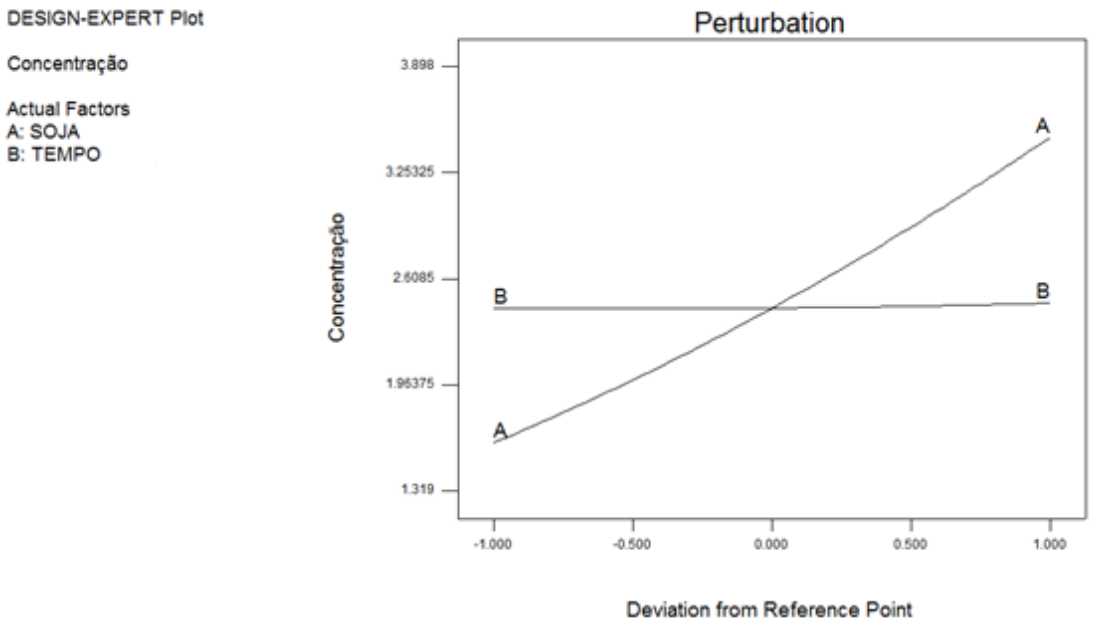

Grafico 4. Grafico de pertubação das variáveis soja e tempo em relação a concentração de proteína(mg/ml) presente nas capsulas

De forma semelhante ao grafico anterior, foi elaborado um novo gráfico (Gráfico 5) de pertubação para analisar a segunda resposta em estudo, percentual de proteína presente nas cápsulas. Em relação ao fator A, que respresenta a porcentagem de farelo de soja inicial, podemos perceber que o ponto onde temos uma melhor resposta é exatamente no ponto onde a variável A se encontra no seu maior nível. A linha, tambem apresentou uma pequena curvatura, próximo ao ponto central, o que mostra que o modelo estudado não é um modelo linear. Da mesma forma, apesar de percebermos uma leve curvatura na Fator B, o mesmo não chega a alterar de forma considerável o resultado do percentual de concentração final de proteína.Ou seja, independentemente de utilizarmos a variável tempo no seu menor nível (10 minutos) ou no seu maior nível (30 minutos) não haverá pertubação no resultado final.

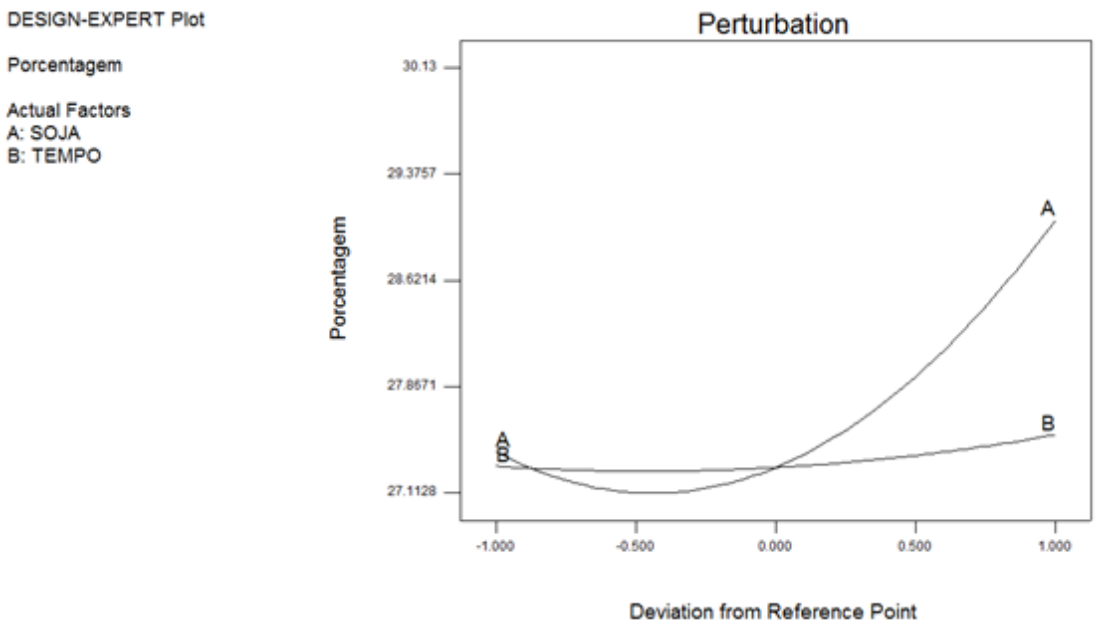

Grafico 5. Gráfico de pertubação das variáveis soja e tempo em relação porcentagem de proteína presente nas cápsulas de soja formada

Com o objetivo de melhor observar a tendência de como os fatores estudados influenciam nos valores de proteína presente na ração elaborada, foram obtidos dois gráficos de superfície de resposta para os resultados apresentados anteriormente.

Primeiramente, foi elaborado o gráfico referente à resposta da concentração de proteína presente nas cápsulas (Gráfico 6).

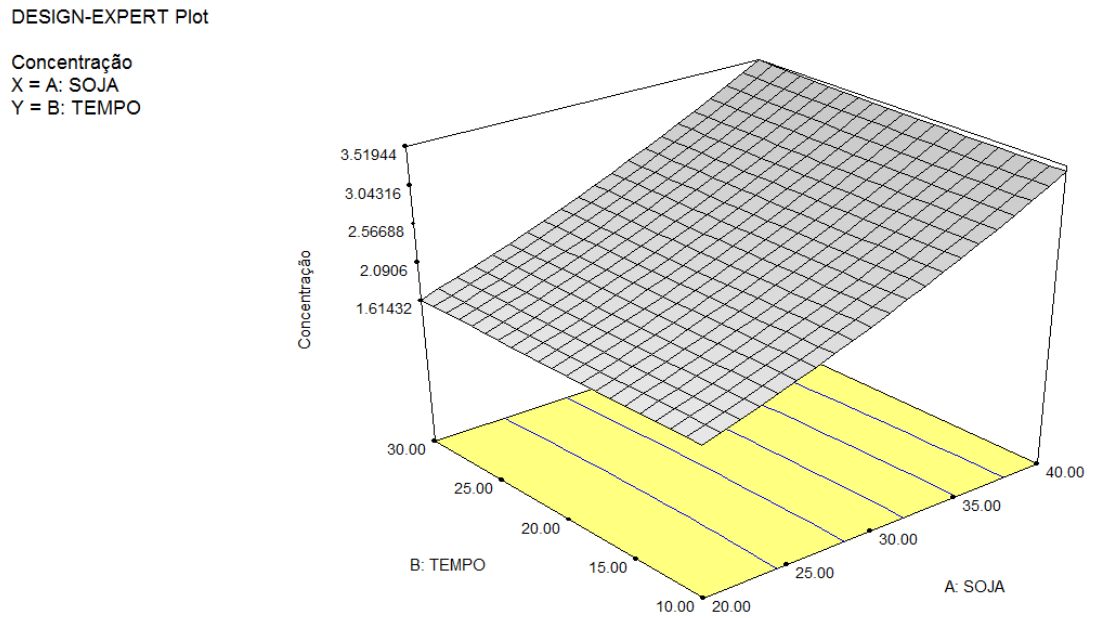

Gráfico 6. Gráfico de superfície de resposta da concentração de proteína presente nas esferas

A superfície de resposta apresentou um gráfico plano inclinado que nos fornece informações importantes a respeito das melhores condições para se obter a maior concentração de proteína nas rações estudadas.

Com isso, a melhor condição para se obter uma maior concentração de proteína é utilizando a formulação de ração com 40% de farelo de soja e um tempo de exposição em solução de $CaCl_2$ de 30 minutos.

Um segundo gráfico foi proposto, porém este apresenta os resultados referente a porcentagem de proteína retida nas esferas (Grafico 7).

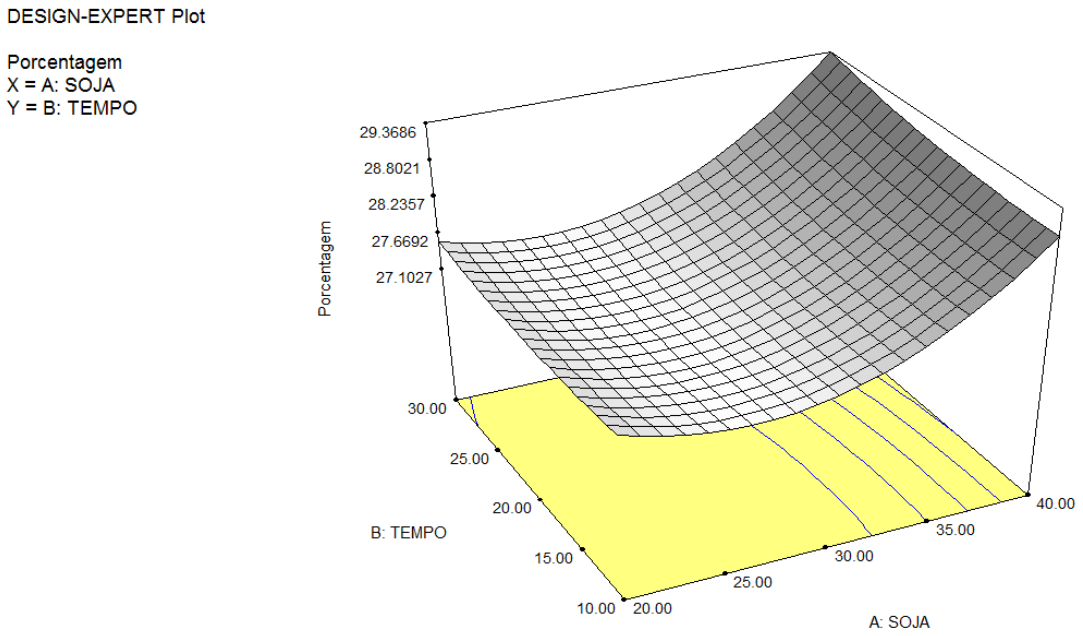

Gráfico 7. Gráfico de superfície de resposta da porcentagem de proteína presente nas esferas

Da mesma forma, fica evidenciado no gráfico, que os melhores resultados para obtermos uma maior concentração de proteína nas cápsulas são quando adicionado um percentual de 40% de farelo de soja na composição da ração. O gráfico 7 apresentou um vale onde, de forma esperada, os piores resultados em relação à resposta analisada foram quando utilizado o ponto central (30% de farelo de soja), este fato está em conformidade ao gráfico de Perturbação analisado anteriormente. Entretanto, não se sabe ao certo o porquê desta curvatura quando utilizamos o ponto central na composição da ração.

No ponto de vista econômico, levando em consideração de uma produção em larga escala, podemos perceber que a diferença do percentual e concentração de proteína é pequena em relação aos tempos 30min e 10min. O que nos leva a pensar que apesar do ponto

em 30min possuir melhores valores, existe também um maior gasto de tempo na fabricação das capsulas. Ou seja, existe a necessidade de se avaliar melhor, economicamente, a utilização do tempo de 10min na formulação das capsulas apesar de apresentar valores menores que o tempo de 30min.

O *software* Design possui uma ferramenta de otimização de resultado, na qual podemos simular algumas variações do experimento a fim de obter uma melhor resposta. No caso das rações estudados, utilizamos a ferramenta para analisar uma combinação das variáveis tempo e farelo de soja na qual pudéssemos obter uma porcentagem de 34,4 % de proteína, semelhante ao encontrado na analise do farelo de soja. (Quadro 3)

Solutions 1 2 3

Constraints

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
SOJA	is in range	20	40	1	1	3
TEMPO	is in range	10	30	1	1	3
Concentração	maximize	1.319	3.898	1	1	3
Porcentagem	is in range	27.2	32	1	1	3

Solutions

Number	SOJA	TEMPO	Concentração	Porcentagem	Desirability	
1	40.00	30.00	3.51944	29.3686	0.853	Selected
2	40.00	22.14	3.47744	29.0961	0.837	
3	23.97	10.00	1.92369	27.2	0.234	

3 Solutions found

Number of Starting Points 10

SOJA	TEMPO
25.18	16.27
29.91	17.55
31.11	24.62
20.73	14.72
39.01	17.73
25.86	21.30
27.35	26.65
22.82	22.80

Quadro 3. Analise de otimização do rendimento na formação da ração encapsulada

A análise feita nos deu um resultado otimizado do experimento com um rendimento máximo na porcentagem de proteína de 29,36%. Os valores sugeridos com 85% de confiabilidade foram a utilização de 40% de farelo de soja na formulação das cápsulas,

para serem usadas em um sistema de encapsulamento no intervalo de 30 minutos. Diante das simulações estatísticas feitas acima, foi sugerido a formulação ideal (otimizada) das rações de 40% de farelo de soja em 30 minutos de exposição a solução de $CaCl_2$.

6.5. CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DE PROTEÍNA NAS CÁPSULAS

Um dos objetivos da elaboração da ração encapsulada foi a retenção dos nutrientes dentro das estruturas, retardando a sua liberação para o meio aquoso. Sendo assim, o gráfico 8, apresenta a velocidade de liberação de proteína ao longo do tempo.

Seguindo a variação do planejamento experimental, três composições de ração foram analisadas, variando somente o percentual de farelo de soja: 20,30 e 40%.

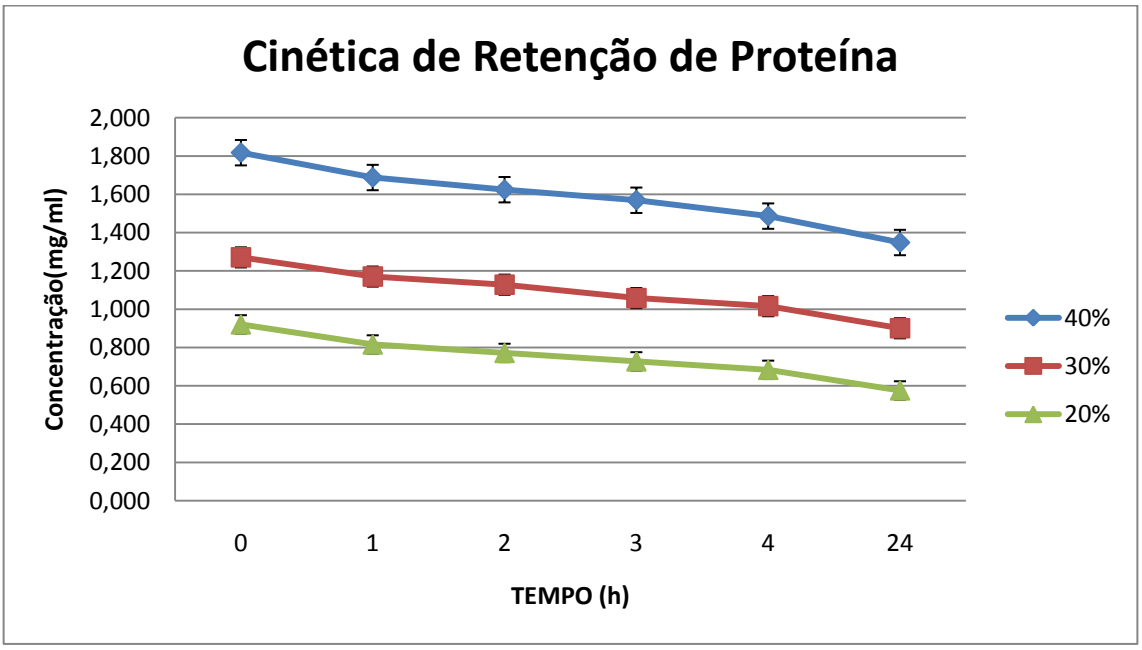

Gráfico 8. Avaliação da cinética de retenção durante o período de 24 horas de experimentos

Ao longo do tempo podemos observar em todas as amostras uma liberação basicamente uniforme, ocorrendo uma pequena alteração na primeira hora e após 24 horas.

Na primeira hora, em todas as amostras, ocorreu uma liberação mais rápida. Entretanto essa liberação se torna mais amena e uniforme ao longo do restante do período analisado até o tempo T4 (4 horas). Entre os tempos T4 (4 horas) e T5 (24 horas) existe uma variação considerável, porém essa diferença de tempo corresponde a 20 horas, o que não implica em uma grande liberação.

Outro fato interessante a ser analisado é a diferença entre a concentração final e inicial de proteína presente em cada uma das amostras analisadas. Sendo assim, foi possível gerar uma tabela onde é percebido o percentual de retenção de proteína em cada amostra após 24 horas exposta a ambiente aquoso. (Tabela 6)

Tabela 6. Avaliação do percentual de proteína retida nas capsulas após 24 horas

Composição	Concentração Inicial (mg/ml)	Concentração Final (mg/ml)	Percentual de Proteína Retida após 24 horas
20% de Farelo de Soja	0,921	0,576	63 %
30% de Farelo de Soja	1,271	0,900	70 %
40% de Farelo de Soja	1,817	1,348	74 %

De acordo com a tabela acima, a amostra composta com o menor percentual de farelo de soja em sua composição (20%) , apresentou um maior percentual de liberação de proteína, e conseqüentemente, do farelo de soja. A amostra com 30% de farelo de soja apresentou uma liberação moderada de proteína. Por fim, a amostra que apresentou a menor taxa de liberação, ou seja, de forma mais lenta foi a amostra com 40% de farelo de soja.

A diferença do percentual final liberado das cápsulas formadas se deve principalmente pelo fato de quanto maior a concentração do farelo de soja, maior a dificuldade da sua saída através da trama formada pela combinação de capsul e alginato.

Em relação ao meio ambiente, a ração melhor indicada foi a com composição de 40% de farelo de soja, pois esta apresentou uma melhor retenção das proteínas presentes na soja, o que diminui a disponibilidade de nutrientes na coluna d'agua, retardando a eutrofização. Eller *et al*.(1997), em seus estudos, comprovaram que o efeito da qualidade do efluente está ligada principalmente a quantidade de sólidos suspensos na água, quantidade de nutrientes dissolvidos e concentração de oxigênio.

No âmbito alimentar, ratificamos a escolha da ração com composição de 40%, já que o valor nutricional da mesma apresentou um menor *déficit* ao longo do tempo estudado. Após o lançamento nos viveiros, caso a ração não seja consumida imediatamente, a mesma após 24 horas apresenta um rendimento de 74% em relação ao seu valor nutricional inicial

6.6. FLOTAÇÃO

Uma das características necessárias para uma boa funcionalidade das rações produzidas neste estudo é a propriedade de flutuabilidade. Essa propriedade tanto ajuda na alimentação dos peixes como também no recolhimento da ração não consumida, visto que estas rações são um grande problema no sistema de criação, prejudicando a qualidade da água nos criadouros e contaminando os efluentes (KUBITZA,1997).

Através da adição de bicarbonato de sódio na formulação das cápsulas e expostas na solução de Cloreto de cálcio adicionada de 2% de acido acético, foi possível gerar moléculas de CO_2 no interior das cápsulas, formando "bolhas de ar", ocasionando a diminuição da densidade da ração e possibilitando a flotação das mesmas quando lançadas na água. (Figura 12)

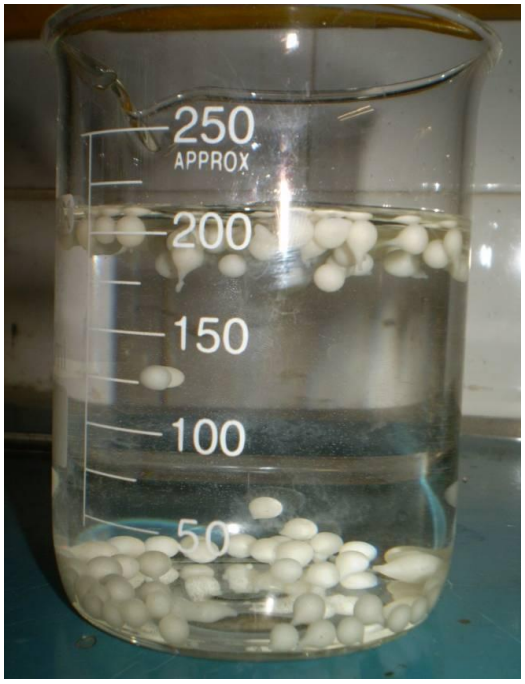

Figura 12. Flotação das capsulas formadas

As cápsulas de ração formadas foram analisadas quanto a sua estabilidade na água. Cerca de 200 cápsulas foram colocadas em um Becker contendo água da torneira do laboratório e monitoradas por 24 horas.

Os resultados foram plotados no gráfico 9, abaixo:

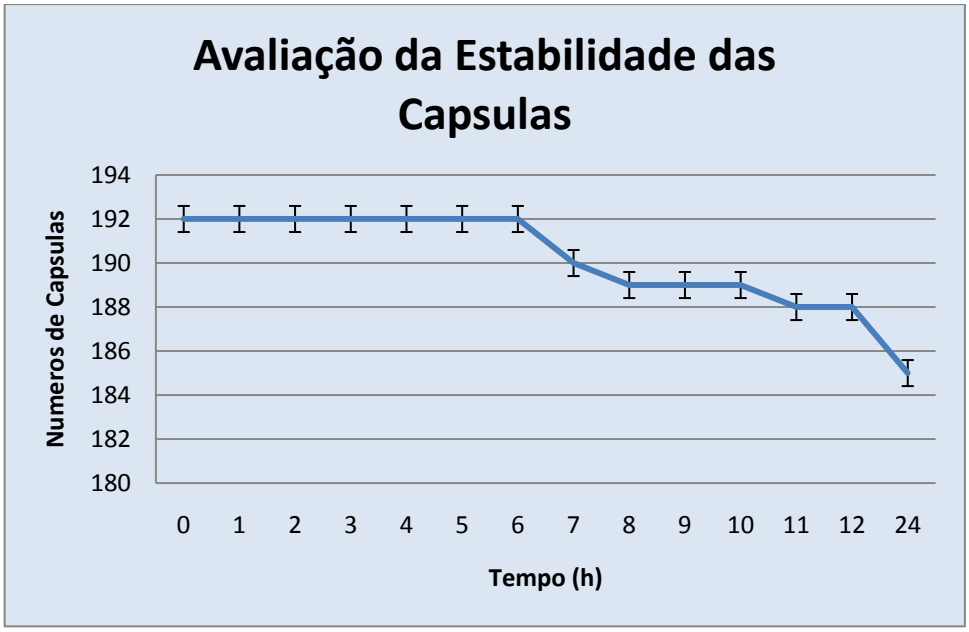

Gráfico 9: Avaliação da estabilidade das capsulas formadas durante o período de 24 horas

Inicialmente, 192 cápsulas apresentaram estabilidade na solução aquosa. Este valor permaneceu constante até a sexta hora do experimento. As cápsulas que não flutuaram logo no início do experimento, podem ter tido uma formação inadequada na hora do gotejamento.

Após a sexta hora foi verificada uma variação na estabilidade das cápsulas, sendo mais acentuada entre os períodos que compreendem as horas 6 e 7 ; 12 e 24.

No final do experimento (24h) mais de 90%, aproximadamente 184 cápsulas, continuaram com estabilidade constante em ambiente aquoso.

6.7. COMPARAÇÃO ENTRE AS RAÇÕES

A partir dos resultados obtidos através dos experimentos com a ração encapsulada, experimentos de cinética de liberação de proteína e avaliação da estabilidade da ração na água, foi possível realizar uma comparação entre a ração proposta neste trabalho e outras formas de ração utilizadas na nutrição de peixes.(Tabela 7).

Tabela 7. Comparação dos tipos de ração utilizadas na aquicultura

TIPOS DE RAÇÃO	ESTABILIDADE NA AGUA	PERDA DE NUTRIENTES	REFERENCIA
Esfarelada	Poucos Minutos	Ocorre	CECCARELLI *et al.*, 2000
Peletilizada	15 minutos	Ocorre	KUBITZA, 2000
Extrusada	12 horas	Ocorre	CHENG *et al*, 2003
Encapsulada	>24 horas	Ocorre Lentamente	MIRANDA, 2010

Após a análise dos dados da tabela, concluímos que a ração a base de alginato e capsul apresentou uma melhor estabilidade na água, assim como uma menor perda de nutrientes, o que a favorece em comparação as outras formas de ração.

6.8. VALOR NUTRICIONAL

Através da análise centesimal da ração proposta, podemos avaliar a sua composição nutricional e o valor calórico que ela pode fornecer durante a alimentação dos peixes. Os componentes avaliados foram proteína, lipídeos, umidade, cinzas e carboidratos. Segundo CARTER (2001), a proteína é a principal fonte energética para os peixes, seguida por carboidrato e lipídeos.

De acordo com a tabela 8, podemos avaliar a porcentagem nutricional da ração proposta.

Tabela 8. Valores nutricionais das rações encapsuladas elaboradas

	FARELO DE SOJA (%)	ENCAPSULADO (%)
Proteína	48,09	2,99
Lipídios	1,72	0,21
Umidade	8,01	88,05
Cinzas	6,21	2,30
Carboidratos	35,88	6,44

Entre os valores considerados como positivos na ração está o índice de carboidrato, aproximadamente 6,5 %

Segundo Santos (2007) o carboidrato pode ser empregado como fonte economizadora de proteína, entretanto, a presença de γ-celulose nas dietas em função da maior velocidade de passagem do alimento pelo intestino, resultou em piores índices de ganho de peso, conversão alimentar e taxa de eficiência protéica. Constataram ainda, que em função do aumento do nível de celulose nas dietas, houve redução no teor de lipídio na carcaça.

Outro ponto positivo foi o baixo índice de lipídeo, aproximadamente 0,21%, indo de acordo com dados encontrados na literatura.

El-Dahhar & El-Shazly (1993) afirmaram que a tilápia não utiliza eficientemente o lipídio como fonte de energia. Chou & Shiau (1996) destacam que a tilápia não utiliza a energia suplementar proveniente do lipídeo (acima de 5% na ração), para o crescimento. Wilson (1998), indica de 5 a 10% de inclusão de lipídeos para peixes de clima quente. Chou & Shiau (1996), encontraram o valor de 12% de lipídeos na ração como nível de melhor ganho de peso para tilápias híbridas juvenis. Lovell (1989), afirma que as tilápias não toleram níveis tão altos de gordura quanto aos salmonídeos.

O excesso de gordura na carcaça é, atualmente, uma característica indesejável, devendo manter-se em um nível que não afete as características organolépticas da carne e auxilie na manutenção da qualidade desta durante o período de congelamento. Outro fator negativo do excesso de gordura na carcaça é que esta acumula-se principalmente no tecido

adiposo da cavidade abdominal, o que diminui a percentagem de rendimento de filé e conseqüentemente o valor comercial do peixe (MEURER *et al.*, 2002)

Os níveis de lipídeos na ração não afetaram o consumo alimentar, indicando que o aumento da inclusão de óleo de soja na ração não influenciou na aceitabilidade da ração, demonstrando que o nível de lipídeos na ração peletizada, quando se utiliza o óleo de soja como fonte, não tem efeito atrativo, nem inibidor do consumo de ração. (GRAEFF, A., *et al*.). A utilização do óleo na composição das rações encapsuladas poderia ir contra o objetivo, liberando óleo na água e prejudicando a qualidade da água.

Ao se tratar dos pontos negativos encontrados na análise centesimal da ração encapsulada, tivemos a baixa porcentagem de proteína, visto que esta é a principal fonte de nutriente. Apesar do farelo de soja apresentar grande quantidade protéica e ser substituto da proteína presente nas rações, não foi possível atingir valores considerados altos de proteína dentro das rações, em relação ao peso final.

Fernándes (1998) observou que para alevinos e juvenis, o farelo de soja pode substituir integralmente a farinha de peixe, sem que haja prejuízos ao ganho de peso, taxa de eficiência protéica e conversão alimentar. Concluindo que as substituições não afetam as variáveis de composição corporal e, que os melhores coeficientes de digestibilidade da proteína bruta foram obtidos com o farelo de soja

É de grande valor prático a determinação dos valores de digestibilidade aparente dos nutrientes e a energia digestível dos mais variados alimentos para as principais espécies de peixes comercialmente cultivadas. Tais resultados possibilitarão a determinação das exigências nutricionais, com base em nutrientes digestíveis, para a formulação de rações com melhor qualidade nutritiva e ótimo desempenho produtivo. (PEZZATO, 2002)

Um dos motivos de não se ter atingido altos valores de proteínas está na quantidade de umidade retida na ração elaborada neste estudo. Infelizmente, durante o gotejamento e o encapsulamento há uma grande retenção de umidade, o que se torna um ponto negativo para a formulação das cápsulas, visto que esta umidade acaba aumentando o peso final das esferas e reduzindo então a porcentagem dos nutrientes. Sendo assim, se torna necessário uma quantidade muito maior de ração encapsulada para atingirmos uma quantidade ideal de nutrientes. De acordo com Buddington *et al*. (1987), caso o valor calórico ou nutricional da ração seja baixo, o peixe toma um grande volume de alimento e a taxa de alimentação passa a era governada pela fome ou saciedade, que depende do *déficit* metabólico.

Uma das tentativas de solucionar esse problema foi a secagem parcial das esferas, o que reduziria a umidade das cápsulas, alterando os valores nutricionais da ração, conforme tabela 9.

Tabela 9. Valores nutricionais das rações encapsuladas submetidas a secagem overnight

	ENCAPSULADO (%)
Proteína	20,71%
Lipídios	1,72%
Umidade	32,3 %
Cinzas	10,27 %
Carboidratos	35,10 %

As cápsulas secas apresentaram um percentual de proteína e carboidrato maiores em relação às esferas em seu estado normal, entretanto, nessas condições as cápsulas perdem algumas de suas propriedades iniciais, tais como a flotação.

Com isso, apesar do aumento nutricional, não se torna viável a secagem das cápsulas de ração.

6.9. MICROSCOPIA ELETRONICA DE VARREDURA

As micrografias expõem as morfologias obtidas de esferas de alginato de cálcio e Capsul®, e farelo de soja.(Figura 13)

Observando as figuras 14 e 15, verifica-se que as cápsulas preparadas de alginato de cálcio (3%), Capsul®(4%) e Farelo de Soja (40% ST), na condição ideal segundo o planejamento experimental, apresentaram uma superfície bastante coesa e densa com a presença de algumas irregularidades. O fato da morfologia das esferas de alginato de cálcio e Capsul® mostrar-se tão coesa sugere que este último foi capaz de incorporar-se fortemente à matriz de alginato de cálcio. Esta coesão filmogênica pode ser atribuída às interações iônicas entre os íons cálcio e as unidades G assim como às interações eletrostáticas existentes entre as unidades do alginato de cálcio (G e M) e as de glicose presentes no Capsul® que, juntas,

provavelmente contribuíram para reforçar a matriz do filme. Os resultados obtidos através da microscopia eletrônica de varredura são semelhantes aos encontrados por Bastos (2009).

Macroscopicamente, as esferas apresentam superfícies lisas, entretanto, microscopicamente poderiam conter irregularidades contribuindo para os resultados encontrados. As esferas de alginato e capsul são impermeáveis podendo conter alguns poros por onde ocorre a saída do material encapsulado para o meio externo(Figura 16) (Figura17)

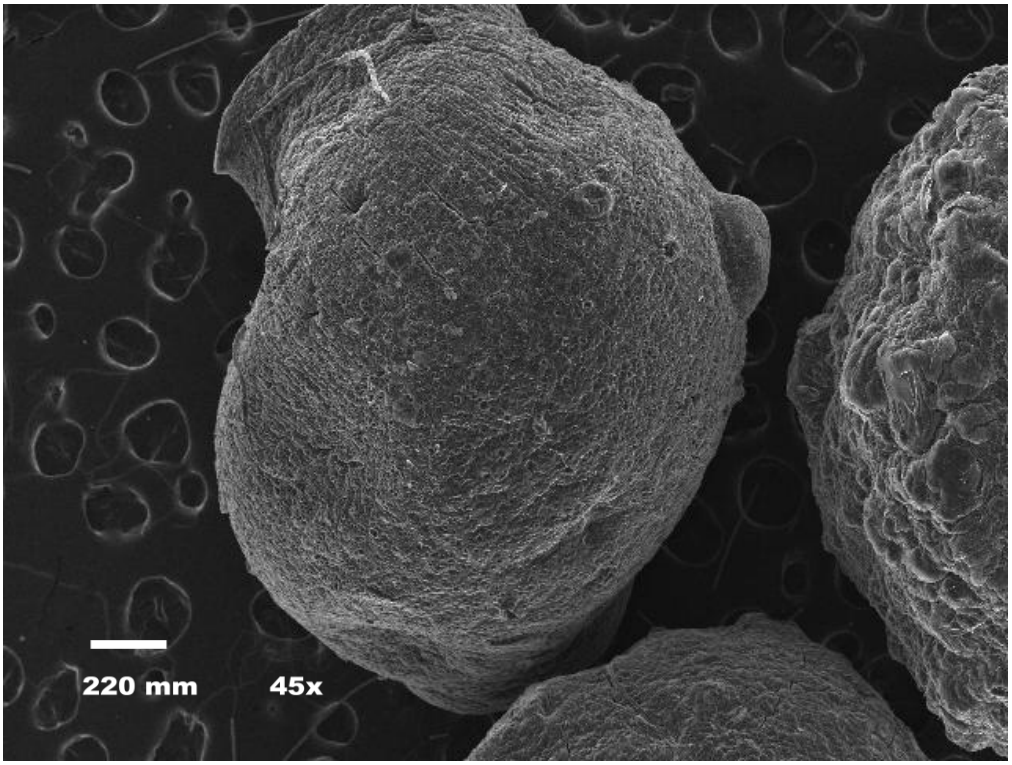

Figura 13. Ração encapsulada visualizadas através de Microscopia eletrônica de Varredura com aumento de 45x

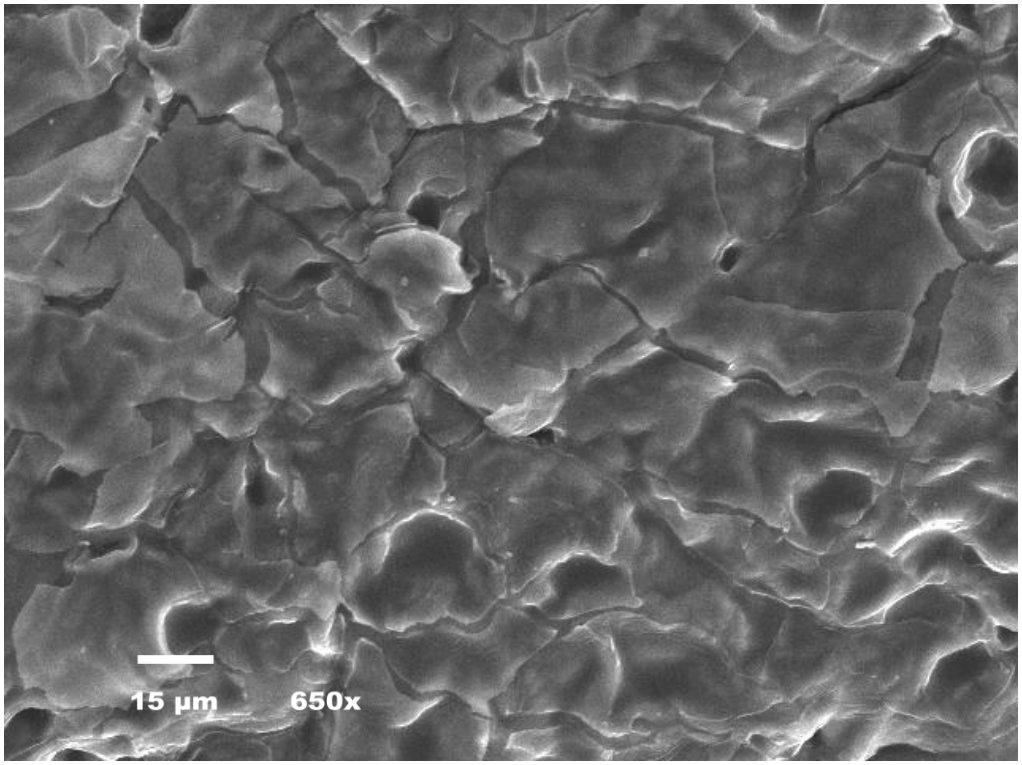

Figura 14. Ração encapsulada visualizadas através de Microscopia eletrônica de Varredura com aumento de 650x

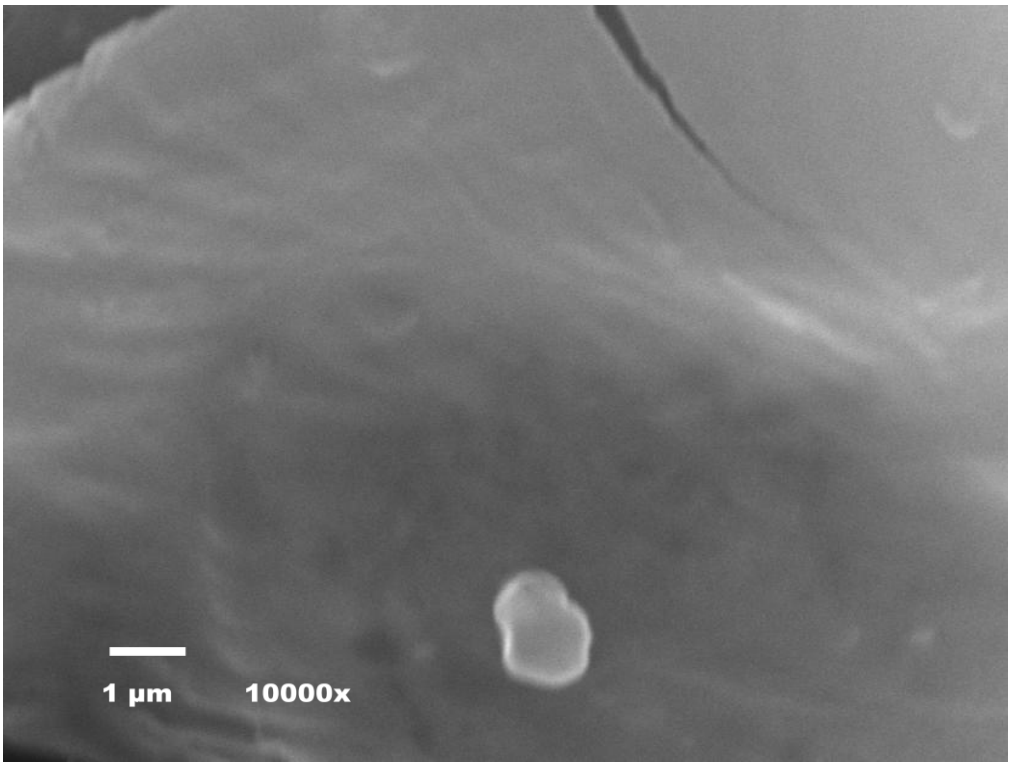

Figura 15. Ração encapsulada visualizadas através de Microscopia eletrônica de Varredura com aumento de 10000x

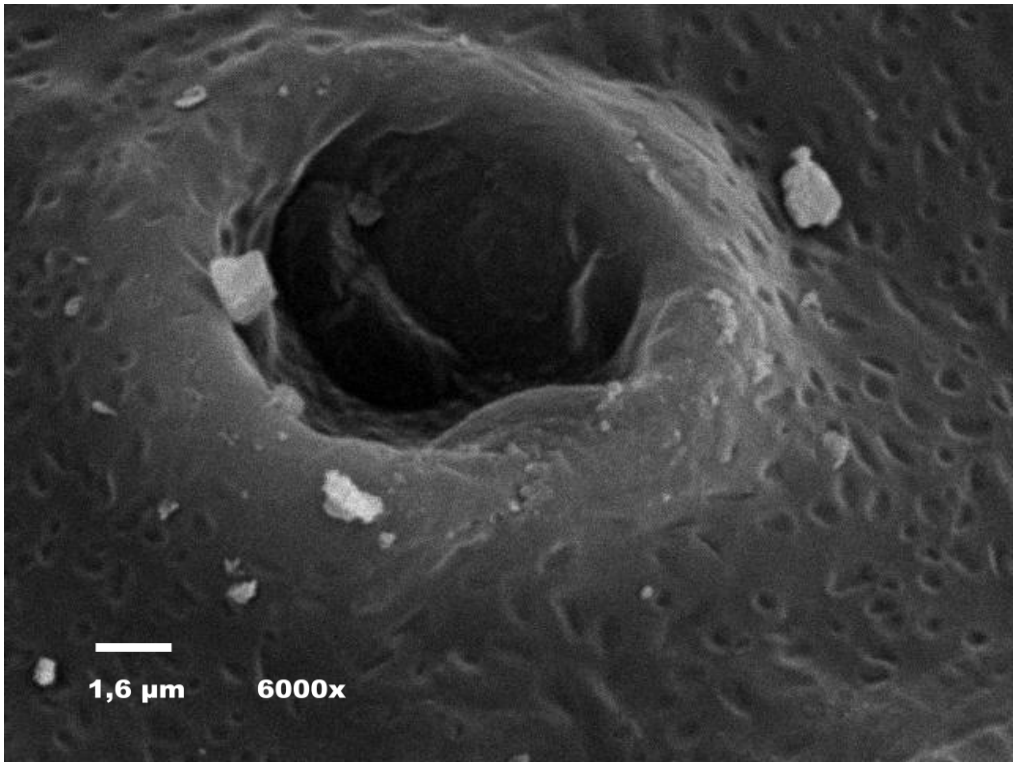

Figura 16. Visualização de um poro presente na esfera através da Microscopia eletrônica de Varredura com aumento de 6000x

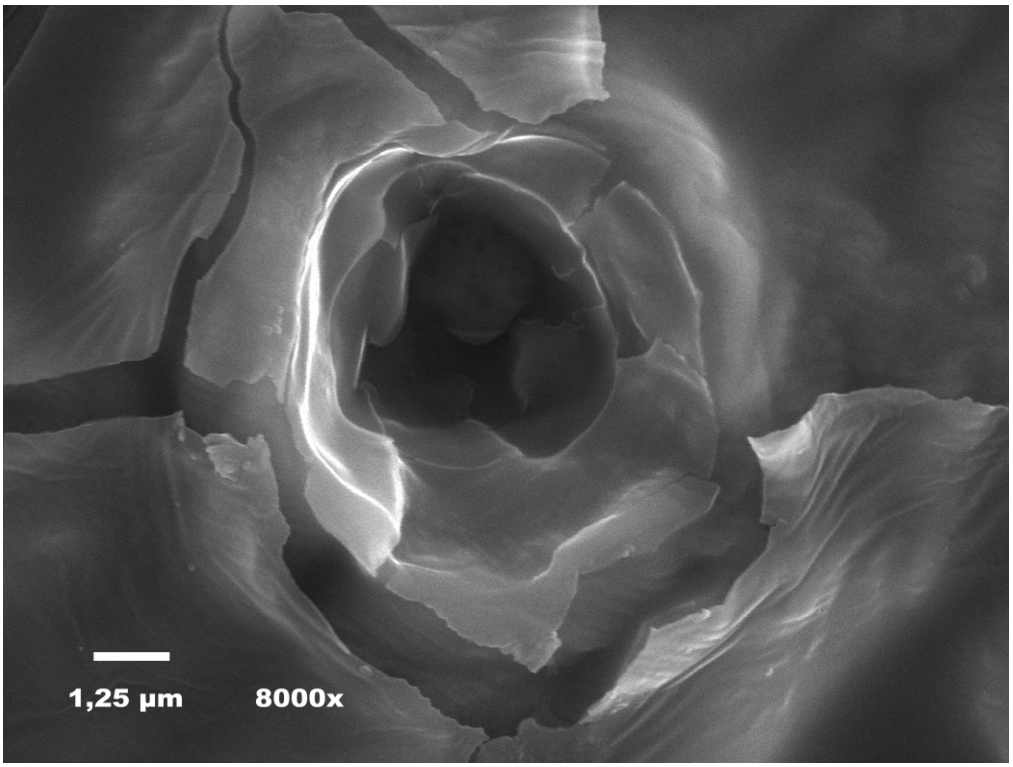

Figura 17. Visualização do interior do poro presente na esfera através da Microscopia eletrônica de Varredura com aumento de 8000x

7. CONCLUSÕES

✓ Os polímeros alginato e capsul possuem uma boa interação para a formação de cápsulas de retenção e liberação lenta de proteínas do farelo de soja

✓ Foi possível a obtenção de cápsulas com propriedades de retenção de farelo de soja de tamanho regular com diâmetro de 4mm.

✓ Através do planejamento experimental foi obtido uma formulação ideal para a confecção das capsulas a partir de 40% de farelo inicial e tempo de exposição ao $CaCl_2$ de 30 minutos

✓ Com a formulação otimizada das cápsulas, aproximadamente 74% do material encapsulado esteve retido após 24 horas de exposição à água.

✓ As capsulas produzidas apresentaram estabilidade quando exposta em água e 90% delas ainda mantiveram sua propriedade de flotação após 24 horas.

✓ Os valores nutricionais das cápsulas foram abaixo dos esperados devido ao elevado percentual de umidade presente nelas.

8. PERSPECTIVAS

- ✓ Avaliar a eficiência de outras fontes protéicas, como por exemplo a proteína bruta de soja dentre outras

- ✓ Verificar a necessidade de alterar a matriz encapsulante na formação das capsulas utilizadas como ração para peixes

- ✓ Utilizar as cápsulas à base de alginato e capsul na elaboração de ração para outros animais

- ✓ Verificar a aplicabilidade do encapsulado produzido com alginato, capsul e farelo de soja em tanques de cultivo de peixes e a minimização dos impactos ambientais.

- ✓ Verificar a aceitabilidades dos encapsulados por parte dos peixes, bem como seu efeito no cultivo dos peixes

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFIA

1. ALMEIDA, F. **O mundo dos negócios e o meio ambiente no século 21**. Rio de Janeiro. Revista Sextante. p.123-141, 2003.

2. ALMEIDA, M.E.W.A., SIMAO, A.M.. **Aminoácidos de proteína de soja e dosagem de ácido glutanico.** Revista Instituto Adolfo Lutz, nº 32. p.105-112, 1972

3. ARANA, L.V. **Aquicultura e desenvolvimento sustentável – subsídios para formulação de políticas de desenvolvimento da aquicultura brasileira**. Florianópolis: Editora da UFSC, p.310. 1999.

4. ARAUJO, M.F., GOMES, J.C., SANT'ANNA, R., SILVA, D.J. **Caracterização química de um isolado protéico de soja produzido no Brasil.** Revista Ceres. v.33 nº 188, p. 320-329. 1986.

5. ARBURTO, L. C.; TAVARES, D. Q.; MARTUCCI, E. T. **Microencapsulação de óleo essencial de laranja.** Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos **18 (**1),p. 45-48. 1998.

6. ASCHERI, D. P. R; MARQUEZ, M. O. M.; MARTUCCI, E. T. **Microencapsulação de óleo essencial de laranja*:* seleção de material de parede**. Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos **23**(Supl), p.1-6, 2003.

7. ASSAD, L.T.; BURSZTYN, M. **Aquicultura Sustentável**. In: Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília: CNPq / Ministério da Ciência e Tecnologiap. p.303 – 323, 2000.

8. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ÓLEO VEGETAL. **Estatística do complexo soja no Brasil.** Disponível em: http://www.abiove.com.br. Acessado em: 30 de setembro de 2010.

9. BALASSA, L. L.; FANGER, G. O. **Microencapsulation in the food industry**. CRC Critical Review Food Technology, p.245-265, 1971.

10. BALDISSERATTO, B. **Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectivas para o futuro**. Ciência Rural, Santa Maria, v.39, n.1, jan-fev .p.291-299, 2009.

11. BASTOS, D. S. **Produção e caracterização de filme alimentício com antioxidante aprisionado.** Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Rio de janeiro - Brasil, p.68. 2007.

12. BELITZ, H. D. & GROSCH, W. **Química de los Alimentos.** Zaragoza, Espanha : Editorial Acribia, S.A. p.813, 1988.

13. BERTOLINI, A. C.; SIANI, A C.; GROSSO, C. R. F. **Stability of monoterpenes of encapsulated in gum arabic by spray-drying.** Journal of Agricultural and Food Chemistry **49** (2), p.780 – 785. 2001.

14. BEVERIDGE, M.C.M.; ROSS, L.G.; KELLY, L.A. **Aquaculture and biodiversity**. Ambio. v.23, n.8. p.497-502. 1994

15. BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à Química de Alimentos**. 2ed. São Paulo : Livraria Varela. p.23 , 1992

16. BOOTH, M.A. **Effects of griding, steam conditioning and extrusion of a practical diet on digestibility and weight gain of silver perch, *Bidyanus bidyanus***. Aquaculture, Amsterdam, v. 182, p. 287–299, 2000.

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

18. BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. **Farinhas de peixe, carne e ossos, vísceras e crisálida como atractantes em dietas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).** Revista Brasileira de Zootecnia, v.30, n.5, p.1397-1402, 2001.

19. BUDDINGTON, R. K.; CHEN, J.W.; DIAMOND, J. M. **Genetic and phenotypic adaptation os intestinal nutrient transport to iet in fish.** Journal Physiologic., 393, p.261-282.1987.

20. BUDDINGTON, R.K.; KROGDAHAL, A.; BAKKE-MCKELLEP, A.M. **The intestine of carnivorous fish; structure and functions and the relations with diet**. Acta Physiologic. Scand, 161 (Supl. 638): p.67-80. 1997.

21. CARTER, C. G.; HOULIHAN, D. F. **Protein Syntesis**. In: WRIGHT, P.; ANDERSON, P. Nitrogen Excretion. Fish Physiology Series, vol. XX. Academinc Press. p. 31-75, 2001.

22. CARTER, C. G.; HOULIHAN, D. F.; KIESSLING, A.; MÉDALE & JOBLING, *M.* **Phyiological effects of feeding**. In: HOULIHAN, D. F.; BOUJARD, T.: JOBLING, M. (eds). Food intake in fish. Blackwell Science. p. 297-331.2001.

23. CASTAGNOLLI, N**. Piscicultura de água doce**. Jaboticabal, FUNEP, 1992. 53p.

24. CASTAGNOLLI, N;CYRINO, E. **Piscicultura nos trópicos**. São Paulo. Manole, 1986. 152p.

25. CASTELLANI, D.; BARELLA, W. **Characterization of fish farming in the Ribeira Valley region – SP**. Revista Ciências Agrotecnia., Lavras, v. 29, n. 1, p. 168-176, jan./fev. 2005

26. CECCARELLI, P.S. **Dicas em piscicultura: perguntas e repostas**. Botucatu: Santana Gráfica Editora, 2000.

27. CHAKRABARTI,I.; GANI,M.D.A.; CHAKI,K.K.; SUR,R.; MISRA, K.K. **Digestive enzimes in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and nich segregation.** 1995.

28. CHENG, Z.J.; HARDY, R.W. **Effects of extrusion processing of feed ingredients on apparent digestibility coefficients of nutrients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)** *Aquac. Nutr.*, Bergen, v. 9, p. 77–83, 2003.

29. CHOU, B.S.; SHIAU, S.Y. **Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*.** Aquaculture, v.143, n.2, p.185-195, 1996

30. Commission on Environment and Development (WECD). **Our Common Future**. Oxford: Oxford University Press. 1987.

31. COULTATA, T.P. **Alimentos. Química de sus componentes**. Zaragoza (Espanhã) : Editorial Acribia, S.A., 199p 1984.

32. DAIRIKI, J.K. .**Exigencias em aminoácidos e farelo de soja na nutrição de juvenis de dourado *Salminus brasiliensis***. Tese de Doutorado em agronomia. USP. Campinas. 2009

33. DANIELS, H.V.; GALLANGHER, M. L. **Effect of dietay protein level on growth and blood parameters in summer flounder, *Paralichthys dentatus***. Journal Aqua. Aquacult, 10(1): p.45-52. 2000.

34. DAVIS, S.S.; STOCKWELL, A.F.; WALKER, S.E. **In vitro evaluation of alginate gel systems as sustained release drug delivery systems**. J. Control. Release, v.3, n.167 175, 1986

35. DE SILVA, S. S.; ANDERSON, T. A. **Fish nutrition in aquaculture**. Chapman & Hall. Aquaculture. 1 Series. 319p. 1995.

36. DZIEZAK, J.D. **Microencapsulation and encapsulated ingredients**. Food Technology, **42** (4): p.136-151, 1988

37. EL-DAHHAR, A.A.; EL-SHAZLY, K. **Effect of essential amino acids (methionine and lysine) and treated oil in fish diet on growth performance and feed utilization of Nile tilapia,*Tilapia nilotica* (L.).** Aquaculture and Fishieries Management, v.24, n.6, p.731-739, 1993.

38. ELER, M.N. **Efeito da densidade de estocagem de peixes e do fluxo de água na qualidade de água e na sucessão do plâncton em viveiros de piscicultura**. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 258p. 2000.

39. ELER, M.N.; MILLANI, T.J.. **Métodos de estudos de sustentabilidade aplicados a aquicultura.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.36, suplemento especial, p.33-44, 2007.

40. EL-SAYED, A.F.M. **Alternative dietary protein sources for farmed tilápia, *Oreochromis ssp*.** Aquaculture, The Netherlands, v.179, p.146-168, 1999.

41. FAKHOURI, F.M. & GROSSO, C. **Efeito de coberturas comestíveis na vida útil goiabas *in natura* (*Psidium guajava* L.) mantidas sob refrigeração**. Brazilian Journal of Food Technology, v. 6, n. 2, p. 203-211, 2003

42. FANGE, R.; GROVE, D. **Digestion**. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J; BRETT, J.R. (eds). Fish Physiology, vol. VIII: *Bionergetics and growth*. Academic Press. P.161-260. 1979.

43. FAVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. **Microencapsulation of L. acidophilus (La-05) and B. lactis (Bb-12) and evaluation of their survival at the pH values of the stomach and in bile**. Journal of Microencapsulation, London, v. 19, n. 4, p. 485-494, 2002.

44. FENNEMA, O.R. **Química de los Alimentos**. Zaragoza (Espanha) : Editorial Acribia, S.A, 1095p, 1993.

45. FERNANDES, J.B.K. **Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos e juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal, 1998. 96p

46. FINOTELLI, P.V. **Microencapsulação de Vitamina Antioxidante**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 59p. .2002

47. FIRELLI, R.; SALES, D.S. **O futuro promissor da cadeia produtiva da piscicultura comercial.** Anualpec, v.11, p.305-307, 2000.

48. Food and Agriculture Organization (2006). State of World Aquaculture 2006, **Fisheries Technical Paper**. No. 500. Roma: FAO, p. 134

49. Food and Agriculture Organization. Cultured Aquatic Species Information Programme. Disponível em: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/search. Acessado em 30 de Setembro de 2010.

50. FRANCHETTI, S. M. M. & MARCONATO, J. C. **Polímeros biodegradáveis –uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos**. Química Nova,. **29** (4): p.811-816, 2006.

51. GARLING, D. L.; WILSON, R.P. **Optimum dietary protein to energy ratio for channel cat fish, *Ictalurus punctatus*.** Journal Ntr., 116(9): p.1368-1375.1976.

52. GERKING, S.D.**Feeding Ecology of Fish.** Academic Press, San Diego.1994

53. GOLDFLUS, F. **Ingredientes derivados do processamento da soja aplicados na nutricção animal**. In: Simpósio sobre o manejo e nutrição de aves e suínos e tecnologia de produção de rações, Campinas,SP. Anais. Campinas: CBNA, p97-188. 2001

54. GRAEFF, A. & TOMAZELLI, A. **Sources and levels of oils in the feeding of common carp (*Cyprinus carpio L.)* in the phase of growth.** Ciência agrotecnica, Lavras, v. 31, n. 5, p. 1545-1551, 2007.

55. HANAFI, M. M.; ELTAIB, M. S.; AHMAD, M. B. **Physical and chemical characteristics of controlled release compound fertilizer.** European Polymer Journal**. 36**:.p. 2081-2088, 2000.

56. HEPER, B. **Principles of fish nutrition**. In: SHILO, M. & SARIG, M. (eds.). Fish culture in warm water systems: problems and trend. Boca Raton: CRC.Pp. 121-141.1989.

57. HEPHER, B. **Nutrition of Pond Fishes**. Cambridge University Press, New York, 388p. 1988.

58. HIDALGO, M.C.; E & SANZ, A. **Comparative study of digestive enzymes in fish with diferent nutritional habits. Proteolytic and amylase activities**. Aquaculture, 170: p.267-283.1999.

59. HOFER, R. **The adaptation of digestive enzymes to temperature, season and diet in roach, Rutilus rutilis, and rudd, *Scardinus erythrophtalmus*** L.1. Amylase. J. Fish. Bio., 14: p.565-572, 1979.

60. HUSSARL, G.J; CONCEIÇÃO, C.H.Z.; PARADELA, A.L.; BARIN, J.B.; JONAS, T.C.; SERRA, W.; GOMES, J.P.R..**Uso de leitos cultivados de vazão subsuperficial na remoção de macronutrientes de efluentes de tanques de piscicultura**. Revista Engenharia ambiental, Espírito Santo do Pinhal, v.1, n.1,p. 80-84, jan./dez., 2004

61. INSTITUTO ADOLFO LUTZ (SÃO PAULO) **Normas analíticas do INSTITUTO ADOLFO LUTZ**. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3ª ed. vol.1. São Paulo, 1985.

62. KAPOOR,B.G.; SMITH, H.; VERIGHINA, I.A. **The alimentary canal and digestion in teleosts.** Adv. Mar. Biol, 13: p.109-139. 1975.

63. KUBITZA, F. **Qualidade do alimento, qualidade da água e manejo alimentar na produção de peixes**. Anais... In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES. Piracicaba: CBNA, p. 63-101, 1997.

64. KUBITZA, F.; CYRINO, J.E.P.; ONO, E. A. **Rações comerciais para peixe no Brasil: Situação atual e perspectivas.** Revista Panorama da Aquicultura. V. 8, n.50, p.38-49, 1998.

65. KUBITZA, F.; LOVSHIN, L. L. **The use of freeze-dried krill to feed train largemouth bass (Micropterus salmoides): feeds and training strategies**. Aquaculture, v.148, p. 299-312, 1997.

66. LANDAU, M. **Introduction to Aquaculture.** *New York*:John Wiley & Sons, Inc. 1992.

67. LOGATO, P.V.R. **Nutrição e alimentação de peixes de água doce**. 1º ed, Lavras, Editora UFLA, v.1, 79p. 1999.

68. LOVELL., R. T. **Nutrition and feeding of fish**. New York: AVI Book. 260p. 1989.

69. LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. **Protein measurement with the Folin phenol reagent**. Journal of Biological Chemistry, **193**: p. 265-275, 1951

70. LUNDSTEDT, L.M. ***Aspectos adaptativos dos processos digestivos e metabólico de juvenis de pintado (Pseudoplatystoma corruscans) arraçoados com diferentes níveis***

de proteína e energia. (Tese Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos: UFSCar, 140p. 2003.

71. MACHADO, J.H. **Treinamento alimentar para aceitação de rações artificiais por alevinos de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*).** In: AQUICULTURA BRASIL 98, Recife. Anais. Recife: ABRAq.p.52-53.1998.

72. MAIA, L. H. **Microencapsulação de Lactoferrina Bovina (bLF) por Spray Drying.** Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 170p. 2004.

73. MAINARDES PINTO, C. S. R. **Criação de tilápia**. São Paulo, Instituto de Pesca, (Boletim Técnico, 10). p.1- 3. 1989.

74. MARTIN, N.B. **Custos: sistema de custo de produção agrícola.** Informações Econômicas, São Paulo, vol. 24(9): p. 97-122, set. 1994.

75. MARTIN, N.B.; FILHO, J.D.S.; SANCHES, E.G.; NOVATOS, P.F.C.; AYROSA, L.M.S. **Custos e retornos na piscicultura em São Paulo**. Informações Econômicas, SP, v.25, n.1, jan. 1995.

76. MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Microencapsulação do licopeno com ciclodextrinas.** Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos nº **23**(Supl): p.102-105, 2003

77. MERCADO DA PESCA. Disponível em:www.mercadodapesca.com.br/cadeias_tilapia. Acessado em 20 de agosto de 2010.

78. MESTRE, P. **Elaboração de uma unidade de psicultura**. Dissertação de Mestrado - Universidade técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária. 2008

79. MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R. et al. **Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.)**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, n.2, p.566-573, 2002.

80. MONTGOMERY, D. C. **Design and Analysis of Experiments**. New York: John Wiley & Sons, 4th ed, 704p. 1999

81. MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de Experimentos usando Statística**. Rio de Janeiro: E-Papers Serviços Editoriais. 260p, 2003

82. NETO, B.B., SCARMÍNIO, I. e BRUNS, R. E. **Planejamento e Otimização de Experimentos.** Editora UNICAMP, Campinas, Brasil, 299p. 1995.

83. NUNES, A. J. P. **Tratamento de efluentes e recirculação de água na engorda de camarão marinho.** Revista Panorama da Aquicultura**.** Rio de Janeiro, vol. 12, n.º 71, p. 27-39, março/abril 2002.

84. OSTRENSKY, A.; BOEGER, W.A. **Principais problemas enfrentados atualmente pela aquicultura brasileira.** In: OSTRENSKY, A. et al. Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer. Brasília: Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca/ FAO, 2008. p.135-158.

85. PAIXAO, J. A. **Enriquecimento e vitaminação em alimentos**. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**,** Campinas SP, Brasil,. **32** (1): p.48-55, 1998.

86. PARSONS, C.M., HASHIMOTO,K., WEDEKIND, K.J., BAKER,D.H.. **Effect of overprocessing on availability of amino acids and energy in soybean meal.** Poutry Science, v. 71.p.133-148. 1992.

87. PENZ, JR., A.M., BRUGALLI. **Soja e seus derivados na alimentação de aves**. In: Simpósio sobre ingredientes na Alimentação Animal. Campinas, Sp. Anais. Campinas. CNBA. 2001. p.85-108

88. PEZZATO, L. E. **Alimentos convencionais e não-convencionais disponíveis para indústria da nutrição de peixes no Brasil**. In: I Simpósio Internacional sobre Nutrição de Peixes e Crustáceos, CBNA, Campos do Jordão – SP, 8-10 de novembro de 1995. Anais... p.33-52.1995.

89. 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 Zootecnia, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002

90. PIERUCCI, A.P.T.R. **Microencapsulamento de vitaminas antioxidantes para fortificação de um suplemento energético para atletas.** Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2005. 123p

91. PILLAY, T.V.R. **Aquaculture and the environment**. Oxford: Fishing News Books/Blakwell Scientific Publications Ltd. 1992. 189p.

92. PONGMANEERAT, J., WATANABE T. **Nutritional evolution of the soybean meal for rainbow trout and carp**. Nippon Suisan Gakkaishi, v.59, n.1, p.157-163, 1993.

93. PSZCZOLA, D. **Encapsulated ingredients: Providing the right fit.** Food Technology, **52**(12):70-77, 1998.

94. REIDEL, A. **Níveis de energia e proteína na alimentação do Jundiá (Rhamdia quelen) criados em tanque redes**. Tese Doutorado - Programa de Pós-graduação em Aquicultura, do Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal São Paulo – Brasil 2007

95. REIS, E.A.. **Produção de cápsulas de liberação controlada para fins de biorremediação de ambientes contaminados por hidrocarbonetos do petróleo**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de janeiro - Brasil, 2009

96. RHIM, J. **Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films.** Lebensm.-Wiss. u- Technol., **37**: 323-330, 2004.

97. RODRIGUES, L.A; FERNANDES,J.B.K. **Influência do processamento da dieta no desempenho produtivo do acará bandeira (*Pterophyllum scalare*)** Acta Sci. Anim. Sci. Maringá, v. 28, n. 1, p. 113-119, Jan./March, 2006

98. ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I.J. & TALMON, Y. **Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials.** Journal Agric. Food Chem., **36**: p.1288-1294, 1990.

99. ROSENTHAL, H. **Aquaculture and the environment**. World Aquaculture, v.25, n.2, p.4-11, 1994.

100. SAKOMURA, N.K. **Estudo do valor nutricional das sojas integrais processadas e de sua utilização na alimentação de frangos e poedeiras**. Jaboticabal. Tese para obtenção do Título de Livre Docente – UNESP. 1996.

101. SANTACRUZ, I.; GUTIÉRREZ, C. A.; NIETO, M. I.; MORENO, R. **Application of alginate gelation to aqueous tape casting technology.** Materials Research Bulletin, **37**: p.671-682, 2002

102. SANTOS, C.G,. **Diferentes itens alimentares na alevinagem do surubim *Pseudoplatystoma corruscans.*** Dissertação de Mestrado em recursos Pesqueiros e Aquicultura. Universidade Federal Rural de Pernanbuco. Pernambuco, 2007.

103. SÃO PAULO. Secretaria de Agricultura e Abastecimento & IDEADECO. Projeto de estabelecimento de um pólo de aquicultura de alta tecnologia no Vale do Ribeira São Paulo, IEA, 1989. 2v. mimeo.

104. SCARE, R.F. **Escassez de água e mudança institucional: análise da regulação dos recursos hídricos no Brasil.** Dissertação (Mestre em Administração) – Faculdade de Economia e Administração da Universidade de São Paulo, São Paulo. 135p. 2003.

105. SHAHIDI, F. & HAN, X. **Encapsulation of food ingredients**. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, **33** (6): p.501-547, 1993

106. SILVA, G. O.; TAKIZAWA, F. F.; PEDROSO, R. A.; FRANCO, C. M. L.; LEONEL, M.; SARMENTO, S. B. S.; DEMIATE, I. M. **Características físicoquímicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, **26** (1): p.188-197, 2006.

107. SILVA, R. F. **Estratégias de Bioestímulo de Sedimento de Manguezal Contaminado com Hidrocarbonetos empregando Fertilizantes de Liberação Lenta**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, Brasil, 116p. 2008.

108. THIES, C. **How to Make Microcapsules Lecture and Laboratory Manual.** St. Louis. Missouri, 1995.

109. VALENTI, W. C.; PEREIRA, J. A.; BORGHETTI, J. R. **Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável.** Brasília: CNPq; Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000. 399 p.

110. WILSON, R.P. **Proteins and amino acids. In: Nutrition and feeding of channel catfish**. Southern Cooperative Series Bulletin, n.296, february, p.5-11, 1984.

111. WONG, D.W.S. **Química de los Alimentos**. Zaragoza (Espanha) : Editorial Acribia, S.A, 476p 1989.

112. WU, L., LIU, M., RUI, L. **Preparation and properties of a double-coated slow-release NPK compound fertilizer with superabsorbent and water-retention.** Bioresour Technol **99**(3): p.547-54.2008

113. ZAIA, D. A. M. ; ZAIA, Cássia Thaïs B V ; LICHTIG, J. . **Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes.** Química Nova, **21** (6): p. 787-793, 1998.

.

.