

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**  
**CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS**  
**PESQUEIROS E ENGENHARIA DE PESCA**

**JOANA D'ARC MAURÍCIO ROCHA**

Proteína hidrolisada de frango para tilápia do Nilo:  
digestibilidade e desempenho produtivo

Toledo

2018

**JOANA D'ARC MAURÍCIO ROCHA**

**Proteína hidrolisada de frango para tilápia do Nilo:  
digestibilidade e desempenho produtivo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Mestrado e Doutorado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Área de concentração: Aquicultura

Orientador: Prof. Dr. Altevir Signor

Co-orientador: Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo

Toledo

2018

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**JOANA D'ARC MAURÍCIO ROCHA**

### Proteína hidrolisada de frango para tilápia do Nilo: digestibilidade e desempenho produtivo

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Mestrado e Doutorado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

#### COMISSÃO JULGADORA

---

Prof. Dr. Altevir Signor  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente)

---

Prof. Dr. Fábio Bittencourt  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

---

Prof. Dr. Aldi Feiden  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

---

Prof. Dr. Thibério Carvalho da Silva  
Universidade do Estado do Amapá

---

Dr<sup>a</sup>. Fabiana Dieterich

Aprovada em: 26 de abril de 2018.

Local de defesa: Auditório do GEMAq - Unioeste/*Campus* de Toledo.

Aos meus pais, Alceu e Erneide por todo o amor, carinho, confiança e incentivo.

À minha tia Nazaré, por sempre acreditar em mim.

Ao meu primo-irmão Roger, minha tia de coração Vera e minha tia inspiração Nininha que descansaram e deixaram muitas saudades (*in memoriam*)...

## AGRADECIMENTOS

### *Institucionais*

A CAPES pela concessão da bolsa de doutorado.

A Unioeste por disponibilizar estrutura necessária para realização desses estudos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca pela formação e capacitação necessária para desenvolver este estudo.

A BRF Ingredients Ltda, empresa parceira deste estudo, por disponibilizar o produto, análises e auxiliar na divulgação dos resultados, em especial a Thais Andrade e José Maluf pela confiança.

### *Especiais*

A Deus por me conceder a melhor vida que podia ter me concedido. Sem nunca me desamparar, mesmo nos momentos mais difíceis, por colocar anjos em forma de pessoas (família e amigos) na minha vida. Infinitas graças vos dou por minha família, saúde, amor, amizades e aprendizados!

Aos meus pais, Alceu e Erneide, por todo amor, carinho, atenção, dedicação, incentivo, sabedoria, por sempre me apoiar e acreditar em mim, por estar sempre ao meu lado, seja em momentos difíceis ou vibrando a cada conquista. Muito obrigada! Vocês são tudo para mim!

A minha amada tia Nazaré, minha segunda mãe, por acreditar e confiar em mim, sempre me incentivando e torcendo por minhas conquistas. Obrigada por tudo, Lela!

Ao meu irmão Ronaldo, meu sobrinho Júnior, tias, tios, primas (Nataia, Brenda e Joyce, em especial), primos e agregados, amigos por torcerem por mim e pelo carinho que recebo sempre que retorno ao lar. Muito obrigada!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Altevir Signor, por acreditar, confiar e dedicar tanta atenção durante a realização deste estudo, sendo incansável na busca de respostas e soluções para os obstáculos encontrados. Muito obrigada!

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo, pelos tantos ensinamentos, possibilidades, confiança, atenção e agradável amizade construída. Minha eterna gratidão!

Ao Prof. Dr. Aldi Feiden, nosso grande incentivador. Uma figura incansável e visionária que desperta nossa vontade de “fazer a diferença” no setor. Sinto-me honrada por tamanho incentivo e amizade construída. Serei-lhe sempre muito grata!

Ao Prof. Dr. Fábio Bittencourt, por ser mais que o líder do GEMAg, sendo também um amigo, parceiro nas confraternizações, além de toda atenção, confiança, contribuição e amizade. Muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Thibério Carvalho e Dr<sup>a</sup> Fabiana Dieterich, por aceitarem participar da banca examinadora, pelas contribuições e sugestões que certamente só irão melhorar o trabalho final. Muito obrigada!

Aos grandes amigos que contei e cultivei durante o mestrado e doutorado Iury Amarin, Vagner Geronimo, Rômulo Rodrigues, Pedro Moreira, Vinicius Bridi, Vitor Sendin, Marta Cruz, Caroline Gonçalves, Bruno Sosa, Luiz Fernando, Stefane Santos, Ricácio Marques, Suzana Oliveira, Lucas Vogel, Aldo Fava e que pretendo levar pra vida inteira. Valeu galera!

Aos membros do GEMAAq, Alis, Jaina, Marcia, Fabi, Titanic, André, Juliana, Glaucia, Joaquim, Andréia, Mayara, Juliano, Micheli, Titanic, Dacley, Odair, Júnior, Themis, Arlindo, Antônio, Dihego, Vanessa, Cesar, Evandro, Jhonis, Diogo, Edionei, Deididy, Kátia, Guilherme, Nathieli, Daniele, Tatiane, Jackeline, Nei, Marlon, Greyce, Rafael, Ariel, Kerolay, André Gentilini, Coldebella, Chidichima, Manoel, Matheus, Marjana, Antonio, José, Alessandra, Bianca, Mariana, Flávia, Milena, Adriana, Fabiola, Janaína, André, Thiago, Léo, Luciana, Silmara, Sérgio, Joana Finkler, Jakeline, Tomate, Robson, pelo auxílio na execução deste projeto, alegrias, carinho e amizade. Obrigada pessoal!

Aos assistentes do Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, Carla Muerer e Uilian Simões por toda paciência, atenção e amizade!

E a todos que contribuíram durante toda minha formação pessoal e profissional, que me proporcionaram meios de estar concluindo mais esta tão honrosa etapa de formação, agradeço imensamente! Cada momento fácil ou difícil foi de aprendizado, então meu eterno agradecimento!!

*Mais que especial!*

Ao Grupo de Estudos em Manejo na Aquicultura – GEMAAq, aos professores que o fundaram e aos que perpetuam o real sentido de união e equipe, venho parabenizá-los pelos 15 anos de superações, sucessos e conquistas! Vocês são responsáveis pela formação de muitos dos profissionais que contribuem com o crescimento e expansão da pesca e aquicultura no Brasil e mundo! Acredito que para muitos de nós, que fomos/estamos sendo formados pelo GEMAAq, este grupo represente mais que seu propósito de formador, pois assemelha-se a uma família que acolhe, aconselha, investe, estimula, confia, torce, consola e vibra por cada momento dos seus membros. Aqui, fiz um intercâmbio de conhecimento, sentimento e aprendizado. Sentirei falta desse grupo, das confraternizações, das conversas, dos eventos... Assim como guardarei para sempre os aprendizados mais que profissionais, vocês formam pessoas! Parabéns! Viva o GEMAAq! ;)

*“Os sábios constroem pontes,  
enquanto os tolos constroem muros.”*

*(Pantera Negra – Marvel Studios)*

## Proteína hidrolisada de frango para tilápia do Nilo: digestibilidade e desempenho produtivo

### RESUMO

A demanda crescente por ingredientes proteicos de qualidade para a nutrição animal requer a prospecção de alimentos alternativos que atendam às necessidades nutricionais dos animais de criação. Nesse sentido, o presente estudo visou determinar o coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes da proteína hidrolisada de frango (PHF) e avaliar o desempenho produtivo de pós-larvas e alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo níveis crescentes deste produto. Para tanto, para determinar a digestibilidade foram utilizados 240 juvenis de tilápia distribuídos em DIC com dois tratamentos (ração referência e ração teste) e quatro repetições, em sistema composto por oito tanques cilindro cônicos adaptados para coleta de fezes. Foram elaboradas duas dietas, sendo uma referência e outra composta por 80% da dieta referência e 20% da proteína hidrolisada de frango, ambas acrescidas de 0,1% de óxido de cromo. Os animais foram adaptados às condições e dietas experimentais por sete dias, e nos 14 dias seguintes foi mantido o manejo diário alimentar, limpeza das estruturas e coletadas as fezes por 12 horas seguidas (período da noite). O material (PHF, rações e fezes) foi analisado quanto a sua composição química, quantificação de cromo e perfil de aminoácidos, para posterior cálculo dos coeficientes de digestibilidade. Na avaliação do desempenho produtivo de pós-larvas do Nilo foi utilizado um DIC com cinco tratamentos, que consistiu em dietas com níveis de inclusão de PHF (0; 2,5; 5; 7,5 e 10%) e três repetições, perfazendo 15 unidades experimentais. Foram alocados 72 animais em cada tanque com 70 litros de volume útil. No ensaio de desempenho produtivo de alevinos de tilápia do Nilo, 420 animais foram distribuídos em DIC em sete tratamentos e quatro repetições, perfazendo 28 tanques com capacidade de 70L. Foram elaboradas 6 dietas contendo níveis crescentes de PHF (1, 2, 3, 4, 5, e 6%), além de um tratamento controle (ausência de PHF). Em ambos ensaios de desempenho, os animais foram alimentados por 30 dias e ao final do período experimental foram tomadas as medidas de peso e comprimento total para cálculo dos parâmetros produtivos. Os dados foram submetidos a análise de variância e quando significativos ao teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) ou regressão polinomial. O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da proteína e energia da PHF foi de 93,61 e 93,86%, respectivamente. O CDA dos aminoácidos variou de 94,02 a 97,55%, apresentando os valores de 97,55; 96,84 e 94,13% para lisina, metionina e treonina, respectivamente. A PHF influenciou ( $p < 0,05$ ) positivamente o peso final, comprimento final, ganho em peso e taxa de crescimento específico das pós-larvas de tilápia do Nilo, com melhores resultados para a inclusão de 2,5% deste produto nas dietas. No ensaio com alevinos, o peso final, ganho em peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar aparente e taxa de eficiência proteica foram influenciadas pela inclusão de PHF, com inclusão ótima variando de 2,91 a 3,62%. Contudo, a tilápia do Nilo aproveitou de maneira eficiente a PHF demonstrado por elevados CDA dos nutrientes e energia, além de proporcionar melhorias nos aspectos produtivos de pós-larvas e alevinos de tilápia do Nilo. Portanto, recomenda-se a inclusão de 2,5% de PHF na dieta para pós larvas e 3% para alevinos da mesma espécie.

**Palavras-chave:** alimento alternativo; hidrólise enzimática; nutrição de peixes; aquicultura.

## Hydrolyzed chicken protein for Nile tilapia: digestibility and productive performance

### *ABSTRACT*

The growing demand for quality protein ingredients for animal nutrition requires the prospection of alternative foods that meet the nutritional needs of farm animals. In this sense, the present study aimed to determine the apparent digestibility coefficient of the nutrients of the hydrolyzed chicken protein (PHF) and to evaluate the productive performance of Nile tilapia post-larvae and fingerlings fed diets containing increasing levels of this product. In order to determine the digestibility, 240 juveniles of tilapia distributed in DIC with two treatments (reference ration and test ration) and four replicates were used in a system composed of eight tapered cylinder tanks adapted for fecal collection. Two diets were made, one reference and the other composed of 80% of the reference diet and 20% of the hydrolyzed chicken protein, both with 0.1% chromium oxide. The animals were adapted to the conditions and experimental diets for seven days, and in the following 14 days the daily food handling, cleaning of the structures and the faeces were collected for 12 consecutive hours (night time). The material (PHF, rations and faeces) was analyzed for its chemical composition, chromium quantification and amino acid profile, for further calculation of the digestibility coefficients. In the evaluation of the productive performance of Nile post-larvae, a DIC with five treatments was used, which consisted of diets with PHF inclusion levels (0, 2.5, 5, 7.5 and 10%) and three replicates, 15 experimental units. 72 animals were allocated in each tank with 70 liters of useful volume. In the performance test of Nile tilapia fingerlings, 420 animals were distributed in ICDs in seven treatments and four replicates, making 28 tanks with 70L capacity. Six diets containing increasing levels of PHF (1, 2, 3, 4, and 6%) were elaborated, besides a control treatment (absence of PHF). In both performance tests, the animals were fed for 30 days and at the end of the experimental period the weight and total length measurements were taken to calculate the productive parameters. The data were submitted to analysis of variance and when significant to the Tukey test ( $p < 0.05$ ) or polynomial regression. The apparent digestibility coefficient (CDA) of the protein and energy of PHF was 93.61 and 93.86%, respectively. The CDA of the amino acids varied from 94.02 to 97.55%, presenting values of 97.55; 96.84 and 94.13% for lysine, methionine and threonine, respectively. The PHF positively influenced the final weight, final length, weight gain and specific growth rate of Nile tilapia post-larvae, with better results for the inclusion of 2.5% of this product in the diets ( $p < 0.05$ ). In the fry trial, the final weight, weight gain, specific growth rate, trimming feed rate and protein efficiency ratio were influenced by the inclusion of PHF, with optimum inclusion varying from 2.91 to 3.62%. However, Nile tilapia efficiently utilized PHF demonstrated by high nutrient and energy CDA levels, as well as providing improvements in the productive aspects of Nile tilapia post-larvae and fingerlings. Therefore, it is recommended to include 2.5% of PHF in the diet for post larvae and 3% for fingerlings of the same species.

**Keywords:** alternative food; enzymatic hydrolysis; fish nutrition; aquaculture.

Tese de doutorado elaborada e formatada conforme as normas das publicações científicas: *Animal Feed Science and Technology*. Disponível em: <<https://www.elsevier.com/journals/animal-feed-science-and-technology/0377-8401/guide-for-authors>> e Revista Agropecuária Brasileira. Disponível em: <<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/about/submissions>>.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO 1: Referencial Teórico .....</b>	<b>15</b>
1.1 Aquicultura: definição, produção e previsões.....	15
1.2 Tilapicultura.....	16
1.3 Estudos de nutrição de peixes .....	18
1.4 Aproveitamento de coprodutos agroindustriais .....	20
1.5 Hidrólise enzimática da proteína .....	22
2. Referências.....	24
<b>CAPÍTULO 2: Artigo científico: Proteína hidrolisada de frango para a tilápia do Nilo: digestibilidade, desempenho produtivo e alterações histomorfométricas .....</b>	<b>30</b>
1. Introdução .....	31
2. Material e métodos.....	33
3. Resultados.....	39
4. Discussão.....	41
5. Conclusão.....	45
6. Referências.....	46
<b>CAPÍTULO 3: Artigo científico: Proteína hidrolisada de frango para alevinos de tilápia do Nilo: desempenho produtivo e histomorfometria do músculo, fígado e intestino.....</b>	<b>50</b>
1. Introdução .....	52
2. Material e métodos.....	53
3. Resultados e discussão .....	56
4. Conclusão.....	63
<b>Referências .....</b>	<b>65</b>

## INTRODUÇÃO

O crescimento das atividades agrárias para produção de alimentos é cada vez maior, sendo considerada a produção de proteína animal uma das principais fontes nutricionais para alimentação da população mundial (ABPA, 2017). Da mesma forma, a geração de resíduos e outros produtos gerados durante as etapas de abate e processamento destas atividades acompanha sua ascensão produtiva.

De acordo com Toldrá et al. (2016), o tratamento de resíduos agroindústrias para descarte é tão oneroso quanto o emprego de tecnologias para transformação em produtos que agregam valor e aumentem a lucratividade na cadeia produtiva. Segundo Mullen et al. (2017), o aproveitamento e melhoramento destes recursos preveem oportunidades sustentáveis e formas de rentabilidade na atividade, com elevado valor agregado em comparação à produção da principal utilização destas matérias-primas sob a forma de farinha.

Fatores como a elevada oferta, boa qualidade biológica e baixo custo destas matérias-primas despertam o interesse para o emprego na nutrição animal. Aliados a essa tendência, o uso de tecnologias que otimizam esses coprodutos vem sendo cada vez mais empregadas como forma de facilitar os processos e melhorar a qualidade nutricional destes produtos, como a biotecnologia de hidrólise enzimática (Dieterich et al. 2014; Mullen et al. 2017).

A utilização de enzimas para promover a hidrólise proteica é considerado o método mais vantajoso quando se objetiva a rapidez e praticidade no processo, o controle da reação, e por consequência, a garantia da sua reprodutividade (Kristinsson & Rasco, 2000; Dieterich et al. 2014; Bernardi et al. 2016).

Além dos destaques relacionadas à produção, o processo de hidrólise enzimática apresenta como principal vantagem a valorização nutricional e funcional das matérias-primas utilizadas, pois além de promover a clivagem da proteína, o que facilita sua

absorção, este processo gera a liberação de compostos com bioatividades benéficas aos que o consomem, podendo ser considerado, também, um alimento funcional (Bernardi et al. 2016; Toldrá et al. 2016).

Nesse contexto, o processo de hidrólise enzimática vislumbra uma forma de aproveitamento destes coprodutos agroindustriais com potencial para uso na nutrição animal. Assim, o presente estudo visou avaliar a proteína hidrolisada de frango na alimentação da tilápia do Nilo por meio de ensaios experimentais de digestibilidade e desempenho produtivo.

## **OBJETIVOS**

### **Geral**

Avaliar a inclusão de proteína hidrolisada de frango em dietas para a tilápia do Nilo, sob os aspectos de digestibilidade dos nutrientes e desempenho produtivo de pós-larvas e alevinos.

### **Específicos**

- Determinar os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da proteína, aminoácidos e energia da proteína hidrolisada de frango;
- Avaliar aspectos do desempenho produtivo de pós-larvas e alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis de proteína hidrolisada de frango;
- Definir o melhor nível de inclusão de proteína hidrolisada de frango para o melhor crescimento desses animais nestas fases de desenvolvimento.

## **1. CAPÍTULO 1: REFERENCIAL TEÓRICO**

### **1.1. Aquicultura: definição, produção e previsões**

De acordo com a Lei Federal Nº 11.959/2009, que dispõe sobre a Política Nacional de Desenvolvimento Sustentável da Aquicultura e da Pesca no Brasil, a aquicultura é a atividade de cultivo de organismos cujo ciclo de vida em condições naturais se dá total ou parcialmente em meio aquático, implicando a propriedade do estoque sob cultivo, equiparada à atividade agropecuária. Conforme esta lei, a atividade aquícola pode ser classificada como comercial, científica ou demonstrativa, de reposição ambiental, família, e ornamental, onde suas modalidades estão relacionadas à forma do cultivo, dimensão da área explorada, prática de manejo e finalidade do empreendimento. Ainda de acordo com esta mesma normativa, a aquicultura, também, é classificada quanto ao sistema de cultivo (extensivo, semi-intensivo, intensivo), ambiente de cultivo (continental ou marinha) e abrangendo as especialidades dos grupos cultivados (piscicultura, malacocultura, ostreicultura, mitilicultura, carcinicultura, algicultura, ranicultura, criação de jacarés e de quelônios).

Definições dessa natureza desempenham papel fundamental para embasar e auxiliar aspectos relativos ao licenciamento da atividade, de forma a buscar e assegurar seu desenvolvimento sustentável (Feiden et al, 2013).

De acordo com a FAO (2016), a produção mundial da aquicultura foi de 73,8 milhões de toneladas, sendo constituída por 49,8 milhões de toneladas de peixes, 16,1 milhões de toneladas de moluscos, 6,9 milhões de toneladas de crustáceos e 7,3 milhões de toneladas de outros organismos aquáticos.

Em 2015, a produção aquícola no Brasil foi de 574,2 mil toneladas, sendo composta por 69,9% de peixes, 20,6% de camarões, 2% de moluscos e 0,1% de outros

animais. Além disso, a tilápia foi a espécie mais utilizada na aquicultura no país com 219,3 mil toneladas, seguida do tambaqui que contribuiu com 135,9 mil toneladas (IBGE, 2015).

Estima-se que a aquicultura seja a atividade agropecuária de produção de carne que mais cresça nos próximos anos em países em desenvolvimento, com destaque para o Brasil, que em 2025 tenha projeção de aumento na produção em 104% devido, principalmente, investimentos no setor aquícola (FAO, 2016).

## **1.2. Tilapicultura**

Com origem no continente africano, as tilápias foram amplamente distribuídos em regiões tropicais e subtropicais do mundo inteiro com intuito de criação em cativeiro, principalmente para produção de carne (Castagnolli, 1996; Ostrensky et al., 2008).

Entre as mais de 20 espécies consideradas tilápias, destaca-se a tilápia do Nilo ou tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), originária da bacia do Rio Nilo, que foi introduzida na década de 70 no Brasil (Castagnolli, 1996).

Esta espécie, atualmente é a mais utilizada em empreendimentos aquícolas no país, pois apresenta inúmeras características que favorecem sua colocação no ranking das mais produzidas como temperatura ideal para crescimento entre 22 a 30°C, suportar taxa de oxigênio dissolvido de até 1,2mg/L, pH de 5 a 9, além de suportar elevadas taxas de estocagem, apresentar rusticidade ao manejo e plasticidade alimentar, e principalmente por apresentar boa aceitação da carne com facilidade de extração de filé, sua principal forma de comercialização (Ostrensky et al., 2008; IBGE, 2015; Brito et al. 2017).

Para o aumento da produtividade na tilapicultura diversas etapas da atividade demandam esforços técnico-científicos como no melhoramento genético dos animais, automação na atividade, facilidade e sucesso na obtenção de formas jovens, tecnologias

para estocagem dos animais, manejo, sanidade, nutrição, processamento e conservação (Brito et al., 2017).

Albuquerque et al. (2013) destacam que a tilapicultura vêm sendo uma das mais importantes atividades agrárias de produção de carne, além de ser responsável pela consolidação da cadeia produtiva aquícola no país, constituindo uma importante fonte de emprego e renda aos envolvidos.

Essa espécie foi a responsável por 45,4% da produção aquícola no país, contribuindo com 38,4% do total arrecadado com peixes de aquicultura, comprovando a importância socioeconômica da atividade no país (IBGE, 2015).

Apresenta excelente desempenho produtivo em sistemas de criação e como qualquer espécie animal demanda em sua dieta os dez aminoácidos essenciais (arginina, histidina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina) para potencializar seu crescimento e síntese tecidual. Sua exigência proteica para melhor crescimento depende da fonte e qualidade/disponibilidade da proteína, idade, período reprodutivo e tamanho dos animais, variando de 45% na fase inicial de vida a 28% na fase de engorda/terminação, podendo requerer mais proteína no período reprodutivo (Furuya, 2010; Andrade et al., 2015).

Com hábito alimentar onívoro, essa espécie apresenta ampla capacidade de utilização de nutrientes e energia de alimentos de origem vegetal e animal, possibilitando a formulação de dietas com menor impacto ambiental e viável, do ponto de vista econômico. Em conformidade, Zhou & Yue (2012) e Silva et al. (2017), ressaltam que a tilápia apresentou elevada habilidade de digestão de alimentos proteicos de origem animal, corroborando com a premissa que este animal dispõem de ampla plasticidade alimentar.

A expansão da tilapicultura no país contribui para o desenvolvimento de outras criações, pois como a tilápia é considerada um modelo animal de experimentação, os estudos realizados com ela podem ser aplicados para outras espécies, trazendo benefícios para todo o setor. A prospecção e avaliação de alimentos alternativos e inovadores, assim como a determinação de exigência nutricional dessa espécie, fornecem subsídios para estudos com espécies nativas, por exemplo. Sendo evidente a importância da tilapicultura na contribuição da criação de outras espécies (Furuya, 2010; Andrade et al. 2015; Brito et al. 2016).

### **1.3. Estudos de nutrição de peixes**

A FAO (2016) destaca que alimentos balanceados e o fornecimento adequado são demandas crescentes no desenvolvimento da aquicultura mundial, e que a melhoria desses atributos poderiam aumentar a produtividade e reduzir os custos de produção.

Por apresentar composição nutricional semelhante ao requerimento, principalmente, de aminoácidos essenciais para peixes, a farinha de peixe é a fonte de origem animal mais utilizada para na produção de rações para organismos aquáticos. No entanto, sua crescente demanda para nutrição animal evidencia a necessidade de substitutos ao seu uso que forneçam as características nutricionais desejadas para tal aplicação. Nesse sentido, estudos veem sendo realizados com intuito de avaliar alimentos alternativos que contribuam para a performance produtiva dos peixes assim como os alimentos convencionais, para então diminuir os custos de produção, visto que a alimentação é um dos maiores custos na aquicultura (Pezatto et al. 2002; Boscolo et al. 2005; Andrade et al, 2015).

Em geral, a exigência proteica para tilápias varia de 28 a 45% e é relativa a fase de desenvolvimento, tamanho, período reprodutivo, condição ambiental, e é responsável pelo maior custo em rações de 40 a 70% (Furuya, 2010).

Ao mesmo tempo, a proteína é o principal nutriente relacionado ao crescimento do peixe, sendo a sua disponibilidade (quantidade x qualidade) um dos principais fatores a serem avaliados quando se almeja o crescimento dos animais (NRC, 2011).

Esse nutriente é utilizado para funções vitais do organismo como crescimento, reprodução e manutenção da saúde, sendo essencial ao seu desenvolvimento. Além disso, os aminoácidos são constituintes da proteína, e precisam estar balanceados para seu melhor aproveitamento. Por este motivo, é necessário a utilização de fontes proteicas que atenda às necessidades nutricionais dos peixes.

Em geral, as fontes de proteína vegetal não apresentam um balanço aminocídico que atenda às exigências desses nutrientes em peixes, sendo necessário a suplementação de aminoácidos essenciais, o que aumenta o custo das rações.

Estudos de digestibilidade de alimentos fornecem informações sobre a disponibilidade dos nutrientes contidos e possibilitam a adequada formulação de dietas para melhor expressão produtiva da espécie, de forma a atender as exigências e balanço nutricional destes alimentos, sendo os estudos de digestibilidade de produtos necessários para subsidiar a produção aquícola com menor custo e qualidade nutricional (Pezzato et al, 2002; Signor et al. 2007; Zhou & Yue, 2012).

De acordo com Holt (2011), nas fases iniciais de desenvolvimento dos peixes ocorrem alterações morfológicas e fisiológicas que podem refletir no crescimento destes animais, sendo fundamental o fornecimento de alimentos de qualidade que contribuam no sucesso da produção.

#### **1.4. Aproveitamento de coprodutos agroindustriais**

Na busca pela sustentabilidade das atividades agropecuárias surgem preocupações inerentes à geração de resíduos durante a cadeia produtiva dessas culturas/criações, onde a utilização de coprodutos representa uma alternativa ambiental, econômica e social. O principal desafio para este setor consiste em desenvolver formas de diminuição dos impactos através do uso mais eficiente destes recursos (Zanten et al. 2014; Toldrá et al. 2016; Mullen et al. 2017).

Usualmente, o processamento agroindustrial proporciona uma alternativa de coadjuvantes dessa produção para as mais diversas aplicações industriais. Alguns desses coprodutos, antes chamados de resíduos, apresentam características biológicas de alto interesse para a indústria de nutrição animal, principalmente os resíduos de abate de animais. Esses coprodutos representam potenciais matérias-primas para a produção de ingredientes como farinhas, óleos e concentrados proteicos, e são destinados à alimentação animal (Dieterich et al. 2014; Zanten et al. 2014; Ferreira et al. 2017; Mullen et al. 2017; Silva et al. 2017).

Por apresentar elevada qualidade nutricional, boa parte desses insumos despertam o interesse de indústrias de nutrição humana, que por apresentar maior valor agregado, disputam e garantem grande parte dessas matérias-primas fazendo com que a nutrição animal esteja em uma busca constante por fontes alternativas que atendam às necessidades nutricionais de suas rações (Brotzge et al. 2014).

Dentre as atividades agropecuárias de produção animal, destaca-se a avicultura de corte como uma das maiores produções em proteína no mundo. Em 2016, a produção brasileira de frango de corte foi a segunda maior do mundo com mais de 12,9 milhões de toneladas, onde o estado do Paraná representou cerca de 5% da produção mundial (IBGE, 2015; ABPA, 2017).

De acordo com ABPA (2017), a indústria de frango de corte no país demonstra seu sucesso e consolidação através de indicadores socioeconômicos como ter sido responsável pela geração de mais de 5 milhões de empregos, além de arrecadar cerca de 1,5% do PIB no país e cerca de 34% da produção foi exportada para abastecer o mercado mundial. Isso se deve aos diversos fatores como investimentos em conhecimento e tecnologia na criação e abate, que faz com que possua uma cadeia produtiva consolidada (Pezzato et al. 2002; Boscolo et al. 2005; Zhou & Yue, 2012; IBGE, 2016; Ferreira et al. 2017).

E por consequência, o material resultante do abate e processamento, também considerado a parte que não é apta para consumo humano, acompanha sua ascensão produtiva. Os resíduos do abate e processamento de aves são constituídos por vísceras, músculo, gordura, sangue, ossos e penas, e apresentam alto potencial poluente, sendo necessário o emprego de processos físicos, químicos e biológicos para reduzir este potencial e garantir sua qualidade sanitária (Ferreira et al. 2017).

Em sua maioria, esses coprodutos são transformados, através de tratamento térmico e prensa, em farinha e óleo para emprego na alimentação animal. No entanto, Mullen et al. (2017) ressaltam que embora esses ingredientes representem importantes fontes nutricionais para o segmento, o valor agregado a essas formas de comercialização é baixo, considerando sua potencialidade em aplicações industriais.

Ferreira et al. (2017) destacam a composição química dos coprodutos da avicultura como a principal vantagem para seu uso na alimentação animal, considerando o fornecimento de nutrientes como proteína, lipídios, vitaminas e minerais nas formulações das dietas. Da mesma forma, Boscolo et al. (2005) ressaltam que resíduos do processamento de aves, sob a forma de farinha, apresentam potencialidade para

emprego em dietas para tilápias desde que não apresentem penas em sua composição, visto que este produto pode comprometer a aceitação da dieta.

Toldrá et al. (2016), ao listar processos promissores para o aproveitamento de coprodutos animais aponta a produção de hidrolisados proteicos como um dos métodos com maior valorização, visto que além da melhoria nutricional em função da fragmentação proteica, este processo contribui para a liberação de componentes com ação funcional, desempenhando melhorias fisiológicas no organismo.

O principal destaque da hidrólise proteica é o aprimoramento nutricional desta reação, onde ocorre uma pré-digestão deste nutriente, tendo como resultado um produto com maior digestibilidade, uma vez que sua absorção é facilitada por conter fragmentos de menor tamanho (Silva et al. 2017).

No entanto, para a garantia da qualidade nutricional e dos grupos funcionais do produto, o processo de hidrólise deve ser realizado em condições brandas e controladas, a fim de proporcionar um perfil peptídico definido, liberação de compostos bioativos e possibilidade de reprodução deste padrão (Adler-Nissen, 1986; Zavareza et al., 2009).

Assim, a modificação da estrutura proteica pode ser catalisada sob ação ácida, alcalina ou enzimática, sendo esta última considerada a mais vantajosa pois permite maior controle de reação por ser realizada em condições moderadas, fazendo com que seja mais fácil de reproduzir e garantir a padronização do produto final (Pasupuleti & Braun, 2010).

### **1.5. Hidrólise enzimática da proteína**

A hidrólise enzimática da proteína é baseada no uso de enzimas que clivam ligações proteicas para alterar as propriedades químicas e funcionais da matéria-prima sem prejudicar seu valor nutricional (Adler-Nissen, 1986; Pasupuleti & Braun, 2010).

Este método demonstra-se mais vantajoso, pois é realizado em condições mais controladas e não resulta em produtos demasiadamente degradados como os gerados em hidrólises ácida e alcalina (Adler-Nissen, 1986). Além disso, o uso de enzimas para promover a clivagem proteica permite maior precisão dos grupos funcionais liberados na reação, perfazendo outra vantagem ao emprego dessa tecnologia (Sharma et al, 2011).

Outros benefícios de interesse industrial também são apontados para esse método, como a melhoria das propriedades funcionais tecnológicas apresentando capacidade de absorção de água e óleo, poder emulsificante, solubilidade, capacidade de formação de espuma, que são características de interesse da indústria alimentícia (Roman & Sgarbieri, 2005).

A possibilidade de utilizar enzimas endógenas e exógenas nestas reações também são consideradas vantagens deste processo, uma vez que pode-se escolhe-las em relação ao produto que se objetiva através de sua especificidade de atuação na clivagem proteica em diferentes porções desta estrutura (Vermelho et al. 2008).

Segundo Santos et al. (2009), o uso de enzimas proteolíticas no processo de hidrólise permitem o maior controle da clivagem, onde o uso de adequadas proporções entre enzima/substrato, temperatura, pH, especificidade das enzimas e tempo de reação produzem diferentes estruturas moleculares com diferentes propriedades funcionais.

A intensidade de solubilização da proteína pode ser aferida pela relação entre a quantidade de proteína solúvel antes e ao final do processo, tendo como resposta analítica o grau de hidrólise. Este parâmetro demonstra a proporção de proteína que sofreu hidrólise durante determinado tempo de reação, sendo uma importante ferramenta de resposta deste processo biotecnológico (Nielsen et al. 2001).

Embora o grau de hidrólise não determine os produtos gerados, é um instrumento de que possibilita informações sobre a reação e permite uma noção da clivagem proteica.

Do mesmo modo, Kristinsson & Rasco (2000) ressaltam que os principais fatores que influenciam o hidrolisado elaborado são o substrato utilizado, a especificidade da enzima e o grau de hidrólise, pois estas variáveis estão diretamente relacionadas com o peso molecular do produto gerado.

## REFERÊNCIAS

ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal. São Paulo, p.68. 2017.

ADLER-NISSEN, J. Enzimic hydrolysis of food proteins. Barking: Elsevier Applied Science, 1986. p. 427.

AHMED, A. M.; MUGURAMA, M. (2010). A review of meat protein hydrolysates and hypertension. Meat Science, v. 86, p.110–118.

ALBUQUERQUE, D.M.; MARENGONI, N.G.; BOSCOLO, W.R.; RIBEIRO, R.P.; MAHL, I.; MOURA, M.C. (2013) Probióticos em dietas para tilápia do Nilo durante a reversão sexual. Ciência Rural, Santa Maria, v.43, p.1503-1508.

BERNARDI, D. M., PARIS, L. D., DIETERICH, F., SILVA, F. G. D., BOSCOLO, W. R., SARY, C., SIGNOR, A., BERTOL, T. M., SGARBIERI, V. C. (2016) Production of hydrolysate from processed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) residues and assessment of its antioxidant activity. Food Science and Technology, v.34, p.709-716.

BOSCOLO, W.R.; MEURER, F.; FEIDEN, A.; HAYASHI, C. REIDEL, A.; GENTELINE, A. L. (2005) Farinha de vísceras de aves em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de reversão sexual. Revista Brasileira de Zootecnia, v.34, p.373-377.

BRITO, J. M., PONTES, T. C., TSUJII, K. M., ARAÚJO, F. E., RICHTER, B. L. (2017) Automação na tilapicultura: revisão de literatura Desempenho, piscicultura, tecnologia, tilápias. Nutritime, v. 14, p. 5053-5062.

BROTZGE, S. D., CHIBA, L. I., ADHIKARI, C. K., STEIN, H. H., RODNING S. P., WELLES, E. G. (2014) Complete replacement of soybean meal in pig diets with hydrolyzed feather meal with blood by amino acid supplementation based on standardized ileal amino acid digestibility. *Livestock Science*, v. 163, p. 85 – 93.

CASTAGNOLLI, N. *Piscicultura de água doce*. Jaboticabal, 1992. 189p.

CHALAMAIAH, M.; DINESH KUMAR, B.; HEMALATHA, R., ; JYOTHIRMAYI, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, v.135, p.3020–3038.

DIETERICH, F., BOSCOLO, W. R., PACHECO, M. T. B., SILVA, V. S. N., GONÇALVES, G. S., VIDOTTI, R. M. (2014). Development and characterization of protein hydrolysates originated from animal agro industrial byproducts. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, v. 1, p.1-7.

ESCUADERO, E.; TOLDRÁ, F.; SENTANDREU, M. A.; NISHIMURA, H.; ARIHARA, K. (2012). Antihypertensive activity of peptides derived from the in vitro gastrointestinal digestion of pork meat. *Meat Science*, v.91, p.306–311.

FALANGA, A., LOMBARDI, L., FRANCI, G., VITIELLO, M., IOVENE, M. R., MORELLI, G. (2016) Marine antimicrobial peptides: nature provides templates for the design of novel compounds against pathogenic bacteria. *International Journal of Molecular Sciences*, v.17, p. 785–803.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rome, 2016. 204p.

FEIDEN, A, BOSCOLO, W. R., SIGNOR, A. *Contextualização Legislativa Aquícola e Pesqueira*. Toledo, 2013. 273p.

FERREIRA, A., KUNH, S. S., CREMONEZ, P. A., DIETER, J., TELEKEN, J. G., SAMPAIO, S. C., KUNH, P. D. (2017) Brazilian poultry activity waste: Destinations and energetic potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, p. 1-9.

FURUYA, W. M. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. Toledo: GFM, 2010.

GARCIA-MORENO, P. J.; BATISTA, I; PIRES, C.; BANDARRA, N. M.; ESPEJO-CARPIO, F. J.; GUADIX, A.; GUADIZ, E. M. (2014) Antioxidant activity of protein hydrolysates obtained from discarded Mediterranean fish species. *Food Reserach International*, v. 65, p.469–476.

HERPANDI, N. H.; ROSMA, A.; NADIAH, W. A. W. (2011). The tuna fishing industry: A new outlook on fish protein hydrolysates. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 10, p.195–207.

HOLT, J. Larval fish nutrition. Chichester, p. 435. 2011

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Pecuária Municipal. Rio de Janeiro, 49p. 2015.

JANAS, R. M., ET AL. (2016). Serum concentrations of insulin, ghrelin, adiponectin, leptin, leptin receptor and lipocalin-2 in children with celiac disease who do and do not adhere to a gluten-free diet. *Gut and Liver*, v. 10, p. 587– 594.

KIM, S. K., NGO, D. H., VO, T. S. (2012) Marine fish-derived bioactive peptides as potential antihypertensive agents. *Advances in Food and Nutrition Research*, v.65, p.249–260.

KRISTINSSON, H. G.; RASCO, B. A. (2000) Fish protein hydrolysates: production, biochemical and functional properties. *Food Science and Nutrition*, v.32, p.1-39.

LAFARGA, T., HAYES, M. (2014) Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat Science*, v.98, p. 227-239.

LIU, R.; XING, L.; FU, Q.; ZHOU, G.H.; ZHANG, W.G. (2016). A review of antioxidant peptides derived from meat muscle and by-products. *Antioxidants*. p. 5-32.

MENDIS, E.; RAJAPAKSE, N.; KIM, S. (2004). Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatine hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.53, p.581–587.

MORA, L., REIG, M., TOLDRÁ, F. (2016) Bioactive peptides generated from meat industry by-products. *Food Research International*, v.65, p.344-349.

MULLEN, A. M., ÁLVAREZ, C., ZEUGOLIS, D. I., HENCHION, M., O'NEILL, E., DRUMMOND, L. (2017) Alternative uses for co-products: Harnessing the potential of valuable compounds from meat processing chains. *Meat Science*, v.132, p.90-98.

MUZAIFA, M.; SAFRIANI, N.; ZAKARIA, F. (2012) Production of protein hydrolysates from fish by-product prepared by enzymatic hydrolysis. *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation International Journal of the Bioflux Society*, v.5, p. 36-39.

NAJAFIAN, L.; BABJI, A. S. (2012). A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides: Their production, assessment, and applications. *Peptides*, v. 33, p.178–185.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). *Nutrient requirements of fish and shrimp*. The national academies press, Washington, 2011, 379p.

NCHIENZIA, H.A.; MORAWICKI, R.O.; GADANG, V.P. (2010) Enzymatic hydrolysis of poultry meal with endo- and exopeptidases. *Poultry Science*. v. 89, p. 2273-2280.

NELSON, D.L.; COX, M.M. *Lehninger Princípios de Bioquímica*, 3 ed. São Paulo: Editora Sarvier, 2002, 975p.

NGO, D. H., VO, T. S., NGO, D. N., WIJESEKARA, I., KIM, S. K. (2012) Biological activities and potential health benefits of bioactive peptides derived from marine organisms. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.51, p.378–383.

NIELSEN, P.M.; PETERSEN, D.; DAMBMANN, C. (2001) Improved Method for Determining Food Protein Degree of Hydrolysis. *Journal Food Science*, v. 66, p. 642-646.

OSTRENSKY, A.; BORGUETTI, J.R., SOTO, D. *Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer*. Brasília: Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca/FAO, 2008. 276p

PASUPULETI V. K; BRAUN S. State of the art manufacturing of protein hydrolysates. In: PASUPULETI VK, DEMAIN AL. *Protein hydrolysates in biotechnology*. New York: Springer Dordrec. 2010, p.11-32.

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

ROMAN, J.A.; SGARBIERI, V. (2005) Obtenção e caracterização química e nutricional de diferentes concentrados de caseína. *Revista de Nutrição*, v.18, p. 75-83.

SHARMA, S.; SINGH, R.; RANA, S. (2011) Bioactive peptides: a review. *International Journal Bioautomation*, v.15, p. 223-250.

SIGNOR, A. A.; BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A.; REIDEL, A.; SIGNOR, A.; GROSSO, I. R. (2007) Farinha de vísceras de aves na alimentação de alevinos de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*). *Ciência Rural*, v.37, 828-834.

SILVA, T. C., ROCHA, J. D. M., MOREIRA, P., SIGNOR, A., BOSCOLO, W. R. (2017) Fish protein hydrolysate in diets for Nile tilapia post-larvae. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.52, p.485-492.

TOLDRÁ, F., MORA, L., REIG, M. (2016) New insights into meat by-product utilization. *Meat Science*, v.120, p.54-59.

VERMELHO, A.; TERMIGNONI, C.; MACEDO, A.; BRANDELI, A.; BON, E. *Enzimas Queratinolíticas: Aplicações Biotecnológicas*. In: BON, E. P.; FERRARA, M.

A. e CORVO, M. L. (Ed.). *Enzimas em Biotecnologia*. Rio de Janeiro: Interciência, v.1, 2008. p.506.

VILLAMIL, O., VÁQUIRO, H., SOLANILLA, J. F. (2017) Fish viscera protein hydrolysates: Production, potential applications and functional and bioactive properties. *Food Chemistry*, 224, P.160-171.

ZANTEN, H. H. E. V., MOLLENHORST, H., VRIES, J. W., MIDDELAAR, C. E. V., KERNEBEEK, H. R. J. V., BOER, I. J.M. (2014) Assessing environmental consequences of using co-products in animal feed. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, v.19, p.79 -88.

ZHOU, Q. C. & YUE, Y.R. (2012) Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus*. *Aquaculture Research*, v.43, p.806–814.

## **CAPÍTULO 2: PROTEÍNA HIDROLISADA DE FRANGO PARA A TILÁPIA DO NILO: DIGESTIBILIDADE, DESEMPENHO PRODUTIVO E ALTERAÇÕES HISTOMORFOMÉTRICAS**

### **Resumo**

Este estudo teve por objetivo avaliar a proteína hidrolisada de frango (PHF) para a tilápia do Nilo em ensaios de digestibilidade e desempenho produtivo. Para determinação da digestibilidade, foram utilizados 240 juvenis de tilápia do Nilo em DIC, com dois tratamentos e quatro repetições. Duas dietas foram elaboradas acrescidas de 0,1% de óxido de cromo, sendo uma referência e uma teste, e esta constituída de 80% da dieta referência e 20% da PHF. O manejo alimentar foi realizado cinco vezes ao dia e a coleta de fezes realizada durante as 12 horas seguintes a última alimentação. Amostras da PHF, dietas e fezes foram analisadas quanto a composição química e quantificação de cromo. No ensaio de desempenho produtivo, 1080 pós-larvas de tilápia do Nilo foram distribuídas em DIC (cinco tratamentos e três repetições), em 15 tanques com capacidade de 70 litros. Foram produzidas cinco dietas contendo PHF (0; 2,5; 5; 7,5 e 10%) ofertadas seis vezes ao dia por 30 dias. Ao término do período experimental os animais foram medidos e pesados para cálculo dos parâmetros produtivos. Três peixes de cada tanque foram sacrificados para coleta de material biológico (fígado, músculo e intestino) para análise histológica. Os dados foram submetidos a ANOVA e, quando necessário, teste de Tukey. Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) foram de 93,1 e 93,86% para proteína e energia, respectivamente. Os CDAs dos aminoácidos foram acima de 94,02%. A PHF influenciou ( $p < 0,05$ ) positivamente a performance produtiva das pós-larvas com melhores resultados de peso final, comprimento final, ganho em peso e taxa de crescimento específica para o tratamento com 2,5% do alimento avaliado, assim como a morfometria intestinal. Contudo, a PHF foi eficientemente assimilada pela tilápia do Nilo evidenciado pelos elevados CDAs e por melhorar o desempenho produtivo e morfometria intestinal de pós-larvas desta mesma espécie, sendo recomendada a inclusão a partir de 2,5% para melhor crescimento.

**Palavras-chave:** aquicultura; nutrição de peixes; coprodutos; hidrólise enzimática.

### **Abstract**

The objective of this study was to evaluate the hydrolyzed chicken protein (PHF) for Nile tilapia in digestibility and productive performance assays. For the determination of digestibility, 240 juveniles of Nile tilapia in DIC were used, with two treatments and four replicates. Two diets were elaborated with 0.1% chromium oxide, being a reference and a test, and it consisted of 80% of the reference diet and 20% of PHF. Food management was performed five times a day and stool collection was performed during the 12 hours following the last feeding. Samples of PHF, diets and feces were analyzed for chemical composition and quantification of chromium. In the productive performance test, 1080 post-larvae of Nile tilapia were distributed in DIC (five treatments and three replicates) in 15 tanks with a capacity of 70 liters. Five diets containing PHF (0; 2,5; 5; 7,5 and 10%) were produced six times a day for 30 days. At the end of the experimental period the animals were measured and weighed to calculate the productive parameters. Three fish from each tank were sacrificed for the collection of biological material (liver, muscle and intestine) for histological analysis. Data were submitted to ANOVA and, when necessary, Tukey's test. The apparent digestibility coefficients (CDA) were 93.1 and 93.86% for protein and energy, respectively. The amino acid CDAs were above 94.02%. PHF positively influenced the productive performance of post-larvae with better results of final weight, final length, weight gain and specific growth rate for the treatment with 2.5% of the evaluated food, as well as intestinal morphometry. However, PHF was efficiently assimilated by Nile tilapia evidenced by high CDAs and by improving the productive performance and intestinal morphometry of post-larvae of this same species, being recommended inclusion of 2.5% for better growth.

**Keywords:** aquaculture; fish nutrition; co-products; enzymatic hydrolysis.

## 1 Introdução

Para maior eficiência de uma dieta, é necessário a combinação de ingredientes que possuam nutrientes de qualidade para seu melhor aproveitamento, além de serem viáveis para utilização na nutrição animal (Pezzato et al., 2002; Furuya, 2010; NRC, 2011). Assim, Brotzge et al. (2014) destacam a importância de prospectar novas fontes proteicas para produção animal, tendo em vista o aumento do custo deste nutriente em função da crescente demanda de proteínas para consumo humano sob a forma de suplementos alimentares.

Uma forma de atender as demandas futuras de proteína na alimentação de organismos aquáticos é através da utilização de subprodutos da agroindústria. Nesse sentido, estudos vem sendo direcionados para identificar possíveis coprodutos agroindustriais como fontes proteicas alternativas a serem utilizadas na alimentação animal, que contribuam para o crescimento dos animais, assim como, alimentos convencionais (Boscolo et al. 2002; Pascoal et al. 2006; Dieterich et al. 2014; Pan et al. 2016; Queiroz, 2017; Silva et al. 2017).

Uma das formas de utilização de coprodutos agroindustriais com alta agregação de valor é através do emprego da biotecnologia de hidrólise enzimática que além de melhorar a qualidade nutricional da matéria-prima pode disponibilizar compostos bioativos com ação antioxidante, antimicrobiana e anti-hipertensiva (Ovissipour et al. 2014; Villamil et al. 2017).

Dentre as atividades agrárias de produção animal, destaca-se a avicultura de corte com uma das maiores produções no país, e por consequência, a produção de resíduos do processamento acompanha sua ascensão produtiva (IBGE, 2015; ABPA, 2017). Esses resíduos apresentam alta qualidade biológica e são utilizados, principalmente para a produção de farinhas para nutrição animal (Pezzato et al. 2002; Boscolo et al. 2005; Zhou & Yue, 2012; Ferreira et al. 2017).

De acordo com Pan et al. (2016) inúmeras vantagens podem ser destacadas quando se aplica a biotecnologia enzimática em resíduos agroindustriais como a sustentabilidade do processo pelo baixo impacto ambiental, tendo em vista o aproveitamento integral e pouco agressivo dos métodos de produção, o aprimoramento nutricional no que diz respeito à clivagem prévia das ligações peptídicas, isentando assim o gasto energético para essa função, além da otimização da qualidade biológica destes nutrientes que desempenham funções saudáveis ao organismo, perfazendo, por consequência, uma ação custo-benefício para quem o consome, pois trata-se de um alimento com excelentes características nutricionais.

No cenário nacional e mundial, a tilápia vem sendo uma das espécies com maior destaque para produção de carne, devido as suas características zootécnicas (reprodução, genética, manejo, sanidade, etc) e, principalmente, pela boa aceitação no mercado consumidor, o que demonstra a importância econômica e social da tilapicultura (FAO, 2016; IBGE, 2015).

Sendo a alimentação um dos principais custos operacionais da atividade aquícola, torna-se fundamental a avaliação de alimentos, por meio de estudos de digestibilidade, para fornecer informações sobre a disponibilidade dos nutrientes contidos e possibilitar a adequada formulação de dietas para melhor expressão produtiva da espécie, de forma a atender as exigências e balanço nutricional destes alimentos (Pezzato et al, 2002; NRC, 2011; Zhou & Yue, 2012).

Outras respostas fisiológicas fornecer informações sobre absorção dos nutrientes e sua influência nos tecidos avaliados por meio de morfometria dessas estruturas. Além disso, Holt (2011) ressalta que durante a fase de larvicultura de peixes ocorrem alterações morfológicas e fisiológicas que podem refletir no crescimento destes animais, sendo fundamental o fornecimento de alimentos de qualidade que contribuam no sucesso da

produção. Dessa forma, o presente estudo tem por objetivo determinar os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e energia da proteína hidrolisada de frango e avaliar sua inclusão em dietas sobre os parâmetros de desempenho produtivo de pós-larvas de tilápia do Nilo.

## **2 Material e métodos**

Os estudos foram desenvolvidos no Laboratório de Aquicultura do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura – GEMAQ da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste - *Campus* de Toledo. As análises de composição bromatológica e óxido de cromo foram realizadas no Laboratório de Qualidade de Alimentos – LQA do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura – GEMAQ/UNIOESTE.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UNIOESTE sob o protocolo nº 52/17.

A proteína hidrolisada de frango utilizada neste estudo foi cedida pela empresa BRF Ingredients Ltda.

### *Ensaio de digestibilidade*

Neste estudo foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos e oito repetições, onde foram utilizados 240 peixes com peso médio de 55,04 ± 13,75 g distribuídos aleatoriamente em oito tanques cônico cilíndrico com volume útil de 500L, em sistema de recirculação com biofiltro central, aeração artificial por soprador de ar e controle de temperatura por termostato.

Foi utilizada uma ração referência e uma ração teste que foi composta por 80% da ração referência e 20% da proteína hidrolisada de frango (Tabela 1). Os ingredientes

foram triturados em moinho do tipo martelo com peneira de 0,3 mm, homogeneizados e extrusados em um equipamento EXMICRO®.

Os peixes foram alimentados cinco vezes ao dia durante o período de adaptação às condições experimentais e coleta de fezes (8h00, 11h00, 14h00, 17h00 e 18h30), conforme indicado por Fracalossi et al (2012).

**Tabela 1.** Composição percentual da ração referência utilizada para determinação da digestibilidade aparente da proteína hidrolisada de frango para a tilápia do Nilo (matéria natural).

<b>Ingredientes</b>	<b>%</b>
Farelo de soja	21,22
Farinha de peixes	17,83
Farelo de trigo	24,96
Arroz quirera	5,00
Milho	29,87
Premix (min + vit) <sup>1</sup>	0,50
Cloreto de colina	0,10
Vitamina C	0,10
Antifungico	0,10
Antioxidante	0,02
Sal comum	0,30
<b>Total</b>	<b>100,00</b>

<sup>1</sup>Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 10.000.000 UI; Vit. D3, 4.000.000 UI; Vit. E, 150.000 mg; Vit. K3, 100.000 mg; Vit. B1, 25.000 mg; Vit. B2, 25.000 mg; Vit. B6, 25.000 mg; Vit. B12, 30.000 mcg; Niacina, 100.000 mg; Pantotenato Ca, 50.000 mg; Ác. Fólico, 6.000 mg; Biotina, 1.000 mg; Inositol, 200.000 mg; Ferro, 1.000 mg; Iodo, 800 mg; Manganês, 30.000 mg; Zinco, 140.000 mg; Selênio, 800 mg; Cobre, 18.000 mg; Cobalto, 200 mg; Etoxiquin, 124.000 mg; Sorbato de potássio, 450.000mg.

Para a determinação dos Coeficientes de Digestibilidade Aparente (CDa) dos nutrientes e energia foram coletadas amostras de fezes diariamente dos peixes alimentados com as dietas experimentais marcadas com 0,1% de óxido de cromo (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

Durante a fase de coleta de fezes, uma hora após a última alimentação diária foi realizada a limpeza dos tanques e montados os copos coletores e após 12 horas foram recolhidas as amostras de fezes e imediatamente congeladas a -15°C. Este experimento foi conduzido por uma semana para adaptação e 14 dias para coleta de fezes.

As fezes coletadas foram secas em estufa a 55°C por 72 horas, a matéria seca foi calculada pela diferença entre o peso inicial e final da amostra submetida à estufa a 105°C por oito horas. Foram calculados valores de proteína, e energia das rações e fezes de acordo com AOAC (1995).

A abertura para quantificação de óxido de cromo nas amostras foi realizada por meio de solução ácida de acordo com a metodologia descrita por Bremer Neto et al. (2005), para posterior leitura dos valores em espectrofotômetro de absorção atômica.

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes, energia bruta e aminoácidos foram calculados segundo NRC (2011):

$$CDA(n) = 100 - \left[ 100 \left( \frac{\%Cr_2O_3d}{\%Cr_2O_3f} \times \frac{\%Nf}{\%Nd} \right) \right]$$

Onde:

CDA(n): coeficiente de digestibilidade do nutriente;

%Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>d: % de oxido de cromo na dieta;

%Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>f: % de oxido de cromo das fezes;

%Nf: % de nutriente nas fezes;

%Nd: % nutriente na dieta.

$$CDA(i) = CDA(dt) + (CDA_{dt} - CDA_{dr}) * \left[ \frac{0,8 * D_{dr}}{0,2 * D_{ing}} \right]$$

Onde:

CDA(i)= coeficiente de digestibilidade aparente do ingrediente;

0,8=porcentagem da dieta referência;

CDA<sub>dt</sub>=coeficiente de digestibilidade aparente da dieta teste;

0,2=porcentagem do ingrediente;

CDA<sub>dr</sub>=coeficiente de digestibilidade aparente da dieta referência.

As análises de perfil de aminoácidos da PHF, rações e fezes foram encaminhadas ao Laboratório CBO Análises Laboratoriais em Campinas.

A temperatura, oxigênio dissolvido e pH durante o período experimental foram de  $26,14 \pm 0,59^{\circ}\text{C}$ ,  $5,99 \pm 0,62 \text{ mg/L}$  e  $6,79 \pm 0,20$ , respectivamente.

#### *Ensaio de desempenho produtivo*

Para o experimento de desempenho produtivo de pós-larvas de tilápia, foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e três repetições, sendo avaliadas dietas contendo níveis crescentes de inclusão da PHF (0, 2,5; 5; 7,5 e 10%) (Tabela 2).

Foram utilizados 72 pós-larvas com três dias de eclosão e peso aproximado de 18 mg, distribuídas aleatoriamente em cada um dos 15 tanques com capacidade de 70L, considerados uma repetição. O experimento foi conduzido por 30 dias.

Após período experimental, os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas para esvaziamento do trato gastrointestinal e, posteriormente, os animais foram insensibilizados em benzocaína na dose de  $100 \text{ mg/L}^{-1}$  (Okamura et al. 2010) para realização das medidas individuais de peso (g), comprimento total (cm) e contados para avaliação da taxa de sobrevivência.

Para avaliar alterações fisiológicas nos peixes, três animais de cada tanque foram eutanasiados com  $200 \text{ mg/L}^{-1}$  de benzocaína para a retirada de amostras padronizadas de músculo, fígado e intestino. Esse material foi fixado, conservado e processado seguindo a metodologia de histomorfometria adaptada de Almeida et al. (2010). Para avaliação do crescimento das fibras musculares, foram tomadas as medidas de maior diâmetro de 200 dessas estruturas por animal e agrupadas em i) menor que  $20 \mu\text{m}$  ( $<20 \mu\text{m}$ ), ii) de 20 a  $50 \mu\text{m}$  ( $20 \text{ a } 50 \mu\text{m}$ ) e iii) maior que  $50 \mu\text{m}$  ( $>50 \mu\text{m}$ ).

**Tabela 2:** Formulação e composição nutricional das dietas experimentais.

Ingredientes	Níveis de Proteína hidrolisada de frango				
	0	2,5	5	7,5	10
Farelo de soja 45%	55,98	54,95	53,93	52,90	51,87
Milho farinha glúten 60%	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Peixe farinha tilápia 55%	10,00	7,50	5,00	2,50	0,00
Proteína hidrolisada de frango	0,00	2,50	5,00	7,50	10,00
Milho grão	6,21	6,59	6,97	7,35	7,73
Óleo de soja	6,01	6,09	6,16	6,23	6,31
Fosfato bicálcico	4,40	4,73	5,07	5,40	5,74
Levedura destilada de álcool	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Premix (min + vit) <sup>1</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Vitamina C	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
L-lisina	0,11	0,11	0,11	0,11	0,10
L-treonina	0,11	0,11	0,11	0,12	0,12
Cloreto de colina	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Antifúngico	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Calcário	0,00	0,24	0,48	0,72	0,95
<b>Nutrientes (%)</b>					
Amido	13,19	13,30	13,41	13,53	13,64
Arginina Total	2,67	2,63	2,59	2,56	2,52
Cálcio	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Energia digestível (Kcal/kg)	3500	3500	3500	3500	3500
Fenilalanina total	2,14	2,13	2,12	2,12	2,11
Fósforo total	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Gordura	8,48	8,47	8,46	8,46	8,45
Isoleucina total	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Leucina total	4,03	4,04	4,04	4,05	4,06
Lisina total	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20
Proteína bruta	41,20	41,12	41,04	40,96	40,88
Proteína digestível	38,60	38,60	38,60	38,60	38,60
Treonina total	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
Triptofano total	0,45	0,45	0,44	0,44	0,44
Valina total	1,92	1,92	1,91	1,91	1,91

<sup>1</sup>Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 10.000.000 UI; Vit. D3, 4.000.000 UI; Vit. E, 150.000 mg; Vit. K3, 100.000 mg; Vit. B1, 25.000 mg; Vit. B2, 25.000 mg; Vit. B6, 25.000 mg; Vit. B12, 30.000 mcg; Niacina, 100.000 mg; Pantotenato Ca, 50.000 mg; Ác. Fólico, 6.000 mg; Biotina, 1.000 mg; Inositol, 200.000 mg; Ferro, 1.000 mg; Iodo, 800 mg; Manganês, 30.000 mg; Zinco, 140.000 mg; Selênio, 800 mg; Cobre, 18.000 mg; Cobalto, 200 mg; Etoxiquin, 124.000 mg; Sorbato de potássio, 450.000mg.

A alteração do tecido hepático foi avaliada pela número total de hepatócitos em uma área de 20000  $\mu\text{m}$ . Para determinar as alterações no intestino, foram mensurados a altura da vilosidade, espessura do epitélio e espessura da túnica.

As condições experimentais da água durante o experimento foram de  $24,28 \pm 1,22^\circ\text{C}$  de temperatura,  $6,09 \pm 0,77$  mg/L de oxigênio dissolvido e  $6,71 \pm 0,39$  de pH.

Os parâmetros de desempenho produtivo avaliados foram: o peso final (g); ganho em peso = [peso final (g) – peso inicial (g)]; taxa de crescimento específico =  $[(\text{Ln do peso final (g)} - \text{Ln do peso inicial (g)}) / \text{tempo do experimento (dias)}] * 100$ ; uniformidade do lote =  $[(\text{número de peixes com peso corporal dentro da média} \pm \text{desvio padrão} / \text{número total de peixes}) * 100]$  e; taxa de sobrevivência =  $[(\text{n}^\circ \text{ de peixes} / 15) * 100]$  dos animais.

Os dados obtidos foram submetidos a análises de variância (ANOVA) e quando observadas diferenças estatísticas foi aplicado o teste Tukey ao nível de 5% de significância. As análises foram efetuadas por meio do programa computacional Statistic 7.1 (2005).

### **3 Resultados**

A proteína hidrolisada de frango apresentou composição química de 94,31% de matéria seca, 72% de proteína bruta e 5071,5 kcal de energia bruta.

Os coeficientes de digestibilidade aparente foram elevados para proteína (93,61 %), energia (93,86 %) e aminoácidos (variaram de 94,02 a 97,55 %) (Tabela 3).

A proteína hidrolisada de frango apresentou efeito positivo sobre os aspectos produtivos das pós-larvas de tilápia do Nilo ( $p < 0,05$ ) em comparação ao tratamento controle, ausente da inclusão do produto.

**Tabela 3.** Coeficientes e valores de disponibilidade e digestibilidade aparente da energia e nutrientes da proteína hidrolisada de frango para a tilápia do Nilo.

<b>Nutrientes</b>	<b>Coeficientes de digestibilidade (%)</b>	<b>Nutrientes digestíveis (%)</b>
Matéria seca	93,20	-
Proteína	93,61	67,40
Energia (kcal/kg)	93,86	4760,11
<b>Aminoácidos</b>	<b>Coeficientes de disponibilidade (%)</b>	<b>Nutrientes disponíveis (%)</b>
Alanina	94,02	3,79
Arginina	97,30	4,17
Asparagina	97,28	6,92
Glutamina	97,35	9,44
Cistina	96,35	1,62
Fenilalanina	95,97	2,67
Glicina	97,22	4,60
Histidina	96,12	1,59
Isoleucina	96,18	2,59
Leucina	96,32	4,64
Lisina	97,55	4,72
Metionina	96,84	1,58
Prolina	97,43	3,53
Serina	94,28	2,69
Treonina	94,13	2,96
Tirosina	95,39	1,94
Triptofano	99,77	0,30
Valina	96,05	2,94
Taurina	96,32	0,58

As melhores respostas foram de peso final, comprimento final, ganho em peso, taxa de crescimento específico e fator de condição para a inclusão de 2,5% PHF. A sobrevivência e uniformidade do lote não foram influenciadas ( $p>0,05$ ) pela inclusão de PHF (Tabela 4).

Foram observadas alterações na morfometria de intestino ( $p<0,05$ ) das pós-larvas de tilápia do Nilo alimentadas com PHF, embora não tenha sido observado influência no crescimento das fibras musculares e total de hepatócitos (Tabela 5).

**Tabela 4.** Valores médios de desempenho produtivo de pós-larvas de tilápia do Nilo alimentadas com rações contendo níveis de inclusão de proteína hidrolisada de frango

Variáveis	Níveis de inclusão de PHF (%)					p
	0	2,5	5	7,5	10	
PF <sup>1</sup>	0,91± 0,46 <sup>b</sup>	1,12± 0,46 <sup>a</sup>	0,95± 0,44 <sup>b</sup>	1,03± 0,40 <sup>ab</sup>	1,02± 0,43 <sup>ab</sup>	0,000<
CT <sup>2</sup>	3,51± 0,63 <sup>c</sup>	3,81± 0,57 <sup>a</sup>	3,63± 0,58 <sup>bc</sup>	3,75± 0,45 <sup>ab</sup>	3,70± 0,55 <sup>ab</sup>	0,000<
GP <sup>3</sup>	0,89± 0,46 <sup>b</sup>	1,10± 0,45 <sup>a</sup>	0,93± 0,44 <sup>b</sup>	1,01± 0,40 <sup>ab</sup>	1,00± 0,43 <sup>ab</sup>	0,000<
TCE <sup>4</sup>	12,74± 1,40 <sup>b</sup>	13,37± 1,68 <sup>a</sup>	12,83± 1,57 <sup>b</sup>	13,18± 1,41 <sup>ab</sup>	13,06± 1,62 <sup>ab</sup>	0,000<
UL <sup>5</sup>	62,86± 3,32	67,91± 2,75	71,12± 6,69	73,48± 4,86	68,80± 1,35	0,0944
SO <sup>6</sup>	82,87± 9,25	93,05± 4,16	87,03± 6,26	92,59± 5,26	89,81± 1,60	0,0563

Valores expressos em: média ± desvio padrão. Letras distintas na mesma linha diferem (p<0,05) pelo teste de Tukey. <sup>1</sup>PF: peso final; <sup>2</sup>CF: comprimento final; <sup>3</sup>GP: ganho em peso; <sup>4</sup>TCE: taxa de crescimento específico; <sup>5</sup>UL: uniformidade do lote e <sup>6</sup>SO: Sobrevivência.

Os maiores valores de altura da vilosidade e espessura do epitélio do intestino foram atribuídos aos animais que consumiram dietas contendo 2,5% de PHF.

**Tabela 5.** Valores médios de alterações fisiológicas no músculo, fígado e intestino de pós-larvas de tilápia do Nilo alimentadas com rações contendo níveis de inclusão de proteína hidrolisada de frango.

Variáveis	Níveis de inclusão de PHF (%)					p
	0	2,5	5	7,5	10	
<b>Músculo<sup>1</sup></b>						
<20	65,42	70,25	71,20	69,88	66,70	0,2908
20-50	34,58	29,75	28,80	30,12	33,30	0,2730
>50	0	0	0	0	0	0,0000
<b>Fígado<sup>2</sup></b>						
NH	546,00± 68,86	590,33± 62,41	569,00± 61,97	588,66± 55,37	571,33± 71,31	0,1975
<b>Intestino<sup>3</sup></b>						
AV (µm)	63,44± 23,36 <sup>b</sup>	80,81± 28,88 <sup>a</sup>	56,22± 20,92 <sup>b</sup>	75,11± 27,72 <sup>a</sup>	64,12± 21,24 <sup>b</sup>	0,000<
EE (µm)	14,78± 3,62 <sup>b</sup>	21,52± 9,05 <sup>a</sup>	13,88± 3,00 <sup>b</sup>	16,95± 6,61 <sup>b</sup>	13,84± 2,79 <sup>c</sup>	0,000<

<sup>1</sup>Valores expressos em: média da distribuição de frequência em porcentagem nas classe de tamanho i) menor que 20 µm, ii) de 20 a 50 µm e iii) maiores que 50 µm. <sup>2</sup>Valores expressos em: média ± desvio padrão no número total de hepatócitos (NH). <sup>3</sup>Valores expressos em: média ± desvio padrão da morfometria

da altura do vilo (AV) e espessura do epitélio (EE). Letras distintas na mesma linha diferem ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

#### **4 Discussão**

Os valores de composição centesimal da proteína hidrolisada de frango estão relacionados não só a matéria-prima utilizada, mas também aos processos tecnológicos (hidrólise, filtragem, centrifugação e atomização), também chamados de processos de recuperação da porção proteica, aos quais o produto foi submetido (Villamil et al. 2017). O primeiro procedimento após a hidrólise foi a remoção do material não hidrolisado (fragmentos ósseos e cartilagens) por meio de filtragem, que influencia na diminuição de minerais no produto. Em seguida, a centrifugação do produto permite a separação da gordura, sólidos em suspensão e porção proteica. E por fim, a desidratação da porção proteica por atomização, além de concentrar os nutrientes, conseqüentemente, faz com que o teor proteico seja elevado, como observado neste estudo. De acordo com Paris et al. (2016), os procedimentos de filtragem e centrifugação de proteínas hidrolisadas são necessários e considerados pré-tratamentos para a secagem/desidratação por atomização, visto que resíduos sólidos e gordura impossibilitam este processo. Além disso, o processo de centrifugação e desidratação do hidrolisado contribuem para sua estabilidade e conservação, visto que diminui as chances de oxidação lipídica e proliferação de microrganismos que precisam de umidade para seu desenvolvimento (Kristinsson & Rasco, 2000; Villamil et al. 2017).

Os resultados de CDA da proteína, aminoácidos e energia de PHF demonstram que a tilápia do Nilo apresenta a capacidade de assimilar eficientemente estes nutrientes com 93,61 e 93,86% da digestibilidade proteína e energia, respectivamente. Da mesma forma, Zhou & Yue (2012) encontraram CDA de farinha enzimática de vísceras aves para tilápia de 82,4 e 90,2% da proteína e energia, respectivamente. Não obstante, Silva et al.

(2017) ao avaliar o CDA dos nutrientes e energia de hidrolisado proteico de resíduo de pescado (HPRP) sugerem que os elevados CDA observados (98,29 e 99,13% de CDA da proteína e energia) estão relacionados ao processo de hidrólise enzimática da proteína que cliva a porção proteica em diversos tamanhos, e que por sua vez, são mais facilmente absorvidos do que aminoácidos livres.

Além disso, a qualidade do teor proteico de um alimento está diretamente relacionada a sua composição e disponibilidade, onde a deficiência de AA essenciais pode prejudicar a assimilação da proteína, visto que a absorção desses nutrientes podem ser influenciados pelo antagonismo entre AA, saturação no transporte dos mesmos, ou ainda pela absorção de peptídeos ao longo da extensão intestinal, além da rapidez em sua assimilação e metabolização (Lee, 2002).

Semelhante ao observado neste estudo, o CDA dos AA da farinha de vísceras de aves para tilápia assemelham-se ao CDA da PB, com valores que variaram de 72 a 91,8% para Valina e Lisina, respectivamente (Zhou & Yue, 2012), embora neste estudo os valores dos CDA de AA tenham sido superiores (de 94 a 99,7% para Alanina e Triptofano, respectivamente). Certamente, os valores superiores estão relacionados ao uso de enzimas no processamento destes coprodutos agroindustriais, que por sua vez, apresentam vantagens em relação ao processo usual de produção de farinha, pois o emprego de digestores termoenergéticos causam efeitos prejudiciais à qualidade nutricional do produto como a perda de aminoácidos sensíveis a condições extremas de processamento (calor e pressão) como a metionina, lisina e triptofano (Queiroga et al., 2012).

Sabe-se que a deficiência de aminoácidos essenciais na alimentação de peixes reduz a eficiência da utilização de nutrientes como a proteína, e por consequência influencia o crescimento, diminuindo o ganho em peso e afetando a eficiência alimentar

(Furuya, 2010; NRC, 2011). Contrariamente, neste estudo foi observado que todos os AA essenciais apresentaram elevados CDAs (acima de 90%), demonstrando que esses nutrientes foram eficientemente utilizados pela tilápia.

Os melhores valores de desempenho (peso final, comprimento final, ganho em peso, taxa de crescimento específico e fator de condição) foram observado nos peixes alimentados com a ração contendo 2,5% de inclusão da proteína hidrolisada de frango, representando peso final 23% superior à dieta controle, e esta melhora refletiu sobre os demais aspectos produtivos avaliados. Os valores encontrados neste estudo são superiores aos pesos finais de animais da mesma espécie e fase de desenvolvimento submetidos à dietas contendo inclusões de 20 a 60% de farinha de resíduos do abate de aves (exceto penas) (Boscolo et al., 2005). Esses resultados corroboram com a premissa de que a qualidade e disponibilidade do produto são tão importantes quanto sua composição, visto que ambos os produtos (farinha e proteína hidrolisada) apresentam a mesma matéria-prima como constituintes, sendo a tecnologia empregada na elaboração dos produtos determinante para sua condição nutricional. Confirmando essa premissa, Silva et al. (2017) observaram que a inclusão de 1% de hidrolisado proteico de pescado proporciona o desempenho produtivo equivalente à inclusão de cerca de 4% de farinha de peixe em dietas para tilápia.

As taxas de crescimento específico observadas foram numericamente semelhante às reportadas por Silva et al. (2017) para a mesma espécie e fase de desenvolvimento, embora o melhor resultado tenha sido atribuído para o tratamento ausente da inclusão de hidrolisado proteico de pescado, contrário ao encontrado neste estudo, que refletiu as respostas dos aspectos de peso final, comprimento final e ganho em peso, com melhor resposta ( $p < 0,05$ ) para a inclusão de 2,5% de PHF. Ovissipour et al (2014) ressalta que as contribuições para o crescimento de peixes alimentados com proteína hidrolisada

podem ser relacionadas ao comprimento de cadeia dos peptídeos provocado pelo tratamento enzimático, fazendo com que atuem como atrativos alimentares e por consequência, aumente o consumo e digestão dos nutrientes contidos neste alimento.

Corroborando com os valores encontrados acerca dos aspectos produtivos, Silva et al. (2017) recomendam 4,75% de HPRT para melhor crescimento das pós-larvas de tilápia. Do mesmo modo, Sary et al. 2017 apontaram melhor performance produtiva de pós-larvas de tilápia para a inclusão de até 4% de proteínas hidrolisadas de coproduto de tilápia nas dietas. Esses mesmos autores relatam decréscimo no crescimento dos animais a medida com que se aumentam os níveis de inclusão do hidrolisado proteico nas dietas, assim como observado neste estudo, onde as inclusões de 5; 7,5 e 10% apresentaram valores inferiores à 2,5% de PHF na dieta.

No presente estudo, pode-se observar que a maior frequência de fibras musculares apresentaram diâmetro médio abaixo de 20  $\mu\text{m}$ . De acordo com Almeida et al (2010), o crescimento das fibras musculares pode ocorrer de duas maneiras sendo: por hiperplasia, quando há aumento no número de fibras musculares ou por hipertrofia, quando há aumento do volume dessas estruturas. O crescimento por hiperplasia é relacionado com a maior frequência de fibras musculares menores que 20  $\mu\text{m}$ . No entanto, Almeida et al (2010), ressaltam que o processo de crescimento das fibras musculares predominante nas fases iniciais do desenvolvimento de peixes é por hiperplasia, sendo esta uma possível inferência sobre a ausência de influência das dietas neste parâmetro.

Os resultados da morfometria das estruturas intestinais (altura da vilosidade, espessura do epitélio e da túnica) foram influenciados pela inclusão da PHF nas dietas, onde a dieta contendo 2,5% deste alimento expressou os melhores resultados, visto que o aumento dessas estruturas está diretamente relacionado com a maior absorção dos nutrientes contidos na dieta (Moraes & Almeida, 2014). Este resultado corroborou com o

peso final, comprimento total, ganho em peso e taxa de crescimento específico, demonstrando que as alterações na morfometria intestinal provavelmente refletiram em maior crescimento dos animais.

## **5 Conclusão**

A proteína hidrolisada de frango demonstrou ser uma potencial fonte nutricional para a tilápia do Nilo com eficiente assimilação dos nutrientes evidenciados pelos elevados coeficientes de digestibilidade, crescimento das estruturas intestinas e melhoria nos aspectos produtivos de pós-larvas de tilápia do Nilo com a inclusão de níveis crescentes deste alimento, sendo recomendado 2,5% deste produto para melhor crescimento. Contudo, os resultados obtidos possibilitam uma alternativa nutricional com elevada qualidade biológica, sendo um ingrediente promissor na produção destes animais.

## 6 Referências

ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal. São Paulo, p.68. 2017.

ALMEIDA, F.L. A.; PESSOTTI, N.S.; PINHAL, D.; PADOVANI, C.R.; LEITÃO, N.de J.; CARVALHO, R.F.; MARTINS, C.; PORTELLA, M.C.; DAL PAI-SILVA, M. (2010) Quantitative expression of myogenic regulatory factors MyoD and myogenin in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) skeletal muscle during growth. *Micron*, v.41, p.997-1004.

AOAC. Oficial methods of analysis of the association of Official Analytical Chemists. (2005) Arlington, v.2, p.1-30.

BOSCOLO, W.R.; MEURER, F.; FEIDEN, A.; HAYASHI, C. REIDEL, A.; GENTELINE, A. L. (2005) Farinha de vísceras de aves em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de reversão sexual. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, p.373-377.

BREMER NETO, H., GRANER, C.A.F., PEZZATO, L.E., PADOVANI, C.R., (2005) Determinação de rotina do crômio em fezes, como marcador biológico, pelo método espectrofotométrico ajustado da 1,5-difenilcarbazida. *Ciência Rural* v. 35, 691–697.

BROTZGE, S. D., CHIBA, L. I., ADHIKARI, C. K., STEIN, H. H., RODNING S. P., WELLES, E. G. (2014) Complete replacement of soybean meal in pig diets with hydrolyzed feather meal with blood by amino acid supplementation based on standardized ileal amino acid digestibility. *Livestock Science*, v. 163, p. 85 – 93.

DIETERICH, F., BOSCOLO, W. R., PACHECO, M. T. B., SILVA, V. S. N., GONÇALVES, G. S., VIDOTTI, R. M. (2014) Development and characterization of protein hydrolysates originated from animal agro industrial byproducts. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, v. 1, p.1-7.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rome, 2016. 204p.

FERREIRA, A., KUNH, S. S., CREMONEZ, P. A., DIETER, J., TELEKEN, J. G., SAMPAIO, S. C., KUNH, P. D. (2017) Brazilian poultry activity waste: Destinations and energetic potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, p. 1-9.

FRACALOSSO, D. M.; RODRIGUES, A. P. O.; SILVA, T. S. C.; CYRINO, J. E. P. Técnicas experimentais em nutrição de peixes. In: FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. (Ed.). *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira*. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012. p.37-64.

FURUYA, W. M. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. Toledo: GFM, 2010.

HOLT, J. Larval fish nutrition. Chichester, p. 435. 2011.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Pecuária Municipal. Rio de Janeiro, p. 49. 2015.

KRISTINSSON, H. G.; RASCO, B. A. (2000) Fish protein hydrolysates: production, biochemical and functional properties. *Food Science and Nutrition*, v.32, p.1-39.

LEE, S. M. (2002) Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture*, v. 207, p.79-95.

MORAES, G.; ALMEIDA, L.C. Nutrição e aspectos funcionais da digestão de peixes. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C. (Eds.) *Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce*. Ed. FUNEP-UNESP: Jaboticabal, 2014, p. 233-252.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirements of fish and shrimp. The national academies press, Washington, 2011, 379p.

OKAMURA, D. ARAÚJO, F. G.; ROSA, P. V.; FREITAS, R. T. F.; MURGAS, L. D. S.; CESAR, M. P. (2010) Influência da concentração de benzocaína e do comprimento dos peixes na anestesia e na recuperação de tilápias-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 39, p. 971-976.

OVISSIPOUR, M., KENARI, A. A., NAZARI, R., MOTAMEDZADEGAN, A., RASCO, B. (2014). Tuna viscera protein hydrolysate: nutritive and disease resistance properties for Persian sturgeon (*Acipenser persicus L.*) larvae. *Aquaculture Research*, v. 45, p.591-601.

PAN, L., MA, X.K., WANG, H.L., XU, X., ZENG, Z.K., TIAN, Q.Y., ZHAO, P.F., ZHANG, S., YANG, Z.Y., PIAO, X.S. (2016) Enzymatic feather meal as an alternative animal protein source in diets for nursery pigs. *Animal Feed Science and Technology*, v. 212, p.112–121.

PARIS, L. D., HAAB, J. C. A., SARY, C., BERNARDI, D. M., BOSCOLO, W. R., SIGNOR, A. (2016). Production and spray drying of protein hydrolyzate obtained from tilapia processing by-products. *Acta Scientiarum. Technology*, v. 38, 89-97.

PASCOAL, L. A. F., MIRANDA, E. C., SILVA FILHO, F. P. (2006) O uso de ingredientes alternativos em dietas para peixes. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.3, p.284-298.

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

QUEIROGA, A.C., PINTADO, M.E., MALCATA, F.X. (2012) Potential use of wool-associated *Bacillus* species for biodegradation of keratinous materials. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v.70, p. 60 – 65.

QUEIROZ, A. L. M. Obtenção e caracterização de hidrolisados proteicos de subprodutos do abate de caprinos (2017). Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

SARY, C., PARIS, L. D., BERNARDI, D. M., LEWANDOWSKI, V., SIGNOR, A., BOSCOLO, W. R. (2017) Tilapia by-product hydrolysate powder in diets for Nile tilapia larvae. *Acta Scientiarum - Animal Sciences*. v. 39, p. 1-6.

SILVA, T. C., ROCHA, J. D. M., MOREIRA, P., SIGNOR, A., BOSCOLO, W. R. (2017) Fish protein hydrolysate in diets for Nile tilapia post-larvae. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.52, p.485-492.

STATSOFT, Inc. (2005). STATISTICA (Data Analysis Software System), version 7.1.

VILLAMIL, O., VÁQUIRO, H., SOLANILLA, J. F. (2017) Fish viscera protein hydrolysates: Production, potential applications and functional and bioactive properties. *Food Chemistry*, v. 224, p.160-171.

ZHOU, Q. C. & YUE, Y.R. (2012) Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus*. *Aquaculture Research*, v.43, p.806–814.

### **CAPÍTULO 3: PROTEÍNA HIDROLISADA DE FRANGO PARA ALEVINOS DE TILÁPIA DO NILO: DESEMPENHO PRODUTIVO E HISTOMORFOMETRIA DO MÚSCULO, FÍGADO E INTESTINO**

#### **Resumo**

O presente estudo teve por objetivo avaliar parâmetros do desempenho produtivo e histomorfometria do músculo, fígado e intestino de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis de proteína hidrolisada de frango (PHF). Para tanto, foram utilizados 420 animais com peso médio de  $1,8 \pm 0,7$  g distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos e quatro repetições. Os animais foram alocados em 28 tanques de 70 L de volume útil com aeração artificial por meio de soprador de ar. Foram elaboradas sete dietas, sendo uma ração controle contendo farinha de peixe e outras seis rações com níveis crescentes de inclusão da proteína hidrolisada de frango (0; 1; 2; 3; 4; 5 e 6%). Os animais foram alimentados seis vezes ao dia por 30 dias e, ao fim do período experimental foram tomadas as medidas de peso e comprimento total para posterior cálculo dos parâmetros produtivos, além de coleta de material biológico para histologia. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e análise de regressão polinomial para determinar o melhor nível de inclusão de proteína hidrolisada de frango. Foram observados efeitos quadráticos ( $p < 0,05$ ) para peso final (3,08%), ganho em peso (3,00%), taxa de crescimento específica (3,06%), conversão alimentar aparente (3,63%) e taxa de eficiência proteica (2,91%). As diferentes dietas não influenciaram ( $p > 0,05$ ) o comprimento total, a sobrevivência e a morfometria do músculo, fígado e intestino dos alevinos. Contudo, a inclusão de proteína hidrolisada de frango não prejudicou a performance produtiva dos alevinos de tilápia do Nilo quando incluída até 6% deste produto nas dietas. No entanto, recomenda-se a utilização de 3% de PHF para melhor ganho em peso dos animais.

**Palavras-chave:** aquicultura, nutrição, hidrólise, coproduto.

#### **Abstract**

The objective of this study was to evaluate parameters of productive performance and histomorphometry of muscle, liver and intestine of Nile tilapia fingerlings fed diets containing levels of hydrolyzed chicken protein (PHF). For this, 420 animals with an average weight of  $1.8 \pm 0.7$  g were distributed in a completely randomized design with seven treatments and four replications. The animals were allocated in 28 tanks of 70 L of useful volume with artificial aeration by means of air blower. Seven diets were elaborated, being a control diet containing fish meal and other six rations with increasing levels of inclusion of hydrolyzed chicken protein (0; 1; 2; 3; 4; 5 and 6%). The animals were fed six times a day for 30 days and, at the end of the experimental period, the measurements of weight and total length were taken for later calculation of the productive parameters, besides collection of biological material for histology. The data were submitted to analysis of variance (ANOVA) and polynomial regression analysis to determine the best level of inclusion of hydrolyzed chicken protein. Quadratic effects ( $p < 0.05$ ) were observed for final weight (3.08%), weight gain (3.00%), specific growth rate (3.06%), apparent feed conversion (3.63%) and protein efficiency ratio (2.91%). The different

diets did not influence ( $p > 0.05$ ) the total length, survival and morphometry of the muscle, liver and intestine of the fingerlings. However, the inclusion of chicken hydrolyzed protein did not affect the productive performance of Nile tilapia fingerlings when up to 6% of this product was included in the diets. However, it is recommended to use 3% PHF for better gain in animal weight.

1. **Keywords:** aquaculture, nutrition, hydrolysis, co-product.

## **Introdução**

Embora seja uma atividade milenar, nos últimos anos, a aquicultura vem sendo um dos ramos da produção animal com maior expansão no segmento agrícola mundial. Fatores como o reconhecimento das qualidades nutricionais das carnes produzidas e seus coprodutos, além da possibilidade de uso de ambientes pouco explorados, bem como o declínio dos estoques pesqueiros que anteriormente abasteciam a população com este tipo de alimento, contribuem para o crescimento da atividade (FAO, 2016).

Diversos esforços científicos foram direcionados buscando melhorias na criação destes organismos, principalmente visando o aumento da produtividade de biomassa por área (Brito et al. 2017). Nessa premissa, com o crescimento desta atividade surge a demanda por alimentos que possam ser utilizados como ingredientes na fabricação de rações para estes organismos que são cultivados em cativeiro.

Coprodutos agroindustriais são alternativas nutricionais para fornecer o aporte biológico nas rações para organismos aquáticos, visto que apresentam grande volume de produção, poucas possibilidades de aproveitamento e principalmente, elevada qualidade biológica (Mullen et al, 2017).

O emprego da biotecnologia de hidrólise enzimática em coprodutos agroindústrias proporciona um produto com melhoria nutricional e funcional, podendo contribuir com aspectos da saúde dos animais que o consomem. Assim, o presente estudo teve por objetivo avaliar a proteína hidrolisada de frango (PHF) em dietas para alevinos de tilápia do Nilo através de aspectos do desempenho produtivo e alterações no músculo, intestino e fígado destes animais.

## 2. Materiais e métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquicultura do Curso de Engenharia de Pesca da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste – *Campus* de Toledo. A fabricação da ração e as análises histológicas foram realizadas nos Laboratórios do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura - GEMAAq.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UNIOESTE sob o protocolo nº 52/17.

A proteína hidrolisada de frango utilizada neste estudo foi cedida pela empresa BRF Ingredients Ltda.

Os alevinos de tilápia do Nilo foram distribuídos em delineamento inteiramente ao acaso com sete tratamentos e quatro repetições. Foram utilizados 15 alevinos de tamanho comercial com cerca de 1,8g distribuídos aleatoriamente em 28 tanques com volume de 70 L para cada repetição. O experimento foi conduzido por 30 dias.

Foram elaboradas uma ração controle contendo farinha de peixe (0% PHF) e outras seis rações com níveis crescentes de inclusão da proteína hidrolisada de frango (1, 2, 3, 4, 5 e 6%) (Tabela 1). As rações foram formuladas de forma a serem isoenergéticas, isoprotéicas e isoaminoácídicas e com base em exigências propostas por NRC (2011).

Os ingredientes utilizados foram triturados em moinho do tipo martelo em peneira de 0,3mm, pesados, misturados, extrusados em extrusora ExMicro® em matriz de 1mm e secos em estufa de ar forçado a 55°C por 24h para retirada da umidade adquirida para processamento das rações.

O manejo alimentar utilizado neste estudo foi através de seis alimentações diárias, sendo às 8, 10, 12, 14, 16 e 18h, quando as rações foram ofertadas até a saciedade aparente dos animais. Ao final de cada dia, os tanques foram sifonadas para retirada de resíduos de excretas dos animais.

**Tabela 1.** Formulação e composição de nutrientes das rações experimentais com inclusão de níveis de proteína hidrolisada de frango (PHF) para alevinos de tilápia do Nilo *O. niloticus*.

Ingredientes	Diets contendo PHF (%)						
	0	1	2	3	4	5	6
Farelo de soja	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Fubá de milho	23,23	23,31	23,39	23,47	23,55	23,63	23,72
Farinha de penas	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Farinha de vísceras de aves	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Quirera de arroz	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Farinha de peixe	6,00	5,00	4,00	3,00	2,00	1,00	0,00
<b>PHF</b>	<b>0,00</b>	<b>1,00</b>	<b>2,00</b>	<b>3,00</b>	<b>4,00</b>	<b>5,00</b>	<b>6,00</b>
Glúten de milho	3,59	3,59	3,60	3,61	3,62	3,63	3,64
Óleo de soja	2,00	1,94	1,87	1,81	1,75	1,69	1,62
Concentrado de soja	1,49	1,24	0,99	0,75	0,50	0,25	0,00
L-Lisina HCL	1,25	1,24	1,24	1,24	1,23	1,23	1,22
Glúten de trigo	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
L-Treonina	0,85	0,85	0,85	0,85	0,84	0,84	0,84
Premix peixes <sup>1</sup>	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Levedura álcool	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
DL-Metionina	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
Sal comum	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Fosfato bicálcico	0,21	0,33	0,45	0,56	0,68	0,80	0,91
Cloreto de colina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Vitamina C	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Antifúngico	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
L-Triptofano	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05
Antioxidante	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Calcário	0,00	0,11	0,22	0,32	0,43	0,54	0,65
<b>Nutrientes calculados (%)</b>							
Ácido Linoleico	2,26	2,22	2,17	2,13	2,08	2,04	1,99
Amido	25,00	24,95	24,90	24,85	24,79	24,74	25,31
Cálcio	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07
Energia Digestível	3400	3400	3400	3400	3400	3400	3400
Fibra bruta	2,14	2,14	2,13	2,13	2,12	2,12	2,11
Fósforo total	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Gordura	6,04	5,95	5,86	5,77	5,68	5,59	5,50
Lisina	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80
Matéria mineral	5,44	5,30	5,16	5,02	4,88	4,74	4,60
Metionina total	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Proteína bruta	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
Treonina	2,38	2,38	2,38	2,38	2,38	2,38	2,38
Triptofano	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40

<sup>1</sup>Níveis de garantia por quilograma do produto: vit. A - 500.000 UI; vit. D3 - 200.000 UI; vit. E - 5.000 mg; vit. K3 - 1.000 mg; vit. B1 - 1.500 mg; vit. B2 - 1.500 mg; vit. B6 - 1.500 mg; vit. B12 - 4.000 mg; ácido fólico - 500 mg; pantotenato de cálcio - 4.000 mg; vit. C - 15.000 mg; biotina - 50 mg; inositol - 10.000; nicotinamida - 7.000; colina - 40.000 mg; cobalto - 10 mg; cobre - 500 mg; ferro - 5.000 mg; iodo - 50 mg; manganês - 1.500 mg; selênio - 10 mg; zinco - 5.000 mg

Após período experimental, os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas para esvaziamento do trato gastrointestinal e, posteriormente, os animais foram insensibilizados em benzocaína, na dose de  $100 \text{ mg/L}^{-1}$  para realização das medidas individuais de peso (g), comprimento total (cm) e contados para avaliação da taxa de sobrevivência. Também foi mensurada a quantidade de ração consumida por cada tanque para calcular a conversão alimentar aparente dos peixes de todas as unidades experimentais.

Os parâmetros de desempenho produtivo avaliados foram: o peso final (g), comprimento total final (cm), ganho em peso [peso final (g) – peso inicial (g)], conversão alimentar aparente [alimento consumido (g)/ganho em peso (g)], taxa de crescimento específico  $[(\ln \text{ do peso final (g)} - \ln \text{ do peso inicial (g)}) / \text{tempo do experimento (dias)}] * 100$ , taxa de eficiência proteica [ganho em peso/proteína consumida] e a sobrevivência  $[(n^\circ \text{ de peixes}/15) * 100]$  dos animais submetidos às diferentes dietas.

As alterações fisiológicas nos peixes, foram avaliadas por meio da sacarificação de três animais por tanque com superdosagem de  $200 \text{ mg/L}^{-1}$  de benzocaína. Com auxílio de bisturi, tesouras e pinças cirúrgicas foram retiradas as amostras padronizadas de músculo, fígado e intestino. Esse material foi fixado em solução Alfac por 24h, posteriormente foi conservado em álcool (70%). Processamento da amostra seguiu com a realização de desidratação em concentrações crescentes de álcool (70 a 100%), diafanização em xilol, emblocação em parafina para então realizar os cortes histológicos em micrótomo (Microm, International GmbH 69190) com  $5\mu$  de espessura. As amostras foram dispostas em lâminas de vidro e submetidas à técnica de coloração HE (hematoxilina e eosina). Cada amostra foi analisada em microscópio óptico (Olympus BX 50) com câmera digital (Olympus PMC 35 B) acoplada para captura de imagens.

Para avaliação do crescimento das fibras musculares, foram tomadas as medidas de maior diâmetro de 200 dessas estruturas por animal e agrupadas em i) menor que 20  $\mu\text{m}$  ( $<20 \mu\text{m}$ ), ii) de 20 a 50  $\mu\text{m}$  (20 a 50  $\mu\text{m}$ ) e iii) maior que 50  $\mu\text{m}$  ( $>50 \mu\text{m}$ ) baseado na metodologia de Valente et al. (1999). A alteração do tecido hepático foi avaliada pelo número total de hepatócitos em uma área de 20000  $\mu\text{m}$ . Para determinar as alterações no intestino, foram mensurados a altura da vilosidade e espessura do epitélio.

Os dados obtidos foram submetidos a análises de variância (ANOVA) e quando observadas diferenças estatísticas foi realizada análise de regressão linear ou quadrática por meio do programa computacional Statistic 7.1 (2005).

### **3. Resultados e discussão**

A proteína hidrolisada de frango (PHF) influenciou a performance produtiva dos alevinos de tilápia do Nilo ( $p<0,05$ ), exceto para os parâmetros de comprimento total final e taxa de sobrevivência (Tabela 2).

A inclusão da PHF nas dietas demonstrou melhor expressão dos parâmetros de crescimento quando comparada com o tratamento controle, que utilizou farinha de peixe em substituição total ao ingrediente testado, ou seja, na dieta controle não houve a inclusão de PHF. Estudos com proteínas hidrolisadas na alimentação de organismos aquáticos vêm demonstrando melhoras nos aspectos produtivos desses animais (Hevroy et al., 2005; Zheng et al., 2012; Arredondo-Figueroa et al. 2013; Dieterich et al, 2014; Sary et al, 2017; Silva et al. 2017).

A análise de regressão polinomial revelou efeito quadrático para peso final, ganho em peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar aparente e taxa de eficiência proteica e nenhum efeito foi observado para o comprimento total final e sobrevivência.

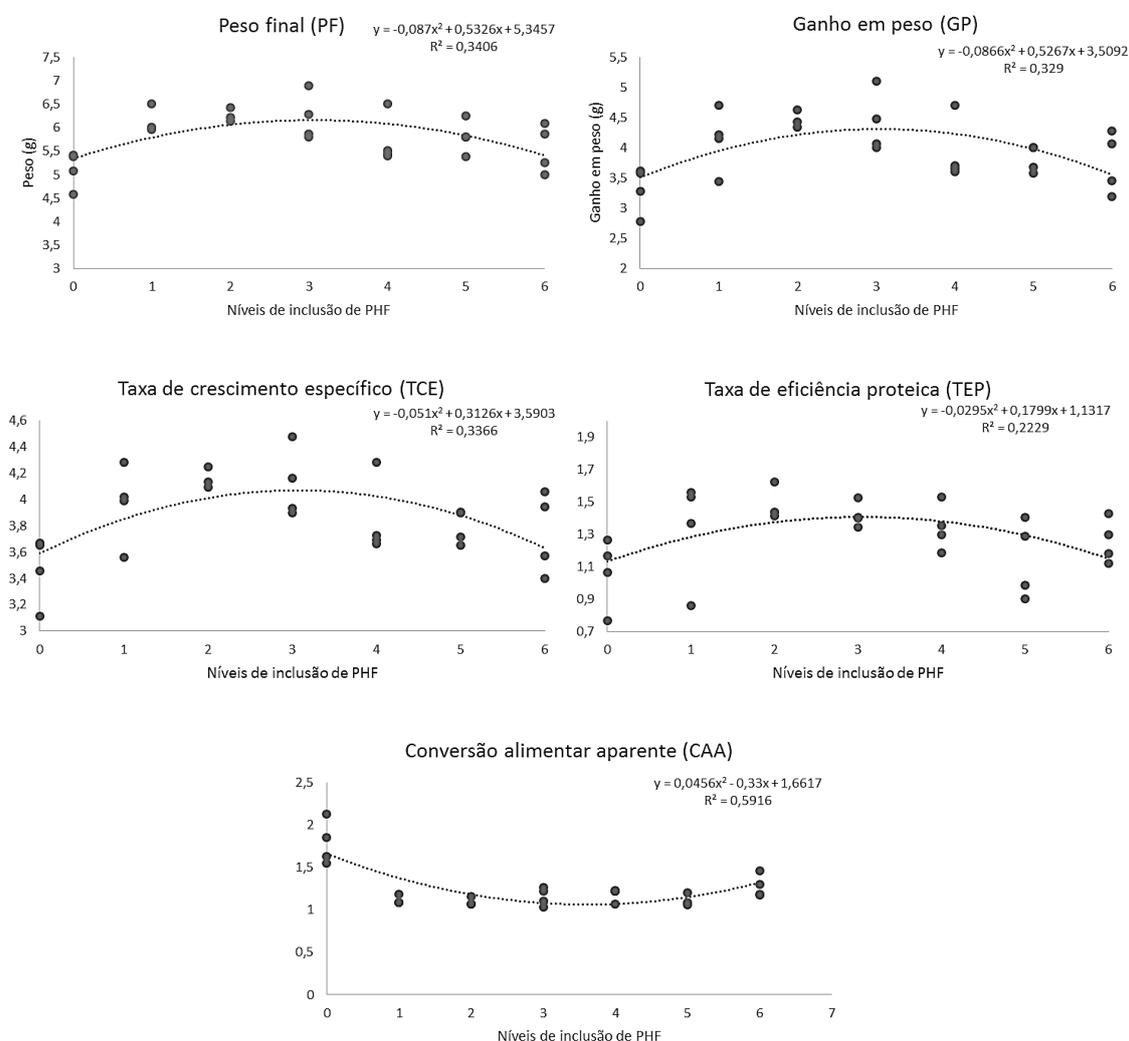
**Tabela 2.** Desempenho produtivo de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de frango (PHF). PF: peso final médio; CT: comprimento final médio; GP: ganho em peso; TCE: taxa de crescimento específico; CAA: conversão alimentar aparente; TEP: taxa de eficiência proteica; SO: sobrevivência.

Variáveis	Níveis de inclusão de PHF (%)							Efeito
	0	1	2	3	4	5	6	
<b>PF (g)</b>	5,11 ± 0,38	5,92 ± 0,52	6,26 ± 0,15	6,21 ± 0,50	5,71 ± 0,52	5,61 ± 0,21	5,55 ± 0,51	<b>Quadrático</b>
<b>CT (mm)</b>	67,56 ± 1,03	69,92 ± 1,25	70,20 ± 0,54	69,36 ± 3,06	68,18 ± 1,57	68,94 ± 1,13	68,94 ± 2,67	<b>NS</b>
<b>GP (g)</b>	3,31 ± 0,38	4,12 ± 0,52	4,46 ± 0,25	4,41 ± 0,60	3,91 ± 0,52	3,81 ± 0,21	3,75 ± 0,51	<b>Quadrático</b>
<b>TCE (%)</b>	3,31 ± 0,38	4,12 ± 0,52	4,46 ± 0,25	4,41 ± 0,60	3,91 ± 0,52	3,81 ± 0,21	3,75 ± 0,51	<b>Quadrático</b>
<b>CAA (g/g)</b>	1,79 ± 0,26	1,34 ± 0,45	1,09 ± 0,05	1,15 ± 0,10	1,19 ± 0,08	1,37 ± 0,35	1,28 ± 0,13	<b>Quadrático</b>
<b>TEP (%)</b>	1,06 ± 0,21	1,32 ± 0,32	1,49 ± 0,11	1,41 ± 0,07	1,34 ± 0,14	1,44 ± 0,23	1,25 ± 0,13	<b>Quadrático</b>
<b>SO (%)</b>	85 ± 8,38	85 ± 13,74	88,88 ± 3,84	86,66 ± 12,17	91,66 ± 6,38	80 ± 16,32	90 ± 11,54	<b>NS</b>
	Equações							valor de <i>p</i>
<b>PF</b>	$y = -0,087x^2 + 0,5326x + 5,3457$ . $R^2 = 0,3406$ ; PHF = <b>3,08%</b>							0,0022
<b>GP</b>	$y = -0,0866x^2 + 0,5267x + 3,5092$ . $R^2 = 0,329$ ; PHF = <b>3,00%</b>							0,0022
<b>TCE</b>	$y = -0,051x^2 + 0,3126x + 3,5903$ . $R^2 = 0,3366$ ; PHF = <b>3,06%</b>							0,0019
<b>CAA</b>	$y = 0,0456x^2 - 0,33x + 1,6617$ . $R^2 = 0,5916$ ; PHF = <b>3,62%</b>							0,0040
<b>TEP</b>	$y = -0,0297x^2 + 0,1729x + 1,1729$ . $R^2 = 0,266$ ; PHF = <b>2,91%</b>							0,0151

NS: não significativo ( $p > 0,05$ ); PHF: proteína hidrolisada de frango;

Fracalossi et al. (2012) ressaltam que os parâmetros relacionados ao crescimento (peso final, comprimento final, ganho em peso, taxa de crescimento específico) são os aspectos mais importantes para expressar a resposta dos peixes às dietas e ingredientes experimentais, uma vez que é a medida com maior aplicabilidade na produção, onde se espera por maior produtividade e consequente lucratividade pela maior de biomassa.

As derivações das equações indicaram inclusão ótima de 3,08% de PHF para o peso final, 3,00% para ganho em peso, 3,06% para a taxa de crescimento específico, 3,62% para conversão alimentar aparente e 2,91% para taxa de eficiência proteica.



**Figura 1:** Representação gráfica das regressões polinomiais para peso final, ganho em peso, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica e conversão alimentar aparente de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo proteína hidrolisada de frango.

Salienta-se que a ração com 3% de inclusão de PHF proporcionou 33% de ganho em peso comparada a ração controle melhorando em 55% a conversão alimentar nesta fase de criação. Sobretudo, os melhores resultados produtivos foram observados para a inclusão de cerca de 3% de PHF, e estão na faixa do que se observa na literatura, onde os melhores resultados são observados com níveis de inclusão de proteínas hidrolisadas até 10%. Zheng et al. (2011), observaram que linguado alimentado com 3,7% de hidrolisado proteico apresentou melhor crescimento e eficiência proteica. Silva et al. (2017) observaram que pós-larvas de tilápia do Nilo alimentadas com 4,75% de hidrolisado proteico de resíduo de pescado apresentaram melhor peso final, ganho em peso e taxa de crescimento específico.

Isto pode ser explicado devido o processo de hidrólise proporcionar maior e melhor digestibilidade dos nutrientes, onde a quebra das ligações peptídicas resulta em peptídeos de vários tamanhos e aminoácidos livres (Martone et al, 2005; Nilsang et al, 2005). Segundo Hevroy et al., (2005) essas características dos hidrolisados proteicos resultam em uma maior retenção de proteína e energia no organismo do animal, conseqüentemente, maiores índices nas variáveis de crescimento, como o demonstrado no presente estudo.

Ainda sobre as características do ingrediente, o processo de hidrólise ao alterar a estrutura da proteína pode disponibilizar grupos funcionais, conferindo ao ingrediente propriedades como ação antioxidante e capacidade imunoestimulante, tornando-o um nutracêutico (Raghavan e Kristinsson, 2008; Memarpoor-Yazdi et al, 2012; Mansour et al, 2014). Desta forma, a partir desses grupos funcionais, sugere-se uma ação promotora de crescimento do ingrediente aos animais, melhorando os índices zootécnicos dos peixes.

Além disso, Portz e Furuya (2012) ressaltam que a inclusão deve ser criteriosamente ponderada, pois o excesso de proteína e aminoácidos pode causar toxicidade, antagonismo, afetar o transporte de nutrientes dentre outros aspectos que comprometem a performance produtiva. Essa premissa também pode explicar o decréscimo dos parâmetros produtivos a medida de que se aumentou o nível da inclusão ótima, expressa pela regressão polinomial. Nesse mesmo sentido, Cahu et al. (2004) observaram que o excesso de aminoácidos livres no trato digestivo compromete a excreção de enzimas digestivas, fazendo com que estes nutrientes não sejam absorvidos, por causar toxicidade, afetar o transporte de nutrientes dentre outros aspectos.

Por outro lado, é possível que maiores quantidades de proteína na dieta não sejam destinadas para a retenção muscular e sim para a formação de energia. Tal fato é constatado por Hevroy et al., (2005), que relacionam menores índices de crescimento do salmão do atlântico aos maiores níveis de inclusão de proteína hidrolisada na dieta, atribuindo isso a uma absorção assíncrona de aminoácidos essenciais comparado aos não essenciais, sendo que eles não podem ser armazenados, resultando na oxidação dos mesmos, portanto, diminuindo o anabolismo do animal.

Vale ressaltar as informações da FAO (2018), afirmando que nos próximos anos a qualidade e quantidade da farinha de peixe não atenderá os requisitos básicos para a formulação de dietas para a aquicultura. Sendo assim, o PHF se torna uma alternativa de ingrediente, tanto do ponto de vista qualitativo quanto no quantitativo, além de contribuir para uma aquicultura mais sustentável, dando destino mais nobre para coprodutos de frigoríficos, bem como diminuindo o uso de farinhas de peixe oriundas do extrativismo.

**Tabela 5.** Valores médios de alterações fisiológicas no músculo, fígado e intestino de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com rações contendo níveis de inclusão de proteína hidrolisada de frango.

Variáveis	Níveis de inclusão de PHF (%)							Valor de <i>p</i>
	0	1	2	3	4	5	6	
<i>Músculo</i> <sup>1</sup>								
<20	19,12	19,37	21,87	23,44	22,25	18,01	19,44	0,3908
20-50	77,80	76,07	75,22	72,54	74,22	78,49	75,94	0,2532
>50	3,08	4,56	2,91	4,02	3,53	3,50	4,62	0,0752
<i>Fígado</i> <sup>2</sup>								
NH	232,00± 22,14	261,33± 28,44	231,44± 24,73	241,82± 19,97	237,70± 22,15	245,81± 25,87	229,44± 24,02	0,1221
<i>Intestino</i> <sup>3</sup>								
AV (µm)	179,39± 51,70	182,68± 57,81	185,92± 66,02	190,77± 58,93	186,22± 60,92	175,11± 57,72	164,12± 51,24	0,0721
EE (µm)	29,18± 5,62	29,96± 8,24	28,91± 6,53	31,26± 7,32	31,71± 7,11	29,32± 6,92	30,11± 6,04	0,1023

<sup>1</sup>Valores expressos em: média da distribuição de frequência em porcentagem nas classe de tamanho i) menor que 20 µm, ii) de 20 a 50 µm e iii) maiores que 50 µm. <sup>2</sup>Valores expressos em: média ± desvio padrão no número total de hepatócitos (NH). <sup>3</sup>Valores expressos em: média ± desvio padrão da morfometria da altura do vilão (AV), espessura do epitélio (EE).

Não foram observadas diferenças ( $p>0,05$ ) nas análises morfométricas do músculo, fígado e intestino dos animais (Tabela 3).

Embora a avaliação de crescimento muscular tenha demonstrado um padrão de mosaico, com fibras musculares distribuídas em todos os tamanhos de classe, a maior concentração para fibras encontradas neste estudo são até de  $50\mu\text{m}$ , o que evidencia que nesta fase de desenvolvimento (alevinos) o principal tipo de crescimento é por hiperplasia, ou seja, recrutamento de novas fibras musculares (Almeida et al. 2010).

Esse padrão de crescimento também foi verificado por Yamashiro et al. (2010), nas fases iniciais da tilápia do Nilo. A partir disto, é possível afirmar que o padrão de crescimento por hiperplasia é observado em tilápias de 0,70 gramas (Yamashiro et al. 2010) até o peso de 6,26 gramas, como demonstrado no presente estudo.

Desse modo, visando a produção cárnea na aquicultura, o processo de crescimento por hiperplasia é fundamental para o desempenho zootécnico dos animais, bem como o sucesso da produção (Rowlerson e Veggetti, 2001).

Consequentemente, nenhuma fibra com diâmetro maior que  $50\mu\text{m}$  foi observadas. Como o relatado por Almeida et al. (2008), indicando que a frequência de fibras com diâmetros maior que  $50\mu\text{m}$  geralmente são observadas na fase adulta de peixes teleósteos, indicando um crescimento caracterizado por hipertrofia.

O fígado é considerado um órgão indicador do estado nutricional dos animais, sendo assim, através de sua avaliação é possível indicar algum tipo de toxicidade e/ou alteração devido a ingestão de alimentos alternativos (Caballero et al., 1999). Portanto, na ocorrência de disfunções nutricionais, é possível visualizar alterações histológicas no tecido do órgão (Rašković et al., 2011).

Embora o número total de hepatócitos não tenha diferido entre os tratamentos avaliados, o elevado valor observado neste estudo para este parâmetro denota que este

alimento não causou prejuízos metabólicos aos alevinos de tilápia, visto que estas estruturas podem ser consideradas os primeiros alvos da toxicidade de uma substância, sendo o elevado valor observado uma prerrogativa de sua eficiente absorção (Zelikoff, 1998).

Ostaszewska et al., (2005), frisam que a qualidade dos alimentos está diretamente relacionada a absorção e digestão de seus nutrientes pelos peixes, sendo a integridade do fígado um dos principais meios para a avaliação da condição do animal e, conseqüentemente, a qualidade do ingrediente.

Quanto a morfologia intestinal, este órgão, assim como o fígado, pode ser um indicador de disfunções nutricionais, bem como qualidade da dieta consumida (Rašković et al., 2011). O intestino participa diretamente na digestão e absorção de nutrientes, portanto, sua morfologia está relacionada a capacidade e eficiência da absorção dos nutrientes (Zhu et al., 2012). No entanto, o presente estudo não indica qualquer alteração no órgão, visto a similaridade com a morfologia intestinal dos animais que não consumiram a dieta contendo PHF com os que a consumiram.

Portanto, é notória a qualidade nutricional do PHF, o ingrediente não causou nenhuma alteração em órgãos indicadores como fígado e intestino, bem como manteve o padrão de crescimento muscular, com relação a dieta sem a inclusão do hidrolisado, atribuindo isto ao valor nutricional do ingrediente bem como a viabilidade de sua inclusão em dietas balanceadas para as fases iniciais da tilápia do Nilo.

#### **4. Conclusão**

A inclusão da proteína hidrolisada de frango nas dietas melhorou os aspectos produtivos de alevinos de tilápia do Nilo em relação à dieta contendo farinha de peixe em substituição total à proteína hidrolisada de frango. Assim, para melhor expressão da

performance produtiva recomenda-se a inclusão de 3% do referido produto nesta fase de criação.

## 5. Referências

- ALMEIDA, F.L. A.; PESSOTTI, N.S.; PINHAL, D.; PADOVANI, C.R.; LEITÃO, N.de J.; CARVALHO, R.F.; MARTINS, C.; PORTELLA, M.C.; DAL PAI-SILVA, M. (2010) Quantitative expression of myogenic regulatory factors MyoD and myogenin in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) skeletal muscle during growth. *Micron*, v.41, p.997-1004.
- ALMEIDA, F.L. A.; CARVALHO, R.F.; PINHAL, D.; PADOVANI, C.R.; MARTINS, C.; DAL PAI-SILVA, M. (2008) Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases. *Micron*, v.39, p.1306-1311.
- ARREDONDO-FIGUEROA, J.L., PONCE-PALAFIX, J.T., SHIRAI-MATSUMOTO, K., PÉREZ-ZAVALA, Á., BARRIGA-SOSA, I. DE LOS Á., LUNA, A.R. (2013). Effects of including shrimp protein hydrolysate in practical diets on the growth and survival of redclaw crayfish hatchlings *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868). *Aquac. Res.*, 44, 966–973.
- BRITO, J. M., PONTES, T. C., TSUJII, K. M., ARAÚJO, F. E., RICHTER, B. L. (2017) Automação na tilapicultura: revisão de literatura Desempenho, piscicultura, tecnologia, tilápias. *Nutritime*, v. 14, p. 5053-5062.
- CABALLERO, M.J.; LÓPEZ-CALERO, G.; SOCORRO, J.; ROOB, F.J.; IZQUIERDO, M.S.; FÉRNANDEZC, A.J. (1999) Combined effect of lipid level and fish meal quality on liver histology of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*. v.179(1-4), p.277-290.
- CAHU, C.L.; ZAMBONINO-INFANTE, J.L.; QUAZUGUEL, P. (2004) Protein hydrolysate vs. Fish mael in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. *Aquaculture*, v.171, p.109-119.
- DIETERICH, F., BOSCOLO, W. R., PACHECO, M. T. B., SILVA, V. S. N., GONÇALVES, G. S., VIDOTTI, R. M. (2014). Development and characterization of protein hydrolysates originated from animal agro industrial byproducts. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, v. 1, p.1-7.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome, 2016. 204p.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome, 2018. 227p.

FRACALOSSO, D. M.; RODRIGUES, A. P. O.; SILVA, T. S. C.; CYRINO, J. E. P. Técnicas experimentais em nutrição de peixes. In: FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. (Ed.). Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012. p.37-64.

HEVROY, E. M.; ESPE, M.; WAAGB, O R.; SANDNES, K.; RUUD, M.; HEMRE, G. (2005) Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. *Aquaculture Nutrition*, v.11, p.301–313.

MANSOUR, S. C; PENA, O. M; HANCOCK, R. E. (2014) Host defense peptides: Front-line immunomodulators. *Trends in Immunology*. v.35: p.443–450.

MEMARPOOR-YAZDI, M.; ASOODEH, A.; CHAMANI, J. (2012) A novel antioxidant and antimicrobial peptide from hen egg white lysozyme hydrolysates. *Journal of Functional Foods*. v.4, p.278–286.

MULLEN, A. M., ÁLVAREZ, C., ZEUGOLIS, D. I., HENCHION, M., O'NEILL, E., DRUMMOND, L. (2017) Alternative uses for co-products: Harnessing the potential of valuable compounds from meat processing chains. *Meat Science*, v.132, p.90-98.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirements of fish and shrimp. The national academies press, Washington, 2011, 379p.

NILSANG, S.; LERTSIRI, S.; SUPHANTHARIKA, M.; ASSAVANING, A. (2005) Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Fish Soluble Concentrate by Commercial Proteases. *Journal of Food Engineering*. v. 70, n. 4 p. 571- 578.

OSTASZEWSKA, T.; DABROWSKI, K.; CZUMINSKA, K.; OLECH, W.; OLEJNICZAK, M. (2005) Rearing of pikeperch larvae using formulated diets-first success with starter feeds. *Aquac. Res.* v.36, p.1167-1176.

PORTZ, L.; FURUYA, W.M. Energia, proteína e aminoácidos. In: FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. (Ed.). *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira*. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012. p.65-77.

RAGHAVAN, S.; KRISTINSSON, H. G. (2008) Antioxidative efficacy of alkali-treated tilapia protein hydrolysates: a comparative study of five enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v.56, p.1434–1441.

RAŠKOVIĆ, B. S.; STANKOVIĆ, M. B.; MARKOVIĆ, Z. Z.; POLEKSIĆ, V. D. (2011) Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. *Journal of Agricultural Sciences*, v.56 (1), p.87-100.

ROWLERSON, A., VEGGETTI, A., 2001. Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species. In: Johnston, I.A. (Ed.), *Muscle Development and Growth*. Academic Press, London, pp. 103–140.

SARY, C., PARIS, L. D., BERNARDI, D. M., LEWANDOWSKI, V., SIGNOR, A., BOSCOLO, W. R. (2017) Tilapia by-product hydrolysate powder in diets for Nile tilapia larvae. *Acta Scientiarum - Animal Sciences*. v. 39, p. 1-6.

SILVA, T. C., ROCHA, J. D. M., MOREIRA, P., SIGNOR, A., BOSCOLO, W. R. (2017) Fish protein hydrolysate in diets for Nile tilapia post-larvae. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.52, p.485-492.

VALENTE, L.M.P., ROCHA, E., GOMES, E.F.S., SILVA, M.W., OLIVEIRA, M.H., MONTEIRO, R.A.F., FAUCONNEAU, B., (1999) Growth dynamics of white and red muscle fibres in fast and slow-growing strains of rainbow trout. *Journal of Fish Biology* v. 55 (4), p. 675– 691.

YAMASHIRO, D., NEU, D.H., MORO, E.B., FEIDEN, A., SIGNOR, A., BOSCOLO, W.R., BITTENCOURT, F., (2016) Performance and muscular development of Nile tilapia larvae (*Oreochromis niloticus*) fed increasing concentrations of phenylalanine. *Agricultural Sciences*. v. 7, p. 900-910.

ZELIKOFF, J.T. (1998) Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals? *Toxicology*, 129(1): 63-71.

ZHENG, K., LIANG, M., YAO, H., WANG, J., CHANG, Q. (2012) Effect of dietary fish protein hydrolysate on growth, feed utilization and IGF-I levels of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquac. Nutr.* 18, 297–303.

ZHU, H., LIU, H., YAN, J., WANG, R., LIU, L. (2012) Effect of yeast polysaccharide on some hematologic parameter and gut morphology in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Fish Physiol Biochem* v. 38(5), p. 1441–1447.