

UNIOESTE – UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
ENGENHARIA DE PESCA
MESTRADO E DOUTORADO

Luci Emi Ogava

MICROENCAPSULAÇÃO DE HIDROLISADOS DE SUBPRODUTO DO
PROCESSAMENTO DE FRANGO PARA SUPLEMENTAÇÃO DE RAÇÃO
PARA ALEVINOS DE TILÁPIA DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*).

TOLEDO

2023

LUCIEMI OGAVA

MICROENCAPSULAÇÃO DE HIDROLISADOS DE SUBPRODUTO DO
PROCESSAMENTO DE FRANGO PARA SUPLEMENTAÇÃO DE RAÇÃO
PARA ALEVINOS DE TILÁPIA DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*).

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

Área de concentração: Aquicultura

1 - Prof. Dr. – Wilson Rogério Boscolo

2 - Prof. Dr.^a – Mônica Lady Fiorese

3 - Prof. Dr.^a – Cristiane Canan

TOLEDO

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Ogava, Luci Emi

Microencapsulação de hidrolisados de subproduto do processamento de frango para suplementação de ração para alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). / Luci Emi Ogava; orientador Wilson Rogério Boscolo; coorientadora Mônica Lady Fiorese . -- Toledo, 2023.

94 p.

Tese (Doutorado Campus de Toledo) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, 2023.

1. Microencapsulamento. 2. Hidrólise. 3. Subproduto de frango. 4. Tilápia do Nilo. I. Boscolo, Wilson Rogério, orient. II. Fiorese, Mônica Lady, coorient. III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

LUCIEMI OGAVA

**MICROENCAPSULAÇÃO DE HIDROLISADOS DE SUBPRODUTO DO
PROCESSAMENTO DE FRANGO PARA SUPLEMENTAÇÃO DE RAÇÃO
PARA ALEVINOS DE TILÁPIA DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*).**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de 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.

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente)

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

Prof. Dr. Altevir Signor
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof. Dr. Arcângelo Augusto Signor
Instituto Federal do Paraná

Aprovada em: 05 de junho de 2023.
Local de defesa: *Campus* de Toledo.

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos amores da minha vida:
Meu marido oldair, minha luz;
Meus filhos otávio e joão agosto, minhas riquezas e
Minha mãe elza, meu exemplo*

AGRADECIMENTOS

Institucional

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná Campus Toledo por toda estrutura física para o desenvolvimento experimental e apoio institucional;

Ao Programa de Pós graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca que possibilitou a formação e capacitação intelectual através de seus docentes e discentes;

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Medianeira pela estrutura física, pelo apoio docente e discente e apoio institucional;

Ao CNPq pela bolsa concedida e apoio financeiro;

À BRF Ingredients Ltda pelo apoio financeiro, por disponibilizar o material e fomentar este projeto de pesquisa;

Especial

O meu mais sincero e carinhoso obrigado...

A Deus e seus anjos que me presentearam com luz e energia na jornada diária, inspiração nos momentos difíceis e proteção nessas idas e vindas pela estrada entre Medianeira e Toledo!!

Ao meu grande amor Oldair que novamente acreditou e apoiou com tanto carinho esta minha jornada! Aos meus filhos, grandes admiradores deste trabalho! À minha mãe que no alto dos seus 83 anos, incansável, faz tanto por mim e pelos meus filhos;

Ao professor Wilson Boscolo por me adotar em um momento delicado do programa e pelas professoras Cristiane Canan e Mônica Fiorese pelo grande incentivo e por compartilhar conhecimento e experiências;

Aos professores Rosana Buzanello, Marinez Corso, Eliane Colla, Paulo Bittencourt, Alex Torquato, Éder Flores, Júlio da Rocha, Neron Berghauser, pelo apoio, análises, amizade e conhecimento;

Aos professores do PREP em especial Altevir Signor, Fabio Bittencourt e Aldi Feiden, por dividir além de conhecimento, dias animados com aulas, hora em sala falando de políticas públicas, hora em campo em visitas coordenadas! À Carla por todo apoio burocrático e esforços para facilitar nossa vida!

Às amigas Luiza, Sthefanie, Miriam, Leandra, Rangel, Thiago e Carol que tanto me ajudaram nos laboratórios da UTFPR, nas análises, nas alegrias e nas angustias!

E por fim, aos amigos do GEMaQ: fiéis companheiras Celma, Camila e Vanessa que se dedicaram muito para manter os experimentos em ordem! Andressa, Martinha e Alice que compartilharam um cantinho de suas casas e de suas vidas para me abrigar; Jéssica, Janaína, Lukas, Leonan e Leonnán, Victor, Edson, Leone, Herivelto, Tayná, Grace, Márcia, Jahina, Bruno, Anderson, Felipe, Pedro, Maria, Suzana e agregados Talita, Bárbara, Rosinara, Cecília, Diego, Wane, Adriana e tantos outros que proporcionaram momentos de troca, de crescimento, de amizade e leveza nas horas difíceis!

Gratidão eterna!!!!

*“Nossas fraquezas se sobressaem por nos compararmos aos outros
contudo nossos pontos fortes, que representam o brilho de Deus
interior, se mostra quando nos esforçamos. A batalha decisiva é a que
você trava consigo mesmo, e a vitória espetacular é sempre possível.”*

Ryuhō Okawa

MICROENCAPSULAÇÃO DE HIDROLISADOS DE SUBPRODUTO DO PROCESSAMENTO DE FRANGO PARA SUPLEMENTAÇÃO DE RAÇÃO PARA ALEVINOS DE TILÁPIA DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*).

RESUMO GERAL

A aquicultura, principalmente a tilapicultura é o setor que tem crescido mais rápido que outros setores e juntamente com este, cresce a demanda por insumos onde a ração corresponde a mais de 50% dos custos de produção. Os resíduos de frango têm ganhado especial atenção pois seu grande volume resultante da cadeia produtiva pode refletir em problemas ambientais e sua valorização resultaria em redução de custos. A hidrólise é um processo utilizado em resíduos proteicos que permite a liberação de peptídeos bioativos menores, antes inativos na cadeia original e que pode sofrer perda de atividade em contato com enzimas gástricas do organismo que o consome. O encapsulamento, técnica que envolve e protege o composto alvo pode minimizar tais efeitos contudo carece de estudos em processos e em testes *in vivo*. Com base neste contexto o atual trabalho foi organizado de forma que o capítulo I apresenta o estado da arte onde estão contextualizados as principais questões concernentes ao tema. No capítulo II são abordados os principais atributos nutricionais apresentadas pelo hidrolisado de vísceras de aves e que segundo literatura suprem as necessidades da tilápia do Nilo como teor proteico e de aminoácidos, perfil lipídico, minerais, atividade de água, cor, valor calorífico, propriedades funcionais e atividades antioxidante e antimicrobiano. O capítulos III tem como foco o desempenho zootécnico, a histologia do fígado, músculo e intestino e índice viscerossomático em resposta ao arraçoamento de alevinos de tilápia do Nilo com hidrolisado de vísceras de frango encapsulado com maltodextrina, goma arábica e isolado proteico de soja. As cápsulas foram produzidas e caracterizadas quanto à cor, tamanho, potencial da carga superficial da partícula, grupos funcionais e eletromicrografia de varredura. A ração contendo hidrolisado encapsulado (3% de inclusão) foi produzida com 40% de proteína bruta e 3500(kcal/kg) de energia digestível, originando três tratamentos com cinco repetições, sendo: ração com encapsulado de maltodextrina (MD), goma arábica (GA), isolado proteico de soja (IS) e o tratamento controle com hidrolisado de vísceras (CO). Para o desempenho zootécnico foram utilizados 300 alevinos de tilápias do Nilo ($\pm 8g$) distribuídos em 20 tanques. Após 30 dias com seis arraçoamentos por dia e a qualidade da água monitorada. Os parâmetros de peso final, ganho de peso, conversão alimentar aparente, taxa de eficiência proteica, taxa de crescimento específico, comprimento total, sobrevivência, comprimento do intestino, índice hepatossomático, índice viscerossomático e índice de gordura visceral foram avaliados. O hidrolisado de vísceras de frango apresentou índices e percentuais ideais às necessidades da tilápia do Nilo segundo literatura consultada nos atributos avaliados, boa atividade antioxidante e ausência de atividade antimicrobiana. As microcápsulas apresentaram carga superficial, tamanho, grupos funcionais e eletromicrografia de varredura que confirmam a formação do encapsulamento pelos materiais de parede. O desempenho zootécnico apresentou diferença significativa com piores médias para tratamento com goma arábica e não apresentou diferença estatística entre os tratamentos IS e MD quando comparados ao CO. Desta forma, os encapsulados com IS e MD apresentaram-se como mais indicados para a utilização em rações para alevinos de tilápias do Nilo.

Palavra-chave: Nutrição de peixes; resíduos de frango; economia circular; hidrólise; microencapsulação; desempenho

MICROENCAPSULATION OF CHICKEN BY-PRODUCT
HYDROLYSATE FOR DIET SUPPLEMENTATION FOR NILE TILAPIA
FINGERLINGS (*Oreochromis niloticus*).

ABSTRACT

Aquaculture, especially the farming of tilapia, has grown faster than other industries, and along with it, the demand for inputs, where feed accounts for more than half of production costs. Due to its high volume and potential impact on environmental issues, chicken waste has attracted particular interest. Its valorization would also result in cost savings. Protein residues can be hydrolyzed to produce smaller bioactive peptides that were inactive in the original chain and may lose their activity when they come into contact with the gastric enzymes of the organism that eats them. Encapsulation, a method that incorporates and safeguards the target molecule, can reduce a loss of activity, however it lacks in vivo experiments and process studies. Based on this backdrop, the current work was structured so that chapter I presents the state of the art where the main issues concerning the theme are contextualized. The chapter II talks about the main nutritional properties of the hydrolyzate of poultry viscera that meet the needs of Nile tilapia. These properties include protein and amino acid content, lipid profile, minerals, water activity, color, calorific value, and functional properties. and activities that fight free radicals and bacteria. In Chapter III, the effects of feeding Nile tilapia fingerlings chicken viscera hydrolyzate encapsulated with maltodextrin, gum arabic, and soy protein isolate are examined in relation to zootechnical performance, liver, muscle, and intestine histology, as well as viscerosomatic index. Color, size, surface charge potential of the particle, functional groups, and scanning electromicrography were used to manufacture and describe the capsules. The feed with 3% inclusion of encapsulated hydrolyzate had 40% crude protein and 3500 kcal/kg of digestible energy. There were three treatments with five repetitions: feed with maltodextrin encapsulation (MD), gum arabic (GA), soy protein isolate (IS), and viscera hydrolyzate as the control (CO). For the zootechnical performance, about 300 Nile tilapia fingerlings (each about 8g) were put into 20 tanks. After 30 days of getting six feedings a day and water quality monitoring, the final weight, weight gain, apparent feed conversion, protein efficiency rate, specific growth rate, total length, survival, gut length, hepatosomatic index, viscerosomatic index, and visceral fat index were assessed. According to the literature consulted in the evaluated qualities, the hydrolyzate of chicken viscera provided indexes and percentages optimal for the needs of Nile tilapia, including good antioxidant activity and absence of antibacterial activity. The scanning electron micrograph, the surface charge, the size, and the functional groups of the microcapsules all showed that the encapsulation was made by the wall materials. When compared to CO, the zootechnical performance showed a statistically significant difference with worse averages for the gum arabic treatment and no statistically significant difference between the IS and MD treatments. Therefore, those enclosed in IS and MD were better suited for usage in fingerling Nile tilapia.

KEYWORDS: Fish nutrition; chicken waste; circular economy; hydrolysis; microcapsule; performance;

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Tipos de cápsula formadas pelo processo de encapsulação20

Figura 2. Tipos de cápsula formadas a partir da metodologia spray dryer.....21

CAPÍTULO II

Figura 1. Termograma de hidrolisado de víscera de frango40

Figura 2. Perfil de ácidos graxos obtido de CVH.....44

CAPÍTULO III

Figura 1. Distribuições de tamanho das partículas de: a) hidrolisado (CVH) e dos microencapsulados contendo: b) isolado proteico de soja (IS), c) goma arábica (GA), e d) maltodextrina (MD)71

Figura 2. Espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do CVH, MD e do microencapsulado MD:CVH.....74

Figura 3. Espectros obtidos por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do CVH, GA e do microencapsulado GA:CVH.....75

Figura 4. Espectros obtidos por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do CVH, IS e do microencapsulado IS:CVH76

Figura 5. Micrografias de partículas de hidrolisado de vísceras CVH, formulado com goma arábica GA/CVH.....77

Figura 6. Micrografias de partículas de hidrolisado de vísceras CVH, formulado com maltodextrina MD/CVH.....77

Figura 7. Micrografias de partículas de hidrolisado de vísceras CVH, formulado com isolado proteico de soja IS/CVH.....77

Figura 8. – Fotomicrografia do corte transversal dos tecidos musculares da tilápia alimentadas com as dietas experimentais. A) controle, B) microencapsulado com isolado proteico de soja C) microencapsulado com maltodextrina e D) microencapsulado com goma arábica.....83

Figura 9. Fotomicrografia do corte transversal dos intestinos de tilápia alimentadas com as dietas experimentais contendo A) CVH; B) microencapsulado com isolado proteico de soja IS:CVH; C) microencapsulado com maltodextrina MD:CVH e D) microencapsulado com goma arábica GA:CVH.....84

Figura 10. Fotomicrografia de fígado: A) CVH; B) IS; C) MD e D) GA.....86

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Caracterização proximal, física, térmica e funcional de CVH.....	36
Tabela 2. Caracterização dos principais minerais no CVH	41
Tabela 3. Minerais requisitados para Tilapia, a concentração de alguns elementos presente na pena de frango hidrolisada e no CVH	42
Tabela 4. Composição de amino ácidos (EAAs) e (NEAAS) em (%), do CVH e outros hidrolisados, descritos na literatura	45
Tabela 5. Exigências nutricionais de aminoácidos compilados para tilápia do Nilo.....	47
Tabela 6. Potencial antioxidante do CVH.....	48

CAPÍTULO III

Tabela 1. Relação do material encapsulante e encapsulado e parâmetros utilizados na produção dos encapsulados	63
Tabela 2. Composição das dietas experimentais elaboradas, contendo hidrolisado de vísceras (CVH), microencapsulado com maltodextrina, goma arábica e isolado proteico de soja.....	66
Tabela 3. Relação do material encapsulante e encapsulado e parâmetros utilizados na produção dos encapsulados	70
Tabela 4. Estimativa dos tamanhos médios de partículas (μm) e do potencial zeta, do CVH e dos microencapsulados	70
Tabela 5. Parâmetros de cor para os microencapsulados de CVH. Valores segundo CieLab para os encapsulados de HV.....	71
Tabela 6. Composição centesimal do material de parede e encapsulado utilizado na composição da ração.....	77
Tabela 7. Características avaliados do desempenho zootécnico dos peixes, realizados após 30 dias de arraçoamento com as dietas produzidas com microencapsulado de CVH.....	79
Tabela 8. Índices viscerossomáticos, de gordura visceral, hepatossomáticos, e, a concentração de glicose e tamanho de intestino das tilápias após nutrição com as dietas experimentais contendo CVH e microencápsulas com isol. prot. soja, maltodextrina e goma arábica.....	81

Tabela 9. Avaliação do perfil das fibras musculares de alevinos de tilápia do Nilo, alimentados com dietas contendo microencapsulado.....	82
Tabela 10. Parâmetros da histologia dos intestinos de tilápia do Nilo, alimentados com as diferentes dietas experimentais.....	84
Tabela 11. Informações da histologia dos fígados de tilápia do Nilo, alimentados com as diferentes dietas experimentais.....	85

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO

CAPÍTULO I

Referencial teórico	16
Referências.....	22
Objetivos	26
Objetivos gerais	26
Objetivos específicos	26

CAPÍTULO II

Caracterização físico-química e avaliação das propriedades do hidrolisado de frango: informações nutricionais para dietas de tilápia do Nilo	27
Resumo	27
Introdução	28
Metodologia	29
Resultados e discussão	36
Conclusão.....	49
References	51

CAPÍTULO III

Perfil do desempenho zootécnico da tilápia do Nilo com dieta contendo hidrolisado de vísceras de frango microencapsulado	59
Resumo	60
Introdução	61
Metodologia	63
Resultados e discussão	69
Conclusão	87
Considerações Finais.....	88
Referências	90

APRESENTAÇÃO

A espécie *Oreochromis niloticus*, (família Cichlidae, ordem Perciformes), popularmente conhecida como Tilápia do Nilo, é originária da África e foi introduzida no território brasileiro na década de 70 com a finalidade de aumentar a produção nacional (FAO, 2018; SARDINHA, 2017). Esta espécie foi selecionada devido à grande adaptação às condições ambientais, pouca suscetibilidade às doenças e a boa aceitação por apresentar uma carne saborosa e ausência de espinhas intramusculares (BARRETO, 2018; OSTRENSKY; BORGHETTI; SOTO, 2008; SARDINHA, 2017). Desde então, a tilapicultura como atividade comercial saltou de uma produção de 12 mil toneladas para 357 mil toneladas de 1995 a 2017, colocando o Brasil no quarto lugar no ranking mundial e no contexto nacional, o Paraná assume o primeiro lugar (FAO, 2014; ANUÁRIO PEIXE BR, 2018).

Prevendo um aumento na produção nacional para 500 mil toneladas em 2020 (ANUÁRIO PEIXE BR, 2018), a necessidade por alimentos voltados à aquicultura cresce proporcionalmente, e o principal componente proteico da ração, a farinha de peixe sofre limitações em função da demanda gerada (EL-SAYED, 1999; BOSCOLO; HAYASHI; MEURER, 2002). Este componente representa a maior parte da composição da ração e o de maior preço, elevando o custo final do produto, fazendo-se necessário a busca de alternativas para sua substituição (MEURER; HAYASHI; BOSCOLO, 2003; BOSCOLO *et al.* 2005).

Alternativas viáveis para a farinha de peixe devem apresentar ampla disponibilidade, preço competitivo e facilidade na utilização e armazenamento durante a elaboração da ração (GATLIN III *et al.*, 2007; VEIBERBERG, 2011;). Segundo estudos realizados por Pezzato e colaboradores (2002), farinhas de vísceras e de penas resultantes da avicultura obtiveram resultados semelhantes a melhores quando comparados com farinha de peixe.

A avicultura brasileira destaca-se como atividade com grande produção (12 milhões de toneladas em 2014) e como resultante, grandes quantidades de resíduos são produzidas dentre eles, vísceras, músculos, gordura, ossos, sangue e penas (FERREIRA *et al.*, 2017) tornando-se desta forma um potencial substituto de baixo custo para a farinha de peixe.

As proteínas para serem melhor aproveitadas pelos organismos vivos podem passar por processos de quebra de moléculas, podendo estes ser químicos ou enzimáticos. O processo de hidrólise enzimática vem sendo amplamente utilizado no segmento industrial de fabricação de rações (SILVA *et al.*, 2014), por proporcionar ao final do processo a quebra das moléculas em peptídeos bioativos de diferentes tamanhos que são amplamente utilizados em alimentos, pois melhoram o funcionamento de organismos vivos além de agregar valor comercial ao

produto de interesse (ESPITIA *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2014; MARTINS *et al.*, 2014;).

Em busca de melhor eficácia quanto a eficiência de absorção das moléculas bioativas técnicas de microencapsulação tem sido estudadas e empregado pela indústria farmacêutica e alimentícia. A microencapsulação é um processo onde moléculas bioativas são envoltas por um material polimérico formando uma camada fina que se dissolve por estímulos específicos, liberando-as em local ou tempo ideais (SILVA *et al.*, 2014; MOHAN *et al.*, 2015).

Segundo Mohan e colaboradores (2015), alguns aspectos da microencapsulação ainda não são claramente compreendidos como: métodos utilizados, razão material bioativo e material de parede, condições de encapsulação bem como viabilidade e estabilidade dos compostos bioativos encapsulados em modelos vivos.

A busca de moléculas bioativas visando o desenvolvimento de novos produtos com elevada eficácia de aplicação e também com valor comercial competitivo, vai de encontro com o novo mercado consumidor, seja ele humano ou animal, o qual tem com enfoque a busca por produtos funcionais, preventivos e promotores de saúde (CARUSO, 2016).

Neste contexto a iniciativa de uso de um subproduto para uma aplicação mais nobre, como é o caso dos hidrolisados de resíduos de processamento animal, vem de encontro com o preconizado para que haja maior crescimento e o desenvolvimento da indústria, da pesquisa, da economia e conseqüentemente melhoria das questões ambientais com a exploração sustentável dessas fontes e sociais ao agregar valor a subprodutos que seriam descartados (FAO, 2014).

Desta forma o intuito deste trabalho será o desenvolvimento de pesquisas científicas e tecnológicas com a produção de microcápsulas de resíduo de frango hidrolisado, visando colaborar com as práticas em manejo e processos industriais da avicultura que poderão refletir em benefícios econômicos e ambientais para a cadeia produtiva do frango e do peixe.

CAPÍTULO I

REFERENCIAL TEÓRICO

Um dos cenários mais projetados para as próximas décadas é o alcance de 10 bilhões de pessoas habitando o planeta Terra. Todas essas pessoas irão demandar por alimentos principalmente por proteína animal, que nos últimos anos aumentou em 40% (FERREIRA *et al.*, 2017; RAGASRI & SABUMON 2023). Esta demanda tem refletido em muitas áreas de alimentos e tem feito da aquicultura um dos setores mais dinâmicos no sistema de alimentação mundial. A aquicultura é responsável por pelos menos 20% da dieta proteica da população global e tem papel fundamental na segurança alimentar. Apresentou crescimento mais rápido que outros setores, contribuindo com metade dos peixes consumidos no mundo e com boas expectativas, à medida que a pesca selvagem excede seus limites de sustentabilidade e as tecnologias desenvolvem-se cada vez mais (TROELL *et al.*, 2014; XAVIER, 2022; WILLER & ALDRIDGE 20117)

No cenário mundial, o Brasil ocupa a quarta posição na produção de tilápias do Nilo, ficando abaixo de China, Indonésia e Egito. No Brasil, em 2021, a produção de peixes nativos como tambaqui foi responsável por 31,2% do total produzido, carpas, trutas e pangasius representaram 5,3% enquanto a tilápia absorveu 63,5% da produção nacional, com aumento de 9,8% em relação ao ano anterior segundo o Anuário PEIXE BR de 2018 e 2022.

Esta preferência nacional pela espécie *Oreochromis niloticus*, popularmente denominada Tilápia do Nilo não ocorre sem motivo. A tilapicultura beneficia-se com o rápido crescimento da espécie, boa adaptabilidade a diferentes tipos de cativeiro, facilidade de manuseio, boa tolerância a altas densidades, hábito onívoro e principalmente pela boa resistência a doenças e boa aceitação do consumidor com características atrativas como ausência de espinhos em forma de “Y”, o que facilita a filetagem além de carne branca de textura firme e sabor suave (EL-SAYED, 2006; XAVIER, 2022; SCHULTER AND VIEIRA FILHO 2017).

O hábito onívoro da tilápia, propicia a versatilidade quanto à gama de alimentos aceitos pelo animal, fazendo com que tenha boa aceitação no consumo de ração, principal alimento ofertado na tilapicultura. Uma dieta apropriada com insumos adequados têm papel fundamental na produção, tanto no desempenho do animal uma vez que ingredientes de alta qualidade refletirão no vigor do animal quanto nos custos finais (SCHULTER AND VIEIRA FILHO 2017; DOS SANTOS CARDOSO *et al.*, 2021).

No sistema intensivo, a ração representa entre 50 a 75% dos custos de produção e o atual cenário econômico tem apresentado encarecimento nos componentes da ração, elevando também os custos de produção, principalmente a farinha de peixe. A principal fonte proteica, a farinha de peixe (peixes pelágicos como pescada branca, arenque, anchoveta, etc.) constitui em torno de 50% do total de proteína da ração para *Cyprinus carpio*, *Gadus morhua*, *Oncorhynchus mykiss*, *Oreochromis niloticus* entre outros, é atualmente o ingrediente mais utilizado por sua alta palatabilidade e seu valor nutricional. Seu rendimento gira em torno de 22% da matéria fresca e sua principal fonte vem da pesca predatória que atualmente vem sofrendo declínio pela pesca indiscriminada (SCHULTER AND VIEIRA FILHO 2017; XAVIER, 2022; DOS SANTOS CARDOSO *et al.*, 2021; TELES *et al.*, 2019).

Diante do atual cenário, muitas pesquisas tem sido conduzidas na busca de potenciais substitutos proteicos para farinha de peixe que possam suprir as necessidades nutricionais do animal, garantir o desenvolvimento da cadeia produtiva, bem como reduzir os impactos ambientais causados pela pesca predatória (DOS SANTOS CARDOSO *et al.*, 2021; ROCHA *et al.*, 2021)

Resíduos de origem animal, principalmente peixe, porco e frango, advindos da agroindústria e abatedouros, impróprios ao consumo humano como carcaças, gordura, ossos, penas, sangue e vísceras tem demonstrado ser importante fonte de lipídios e proteínas (FRACALOSSO *et al.*, 2012; DOS SANTOS CARDOSO *et al.*, 2021; MOHAN & LONG 2021). Além da importância nutricional, o destino adequado ao resíduo proveniente de abatedouro evita consequências indesejáveis contra saúde humana e qualidade ambiental, desde solo, água e ar uma vez que são altamente poluentes e transmissores de doenças (FERREIRA *et al.*, 2017)

Uma alternativa aos resíduos de peixe, seria seu uso como a farinha de resíduos de peixe que apresenta alto valor nutricional, com altos valores de proteína, gordura e energia além componentes químicos solúveis que são fortes palatabilizante para ração. São produzidos a partir de cabeça, nadadeiras, pele, vísceras e barbatanas e promovem a redução dos custos na produção animal (FRACALOSSO *et al.*, 2012). Resíduos de óleo de peixe tem sido utilizados para produção de biodiesel (MAGHAMI; SADRAMELI E GHOBADIAN 2015) e como ingredientes para ração de peixes, crustáceos, porcos, frangos, ruminantes e pets (AFREEN e UCAK 2020). O sangue proveniente do abate de animais, geralmente de bovinos, suínos e aves é outro resíduo estudado. O sangue coagula de forma rápida, exigindo processamento rápido de secagem, normalmente utilizando spray-drying (atomização), flash-drying (pneumática), ring-drying (anel) e drum-drying (tambor). O teor de lisina costuma ser

um limitante neste produto pois o percentual decresce rapidamente com o tempo de estocagem. O potencial da farinha de sangue de porco foi utilizado na alimentação de salmão do Atlântico, reduzindo triglicérides do fígado (LILAND *et al.*, 2014) e melhorando a performance do salmão *Salmo solar* (DAVIDSON *et al.*, 2016).

Outro resíduo bastante utilizado na produção de farinha são os subprodutos do frango como penas, vísceras, fragmentos de carne, gordura, carcaça, sangue entre outros. Segundo ABPA de 2021, a avicultura é um setor que tem se consolidado como uma das mais importantes no suprimento de proteína animal no mundo onde o Brasil está em 3 lugar na produção de carne de frango (13.8 milhões toneladas), atrás de Estados Unidos e China e seguido da União Europeia e Rússia no ano de 2020 (FERREIRA *et al.*, 2017).

Considerando que o material próprio ao consumo humano represente em torno de 70% do peso vivo do frango, um percentual de 30% representa resíduos que necessitam de tratamento físico, químico e biológico apropriado para redução do potencial poluente. (FRACALOSSO ET AL., 2012; FERREIRA *et al.*, 2017). A farinha de penas de aves, resultante da cocção pressurizada das penas têm alto valor proteico de baixa digestibilidade e carente de lisina, histidina, metionina e triptofano, necessitando de cautela no seu uso com níveis de inclusões sugeridos entre 5 a 10%. Tem sido uma alternativa para o uso em plástico biofilme após extração de queratina da farinha de penas (SHARMA *et al.*, 2018), alternativa proteica para dietas de *Micropterus salmoides* após ser irradiado com raios gama (REN *et al.*, 2020), proteica na dieta de *Claris gariepinus* (CHOR, LIM e SHAPAWI 2013) entre outros trabalhos. Pela baixa digestibilidade da farinha de pena devido ao alto teor de queratina, apesar de todo processamento, outro processo, a hidrólise, tem sido atualmente utilizado para melhorar a disponibilidade da proteína para absorção pelos organismos que os consomem.

Hidrólise é um processo onde é possível quebrar moléculas maiores em moléculas menores, no caso das proteínas em peptídeos, resultando em compostos com dipeptídeos (duas unidades), tripeptídeos (três unidades) ou polipeptídeos (quatro unidades ou mais). Esses peptídeos são mais biodisponíveis, sugerem a inibição de efeitos alergênicos e por apresentarem baixo peso molecular, melhoram as funções fisiológicas por ação destes peptídeos bioativos que estariam inativos confinados em moléculas maiores (ALVES *et al.*, 2020; BINSI *et al.*, 2016; AKIBARIAN *et al.*, 2022). A hidrólise pode ocorrer através de substâncias ácidas como ácido clorídrico, substâncias alcalina como hidróxido de sódio (SUPARMANIAM *et al.*, 2022); enzimas como alcalase (RAZAVIZADEH *et al.*, 2022), flavourzime (ALAHMAD *et al.*, 2023), protamex (LEE, LEE, JANG 2020), endocut (LIU,

2022) e microrganismos bifidobacterias (ZININA *et al.*, 2022), *Sphingobacterium* (HENDRICK *et al.*, 2022), *Bacillus pumilus* (FAKHFAKH *et al.*, 2011).

Muitos trabalhos têm utilizado a hidrólise em vários subprodutos e atestando a atividade dos peptídeos bioativos em vários organismos-alvo. A farinha de vísceras de frango, bastante promissora como substituto proteico para a farinha de peixe tem sido submetida à hidrólise e avaliada quanto seu efeito anti-hipertensivo em ratos (ARAÚJO *et al.*, 2022); efeito anti-idade em colágeno de pele humana (KAO, JEN, KAO 2022); resposta imune, antioxidante e barreira intestinal em *Cyprinus carpio* (WU *et al.*, 2022); redução da hiperglicemia em ratos (YEH *et al.*, 2022); alta digestibilidade aparente em tilápias do Nilo (SANTOS DOS SANTOS CARDOSO *et al.*, 2021); antibactericida (CHAKKA *et al.*, 2015) entre outros.

Alguns peptídeos potencialmente bioativos, ao longo do trato digestório do organismo que o consome, podem sofrer ação de enzimas e conferir inatividade a estes peptídeos. Uma forma de proteger e garantir sua total bioatividade é a utilização do processo de encapsulação (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007; MOHAN *et al.*, 2015)

No processo de encapsulação, o composto alvo, também chamado de encapsulado ou núcleo, é encoberto por material denominado encapsulante, carreadores ou material de parede, formando pequenas gotículas que sofrem influência da solubilidade, polaridade ou funcionalidades químicas para sua formação. O processo de microencapsulamento pode ocorrer por atomização, liofilização, coacervação, spray-cooling, spray-chilling, revestimento por suspensão a ar, extrusão, extrusão por centrifugação, co-cristalização etc (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007; MOHAN *et al.*, 2015).

A depender da metodologia empregada, das propriedades físico-químicas da matriz e do núcleo utilizados, é possível observar formas diferenciadas, basicamente dividida em dois tipos (Figura 1): o primeiro, denominadas reservatório, consideradas “verdadeiras microcápsulas” ocorre quando o núcleo fica concentrado no centro e é completamente envolto pelo material de parede bem definido e contínuo. No segundo tipo, o núcleo fica uniformemente difuso na matriz denominado microesfera. O que difere os dois tipos é a total ausência do núcleo na superfície da cápsula no tipo microcápsula verdadeira enquanto na microesfera, parte do núcleo fica exposto na superfície da microesfera. Porém, o termo cápsula ou microcápsula assume um sentido mais amplo, estendendo-se aos dois tipos. É possível ainda conformações com vários núcleos e várias paredes (fig. 2) (AZEREDO 2005; MOHAN *et al.*, 2015; NANDIYANTO *et al.*, 2011).

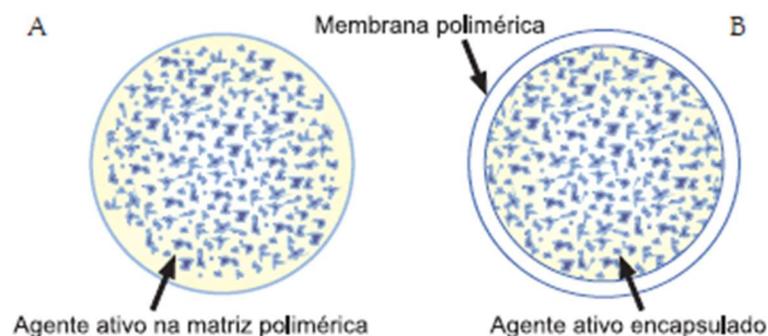


Figura 1. Tipos de cápsula formadas pelo processo de encapsulação. (A) microesfera; (B) microcápsula. Fonte SUAVE *et al.*, 2006

Os materiais de parede mais comuns utilizados no processo de encapsulamento são os carboidratos como maltodextrina, amidos, xaropes de milho sólidos, goma arábica, sucrose, glucoses, pectinas, quitosana entre outros. São considerados bons encapsulantes por exibir baixa viscosidade e boa solubilidade. As gomas também são utilizadas por sua propriedade de formar filme e estabilizar emulsões, sendo a goma arábica, alginato, carragena e base de cardamomo alguns exemplos. Dentre as proteínas, o leite ou soro de leite, gelatinas, caseínas, proteína de soja entre outros, são excelentes pelas propriedades funcionais e bom envolvimento na partícula. Os lipídios são utilizados também como encapsulantes com a vantagem de melhorar a estabilidade, mascarar gosto amargo e proteger contra hidrólise de enzimas e como exemplo temos a cera, parafina, mono e diglicerídeos, óleos e gorduras hidrogenadas (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007; BARRETO *et al.*, 2015; MENEZES *et al.*, 2013; SUAVE *et al.*, 2006)

Alguns desafios ainda estão presentes na produção de encapsulados como distribuição do tamanho da partícula, dispersibilidade do pó, contaminação, falta de controle do processo, perda de atividade química, rendimento do produto e ampliação do processo (AZEREDO HMC 2005; MOHAN *et al.*, 2015; NANDIYANTO *et al.*, 2011).

A metodologia de encobrir e proteger uma substância alvo com a finalidade de garantir sua liberação em local adequado, alcance preciso, controlado e estável no organismo que o ingere tem sido intensamente utilizada pela indústria farmacêutica. A indústria alimentícia utiliza o encapsulamento com foco na cobertura de gosto desagradável, higroscopicidade, hidrofobicidade, incompatibilidade com a matriz alimentícia, bioestabilidade, limitada biodisponibilidade entre outros (MOHAN *et al.*, 2015; AZEREDO, 2005; GHARSALLAOUI *et al.*, 2007).

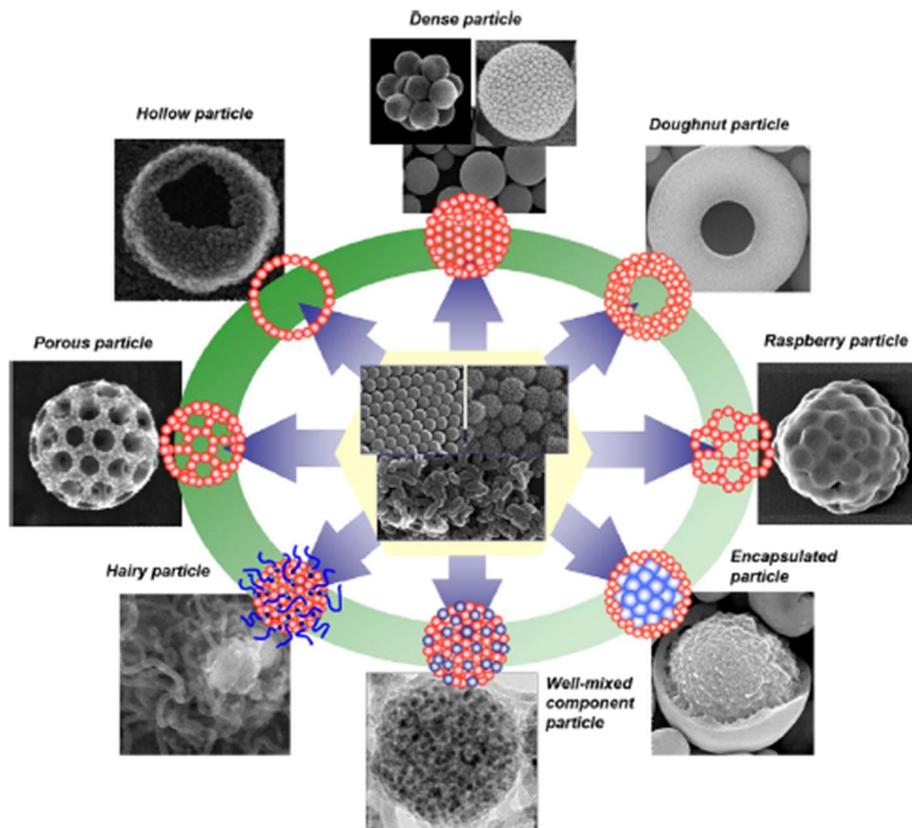


Figura 2. Tipos de cápsula formadas a partir da metodologia spray dryer. Fonte NANDIYANTO *et al.*, 2011

Alguns estudos utilizando material encapsulado tem sido conduzidos nos últimos anos como proteína de soja hidrolisada e encapsulada por coacervação (Xu *et al.*, 2022); condições gastrointestinais foi avaliada utilizando microcápsulas de soja e goma arábica com antocianinas (MANSOUR *et al.*, 2020); hidrolisado de *Cynoscion guatucupa* foi microencapsulado e se efeito foi avaliado em *Caenorhabditis elegans* (LIMA *et al.*, 2021); produção de microcápsulas para redução de sabor amargo de caseína hidrolisada (FAVARO TRINDADE 2010); caracterização de microcápsula de ômega 3 (KAUSHIK *et al.*, 2014); encapsulação de probióticos e avaliação em condições de congelamento e simulação gástrica (LEE *et al.*, 2019); sangue de *Cavia porcellus* foi microencapsulado e caracterizado (LIGARDA SAMANEZ *et al.*, 2022).

Apesar dos estudos já conduzidos com proteína hidrolisada e encapsulada, a grande maioria concentra-se na caracterização do encapsulado e pouca investigação tem sido conduzida na busca do entendimento da estabilidade, bioatividade e biodisponibilidade de peptídeos bioativos em modelos vivos, sejam animais ou humanos, ficando os poucos estudos

restritos a avaliação *in vitro*. Muitos fatores a respeito do processo de encapsulamento ainda precisam ser desvendado como sistema e tipo de matriz, métodos usados no encapsulamento, pureza e proporção núcleo e matriz bem como condições de encapsulação (MOHAN *et al.*, 2015).

REFERÊNCIAS

AFREEN, M.; UCAK, I. Fish processing wastes used as feed ingredient for animal feed and aquaculture feed. **Journal of Survey in Fisheries Sciences**, v. 6, n. 2, p. 55-64, 2020.

AKIBARIAN, M. *et al.*, Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and

ALAHMAD, K. *et al.*, Influence of the Enzymatic Hydrolysis Using Flavourzyme Enzyme on Functional, Secondary Structure, and Antioxidant Characteristics of Protein Hydrolysates Produced from Bighead Carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) **Molecules**, v.28, p. 519, 2023.

ALVES, F.E.S.B. *et al.*, Functional and antioxidant properties of a chicken blood meal hydrolysate. **Braz. J. of Develop.** v. 6, n. 4, p. 21149-21162, 2020.

ARAUJO, T.S. *et al.*, Hydrolysates and bioactive peptides generated from chicken protein hydrolysis: A systematic review of antihypertensive effects in rats. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 11, p. e181111133353-e181111133353, 2022.

AZEREDO H.M.C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos **Alim. Nutr.**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.

BARRETO, A.R. *et al.*, Materiais de revestimento utilizados na microencapsulação de probióticos. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 164-174, 2015.

BINSI, P.K. *et al.*, Characterisation of hydrolysates prepared from engraved catfish (*Nemapteryx caelata*) roe by serial hydrolysis. **J. Food Sci Technol**. V. 53, p. 158-170, 2016.

CHAKKA, A.K. *et al.*, In-vitro antioxidant and antibacterial properties of fermentatively and enzymatically prepared chicken liver protein hydrolysates. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 8059-8067, 2015.

CHOR, W.K.; LIM, L.S.; SHAPAWI, R. Evaluation of feather meal as a dietary protein source for african catfish, *Clarias gariepinus*. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v. 8, n. 6, p. 697-705, 2013.

DAVIDSON, J. *et al.*, Effects of feeding a fishmeal-free versus a fishmeal-based diet on post-smolt Atlantic salmon *Salmo salar* performance, water quality, and waste production in recirculation aquaculture systems. **Aquacultural Engineering**, v. 74, p. 38–51, 2016.

DOS SANTOS CARDOSO, M. *et al.*, Apparent digestibility of protein hydrolysates from chicken and swine slaughter residues for Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 530, p. 735720, 2021.

EL-SAYED, A.F.M. (Ed.). **Tilapia culture**. CABI publishing, 2006.

FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Aquicultura. **A Situação Mundial da Pesca e Aquicultura 2014. Oportunidades e desafios**, FAO, Roma (2014), 10.4060/ca9229en. Disponível em: <http://www.fao.org/documents/card/en/c/ca9229en/>

FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Aquicultura. **A Situação Mundial da Pesca e Aquicultura 2018. Sustentabilidade em Ação**, FAO, Roma (2018), 10.4060/ca9229en. Disponível em: <http://www.fao.org/documents/card/en/c/ca9229en/>

FAKHFAKH, N. *et al.*,. Total solubilisation of the chicken feathers by fermentation with a keratinolytic bacterium, *Bacillus pumilus* A1, and the production of protein hydrolysate with high antioxidative activity. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 9, p. 1731-1737, 2011.

FÁVARO-TRINDADE, C.S. *et al.*,,. The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate **Food Hydrocolloids** 24 (2010) 336–340 2010

FERREIRA, A. *et al.*,. Brazilian poultry activity waste: Destinations and energetic potential. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 81, p. 3081-3089, 2018.

FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. **Nutriaqua**: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. p.376. 2012

GHARSALLAOUI, A. *et al.*,. Review Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, p. 1107–1121, 2007.

HENDRICK, Q. *et al.*,. *Sphingobacterium multivorum* HNFx produced thermotolerant and chemostable keratinase on chicken feathers. **Biologia**, v. 77, n. 10, p. 2921-2931, 2022.

KAO, H.Y.; JEN, S.I.; KAO, Y.C. Evaluation of the anti-aging and whitening efficacy of collagen tripeptide and chicken protein hydrolysate. **Journal of Applied Biological Science**, v. 16, p.447-455. 2022.

KAUSHIK, P. *et al.*,. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. **Journal of functional foods**, v. 19, p. 868-881, 2015.

LEE, I.S.; LEE, M.H.; JANG, K.T. A Study on Salt-fermented Seahorse added with Proteolytic Enzyme (Protamex) 1*. **Korean Journal of Food & Health Convergence**, v. 6, n. 6, p. 1-7, 2020.

LEE, T.Y.. *et al.*,. *Bacillus amyloliquefaciens* CU33 fermented feather meal-soybean meal product improves the intestinal morphology to promote the growth performance of broilers. **Poultry Science**, v. 101, p. 102027, 2019.

LIGARDA SAMANEZ, CA. *et al.* Microencapsulation of Erythrocytes Extracted from *Cavia porcellus* Blood in Matrices of Tara Gum and Native Potato Starch. **Foods**, v. 11, p. 2107, 2022.

LILAND, N.S. *et al.*, Including processed poultry and porcine by-products in diets high in plant ingredients reduced liver TAG in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. **Aquaculture Nutrition**, v. 21, n. 5, p. 655-669, 2014.

LIMA, D.A.S. *et al.*, Technological properties of protein hydrolysate from the cutting byproduct of serra spanish mackerel (*Scomberomorus brasiliensis*) **J Food Sci Technol**, v. 58, n. 8, p. 2952–2962, 2021.

LIU, W. **Enzymatic Hydrolysis of Chicken Rest Raw Material-The effect of thermal separation temperature on the lipid and protein**. 2022. Dissertação de Mestrado. NTNU.

LONG, J.M.; MOHAN, A. Development of meat powder from beef byproduct as value-added food ingrediente. **LWT - Food Science and Technology**, v. 146, p. 111460, 2021.

MAGHAMI, M; SADRAMELI, S.M.; GHOBADIAN, B. Production of biodiesel from fishmeal plant waste oil using ultrasonic and conventional methods. **Applied Thermal Engineering**, v. 75, n. 22, p. 575-579, 2015.

MANSOUR, M.M.; SALAHA, M.; XUA, X. Effect of microencapsulation using soy protein isolate and gum arabic as wall material on red raspberry anthocyanin stability, characterization, and simulated gastrointestinal conditions **Ultrasonics – Sonochemistry**, v. 63, p. 1049272020, 2020.

MENEZES, C.R. *et al.*,. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. **Ciência Rural**, v. 43, n. 7, p.1309-1316, 2013.

MOHAN, A. *et al.*, 2015 Encapsulation of food protein hydrolysates and peptides: a review. **Royal Society of Chemistry Adv.**, v. 5, 79270-70278, 2015.

NANDIYANTO, A.B.D.; OKUYA, K. Progress in developing spray-drying methods for the production of controlled morphology particles: from the nanometer to submicrometer size ranges. **Advanced Powder Technology**, v. 22, p. 1–19, 2011.

Proposed Mechanisms of Action. **Int. J. Mol. Sci.** v.23, p. 1445, 2022.

RAGASRI, S.; SABUMON, P.C. A critical review on slaughterhouse waste management and framing sustainable practices in managing slaughterhouse waste in India. **Journal of Environmental Management**, v. 327, p. 116823, 2023.

RAZAVIZADEH, R.S.; FARMANI, J.; MOTAMEDZADEGAN, A. Enzyme-assisted extraction of chicken skin protein hydrolysates and fat: degree of hydrolysis affects the physicochemical and functional properties, **J Am Oil Chem Soc.**v. 99, p.621–632, 2022.

REN, X. *et al.*,. Gamma ray irradiation improves feather meal as a fish meal alternate in largemouth bass *Micropterus salmoides* diet. **Animal Feed Science and Technology**, Volume 269, P. 114647, 2020.

ROCHA, J.D.M. *et al.*,,. Proteína hidrolisada de frango em dietas para alevinos de Tilápia. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, 2021.

SCHULTER, E.P.; VIEIRA FILHO, J.E.R. **Evolução da piscicultura no brasil**: diagnóstico e Desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia. In Texto para discussão. Rio de Janeiro:IPEA. 2017

SHARMA, S. *et al.*, An efficient conversion of waste feather keratin into ecofriendly bioplastic film. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 20, p. 2157–2167, 2018.

SUAVE, J. *et al.*, Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Health and Environment Journal**, v. 7, n. 2, p. 12-20, 2006.

SUPARMANIAM, U. *et al.*,. The potential of waste chicken feather protein hydrolysate as microalgae biostimulant using organic fertilizer as nutrients source. **Earth and Environmental Science**, v. 1074, p. 012028, 2022. Series IOP Conf.

TELES, A. *et al.* Dietary protein requirements of fish—a meta-analysis. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 3, p. 1445-1477, 2020.

TROELL, M. *et al.*,. Does aquaculture add resilience to the global food system? **PNAS**, v. 111, n. 37, p. 13259, 2014.

WILLER, D.; ALDRIDGE, D.C. Microencapsulated diets to improve bivalve shellfish aquaculture. **R. Soc. open sci.**, v. 4, p. 171142, 2017.

WU, D. *et al.*, Assessment of chicken intestinal hydrolysates as a new protein source to replace fishmeal on the growth performance, antioxidant capacity and intestinal health of common carp (*Cyprinus carpio*) **Fish and Shellfish Immunology**, v. 125, p. 161–170, 2022.

XAVIER, D.T.O. **Proteína hidrolisada de penas em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)** 2022. 103 f. Tese. Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo. 2022.

XU, M. *et al.*,. Complex coacervation of soy protein isolate-limited enzymatic hydrolysates and sodium alginate: Formation mechanism and its application. **Food Sci Nutr.**, v. 00, p. 1–11, 2022

YEH, W.Y. *et al.*,. Functional chicken-liver hydrolysates ameliorate insulin resistance and cognitive decline in streptozotocin-induced diabetic mice. **Poultry Science**, v. 101, p. 101887, 2022

ZININA, O. *et al.*, Physicochemical, functional, and technological properties of protein hydrolysates obtained by microbial fermentation of broiler chicken gizzards. **Fermentation**, v. 8, p. 317, 2022.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Microencapsular o hidrolisado proteico de subprodutos do processamento de frango e avaliar seu desempenho como complemento alimentar para alevinos de Tilápia do Nilo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar o hidrolisado (BRF Ingredients) quanto a propriedades físico-químicas e comparar com as necessidades nutricionais de alevinos de tilápia do Nilo;

Caracterizar o encapsulado quanto a propriedades físico-químicas:

Produção e incorporação do hidrolisado microencapsulado na alimentação de animais aquáticos;

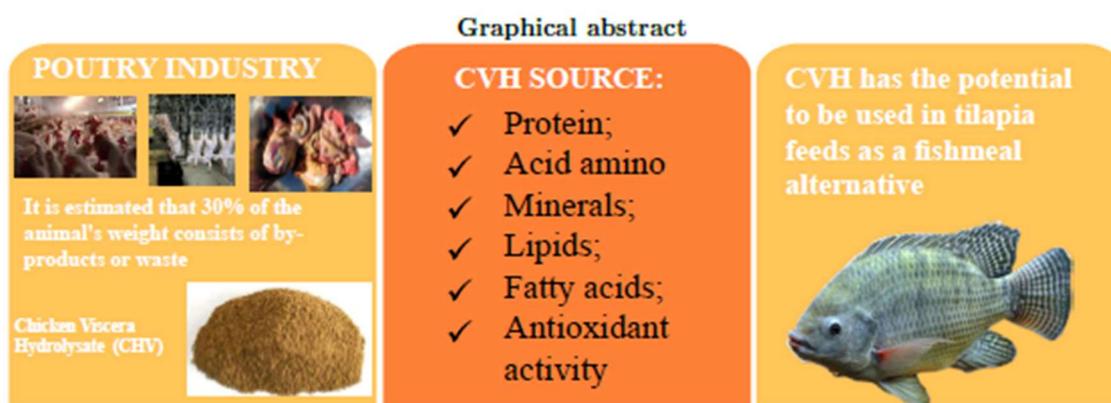
Avaliar o desempenho zootécnico e índices viscerossomáticos;

Avaliar parâmetros Histológicos de alevinos de tilápias após desempenho zootécnico.

CAPÍTULO II

Caracterização físico-química e avaliação das propriedades do hidrolisado de frango: informações nutricionais para dietas de tilápia do Nilo

Luci Emi Ogava^a · Antonio Cesar Godoy^{a,*} · Leticia Fantini-Hoag^b · Vanessa Lopes Fernandes^a · Celma Negrini^a · Camila Dal Pisol^a · Oldair Donizete Leite^c · Cristiane Canan^c · Monica Lady Fiorese^a · Wilson Rogério Boscolo^a



RESUMO

A produção de alimentos será um grande desafio para o crescimento da humanidade nas próximas décadas. Consequentemente, observamos a expansão da avicultura e da tilápicultura como atividades comerciais. O objetivo deste estudo é caracterizar e avaliar as propriedades físico-químicas do subproduto hidrolisado de frango, visando sua utilização como complemento nutricional para Tilápia. O hidrolisado de vísceras de frango (CVH) foi caracterizado quanto à sua composição centesimal: proteína (88.81%), lipídios (6.13%), umidade (10.49%) e cinzas (4.7%); atividade de água (A_w 0.50); cor $L^*=44.19$, $a^*=2.73$, $b^*=28.85$, $C^*=28.98$, $h=84.77$; habilidade de absorção de água (103.73%), óleo (148.97%), formação de emulsão (94.33%), estabilidade de emulsão (87.50%). A análise calorimétrica apresentou 5,377 kcal/kg, e análise termogravimétrica demonstrou estabilidade entre 10 to 200°C, faixa de temperatura também empregada na extrusão da ração. A avaliação de minerais e metais mostrou potássio (K), enxofre (S), fósforo (P) como elementos principais e os elementos tóxicos cádmio (Cd), chumbo (Pb) e alumínio (Al) não foram detectados. Dos ácidos graxos detectados no perfil lipídico, 66,10% são saturados, 12,43% são monoinsaturados e 21,47% são poliinsaturados. A atividade antioxidante foi verificada pelas metodologias 2,2-difenil-1-picril-hidrazil-hidrato (DPPH), 2,2-azino-bis (ácido 3-

etilbenzotiazolina-6-sulfônico), (ABTS) e poder antioxidante redutor férrico (FRAP), apresentando resultados de 61,8, 43,9 e 57,9% respectivamente. Os resultados indicam que o hidrolisado de vísceras de frango é uma opção viável para complementar dietas de tilápia.

PALAVRAS-CHAVE: Nutrição de peixes; resíduos de frango; economia circular; atividade antioxidante; perfil lipídico; minerais.

^aUniversidade Estadual do Oeste do Paraná. Rua da Faculdade, 354. Centro de Engenharias e Ciências Exatas. Toledo/PR. Brasil.

^bAuburn University. [Auburn/AL. USA](http://Auburn/AL.USA)

^cUniversidade Tecnológica Federal do Paraná. Avenida Brasil, 4232, Bairro Independência, Medianeira/PR. Brasil

* Autor correspondente: E-mail: quimicocesargodoy@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Um grande desafio para a humanidade nas próximas décadas será a produção de alimentos para a crescente população mundial, que estima-se chegar em 9,23 bilhões de pessoas em 2050 (Taagepera, 2014; dos Santos Cardoso et al 2021). Nessa perspectiva, a avicultura brasileira está em constante crescimento e em 2020 produziu 13.845 milhões de toneladas de frango, colocando o Brasil na terceira posição de maior produtor de frango no ranking mundial (de Torres Bandeira et al, 2022). Como consequência da expansão da avicultura, há a produção de resíduos e/ou subprodutos gerados no abate e processamento. Estima-se que 30% do peso do animal seja classificado como subprodutos ou resíduos, constituídos por gordura, ossos, sangue, vísceras, penas e em alguns casos, partes de menor valor econômico, como pés e cabeças (dos Santos Cardoso et al 2021).

Estes resíduos têm uma natureza muito complexa, principalmente devido ao seu teor de água associado, tendência à auto-oxidação rápida, alto nível de atividade enzimática e seu grau patogênico (Jayathilakan et al., 2012). Tais resíduos, passíveis de má gestão, representam uma ameaça à saúde ambiental se não forem tratados de forma técnica e cientificamente correta. A não utilização de subprodutos, o despejo de resíduos sólidos em aterros não autorizados, a descarga de águas residuais ricas em nutrientes em esgotos, corpos d'água ou aplicação direta na terra representam sérios riscos ambientais e de saúde, especialmente nos países em desenvolvimento (Ragasri e Sabumon, 2023).

Potanto, agregar valor aos subprodutos da cadeia da proteína animal e seus resíduos,

além de oferecer novas oportunidades para a indústria, concorda com os princípios operacionais da economia circular para o desenvolvimento sustentável (Suárez-Eiroa et al., 2019). É preciso considerar a conversão dessas matérias-primas em benefícios ambientais, sociais e econômicos para o desenvolvimento de novos produtos e ingredientes funcionais com significativo valor agregado. É desejável processar todos os subprodutos em produtos valiosos para alimentação humana, animais de estimação, gado, produtos farmacêuticos ou fertilizantes (Keijer et al., 2019; Mohan e Long, 2021; Suárez-Eiroa et al., 2019; Keijer et al., 2019; Long e Mohan, 2021).

A tilápia do Nilo está bem adaptada às condições ambientais do Brasil, tornando a tilápia uma atividade comercial com 357 mil toneladas em 2017 para 534 mil toneladas em 2021, representando 63% da produção nacional e colocando o Brasil em quarto lugar no mundo (PEIXE BR, 2022; Schulter e Vieira Filho, 2017). Observando o forte potencial de crescimento da demanda interna e do mercado internacional (PEIXE BR, 2022), a demanda por alimentos para aquicultura cresce proporcionalmente, e o principal componente protéico da ração, a farinha de peixe, é limitado pela demanda (Cardoso et al 2021; Boscolo et al, 2002). Este ingrediente compõe a maior parte da ração e é o mais caro, elevando o custo final do produto, tornando necessária a busca por substitutos (Meurer et al, 2003; Boscolo et al. 2005).

Alternativas à farinha de peixe devem ser fáceis de encontrar, baratas e simples de usar e armazenar ao fazer ração (Gatlin et al., 2007). Estudos de digestibilidade da farinha de vísceras de frango, realizados por Pezzato et al. (2002) e dos Santos Cardoso et al. (2021), demonstraram digestibilidade aparente semelhante quando comparada à farinha de peixe.

Diante do contexto descrito e com o intuito de colaborar para que resíduos e subprodutos possam ser reaproveitados e valorizados, este trabalho visa avaliar características físico-químicas, perfil lipídico e mineral, além de propriedades funcionais e biológicas como atividades antimicrobiana e antioxidante do hidrolisado de vísceras de frango comercial, visando complementar a demanda nutricional da Tilápia.

2. METODOLOGIA

2.1 Matéria prima e reagentes

O hidrolisado de vísceras de frango (CVH) foi fornecido pela Brasil Foods S/A - Setor BRF® Ingredientes em Concórdia-SC, Brasil, tendo como matéria-prima vísceras, fígado e carne de frangos submetidos à hidrólise enzimática. Todos os reagentes químicos utilizados neste estudo exibiram pureza analítica e água ultrapure.

2.2 Composição centesimal

A composição proximal do CVH, que determina a umidade, conteúdo mineral, proteína bruta e lipídios brutos, foi realizada de acordo com a AOAC, (2016). Os lipídios foram extraídos com hexano, e o fator de conversão de nitrogênio de 6,25 foi usado para determinar a presença de compostos nitrogenados nas proteínas.

2.3 Caracterização física

2.3.1 Atividade de água

Após estabilização a 25°C, a atividade de água (A_w) foi medida em triplicata com o equipamento Aqualab® 4TE (Decagon, São Paulo/SP, Brasil).

2.3.2 Cor

O colorímetro Minolta Colorimeter CR-400 (Japão) com componente de iluminação especular D65, observação padrão de 10° e triplicata foi usado para determinar a cor. Usando o sistema de cores CIELab (Commission Internationale de L'éclairage), os parâmetros L^* indicam Brilho (0 para preto e 100 para branco), a^* indica a tendência de verde ($-a^*$) para vermelho ($+a^*$), b^* indica a tendência do azul ($-b^*$) para o amarelo ($+b^*$), h indica a tonalidade e é representado pelo ângulo (0° = vermelho, 90° = amarelo, 180° = verde e 270° = azul) e C^* indica saturação de cor (Rezende et al., 2018).

2.4 Caracterização termogravimétrica

O perfil térmico do hidrolisado foi determinado com o Analisador Térmico STA 6000 (PerkinElmer) aquecendo 10mg do material em um cadinho de platina de 50°C a 600°C, na taxa de 100°C min^{-1} em atmosfera de nitrogênio a 10 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

2.5 Calorimetria

Com base em Chaves et al., (2018) com modificações, o poder calorífico do CVH foi determinado por Bomba Calorimétrica, marca Ika, modelo C-200, utilizando aproximadamente 400 mg de material seco, e os valores foram expressos em $\text{KJ}\cdot\text{g}^{-1}$.

2.6 Caracterização das propriedades funcionais

2.6.1 Capacidade de absorção de água e óleo

A capacidade de absorção de água foi determinada de acordo com Kohn et al. (2015), e a capacidade de absorção de óleo foi determinada de acordo com Sosulski et al. (1976), ambos com modificações e em triplicata. Em um tubo Falcom de 15mL, foram adicionados 1g de hidrolisado e 5mL de água destilada ou 5mL de óleo de milho (Suavit, Maringá, Brasil) para absorção de água ou óleo, respectivamente. A mistura foi agitada em vortex (Logen, LSM56-4, Brasil) por 1 minuto, mantida em temperatura ambiente por 30 minutos e, em seguida, centrifugada (Cientec, CT-5000R, Brasil) por 15 minutos a 3800 rpm e 25°C. O sobrenadante foi então descartado, o hidrolisado foi repesado e o cálculo baseado na equação 1 foi expresso como uma porcentagem do peso inicial:

$$\text{Capacidade de absorção de água e óleo (\%)} = \frac{\text{peso final} - \text{peso inicial}}{\text{peso inicial}} \times 100 \quad (1)$$

2.6.2 Capacidade de formação e estabilidade de emulsão

A capacidade de formação e a estabilidade das emulsões foram avaliadas em triplicata à temperatura ambiente de acordo com Cano-Medina et al. (2011). Amostras CVH (4g) foram colocadas em béqueres de 50mL com 5mL de tampão fosfato de sódio (0,01 mol.L⁻¹, pH 7,0) e a mistura foi agitada vigorosamente (Fisatom, 713 D, Brasil) a 1000 rpm enquanto o óleo de milho foi adicionado ao ponto de emulsão com formação de fase homogênea e viscosidade máxima. A emulsão (10mL) foi então transferida para um tubo falcon de 15mL e centrifugada (Cientec, CT-5000R, Brasil) a 4000rpm e 25°C por cinco minutos. O volume de óleo em excesso no sobrenadante foi então medido, subtraído do volume inicial e o cálculo foi expresso como % do volume inicial usando a equação 2. Para determinar a estabilidade desta emulsão, 10mL da emulsão formada foram colocados em um Tubo falcon de 15mL, aquecido a 80°C por 30 minutos e centrifugado (Cientec, CT-5000R, Brasil) a 4000 rpm por 5 minutos a 25°C. O sobrenadante foi removido com cuidado e a emulsão pós-centrifugação foi calculada e expressa como uma porcentagem do volume inicial usando a equação 3.

$$\text{Capacidade de formação de emulsão (\%)} = \frac{\text{volume após centrifugação}}{\text{volume pré centrifugação}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Estabilidade de emulsão (\%)} = \frac{\text{volume pós centrifugação}}{\text{volume pré centrifugação}} \times 100 \quad (3)$$

2.6.3 Capacidade de formação de espuma e estabilidade de espuma

Com base na pesquisa adaptada de Mohanty, Mulvihill e Fox (1988), a capacidade de formação de espuma e a estabilidade da espuma foram avaliadas. Em um tubo falcon de 50mL, foram adicionados 6g de hidrolisado de vísceras, 10mL de tampão fosfato de sódio 0,01 mol.L⁻¹, pH 7,0 e o volume inicial foi avaliado. Após 10 minutos de vórtex (Logen, LSM56-4, Brasil), a amostra foi agitada vigorosamente por 1 minuto com um misturador espiral (Reino Unido, BMM2, Brasil) e o volume final foi medido mais uma vez. De acordo com a equação 4, a capacidade de formação de espuma foi então expressa como uma porcentagem do volume inicial. O tubo foi deixado em repouso por 30 minutos em temperatura ambiente antes de ser reavaliado quanto à estabilidade da espuma. O valor foi expresso em percentual da capacidade, conforme equação 5:

$$\text{Formação de espuma (\%)} = \frac{\text{volume pós agitação} - \text{volume pré agitação}}{\text{volume pré agitação}} \times 100 \quad (4)$$

$$\text{Estabilidade da espuma (\%)} = \frac{\text{volume pós repouso}}{\text{volume pré repouso}} \times 100 \quad (5)$$

2.7 Caracterização elementar: minerais e metais

Nesta investigação foram utilizados reagentes de grau analítico. O peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 30% m/m foi obtido da Vetec, Duque de Caxias, Brasil. Antes da digestão do hidrolisado e das diluições, o ácido nítrico (HNO₃) (pureza 65%, Sigma Aldrich, St. Louis, EUA) foi bidestilado em um sistema de quartzo (modelo DuoPur®, Milestone, Sorisole, Itália). Para a descontaminação de todos os materiais foi utilizada solução de limpeza HNO₃ 10% (v/v). Para calibração do ICP-OES, soluções aquosas de referência foram preparadas usando um padrão multielementar SCP33MS (10mg.L⁻¹, PlasmaCal ICP-OES & ICP-MS®, SCP Science, Baie d'Urfé, Canadá). Com o auxílio de um sistema ultrapurificador (Master System®, Gehaka, São Paulo, Brasil), foram preparadas soluções de referência e diluições com água purificada.

Para análise mineral, as amostras foram preparadas previamente: cada amostra de hidrolisado foi pesada (0,500g) em recipientes fechados de 50mL de PTFE-TFM, 3 mL de HNO₃ (65% m/v) e 2mL de H₂O₂ (30% v/v) foram adicionados, e as garrafas foram deixadas em temperatura ambiente por 30 minutos. Utilizando o protocolo de digestão, as amostras foram submetidas à digestão úmida em forno de micro-ondas (Multiwave GO®Plus, Anton Paar, Graz, Áustria): A mistura reaccional é aquecida gradualmente durante 5 minutos até

atingir 180°C, mantida a 180°C durante 10 minutos e arrefecida. O material de referência de fígado bovino (NIST, 1577c), digerido nas mesmas condições que as amostras de hidrolisado, foi usado para avaliar a precisão, obtendo uma recuperação de 93%.

Os elementos foram então determinados usando ICP-OES (Spectro, modelo Ciroc CCD®, Austrália) equipado com um nebulizador pneumático após ajuste de volume da amostra para 25mL com uma solução de HNO₃ a 0,5% (v/v).

2.8 Lipídeos e Ácidos Graxos

Foram feitas adaptações aos trabalhos de Figueiredo et al. (2016) e Torquato et al. (2020) a fim de identificar os ácidos graxos presentes no CVH. Em um tubo falcon de 15mL, 0,1g de CVH foi adicionado a de hidróxido de sódio e metanol (1,5 mol.L⁻¹), seguido de homogeneização e sonicação contínua (banho de ultrassom Elmasonic P60H, Elma Ultrasonic, Alemanha) por 5 minutos a 25 Hz, 165W e 100% de potência. Finalmente, 1mL de N-heptano e 500 µL de padrão tricostanoato de metila (1mg.mL⁻¹) foram adicionados, agitados em vórtex (Logen, LSM56-4, Brasil) e centrifugados (Cientec, CT5000R, Brasil) a 2000rpm, 25°C, por 1min. O material foi deixado em repouso sob refrigeração (7°C) por 24 horas para separação total das fases, e a fase superior com ácidos graxos esterificados foi coletada e analisada em cromatógrafo a gás (Perkin Elmer, Clarus 680 GC, Waltham, MA, USA) equipado com detector de ionização de chama (FID), coluna capilar de sílica fundida (100 m x 0,25 mm), fase estacionária com 0,25 m CP 7420 cianopropil polissiloxano, gás hélio carreador (1,1 mL min⁻¹), chama de gás hidrogênio (40mL min⁻¹) e ar sintético (400 mL min⁻¹). As temperaturas especificadas foram de 80°C (permanecendo por 1 min), seguido de aquecimento em uma rampa de temperatura de 20°C min⁻¹ até uma temperatura de 160°C. Em seguida, foi aquecido a 198°C, com rampa de 1°C min⁻¹ e por fim uma rampa de 5°C min⁻¹ até atingir 250°C (permanecendo por 2 min). A temperatura do injetor foi de 240°C, a temperatura do detector foi de 250°C e a divisão foi de 1:150. Usando um integrador-processador CG-300 (Scientific Instruments CG) e tempos de retenção comparáveis ao padrão FAME, os picos cromatográficos resultantes foram determinados e identificados (FAME com 37 Componentes, 18919-1AMP, Supelco, EUA).

2.9 Composição de amino ácido

O aminograma das amostras de CVH foi determinado usando a metodologia de Zou et al. (2015). As amostras foram pesadas e transferidas para um tubo de ensaio contendo 10 mL de HCl com concentração de 6 mol L⁻¹ e 0,1% de fenol, que foi selado e hidrolisado a 110°C por 22 horas. Após o processo de hidrólise, as amostras foram secas a vácuo a uma temperatura de 50°C. Após levar a amostra à temperatura ambiente, a solução foi filtrada e o volume ajustado com água destilada. Em seguida, 1 mL do filtrado foi transferido para um tubo e seco a pressão reduzida (50°C). O resíduo foi dissolvido em 2 mL de água antes de ser seco novamente sob pressão reduzida. As amostras foram posteriormente dissolvidas em 2mL de solução de citrato de sódio (pH 2,2). Um filtro de 0,22 m foi usado para filtrar as amostras homogeneizadas. O filtrado foi injetado em um analisador automático de aminoácidos (Hitachi 835-50, Tóquio, Japão) para análise, com derivatização de ninidrina pós-coluna. Cada análise foi repetida três vezes. Usando a área do pico, a concentração de aminoácidos na solução foi determinada.

2.10 Atividade antimicrobiana

Foram feitos ajustes no método colorimétrico de microdiluição e corante resazurina 0,1% utilizado por Dias et al. (2016) para avaliar a atividade antimicrobiana. Em meio Plate Count Agar e cloreto de trifeniltetrazólio, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* e *Escherichia coli* foram cultivados. Microplacas contendo 96 poços foram carregadas com 100 µL de meio de cultura Mueller Hinton e 100 µL de hidrolisado diluído no mesmo caldo com 5% de dimetilsulfóxido (DMSO) em concentrações variando de 55,6 a 0,027 mg.mL⁻¹. Ao término do procedimento, 10µL (1,0 x 10⁶ UFC mL⁻¹) de inóculo bacteriano foram adicionados a cada poço. As microplacas foram então incubadas a 35°C por 24 horas antes da adição de 10 µL do corante resazurina (0,1 mg.mL⁻¹) e incubadas novamente na mesma temperatura por 30 minutos. Após esse período, a revelação ocorre por meio de mudança de coloração, sendo azul ou roxo indicando inibição do crescimento e rosa indicando promoção do crescimento. A concentração inibitória mínima é usada para expressar os resultados. O antibiótico levofloxacino foi utilizado como controle positivo, e bactérias em meio de cultura Mueller Hinton com 5% de DMSO foi utilizado como controle negativo.

2.11 Atividade antioxidante

Para avaliar a atividade antioxidante, os compostos foram extraídos usando um método adaptado de Rufino et al. (2007). Em um tubo falcon de 50mL, 0,3g de HV e 3mL de metanol

70% foram agitados em vórtex (Logen, LSM56-4, Brasil) por 30 minutos, centrifugados (Cientec, CT-5000R, Brasil) a 3600rpm, 25°C por 15 minutos, e o sobrenadante foi coletado e colocado em um frasco de 10mL. A substância foi extraída duas vezes e o volume do frasco foi completado com 70% de metanol.

2.11.1 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) radical - ABTS

De acordo com Vignoli et al (2012), o potencial antioxidante foi determinado pela eliminação de radicais ABTS em triplicata usando estoque ABTS (estoque ABTS 7mM em persulfato de potássio 2,45mM) diluído em tampão fosfato (pH 7,4) até a absorbância em 730nm atingiu $0,700 \pm 0,020$. Em 10µL da amostra foram adicionados 4mL da solução diluída de ABTS e a absorbância a 730 nm foi medida em um espectrofotômetro UV-Vis (PerkinElmer, Lambda XLS, Beaconsfield, Reino Unido) após 6 minutos de reação. Os resultados foram relatados em termos de equivalentes Trolox.

2.11.2 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate radical - DPPH

Com base em Guergoletto et al. (2020) e Vignoli, Bassoli e Benassi, (2011), a atividade antioxidante foi avaliada usando o método de captura de DPPH em triplicata. 20µL da amostra foram adicionados a um tubo de ensaio juntamente com 2 mL de tampão acetato 100 mM (pH = 5,5), 2 mL de etanol e 1 mL de solução DPPH (250 µM). O tubo de ensaio foi colocado em escuridão absoluta à temperatura ambiente por 30 minutos. A absorbância das amostras foi subsequentemente medida a 517 nm usando um espectrofotômetro (PerkinElmer, Lambda XLS, Beaconsfield, Reino Unido). Os valores foram representados usando a equação 6:

$$IA(100\%) = 100 - \frac{Ab_{amostra}}{Ab_{amostra\ controle}} \times 100 \quad (6)$$

2.11.3 Poder antioxidante de redução do ferro - FRAP

Em triplicata, 90 µL de amostras de CVH foram adicionados a um tubo de ensaio contendo 2,7 mL de FRAP e 270 µL de água ultrapura, seguido de vórtex (Logen, LSM56-4, Brasil) por 10 segundos e 30 minutos de incubação a 37°C. Após esse período, a amostra foi avaliada por espectrofotômetro (PerkinElmer, Lambda XLS, Beaconsfield, Reino Unido) com leitura de absorbância a 595nm, sendo os valores expressos em equivalente de sulfato ferroso por grama de amostra.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição proximal

A composição centesimal da CVH foi determinada e os resultados são apresentados na Tabela 1. Os teores de proteínas (88,81%) e lipídios (6,13%) da CVH a qualificam como uma fonte potencial de proteínas e lipídios para fins comerciais. Em comparação com outros animais, os peixes têm uma maior exigência de proteína. A ração para peixes contém entre 28 e 50% de proteína bruta (PB) (variável com base na espécie, habitat e estágio de desenvolvimento), enquanto suínos e frangos requerem níveis de PB entre 14 e 16% e 18 a 23%, respectivamente (Andrade et al. , 2015; NRC, 2011; Furuya et al., 2010).

Tabela 1. Caracterização proximal, física, térmica e funcional de CVH

Caracterização	hidrolisado de vísceras de frango (Média ±SD)
Caracterização Centesimal e Termal	
Umidade %	10,49± 0,08
Cinza %	4,27± 0,03
Proteína bruta %	80,81± 0,53
Lipídio %	6,13± 0,05
Calorimetria Kcal/Kg	5377
Caracterização propriedades físicas	
Atividade de água	0,50±0,02
Cor	
L*	44,19±0,92
a*	2,73±0,15
b*	28,85±1,25
C*	28,98±1,37
h	84,77±0,05
Caracterização propriedades funcionais %	
Capacidade absorção água	103,73 ± 1,95
Capacidade absorção óleo	148,97± 2,05
Abilidade de formação emulsão	94,33± 1,15
Estabilidade de emulsão	87,50± 3,53
Habilidade de formação e estabilidade espuma	0,00

Média ±SD – Desvio Padrão; Cor - Diferenças usando CIE L* a* b* coordenadas

A tilápia do Nilo utiliza lipídios como fonte eficiente de energia e ácidos graxos, sendo vantajoso incluir lipídios em dietas de tilápias proporcionalmente ao valor energético deste

nutriente (Davis, 2015). Os teores de proteínas e lipídios dos hidrolisados de subprodutos de frango, que variam de acordo com a matéria-prima, são 78,1% e 8,1%, respectivamente para resíduos em geral (Cardoso et al., 2021), 63,3% e 4,8% para intestino (Taheri et al., 2013) e, 74,04% e 1,16% para penas (Vimalraj et al., 2022), 84,66% e 0,7% para pés e cabeça (Bouhamed et al., 2018). Além do material de partida, variáveis associadas ao tipo de hidrólise (ácida, alcalina e enzimática) e tempo impactam o rendimento e a qualidade das proteínas no hidrolisado (Nawae e Suntornsuk, 2021). Os valores determinados para umidade e cinzas no hidrolisado foram 10,49% e 4,7%, respectivamente.

3.2 Caracterização física

3.2.1 Atividade de água

O CVH apresentou A_w de 0,50 (Tabela 1), comparável aos valores observados para hidrolisado de penas A_w 0,35 (Bouhamed et al., 2018) e hidrolisado de peixe A_w 0,53 (Terres Ribeiro et al., 2020). Esse índice é ideal para armazenamento, pois valores de A_w acima de 0,6 podem promover o crescimento de bactérias (*Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Salmonella* e *Escherichia coli*) e fungos (*Aspergillus*, *Penicillium* e *Saccharomyces*), diminuindo a qualidade do hidrolisado (Lima et al., 2021; Barbosa-Cánovas et al., 2020).

3.2.2 Cor

O CVH forneceu as seguintes coordenadas na análise de cor: $L^*=44,19$, $a^*=2,73$, $b^*=28,85$, $C^*=28,98$, $h=84,77$ (Tabela 1), onde a cor predominante é um tom mais escuro amarelo com um toque de vermelho. Taheri et al. (2012) determinaram que hidrolisados de cabeça e pés de frango e hidrolisados de intestino de frango tinham uma tonalidade levemente esverdeada. Vimalraj et al. (2022) determinaram uma tonalidade semelhante, $L^*=37,53$, $a^*=0,87$, $b^*=12,22$, $h=85,41$ e $C^*=12,26$.

Estimulantes alimentares podem desempenhar um papel significativo em relação à melhoria do consumo de ração e taxa de crescimento dos peixes. No caso da tilápia, as preferências alimentares e dietéticas estão associadas a vários fatores que foram estudados extensivamente, incluindo espécie e tamanho da tilápia (Turker et al., 2003), fotoperíodo (Rad et al., 2006), tamanho e forma da dieta (Santiago et al., 1987), cor de fundo (Lucchiari et al., 2007; Volpato et al., 2004), condições de cultura (El-Sayed et al., 2013). Nesta investigação

mais recente sobre os efeitos da cor da ração no desempenho de alevinos de tilápia do Nilo, descobriu-se que as larvas preferem dietas de cor mais escura. No entanto, as investigações visam obter uma melhor compreensão das respostas alimentares à visão de peixes ou estímulos químicos (Volpato et al., 2013).

3.3 Caracterização das Propriedades Funtionais

3.3.1 Capacidade de absorção de água e óleo

O CVH foi capaz de absorver 103,73% e 148,97% de água e óleo respectivamente em relação à massa inicial (Tabela 1), situação também observada por Bouhamed et al., (2018) com proteína de pena hidrolisada contendo 1,08g de água e 1,95g de óleo por g⁻¹ de amostra e Razavizadeh et al., (2022) com 1,9 mL de óleo por g⁻¹ de amostra em proteína hidrolisada de pele de frango. Em 2012, Taheri et al., (2013) relataram alta capacidade de absorção de água (2,8 mL) e óleo (2,8 mL) por grama de cabeça e pés de frango hidrolisados. Para a aplicação de CVH como suplemento nutricional em ração para peixes, a absorção demonstrada e as características de água e óleo sugerem que ele é um facilitador para a incorporação e mistura efetiva dos constituintes hidrofílicos e hidrofóbicos usados na formulação do processo de extrusão de ração.

3.3.2 Capacidade de formação de emulsão e estabilidade de emulsão

A capacidade de formação e estabilidade das emulsões em CVH foram de 94,33% e 87,50%, respectivamente (Tabela 1), semelhantes aos observados por Bouhamed et al., (2018). Resíduos de aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos funcionam como surfactantes e contribuem para a estabilidade do sistema de emulsão óleo-em-água. Segundo relatos, os peptídeos devem conter pelo menos 20 resíduos para exibir propriedades surfactantes (Bouhamed et al., 2018; Elavarasan et al., 2013).

3.3.3 Capacidade de formação de espuma e estabilidade de espuma

O CVH não demonstrou capacidade de formação de espuma. Comportamento semelhante foi observado para hidrolisados de pé e cabeça de frango (Taheri et al., 2012). Em contraste, os hidrolisados de penas de frango exibiram formação significativa de espuma (Bouhamed et al., 2018). A formação de espuma é dependente do tratamento de hidrólise aplicado ao resíduo e conseqüentemente do perfil (tamanho) das proteínas e aminoácidos produzidos (Bouhamed et al., 2018; Bambirra Alves et al., 2020; Razavizadeh et al., 2022).

3.4 Análise Termogravimétrica

O comportamento termogravimétrico do CVH foi investigado com foco em seu potencial uso como aditivo alimentar. O processo de extrusão, que ocorre em temperaturas entre 130 e 150°C e resulta na expansão e gelatinização da mistura de ingredientes, bem como na produção de pellets de baixa densidade que flutuam na água, é um dos métodos mais comuns para produção de ração para peixes (Reis et al., 2012). A Figura 1 mostra o perfil termogravimétrico da CVH. É possível observar termoestabilidade no CVH até 200°C, com perda de massa de aproximadamente 4,5%, provavelmente devido à perda de água. A 250°C, a perda de massa foi de aproximadamente 10%. Comportamento termogravimétrico semelhante foi observado para hidrolisados de penas de frango (Mokrejs et al., 2010). Ao analisar o perfil termogravimétrico, observou-se que o CVH é um material termoestável na faixa de temperatura utilizada na produção de ração extrusada e, portanto, é um candidato a ingrediente no uso de extrusão para produção de ração.

3.4.1 Calorimetria - Energia Bruta

A energia dietética necessária para o crescimento da tilápia é expressa como energia digestível (DE) ou energia metabolizável (EM) (Furuya, 2013). Em muitos casos, a alta disponibilidade de energia nas dietas leva a uma baixa ingestão de proteínas e, conseqüentemente, de nutrientes, resultando em deposição de gordura visceral e corporal, perda da qualidade da carne, alta oxidação de ácidos graxos e menor vida de prateleira. A deficiência energética nas dietas, por outro lado, causa a síntese de energia a partir de proteínas, o que aumenta as taxas de conversão alimentar e os custos de produção, além de promover aumento da excreção de amônia em ambientes aquáticos (Boscolo et al., 2006). O conteúdo energético estimado por quilograma de CVH foi de 5.377 kcal (Tabela 1), valor superior aos 1.195 kcal por quilograma de hidrolisados de penas de frango (Soares et al., 2020). Boscolo et al. (2006) sugerem alimentar alevinos de tilápia entre 2900 e 3400 Kcal de DE por quilo de ração.

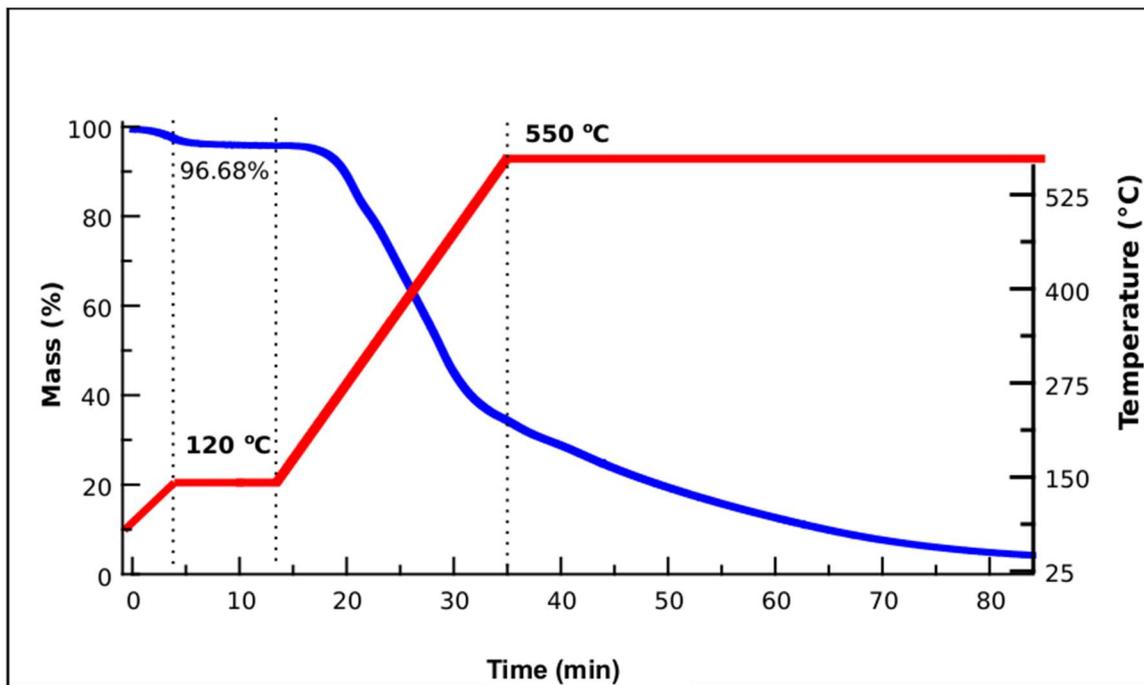


Figura 1. Termograma de hidrolisado de víscera de frango

3.5 Avaliação de minerais e metais potencialmente tóxicos

Os animais aquáticos requerem elementos inorgânicos ou minerais para os processos normais da vida, incluindo a construção e manutenção do esqueleto, bem como a participação desses minerais em enzimas essenciais ao bom funcionamento do organismo animal. Os peixes de criação intensiva, em particular, também podem absorver alguns elementos inorgânicos de seu ambiente (Hardy, 2002). A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos na análise dos elementos do CVH.

As principais funções dos minerais essenciais nos peixes são o desenvolvimento do esqueleto, a manutenção dos sistemas coloidais (pressão osmótica, viscosidade e difusão) e a regulação do equilíbrio ácido-base. O cálcio e o fósforo são essenciais para o desenvolvimento das estruturas esqueléticas do corpo e são normalmente necessários na faixa de gramas. Juntamente com fosfatos e bicarbonatos, sódio, potássio e cloreto mantêm a homeostase e o equilíbrio ácido-base. Traços de metais como Fe, Mn, Cu, Co, Zn, Mo e Cr, entre outros, são componentes essenciais de hormônios, enzimas e/ou ativadores enzimáticos, e completam o ciclo fisiológico necessário para a manutenção da vida (Hardy, 2002; Furuya et al., 2010). As principais funções dos minerais essenciais nos peixes são o desenvolvimento do esqueleto, a manutenção dos sistemas coloidais (pressão osmótica, viscosidade e difusão) e a regulação do equilíbrio ácido-base. O cálcio e o fósforo são essenciais para o desenvolvimento das

estruturas esqueléticas do corpo e são normalmente necessários na faixa de gramas. Juntamente com fosfatos e bicarbonatos, sódio, potássio e cloreto mantêm a homeostase e o equilíbrio ácido-base. Traços de metais como Fe, Mn, Cu, Co, Zn, Mo e Cr, entre outros, são componentes essenciais de hormônios, enzimas e/ou ativadores enzimáticos, e completam o ciclo fisiológico necessário para a manutenção da vida (Halver e Hardy , 2002; Furuya et al., 2010).

Table 2. Caracterização dos principais minerais no CVH.

Elemento	MedidaConcentração (ppm)		LOQ ^b
	Média	+SD	
Alumínio (Al)	LOD ^a	-	0.5
Bário (B)	4.76	0.85	0.05
Cálcio (Ca)	9210	27	2
Cobre (Cu)	40.1	0.2	0.03
Cromo (Cr)	1.1	0.8	0.05
Cádmio (Cd)	LOD ^a		0.03
Ferro (Fe)	140.3	4.6	0.2
Chumbo (Pb)	LOD ^a	-	0.1
Potássio (K)	7297	28	2
Manganês (Mn)	2.15	0.16	0.05
Magnésio (Mg)	854.3	8.6	0.1
Níquel (Ni)	0.37	0.23	0.05
Sódio (Na)	3827	20	2
Enxofre (S)	6.260	10	2
Zinco (Zn)	68.4	0.8	0.1
Fósforo (P) ^c	5273.7	4.6	

^aLOD Limite de detecção

^bLOQ Limite de quantificação

^cFósforo foi estimado por método colorimétrico

No presente estudo, a composição mineral do hidrolisado revelou a presença de K, S, P, Na, Ca, Mg e Fe como os elementos mais abundantes (em proporções variando de 0,1% a 0,78%). Outros elementos como Ba, Cu, Cr, Mn, Ni e Zn apresentaram concentrações entre 0,37 e 68,4 partes por milhão. Embora os peixes sejam capazes de extrair certos elementos da água (normalmente, os teores de Ca, Mg, Na, K, Fe, Zn, Cu e Se, derivados do meio aquático são suficientes para atender algumas das necessidades nutricionais), dietas desprovidas de desses minerais resultam em perda de apetite, crescimento retardado, anemia hipocrômica e deformidades cranianas. Cloretos, fosfatos e sulfatos são obtidos de forma mais eficaz a partir de fontes alimentares em dietas de peixes (Webb, 2019; Furuya et al., 2010).

O CVH apresentou oito dos dez minerais necessários para a nutrição da tilápia (Hardy, 2002), com exceção de iodo e selênio. Os níveis de concentração dos elementos observados no CVH atendem às exigências nutricionais da Tabela brasileira para tilápia, com exceção do Se, e são praticamente superiores aos observados no hidrolisado de penas de frango (Tabela 3). O CVH apresenta-se como uma fonte mineral alternativa para a tilápia.

A concentração e disponibilidade de fósforo na dieta de um animal são os dois fatores mais importantes na retenção de fósforo (Sugiura et al., 1998). A concentração de fósforo no hidrolisado foi de 0,53%, sendo maior que a concentração de 0,04% no hidrolisado de penas de frango (Bouhamed et al., 2020), porém menor que a concentração no hidrolisado de mucosa suína com farinha de soja como matriz (0,80%) (Frikha et al., 2014). Como as dietas dos peixes também são compostas por derivados vegetais, a concentração de fósforo do hidrolisado avaliado foi comparável ou superior à observada em algumas fontes vegetais, incluindo cevada (0,28%) e milho (0,34%) (Sugiura et al., 1999), farelo de soja (0,22%) (Parsons et al., 2023) e farelo de trigo (0,53 a 1,20%) (Eeckhout e De Paepe, 1994). Cerca de dois terços do conteúdo de fósforo em vários derivados de plantas está na forma de fitato e, como resultado, não está prontamente disponível para peixes e outras espécies monogástricas (Fries et al., 2020; Signor et al., 2016). Além da baixa disponibilidade de fósforo, o fitato reduz a disponibilidade de outros nutrientes dietéticos para os animais (Sugiura et al., 1999). Portanto, a utilização de ingredientes com alta disponibilidade desses elementos, como o ingrediente avaliado, é fundamental para o alcance de uma alimentação balanceada

Table 3. Minerais requisitados para Tilapia, a concentração de alguns elementos presente na pena de frango hidrolisada e no CVH.

Fonte	Ca (%) ^b	P (%) ^c	K (%)	Mg (%)	Fe (mg)	Cu (mg)	Mn (mg)	Zn (mg)	I (ug)	Se (mg)
Hardy 2002 [#]	0.03-0.65	0.9	R ^d	0.06	R	3.5	12	20	R	R
Furuya 2010 [#]	-	0.46-0.75	-	-	60.0	4.0	-	79.5	-	0.25
Bouhamed, et al 2018	0.2	0.04	0.2	0.06	-	-	-	-	-	-
Este trabalho	0.9	0.53	0.73	0.08	140	40	2.15	68.4	-	-

a - Percentual ou montante por kg alimento.

b - Requisição de cálcio de peixes cultivado em água doce varia de 0.03 a 0.65% da dieta.

c - Fósforo inorgânico.

d- Requerido[#].

Além do potássio, que apresentou teores em torno de 0,78% (m/m), os teores estimados de enxofre ficaram em torno de 0,63% (m/m). A presença de enxofre é um

indicativo de aminoácidos sulfurados que podem sofrer decomposição durante o armazenamento, causando um odor desagradável devido à formação de compostos voláteis como o sulfeto de dimetila (Binsi et al., 2016). Elementos potencialmente tóxicos e/ou bioacumulativos como Cd, Pb e Al não apresentaram concentrações significativas no hidrolisado, ficando abaixo do limite de quantificação da técnica analítica.

A incorporação de hidrolisados de origem animal na alimentação de peixes pode melhorar o consumo de ração, desempenho de crescimento, ser imunomodulador, melhorar o estado oxidativo ou mesmo aumentar a resposta dos peixes ao estresse ou eventos infecciosos (Bah et al., 2013). No entanto, uma análise mais abrangente dos constituintes é importante. O nível de ferro, constituinte derivado da hemoglobina no sangue, deve ser monitorado para manter limites adequados na dieta. A incorporação de hidrolisados de origem animal na alimentação de peixes pode melhorar o consumo de ração, desempenho de crescimento, imunomodulação, estado oxidativo e até mesmo a resistência do peixe ao estresse e infecção (Bah et al., 2013). No entanto, uma análise mais exaustiva dos constituintes é necessária. O ferro, componente derivado da hemoglobina, deve ser monitorado para manter níveis adequados na dieta. O excesso de ferro pode ser tóxico para os peixes, devido ao declínio do sistema de defesa antioxidante ou disfunção respiratória (Singh et al., 2019; Resende et al., 2022).

3.6 Lipídios e Ácidos Graxos

Os lipídios dietéticos são importantes fontes de energia e ácidos graxos essenciais, importante ao desenvolvimento e crescimento dos organismos vivos. Os constituintes dos lipídios desempenham papéis cruciais no crescimento, reprodução, saúde e, no caso dos peixes, na qualidade da carne (Davis, 2022). Dietas deficientes em ácidos graxos linoléico e linolênico resultam em diminuição do apetite, crescimento lento, nervosismo (síndrome do choque) e fígado gorduroso em peixes; os lipídeos da dieta devem preferencialmente ser poliinsaturados para melhorar a flexibilidade e permeabilidade das membranas celulares (Andrade et al., 2015).

A porcentagem média de lipídios extraídos da CVH foi de 6,2% em massa. Esse percentual é comparável aos achados de dos Santos Cardoso et al., 2021 (8,1% em massa) e Soares et al. (2020) (6,8% em massa) referente a hidrólise de subprodutos da cadeia de corte de frango.

O perfil de ácidos graxos dos hidrolisados de vísceras revelou a presença de 66,1% de ácidos graxos saturados e 34,12% de ácidos graxos insaturados (Figura 2D). O ácido graxo

saturado mais abundante foi o ácido palmítico, que compôs 36,35 % do total de ácidos graxos. Os dois ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) mais prevalentes foram os ácidos palmítoleico (C16:1) e oleico (C18:1), respondendo por 5,41 e 3,11%, respectivamente.

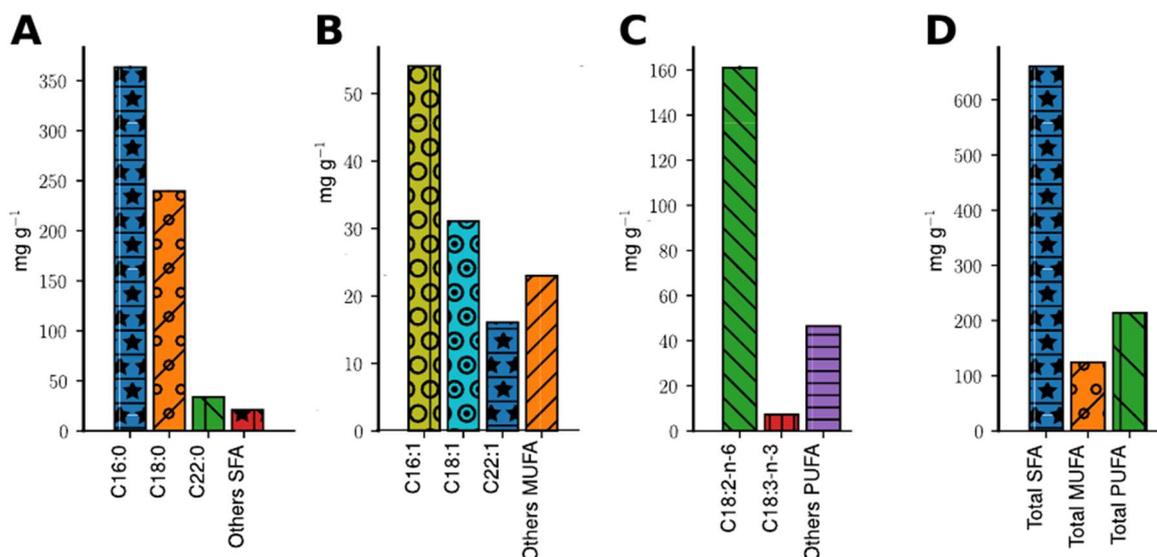


Figura 2: Perfil de ácidos graxos obtido de CVH; SFA=ácidos graxos saturados, MUFA=ácidos graxos monoinsaturados, PUFA=ácidos graxos poliinsaturados; Outros SFA \leq 10mg.g⁻¹;Outros MUFA \leq 10mg.g⁻¹; Outros PUFA \leq 10mg.g⁻¹

A maioria dos peixes são incapazes de sintetizar ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) das séries n-3 e n-6; conseqüentemente, devem ser fornecidos na dieta (Davis, 2022). O ácido linolênico dietético, 18:3 n-3, e o ácido linoléico, 18:2 n-6, são geralmente suficientes para atender aos requisitos de PUFA dos peixes de água doce. Os hidrolisados de vísceras de frango apresenta 0,72% e 16,10% destes, respectivamente.

Segundo Boscolo et al. (2004), a adição de lipídios na dieta da tilápia causa aumento da gordura corporal. A tilápia requer 18:2 de ácidos graxos da família linoléica (Kubitza, 1999), sendo 1% suficiente para os alevinos de tilápia do Nilo. A exigência, segundo (NRC, 2011), é de 0,5%.

A adição de ácido linoléico (18:2n-6) à dieta da tilápia do Nilo melhora as variáveis de desempenho produtivo, influencia o metabolismo e a proporção de ácidos graxos em filés e fígados e eleva o teor de proteína dos filés (Furuya et al., 2010). Nos trabalhos de Jiao et al. (2020) e Luo et al. (2023), mais informações sobre o metabolismo celular de ácidos graxos na tilápia do Nilo podem ser encontradas.

3.7 Composição Amino ácidos

Os resultados da análise de EAAs e NEAAs em CVH e outras fontes de hidrolisados (dos Santos Cardoso et al., 2021) são apresentados na Tabela 4: proteína hidrolisada de fígado de porco (HSLP); proteína de muco suíno hidrolisada (HSMP); proteína hidrolisada de penas (HFP); e proteína hidrolisada de aves (HPP).

Na biossíntese de proteínas de peixes, são utilizados 20 aminoácidos (AAs), que são classificados como essenciais (EAAs) e não essenciais (NEAAs) e, como componentes primários do crescimento dos tecidos, são tipicamente os nutrientes mais caros na produção animal. Além de promover o crescimento, os aminoácidos e seus metabólitos são reguladores cruciais das vias metabólicas primárias necessárias para manutenção, imunidade, comportamento, reprodução e utilização de nutrientes, entre outros (Li et al., 2009, 2021). Estabelecer os requisitos dietéticos ideais de AA e caracterizar fontes alternativas de proteína/AA tem sido, portanto, um dos principais focos da pesquisa em nutrição de peixes (Li et al., 2009).

Table 4. Composição de amino ácidos (EAAs) e (NEAAS) em (%), do CVH e outros hidrolisados, descritos na literatura

Amino ácido Essencial (EAA) (%)	Este trabalho CVH#	Dos Santos Cardoso et al., (2021)			
		HSLP	HSMP	HFP	HPP
Arginina	4.98±0.17	2.66	2.26	4.86	4.77
Histidina	1.87±0.07	1.68	1.22	0.72	1.76
Isoleucina	3.21±0.11	2.83	2.32	3.79	3.06
Leucina	5.77±0.20	5.27	4.38	6.37	5.54
Lisina	5.11±0.18	3.82	4.07	2.00	4.89
Metionina	1.85±0.06	1.60	1.21	0.70	1.74
Fenilalanina	3.15±0.11	2.72	2.32	3.86	3.00
Treonina	3.10±0.11	2.44	2.41	3.25	2.95
Triptofano	0.58±0.02	0.70	0.22	0.43	0.51
Valina	3.95±0.14	3.65	3.01	8.03	3.76
Total EAA	33.57±1.17	27.37	23.42	34.00	31.99
Amino Ácidos Não Essenciais (NEAA) (%)					
Aspartic acid	6.88±0.24	5.60	4.87	5.74	6.60
ácido glutâmico	10.74±0.38	8.25	7.56	8.36	10.35
Alanina	5.15±0.18	3.89	3.34	3.76	4.95
Cistina	1.08±0.04	0.78	0.62	2.10	0.99
Glicina	6.69±0.23	3.99	3.67	6.07	6.42
Prolina	4.54±0.16	3.10	2.82	7.37	4.34
Serina	3.19±0.11	2.38	2.40	7.75	3.04
Taurina	0.80±0.03	0.22	0.30	0.15	0.73
Tirosina	2.44±0.09	2.05	1.95	2.51	2.31
Total NEAA	41.51±1.45	30.25	27.52	43.81	39.72

Total amino ácidos	75.08±2.63	57.62	50.95	77.80	71.70
--------------------	------------	-------	-------	-------	-------

CVH= hidrolisado víscera de frango; HPP = hidrolisado proteína de frango; HFP = hidrolisado proteína de penas; HSMP = proteína hidrolisada de mucosa suína; HSLP = proteína hidrolisada de fígado suíno # Cálculo de % expresso em gramas de CVH

Na análise da CVH, aproximadamente 75% da proteína está na forma de aminoácidos, sendo 33% essenciais e 41% não essenciais (Tabela 4). Essas porcentagens foram comparáveis às observadas em hidrolisados derivados de aves, onde 34% da proteína eram EAAs e 44% eram NEAAs. O hidrolisado de penas continha 72% de proteína, 32% de EAAs e 40% de NEAAs. No entanto, hidrolisados protéicos obtidos de fontes suínas específicas (muco e fígado) apresentaram valores inferiores aos observados para CVH (51 a 58% de AAs, dos quais 23 a 27% eram EAAs e 28 a 30% NEAAs).

Os processos pelos quais os animais utilizam AAs ou proteínas na dieta incluem digestão, absorção e metabolismo (Li et al., 2021). Estudos de caracterização de hidrolisados, com subprodutos gerados no processamento do abate de aves (Bambirra Alves et al., 2020), como fonte de nutrientes, demonstraram que as propriedades bioativas e funcionais desses hidrolisados melhoraram parâmetros fisiológicos, metabólicos e imunológicos quando incluídos como suplementos alimentares para animais. Segundo pesquisa (dos Santos Cardoso et al., 2021), os hidrolisados protéicos avaliados (proteína e penas de aves e muco e fígado suíno) são digestíveis o suficiente para serem utilizados em dietas de tilápia.

Os peixes obtêm a energia necessária para seus processos metabólicos e crescimento pela oxidação de aminoácidos, ácidos graxos e monossacarídeos derivados da digestão e absorção de proteínas, lipídios e carboidratos da dieta. A possibilidade de CVH fornecer uma dieta rica em proteínas e aminoácidos, além de substratos energéticos não proteicos, como lipídios e ácidos graxos, pode aumentar a probabilidade de os aminoácidos serem usados para a síntese de proteínas, em vez de substratos energéticos (Konnert et al., 2022). Além disso, uma melhora na retenção de aminoácidos como proteína em peixes pode estar associada a preocupações ambientais, pois os aminoácidos oxidados que não são retidos pelos peixes são excretados como amônia, o que pode contribuir para a eutrofização do corpo d'água.

Na Tabela 5 foram reunidas as exigências nutricionais de aminoácidos para tilápia, com base nas condições do NRC (2011) e Tabela Brasileira (Furuya et al., 2010) e os resultados obtidos para CVH (% representado pelo aminoácido/proteína em CVH).

Com base nos resultados obtidos dos aminoácidos no CVH, Tabela 5, todos os dez aminoácidos essenciais na dieta da tilápia (Furuya et al., 2010) estão presentes no hidrolisado em níveis comparáveis ou superiores aos especificados em NRC (2011) e a Tabela Brasileira

de Nutrição de Tilápia. Destaca-se o teor de lisina do CVH, que foi de 4,14%. Este aminoácido está presente no tecido muscular da Tilápia, com maior concentração no filé (Teixeira et al., 2008).

Os valores apresentados no NRC (2011) são derivados de pequenas modificações, que se baseiam em informações do trabalho pioneiro de (Santiago e Lovell, 1987), que alimentou pós-larvas de tilápia com dietas purificadas por oito semanas. Com o avanço do melhoramento genético, novas tecnologias de processamento de alimentos e pesquisas em manejo, a literatura tem apresentado novas tendências nas exigências nutricionais.

Tabela 5. Exigências nutricionais de aminoácidos compilados para tilápia do Nilo

Amino ácidos (%)	CVH ¹	NRC, (2011)	Furuya et al., (2010)		
			masculinização	pós masculinização até 100 g	≥100g
Lisina	4.14±0.14	1.60	2.20 ²	1.53 ²	1.38 ²
Metionina	1.50±0.05	0.70	0.75 ³	0.52 ³	0.47 ³
Metionina + Cistina	2.37±0.04	1.00	1.32 ⁴	0.92 ⁴	0.83 ⁴
Treonina	2.51±0.09	1.10	1.70 ⁵	1.18 ⁵	1.07 ⁵
Arginina	4.03±0.14	1.20	1.81 ⁶	1.26 ⁶	1.14 ⁶
Fenilalanina + Tirosina	4.53±0.08	1.60	2.38 ⁶	1.65 ⁶	1.50 ⁶
Histidina	1.52±0.05	1.00	0.75 ⁶	0.52 ⁶	0.47 ⁶
Isoleucina	2.60±0.09	1.00	1.34 ⁶	0.93 ⁶	0.84 ⁶
Leucina	4.67±0.16	1.90	1.46 ⁶	1.01 ⁶	0.92 ⁶
Triptofano	0.47±0.02	0.30	0.43 ⁶	0.30 ⁶	0.27 ⁶
Valina	3.20±0.11	1.50	1.20 ⁶	0.83 ⁶	0.75 ⁶

¹(Porcentagem (%) represented pelo CVH razão amino ácido/proteína;

²⁻⁶Brazilian Table for Tilapia Nutrition :

² - Mean value of digestible lysine requirement estimated as percentage of protein;

³ - Value of methionine presented in relation to lysine;

⁴ -Mean values of methionine + cystine were presented in relation to lysine, based on values of digestible amino acids;

⁵ - Mean values of threonine were presented in relation to to lysine, based on digestible amino acid values;

⁶ - Estimated values according to the relationship essential amino acid (including cystine and tyrosine)/digestible lysine, from requirements determined for Nile tilapia;

Assim como foi observado para minerais, lipídios e ácidos graxos, o CVH também é uma fonte promissora de aminoácidos como suplemento nutricional para tilápia.

3.8 Atividade Antimicrobiana

O CVH não demonstrou atividade inibitória contra *Klebsiella sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp* ou *Escherichia coli* usando a metodologia de

microplaca. Um efeito semelhante foi detectado por Ovissipour et al. (2014) para larvas de esturjão persa, alimentadas com hidrolisado de vísceras de atum e alimento vivo, onde a sobrevivência e as contagens intestinais foram maiores em animais alimentados com *Artemia* e *Daphnia* após infecção por *Aeromonas hydrophila*. Em contraste, Siddik et al. (2020) observaram um aumento na flora intestinal, principalmente de microrganismos Fusobacteria e Firmicutes, em juvenis de barramundi alimentados com hidrolisado de atum e farinha fermentada de subprodutos de frango.

De acordo com Kang et al. (2019), os peptídeos têm a capacidade de eliminar microrganismos direta e principalmente indiretamente, aumentando a atividade imunomoduladora (atividade de anticorpos, macrófagos e leucócitos). Peptídeos hidrolisados com atividade antimicrobiana possuem peso molecular inferior a 10,0 kDa e sequência inferior a 50 aminoácidos (Sidik et al., 2021) e dentre esses aminoácidos, peptídeos catiônicos como Lisina e Arginina foram encontrados com maior frequência no atum ovos, e há fortes indícios de que são antimicrobianos (Phethchthumrongchai et al., 2022).

O hidrolisado de penas de frango tem sido oferecido aos microrganismos *Cupriavidus necator* como fonte de nitrogênio para a produção de polihidroxialcanoato, um biopolímero biocompatível e biodegradável. Estudos com hidrolisado de subprodutos de frango como substituto da peptona em meios de cultura para o crescimento de bactérias, fungos e leveduras demonstraram um efeito antagônico promissor (Lasekan et al., 2013; Benesova et al., 2017)

3.9 Atividade Antioxidante

A dieta é um fator abiótico significativo, pode influenciar o estresse oxidativo dos organismos, e a composição da dieta, com ingredientes naturais ou artificiais, afeta o crescimento, o bem-estar e a promoção da resposta imune (Hoseinifar et al., 2020; Martinez-Ivarez et al., 2005; Van Doan et al., 2020). Ensaio de eliminação de radicais livres DPPH e ABTS e redução do poder FRAP foram usados para avaliar as propriedades antioxidantes da CVH. A Tabela 6 descreve os resultados dos potenciais antioxidantes

Tabela 6. Potencial antioxidante do CVH

Atividade Antioxidante	CVH (mg mL⁻¹)	Padrão (mg mL⁻¹)
ABTS	0,88±0,00 (43,90%)	2,00±0,00 trolox
DPPH	0,31±0,00 (61,80%)	0,50±0,00 trolox

FRAP	0,18±0,01 (57,90%)	0,31±0,05 sulf.ferroso
-------------	-----------------------	------------------------

O CVH apresentou a maior atividade sequestradora do radical DPPH (61,8%) (Tabela 6). Quanto ao radical, o ABTS apresentou efeito menor (35,3%) que o DPPH. Outra abordagem sobre a capacidade antioxidante é avaliar o poder antioxidante contra a capacidade dos compostos de reduzir ferro (III) a ferro (II) (FRAP). Substâncias doadoras de elétrons reduzem o complexo de cianeto férrico a complexo de cianeto ferroso. Na presente análise, o CVH apresentou 0,18 mg mL⁻¹ (57,9%).

Segundo Hoseinifar et al. (2020), as fontes de inclusão de micronutrientes, macromoléculas e lipídios devem ser avaliadas com cautela, pois, dependendo da dose e do modelo experimental, diferentes efeitos antioxidantes ou pró-oxidantes podem ser antecipados. No trabalho de Razavizadeh et al. (2022) para várias condições de hidrólise enzimática de pele de frango, a atividade de eliminação do radical DPPH variou de 31,6 a 61,4%. O hidrolisado de farinha de sangue de frango não exibiu atividade seqüestradora do radical DPPH (Bambirra Alves et al., 2020), apenas com poder redutor (FRAP) quando utilizado 1,7 mg mL⁻¹.

CONCLUSÃO

O CVH apresentou composição centesimal com baixos teores de lipídios e cinzas e altos percentuais de proteína. A Aw foi inferior a 0,6, ideal para a inibição de microrganismos, e a cor foi opaca e amarelada. Dentre as propriedades funcionais, absorção de água e óleo, formação de emulsões e estabilidade apresentaram percentuais elevados, mas ausência de formação de espuma. De acordo com a avaliação de minerais e metais, K apresentou a maior concentração, seguido de S, P, Na, Ca, Mg e Fe, enquanto Cd, Pb e Al ficaram abaixo do limite de detecção. A calorimetria revelou valores calóricos favoráveis (5.377 kcal kg⁻¹) e estabilidade térmica favorável, conforme determinado pela análise termogravimétrica, com perdas a partir de 250 graus Celsius. Os ácidos graxos saturados foram os mais abundantes no perfil lipídico do hidrolisado, seguidos pelos ácidos graxos poliinsaturados. A atividade antioxidante apresentou bons percentuais de inibição pelas metodologias DPPH, seguidas por FRAP e ABTS, onde a sonicação mostrou-se eficaz em aumentar o potencial antioxidante. O hidrolisado de vísceras de frango é uma opção viável para o enriquecimento de dietas oferecidas a animais aquáticos, domésticos e de corte, entre outros, principalmente para Tilapicultura, com base nos resultados apresentados.

5 Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq-Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa; à Brasil Foods S/A (setor BRF Ingredientes) pelo apoio financeiro e doação de hidrolisado de frango; aos professores Alex Sanches Torquato, Rosana Ap. Silva Buzanello e Paulo Rodrigo Stival Bittencourt pelas análises termogravimétricas e lipídicas; ao CEANMED-Central Multiusuário Analítico UTFPR, Campus Medianeira pelas análises realizadas e ao GEMAQ-Grupo de estudos em manejo da aquicultura da UNIOESTE, Campus Toledo pelo suporte técnico

6 Declaração

6.1 Aprovação Ética

Não se aplica

6.2 Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

6.3 Contribuição dos Autores

Antonio Cesar Godoy - Conceituação; Metodologia; Escrita; Revisão geral

Camila Dal Pisol - Conceituação; Metodologia; Revisão geral

Celma Negrini - Conceituação; Metodologia; Escrita; Revisão geral

Leticia Fantini-Hoag - Conceituação; Metodologia; Escrita

Cristiane Canan - Conceituação; Metodologia; Escrita;

Luci Emi Ogava - Conceituação; Metodologia; Escrita; Revisão geral

Monica Lady Fiorese - Conceituação; Metodologia; Escrita; Revisão geral

Oldair Donizete Leite - Conceituação; Metodologia; Escrita

Vanessa Lopes Fernandes - Conceituação; Metodologia; Escrita

Wilson Rogério Boscolo - Coordenador do Projeto; Conceituação; Metodologia; Escrita

6.4 Financiamento

Bolsista Luci Emi Ogava do CNPq-Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

6.5 Disponibilidade de dados e materiais

Os dados podem estar disponíveis mediante solicitação.

REFERÊNCIAS

Andrade CL, Rodrigues FS, Carvalho DP, Pires SF, Pires MF (2015) Nutrição e alimentação de tilápias do nilo. *Revista Eletrônica de Nutrição* 12(6):4464–4469

AOAC (2016) *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 20th edn. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA

Bah CS, Bekhit AEDA, Carne A, McConnell MA (2013) Slaughterhouse blood: An emerging source of bioactive compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12(3):314–331, DOI 501 10.1111/1541-4337.12013, URL <https://doi.org/10.1111%2F1541-4337.12013>

Barbosa-Cánovas G, Fontana A, Schmidt S, Labuza T (2020) *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*. Institute of Food Technologists Series, Wiley

Ben Hamad Bouhamed S, Krichen F, Kechaou N (2020) Feather protein hydrolysates: a study of physicochemical, functional properties and antioxidant activity. *Waste and Biomass Valorization* 11(1):51–62

Benesova P, Kucera D, Marova I, Obruca S (2017) Chicken feather hydrolysate as an inexpensive complex nitrogen source for PHA production by *Cupriavidus necator* on waste frying oils. *Letters in Applied Microbiology* 65(2):182–188, DOI 10.1111/lam.12762, URL <https://doi.org/10.1111%2F1am.12762>

Binsi PK, Viji P, Panda SK, Mathew S, Zynudheen AA, Ravishankar CN (2015) Characterisation of hydrolysates prepared from engraved catfish (*nemapteryx caelata*) roe by serial hydrolysis. *Journal of Food Science and Technology* 53(1):158–170, DOI 10.1007/s13197-015-1998-6, URL <https://doi.org/10.1007%2Fs13197-015-1998-6>

Boscolo WR, Hayashi C, Meurer F (2002) Farinha de varredura de mandioca (*manihot esculenta*) na alimentação de alevinos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *Revista Brasileira de Zootecnia* 31(2):546–551, DOI 10.1590/s1516-35982002000300002, URL <https://doi.org/10.1590%2Fs1516-35982002000300002>

Boscolo WR, Hayashi C, Meurer F, Feiden A, Wolff L (2004) Desempenho e características de carcaça de tilápias do nilo (*oreochromis niloticus* L.) alimentadas com rações contendo diferentes níveis de gordura. *Acta Scientiarum Animal Sciences* 26(4), DOI 10.4025/actascianimsci.v26i4.1717, URL <https://doi.org/10.4025%2Factascianimsci.v26i4.1717>

Boscolo WR, Meurer F, Feiden A, Hayashi C, Reidel A, Genteline AL (2005) Farinha de vísceras de aves em rações para a tilápia do nilo (*oreochromis niloticus* L.) durante a fase de reversão sexual. *Revista Brasileira de Zootecnia* 34(2):373–377, DOI 10.1590/s1516-35982005000200003, URL <https://doi.org/10.1590%2Fs1516-35982005000200003>

Boscolo WR, Feiden A, Signor A, Signor AA, Bard JJ, Ishida FA (2006) Energia digestível para alevinos de tilápia-do-nilo (*oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia* 35(3):629–633, DOI 10.1590/s1516-35982006000300001, URL <https://doi.org/10.1590%2Fs1516-35982006000300001>

Bouhamed SBH, Krichen F, Kechaou N (2018) Feather protein hydrolysates: A study of physicochemical, functional properties and antioxidant activity. *Waste and Biomass Valorization* 11(1):51–62, DOI 10.1007/s12649-018-0451-2, URL <https://doi.org/10.1007%2Fs12649-018-0451-2>

Cano-Medina A, Jim'enez-Islas H, Dendooven L, Herrera RP, Gonz'alez-Alatorre G, Escamilla-Silva EM (2011) Emulsifying and foaming capacity and emulsion and foam stability of sesame protein concentrates. *Food Research International* 44(3):684–692, DOI 10.1016/j.foodres.2010.12.015, URL <https://doi.org/10.1016%2Fj.foodres.2010.12.015>

Chaves MA, Piati J, Malacarne LT, Gall RE, Colla E, Bittencourt PRS, de Souza AHP, Gomes STM, Matsushita M (2018) Extraction and application of chia mucilage (*salvia hispanica* l.) and locust bean gum (*ceratonia siliqua* l.) in goat milk frozen dessert. *Journal of Food Science and Technology* 55(10):4148–4158, DOI 10.1007/s13197-018-3344-2, URL <https://doi.org/10.1007%2Fs13197-018-3344-2>

Davis D (2022) *Feed and Feeding Practices in Aquaculture*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Elsevier Science

Dias MI, Barros L, Morales P, C'ámara M, Alves MJ, Oliveira MBPP, Santos-Buelga C, Ferreira ICFR (2016) Wild *fragaria vesca* l. fruits: a rich source of bioactive phytochemicals. *Food & Function* 7(11):4523–4532, DOI 10.1039/c6fo01042c, URL <https://doi.org/10.1039%2Fc6fo01042c>

Doan HV, Hoseinifar SH, Ringo E, A'ngeles Esteban M, Dadar M, Dawood MAO, Faggio C (2020) Host associated probiotics: A key factor in sustainable aquaculture. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture* 28(1):16–42, DOI 10.1080/23308249.2019.1643288, URL <https://doi.org/10.1080/23308249.2019.1643288>

E V, Ramani R, Appa Rao V, Parthiban M, Narendrababu R (2022) Protein hydrolysate extraction from chicken intestine by enzymatic hydrolysis. *The Pharma Innovation* 11(2):57–62

Eeckhout W, Paepe MD (1994) Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology* 47(1-2):19–29, DOI 10.1016/0377-8401(94)90156-2, URL <https://doi.org/10.1016%2F0377-8401%2894%2990156-2>

El-Sayed AF, El-Ghobashy A, El-Mezayen M (2013) Effect of feed colour on growth and feed utilization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* l.) larvae and fingerlings. *Aquaculture Nutrition* 19(6):870–876, DOI 10.1111/anu.12031, URL <https://doi.org/10.1111%2Fanu.12031>

Elavarasan K, Kumar VN, Shamasundar B (2013) Antioxidant and functional properties of fish protein hydrolysates from fresh water carp (*Catla catla*) as influenced by the nature of enzyme. *Journal of Food Processing and Preservation* 38(3):1207–1214, DOI 10.1111/jfpp.12081, URL <https://doi.org/10.1111%2Fjfpp.12081>

Figueiredo IL, Claus T, Ju'nior OOS, Almeida VC, Magon T, Visentainer JV (2016) Fast derivatization of fatty acids in different meat samples for gas chromatography analysis.

Journal of Chromatography A 1456:235–241, DOI 10.1016/j.chroma.2016.06.012, URL <https://doi.org/10.1016%2Fj.chroma.2016.06.012>

Fries EM, Oxford JH, Godoy AC, HassamerMZ, Corrêia AF, BoscoloWR, Signor A (2020) Phytase on the digestibility of plant protein feed for silver catfish, *Rhamdia voulezi*. *Aquaculture* 528:735,528, DOI 10.1016/j.aquaculture.2020.735528, URL <https://doi.org/10.1016%2Fj.aquaculture.2020.735528>

Frikha M, Mohiti-Asli M, Chetrit C, Mateos G (2014) Hydrolyzed porcine mucosa in broiler diets: Effects on growth performance, nutrient retention, and histomorphology of the small intestine. *Poultry Science* 93(2):400–411, DOI 10.3382/ps.2013-03376, URL <https://doi.org/10.3382%2Fps.2013-03376>

Furuya WM (2010) Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. GFM

Furuya WM (2013) Nutrição de tilápias no Brasil. *Varia Scientia Agrárias* 3(1):133–150

Gatlin DM, Barrows FT, Brown P, Dabrowski K, Gaylord TG, Hardy RW, Herman E, Hu G, Krogh A, Nelson R, Overturf K, Rust M, Sealey W, Skonberg D, Souza EJ, Stone D, Wilson R, Wurtele E (2007) Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* 38(6):551–579, DOI 10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x, URL <https://doi.org/10.1111%2Fj.1365-2109.2007.01704.x>

Guergoletto KB, Bonifácio KL, Barbosa DS, Valezi DF, Salviato A, Di Mauro E, Ida EI, Garcia S (2020) Influence of spray-drying and room temperature storage on the anti- and prooxidant properties of fermented juice, orange pulp. *Food Technology and Biotechnology* 58(1):29

Hardy R (2002) *Fish Nutrition*. Elsevier Science

Hoseinifar SH, Yousefi S, Doan HV, Ashouri G, Gioacchini G, Maradonna F, Carnevali O (2020) Oxidative stress and antioxidant defense in fish: The implications of probiotic, prebiotic, and synbiotics. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture* 29(2):198–217, DOI 10.1080/23308249.2020.1795616, URL <https://doi.org/10.1080%2F23308249.2020.1795616>

Jayathilakan K, Sultana K, Radhakrishna K, Bawa AS (2011) Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. *Journal of Food Science and Technology* 49(3):278–293, DOI 10.1007/s13197-011-0290-7, URL <https://doi.org/10.1007%2Fs13197-011-0290-7>

Jiao JG, Liu Y, Zhang H, Li LY, Qiao F, Chen LQ, Zhang ML, Du ZY (2020) Metabolism of linoleic and linolenic acids in hepatocytes of two freshwater fish with different n-3 or n-6 fatty acid requirements. *Aquaculture* 515:734,595, DOI 10.1016/j.aquaculture.2019.734595, URL <https://doi.org/10.1016%2Fj.aquaculture.2019.734595>

Kang HK, Lee HH, Seo CH, Park Y (2019) Antimicrobial and immunomodulatory properties and applications of marine-derived proteins and peptides. *Marine Drugs* 17(6):350, DOI 10.3390/md17060350, URL <https://doi.org/10.3390%2Fmd17060350>

Keijer T, Bakker V, Slootweg JC (2019) Circular chemistry to enable a circular economy. *Nature*

ture Chemistry 11(3):190–195, DOI 10.1038/s41557-019-0226-9, URL <https://doi.org/10.1038/s41557-019-0226-9>

Koehn C, Fontoura A, Kempka A, Demiate I, Kubota E, Prestes R (2015) Assessment of different methods for determining the capacity of water absorption of ingredients and additives used in the meat industry. *International Food Research Journal* 22(1)

Konnert G, Martin E, Gerrits W, Gussekloo S, Masagounder K, Mas-Munoz J, Schrama J (2022) Interactive effects of protein and energy intake on nutrient partitioning and growth in Nile tilapia. *Animal* 16(4):100,494, DOI 10.1016/j.animal.2022.100494, URL <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100494>

Kubitza F (1999) Nutric, ~ao e alimenta, c~ao de til'apias-parte i. *Panorama da aquicultura* 9(52):42–50

Lasekan A, Bakar FA, Hashim D (2013) Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources. *Waste Management* 33(3):552–565, DOI 10.1016/j.wasman.2012.08.001, URL <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.08.001>

Li X, Wu X, Huang L (2009) Correlation between antioxidant activities and phenolic contents of radix angelicae sinensis (danggui). *Molecules* 14(12):5349–5361, DOI 10.3390/molecules14125349, URL <https://doi.org/10.3390/molecules14125349>

Li X, Zheng S, Wu G (2021) Nutrition and functions of amino acids in fish. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Springer International Publishing, pp 133–168, DOI 10.1007/978-3-030-54462-1_8, URL https://doi.org/10.1007/978-3-030-54462-1_8

Lima DAS, Santos MMF, Duvale RLF, Bezerra TKA, da Silva Araujo IB, Madruga MS, da Silva FAP (2020) Technological properties of protein hydrolysate from the cutting byproduct of serra Spanish mackerel (*scomberomorus brasiliensis*). *Journal of Food Science and Technology* 58(8):2952–2962, DOI 10.1007/s13197-020-04797-5, URL <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04797-5>

Long JM, Mohan A (2021) Development of meat powder from beef byproduct as value-added food ingredient. *LWT* 146:111,460, DOI 10.1016/j.lwt.2021.111460, URL <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111460>

Luchiari AC, do Amaral Duarte CR, de Moraes Freire FA, Nissinen K (2006) Hierarchical status and colour preference in Nile tilapia (*oreochromis niloticus*). *Journal of Ethology* 25(2):169–175, DOI 10.1007/s10164-006-0013-0, URL <https://doi.org/10.1007/s10164-006-0013-0>

Luo Y, Jiao JG, Jin AH, Hussain D, Chen LQ, Qiao F, Zhang ML, Du ZY (2023) Metabolism of linoleic and linolenic acids in muscle cells of two freshwater fish with n-3 or n-6 fatty acid requirements. *Aquaculture* 563:738,994, DOI 10.1016/j.aquaculture.2022.738994, URL <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738994>

Martinez-Alvarez RM, Morales AE, Sanz A (2005) Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 15(1-2):75–88, DOI 10.1007/s11160-005-7846-4, URL <https://doi.org/10.1007/s11160-005-7846-4>

Meurer F, Hayashi C, Boscolo WR (2003) Digestibilidade aparente de alguns alimentos proteicos pela tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia* 32(6 suppl 2):1801–1809, DOI 10.1590/s1516-35982003000800001, URL <https://doi.org/10.1590%2Fs1516-35982003000800001>

Mohanty B, Mulvihill D, Fox P (1988) Emulsifying and foaming properties of acidic caseins and sodium caseinate. *Food Chemistry* 28(1):17–30, DOI 10.1016/0308-8146(88)90003-9, URL <https://doi.org/10.1016%2F0308-8146%2888%2990003-9>

Mokrejs P, Svoboda P, Hrnčirik J, Janacova D, Vasek V (2010) Processing poultry feathers into keratin hydrolysate through alkaline-enzymatic hydrolysis. *Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy* 29(3):260–267, DOI 10.1177/0734242x10370378, URL <https://doi.org/10.1177%2F0734242x10370378>

Nawae W, Suntornsuk W (2021) Animal growth stimulation by enzymatic protein hydrolysate of chicken residues. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences* 31(2)

NRC (2011) *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*. National Academies Press, Washington, D.C., DOI 10.17226/13039, URL <http://www.nap.edu/catalog/13039>

Ovissipour M, Kenari AA, Nazari R, Motamedzadegan A, Rasco B (2012) Tuna viscera protein hydrolysate: nutritive and disease resistance properties for persian sturgeon (*Acipenser persicus* L.) larvae. *Aquaculture Research* 45(4):591–601, DOI 10.1111/j.1365-2109.2012.03257.x, URL <https://doi.org/10.1111%2Fj.1365-2109.2012.03257.x>

Parsons B, Utterback P, Parsons C, Rochell S, Emmert J (2023) Research note: Evaluation of a precision-fed rooster assay for determination of phytic acid disappearance in feedstuffs. *Poultry Science* 102(2):102,356, DOI 10.1016/j.psj.2022.102356, URL <https://doi.org/10.1016%2Fj.psj.2022.102356>

Peixe B (2022) Anuário peixe br da piscicultura. Associação Brasileira de Piscicultura URL <https://www.peixebr.com.br/Anuario2022/AnuarioPeixeBR2022.pdf>

Pezzato LE, de Miranda EC, Barros MM, Pinto LGQ, Furuya WM, Pezzato AC (2002) Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia* 31(4):1595–1604, DOI 10.1590/s1516-35982002000700001, URL <https://doi.org/10.6601590%2Fs1516-35982002000700001>

Phetchthumrongchai T, Tachapuripunya V, Chintong S, Roytrakul S, E-kobon T, Klaypradit W (2022) Properties of protein hydrolysates and bioinformatics prediction of peptides derived from thermal and enzymatic process of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) roe. *Fishes* 7(5):255, DOI 10.3390/fishes7050255, URL <https://doi.org/10.3390%2Ffishes7050255>

Rad F, Bozaog˘lu S, G˘ozu˘kara SE, Karahan A, Kurt G (2006) Effects of different long-day photoperiods on somatic growth and gonadal development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture* 255(1-4):292–300, DOI 10.1016/j.aquaculture.2005.11.028, URL <https://doi.org/10.1016%2Fj.aquaculture.2005.11.028>

Razavizadeh RS, Farmani J, Motamedzadegan A (2022) Enzyme-assisted extraction of chicken skin protein hydrolysates and fat: Degree of hydrolysis affects the physicochemical and functional properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 99(7):621–632, DOI 10.1002/aocs.12591, URL <https://doi.org/10.1002%2Faocs.12591>

Reis ES, Feiden A, Boscolo WR, de Freitas JMA, Zaminhan M, Mahl I (2012) Processamento da ração no desempenho de juvenis de jundia' (*rhamdia voulezi*) cultivados em tanques-rede. *Ciência Animal Brasileira* 13(2), DOI 10.5216/cab.v13i2.15421, URL <https://doi.org/10.5216%2Fcab.v13i2.15421>

Resende D, Costas B, Sa' T, Golfetto U, Machado M, Pereira M, Pereira C, Marques B, Rocha CM, Pintado M, Valente LM (2022) Innovative swine blood hydrolysates as promising ingredients for european seabass diets: Impact on growth performance and resistance to *tenacibaculum maritimum* infection. *Aquaculture* 561:738,657, DOI 10.1016/j.aquaculture.2022.738657, URL <https://doi.org/10.1016%2Fj.aquaculture.2022.738657>

Rezende YRRS, Nogueira JP, Narain N (2018) Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. *Food Chemistry* 254:281–291, DOI 10.1016/j.foodchem.2018.02.026, URL <https://doi.org/10.1016%2Fj.foodchem.2018.02.026>

S R, Sabumon P (2023) A critical review on slaughterhouse waste management and framing sustainable practices in managing slaughterhouse waste in india. *Journal of Environmental Management* 327:116,823, DOI 10.1016/j.jenvman.2022.116823, URL <https://doi.org/10.1016%2Fj.jenvman.2022.116823>

Santiago CB, Aldaba MB, Reyes OS (1987) Influence of feeding rate and diet form on growth and survival of nile tilapia (*oreochromis niloticus*) fry. *Aquaculture* 64(4):277–282, DOI 10.1016/0044-8486(87) 90190-6, URL <https://doi.org/10.1016%2F0044-8486%2887%2990190-6>

Dos Santos Cardoso M, Godoy AC, Oxford JH, Rodrigues R, dos Santos Cardoso M, Bittencourt F, Signor A, Boscolo WR, Feiden A (2021) Apparent digestibility of protein hydrolysates from chicken and swine slaughter residues for nile tilapia. *Aquaculture* 530:735,720

Schulter EP, Filho JERV (2017) Evolução da piscicultura no Brasil: diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia. *Texto para Discussão* 2328, Brasília, URL <http://hdl.handle.net/10419/177544>

Siddik MA, Chaklader MR, Foyosal MJ, Howieson J, Fotedar R, Gupta SK (2020) Influence of fish protein hydrolysate produced from industrial residues on antioxidant activity, cytokine expression and gut microbial communities in juvenile barramundi lates calcarifer. *Fish & Shellfish Immunology* 97:465– 473, DOI 10.1016/j.fsi.2019.12.057, URL <https://doi.org/10.1016%2Fj.fsi.2019.12.057>

Signor A, Lewandowski V, Silva RAD, Fries EM, Schuller JM (2016) Effect of phytase on digestibility of corn, sorghum and wheat bran by silver catfish (*Rhamdia voulezi*). *Acta*

Scientiarum Animal Sciences 38(4):355, DOI 10.4025/actascianimsci.v38i4.32054, URL <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v38i4.32054>

Da Silva Bambirra Alves FE, Teixeira GL, A´vila S, Ribani RH, de Paula Scheer A (2020) Functional and antioxidant properties of a chicken blood meal hydrolysate. *Brazilian Journal of Development* 6(4):21,149–21,162, DOI 10.34117/bjdv6n4-330, URL <https://doi.org/10.34117/bjdv6n4-330>

Singh M, Barman AS, Devi AL, Devi AG, Pandey PK (2019) Iron mediated hematological, oxidative and histological alterations in freshwater fish *Labeo rohita*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 170:87– 97, DOI 10.1016/j.ecoenv.2018.11.129, URL <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.129>

Soares M, Rezende PC, Corrêa NM, Rocha JS, Martins MA, Andrade TC, Fracalossi DM, do Nascimento Vieira F (2020) Protein hydrolysates from poultry by-product and swine liver as an alternative dietary protein source for the pacific white shrimp. *Aquaculture Reports* 17:100,344, DOI 10.1016/j.aqrep.2020.100344, URL <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100344>

SOSULSKI F, HUMBERT ES, BUI K, JONES JD (1976) Functional properties of rapeseed flours, concentrates and isolate. *Journal of Food Science* 41(6):1349–1352, DOI 10.1111/j.1365-2621.1976.tb01168.x, URL <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1976.tb01168.x>

Suárez-Eiroa B, Fernández E, Méndez-Martínez G, Soto-Onate D (2019) Operational principles of circular economy for sustainable development: Linking theory and practice. *Journal of Cleaner Production* 214:952–961, DOI 10.1016/j.jclepro.2018.12.271, URL <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.12.271>

Sugiura SH, Raboy V, Young KA, Dong FM, Hardy RW (1999) Availability of phosphorus and trace elements in low-phytate varieties of barley and corn for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 170(3-4):285–296, DOI 10.1016/s0044-8486(98)00414-1, URL [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(98\)00414-1](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(98)00414-1)

Taagepera R (2014) A world population growth model: Interaction with earth's carrying capacity and technology in limited space. *Technological forecasting and social change* 82:34–41

Taheri A, Anvar S, Ahari H, Fogliano Va (2013) Comparison the functional properties of protein hydrolysates from poultry byproducts and rainbow trout. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 12(1), URL <http://jifro.ir/article-1-879-en.html>, <http://jifro.ir/article-1-879-en.pdf>

Teixeira E, Crepaldi D, Faria P, Ribeiro L, Melo D, Euler AC (2008) Composição corporal e exigências nutricionais de aminoácidos para alevinos de tilápia (“*Oreochromis*” sp.). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*

Terres-Ribeiro CM, Knak AM, da Silva Buzanello RA, de Lima DP, Neto RM, Ribeiro RP (2020) Protein hydrolysate of mechanically separated meat from Nile tilapia. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 55, DOI 10.1590/s1678-3921.pab2020.v55.01652, URL <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2020.v55.01652>

Torquato AS, Silva-Buzanello RA, Bittencourt PRS, Kalschne DL, Graeff F, Leite OD, Canan C, Matsushita M (2020) Palm olein and partially hydrogenated soybean oil used in industrial pre-frying of chicken nuggets: Chemical and sensory characterization. *Journal of Food Processing and Preservation* 45(2), DOI 10.1111/jfpp.15109, URL <https://doi.org/10.1111%2Fjfpp.15109>

De Torres Bandeira J, Bandeira da Silva T, C'esar Azevedo de Brito B, Souto Maior Muniz de Moraes R, Edna Gomes de Barros M, Maria Cavalcante Rocha P, Chaves Jimenez G, de Assis Leite Souza F, Ev'encio-Neto J (2022) Circadian variation in ammonia levels in broiler chickens raised under different climate conditions. *Biological Rhythm Research* 53(10):1639–1648

Turker H, Eversole AG, Brune DE (2003) Comparative Nile tilapia and silver carp filtration rates of partitioned aquaculture system phytoplankton. *Aquaculture* 220(1-4):449–457, DOI 10.1016/S0044-8486(02)00614-2, URL <https://doi.org/10.1016%2Fs0044-8486%2802%2900614-2>

Vignoli J, Bassoli D, Benassi M (2011) Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry* 124(3):863–868, DOI 10.1016/j.foodchem.2010.07.008, URL <https://doi.org/10.1016%2Fj.foodchem.2010.07.008>

VIMALRAJ *et al.*, Protein hydrolysate extraction from chicken intestine by enzymatic hydrolysis. **The Pharma Innovation Journal**, v. 11, n. 2, p: 57-62, 2022.

Volpato GL, Duarte C, Luchiari A (2004) Environmental color affects Nile tilapia reproduction. *Brazilian journal of medical and biological research* 37:479–483

Volpato GL, Bovi 757 TS, de Freitas RHA, da Silva DF, Delicio HC, Giaquinto PC, Barreto RE (2013) Red light stimulates feeding motivation in fish but does not improve growth. *PLoS ONE* 8(3):e59,134, DOI 10.1371/journal.pone.0059134, URL <https://doi.org/10.1371%2Fjournal.pone.0059134>

Webb G (2012) *Nutrition: Maintaining and improving health*, Fourth edition. CRC Press, URL <https://books.google.com.br/books?id=9inOBgAAQBAJ>

Zou Y, Zhao Y, Hu W (2015) Chemical composition and radical scavenging activity of melanin from *Auricularia auricula* fruiting bodies. *Food Science and Technology (Campinas)* 35(2):253–258, DOI 10.1590/1678-457x.6482, URL <https://doi.org/10.1590%2F1678-457x.6482>

CAPÍTULO III

DESEMPENHO DA TILÁPIA DO NILO ALIMENTADAS COM DIETA CONTENDO HIDROLISADO DE VÍSCERAS DE FRANGO MICROENCAPSULADO

Luci Emi Ogava^a, Antônio Cesar Godoy^a, Vanessa Lopes Fernandes ^a, Celma Negrini^a, Camila Dal Pisol^a, Oldair Donizeti. Leite^b, Cristiane Canan^b, Monica Lady Fiorese^a, Wilson Rogério Boscolo^a

^a*Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo -PR, Brasil*

^b*Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira-PR, Brasil*

* Corresponding Author

Luci Emi Ogava (e-mail: luci.ogava@gmail.com)

DESTAQUES

- Microcápsulas são produzidas facilmente em grande escala, estáveis para armazenamento e contem nutrientes desejáveis para o crescimento da Tilápia do Nilo;
- Dietas contendo hidrolisados microencapsulados podem substituir parcialmente a farinha de peixe, principal fonte proteica atual, na produção de tilápia e contribuir para a segurança alimentar sustentável.

RESUMO

A tilapicultura cresceu nas últimas décadas juntamente com a melhoria na qualidade das rações processadas. Testes em resíduos de frango hidrolisado e encapsulado como fonte proteica para ração de tilápias tem ocorrido em substituição à atual proteína contido são poucos os estudos *in vivo*. O objetivo deste trabalho foi encapsular a proteína hidrolisada de vísceras de frango e avaliar seu efeito em alevinos de tilápias. As cápsulas foram produzidas em spray-dryer com goma arábica (GA), maltodextrina (MD) e isolado proteico de soja (IS) como encapsulantes e hidrolisado de vísceras de frango (CVH) como encapsulado na proporção 5:1, 5:1 e 2,5:1 respectivamente. O teor de carboidratos (%) das cápsulas foi de: IS: 4,60; MD: 76,30; GA: 72,50; proteína bruta (%): IS: 75,90; MD:11,20; GA: 12,10. A avaliação de cor foi observado para todos as cápsulas. O tamanho de partícula ficou entre 1,39 a 1,40 μ m para IS, 1,17 a 1,59 μ m para MD e 0,91 a 1,01 μ m para GA. O potencial das partículas (PZ) foi de: IS: 2,70mV; MD: -0,50mV; GA: -0,01mV. Os grupos funcionais por FTIR e a morfologia das cápsulas por MEV foram observados, atestando o êxito do encapsulamento pelas técnicas indicadas. As rações produzidas foram isoenergéticas (ED:3500Kcal/Kg) e isoproteicas (PB:40%). O desempenho zootécnico foi avaliado em sobrevivência, ganho de peso, conversão alimentar, taxa crescimento específico, taxa eficiência proteica, comprimento total e peso final, além do teor de glicose e dos índices viscerossomáticos, de gordura visceral e hepatossomáticos. No desempenho zootécnico, GA apresentou diferença nas médias em relação ao CO e MD e IS não apresentaram diferenças estatísticas. Não houve diferença estatística nos índices viscerossomáticos e histologia muscular entre tratamentos. MD apresentou diferenças histológicas no fígado e IS apresentou diferença na altura dos vilos intestinais. Encapsulados de proteína hidrolisada de frango (CVH) usando maltodextrina e isolado proteico de soja como matriz são indicados para alevinos de tilápia com resultados semelhantes ao controle (CVH com 80,8% PB) utilizando apenas 12,10% e 22,77% de proteína bruta proveniente do CVH respectivamente.

Palavras chaves: Tilápia do Nilo; hidrolisado vísceras de frango; microencapsulamento; Maltodextrina; Goma Arábica; Isolado proteico soja

INTRODUÇÃO

A tilápia do Nilo é a principal espécie aquícola produzida no Brasil, com produção estimada em 534 mil toneladas em 2021, ranqueando o país como quarto maior produtor mundial (ANUÁRIO PEIXE BR, 2022; SARDINHA, 2017; BARRETO, 2018). Com tendência de forte crescimento para atender demandas nacionais e internacional, a expansão sustentável da aquicultura é um componente crítico para garantir alimento para 10 bilhões de pessoas até 2050 (2014; WAITE et al., 2014). Da mesma forma, a necessidade de insumos e alimentos para atender a demanda da aquicultura cresce proporcionalmente.

As dietas oferecidas aos organismos aquáticos criados em cativeiro são formuladas com uma mistura de matérias-primas de origem animal e vegetal. A farinha de peixe, principal insumo de origem animal, é considerada uma fonte proteica de qualidade (66% de proteína bruta), no entanto, é um dos ingredientes mais caros da ração e apresenta limitações de disponibilidade para atender a demanda, portanto, novas fontes de proteína animal tem sido exaustivamente estudadas (NAYLOR et al., 2021; MONIRUZZAMAN et al., 2020)

Já o aumento de fontes proteicas vegetais na dieta, para substituir parcialmente a farinha de peixe, levantam várias preocupações e questionamentos como competição entre alimentos e rações, pegada de carbono associado ao uso de terra e da água bem como questões ambientais associado ao desmatamento para aberturas de novas área de cultivo (AUBIN et al., 2019; HUA et al., 2019). A incorporação de dietas com insumos vegetais é altamente dependente da espécie de peixe considerada (sendo mais negativa em peixes marinhos carnívoros) e do nível de inclusão na dieta (DANIEL, 2018; NAYLOR et al., 2021) devido a presença de fatores antinutricionais como inibidores de proteases, lecitinas, fitatos, glucosinolatos, saponinas e taninos (FRANCIS et al., 2001).

Atualmente, hidrolisados proteicos, obtidos de subprodutos de origem animal, estão sendo utilizados, como ingredientes em dietas de peixes e, o desempenho (AKSNES et al., 2006; KOTZAMANIS et al., 2007; OVISSIPOUR et al., 2014) e a imunidade dos peixes (GILDBERG, et al., 1996; LEDUC et al., 2018) tem sido avaliados. Teores proteicos, superiores aos observados em fontes vegetais, bem como a presença de aminoácidos e peptídeos bioativos de baixo peso molecular, além de ácidos graxos, tem sido observado nestes hidrolisados (SIDDIK, et al., 2021). O hidrolisado de vísceras de frango (CVH) tem sido avaliado como uma potencial fonte dietética em estudos de nutrição da tilápia do Nilo. Estudos de digestibilidade realizados por dos Santos Cardoso et al. (2021), demonstraram similar digestibilidade aparente do CVH quando comparado a farinha de peixe. Rocha et al, (2021), avaliaram o desempenho produtivo de alevinos de tilápia do Nilo, alimentados com

dietas contendo diferentes porcentagens (1 a 6%) de CVH, em substituição a farinha de peixe. Segundo os autores, a inclusão do CVH nas dietas melhorou os aspectos produtivos de alevinos de tilápia do Nilo, e recomenda a inclusão de 3% do CVH na dieta, em relação à dieta contendo farinha de peixe, para melhor expressão da performance produtiva.

Um estudo de caracterização físico química, do CVH, visando informações nutricionais para dietas de tilápia do Nilo, foi realizado por OGAVA et al, (2023), contendo 88,81% m/m de proteína (destes 75% na forma de amino ácidos AA, sendo 33% de AA essenciais e 41% de AA não essenciais) e, 6,13% m/m de lipídeos. Na análise do perfil lipídico, 66% foram caracterizados como ácidos graxos (AG) saturados, 12,4% de AG monoinsaturados e 21,5% de AG poli-insaturados. Na avaliação de minerais, foram determinados no CVH, oito minerais, (Ca, P, K, Mg, Fe, Cu, Mn e Zn) dos 10 requeridos para a nutrição da tilápia, em concentrações adequadas. Os autores também observaram capacidade antioxidante in vitro do CVH, e, sugerem o enriquecimento de dietas com CVH, principalmente para tilapicultura.

A escolha da melhor fórmula alimentar está diretamente relacionada às taxas de crescimento e saúde dos animais aquáticos, pois afeta tanto a disponibilidade quanto a utilização de nutrientes no trato gastrointestinal (TRICHET, 2010; CHEN, et al., 2020). Nos experimentos para avaliar os efeitos dos hidrolisados proteicos obtidos de fontes vegetais e animais, em substituição a farinha de peixe ou como aditivo alimentar (SIDDIK, et al., 2021; LIANG, et al., 2006; NWANNA et al., 2004; ZHENG et al., 2013), a quantidade incorporada de hidrolisados na dieta é muito variável, normalmente superior a 3% (ROCHA et al., 2021; SOUZA, 2020) e, incorporada pela mistura aos demais constituintes no preparo da ração. Poucos trabalhos na literatura relatam a entrega de hidrolisados (que contém por exemplo peptídeos bioativos) na forma microencapsulado.

O processo de microencapsulação é utilizado para modificar e melhorar a aparência e propriedades de algumas substâncias, tendo também função importante na diminuição das interações da substância encapsulada com fatores ambientais, controlando a lixiviação de moléculas (como aminoácidos) evitando assim a perdas de nutrientes solúveis (PEREIRA et al., 2018). Nutrientes microencapsulados, podem ser melhor distribuídos ao longo do trato gastrointestinal, pois estão mais protegidas da absorção precoce. Portanto no presente trabalho o objetivo foi produzir e caracterizar o microcápsulas de hidrolisado e avaliar o desempenho e a histologia de tilápias do Nilo com dietas contendo hidrolisado de vísceras de frango microencapsulado e não encapsulado.

1 METODOLOGIA

Produção do Encapsulado

O encapsulamento do CVH foi realizada através do método spray dryer (MSDi 1.0, Labmaq do Brasil, Ribeirão Preto/SP, Brasil) e a proporção parede e hidrolisado e as condições do processo foram baseados nos trabalhos de Ortiz et al. (2008) e Kurozawa et al. (2009) (Tabela 1). Segundo os autores, as proporções utilizadas resultaram em êxito no encapsulamento de proteínas, utilizando as paredes selecionadas neste trabalho. Desta forma, foi definido um planejamento fatorial fracionário para avaliar o efeito de duas variáveis, proporção de hidrolisado (m/m) e temperatura (C°).

Foram selecionados maltodextrina, goma arábica e isolado proteico de soja como material de parede para o processo de encapsulamento. Os materiais encapsulantes maltodextrina ou goma arábica, foram diluídas em 300mL de água destilada seguida do hidrolisado previamente pesado e agitado vigorosamente (agitador Fisatom, 713 D, Brasil a 1000 rpm/2 min) até completa dissolução. Para o encapsulamento de isolado proteico de soja, o encapsulante foi previamente pesado, 300mL de água destilada foi adicionado e agitado vigorosamente (Ultra-turrax IKA T 25 digital 18000rpm/2min) até dissolução total e por fim, o pH foi ajustado em 8,0 (NaOH 1M ou HCl 1M). Sob agitação constante (agitador magnético Fisatom 752A), para evitar a decantação e promover homogeneidade de entrada, as soluções foram atomizadas nas temperaturas de 170 °C e proporção 5:1 maltodextrina ou goma arábica:hidrolisado de vísceras e 120°C e proporção 2,5:1 isolado proteico de soja:hidrolisado de vísceras. A pressão de compressão do ar foi de (2–4 Bar), fluxo de ar de (3,5 L/min), bomba peristáltica alimentadora de 0,5 L/h com bico atomizador de 1 mm de abertura. O material foi coletado do ciclone base em vidro de borosilicato, pesado e estocado a temperatura ambiente até análise.

Tabela 1. Relação do material encapsulante e encapsulado e parâmetros utilizados na produção dos encapsulados

Material para produção das microcápsulas	Proporção encapsulante/encapsulado (m/m)	Temperatura Torre secagem °C
Goma Arábica/Hidrolisado	5:1; 10:1; 15:1	160; 170; 180
Maltodextrina/Hidrolisado	5:1; 10:1; 15:1	160; 170; 180
Isolado proteico soja/Hidrolisado	2,5:1; 4:1; 9:1	120; 130; 140

Vazão da solução: 0,5 mL/h; vazão de ar 3,5L/min; compressão de ar 2-4 Bar

Colorimetria

Para determinação de cor, foi utilizado o Colorímetro Minolta CR-400 chromameter (Japan) com componente especular D65 de iluminação, 10° observação padrão e em triplicata. Através do sistema de cor CIELab (Commission Internationale de L'éclairage), os parâmetros L* indica Luminosidade (preto=0 a branco=100), a* indica a tendência do verde (-a*) ao vermelho (+a*), b* indica tendência do azul (-b*) ao amarelo (+b*), h indica a tonalidade e é representada por ângulo (0°=vermelho, 90°=amarelo, 180°=verde e 270°=azul) e por fim, C* indica a saturação da cor (REZENDE et al., 2018).

DLS – Espalhamento de luz dinâmica

O diâmetro médio das microcápsulas foram determinados por espalhamento de luz dinâmico utilizando equipamento Litesizer 500, com ângulo em *backscatter*, etanol como solvente, 25 °C e célula de Quartz. Os valores calculados sob a distribuição de tamanhos em intensidade e o diâmetro médio foi determinado com base na intensidade da luz dispersa do material (MALVERN, 2011).

PZ – Potencial Zeta

O potencial zeta foi determinado por equipamentos Zetasizer 500 Anton Paar, Áustria, Malvern Instruments, a 25 °C utilizando etanol para diluição da amostra. As médias de potencial zeta das amostras foram coletadas do equipamento.

FTIR Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

Para identificação dos principais grupos funcionais do hidrolisado em estudo foi utilizado a técnica de FTIR-Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier através do equipamento PerkinElmer, FT-IR Spectrum 100S (USA) com Universal ATR. Amostra em quantidade suficiente para encobrir o cristal de diamante/ZnSe foi utilizado e amostra escaneada de 4000 a 600 cm^{-1} em transmitância com resolução de 4 cm^{-1} .

MEV Encapsulado

A caracterização morfológica das microcápsulas foi realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (SILVA, 2021). As amostras foram colocadas em uma fita adesiva dupla face de carbono fixada em um suporte (stub) e metalizada com ouro-paládio por

1min:30 seg até atingir espessura de 6-9 nm aproximadamente, utilizando-se o sputter SC7620 Quorum Mini Sputter Coater/Glow Discharge System. O microscópio eletrônico de varredura utilizado foi o Zeiss EVO-MA10, operando em voltagem de 10 kV.

Elaboração da ração

Afim de determinar a melhor composição da ração para o desempenho produtivo, análise proximal do encapsulado foi realizado. Foi determinado umidade, cinzas, proteína e lipídeos dos encapsulados de maltodextrina, goma arábica e isolado proteico de soja como parede e foi conduzida baseado em protocolos da AOAC (2016). Os lipídios foram extraídos com hexano e para determinação de compostos nitrogenados em proteínas foi, utilizado o valor de 6.25 como fator de conversão do nitrogênio.

Com base nesses resultados, a ração foi formulada de modo que cada tratamento fosse isoenergética, isoproteica e isoaminoacídica, isoaminoacídica com base em exigências nutricionais da tilápia, NRC (2011). Foi definido 3% de inclusão de elemento alvo CVH in natura para o tratamento controle (CO) e encapsulados de CVH com isolado proteico de soja (IS), maltodextrina (MD) e goma arábica (GA) como material de paredes. Todos os ingredientes foram pesados, individualmente, brevemente homogeneizados, triturados em moinho do tipo martelo (MCs 280, Vieira Moinhos e Martelo, Tatuí-SP, Brasil) em peneira de 0.3mm por duas vezes e homogeneizados novamente por 15min em misturador tipo “Y” (MA 200, Marconi Equipamentos Laboratórios, Piracicaba-SP, Brasil). Foi adicionado em torno de 22% de água, homogeneizado manualmente, peneirado e extrusado em matriz de 1mm (Exteec Máquinas, Ribeirão Preto-SP, Brasil). Após extrusão a ração foi seca em estufa de recirculação de ar por 24 horas a 55 °C (modelo TE-394/3-D, Tecnal Equipamentos Científicos para Laboratórios, Piracicaba-SP, Brasil) por 24h para então receber o percentual de óleo de soja previsto na formulação. A ração foi embalada e acondicionada sob refrigeração (4 °C) até sua utilização.

As formulações das dietas (formulações das rações experimentais) foram elaboradas de forma isoenergética, isoproteica e isoaminoacídica com base em exigências nutricionais da tilápia, NRC (2011). O efeito do encapsulamento hidrolisado proteico de soja CVH foi avaliado nas dietas, incorporando o CVH sem encapsulamento na dieta controle e com microencapsulados de CVH com: maltodextrina na razão 1:5; goma arábica na razão 1:5 e com isolado proteico de soja na razão 1:2,5. Foram incluídos 3% de CVH e microencapsulado de CVH das respectivas dietas, conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 2. Composição das dietas experimentais elaboradas, contendo hidrolisado de vísceras (CVH), microencapsulado com maltodextrina, goma arábica e isolado proteico de soja.

Ingredientes	Dieta Experimental (%)			
	Controle	Microcápsula	Microcápsula	Microcápsula
	Hidrol. Vísceras	MD:CVH	GA:CVH	IS:CVH
BRF PHF CNC 17102017	3,00	0,00	0,00	0,00
Calcário	0,34	0,42	0,42	0,39
DL-Metionina	0,42	0,43	0,44	0,43
Fosfato bicálcico	1,92	1,87	1,89	1,89
Encapsulado HV:maltodextrina	0,00	3,00	0,00	0,00
Encapsulado HV:goma arábica	0,00	0,00	3,00	0,00
Encapsulado HV:isol. prot. soja	0,00	0,00	0,00	3,00
L-lisina	0,32	0,32	0,35	0,34
L-treonina	0,52	0,51	0,53	0,52
Milho grão	25,00	25,00	25,00	25,00
Óleo de soja	3,84	4,46	4,53	4,57
Penas farinha	8,00	8,00	8,00	8,00
Premix Peixe	1,00	1,00	1,00	1,00
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50
Sangue Farinha	4,00	4,00	4,00	4,00
Soja Conc. Proteico	28,93	33,13	33,01	29,05
Trigo Farinha	12,17	7,35	7,31	11,27
Vísceras Farinha Aves	10,00	10,00	10,00	10,00
Nutrientes (%)				
Amido	24,98	23,58	21,26	24,29
Arginina Total	2,79	2,86	2,84	2,83
Cálcio	1,20	1,20	1,20	1,20
ED Tilápia (Kcal/Kg)	3500	3500	3500	3500
Fenilalanina+Tirosina total	3,22	3,42	3,41	3,22
Fósforo total	1,00	1,00	1,00	1,00
Gordura	7,05	7,44	7,49	7,64
Histidina Total	1,04	1,05	1,05	1,05
Isoleucina total	1,66	1,69	1,67	1,68
Leucina total	3,14	3,18	3,16	3,16
Lisina total	2,60	2,60	2,60	2,60
Metionina+Cistina Total	1,69	1,76	1,77	1,70
Metionina Total	1,00	1,00	1,00	1,00
Proteína bruta	40,00	40,00	40,00	40,00
Sódio	0,30	0,30	0,30	0,30
Treonina total	2,20	2,20	2,20	2,20
Triptofano total	0,46	0,47	0,46	0,46
Valina total	2,23	2,25	2,24	2,24

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 64mg; pantotenato de cálcio -4.000 mg; vit. C -15.000 mg; biotina -50 mg; inositol -10.000 mg; nicotinamida -7.000 mg; 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.

Desempenho zootécnico

Para a realização do desempenho zootécnico, foram adquiridos 550 alevinos, distribuídos em 20 tanques de 15 indivíduos com peso em torno de $8,0 \pm 0,25$ g, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado. O sistema foi equipado com filtro mecânico, sistema de aeração e sistema de recirculação constante. Em quintuplicata, três tratamentos com inclusões de encapsulado (Goma Arábica, Isolado proteico de soja e maltodextrina) e um tratamento Controle com inclusão de hidrolisado de vísceras. Foram elaborados e ofertados em seis momentos do dia (8h; 10h; 12h; 14h; 16h e 18h) até saciedade aparente por 30 dias. Os parâmetros amônia e nitrito foram monitorados duas vezes ao dia e a temperatura, oxigênio dissolvido e pH foram aferidas por multiparâmetro (YSI-PRO PLUS) a cada três dias, nos tanques e no filtro. A sifonagem dos tanques foram realizadas diariamente e do filtro quando se fez necessário. A biometria dos alevinos foi realizada no início e ao final do experimento.

Ao final dos 30 dias, os animais foram mantidos em jejum por 24h, anestesiados com 100mg/L de benzocaína (OKAMURA et al., 2010). Todos os indivíduos tiveram seu pesos e medidas aferidos e três animais tiveram o sangue coletado da veia caudal usando seringa não heparinizada de 1 ml e monitorado quanto níveis de glicose por aparelho medidor de glicose (monitor de glicemia Free Style Optium Neo, Abbott) antes de serem sacrificados e as vísceras e gordura mantidos em gelo logo após serem retirados, até serem medidos, pesados e separados para análise histológica.

De acordo com NRC (2011), os seguintes parâmetros zootécnicos foram avaliados segundo equações 1 a 5:

Peso Final (g): Peso do animal ao final do experimento

Comprimento Total (cm): Comprimento total do animal ao final do experimento

Ganho Peso (g): (*Peso final* – *Peso inicial*) (1)

Taxas Crescimento Específico (%): $\frac{\ln \text{peso final (g)} - \ln \text{peso inicial (g)}}{\text{Tempo experimento (dias)}} \times 100$ (2)

Conversão Alimentar Aparente (g/g): $\frac{\text{Alimento consumido}}{\text{Ganho em peso}}$ (3)

Taxa Eficiência Proteica (%): $\frac{\text{Ganho em peso}}{\text{Proteína consumida}} \times 100$ (4)

Sobrevivência (%): $\frac{\text{número peixes final}}{\text{número Peixes inicial}} \times 100$ (5)

Os índices viscerossomáticos foram analisado segundo cálculos segundo equações 6, 7 e 8:

Índice hepatossomático (%): $\frac{\text{peso do fígado (g)}}{\text{peso final (g)}} \times 100$ (6)

$$\text{Índice de gordura viscerossomático (\%)}: \frac{(\text{peso da gordura(g)})}{\text{peso do peixe (g)}} \times 100 \quad (7)$$

$$\text{Índice viscerossomático (\%)}: \frac{\text{peso das vísceras (g)}}{\text{peso do peixe (g)}} \times 100 \quad (8)$$

Para análise histológica, amostras de fígado, músculo e intestino (porção mediana) foram acomodadas em cassete histológico devidamente identificado e imerso em solução Alfac por 24h, retirado e mantido em álcool (70%) até o processo de fixação e diafanização. O processo seguinte de desidratação ocorreu em trocas crescentes de concentração de álcool (70 a 100%), em seguida foi utilizado xilol para a diafanização e os blocos com os tecidos foram confeccionados em parafina para realizar os cortes histológicos. Os blocos foram acomodados e os cortes de 5µm de espessura foram realizados em micrótomo (Microm, International GmbH 69190), acomodados em lâminas devidamente identificadas e submetidas à técnica de coloração HE (hematoxilina e eosina). As lâminas foram analisada em microscópio óptico (Olympus Optical, modelo BX51) com câmera digital (Olympus DP 25) acoplada para captura de imagens. Nos cortes de músculo foram avaliados 200 estruturas e tomadas medidas de menor tamanho. As medidas foram separadas em a) menor que 5 µm (<5 µm), b) de 5 a 10 µm, c) de 10 a 15 µm, d) de 15 a 20 µm baseado na metodologia de Valente et al. (1999). O tecido hepático foi avaliada pelo número total de hepatócitos em uma área de 10000 µm em aumento de 40x e para determinar as alterações no intestino, foram mensurados a altura, largura e perímetro de 50 vilosidade em aumento de 10 e 20x. Os dados obtidos foram submetidos a análises de variância (ANOVA) e quando observadas diferenças significativas, as médias foram submetidas ao teste de Tukey quando $p < 0,05$.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos a análise estatística com o teste de normalidade de Shapiro-Wilk's, teste de homogeneidade de Levene e para verificação de diferenças nas médias, utilizou-se a análise de variância (ANOVA) ao nível de significância de 5%. Para evidentes diferenças, os dados foram submetidos ao teste de comparação múltipla de médias de TUKEY. O software utilizado foi STATISTICA 7.0® (STATSOFT, 2005).

2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Obtenção e caracterização dos microencapsulados de hidrolisados de vísceras de frango empregando isolado proteico de soja, goma arábica e maltodextrina como material de parede.

No presente estudo, utilizamos a tecnologia de microencapsulação do CVH, empregando como materiais de parede, carboidratos (goma arábica e maltodextrina) e proteína (isolado proteico de soja), pela técnica de spray drying, sem a intenção de melhorar o rendimento de encapsulamento dos compostos testados. A maioria dos processos tecnológicos desenvolvidos em microencapsulação refere-se apenas a uma substância ou tipo de substância com as mesmas propriedades químicas (ALEXAKIS et al., 1995; HILDEBRAND; TACK, 2000; UDDIN et al., 2001).

Assim o objetivo do microencapsulamento foi envolver os constituintes do CVH (biomoléculas) para que sejam protegidas e posteriormente, incorporadas como constituintes na ração e, avaliar seu efeito sobre o desempenho, aspectos morfológicos e histológicos da Tilápia, na perspectiva que o encapsulamento possam promover uma liberação diferencial dos nutrientes protegidos ao longo do trato digestório-intestinal.

Neste contexto, antes do processo de secagem por pulverização (spray drying,) testes preliminares operacionais buscando obter uma mistura homogênea entre o CVH e os carreadores ou materiais de parede (goma arábica, maltodextrina e isolado proteico de soja) com intuito de obter microcápsulas que não comprometessem sua produção no equipamento (devido ao entupimento do bico atomizador). Nestes testes também buscou-se obter uma relação de equilíbrio entre a Temperatura de atomização, (°C), vazão de bombeamento da mistura homogênea (L/h) e, a vazão do ar (L/min), para se obter um produto encapsulado com características de umidade adequada.

Após atomização nas condições estabelecidas na Tabela 1, foram selecionados os encapsulados com maior teor proteico uma vez que houve êxito na formação todas as microcápsulas. As temperaturas indicadas na tabela foram específicas para cada proporção, seguindo trabalhos de referência.

Na Tabela 2, são apresentados as proporções entre parede/hidrolisado e as condições operacionais pré-estabelecidas, utilizadas para a obtenção das microcápsulas.

Tabela 3. Relação do material encapsulante e encapsulado e parâmetros utilizados na produção dos encapsulados

Material para produção das microcapsulas	Proporção encapsulante/encapsulado (m/m)	Temperatura Torre secagem °C
Goma Arábica/Hidrolisado	5:1	170
Maltodextrina/Hidrolisado	5:1	170
Isolado proteico soja/Hidrolisado	2,5:1	120

Obs.: vazão da solução (encapsulante/encapsulado) mantida a 0,5 mL/h; vazão de ar 3,5L/min

2.1.1 Distribuição de tamanho de partícula e análise do potencial zeta

O tamanho dos microencapsulados é um dos parâmetros físicos relacionados a aroma, textura e aparência (O'HAGAN et al., 2006). A área superficial da partícula aumenta à medida que o tamanho diminui. Segundo Tóth e Pallai-Varsányi, (2006), áreas superficiais maiores apresentam maiores afinidades pela umidade e capacidade de aglomerar durante o processo de microencapsulação. O potencial zeta reflete a carga superficial das partículas, quando em solução e as magnitudes variam no intervalo de -100 a +100mV. É um parâmetro que permite inferir sobre a tendência dos materiais analisados no processos de aglomeração, floculação ou coagulação (LIGARDA-SAMANEZ *et al.*, 2022; RASHEED et al, 2023).

Na Tabela 3, são apresentados os resultados obtidos nas estimativas dos tamanhos médios das partículas e do potencial zeta do material a ser encapsulado, hidrolisado de vísceras de frango (CVH), e dos microencapsulados obtidos com IS, GA e MD e, nas proporções 2,5:1, 5:1 e 5:1, relação massa/massa, com o CVH e IS, GA e MD, respectivamente.

Tabela 4. Estimativa dos tamanhos médios de partículas (μm) e do potencial zeta, do CVH e dos microencapsulados.

Proporção mat. parede/encapsulado	Tamanho Partículas	Potencial Zeta
	micrômetro	mV
CVH	0,70 a 0,80	-24,60
IS/CVH (2,5:1)	1,39 a 1,40	2,70
GA/CVH (5:1)	1,77 a 1,94	-0,10
MD/CVH (5:1)	1,17 a 1,59	-0,50
GA	0,91 a 1,01	5,90

MD	0,91 a 1,10	4,10
IS	3,50 a 4,13	1,20

CVH: Hidrolisado de vísceras; IS: Isolado proteico de soja; GA: Goma arábica; MD: Maltodextrina.

A distribuição de tamanho de partícula do hidrolisado (CVH), apresentou predominantemente tamanhos de partículas entre 0,7 a 0,8 μm . Já para os microencapsulados obtidos, os valores variaram entre: 1,39 a 1,40 μm para o IS proporção 2,5:1, de 1,77 a 1,94 μm para o GA na proporção 5:1 e, de 1,17 a 1,59 μm para MD na proporção 5:1.

Na Figura 1, são apresentadas as distribuições de tamanho das partículas de pós do hidrolisado (CVH) e dos microencapsulados contendo diferentes materiais de parede.

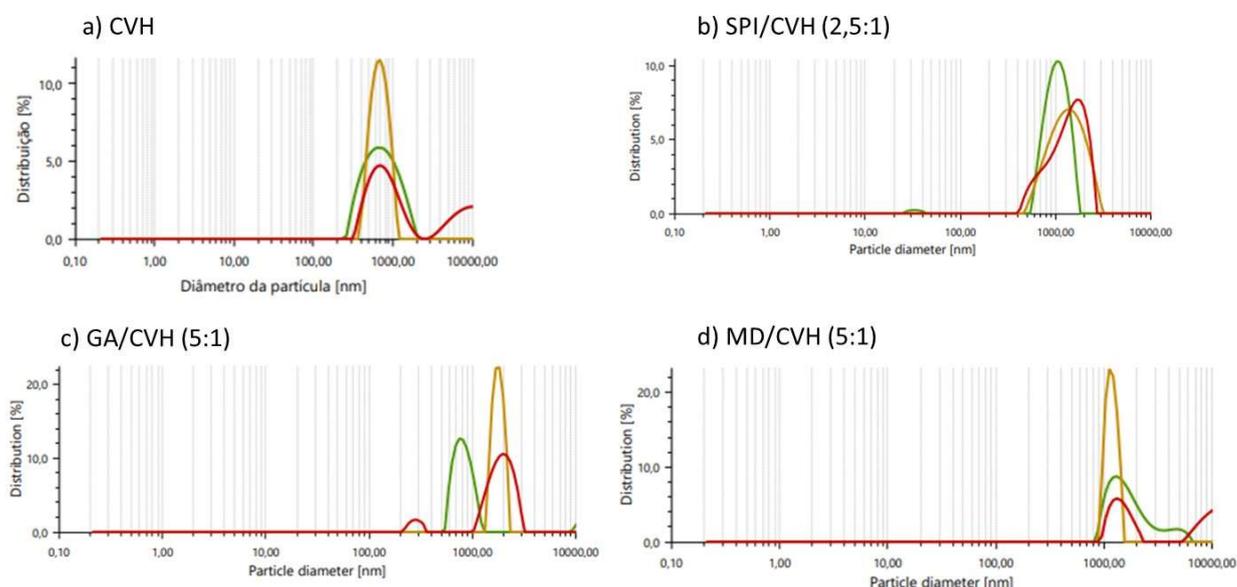


Figura 1- Distribuições de tamanho das partículas de: a) hidrolisado (CVH) e dos microencapsulados contendo: b) isolado proteico de soja (IS), c) goma arábica (GA), e d) maltodextrina (MD). (n=3)

CVH: hidrolisado de vísceras de frango; IS: isolado proteico de soja; GA: goma arábica e MD: maltodextrina

A distribuição de tamanho de partículas de pó, Fig.1, do microencapsulado contendo isolado proteico de soja (fig. 1b) foi modal, com um pico característico indicando um tamanho média de partículas predominante de 1,40 μm . Já para o CVH (fig. 1a) e o microencapsulado, contendo maltodextrina (fig. 1c e d) e goma arábica, observa-se uma distribuição bimodal. Para o microencapsulado com MD, observa-se a ocorrência de um pico, com volume de distribuição menor que 4%, que apresenta partículas com diâmetro de até 1,6 μm em uma das replicatas e 12,6 μm em outra replicata. O mesmo comportamento é observado para uma das replicatas do CVH (fig. 1 a) com a ocorrência de partículas médias em torno de 10,6 μm , numa

proporção em torno de 2% e para uma replicata do microencapsulado com goma arábica com diâmetros de partículas em tona de 0,28 μm , mas também para uma proporção inferior a 2%.

Os valores de potencial zeta obtidos para o CVH, microencapsulado com IS, GA e MD são apresentados na Tabela 3.

Na análise dos valores de carga das microcápsulas quando comparado com o CVH, observa-se um aumento do PZ dos microencapsulados para todos os materiais de parede utilizados. Esse comportamento foi semelhante ao observado no trabalho de Jin et al. (2019) ao encapsular curcumina com proteína hidrolisada de soja, onde se observou um PZ de -32,54mV para a curcumina e um PZ de 34,8mV após encapsulamento. Os autores sugerem que o aumento na carga no encapsulado foi resultante do processo de encapsulação. Comportamento similar foi observado no trabalho de Xu et al. (2022) que atribuiu o aumento do PZ de 0mV para 23mV para encapsulado de isolado proteico de soja hidrolisada com alginato de sódio, atribuindo esse comportamento às interações entre as cargas positivas do hidrolisado de soja com a carga negativa do alginato, sugerindo a efetividade de encapsulamento.

Análise de cor dos microencapsulados

Os resultados da cor instrumental, expressa em termos de L^* , a^* e b^* dos microencapsulados de CVH contendo IS, GA e MD, como material de parede estão apresentados na Tabela 4.

A aceitabilidade de um produto está diretamente ligada à cor, que pode sofrer várias alterações como ingrediente, temperatura, luz entre outros, sendo de grande importância o monitoramento desta (TAHERI et al, 2012).

Tabela 5. Parâmetros de cor para os microencapsulados de CVH. Valores segundo CieLab para os encapsulados de HV

Material de Parede – Proporção	Hidrolisado de vísceras		
	L^*	a^*	b^*
IS 2,5:1	57,56 \pm 3,00 ^D	-1,97 \pm 2,30 ^A	15,83 \pm 2,60 ^A
GA 5:1	66,09 \pm 4,70 ^{BC}	-4,14 \pm 3,50 ^C	14,03 \pm 1,50 ^{BC}
MD 5:1	67,49 \pm 6,60 ^{ABC}	-3,81 \pm 8,80 ^C	13,76 \pm 4,70 ^{BC}

L^* : luminosidade; a^* : verde a vermelho; b^* : amarelo a azul; IS: Isolado proteico de soja; GA: Goma arábica; MD: Maltodextrina. Médias seguidos por letra diferente, na mesma coluna, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

O parâmetro luminosidade foi significativamente diferente entre os encapsulados com isolado proteico de soja em relação à maltodextrina e goma arábica. Os encapsulados de soja apresentaram menos luminosidade que goma arábica e maltodextrina, que foram semelhantes estatisticamente.

Em relação ao parâmetro a^* , os valores negativos indicam a predominância da cor verde, sendo goma arábica e maltodextrina mais verde que isolado proteico de soja contudo, como são valores próximos a 0, essas diferenças de cores são muito sutis.

Para a cor b^* que envolve cores amarela para valores positivos, os microencapsulados, com goma arábica e maltodextrina apresentaram o amarelo como cor predominante, levemente mais clara que isolado proteico de soja.

A luminosidade observada para o microencapsulado de CVH com IS, apresentou valores próximos aos observados por Mansour et al. (2020) que empregou isolado proteico de soja como material de parede no encapsulamento de antocianina, com L entre 45,99 a 55,72. Porém, os parâmetros a e b obtidos por Mansour et al. (2020) (a^* : 8,53 a 19,44 e b^* : 0,12 a 1,16) atribuíram uma coloração mais avermelhada, que o observado nas microcápsulas deste trabalho com IS.

Comportamento similar de contraste de cor também foi observado, quando empregado a goma arábica como material de parede para o encapsulamento das antocianinas, que encontraram os valores: L^* entre 43,97 a 54,47, e, parâmetros a^* entre 8,83 a 21,77, b^* entre 1,93 a 2,88, atribuindo ao composto, maior opacidade, um tom mais avermelhado e levemente amarelo, diferentes dos observados neste trabalho para as microcápsulas com goma arábica (L^* entre 66,09 a 69,99, a^* entre -3,90 a -4,14 (levemente verde) e b^* entre 11,88 a 12,54 (mais amarelado) (Mansour et al., 2020). Ou seja é possível inferir que a cor dos microencapsulados obtidos é resultante da relação entre o material de parede com o material a ser protegido.

Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos microencapsulados com diferentes materiais de parede

Os espectros de infravermelho (FTIR) do hidrolisado (CVH) e dos microencapsulados obtidos com maltodextrina (MD:CVH 5:1), goma arábica (GA:CVH 5:1) e isolado de proteína de soja 2,5:1 (IS:CVH 2,5:1), e dos respectivos materiais de paredes utilizados, estão mostrados nas Figura 2, 3 e 4, respectivamente.

As principais estruturas secundárias de proteínas e peptídeos são as α hélix, β sheet, β turn e espiral aleatória. A banda amida I (picos que se situam na região de 1600 e 1700 cm^{-1} , são importantes para identificar proteínas pois envolve vibrações de estiramento C=O de grupos peptídicos, além das bandas amida II (picos referente a inclinação no plano N-H e modo de estiramento C–N) e banda amida III (modo de plano do grupo CONH) fornecem informações importantes sobre a confirmação da presença de proteínas e suas alterações (KSHETRI et al., 2022; SHARMA et al., 2018).

Na análise dos espectros de FTIR do CVH (Fig.2-4), observa-se a presença de um pico em 1624 cm^{-1} que é atribuída a amida I. Similar observação também foi realizado por WUBSHET et al. (2017), que identificou a presença do pico em 1629 cm^{-1} atribuída a amida I, em estudos de caracterização de hidrolisado de filé de frango. A estrutura secundária β sheet foi associado por KSHETRI et al. (2022), na caracterização de hidrolisado de pena de frango, pela presença de pico na região entre 1610 a 1640 cm^{-1} .

Na região de amida II foi detectado em CVH, picos em 1516 cm^{-1} , atribuído a grupos amida hidrolisada, e um pico assimétrico em 1580 cm^{-1} que está associado ao grupo carboxilato (COO^-). Similar identificação e interpretações foi realizado por (WUBSHET et al., 2017) para os picos em 1517 cm^{-1} e 1585 cm^{-1} na caracterização, por FITR, em hidrolisados de sub produtos de frango.

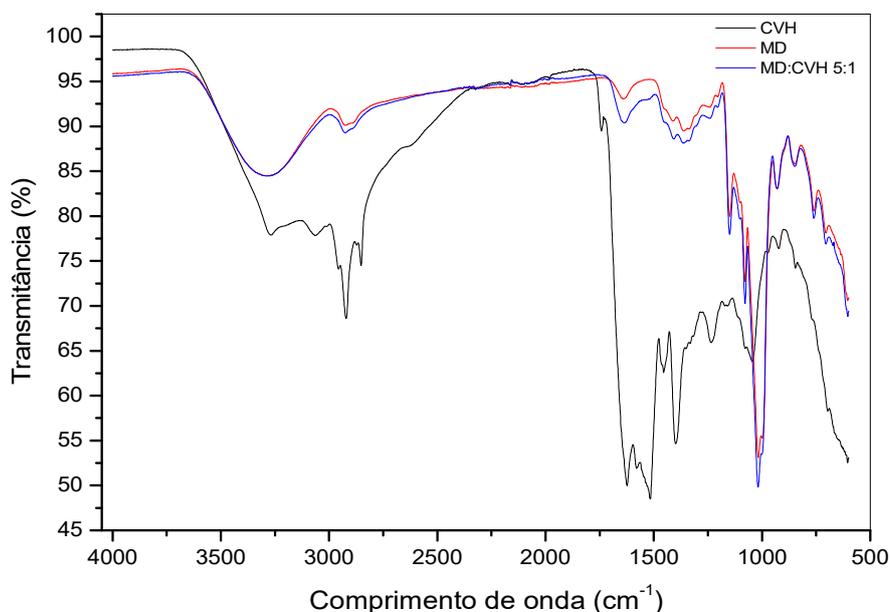


Figura 2- Espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do CVH, MD e do microencapsulado MD:CVH. CVH: Hidrolisado de vísceras frango; MD: maltodextrina; MD:CVH: microencapsulado de CVH com MD

Comparando os espectros de FTIR dos materiais de parede (MD, GA e IS) e dos microencapsulados obtidos (MD:CVH 5:1), (GA:CVH 5:1) e (IS:CVH 2,5:1) com o hidrolisado de vísceras de frango (CVH), Figs.2-4, observa-se uma significativa similaridade dos espectros de material de parede e do microencapsulado correspondentes produzidos.

Quando realizamos a comparação entre os espectros do hidrolisado (CVH), material a ser encapsulado, e os microencapsulados obtidos com os carboidratos, maltodextrina (MD:CVH 5:1) e goma arábica (GA:CVH 5:1), Fig. 2 e 3, respectivamente, observa-se uma diferença significativa (posição dos picos de absorção) do perfil entre os espectros. Com estas observações é possível inferir um processo de microencapsulação do CVH pelos carboidratos, predominante tipo “cor shell” onde o CVH foi envolvido pelos carboidratos.

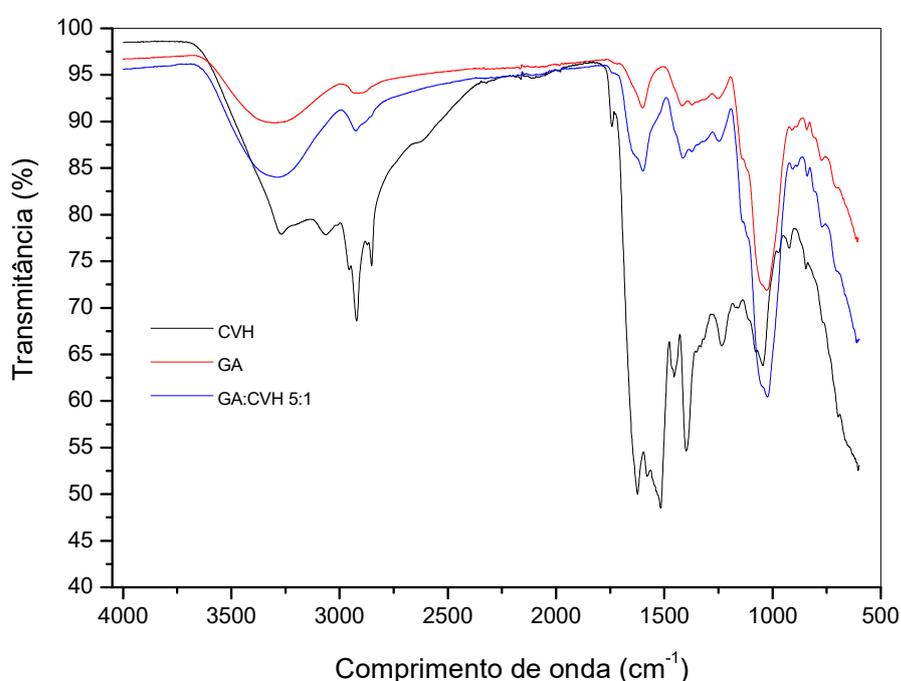


Figura 3 -Espectros obtidos por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do CVH, GA e do microencapsulado GA:CVH. CVH: hidrolisado de vísceras de frango; GA: goma arábica; GA:CVH: microcápsula de CVH com GA

Na avaliação dos espectros de FITR obtidos na produção de microcápsulas empregando o isolado de soja como material de parede, Fig.4, observa-se uma grande similaridade da posição de picos para o microencapsulado (IS:CVH 2,5:1), material de parede (IS) e CVH. Porém foram observadas semelhança de magnitudes de intensidade de absorção dos picos entre o material de parede e o microencapsulado, já as intensidades de sinal observadas no espectro do CVH foram predominantemente maiores. Além disso, observa-se

uma diminuição na intensidade da banda entre 1500 e 1750 cm^{-1} do CVH, quando comparando ao IS:CVH 2,5:1 indicando uma possível interação (ligação) entre o CVH e o IS.

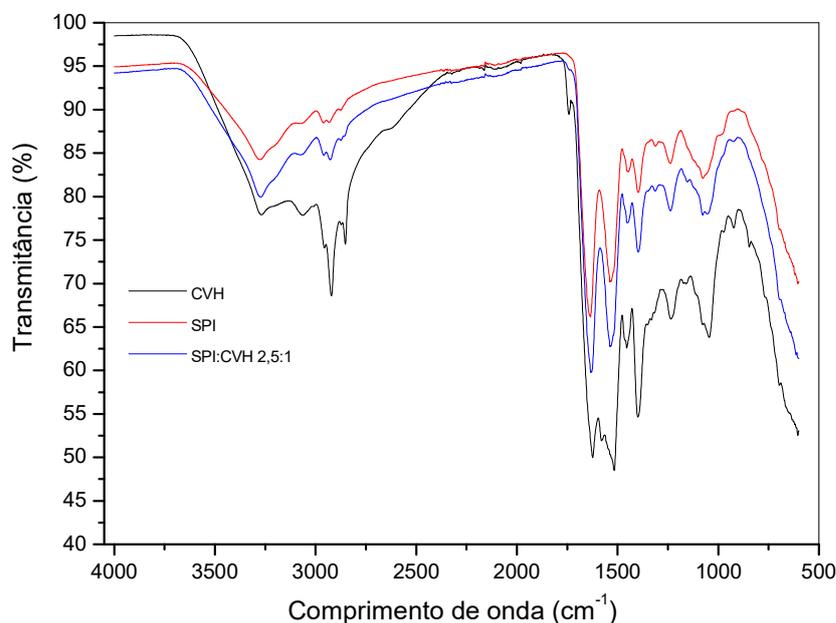


Figura 4 -Espectros obtidos por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do CVH, IS e do microencapsulado IS:CVH. CVH: hidrolisado de vísceras de frango; IS: isolado proteico de soja; IS:CVH: microcápsula de CVH com IS.

A similaridade das posições dos picos observados nos estudos empregando IS (Fig.4) se deve ao caráter proteico do observado no material de parede e aquele observado no CVH.

Morfologia da partícula

Na Fig. 5 (a, b) são apresentadas as micrografias SEM do microencapsulados obtidos com o hidrolisado de vísceras de frango (CVH) contendo a) goma arábica, (b) maltodextrina e, na Fig. 6 (a, b) com isolado proteico de soja, respectivamente.

Segundo Nandiyanto et al. (2011), os produtos resultantes do processo por secagem por spray-drying, podem apresentar várias formas a depender dos parâmetros aquecimento, velocidade da bomba peristáltica, natureza da solução, entre outros.

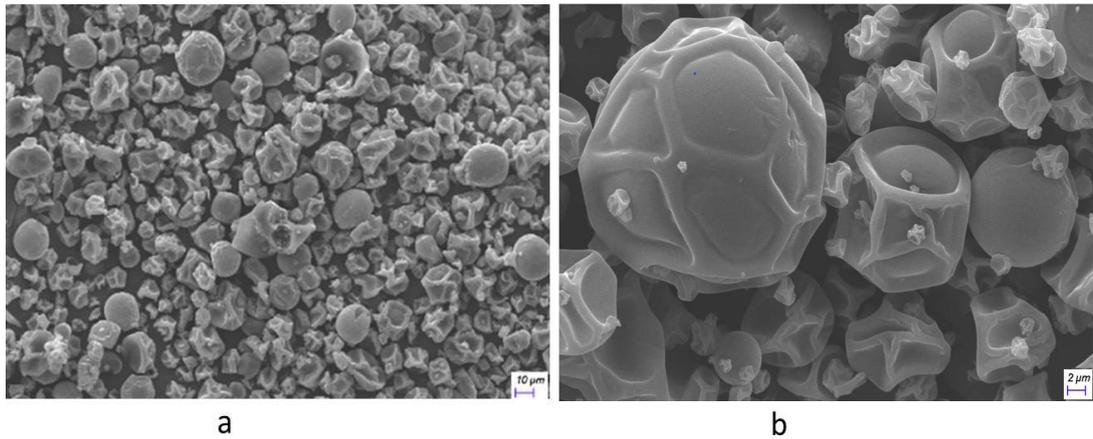


Fig. 5- Micrografias de hidrolisado de vísceras CVH, formulado com goma arábica GA/CVH. Imagens com ampliações de a) 2000× e b) 5000×

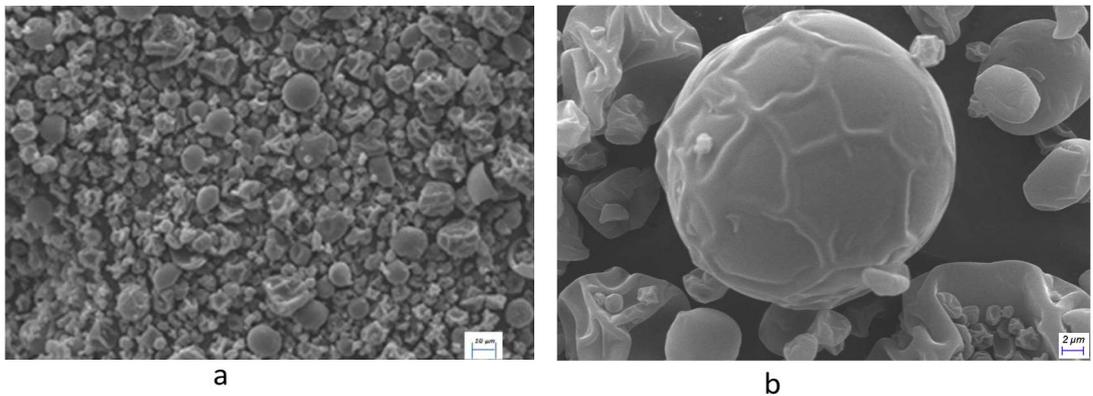


Fig. 6- Micrografias de partículas de hidrolisado de vísceras CVH, formulado com maltodextrina MD/CVH. Imagens com ampliações de a) 2000× e b) 5000×

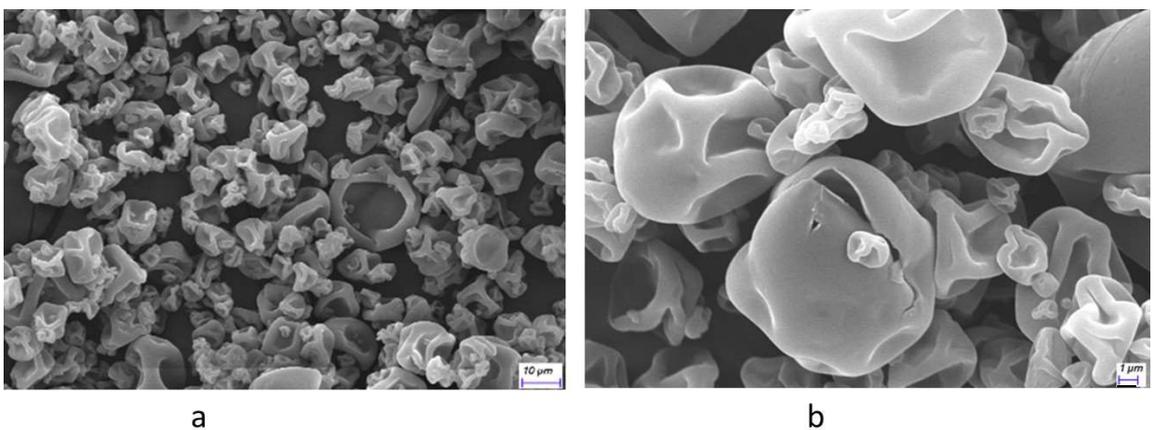


Fig. 7- Micrografias de partículas de hidrolisado de vísceras CVH, formulado com isolado proteico de soja IS/CVH 2,5:1. Imagem com ampliações de a) 2000× e b) 5000.

As micrografias do hidrolisado (CVH) com goma arábica, Fig. 5a e 5b, maltodextrina Fig. 6^a e 6b, revelaram a formação de algumas partículas esféricas e lisas, porém com predominância de partículas de tamanhos irregulares.

A micrografia obtidas do isolado proteico de soja (Fig. 7 a, b) apresentaram partículas heterogêneas de forma esférica, murcha e ocas, com uma superfície enrugada. Rosenberg et al. (1985) e Ré (1998) sugeriram que imperfeições superficiais, como rugas ou colapsos ocorrem pelo encolhimento das partículas durante a secagem e resfriamento das gotas atomizadas. A formação de vazios pode estar relacionada a diversos mecanismos ligados aos processos de atomização e secagem em spray drying, tais como: dessorção dos gases dissolvidos da emulsão durante a secagem e posterior expansão; formação de uma bolha de vapor dentro da gota de secagem ou incorporação de ar na gota líquida durante a atomização (ROSENBERG et al., 1985).

Composição Centesimal

As composições centesimais do hidrolisado (CVH), materiais de parede, e microencapsulados foram obtidas segundo AOAC (1995) e estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 6. Composição centesimal do material de parede e encapsulado utilizado na composição da ração

Análise (% base seca) espécies analisadas	Umidade	Lipídios	Proteína bruta	Cinzas	Carboidratos
IS:CHV 2,5:1	8,70±0,05	3,40±0,09	75,90±1,31	7,40±0,02	4,60
MD:CVH 5:1	11,60±0,17	0,20±0,03	11,20±0,33	0,70±0,02	76,30
GA:CVH 5:1	11,30±0,01	0,20±0,01	12,10±1,72	3,90±0,01	72,50
Isolado Prot. de Soja	5,60±0,03	0,00	84,70±1,12	5,50±0,07	4,20
Maltodextrina	5,00±0,30	0,00	0,00	1,30±0,09	93,70
Goma Arábica	5,50±0,12	0,00	2,00±0,81	5,20±0,16	87,30
CVH	10,00±1,3	6,00±0,85	80,80±1,56	4,00±0,28	0,00

Os valores representam as médias de três determinações ± desvios padrão. CVH:hidrolisado de vísceras de frango; IS: isolado proteico de soja; MD:maltodextrina; GA:goma arábica

Os teores de umidade dos microencapsulados com os diferentes materiais de parede utilizados foram próximos, sendo de 8,7 % utilizando o isolado proteico de soja, 11,3% empregando a maltodextrina e 11,6% para microencapsulados obtidos com maltodextrina. As umidades dos microencapsulados ficaram muito próximas a do hidrolisado de vísceras de

frango (10%). Esse perfil de comportamento de umidade do material a ser encapsulado (10,4 %) e dos microencapsulados obtidos (9,95 a 10,6%) também foram observado nos estudos de Rashidian et al (2021), que encapsulou hidrolisados de resíduos de camarão empregando quitosana como encapsulante. Segundo Goula e Adamopoulos (2004), em um sistema de secagem por pulverização o teor de água de alimentação controla o teor de umidade residual no pó. Teores de umidade final mais baixos podem ser alcançados usando teores mais altos de sólidos de alimentação, devido a quantidades reduzidas de água livre para evaporação.

Os microencapsulados produzidos foram utilizados como ingrediente na composição das dietas fornecidas à tilápia do Nilo. Assim a estimativa da quantidade de proteína por grama de microencapsulado, foram de 0,3g de proteína/g de microencapsulado com isolado de proteína de soja IS:CVH 2,5:1, 0,16g de proteína/g de microencapsulado com maltodextrina MD 5:1 e, 0,16g de proteína/g de microencapsulado com goma arábica GA 5:1, respectivamente.

Desempenho zootécnico

A análise do desempenho zootécnico foi realizado após 30 dias de arraçoamento com as dietas produzidas (Tabela 6), contendo o CVH e os microencapsulados obtidos com diferentes materiais de parede. Os peixes foram avaliados quanto as seguintes características: peso final, comprimento total, ganho de peso, taxa de crescimento, conversão alimentar, taxa de eficiência proteica e sobrevivência, e os resultados estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Características avaliados do desempenho zootécnico dos peixes, realizados após 30 dias de arraçoamento com as dietas produzidas com microencapsulado de CVH

Características avaliadas	Dietas produzidas contendo/controlado(CVH) e microcápsulas			
	Controle CVH	IS:CVH	MD:CVH	GA:CVH
Peso Final (g)	27,45±1,58	26,99±1,40	25,79±3,04	24,02±1,41
Comp. Total (cm)	10,96±0,12 ^A	10,91±0,18 ^A	10,72±0,23 ^{AB}	10,44±0,24 ^B
Ganho Peso (g)	18,99±1,39 ^A	18,49±1,20 ^{AB}	17,00±3,18 ^{AB}	15,29±1,37 ^B
Taxa Crescim. Espec (%)	3,92±0,12 ^A	3,85±0,10 ^{AB}	3,67±0,47 ^{AB}	3,38±0,20 ^B
Conv Alim Apar (g/g)	1,15±0,14 ^A	1,07±0,09 ^A	1,35±0,31 ^{AB}	1,54±0,20 ^B
Taxa Efic Proteica (%)	2,34±0,29 ^A	2,52±0,20 ^A	2,11±0,44 ^{AB}	1,76±0,21 ^B
Sobrevivência (%)	94,67±5,58	98,67±2,98	94,67±5,58	92,00±7,30

Comp. Total: Comprimento médio total. Ganho Peso: Ganho de peso médio (g) (peso final médio – peso inicial médio). Taxa Crescim Espec (%): Taxa de crescimento específico $\left(\frac{(\text{In PFM}) - (\text{In PIM})}{\text{Período experimental}}\right)$. Conv Alim Apar: conversão alimentar aparente (consumo de ração / ganho de peso). Taxa Efic Proteica: Taxa de eficiência proteica (ganho em peso/Proteína bruta consumida) *100. Médias seguidas por letras (A e B) diferente, na mesma linha, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,05).

Na análise dos parâmetros de desempenho zootécnico apresentados na Tabela 7, no contexto dos microencapsulados incorporados às dietas experimentais, estimamos que a quantidade de proteína bruta presentes nos microencapsulados foram em torno de 12% para os microencapsulados contendo goma arábica e maltodextrina e, 76% no microencapsulado empregando isolado proteico de soja (Tabela 5 onde 53,13% representa a proteína da soja e 22,77% a proteína do hidrolisado). Na análise de sobrevivência e peso final dos peixes, não foram observados diferenças estatísticas significativas entre as dietas fornecidas.

Carboidratos em excesso na dieta podem, via rota metabólica (FRACALOSSI; CYRINO, 2012), propiciar acúmulo de gordura visceral e, conseqüentemente influenciar no peso final do peixe. Nos microencapsulados contendo maltodextrina e goma arábica, os teores de carboidratos foram acima de 76% (Tabela 5), porém, este percentual não influenciou na análise de Índice de gordura visceral (Tabela 8) que não apresentou diferenças significativas.

A dieta contendo microencapsulado a base de goma arábica apresentou os piores índices para os parâmetros (comprimento total, ganho de peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica) avaliados (Tabela 8), diferindo significativamente da dieta controle.

Os parâmetros do desempenho zootécnico dos peixes decorrentes das dietas controle, contendo microencapsulado com isolado proteico de soja e com microencapsulado contendo maltodextrina não apresentaram diferenças estatísticas significativas, porém o teor de proteína bruta fornecida via CVH no controle foi de 81% e no microencapsulado com isolado proteico de soja em torno de 22,77%. Já no microencapsulado contendo maltodextrina o fornecimento de proteína bruta foi em torno de 11% (aproximadamente 67% menor em média que no CVH e no IS).

Na análise dos parâmetros ganho de peso e taxa de crescimento específico, não foi observada diferença estatística do desempenho para com as dietas controle e as dietas contendo isolado proteico de soja e maltodextrina.

A inclusão de proteína (proteína bruta), juntamente com aporte energético (energia digestível) deve ocorrer de forma balanceada uma vez que o excesso de energia pode levar à ingestão reduzida de alimento e ao acúmulo de gordura visceral, ao passo que a escassez de energia leva ao metabolismo proteico comprometendo o crescimento do animal (ROCHA et al., 2021; FRACALOSSI; CYRINO, 2012). Estudos tem apontado que os menores percentuais de inclusão de hidrolisado proteico na alimentação promove melhor desenvolvimento quando comparado aos maiores teores como demonstrado nos trabalhos de

Rocha et al. (2021) com tilápias do Nilo avaliando a inclusão de hidrolisado de frango entre 0 e 6% com indicação de 3% para melhor desempenho dos animais (nível utilizado na dieta controle). Xavier (2022) em estudo com tilápias do Nilo avaliando a inclusão de hidrolisado de penas entre 0 a 5%, indicaram 1 e 2% de inclusão para alevinos e larvas respectivamente. Já Souza (2020) avaliando hidrolisado de pescado em rações para tilápias do Nilo em inclusões de 4,75 e 2,38% observaram melhores resultados com 2,38%. No entanto, salienta-se que todos esses níveis determinados pelos autores citados foi do produto puro sem proteção (microencapsulação).

Os materiais de parede têm a função de criar uma barreira de proteção ao material envolvido, neste caso o hidrolisado de vísceras, com o intuito de reduzir as interações com o ambiente, perda de valor nutricional, evitar reações prematuras do substrato com enzimas endógenas além de permitir que o substrato atinja o local onde atuará da forma mais integrada possível (AZEREDO, 2005). Neste estudo, estes fatores podem ter influenciado na eficiência da absorção da proteína do tratamento com menor percentual de proteína bruta/peptídeos bioativos (dieta com microencapsulado de maltodextrina com 11%, quando comparado com a dieta controle, que forneceu 80% de proteína bruta com CVH in natura) refletindo em parâmetros de desempenho zootécnico compatíveis ao produto natural (dieta controle com 3% de CVH).

A taxa de sobrevivência dos peixes não diferiu entre os diferentes tratamentos sendo superior a 92%, sugerindo que as dietas atenderam as necessidades básicas nutricionais dos peixes e promoveram resistência na fase de alevinagem.

Os índices viscerossomáticos, teor de glicose e tamanho de intestino analisados nos peixes alimentados com as diferentes dietas experimentais estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Índices viscerossomáticos, de gordura visceral, hepatossomáticos, e, a concentração de glicose e tamanho de intestino das tilápias após nutrição com as dietas experimentais contendo CVH e microencapsulas com isol. prot. soja, maltodextrina e goma arábica.

Parâmetros investigados	Dieta contendo CVH e microencapsulados			
	Controle (CVH)	Isol. Prot. Soja IS:CVH	Maltodextrina MD:CVH	Goma Arábica GA:CVH
Índice Viscerosomático (%)	16,49±2,31	16,70±4,36	16,01±1,13	17,54±1,11
Índice de Gordura Visceral (%)	2,17±0,41	1,66±0,41	2,23±0,60	1,69±0,21
Índice Hepatossomáticos (%)	2,69±0,25	2,57±0,80	2,81±0,21	3,28±0,43
Glicose mg/dL	27,86±6,17	33,80±5,22	27,27±1,96	27,07±3,47
Intestino (cm)	63,40±6,51	59,23±6,29	64,40±7,74	60,37±4,72

Índice Viscerosomático: (peso das vísceras (g)/peso final (g) *100). Índice de Gordura Visceral: (peso da gordura visceral (g)/peso final (g) *100). Índice Hepatossomático: (peso do fígado (g)*100/peso final (g)). Intestino: Comprimento médio do intestino.

Avaliando os índices víscerosomático, hepatossomático, de gordura visceral, teor de glicose no sangue e, do tamanho do intestino, não foram observadas diferenças estatísticas significativas, sugerindo que não se observa efeito negativo dos carboidratos (maltodextrina e goma arábica) e proteína (isolado proteico de soja) empregado na produção das microcápsulas sobre estes parâmetros investigados.

Análises Histológicas

As análises do perfil do tamanho das fibras musculares são apresentadas na Tabela 9. As fotomicrografias dos músculos dos alevinos de tilápia alimentadas com as dietas experimentais contendo, a) hidrolisado de vísceras de frango CVH, controle b) microencapsulado com isolado proteico de soja IS, c) microencapsulado com maltodextrina MD e d) microencapsulado com goma arábica GA, são apresentados na Figura 17.

Tabela 9 Avaliação do perfil das fibras musculares de alevinos de tilápia do Nilo, alimentados com dietas contendo microencapsulado.

Músculos	Dietas experimentais			
	Controle (CVH)	(IS:CVH 2,5:1)	(MD:CVH 5:1)	(GA:CVH 5:1)
Fibra < 5 µm	4,55±2,49	4,22±2,34	4,41±2,42	4,30±2,36
Fibra 5 a 10 µm	8,47±0,45	8,47±0,13	7,91±1,33	8,80±0,77
Fibra 10 a 15 µm	12,81±0,16	12,61±0,07	11,90±1,96	12,81±0,23
Fibra 15 a 20 µm	17,51±0,07	17,50±0,09	17,56±0,28	17,37±0,18

Médias seguidas por letra diferente, na mesma linha, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,05).

Na análise das fibras (tab. 9), verificou-se que os diâmetros (ou áreas) apresentaram tamanhos médios entre 4,22 a 17,56 µm. Não foram observados diâmetros acima de 20 µm. Segundo ACOSTA et al. (2005), a plasticidade é uma das principais características do tecido muscular e este atributo torna o músculo extremamente importante para a adaptação dos organismos ao seu habitat, ou seja os vários estímulos decorrentes de diferentes funções funcionais e metabólicas, decorrentes de alterações das dietas, poderiam alterar o perfil das características dos tecidos no peixe. Porém não foram observadas diferenças estatísticas

significativas do perfil de diâmetros dos músculos dos peixes avaliados com as diferentes dietas fornecidas.

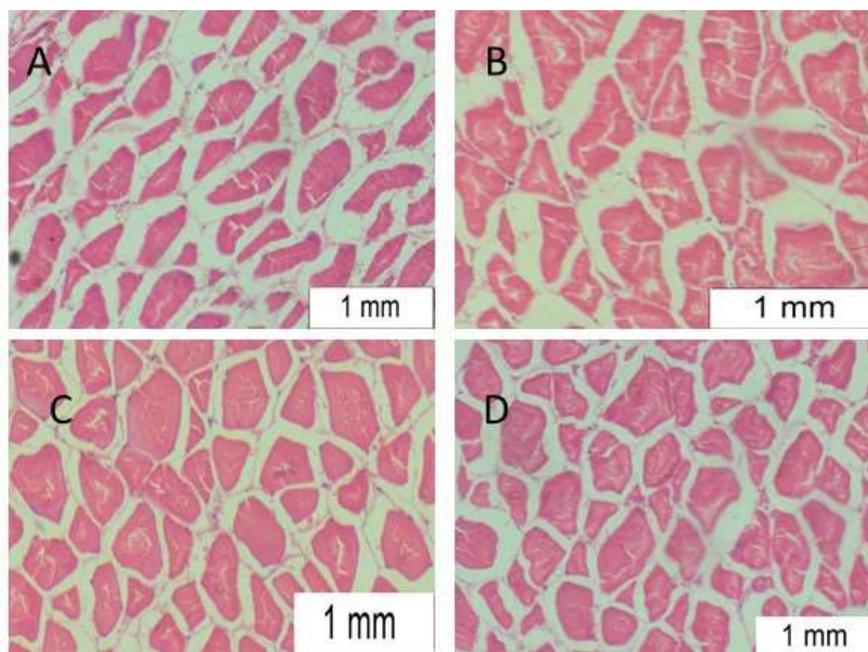


Figura 8 – Fotomicrografia do corte transversal dos tecidos musculares da tilápia alimentadas com as dietas experimentais. A) controle, B) microencapsulado com isolado proteico de soja C) microencapsulado com maltodextrina e D) microencapsulado com goma arábica , observado na ampliação de 10x, em uma escala de 1 mm.

O intestino é um órgão de extrema importância na avaliação do estado nutricional do peixe uma vez que atuam na absorção e digestão dos alimentos segundo Caballero et al. (2004). Na Figura 8, são apresentadas as fotomicrografias do intestino de tilápias, observado na ampliação de 10x, em uma escala de 1 mm.

Na Tabela 10, são apresentados os resultados dos parâmetros histológicos do intestino de tilápia do Nilo, alimentados durante 30 com as diferentes dietas experimentais. Não foram observados diferenças estatísticas diferentes no comprimento dos intestinos para todas as dietas experimentais.

Os vilos são fundamentais para o processo de absorção intestinal (BALDISSEROTO 2002) e o aumento de densidade das vilosidades é considerado como fator positivo neste processo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005; SIDDIK et al. 2019). A média das alturas e dos perímetros determinados nos vilos dos peixes alimentados com a dieta contendo (IS:CVH) foram as maiores e estatisticamente diferentes daqueles observados nos peixes analisados com as demais dietas (MD:CVH) e (GA:CVH). Porém estas diferenças (maior altura e perímetros) para os vilos dos peixes alimentados com (IS:CVH), não refletiram no desempenho zootécnico

(Tabela 7) (peso final, ganho de peso e comprimento final) para as dietas controle CVH e a dieta contendo microencapsulado de maltodextrina.

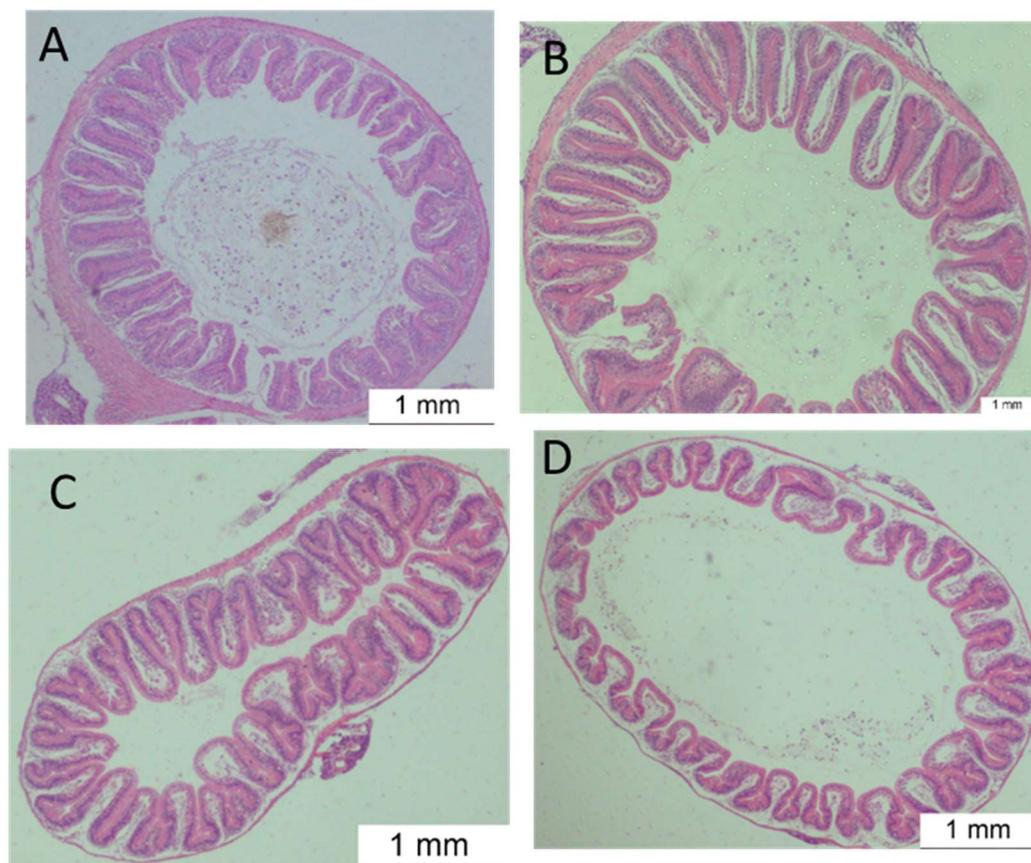


Figura 9- Fotomicrografia do corte transversal dos intestinos de tilápia alimentadas com as dietas experimentais contendo A) CVH; B) microencapsulado com isolado proteico de soja IS:CVH, C) microencapsulado com maltodextrina MD:CVH e D) microencapsulado com goma arábica GA:CVH

Apesar da dieta contendo GA não apresentar diferenças significativas em altura, largura e perímetro dos vilos comparados à de outras dietas, a conformação “achatada” foi percebida na maioria dos cortes de alevinos alimentados com esta dieta (Figura 8D). É possível que esta conformação possa ter interferido na absorção de nutrientes e proteína, refletindo no pior desempenho zootécnico dos alevinos apesar do teor proteico ofertado pelos microencapsulamento (12%) ser muito próximo ao encapsulado de MD (11%). Em muitos parâmetros, os alevinos alimentados com GA e MD responderam de forma semelhante contudo os valores de MD aproximaram-se dos valores do controle enquanto GA não alcançou estes valores.

Tabela 10. Parâmetros da histologia dos intestinos de tilápia do Nilo, alimentados com as diferentes dietas experimentais.

Parâmetros	Dietas experimentais			
	Controle (CVH)	(IS:CVH 2,5:1)	(MD:CVH 5:1)	(GA:CVH 5:1)
Intestino (cm)	63,40±6,51	59,23±6,29	64,40±7,74	60,37±4,71
Vilo Altura (µm)	102,29±13,64 ^B	160,14±11,44 ^A	107,51±18,94 ^B	97,40±8,51 ^B
Vilo Largura (µm)	66,77±9,45	73,53±4,05	72,15±10,17	66,29±6,18
Vilo Perímetro (µm)	334,28±39,16 ^B	470,73±30,58 ^A	359,45±39,49 ^B	329,60±20,02 ^B

Médias seguidas por letra diferente, na mesma linha, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,05).

Na Tabela 11, são apresentadas parâmetros histológicos do fígado de tilápia do Nilo, alimentados com as diferentes dietas experimentais, após 30 dias de cultivo. O fígado é também responsável pelo metabolismo de nutrientes. Mudanças observadas no fígado podem refletir informações da nutrição dos peixes, gorduras e proteínas dos alimentos podem modificar as estruturas do fígado (RASKOVIC et al., 2011).

Tabela 11. Informações da histologia dos fígados de tilápia do Nilo, alimentados com as diferentes dietas experimentais.

Órgão/célula	Dietas experimentais			
	Controle (CVH)	(IS:CVH)	(MD:CVH)	(GA:CVH)
Fígado massa(g)	0,88±0,068	1,24±0,96	0,93±0,13	0,93±0,13
Hepatócito número	357,66±28,13 ^A	345,53±27,43 ^A	283,86±29,96 ^B	347,46±28,34 ^A

Médias seguidas por letra diferente, na mesma linha, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,05).

Na Figura 9 são apresentadas as fotomicrografias do fígado de tilápias alimentadas com as dietas experimentais observado na ampliação de 40x, em uma escala de 1 mm.

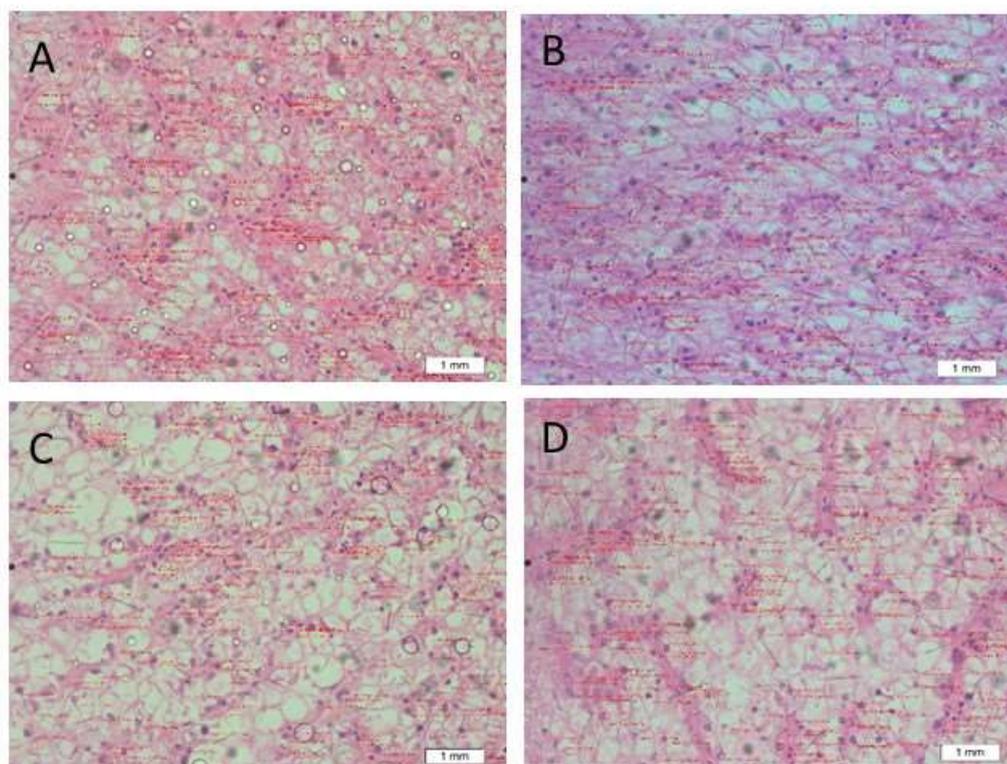


Figura 10 Fotomicrografia de fígado: A) CVH; B) IS; C) MD e D) GA

Na análise dos resultados da Tabela 11, apesar de se observar uma massa média maior dos fígados de peixe alimentados com a dieta (IS:CVH 2,5:1), não foram observadas diferenças estatísticas na comparação com os fígados dos peixes alimentados com as demais dietas experimentais analisadas.

Já o número de hepatócitos avaliados no fígado dos peixes alimentados com a dieta (MD:CVH 5:1) foram menores (284) e estatisticamente diferentes daqueles observados nos peixes alimentados com as dietas CVH, IS:CVH 2,5:1 e GA:CVH 5:1, que apresentaram um número médio em torno de 349 Hepatócito.

3 CONCLUSÕES

O método de atomização utilizando o spray drying para a produção de microencapsulados com hidrolisado de vísceras de frango e os materiais de parede (goma arábica, isolado proteico de soja e maltodextrina) permitiram obter microencapsulados atestados pelas técnicas de DLS, MEV, PZ e FTIR, indicando a formação de cápsula e conformação de esfera.

Foi possível detectar que a dieta controle e as dietas com isolado proteico de soja e maltodextrina não resultaram em diferenças significativas na avaliação do desempenho zootécnico dos alevinos, contudo a dieta contendo goma arábica apresentou os piores resultados de desempenho, abaixo do controle.

Na análise dos índices viscerossomáticos, de gordura visceral, hepatossomáticos, concentração de glicose no sangue e tamanho de intestino não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre as dietas assim como na análise histológica do músculo. A análise histológica do intestino resultou em vilos mais altos e de maior perímetro com a dieta IS e análise histológica do fígado resultou em menor número de hepatócitos com a dieta MD.

Os encapsulados com maltodextrina e isolado proteico de soja apresentaram-se como melhores opções para inclusão em rações para alevinos de Tilápia do Nilo.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos apresentados neste trabalho refletiram de certa forma, a carência de estudos a respeito da pesquisa com encapsulamento de proteína e seu efeito em organismos vivos. Durante o processo de formulação do encapsulado poucas referências a respeito de encapsulamento de proteína pôde oferecer esclarecimentos para um estudo mais direcionado. O primeiro desafio foi a confirmação a respeito da presença da proteína na cápsula, garantindo o encapsulamento do CVH, molécula que a princípio não permite detecção imediata como em probióticos, prebióticos, óleos essenciais, microorganismos entre outros, limitando-se ao rendimento o papel de apontar alguma eficiência de encapsulamento. Da mesma forma, a conformação tipo cápsula ou esfera também foi desafiador. Foi iniciado um estudo com o monitoramento da atividade antioxidante da cápsula em função do tempo, que poderia ser uma forma de afirmar a presença da proteína na cápsula desde que haja atividade antioxidante desta proteína. Outras razões entre núcleo e matriz, união de matrizes diferentes, variar os parâmetros (temperatura, vazão de alimentação, de ar) no equipamentos spray dryer poderiam colaborar nestes questionamentos.

A condução com a parte experimental em organismo vivo também carece de mais informações. O estágio da tilápia utilizado, o comportamento desta dieta em outras espécies, o tempo maior de desempenho, o percentual de inclusão do encapsulado na ração bem como avaliar outros parâmetros como enzimático e digestibilidade também poderiam oferecer outras respostas que, juntamente com os resultados do atual trabalho, enriqueceria bastante o entendimento do processo de atuação dos peptídeos bioativos e sua real proteção por parte da matriz utilizada no encapsulamento.

De toda forma, este trabalho pôde colaborar com as futuras pesquisas utilizando encapsulado de proteína com maltodextrina, goma arábica e isolado proteico de soja e sua atuação em organismos vivos, neste caso, alevinos de tilápia.

AGRADECIMENTOS

Os autores são imensamente gratos o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasil Foods S/A (BRF Ingredients setor); CEANMED-Central Multiuser Analytical UTFPR, Campus Medianeira; Paulo Rodrigo Stival Bittencourt pelas análises de Fourier-transform infrared spectroscopy; GEMaQ-Grupo de estudos em aquicultura da UNIOESTE, Campus Toledo.

5 REFERÊNCIAS

AKSNES, A. et al. Inclusion of size fractionated fish hydrolysate in high plant protein diets for Atlantic cod, *Gadus morhua*. **Aquaculture**, v. 261, n. 3, p. 1102-1110, 2006.

ALEXAKIS, T. et al. Microencapsulation of DNA within alginate microspheres and crosslinked chitosan membranes for in vivo application. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 50, p. 93-106, 1995.

AOAC (2016) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 20th edn. 498 John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA

AUBIN, J. et al. Implementing ecological intensification in fish farming: definition and principles from contrasting experiences. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 1, p. 149-167, 2019.

AZEREDO H.M.C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos **Alim. Nutr.**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.

BARRETO, F.M. **Veículos para recobrimento de ração medicada para peixes: impactos na liberação do florfenicol e digestibilidade aparente da ração medicada em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2018. 142 f. Tese (Doutorado em Alimentos) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018.

CABALLERO, M. J. et al.,. Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus aurata* L., caused by short-or long-term feeding with vegetable oils. Recovery of normal morphology after feeding fish oil as the sole lipid source. **Journal of Fish Diseases**, v. 27, p. 531-541, 2004

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**, Viçosa, v.39, n. 5, p. 971-976, 2010.

CHEN, H. et al. Characterization, phylogeny, and responses of leptin to different nutritional states in critically endangered Yangtze sturgeon (*Acipenser dabryanus*). **Aquaculture**, v. 525, p. 735296, 2020.

DANIEL, N. A review on replacing fish meal in aqua feeds using plant protein sources. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 6, n. 2, p. 164-179, 2018.

DAMUSARU, J.H. et al. Evaluation of fish meal analogue as partial fish meal replacement in the diet of growing Japanese eel *Anguilla japonica*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 247, p. 41-52, 2019.

DOS SANTOS CARDOSO, M. et al.,. Apparent digestibility of protein hydrolysates from chicken and swine slaughter residues for Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 530, p. 735720, 2021.

FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira**. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. p.376. 2012

- FRANCIS, G.; MAKKAR, H.P.S; BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. **Aquaculture**, v. 199, n. 3-4, p. 197-227, 2001.
- GILDBERG, A. et al. Isolation of acid peptide fractions from a fish protein hydrolysate with strong stimulatory effect on Atlantic salmon (*Salmo salar*) head kidney leucocytes. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 114, n. 1, p. 97-101, 1996.
- GOULA, A.M.; ADAMOPOULOS, K.G. Influence of spray drying conditions on residue accumulation—Simulation using CFD. **Drying Technology**, v. 22, n. 5, p. 1107-1128, 2004.
- HILDEBRAND, G.E.; TACK, J.W. Microencapsulation of peptides and proteins. **International journal of pharmaceutics**, v. 196, n. 2, p. 173-176, 2000.
- HUA, K. et al. The future of aquatic protein: implications for protein sources in aquaculture diets. **One Earth**, v. 1, n. 3, p. 316-329, 2019.
- JIN, B. et al. Influence of phenolic acids on the storage and digestion stability of curcumin emulsions based on soy protein-pectin-phenolic acids ternary nano-complexes. **Journal of Microencapsulation**, v. 36, n. 7, p. 622-634, 2019.
- JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J., 2013. **Histologia básica**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro
- KOTZAMANIS, Y. P. et al. Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 147, n. 1, p. 205-214, 2007.
- KSHETRI, P. Et al. Biological activity of peptides isolated from feather keratin waste through microbial and enzymatic hydrolysis. **Electronic Journal of Biotechnology** v. 60, p. 11–18, 2022
- KUROZAWA, L.E., PARK, K.J.& HUBINGER, M.D. (2009). Effect of carrier agentes on the physicochemical properties chicken meat protein hydrolysate. **Journal of Food Engineering**, v. 94, 326-333.
- LEDUC, A. et al. Dietary aquaculture by-product hydrolysates: impact on the transcriptomic response of the intestinal mucosa of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed low fish meal diets. **BMC genomics**, v. 19, n. 1, p. 1-20, 2018.
- LIANG, M. et al. Effects of different levels of fish protein hydrolysate in the diet on the nonspecific immunity of Japanese sea bass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvieret Valenciennes, 1828). **Aquaculture Research**, v. 37, n. 1, p. 102-106, 2006.
- LIGARDA SAMANEZ, C.A. *et al.*,. Microencapsulation of Erythrocytes Extracted from *Cavia porcellus* Blood in Matrices of Tara Gum and Native Potato Starch. **Foods**, v. 11, p. 2107, 2022.

MALVERN Instruments Worldwide. Dynamic Light Scattering: common terms defined. Inform white paper. (2011). Disponível em:<[http://www.malvern.com/malvern/kbase.nsf/allbyno/KB003060/\\$file/MRK1764-01_INFORM_DLS%20terms%20defined.pdf](http://www.malvern.com/malvern/kbase.nsf/allbyno/KB003060/$file/MRK1764-01_INFORM_DLS%20terms%20defined.pdf)>

MONIRUZZAMAN, M. et al. Effects of partial replacement of dietary fish meal by bioprocessed plant protein concentrates on growth performance, hematology, nutrient digestibility and digestive enzyme activities in juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 3, p. 1285-1293, 2020.

NANDIYANTO, A.B.D.; OKUYA, K. Progress in developing spray-drying methods for the production of controlled morphology particles: from the nanometer to submicrometer size ranges. **Advanced Powder Technology**, v. 22, p. 1–19, 2011.

NAYLOR, R.L. et al. A 20-year retrospective review of global aquaculture. **Nature**, v. 591, n. 7851, p. 551-563, 2021.

NRC (2011) Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academies Press, Washington, D.C.

NWANNA, L. C. et al. Replacement of fish meal with chemically preserved shrimp head in the diets of African catfish, *Clarias gariepinus*. **Journal of Food Agriculture and Environment**, v. 2, p. 79-83, 2004.

OGAVA et al. Physical and chemical characterization of chicken viscera hydrolysed : nutritional information for Nile Tilapia diets, **Waste and Biomass Valorization**, submetido em 04 março 2023.

O'HAGAN, D.T.; SINGH, M.; ULMER, J.B. Microparticle-based technologies for vaccines. **Methods**, v. 40, n. 1, p. 10-19, 2006.

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**, Viçosa, v. 39, n. 5, p. 971-976, 2010.

ORTIZ et al.,. Production and properties of casein hydrolysate microencapsulated by spray drying with soybean protein isolate. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 919–923, 2009.

OVISSIPOUR, M. et al. Tuna viscera protein hydrolysate: nutritive and disease resistance properties for Persian sturgeon (*Acipenser persicus* L.) larvae. **Aquaculture Research**, v. 45, n. 4, p. 591-601, 2014.

PEIXE BR **Anuário peixe BR da piscicultura**. Associação Brasileira de Piscicultura, 2022.

PEREIRA, K.C. et al. Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização: revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.

RASHEED, F.A.; ALKARADAGHI, K.; AL-ANSARI, N. The Potential of Moringa oleifera Seed in Water Coagulation-Flocculation Technique to Reduce Water Turbidity. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 234, n. 4, p. 250, 2023.

RAŠKOVIĆ, B. S. et al.. Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. *Journal of Agricultural Sciences*, v. 56 n. 1, p. 87-100 2011

RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying technology**, v. 16, n. 6, p. 1195-1236, 1998.

RESENDE, D. et al. Innovative swine blood hydrolysates as promising ingredients for European seabass diets: Impact on growth performance and resistance to Tenacibaculum maritimum infection. **Aquaculture**, v. 561, p. 738657, 2022.

REZENDE, Y.R.R.S.; NOGUEIRA, J.P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (Malpighia emarginata DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization **Food Chemistry**, v. 254, p. 281–291, 2018.

ROCHA, J.D.M. et al. Proteína hidrolisada de frango em dietas para alevinos de Tilápia. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, 2021.

ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I.J.; TALMON, Y. A scanning electron microscopy study of microencapsulation. **Journal of Food Science**, v. 50, n. 1, p. 139-144, 1985.

SARDINHA, L.F. **Avaliação da toxicidade da vinhaça tratada utilizando fígado de peixes Oreochromis niloticus como modelo**. 2017. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2017

SHARMA, S. *et al.*, An efficient conversion of waste feather keratin into ecofriendly bioplastic film. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 20, p. 2157–2167, 2018.

SIDDIK, M.A.B. et al. Enzymatic fish protein hydrolysates in finfish aquaculture: a review. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, n. 1, p. 406-430, 2021.

SILVA, K.C.G. et al. Biopolymer interactions on emulsion-filled hydrogels: Chemical, mechanical properties and microstructure. **Food Research International**, v. 141, p. 110059, 2021.

SOUZA, H.B. **Diferentes condições de hidrólise de resíduos de pescado em dietas para pós-larvas de tilápia do nilo** 2020. 33 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2020.

TAHERI A, et al. Comparison the functional properties of protein hydrolysates from poultry byproducts and rainbow trout. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 12(1), 2013.

TÓTH, J.; PALLAI-VARSÁNYI, E. Drying of bovine serum albumin on inert particle surface in msb dryer. In: **INTERNATIONAL DRYING SYMPOSIUM**. 2006. p. 1216-1222.

TRICHET, V.V. Nutrition and immunity: an update. **Aquaculture research**, v. 41, n. 3, p. 356-372, 2010.

TROELL, M. et al. Does aquaculture add resilience to the global food system?. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 111, n. 37, p. 13257-13263, 2014.

UDDIN, M.S.; HAWLADER, M.N.A.; ZHU, H.J. Microencapsulation of ascorbic acid: effect of process variables on product characteristics. **Journal of Microencapsulation**, v. 18, n. 2, p. 199-209, 2001.

VALENTE, L. M. P., et al. Growth dynamics of white and red muscle fibres in fast and slow-growing strains of rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, v. 55, n. 4, p. 675– 691, 1999.

WAITE, R. et al. **Improving productivity and environmental performance of aquaculture**. WorldFish, 2014.

WEATHERLEY, A.H.; GILL, H.S. Dynamics of increase in muscle fibres in relation to size and growth. **Experientia**. v. 41, p. 353-354. 1985

WILLER, D.F.; ALDRIDGE, D.C. Microencapsulated diets to improve growth and survivorship in juvenile European flat oysters (*Ostrea edulis*). **Aquaculture**, v. 505, p. 256-262, 2019.

WUBSHET, S.G., et al FTIR as a rapid tool for monitoring molecular weight distribution during enzymatic protein hydrolysis of food processing by-products. **Anal. Methods** v. 9, p. 4247–4254. 2017.

XAVIER DTO **Proteína hidrolisada de penas em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)** 2022. 103 f. Tese. Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo. 2022.

XU, M. *et al.*,. Complex coacervation of soy protein isolate-limited enzymatic hydrolysates and sodium alginate: Formation mechanism and its application. **Food Sci Nutr.**, v. 00, p. 1–11, 2022

ZHENG, K. et al. Effect of size-fractionated fish protein hydrolysate on growth and feed utilization of turbot (*S. cophthalmus maximus* L.). **Aquaculture Research**, v. 44, n. 6, p. 895-902, 2013.