

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

CELMA NEGRINI

Substituição parcial da farinha de peixe por diferentes hidrolisados proteicos na dieta de *Penaeus vannamei* (BOONE, 1934) em diferentes fases de crescimento.

Toledo
2024

CELMA NEGRINI

Substituição parcial da farinha de peixe por diferentes hidrolisados proteicos na dieta de *Penaeus vannamei* (BOONE, 1934) em diferentes fases de crescimento.

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.

Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo
Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Luis Cupertino Ballester

Toledo

2024

FICHA CATALOGRÁFICA

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

Negrini, Celma

Substituição parcial da farinha de peixe por diferentes hidrolisados proteicos na dieta de *Penaeus vannamei* (BOONE, 1934) em diferentes fases de crescimento. / Celma Negrini; orientador Dr. Wilson Rogério Boscolo; coorientador Dr. Eduardo Luis Cupertino Ballester. -- Toledo, 2024.
52 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, 2024.

1. Carcinicultura.. 2. Camarão Branco do Pacífico.. 3. Substitutos parciais de farinha de peixe.. 4. Hidrolisado proteico. I. Boscolo, Dr. Wilson Rogério , orient. II. Ballester, Dr. Eduardo Luis Cupertino , coorient. III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

CELMA NEGRINI

Substituição parcial da farinha de peixe por diferentes hidrolisados proteicos na dieta de *Penaeus vannamei* (BOONE, 1934) em diferentes fases de crescimento.

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. Eduardo Cupertino Ballester
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. Arcangelo Augusto Signor
Instituto Federal do Paraná

Prof^a. Dr^a. Izabel Volkweis Zadinelo
Universidade Federal do Paraná

Aprovada em: 03 de junho de 2024.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus (meu criador), por me amar e me sustentar em todos os momentos;

A minha família pelo amor, carinho e suporte financeiro e emocional;

Ao meu Pastor Aloísio Antônio Lopes pelo apoio, amizade e carinho;

Ao Professor Dr. Wilson Boscolo e Professor Eduardo Ballester pela orientação, por compartilhar conhecimento, pela oportunidade de estágio, pelo incentivo e amizade.

Aos professores do PREP, pelo apoio e pelo conhecimento compartilhado;

A secretária Carla Meurer pela paciência, presteza e eficiência;

As amigas do GEMaQ, Luci, Vanessa e Camila, por terem me dado a oportunidade de dividir suas rotinas de trabalhos experimentais e proporcionado momentos troca de conhecimento, incentivo e amizade;

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná Campus Toledo pela estrutura física e apoio no desenvolvimento intelectual.

Ao Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, pela oportunidade de formação e capacitação através de seus docentes, secretaria e colegas;

Ao Laboratório de Carcinicultura da UFPR setor Palotina, pela infraestrutura e condução dos experimentos;

A Universidade Fronteira Sul - campus Laranjeiras do Sul, pela realização das análises;

A CAPES pela concessão de dois anos de bolsa de estudos (“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”);

À BRF Ingredients Ltda pelo apoio financeiro a este projeto de pesquisa;

A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento envolvido e não na vitória propriamente dita.

Mahatma Gandhi

Substituição parcial da farinha de peixe por diferentes hidrolisados proteicos na dieta de *Penaes vannamei* (BOONE, 1934) em diferentes fases de crescimento.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da inclusão de diferentes hidrolisados proteicos como substitutos parciais da farinha de peixe nas dietas de pós larvas e juvenis de camarão branco do Pacífico (*P. vannamei*) sobre o desempenho zootécnico, composição química centesimal, atividade de enzimas digestivas e contagem total de hemócitos. Em ambas as fases, foram utilizadas 24 unidades experimentais em sistema de recirculação com água clara. O delineamento experimental foi totalmente casualizado, com seis tratamentos, sendo eles: Controle (farinha de peixe); Proteína hidrolisada de frango (PHF); Hidrolisado enzimático de penas de frango; Aquabite®; PHF + maltodextrina; e PHF + levedura; e quatro repetições cada. Na fase de berçário, foram alojados 30 camarões com o peso médio de 0,2 g por unidade experimental, alimentados por 28 dias com as dietas experimentais. Na fase de engorda, foram estocados cinco camarões com peso médio de 1,35 g por unidade experimental, alimentados por 50 dias. Ao final de ambas as fases experimentais todos os camarões foram contados, pesados e medidos para determinar a sobrevivência, ganho de biomassa, conversão alimentar aparente e taxa de crescimento específico. Também foi medido o comprimento total da antena. Foi analisada a composição química corporal e das rações, as atividades enzimáticas do hepatopâncreas e realizada a contagem total de hemócitos da hemolinfa. Os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e ao teste de Tukey. Na fase de berçário, não houve diferença estatística entre os tratamentos em nenhum dos parâmetros analisados ($p < 0,05$), indicando que todos os hidrolisados proteicos avaliados podem ser utilizados como substitutos parciais da farinha de peixe nas rações, mantendo equivalentes e adequadas às atividades das enzimas digestivas, à saúde, crescimento e composição corporal dos camarões. Já na fase de engorda, não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos nos parâmetros de desempenho zootécnico e na contagem total de hemócitos dos camarões ($p < 0,05$). Quanto ao bem-estar, o comprimento de antena dos camarões teve valores superiores nos tratamentos com Hidrolisado enzimático de penas de frango, PHF + maltodextrina e PHF + levedura ($p > 0,05$), sendo que sua integridade é sinal de que o animal estava em boas condições de bem-estar no ambiente de produção. Na composição química corporal com base na matéria natural, os parâmetros de matéria seca, extrato etéreo e resíduo

mineral foram afetados pelos tratamentos ($p < 0,05$). Quanto à análise de enzimas digestivas, houve influência dos tratamentos sobre as enzimas amilase e tripsina ($p < 0,05$). O *P. vannamei* na fase de engorda teve capacidade de modular as atividades das enzimas digestivas amilase e tripsina em função do ingrediente utilizado, garantindo disponibilidade dos nutrientes ao metabolismo das células. Os resultados de ambas as fases de produção evidenciaram que todos os hidrolisados proteicos avaliados podem ser incluídos (6%) como substitutos parciais da farinha de peixe nas rações de *P. vannamei* durante as fases de berçário e engorda mantendo bom desempenho dos camarões.

Palavras-chave: Carcinicultura. Camarão branco do Pacífico. Nutrição. Proteína hidrolisada.

Partial replacement of fishmeal by different protein hydrolysates in the diet of
Penaeus vannamei (BOONE, 1934) at different growth phases.

ABSTRACT

The objective of the present work was to evaluate the effects of including different protein hydrolysates as partial replacements for fishmeal in the diets of post-larvae and juveniles of Pacific white shrimp (*P. vannamei*) on zootechnical performance, proximate chemical composition, digestive enzyme activity and total hemocyte count. In both phases, 24 experimental units were used in a recirculation system with clear water. The experimental design was completely randomized, with six treatments, namely: Control (fish meal); Hydrolyzed chicken protein (PHF); Enzymatic hydrolyzate of chicken feathers; Aquabite®; PHF + maltodextrin; and PHF + yeast; and four repetitions each. In the nursery phase, 30 shrimp were housed with an average weight of 0.2 g per experimental unit, fed for 28 days with the experimental diets. In the fattening phase, five shrimp with an average weight of 1.35 g per experimental unit were stored and fed for 50 days. At the end of both experimental phases, all shrimp were counted, weighed and measured to determine survival, biomass gain, apparent feed conversion and specific growth rate. The total length of the antenna was also measured. The chemical composition of the body and feed, the enzymatic activities of the hepatopancreas and the total count of hemocytes in the hemolymph were analyzed. The data obtained were submitted to ANOVA and the Tukey test. In the nursery phase, there was no statistical difference between treatments in any of the analyzed parameters ($p < 0.05$), indicating that all protein hydrolysates evaluated can be used as partial replacements for fishmeal in rations, maintaining equivalent and adequate digestive enzyme activities, health, growth and body composition of shrimp. During the fattening phase, there were no significant differences between the treatments in the zootechnical performance parameters and in the total hemocyte count of the shrimp ($p < 0.05$). Regarding well-being, the shrimp's antenna length had higher values in treatments with Enzymatic hydrolyzate of chicken feathers, PHF + maltodextrin and PHF + yeast ($p > 0.05$), and its integrity is a sign that the animal was in good conditions of well-being in the environment of production. In body chemical composition based on natural matter, the parameters of dry matter, ether extract and mineral residue were affected by the treatments ($p < 0.05$). Regarding the analysis of digestive enzymes, there was an influence of treatments on the enzymes amylase and trypsin ($p < 0.05$). *P. vannamei* in the

fattening phase had the ability to modulate the activities of the digestive enzymes amylase and trypsin depending on the ingredient used, ensuring availability of nutrients for cell metabolism. The results from both production phases showed that all protein hydrolysates evaluated can be included (6%) as partial replacements for fishmeal in *P. vannamei* rations during the nursery and fattening phases, maintaining good shrimp performance.

Keywords: Shrimp farming. Pacific white shrimp. Nutrition. Hydrolyzed protein.

Tese elaborada e formatada conforme as normas da publicação científica *FISHES*. Disponível em: <https://www.mdpi.com/journal/fishes/instructions>.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	11
1.1 REFERÊNCIAS	14
2 CAPÍTULO I - Substituição parcial de farinha de peixe por hidrolisados proteicos na dieta de <i>Penaeus vannamei</i> (Boone, 1934) na fase de berçário	16
2.1 INTRODUÇÃO	17
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	18
2.2.1 Delineamento experimental e formulação das dietas	18
2.2.2 Monitoramento da qualidade de água	21
2.2.3 Desempenho zootécnico e avaliação de bem-estar animal	21
2.2.4 Composição química centesimal das rações e dos camarões	21
2.2.6 Contagem total de hemócitos	23
2.2.7 Análise estatística	23
2.3 RESULTADOS	23
2.3.1 Desempenho zootécnico e avaliação de bem-estar animal	23
2.3.2 Composição química centesimal das rações e dos camarões	26
2.3.3 Avaliação da atividade enzimática	26
2.3.4 Contagem total de hemócitos	28
2.4 DISCUSSÃO	28
2.5 CONCLUSÃO	30
2.6 REFERÊNCIAS	31
3 CAPÍTULO II - Substituição parcial de farinha de peixe por diferentes hidrolisados proteicos na dieta de <i>Penaeus vannamei</i> (BOONE, 1934) na fase de engorda	34
3.1 INTRODUÇÃO	35
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	36
3.2.1 Condições experimentais e formulação das dietas	36
3.2.2 Monitoramento da qualidade de água	38
3.2.3 Desempenho zootécnico e avaliação de bem-estar animal	39
3.2.4 Composição química centesimal das rações e dos camarões	39
3.2.5 Avaliação da atividade enzimática	39
3.2.6 Contagem total de hemócitos	40
3.2.7 Análise estatística	41

3.3 RESULTADOS.....	41
3.3.1 Desempenho zootécnico e avaliação de bem-estar animal.....	41
3.3.3 Avaliação da atividade enzimática.....	43
3.4 DISCUSSÃO.....	45
3.5 CONCLUSÃO.....	47
3.6 REFERÊNCIAS.....	48
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	52

1 INTRODUÇÃO GERAL

A produção mundial de organismos aquáticos foi estimada em 178 milhões de toneladas em 2020, dos quais a captura contribuiu com 90 milhões de toneladas (51%) e a aquicultura com 88 milhões de toneladas (49%). Da produção total, 112 milhões de toneladas (63%) foram colhidas em águas marinhas (70% de captura e 30% da aquicultura) e 66 milhões de toneladas (37%) em águas interiores (17% da captura e 83% da aquicultura) (FAO, 2022).

Um grande número de espécies de organismos aquáticos é cultivado a cada ano, variando de região para região, sendo que em 2020, em nível de espécie, a mais produzida foi o camarão branco do pacífico (*Penaeus vannamei*) com 5,8 milhões de toneladas (FAO, 2022). Esse destaque em produção se deve as características da espécie. Ela é reconhecida como osmorreguladora, sendo considerada eurihalina, tolerando rápidas e amplas flutuações na salinidade e tem alta adaptabilidade às condições climáticas, suporta elevadas densidades de cultivo, apresenta rápido ganho de peso, sendo estes fatores que determinaram sua criação em nível mundial (Cozer; Rossi, 2021).

Na produção da carcinicultura, os países da Ásia (83,4% da produção) e da América Latina (16,3%) respondem pela maior parte, baseada em duas espécies: o camarão branco do Pacífico (*P. vannamei*) com 83% da produção, e o camarão tigre (*Penaeus monodon*) com 12% (Villarreal; Juarez, 2022). Atualmente, a produção de camarão enfrenta diversos problemas que influenciam no seu desenvolvimento e fortalecimento em todo o mundo, entre os quais os mais relevantes são o custo da alimentação, os preços de mercado, as doenças e a qualidade dos reprodutores (Villarreal, 2023).

Em relação aos custos com alimentação, os ingredientes que são fontes de proteína, normalmente são os itens mais caros em rações para organismos aquáticos. Diante do exposto, há uma preocupação direcionada a fim de garantir que a alimentação proteica dietética para a alimentação de peixes, crustáceos e outros animais aquáticos seja de alta qualidade e satisfatória economicamente. Devido ao rápido desenvolvimento da aquicultura em todo o mundo, a limitação do principal ingrediente proteico utilizado, a farinha de peixe, reforçadas pela forte concorrência por fontes proteicas usuais em outros segmentos industriais, devem ser identificadas como fontes alternativas de proteínas para compor as dietas dos organismos aquáticos (Jia *et al.*, 2022). Além disso, espera-se que a utilização de proteínas animais não

marinhos na alimentação aquícola seja ampliada, especialmente à medida que a concorrência e os preços da farinha de peixe são elevados (Martínez-Alvarez; Chamorro; Brenes, 2015).

Ingredientes de origem animal podem ser usados como fonte única de proteína dietética ou em combinações com as fontes vegetais e microbianas de proteínas (Jia *et al.*, 2022). Para garantir o pleno desenvolvimento desta cadeia produtiva, há a necessidade de se testar novos ingredientes, que muitas vezes necessitam do uso de biotecnologias que aperfeiçoem suas características nutricionais. Os coprodutos/subprodutos agroindustriais são alternativas nutricionais e econômicas para fornecer o aporte de nutrientes nas rações para organismos aquáticos, visto que apresentam grande volume de produção, e principalmente, ótima qualidade biológica. Dentre as técnicas biotecnológicas disponíveis, se encontra a hidrólise proteica, que pode ser feita via química, enzimática ou biológica (transformação microbiana). O método de escolha para a hidrólise das proteínas depende da origem do produto a ser hidrolisado (Houet *et al.*, 2017).

Baixas quantidades de hidrolisados de proteína animal incluídas em rações de organismos aquáticos podem aumentar a taxa de crescimento e a conversão alimentar de peixes e crustáceos cultivados. Podem também ser incorporados em dietas para o fornecimento de aminoácidos e peptídeos bioativos, aumentar a imunidade inespecífica, melhorar a atividade enzimática, a microbiota intestinal, entre outros benefícios (Hou *et al.*, 2017; Martínez-Alvarez; Chamorro; Brenes, 2015; Silva *et al.*, 2017; Soares *et al.*, 2021). Nas dietas de *P. vannamei*, o melhor nível de inclusão de hidrolisados de proteína de subproduto de frango e fígado suíno foi no nível de 4,8%, substituindo 24% da farinha de peixe da dieta (Soares *et al.*, 2020), e promoveu alterações benéficas no microbiota intestinal dos camarões, com redução na abundância da família Vibrionaceae (Soares *et al.*, 2021).

Os hidrolisados de origem animal, que contém peptídeos de cadeia curta (peptídeos bioativos), por serem produtos de proteólise, são absorvidos diretamente pelos enterócitos do intestino. Esses peptídeos chegam rapidamente à corrente sanguínea e são direcionados de maneira eficiente às células para desempenhar suas funções biológicas (BRF, 2019; Song *et al.*, 2024). Dessa forma, rações formuladas com inclusão de hidrolisados permitem criar uma alimentação completa com os nutrientes necessários para atender às exigências dos animais, além de conter as propriedades funcionais que atuam na melhora do desempenho e saúde dos animais (PEIXE BR, 2022).

Outros ingredientes podem ser associados aos hidrolisados para otimizar suas funções nutricionais, como a levedura e a maltodextrina. A levedura é um ingrediente proteico sustentável utilizado nas dietas de organismos aquáticos por seu papel promissor na nutrição e

imunoestimulação de muitas espécies (Mahdyet *al.*, 2022). Para o *P. vannamei*, a suplementação dietética com 3,0% de levedura aumentou significativamente os índices de Shannon da microbiota intestinal e com 2,0% de extrato de levedura melhorou significativamente o desempenho de crescimento e a capacidade antioxidante. Além disso, também alterou a composição da microbiota intestinal e aumentou a abundância relativa de bactérias benéficas, ao mesmo tempo em que reduziu a abundância relativa de bactérias patogênicas oportunistas do camarão (Zhenget *al.*, 2021).

Já a maltodextrina é um polissacarídeo que possui uma média de cinco a dez unidades de glicose por molécula e pode ser produzida por hidrólise enzimática ou ácida do amido, ou uma combinação dos dois métodos (Machado; Carvalho, 2015), podendo ser utilizada como aditivo na proteção dos hidrolisados contra degradação ou redução da sua funcionalidade por causa de diferentes reações, por exemplo, oxidação, hidrólise, entre outras (Justuset *al.*, 2020). Esses ingredientes, quando combinados com os hidrolisados, podem contribuir na manutenção da qualidade nutricional e melhora do fornecimento de nutrientes para as espécies.

Assim, o presente trabalho tem por objetivo avaliar os efeitos da inclusão de 6% de diferentes hidrolisados proteicos (Hidrolisado Proteico de Frango (CPH), CPH + levedura, CPH + maltodextrina, hidrolisado enzimático de penas e de um produto comercial (Aquabite®) como substitutos parciais da farinha de peixe nas dietas de pós-larvas e juvenis de camarão branco do Pacífico (*P. vannamei*) sobre o desempenho zootécnico, composição química centesimal, atividade de enzimas digestivas e contagem total de hemócitos.

1.1 REFERÊNCIAS

BRF. **Peptídeos Bioativos**: nutrição animal mais eficiente. BRF ingredientes, 04/02/2019. Disponível em: <https://www.brfindredients.com/pt-br/blog/posts/peptideos-bioativos-nutricao-animal-mais-eficiente/>. Acesso em: 17 jun. 2023.

COZER, N.; ROSSI, V. G. **Camarão marinho *Litopenaeus vanammei***. GIA, 2021. Disponível em: <https://gia.org.br/portal/camarao-marinho-litopenaeus-vanammei-boone-1931/>. Acesso em: 13 jun. 2023.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **The State of World Fisheries and Aquaculture 2022**. Towards Blue Transformation. Rome, FAO, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.4060/cc0461en>. Acesso em: 11 dez. 2023.

HOU, Y.; WU, Z.; DAI, Z.; WANG, G.; WU, G. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 8, n. 24, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0153-9>. Acesso em: 01 dez. 2023.

JIA, S.; LI, X., HE, W.; WU, G. Protein-Sourced Feedstuffs for Aquatic Animals in Nutrition Research and Aquaculture. In: Wu, G. (eds). **Recent Advances in Animal Nutrition and Metabolism**. Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer, Cham, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-85686-1_12. Acesso em: 01 dez. 2023.

JUSTUS, A.; BENASSI, M. T.; IDA, E. I.; KUROZAWA, L. E. Physical and chemical stability of microencapsulated okara protein hydrolysate by spray drying. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, p. e2019135, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.13519>. Acesso em: 05 dez. 2023.

MARTÍNEZ-ALVAREZ, O.; CHAMORRO, S.; BRENES, A. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. **Food Research International**, v. 73, p. 204–212, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.005>. Acesso em: 05 dez. 2023.

MACHADO, C. A.; CARVALHO, L. S. S. Maltodextrina na alimentação animal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 110, p. 593-594, 2015.

MAHDY, M. A.; JAMAL, M. T.; AL-HARB, M.; AL-MUR, B. A.; HAQUE, M. F. Use of yeasts in aquaculture nutrition and immunostimulation: A review. **Journal of Applied Biology and Biotechnology**, v. 10, n. 5, p. 59-65, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.7324/JABB.2022.100507>. Acesso em: 05 dez. 2023.

PEIXE BR. **A utilização de peptídeos bioativos para melhor desenvolvimento da nutrição animal**. 17/10/2022. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/a-utilizacao-de-peptideos-bioativos-para-melhor-desenvolvimento-da-nutricao-animal/>. Acesso em: 18 jun. 2024.

SILVA, T. C.; ROCHA, J. D. M.; MOREIRA, P.; SIGNOR, A.; BOSCOLO, W. R. Fish protein hydrolysate in diets for Nile tilapia post-larvae. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 7, p. 485–492, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2017000700002>. Acesso em: 04 dez. 2023.

SOARES, M.; REZENDE, P. C.; CORRÊA, N. M.; ROCHA, J. S.; MARTINS, M. A.; ANDRADE, T. C.; FRACALLOSSI, D.M.; DO NASCIMENTO VIEIRA, F. Protein hydrolysates from poultry by-product and swine liver as an alternative dietary protein source for the Pacific white shrimp. **Aquaculture Reports**, v. 17, p. e100344, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100344>. Acesso em: 01 dez. 2023.

SOARES, M.; GONÇALVES, P.; SCHLEDER, D. D.; DELGADILLO-DIAZ, M.; GULLIAN-KLANIAN, M.; VIEIRA, F. N. Protein hydrolysate of poultry by-product and swine liver in the diet of pacific white shrimp. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 47, p. e657, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.20950/1678-2305/bip.2021.47.e657>. Acesso em: 01 dez. 2023.

SONG, L.; CHEN, Y.; LIU, H.; ZHANG, X. Preparation, Biological Activities, and Potential Applications of Hen Egg-Derived Peptides: A Review. *Foods*, v. 13, n. 6, e.885, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods13060885>. Acesso em: 28jun. 2024.

VILLARREAL, H. Shrimp farming advances, challenges, and opportunities. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 54, n. 5, p. 1092–1095, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jwas.13027>. Acesso em: 06 dez. 2023.

VILLARREAL, H.; JUAREZ, L. Super-intensive shrimp culture: Analysis and future challenges. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 53, p. 928–932, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jwas.12929>. Acesso em: 14 dez. 2023.

ZHENG, L.; XIE, S.; ZHUANG, Z.; LIU, Y.; TIAN, L.; NIU, J. Effects of yeast and yeast extract on growth performance, antioxidant ability and intestinal microbiota of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, v. 530, p. e735941, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735941>. Acesso em: 14 dez. 2023.

2 CAPÍTULO I - Substituição parcial de farinha de peixe por hidrolisados proteicos na dieta de *Penaeus vannamei* (Boone, 1934) na fase de berçário

Celma Negrini ¹, Caio Henrique do Nascimento Ferreira ², Rafael Ortiz Kracizy ³, Rosane Lopes Ferreira ³, Luana Costa ³, Marlise Teresinha Mauerwerk ³, Milena Cia Retcheski ⁴, Luisa Helena Cazarolli ⁴, Wilson Rogério Boscolo ¹ and Eduardo Luis Cupertino Ballester ^{3*}

¹ Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Rua da Faculdade, 645 - Bloco C, Unioeste Campus de Toledo - Jardim Santa Maria - Toledo – Paraná, Brasil. Email: celma.negrini@hotmail.com; wilsonboscolo@hotmail.com

² Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. Email: caiohenrique1048@gmail.com

³ Laboratório de Carcinicultura, Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento em Aquicultura Sustentável, Universidade Federal do Paraná, Maripá, Paraná, Brasil. Email: kracizy@gmail.com; rosanelopes1992@gmail.com; luanacosta0500@gmail.com; marlisemauerwerk1@gmail.com; elcballester@ufpr.br

⁴ Laboratório de Bioquímica e Genética, Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul, Paraná, Brasil. Email: milenaciara@gmail.com; luisacazarolli@uffs.edu.br

* Corresponding author: Email - elcballester@ufpr.br

Resumo: O objetivo foi avaliar os efeitos da substituição parcial da farinha de peixe por hidrolisados proteicos e um produto comercial em dietas de pós-larvas de *Penaeus vannamei* sobre o desempenho zootécnico, composição química centesimal da carcaça, atividade de enzimas digestivas e contagem total de hemócitos. O experimento foi realizado em sistema de recirculação com água clara, com 24 unidades experimentais com 30 camarões. Os tratamentos foram: T1 - Controle (farinha de peixe); T2 - Proteína hidrolisada de frango (PHF); T3 - Hidrolisado enzimático de penas de frango; T4 - Aquabite®; T5 - PHF + maltodextrina; e T6 - PHF + levedura; com 4 repetições cada. O nível de inclusão das diferentes fontes proteicas avaliadas foi de 6%, em substituição parcial à farinha de peixe. Foi monitorada a qualidade da água. Ao final do experimento todos os camarões foram contados, pesados e medidos para determinar a porcentagem de sobrevivência, ganho de biomassa, conversão alimentar aparente e taxa de crescimento específico. Também foi medido o comprimento total da antena. Foi analisada a composição química corporal e das rações, as atividades enzimáticas do hepatopâncreas, e realizada a contagem total de hemócitos da hemolinfa. Os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e ao teste de Tukey. Não houve diferença estatística entre os tratamentos em nenhum dos parâmetros analisados. Os resultados evidenciaram que todos os hidrolisados proteicos avaliados podem ser utilizados como substitutos parciais da farinha de peixe nas rações de *P. vannamei* para a fase de berçário mantendo equivalentes e adequadas às atividades das enzimas digestivas, à saúde, crescimento e composição corporal dos camarões.

Palavras-chave: aquicultura, hidrólise, peptídeos, proteína, nutrição, camarão branco do Pacífico.

2.1 INTRODUÇÃO

A produção aquícola está em constante desenvolvimento e ganhando mais espaço na produção mundial de alimentos. Alimentos com origem na aquicultura e na pesca continuam sendo uma das commodities alimentares mais comercializadas do mundo, com 225 países e territórios relatando alguma atividade comercial dos produtos da pesca e da aquicultura em 2020 [1]. A expectativa é de que a aquicultura continue crescendo e que a produção dobre até 2030, e, com isso, as demandas por rações e matérias-primas aumentem também [2]. O crescimento sustentável da aquicultura exigirá o desenvolvimento de matérias-primas altamente nutritivas e funcionais para substituir com eficiência a farinha de peixe, que é a fonte proteica mais utilizada e de alto valor, por ser de alta digestibilidade, bem balanceada em aminoácidos essenciais e de boa palatabilidade [2, 3].

Por outro lado, a grande quantidade de resíduos gerados nos abatedouros e na indústria do pescado e de outros animais torna necessária a exploração de novas aplicações desses resíduos, tendo em vista os problemas ambientais causados por seu descarte inadequado e a importância econômica que resulta da conversão desse resíduo de baixo custo em subprodutos com valor agregado [4]. Neste contexto, a aplicação da hidrólise química, enzimática ou microbiana de proteínas de subprodutos animais é um meio atraente de gerar peptídeos de qualidade, que têm funções nutricionais e fisiológicas ou reguladoras em bovinos, aves, peixes e crustáceos [5].

Na aquicultura, estudos relataram resultados positivos ao desempenho de crescimento e à saúde de camarões e peixes alimentados com dietas com uso de hidrolisados de proteína [3, 6-9]. Hidrolisados de proteína animal também podem ser incorporados em dietas para aumentar a imunidade inespecífica, e são uma fonte promissora de peptídeos bioativos [4]. No intestino dos animais, os peptídeos são hidrolisados e fornecem pequenos peptídeos, que são absorvidos pelos enterócitos mais rapidamente do que os aminoácidos livres, e fornecem um padrão mais equilibrado de aminoácidos na circulação sanguínea. Alguns peptídeos de origem animal também possuem atividades antimicrobianas, antioxidantes, anti-hipertensivas e imunomoduladoras [5].

Estudos evidenciam que ingredientes compostos por hidrolisados proteicos podem ser incluídos em menores concentrações na dieta de camarões para favorecer um melhor desempenho do crescimento e microbiota intestinal [4, 7-9]. A principal espécie de camarão de importância comercial é o camarão branco do Pacífico (*P. vannamei*). Nas dietas de *P. vannamei*, o melhor nível de inclusão de hidrolisados de proteína de subproduto de frango e

fígado suíno foi de 4,8%, substituindo 24% da farinha de peixe da dieta [8], e promoveu alterações benéficas no microbiota intestinal dos camarões, com redução na abundância da família Vibrionaceae [9].

A maltodextrina é um polissacarídeo que possui uma média de cinco a dez unidades de glicose por molécula e pode ser produzida por hidrólise enzimática ou ácida do amido, ou uma combinação dos dois métodos [10]. Ela pode ser utilizada como aditivo na proteção dos hidrolisados contra degradação ou redução da sua funcionalidade por causa de diferentes reações, por exemplo, oxidação, hidrólise, entre outras [11]. Já a levedura tornou-se um novo ingrediente proteico sustentável na alimentação aquática por seu papel promissor na nutrição e imunestimulação de muitas espécies [12]. Esses ingredientes, quando combinados com os hidrolisados, podem contribuir na manutenção da qualidade nutricional e melhora do fornecimento de nutrientes para as espécies.

Apesar de existirem alguns estudos sobre os usos de hidrolisados na dieta de camarões, isolados ou combinados com outros produtos, ainda são escassas as informações sobre os seus efeitos no crescimento e saúde durante as diferentes fases de produção. Dessa forma, o objetivo foi avaliar os efeitos da substituição parcial da farinha de peixe por hidrolisados proteicos, sem e com aditivos (Proteína Hidrolisada de Frango (PHF), PHF + levedura, PHF + maltodextrina, hidrolisado enzimático de penas e um produto comercial (Aquabite[®]) em dietas de *P. vannamei*, sobre o desempenho zootécnico, composição química centesimal da carcaça, atividade de enzimas digestivas e contagem total de hemócitos na fase de berçário.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Delineamento experimental e formulação das dietas

O experimento foi realizado no Laboratório de Carcinicultura do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento em Aquicultura Sustentável, da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em Maripá – PR. Foram utilizadas pós-larvas de *P. vannamei* com 30 dias de vida (PL30) da linhagem *Speed Line* adquiridas da empresa Aquatec[®]. O período experimental foi de 28 dias.

O experimento foi realizado em um sistema de recirculação com água clara composto por 24 unidades experimentais (UE), composto por seis tratamentos e quatro repetições. Estas unidades consistiam em tanques circulares de 100 L com volume útil de 93 L, acopladas a um

filtro biológico de 600 litros com volume útil de 500 litros, e cada unidade experimental foi equipada com uma mangueira e uma pedra porosa para aeração constante. A vazão média do sistema de recirculação foi de 1400 L hora⁻¹. O sistema foi instalado em uma sala com controle de temperatura e fotoperíodo de 12:12 (claro: escuro). A salinidade da água foi ajustada em 15 g L⁻¹ utilizando a mistura comercial de sal marinho Blue Treasure[®] Reed Sea Salt. Em cada UE foram estocados 30 camarões com o peso médio de 0,2 g e comprimento médio de 2,7 cm, na fase de berçário.

A alimentação dos camarões foi realizada seis vezes ao dia nos seguintes horários: 03:00h; 8:30h; 11:00h; 14:00h, 17:00h; 22:00h. A taxa de arraçoamento na fase de berçário foi ajustada semanalmente de acordo com as biometrias, o consumo observado e tabelas específicas para esta fase de produção.

As biometrias foram realizadas no início do experimento, e posteriormente a cada sete dias. Diariamente todas as unidades experimentais foram sifonadas para evitar o acúmulo de sobras de ração, fezes e detritos. O delineamento experimental foi totalmente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições, sendo que os tratamentos foram determinados conforme a fonte de proteína utilizada para substituição parcial da farinha de peixe. O nível de inclusão das diferentes fontes proteicas avaliadas foi de 6% [8], em substituição à farinha de peixe (Tabela 1). Os tratamentos utilizados foram: T1: Controle (farinha de peixe); T2: Proteína hidrolisada de frango (PHF), composto por vísceras de frango, miúdos de frango, carne de frango, antiemectante, antifúngico e antioxidante; T3: Hidrolisado enzimático de penas de frango, composto por penas de frango, antiemectante, antifúngico e antioxidante (BRF[®]); T4: Aquabite[®], um melhorador de palatabilidade e atratividade para peixes e camarões baseado em peptídeos de peixes marinhos; T5: PHF com adição de maltodextrina; e T6: PHF com adição de levedura.

A formulação das rações foi feita utilizando-se o software SuperCrac 6.1[®] e está descrita na Tabela 1. Para a produção das rações experimentais, os ingredientes utilizados foram moídos individualmente em triturador tipo facas, com peneira de 0,5 mm [13], misturados de acordo com sua formulação, peletizados e armazenados sob refrigeração a 4°C [14].

Tabela 1. Composição da dieta experimental para camarões na fase de berçário.

Ingredientes (g kg ⁻¹)	Tratamentos					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Farelo de soja	350,00	350,00	350,00	350,00	350,00	350,00
Farinha de trigo	129,90	136,80	136,70	135,20	125,80	124,00
Farelo de trigo	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Farinha vísceras aves	150,00	146,20	137,80	150,00	160,30	162,70
Farinha de peixe	247,60	165,00	165,00	165,00	165,00	165,00
Proteína hidrolisada de frango (PHF)	0,00	60,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PHF + maltodextrina	0,00	0,00	0,00	0,00	60,00	0,00
PHF + levedura	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	60,00
Hidrolisado de penas BRF [®]	0,00	0,00	60,00	0,00	0,00	0,00
Aquabite [®]	0,00	0,00	0,00	60,00	0,00	0,00
Antifúngico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Antioxidante	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Calcário	0,00	4,40	4,00	5,10	4,00	4,00
Binder	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Metionina	2,10	2,40	2,90	2,00	2,30	2,40
Fosfato bicálcico	0,00	10,70	12,80	11,20	9,30	9,00
Lisina	11,10	0,40	3,20	0,00	1,30	1,20
Lecitina de soja	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Óleo de peixe	29,20	32,70	36,00	30,20	30,80	30,60
Suplemento vitamínico e mineral ¹	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Sal comum	5,70	7,20	7,30	7,10	7,00	6,90
Total	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00
Composição bromatológica ²						
Matéria Seca (%)	93,61	94,06	93,76	93,82	93,61	92,39
Proteína bruta (%)	43,02	42,70	42,53	42,83	42,73	42,27
Extrato etéreo (%)	7,24	8,04	6,75	7,74	7,80	7,06
Matéria mineral (%)	11,49	11,31	10,90	11,18	10,86	10,77
Energia bruta (kcal kg ⁻¹)	4400,00	4420,00	4370,00	4410,00	4330,00	4390,00

¹Suplemento vitamínico e mineral com níveis de garantia por kg do produto: vit. A – 1.000.000 IU; vit. D₃ – 500.000 IU; vit. E – 20.000 mg; vit. K₃ - 500 mg; vit. B₁ – 1.900 mg; vit. B₂ – 2.000 mg; vit. B₆ – 2.400 mg; vit.

B₁₂ – 3.500 mg; ácido fólico - 200 mg; pantotenato de cálcio – 4.000mg; vit. C - 25g; biotina - 40 mg; niacina – 5.000 mg; Fe - 12.5 g; Cu – 2.000 mg; Mn – 7.500 mg; Zn - 25 g; I - 200 mg; Se - 70 mg.

² Composição bromatológica das rações experimentais analisada com base na matéria natural.

2.2.2 Monitoramento da qualidade de água

Diariamente foram monitoradas as variáveis de temperatura, oxigênio dissolvido e pH com um equipamento multiparâmetro Hanna HI98196. Semanalmente foi determinada a salinidade (refratômetro manual - Biobrix modelo 211). Quinzenalmente foram mensuradas a alcalinidade e dureza, e três vezes por semana as concentrações de amônia total e de nitrito foram determinadas [15].

Os valores médios dos parâmetros de qualidade de água monitorados foram: temperatura de $27,6 \pm 1,21$ °C; pH de $7,67 \pm 0,15$; oxigênio dissolvido de $6,78 \pm 0,41$ mg L⁻¹; salinidade de $15,00 \pm 0,00$ g L⁻¹; alcalinidade em $127,8 \pm 21,1$ mg L⁻¹ CaCO₃; dureza de $2043,03 \pm 57,40$ mg L⁻¹ CaCO₃; amônia total de $0,02 \pm 0,02$ mg L⁻¹ e nitrito de $0,08 \pm 0,09$ mg L⁻¹. Todos os parâmetros de qualidade de água permaneceram dentro da faixa recomendadas para a produção de *P. vannamei* [16-19].

2.2.3 Desempenho zootécnico e avaliação de bem-estar animal

Ao final do período experimental todos os camarões foram contados, pesados e medidos (comprimento total) para determinar a porcentagem de sobrevivência (número final de camarões/número inicial de camarões x 100); ganho de biomassa ((número final de camarões x peso médio final) - (número inicial de camarões/ peso médio inicial)); conversão alimentar aparente (quantidade de ração fornecida/ganho de biomassa); e taxa de crescimento específico ($[\log_n(\text{Peso final}) - \log_n(\text{Peso inicial})]/ \text{período} \times 100$). Para avaliação do bem-estar animal foi medido o comprimento total da antena [20].

2.2.4 Composição química centesimal das rações e dos camarões

As rações e cinco animais de cada unidade experimental foram coletados aleatoriamente para avaliação da composição química corporal, quanto a proteína bruta,

energia bruta, extrato etéreo e matéria mineral, seguindo as metodologias descritas no AOAC [21]. O teor de umidade foi determinado secando as amostras pré-pesadas em copos de porcelana a 105 °C por 12h, e as cinzas foram determinadas pela incineração das amostras secas a 600 °C por 3 h. O teor de proteína foi determinado pelo método Kjeldahl, o extrato etéreo por extração com éter de petróleo no extrator ANKOM® XT10 e a energia no equipamento IKA®, modelo C5000 control. Todas as análises foram realizadas em triplicata no Laboratório de Alimentação e Nutrição Animal - LANA, da Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina.

2.2.5 Avaliação da atividade enzimática

Ao final da fase experimental foram coletados, aleatoriamente, os hepatopâncreas de três animais por repetição para avaliação da atividade de enzimas relacionadas ao sistema digestório dos camarões. As amostras de hepatopâncreas foram homogeneizadas com auxílio de um homogeneizador de tecidos em solução contendo PBS, pH 7,2 e centrifugadas a 5000 rpm por 10 min, e os sobrenadantes separados para as determinações. Foram determinadas as concentrações de amilase (U/L/mg proteína), celulase (nmol/min/mg proteína), maltase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ proteína), sacarase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ proteína), lipase (U/L/mg proteína) e tripsina ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ proteína).

As atividades de maltase e sacarase foram determinadas [22]. Para determinação da atividade enzimática, a dosagem de glicose foi realizada ao final do período de incubação, utilizando kit colorimétrico comercial (Gold Analisa® Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), seguindo as recomendações do fabricante. Os resultados foram expressos como $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína.

As atividades de amilase e lipase foram realizadas utilizando kit colorimétrico comercial, seguindo as recomendações do fabricante (GoldAnalisa® Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), e os resultados foram expressos conforme recomendações do fabricante. A atividade da tripsina foi determinada de acordo com o método de Hummel [23]. Para determinar a atividade desta enzima, foi utilizado o substrato cloridrato de éster metílico de α - ρ -toluenossulfonil-L-arginina (TAME). O coeficiente de extinção molar utilizado para o cálculo da atividade enzimática foi de 540 M, considerando a formação do produto e o resultado expresso em $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína. A atividade da celulase foi determinada de acordo com a metodologia de Niiyama e Toyohara [24]. A quantidade de açúcar redutor

formado foi medida pelo método nitroblue tetrazólio (NBT) a 660 nm. A D-glicose foi usada como padrão para a curva de calibração e os resultados foram expressos como nmol/min/mg de proteína.

2.2.6 Contagem total de hemócitos

Ao final do experimento, 10 camarões por tratamento foram insensibilizados por termonarcose [25] e tiveram a hemolinfa coletada. A hemolinfa dos camarões foi retirada com auxílio de seringa de 1 mL e agulha de 13 x 0.45 mm a partir do segundo segmento central (somito). A hemolinfa coletada foi depositada em microtubo de 2 mL contendo anticoagulante isotônico Alsever modificado (composto por glicose, citrato de sódio, cloreto de sódio e água deionizada) a ~4°C na proporção de 1:9 (hemolinfa: anticoagulante) [26]. A contagem total de hemócitos (CTH) foi realizada em câmara de Neubauer e calculada pela equação:

$$\text{CTH mL}^{-1} = ((\text{N}^{\circ} \text{TCC})/(\text{N}^{\circ} \text{QC})) \times \text{FD} \times 10.000$$

Onde:

CTH mL⁻¹: contagem total de hemócitos por mililitro;

N° TCC: número total de células contadas;

N° QC: número de quadrante contado;

FD: fator de diluição.

2.2.7 Análise estatística

Os dados coletados foram testados por uma análise de variância (ANOVA) de uma via após verificados os pressupostos de normalidade e homocedasticidade, e os valores médios de cada tratamento foram comparados pelo teste de Tukey. Todos os resultados foram testados ao nível de 5% de significância ($\alpha = 0,05$) [27].

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Desempenho zootécnico e avaliação de bem-estar animal

Não foram verificadas diferenças significativas em nenhum dos parâmetros de desempenho zootécnico avaliados ($p>0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2. Média \pm desvio padrão dos parâmetros de desempenho zootécnico de camarões alimentados com dietas contendo diferentes fontes de hidrolisados proteicos em substituição parcial à farinha de peixe de *Penaeus vannamei* (Boone, 1934) durante a fase de creche.

Tratamento	Peso final (g)	Comp. Total (cm)	Comp. Antena (cm)	Biomassa final (g)	Ganho de Biomassa (g)	Sobrevivência (%)	Conversão Alimentar	Taxa de Crescimento Específico
T1	1,48 \pm 0,75	4,10 \pm 1,09	6,93 \pm 1,77	41,32 \pm 3,13	35,32 \pm 3,13	91,00 \pm 20,00	0,93 \pm 0,06	9,27 \pm 0,46
T2	1,46 \pm 0,80	3,86 \pm 1,12	6,74 \pm 2,03	39,38 \pm 2,20	33,38 \pm 2,20	89,00 \pm 60,00	0,98 \pm 0,05	9,50 \pm 0,30
T3	1,45 \pm 0,67	3,92 \pm 0,92	6,68 \pm 2,11	46,90 \pm 17,33	40,90 \pm 17,33	93,00 \pm 70,00	0,89 \pm 0,27	9,50 \pm 0,32
T4	1,39 \pm 0,67	4,03 \pm 1,01	7,11 \pm 2,04	40,94 \pm 6,25	34,94 \pm 6,25	90,00 \pm 60,00	0,95 \pm 0,14	9,66 \pm 0,49
T5	1,64 \pm 0,72	4,18 \pm 0,94	7,18 \pm 1,90	44,70 \pm 3,03	38,70 \pm 3,03	91,00 \pm 70,00	0,86 \pm 0,06	10,02 \pm 0,29
T6	1,49 \pm 0,76	4,02 \pm 1,06	6,77 \pm 1,07	39,88 \pm 5,94	33,88 \pm 5,94	90,00 \pm 50,00	0,98 \pm 0,14	9,53 \pm 0,62

*T1 - Controle (farinha de peixe); T2 - Proteína hidrolisada de frango (PHF); T3 - Hidrolisado enzimático de penas de frango; T4 - Aquabite®; T5 - PHF + Maltodextrina; T6 - PHF + Levedura.

2.3.2 Composição química centesimal das rações e dos camarões

Não houve diferença estatística entre os tratamentos em nenhum dos parâmetros de composição química centesimal avaliada ($p>0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Média dos parâmetros de composição química centesimal da carcaça de camarão, com base na matéria natural de *Penaeus vannamei* (Boone, 1934), durante a fase de berçário.

Tratamento	Matéria seca (%)	Proteína bruta (%)	Extrato etéreo (%)	Resíduo mineral (%)	Energia bruta (kcal kg⁻¹)
T1	21,48	15,85	1,34	3,04	1060
T2	21,84	16,07	1,45	2,90	1110
T3	22,15	16,35	1,87	2,84	1120
T4	21,81	15,92	1,65	2,85	1110
T5	21,47	15,84	1,33	2,85	1100
T6	21,45	15,60	1,18	2,98	1070

*T1 - Controle (farinha de peixe); T2 - Proteína hidrolisada de frango (PHF); T3 - Hidrolisado enzimático de penas de frango; T4 - Aquabite®; T5 - PHF + Maltodextrina; T6 - PHF + Levedura.

2.3.3 Avaliação da atividade enzimática

Não houve diferença estatística entre os tratamentos nas atividades das enzimas digestivas avaliadas ($p>0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4. Média e desvio padrão da atividade enzimática das enzimas digestivas avaliadas de *Penaeus vannamei* (Boone, 1934) durante a fase de creche.

Tratamento	Amilase (U/L/mg proteína)	Celulase (nmol/min/mg proteína)	Lipase (U/L/mg proteína)	Maltase (μ mol/min/mg proteína)	Sacarase (μ mol/min/mg proteína)	Tripsina (μ mol/min/mg proteína)
T1	13,71 \pm 6,73	0,16 \pm 0,06	33,73 \pm 5,72	4,75 \pm 1,52	1,08 \pm 0,29	0,11 \pm 0,10
T2	16,14 \pm 5,85	0,15 \pm 0,04	29,42 \pm 6,31	3,72 \pm 0,90	0,82 \pm 0,13	0,10 \pm 0,02
T3	21,25 \pm 2,84	0,16 \pm 0,06	38,07 \pm 9,77	4,99 \pm 2,90	1,00 \pm 0,23	0,13 \pm 0,13
T4	17,14 \pm 5,51	0,14 \pm 0,03	33,30 \pm 8,47	2,99 \pm 0,73	0,86 \pm 0,25	0,10 \pm 0,11
T5	16,81 \pm 8,34	0,19 \pm 0,08	41,09 \pm 21,69	3,84 \pm 1,77	0,95 \pm 0,33	0,07 \pm 0,05
T6	8,78 \pm 9,64	0,19 \pm 0,08	34,20 \pm 18,21	3,38 \pm 1,23	1,39 \pm 0,85	0,05 \pm 0,06

*T1 - Controle (farinha de peixe); T2 - Proteína hidrolisada de frango (PHF); T3 - Hidrolisado enzimático de penas de frango; T4 - Aquabite®; T5 - PHF + Maltodextrina; T6 - PHF + Levedura.

2.3.4 Contagem total de hemócitos

Não houve diferença estatística entre os tratamentos na contagem total de hemócitos ($p > 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5. Contagem total de hemócitos de *Penaeus vannamei* na fase de berçário.

Tratamento	Total de células hemolíticas
T1	$7 \times 10^6 \pm 5 \times 10^5$
T2	$5 \times 10^6 \pm 3 \times 10^5$
T3	$5 \times 10^6 \pm 4 \times 10^5$
T4	$5 \times 10^6 \pm 3 \times 10^5$
T5	$8 \times 10^6 \pm 4 \times 10^5$
T6	$7 \times 10^6 \pm 4 \times 10^5$

*T1 - Controle (farinha de peixe); T2 - Proteína hidrolisada de frango (PHF); T3 - Hidrolisado enzimático de penas de frango; T4 - Aquabite®; T5 - PHF + Maltodextrina; T6 - PHF + Levedura.

2.4 DISCUSSÃO

Os hidrolisados proteicos têm sido amplamente relatados como fonte de proteína da alimentação de camarões. As pesquisas com o *P. vannamei* apontam que a substituição parcial da farinha de peixe pelos hidrolisados proteicos leva a resultados equiparáveis de saúde e desempenho [7, 8, 28]. Os melhores resultados de crescimento são com baixos níveis de inclusão, e, à medida que se aumenta o aporte, diminui o crescimento. O crescimento reduzido de camarões alimentados com dietas contendo altos níveis de hidrolisados pode estar relacionado ao fato de que os hidrolisados de proteína contêm altas concentrações de aminoácidos livres e peptídeos que podem ser rapidamente absorvidos e metabolizados em vez de serem usados para síntese de proteínas e crescimento [29].

Assim como neste estudo, em dietas de *P. vannamei*, hidrolisados proteicos podem ser incluídos em até 6%, substituindo parcialmente a farinha de peixe da dieta [7, 28]. Além disso, considerando as variáveis de desempenho zootécnico e a ausência de diferenças estatísticas entre os tratamentos testes e o controle, todos os hidrolisados proteicos testados neste estudo podem ser incluídos (em 6%) em substituição a farinha de peixe nas dietas de pós larvas de *P. vannamei*. Esses resultados reforçam que dietas com hidrolisados foram nutricionalmente balanceadas para o camarão branco do Pacífico, e isso garante menos

dependência de farinha de peixe [9], que é o principal ingrediente proteico e de maior custo nas rações para camarões [3].

Entre os principais órgãos quimiossensoriais do camarão estão as antênulas, antenas, peças bucais e pernas [30]. Antenas quebradas e curtas são os primeiros sinais de comprometimento da saúde do camarão [31]. No presente estudo, nenhum ingrediente testado interferiu no comprimento da antena. O comprimento de antena está relacionado com o bem estar animal pois, tendo em vista sua fragilidade em camarões, sua integridade é sinal de que o animal estava em boas condições no ambiente de produção e desempenhando adequadamente suas funções.

A qualidade nutricional do alimento é um fator que além de influenciar o desempenho zootécnico dos camarões, reflete também na composição centesimal corporal ou da carne, uma vez que a atividade enzimática presente no trato digestivo desses crustáceos pode ser influenciada pela composição nutricional do ingrediente utilizado nas rações e na assimilação dos nutrientes pelo organismo [32]. Os hidrolisados proteicos testados e o produto comercial não alteraram a composição centesimal corporal do *P. vannamei* na fase de berçário, mantendo-a equivalente às dos camarões que tinham na dieta apenas farinha de peixe.

A habilidade de um organismo em digerir partículas do alimento depende da presença e da concentração adequada de enzimas digestivas, assim como da sua atividade [32, 33, 34]. O estudo do hepatopâncreas destaca-se principalmente pela sua função de síntese e secreção de enzimas digestivas e absorção dos nutrientes da dieta [35], e foi usado neste estudo para a extração das enzimas digestivas. As atividades de enzimas digestivas dos camarões nos tratamentos com inclusão dos hidrolisados proteicos se mantiveram iguais às do tratamento controle que continha farinha de peixe, o que leva a inferir que o camarão possui a presença e as quantidades adequadas para a digestão das biomoléculas de ambas as fontes proteicas e seus aditivos.

Dentre as enzimas proteolíticas dos camarões, a tripsina é a mais importante por hidrolisar de 50 a 60% da proteína consumida, que catalisa a separação de ligações peptídicas no lado carboxílico dos aminoácidos lisina e arginina [36]. Como é de amplo conhecimento, fontes proteicas são os ingredientes mais caros da dieta, e dessa forma, nesse estudo, a manutenção da atividade de hidrólise das proteínas pela tripsina, independente da fonte proteica utilizada, indica um maior aproveitamento e conseqüente crescimento.

Depois das proteínas, os carboidratos configuram o grupo de biomoléculas mais abundantes na dieta. As atividades das enzimas carboidrases (amilase, celulase, maltase, sacarase) indicam a capacidade de adaptação desta espécie a diferentes dietas e de se

beneficiar também dos vários tipos de carboidratos presentes [33], como por exemplo dos aditivos incluídos ao hidrolisado (maltodextrina). Alterações na expressão de diversos genes no hepatopâncreas e nos tecidos musculares de *P. vannamei* têm sido observadas ao promover uma mudança na dieta de uma fonte de proteína animal para uma fonte de proteína vegetal e vice-versa, sugerindo que essas alterações podem estar relacionadas a alterações metabólicas e ajustes fisiológicos para assimilar o tipo de alimento fornecido [37]. Porém, acredita-se que alguns autores tenham demonstrado que a capacidade de digerir diferentes alimentos está relacionada ao perfil enzimático de uma determinada espécie [33].

A lipase é responsável pela hidrólise de ésteres de glicerol de ácidos graxos de cadeia longa [38]. Apesar das diferenças na composição bromatológica de extrato etéreo das rações testadas, o camarão branco do Pacífico foi capaz de manter a atividade enzimática e hidrólise dos ácidos graxos presentes nos hidrolisados testados, sendo estatisticamente iguais ao do tratamento com farinha de peixe.

Já os hemócitos fazem parte do sistema de defesa celular do camarão *P. vannamei*, sendo responsáveis pela fagocitose, nodulação e encapsulamento, e podem ser usados como um parâmetro quantitativo na medição da resposta ao estresse em camarões. Um aumento nos hemócitos totais indica uma melhora no estado de saúde do organismo, pois formará células fagocitárias que desempenham um papel na defesa do ataque de microrganismos. O fornecimento de imunostimulantes na ração destina-se a ativar o sistema imunológico não específico de células como hemócitos em invertebrados [39]. No presente estudo, como não houve desafio imunológico, a contagem de hemócitos não foi alterada, portanto pode-se dizer que os hidrolisados não desempenharam o papel imunostimulante, mas poderiam ter resultados positivos frente a desafios.

Por fim, diferentes hidrolisados proteicos podem ser potencialmente incluídos para substituir parcialmente a proteína da farinha de peixe na indústria de rações de camarões [7, 8, 28, 40], sem ou com aditivos, mantendo o desempenho, saúde e composição corporal.

2.5 CONCLUSÃO

Todos os hidrolisados testados, com e sem aditivo, e também o produto comercial, podem ser utilizados na substituição parcial da farinha de peixe das dietas de *Penaeus vannamei* na fase de berçário, mantendo-se equivalentes o bom desempenho de crescimento,

bem estar, composição química da carcaça e atividade de enzimas digestivas. O nível de inclusão recomendado nas dietas de *P. vannamei* na fase de berçáriode qualquer um dos ingredientes testados é de 6%. Além disso, este estudo fornece informações importantes para a formulação de dietas nutricionalmente balanceadas com menos dependência de farinha de peixe para o camarão branco do Pacífico.

2.6 REFERÊNCIAS

1. Food and Agriculture Organization. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. 2022. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>.
2. Leduc, A.; Zatylny-Gaudin, C.; Robert, M.; Corre, E.; Corguille, L.; Castel, H.; Lefevre-Scelles, A.; Fournier, V.; Gisbert, E.; Andree, K. B.; Henry, J. 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*, 19, 396, 2018. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4780-0>.
3. Vieira, C. C. F.; Pinto, R. C. C.; Diógenes, A. F.; Nunes, A. J. P. Apparent digestibility of protein and essential aminoacids from commonly used feed ingredients in Brazil for juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei*. *R. Bras. Zootec.*, 51, e20210177, 2022. <https://doi.org/10.37496/rbz5120210177>.
4. Martínez-Alvarez, O.; Chamorro, S.; Brenes, A. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. *Food Res. Int.*, 73, 204–212, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.005>.
5. Hou, Y.; Wu, Z.; Dai, Z.; Wang, G.; Wu, G. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 8, 24, 2017. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0153-9>.
6. Lorenz, E. K.; Barone, R. S. C.; Yamamoto, F. Y.; Cyrino, J. E. P. Dietary protein hydrolysates from animal by-products: digestibility and enzymatic activity for dourado *Salminus brasiliensis*. *J. Aquat. Food Prod.*, 27(2), 236–246, 2018. <https://doi.org/10.1080/10498850.2018.1424745>.
7. Shao, J.; Zhao, W.; Liu, X.; Wang, L. Growth performance, digestive enzymes, and TOR signaling pathway of *Litopenaeus vannamei* are not significantly affected by dietary protein hydrolysates in practical conditions. *Front. Physiol.*, 9, 998, 2018. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00998>.
8. Soares, M.; Rezende, P. C.; Corrêa, N. M.; Rocha, J. S.; Martins, M. A.; Andrade, T. C.; Fracalossi, D.M.; Vieira, F. N. Protein hydrolysates from poultry by-product and swine liver as an alternative dietary protein source for the Pacific white shrimp. *Aquac. Rep.*, 17, e.100344, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100344>.
9. Soares, M.; Gonçalves, P.; Schleder, D. D.; Delgadillo-Diaz, M.; Gullian-Klanian, M.; Vieira, F. N. Protein hydrolysate of poultry by-product and swine liver in the diet of pacific white shrimp. *Bol. Inst. Pesca*, 47, e657, 2021. <https://doi.org/10.20950/1678-2305/bip.2021.47.e657>.
10. Machado, C. A.; Carvalho, L. S. S. Maltodextrina na alimentação animal. *Rev. Port. Cienc. Vet.*, 110, 593-594, 2015.

11. Justus, A.; Benassi, M. T.; Ida, E. I.; Kurozawa, L. E. Physical and chemical stability of microencapsulated okara protein hydrolysate by spray drying. *Braz. J. Food Technol.*, 23, e2019135, 2020. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.13519>.
12. Mahdy, M. A.; Jamal, M. T.; Al-Harb, M.; Al-Mur, B. A.; Haque, M. F. Use of yeasts in aquaculture nutrition and immunostimulation: A review. *J. Appl. Biol. Biotechnol.*, 10(5), 59-65, 2022. <https://doi.org/10.7324/JABB.2022.100507>.
13. Hayashi, C.; Boscolo, W. R.; Soares, C. M.; Boscolo, V. R.; Galdioli, E. M. Uso de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas para a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase de crescimento. *Acta Sci. - Anim. Sci.*, 21, 733-737, 1999. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v21i0.4340>.
14. Meurer, F.; Hayashi, C.; Boscolo, W.R. Digestibilidade aparente de alguns alimentos protéicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *R. Bras. Zootec.*, 32, 1801-1809, 2003.
15. American Public Health Association - APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21^o ed. Washington, 2005.
16. Boyd, C. E. Water quality in warmwater fish ponds (n^o. 639.3 B6923w Ej. 1 009523). Auburn University, 1979.
17. Van Wyk, P.; Davis-Hodgkins, M.; Laramore, R.; Main, K. L.; Mountain, J.; Scarpa, J. Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems. Ft. Pierce, FL: Harbor Branch Oceanographic Institution, 1999.
18. Cheng, W.; Liu, C. H.; Kuo, C. M. Effects of dissolved oxygen on hemolymph parameters of freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquac.*, 220 (1-4), 843-856, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00534-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00534-3).
19. Bett, C.; Vinatea, L. Combined effect of body weight, temperature and salinity on shrimp *Litopenaeus vannamei* oxygen consumption rate. *Braz. J. Oceanogr.*, 57, 305-314, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1679-87592009000400005>.
20. Kuhn, D. D.; Smith, S. A.; Boardman, G. D.; Angier, M. W.; Marsh, L.; Flick Jr, G. J. Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquac.*, 309(1-4), 109-114, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.014>.
21. Association of Official Analytical Chemist – AOAC. Official methods of analysis of AOAC international, 16th edn. AOAC Inc., Arlington, VA, 1995.
22. Retcheski, M. C.; Maximowski, L. V.; Escorsin, K. J. S.; Kurosaki, J. K. A. R.; Romão, S.; Bitencourt, T. B.; Parra, J. E.G.; Cazarolli, L. H. *Yarrowia lipolytica* biomass—a potential additive to boost metabolic and physiological responses of Nile tilapia. *Fish Physiol. Biochem.*, 49, 655–670, 2023. <https://doi.org/10.1007/s10695-023-01219-z>.
23. Hummel, B. C. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37(12), 1393-1399, 1959.
24. Niiyama, T.; Toyohara, H. Widespread distribution of cellulase and hemicellulase activities among aquatic invertebrates. *Fish. Sci.*, 77, 649–655, 2011. <https://doi.org/10.1007/s12562-011-0361-8>.
25. Ashley, P. J. Fish welfare: current issues in aquaculture. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 104, 199-235, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.09.001>.
26. Vieira, F. D. N.; Jatobá, A.; Mouriño, J. L. P.; Buglione Neto, C. C.; Silva, J. S. D.; Seiffert, W. Q.; Vinatea, L. A. Use of probiotic-supplemented diet on a Pacific white shrimp farm. *R. Bras. Zootec.*, 45(5), 203-207, 2016. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902016000500001>.
27. Zar, J. H. Biostatistical analysis. 5th ed., New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2010.

28. Quinto, B. P. T.; Albuquerque, J. V.; Bezerra, R. S.; Peixoto, S.; Soares, R. Replacement of fishmeal by two types of fish protein hydrolysate in feed for post larval shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquac. Nutr.*, 24(2), 768–776, 2017. <https://doi.org/10.1111/anu.12605>.
29. Niu, J.; Zhang, Y.; Liu, Y.; Tian, L.; Lin, H.; Chen, X.; Yang, H.; Liang, G. Effects of graded replacement of fish meal by fish protein hydrolysate on growth performance of early post-larval Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone). *J. Appl. Anim. Res.*, 42(1), 6-15, 2014. <https://doi.org/10.1080/09712119.2013.795897>.
30. Eap, D.; Correa, S.; Ngo-Vu, H.; Derby, C. D. Chemosensory basis of feeding behavior in pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Biol. Bull.*, 239 (2), 115–131, 2020. <https://doi.org/10.1086/710337>.
31. New, M.; Valenti, W.; Tidwell, J.; D'Abramo, L.; Kutty, M. Freshwater prawns: Biology and farming. 1 ed. Wiley-Blackwell, 2010. 544 p.
32. Freitas, I. S.; Nunes, C. A. R.; Sales, A. L. L. B. Nutrição e alimentação de camarões do gênero *Macrobrachium* (Bate, 1868) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *R. Ser. Sust.*, 4(1), 17-28, 2022.
33. Castro, P. F.; Freitas Jr., A. C. V.; Santana, W. M.; Costa, H. M. S.; Carvalho Jr., L. B.; Bezerra, R. S. Comparative study of amylases from the midgut gland of three species of penaeid shrimp. *J. Crust. Biol.*, 32(4), 607–613, 2012. <https://doi.org/10.1163/193724012X634206>.
34. Seixas Filho, J. T. Revisão sobre enzimas digestivas nos peixes Teleostei e seus métodos de determinação. *Rev. Augustus*, 8, 30-45, 2003.
35. Ceccaldi, H.J. Anatomy and physiology of the digestive system. In: D'Abramo, L. R.; Conklin, D. E.; Akiyama, D. M. (Eds.), Crustacean nutrition advances in world aquaculture. The World Aquaculture Society, Louisiana, USA, v. 6, p. 261-291, 1997.
36. Dall, W. Feeding, digestion and assimilation in penaeidae. In: Allan, G. L.; Dall W. (Ed.). Proceedings of the aquaculture nutrition workshop. Australia: Salamander Bay, p. 57-63, 1991.
37. Chávez-Calvillo, G.; Perez-Rueda, E.; Lizama, G.; Zúñiga Aguilar, J. J.; Gaxiola, G.; Cuzon, G.; Arena-Ortiz, L. Differential gene expression in *Litopenaeus vannamei* shrimp in response to diet changes. *Aquac.*, 300(1–4), 137-141, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.11.027>.
38. Rivera-Pérez, C.; Toro, M. A. N.; García-Carreño, F. Digestive lipase activity through development and after fasting and re-feeding in the whiteleg shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquac.*, 300(1-4), 163–168, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.12.030>.
39. Prayitno, S. B.; Ardie, B. R.; Novriadi, R.; Herawati, V. E.; Windarto, S. Effect of bioactive protein ingredients (motivtm) on total hemocyte and survival rate of vannamei shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Indones. Aquac. J.*, 17 (1), 23-28, 2022. <https://doi.org/10.15578/iaj.17.1.2022.23-28>.
40. González-Félix, M. L.; Perez-Velazquez, M.; Ezquerro-Brauer, J. M.; Bringas-Alvarado, L.; Sánchez-Sánchez, A.; Torres-Arreola, W. Evaluation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) byproduct hydrolysates obtained by acid-enzymatic hydrolysis and by autohydrolysis in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Food Sci. Technol.*, 34(3). <https://doi.org/10.1590/1678-457x.6414>.

3 CAPÍTULO II - Substituição parcial de farinha de peixe por diferentes hidrolisados proteicos na dieta de *Penaeus vannamei* (BOONE, 1934) na fase de engorda

Celma Negrini ¹, Caio Henrique do Nascimento Ferreira ², Rafael Ortiz Kracizy ³, Rosane Lopes Ferreira ³, Luana Cardoso dos Santos ³, Milena Cia Retcheski ⁴, Marlise Teresinha Mauerwerk ³, Luisa Helena Cazarolli ⁴, Wilson Rogério Boscolo ¹ e Eduardo Luis Cupertino Ballester ^{3*}

¹ Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Rua da Faculdade, 645 - Bloco C, Unioeste Campus de Toledo - Jardim Santa Maria - Toledo - Paraná, Brasil. Email: celma.negrini@hotmail.com; wilsonboscolo@hotmail.com

² Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. Email: caiohenrique1048@gmail.com

³ Laboratório de Carcinicultura, Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento em Aquicultura Sustentável, Universidade Federal do Paraná, Maripá, Paraná, Brasil. Email: kracizy@gmail.com; rosanelopes1992@gmail.com; luanaecsantos@gmail.com; marlisemauerwerk1@gmail.com; elcballester@ufpr.br

⁴ Laboratório de Bioquímica e Genética, Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul, Paraná, Brasil. Email: milenaciara@gmail.com; luisacazarolli@uffs.edu.br

* Corresponding author: Email - elcballester@ufpr.br

Resumo: O objetivo foi avaliar a inclusão (6%) de diferentes hidrolisados proteicos e um produto comercial (baseado em peptídeos de peixes marinhos) em substituição parcial da farinha de peixe em dietas de *Penaeus vannamei* na fase de engorda. Foi utilizado um sistema de recirculação de água clara (salinidade de 15 g L⁻¹), com 24 unidades experimentais (UE - 93 L) e aeração constante, acopladas a um filtro biológico. Em cada UE foram estocados cinco camarões com 1,35 g. O delineamento experimental foi totalmente casualizado, com seis tratamentos: T1 - Controle (farinha de peixe); T2 - Proteína hidrolisada de frango (PHF); T3 - Hidrolisado enzimático de penas de frango; T4 - Aquabite[®]; T5 - PHF + Maltodextrina; T6 - PHF + Levedura; e quatro repetições. Após 50 dias de alimentação, foram avaliados parâmetros de desempenho zootécnico e bem-estar animal, composição centesimal da carcaça, atividade de enzimas digestivas e contagem de hemócitos. Não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos nos parâmetros de desempenho zootécnico e na contagem total de hemócitos dos camarões (p<0,05). Quanto ao bem-estar, o comprimento de antena dos camarões teve valores superiores nos tratamentos T3, T5 e T6 (p>0,05), sendo que sua integridade é sinal de que o animal estava em boas condições de bem-estar no ambiente de produção. Na composição química corporal (matéria natural), os parâmetros de matéria seca, extrato etéreo e resíduo mineral foram afetados pelos tratamentos (p<0,05). Quanto à análise de enzimas digestivas, houve influência dos tratamentos sobre as enzimas amilase e tripsina (p<0,05). O *P. vannamei* teve capacidade de modular as atividades das enzimas digestivas amilase e tripsina em função do ingrediente utilizado, garantindo disponibilidade dos nutrientes ao metabolismo das células. Os hidrolisados proteicos avaliados podem ser incluídos (6%) como substitutos parciais da farinha de peixe nas rações de *P. vannamei* durante a engorda mantendo bom desempenho dos camarões.

Palavras-chave: camarão branco do Pacífico, nutrição, peptídeos, proteínas hidrolisadas.

3.1 INTRODUÇÃO

O camarão branco do Pacífico (*Penaeus vannamei*) é a espécie de camarão mais produzida em todo o mundo [1]. Para melhorar a eficiência dos sistemas de produção e, conseqüentemente, produzir maiores volumes, é necessário encontrar ingredientes que atendam às exigências nutricionais, permitam alto desempenho e possam ser fornecidos de forma sustentável [2].

A proteína é o componente mais importante e de maior custo na fabricação de ração, por ser o nutriente de maior influência no crescimento animal, conversão alimentar e composição de carcaça [3, 4]. A farinha de peixe, fonte proteica mais utilizada, consiste numa fonte de proteína ideal por conter todos os aminoácidos essenciais exigidos [5], sendo que sua qualidade é determinada pela matéria prima utilizada [6], entretanto, devido a estas características, a farinha de peixe tem alto valor. Com o intuito de produzir rações de qualidade com menor custo, vários experimentos estão sendo realizados substituindo a farinha de peixe em dietas do camarão branco do Pacífico por proteínas alternativas [4, 7 - 11]. Dentre as proteínas alternativas disponíveis no mercado, as proteínas hidrolisadas oferecem vantagens em termos de otimização das propriedades físicas, químicas e nutricionais em comparação às proteínas não hidrolisadas. Os hidrolisados proteicos provenientes de subprodutos do abate animal têm grande potencial para substituir farinhas de peixe e fornecer fontes proteicas de qualidade na nutrição de organismos aquáticos [12]. Os hidrolisados contêm alto teor de proteína bruta, chegando a 90%, e são ricos em aminoácidos essenciais [13], o que pode aumentar a atratividade, palatabilidade e digestibilidade de dietas para organismos aquáticos [14].

Eles também atuam como imunoestimulantes e antioxidantes eficientes [15, 16]. A substituição da farinha de peixe por hidrolisados proteicos pode levar a ganhos zootécnicos satisfatórios na carcinicultura, economizando custos com proteínas e permitindo aos produtores alcançar novos mercados que agreguem valor ao camarão produzido [10]. Esses autores verificaram que um hidrolisado proteico de vísceras de aves e fígado suíno induziu alterações benéficas na atividade enzimática do hepatopâncreas e na microbiota intestinal de *P. vannamei*, como aumento na atividade da enzima amilase e redução na população da família Vibrionaceae, respectivamente, e recomendam uma substituição de 25% na dieta, uma vez que este nível de substituição produziu a melhor dinâmica na atividade enzimática e na microbiota intestinal do camarão. Além disso, as leveduras têm sido utilizadas na alimentação

de organismos aquáticos como um potencial ingrediente proteico, imunestimulante ou probiótico [17] e, quando combinadas com hidrolisados, podem melhorar o crescimento e os resultados de saúde. A maltodextrina, por outro lado, é um polissacarídeo comumente usado para proteger os alimentos da oxidação e oferece vantagens como alta solubilidade e rápida dispersão [18]. Quando combinado com hidrolisados na dieta, pode fornecer energia e atuar como protetor antioxidante.

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da inclusão (6%) de diferentes hidrolisados proteicos (Proteína Hidrolisada de Frango (PHF), PHF + levedura, PHF + maltodextrina, hidrolisado enzimático de penas e um produto comercial (Aquabite[®]) em substituição parcial da farinha de peixe em dietas de camarão branco do Pacífico (*P. vannamei*) na fase de engorda, sobre o desempenho zootécnico, composição química centesimal da carcaça, atividade de enzimas digestivas e contagem total de hemócitos.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Condições experimentais e formulação das dietas

O experimento foi realizado no Laboratório de Carcinicultura do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento em Aquicultura Sustentável, da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em Maripá – PR. Foram utilizados juvenis de *P. vannamei* da linhagem *Speed Line* adquiridos da empresa Aquatec[®], e o período experimental foi de 50 dias.

O delineamento experimental foi totalmente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições, sendo que os tratamentos foram determinados conforme a fonte de proteína utilizada para substituição parcial da farinha de peixe. O nível de substituição de farinha de peixe pelas diferentes fontes proteicas avaliadas foi de 6% de todos os ingredientes da dieta (Tabela 1). As dietas foram formuladas utilizando-se o software SuperCrac[®]. Os tratamentos utilizados foram: T1 - Controle (farinha de peixe); T2 - Proteína hidrolisada de frango (PHF); T3 - Hidrolisado enzimático de penas de frango; T4 - Aquabite[®] (baseado em peptídeos de peixes marinhos); T5 - PHF com adição de maltodextrina; e T6 - PHF com adição de levedura.

Tabela 1. Composição da dieta experimental para camarões na fase de engorda.

Ingredientes (g kg ⁻¹)	Tratamentos					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Farelo de soja	400,00	400,00	400,00	374,20	400,00	400,00
Farinha de trigo	138,70	143,20	143,10	154,20	132,10	130,60
Farelo de trigo	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Farinha vísceras aves	125,00	126,30	118,10	147,30	140,50	142,70
Farinha de peixe	137,90	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Proteína hidrolisada de frango (PHF)	0,00	60,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PHF + maltodextrina	0,00	0,00	0,00	0,00	60,00	0,00
PHF + levedura	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	60,00
Hidrolisado de penas BRF [®]	0,00	0,00	60,00	0,00	0,00	0,00
Aquabite [®]	0,00	0,00	0,00	60,00	0,00	0,00
Antifúngico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Antioxidante	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Calcário	13,90	20,40	19,90	20,40	19,90	19,90
Binder	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Metionina	2,70	3,00	3,70	3,00	2,90	2,90
Fosfato bicálcico	0,00	8,40	10,50	7,30	6,90	6,70
Lisina	0,90	0,20	3,00	0,00	1,20	1,00
Lecitina de soja	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Óleo de peixe	38,90	42,30	45,40	37,60	40,40	40,00
Suplemento vitamínico e mineral ¹	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Sal comum	7,80	9,20	9,30	9,00	9,10	9,10
Sulfato de magnésio	0,00	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80
Total	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00
Composição bromatológica ²						
Matéria Seca (%)	91,16	90,44	93,21	91,71	93,76	90,18
Proteína bruta (%)	38,35	38,13	39,01	38,62	39,52	38,21
Extrato etéreo (%)	4,34	5,08	4,22	4,37	4,93	6,83
Matéria mineral (%)	12,83	9,15	9,96	9,42	9,84	9,14
Energia bruta (kcal kg ⁻¹)	4400,00	4440,00	4380,00	4470,00	4360,00	4360,00

¹Suplemento vitamínico e mineral com níveis de garantia por kg do produto: vit. A – 1.000.000 IU; vit. D₃ – 500.000 IU; vit. E – 20.000 mg; vit. K₃ - 500 mg; vit. B₁ – 1.900 mg; vit. B₂ – 2.000 mg; vit. B₆ – 2.400 mg; vit. B₁₂ – 3.500 mg; ácido fólico - 200 mg; pantotenato de cálcio – 4.000mg; vit. C - 25g; biotina - 40 mg; niacina – 5.000 mg; Fe - 12.5 g; Cu – 2.000 mg; Mn – 7.500 mg; Zn - 25 g; I - 200 mg; Se - 70 mg.

² Composição bromatológica das rações experimentais analisada com base na matéria natural.

O experimento foi realizado em um sistema de recirculação com água clara composto por 24 unidades experimentais, sendo elas tanques circulares de 100 L com volume útil de 93 L, acoplados a um filtro biológico de 600 L com volume útil de 500 L. Cada unidade experimental foi equipada com uma mangueira e uma pedra porosa para aeração constante e a vazão média do sistema de recirculação foi de 1400 L hora⁻¹. O sistema foi instalado em uma sala com controle de temperatura e fotoperíodo de 12:12 (claro: escuro). A salinidade da água foi ajustada em 15 g L⁻¹, utilizando-se a mistura comercial de sal marinho Blue Treasure[®] Reed Sea Salt. Em cada unidade experimental foram estocados cinco camarões juvenis com peso médio de 1,35 g e comprimento médio de 3,22 cm.

A alimentação foi fornecida seis vezes ao dia (03h00min; 08h30min; 11h00min; 14h00min, 17h00min; 22h00min) e a taxa de arraçoamento foi ajustada prevendo um crescimento mínimo de um grama por semana e uma taxa de conversão alimentar máxima de 1,5: 1 (ração fornecida: crescimento em gramas dos camarões). Biometrias (pesagem) foram realizadas no início do experimento, e, posteriormente, a cada sete dias para fins de ajustes da taxa de alimentação. Diariamente todas as unidades experimentais foram sifonadas para evitar o acúmulo de sobras de ração, fezes e detritos.

3.2.2 Monitoramento da qualidade de água

Diariamente foram monitoradas as variáveis de qualidade de água de temperatura, oxigênio dissolvido e pH com um equipamento multiparâmetro Hanna HI98196. Semanalmente foi determinada a salinidade (refratômetro manual - Biobrix modelo 211). Quinzenalmente foram mensuradas a alcalinidade e dureza, e três vezes por semana medidas as concentrações de amônia total e de nitrito foram determinadas [19].

Os valores médios dos parâmetros de qualidade de água monitorados foram: temperatura de 28,68 ± 1,46 °C; pH de 7,48 ± 0,17; oxigênio dissolvido de 4,99 ± 0,95 mg L⁻¹; salinidade de 15,00 ± 0,00 g L⁻¹; alcalinidade de 93,00 ± 9,2 mg L⁻¹ CaCO₃; dureza de 1929,3 ± 71,4 mg L⁻¹ CaCO₃; amônia total de 0,02 ± 0,03 mg L⁻¹ e nitrito de 0,03 ± 0,02 mg

L⁻¹. Todos os parâmetros de qualidade de água permaneceram dentro da faixa recomendada para a produção de *P. vannamei* [20 - 23].

3.2.3 Desempenho zootécnico e avaliação de bem-estar animal

Ao final do experimento, todos os camarões foram contados, pesados e medidos (comprimento total) para determinação da taxa de sobrevivência (número final de camarões/número inicial de camarões x 100), ganho de biomassa (número final de camarões x peso médio final) - (Número inicial de camarões x Peso médio inicial), conversão alimentar aparente (quantidade de ração fornecida/ganho de biomassa) e taxa de crescimento específico $\{[\log_e(\text{Peso Final}) - \log_e(\text{Peso Inicial})] / \text{período}\} \times 100$. Para a avaliação do bem-estar animal, o comprimento total da antena foi medido [24].

3.2.4 Composição química centesimal das rações e dos camarões

As dietas e a cauda de oito animais de cada tratamento foram coletadas aleatoriamente para avaliação da composição química corporal, quanto a proteína bruta, energia bruta, extrato etéreo e matéria mineral, seguindo as metodologias descritas no AOAC [25]. O teor de umidade foi determinado secando as amostras pré-pesadas em copos de porcelana a 105 °C por 12h, e as cinzas foram determinadas pela incineração das amostras secas a 600 °C por 3 h. O teor de proteína foi determinado pelo método Kjeldahl [25], o extrato etéreo por extração com éter de petróleo no extrator ANKOM[®] XT10 e a energia no equipamento IKA[®], modelo C 5000 control. Todas as análises foram realizadas em triplicata no Laboratório de Alimentação e Nutrição Animal - LANA, da Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina.

3.2.5 Avaliação da atividade enzimática

Ao final do período experimental, amostras de hepatopâncreas de 3 animais por repetição foram coletadas aleatoriamente para avaliar a atividade de enzimas relacionadas ao sistema digestivo do camarão. As amostras de hepatopâncreas foram homogeneizadas utilizando um homogeneizador de tecidos em solução contendo PBS em pH 7,2 e centrifugadas a 5.000 rpm por 10 minutos, e os sobrenadantes foram separados para as

determinações. As concentrações de amilase (U/L/mg de proteína), celulase (nmol/min/mg de proteína), maltase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína) [26], sacarase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína) [26], lipase (U/L/mg de proteína) e tripsina ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína) [27] foram determinados.

As atividades de maltase e sacarase foram determinadas [26]. Para determinação da atividade enzimática, a dosagem de glicose foi realizada ao final do período de incubação, utilizando kit colorimétrico comercial (Gold Analisa[®] Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), seguindo as recomendações do fabricante. Os resultados foram expressos como $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína.

As atividades de amilase e lipase foram realizadas utilizando kit colorimétrico comercial, seguindo as recomendações do fabricante (GoldAnalisa[®] Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), e os resultados foram expressos conforme recomendações do fabricante. A atividade da tripsina foi determinada de acordo com o método de Hummel [27]. Para determinar a atividade desta enzima, foi utilizado o substrato cloridrato de éster metílico de α -*p*-toluenossulfonil-L-arginina (TAME). O coeficiente de extinção molar utilizado para o cálculo da atividade enzimática foi de 540 M, considerando a formação do produto e o resultado expresso em $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína. A atividade da celulase foi determinada de acordo com a metodologia de Niiyama e Toyohara [28]. A quantidade de açúcar redutor formado foi medida pelo método nitroblue tetrazólio (NBT) a 660 nm. A D-glicose foi usada como padrão para a curva de calibração e os resultados foram expressos como nmol/min/mg de proteína.

3.2.6 Contagem total de hemócitos

Ao final do experimento, 8 camarões por tratamento foram insensibilizados por termonarcose [29], e a hemolinfa foi coletada, enquanto o restante do animal foi utilizado para análise da composição centesimal. A hemolinfa foi coletada com auxílio de seringa de 1 mL e agulha de 13x0.45 mm a partir do segundo segmento central (somito), e armazenada em microtubo de 2 mL contendo anticoagulante Alsever modificado (composto por glicose, citrato de sódio, cloreto de sódio e água deionizada) a $\sim 4^{\circ}\text{C}$ na proporção de 1:9 (hemolinfa: anticoagulante) [30]. A contagem total de hemócitos (CTH) foi realizada em câmara de Neubauer e calculada pela equação:

$$\text{THC mL}^{-1} = (\text{N}^{\circ} \text{TCC}) / (\text{N}^{\circ} \text{QC}) \times \text{FD} \times 10,000$$

Onde:

CTH mL⁻¹: contagem total de hemócitos por mililitro;

Nº TCC: número total de células contadas;

Nº QC: número de quadrantes contados;

FD: fator de diluição.

3.2.7 Análise estatística

Os dados coletados foram testados por uma análise de variância (ANOVA) de uma via após verificados os pressupostos de normalidade e homocedasticidade, e os valores médios de cada tratamento foram comparados pelo teste de Tukey. Todos os resultados foram testados ao nível de 5% ($\alpha = 0,05$) e o pacote estatístico utilizado foi o R Studio 2023.09.1 [31].

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Desempenho zootécnico e avaliação de bem-estar animal

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos quanto aos parâmetros de desempenho zootécnico dos camarões ($p < 0,05$). Porém, foram encontradas diferenças significativas no comprimento da antena dos camarões, indicando diferenças no bem-estar animal entre os tratamentos ($p < 0,05$) (Tabela 2). O valor do comprimento da antena do tratamento T5 foi significativamente superior ao do T4 e semelhante aos tratamentos T3 e T6. Entre os tratamentos T1, T2, T3, T4 e T6 não houve diferença significativa.

Tabela 2. Média \pm desvio padrão dos parâmetros de desempenho zootécnico de camarões alimentados com rações contendo diferentes fontes de hidrolisados proteicos em substituição à farinha de peixes, durante a fase de engorda.

Tratamento	Peso final (g)	Comp. Total (cm)	Comp. Antena (cm)	Biomassa final (g)	Ganho de Biomassa (g)	Sobrevivência (%)	Conversão Alimentar	Taxa de Crescimento Específico
T1	11,62 \pm 2,40	9,86 \pm 1,00	12,00 \pm 3,40 ^a	47,60 \pm 8,70	40,83 \pm 10,20	90,00 \pm 12,00	1,3 \pm 0,31	4,18 \pm 0,14
T2	10,61 \pm 1,34	9,75 \pm 0,50	12,10 \pm 4,20 ^a	48,21 \pm 11,50	41,44 \pm 12,40	93,00 \pm 10,00	1,2 \pm 0,35	4,10 \pm 0,13
T3	11,21 \pm 1,85	9,71 \pm 0,90	13,10 \pm 2,60 ^{ab}	50,67 \pm 12,00	43,90 \pm 13,20	93,00 \pm 14,00	1,1 \pm 0,40	4,17 \pm 0,05
T4	9,70 \pm 1,98	9,52 \pm 1,00	12,30 \pm 2,20 ^a	45,30 \pm 9,90	38,53 \pm 11,00	90,00 \pm 12,00	1,4 \pm 0,56	3,98 \pm 0,68
T5	11,42 \pm 2,94	9,82 \pm 1,20	15,20 \pm 2,10 ^b	45,87 \pm 6,10	39,10 \pm 3,80	80,00 \pm 10,60	1,1 \pm 0,11	4,00 \pm 0,40
T6	10,75 \pm 2,71	9,72 \pm 1,10	15,10 \pm 3,80 ^{ab}	33,48 \pm 4,00	26,71 \pm 1,00	85,00 \pm 11,00	1,5 \pm 0,42	4,20 \pm 0,14

* T1: Controle; T2: Hidrolisado Proteico de Frango (CPH); T3: Hidrolisado Enzimático de Penas de Frango; T4: Aquabite®; T5: CPH com adição de maltodextrina; T6: CPH com adição de fermento.

**Diferentes letras sobrescritas na mesma coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05).

3.3.2 Composição química centesimal dos camarões

Em relação à composição química corporal centesimal baseada na matéria natural, os parâmetros matéria seca, extrato etéreo e resíduo mineral foram afetados pelos tratamentos ($p < 0,05$). Para matéria seca, todos os tratamentos diferiram entre si, sendo o maior teor de matéria seca observado no tratamento 4 (Aquabite®) ($p > 0,05$). Para o extrato etéreo, os maiores valores foram observados nos tratamentos controle, hidrolisado de penas, CPH e Aquabite® ($p > 0,05$) (Tabela 3). No tratamento T3 o extrato etéreo foi superior, sendo estatisticamente semelhante ao T1, T2 e T4 e significativamente superior ao T5 e T6. Entre os tratamentos T2, T4, T5 e T6 não houve diferença significativa. Da mesma forma, para T3 foi observado maior valor de cinzas, estatisticamente semelhante ao T2 e superior ao T1, T4, T5 e T6.

Tabela 3. Média dos parâmetros de composição química centesimal da carcaça de camarões, na fase de engorda, com base na matéria natural.

Tratamento	Matéria seca (%)	Proteína bruta (%)	Extrato etéreo (%)	Resíduo mineral (%)	Energia bruta (kcal kg⁻¹)
T1	19,14 ± 0,00 ^f	14,98 ± 1,60	0,49 ± 0,25 ^a	1,84 ± 0,28 ^a	950 ± 18,2
T2	20,92 ± 0,01 ^e	16,68 ± 0,90	0,44 ± 0,14 ^{ab}	2,18 ± 0,12 ^{ab}	1030 ± 27,5
T3	22,69 ± 0,00 ^c	18,01 ± 1,00	0,61 ± 0,16 ^a	2,47 ± 0,07 ^b	1127 ± 116,9
T4	23,32 ± 0,00 ^a	18,34 ± 0,69	0,49 ± 0,19 ^{ab}	2,22 ± 0,01 ^b	1165 ± 26,23
T5	21,62 ± 0,02 ^d	17,09 ± 0,40	0,40 ± 0,02 ^b	2,15 ± 0,09 ^a	1076 ± 38,75
T6	23,08 ± 0,11 ^b	18,24 ± 0,10	0,40 ± 0,07 ^b	2,22 ± 0,06 ^b	1124 ± 28,61

*T1 - Controle (farinha de peixe); T2 - Proteína hidrolisada de frango (PHF); T3 - Hidrolisado enzimático de penas de frango; T4 - Aquabite®; T5 - PHF + Maltodextrina; T6 - PHF + Levedura.

**Diferentes letras sobrescritas na mesma coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).

3.3.3 Avaliação da atividade enzimática

Quanto à análise de enzimas digestivas, houve influência dos tratamentos sobre as enzimas amilase e tripsina ($p < 0,05$). Para a amilase, o tratamento T2 (PHF) diferiu do tratamento T5 (PHF + maltodextrina), sendo que os menores valores foram observados no tratamento T2, e os maiores para T5. Para os resultados de tripsina, T2 (PHF) foi diferente de

T4 (Aquabite®) e T5 (PHF + maltodextrina), e semelhante a todos os outros tratamentos, enquanto todos os outros foram semelhantes entre si (Tabela 4).

Tabela 4. Média e desvio padrão da atividade enzimática das enzimas digestivas avaliadas.

Tratamento	Amilase (U/L/mg proteína)	Celulase (nmol/min/mg proteína)	Lipase (U/L/mg proteína)	Maltase (µmol/min/mg proteína)	Sacarase (µmol/min/mg proteína)	Tripsina (µmol/min/mg proteína)
T1	32,59 ± 6,05 ^{ab}	0,17 ± 0,04	14,97 ± 1,37	1405,98 ± 239,55	380,82 ± 67,86	0,04 ± 0,01 ^{ab}
T2	27,29 ± 4,39 ^a	0,32 ± 0,04	14,76 ± 0,73	1537,42 ± 248,07	200,95 ± 61,79	0,05 ± 0,01 ^b
T3	35,74 ± 11,85 ^{ab}	0,21 ± 0,07	14,02 ± 0,94	1279,81 ± 113,11	422,99 ± 44,21	0,05 ± 0,01 ^b
T4	46,47 ± 15,59 ^{ab}	0,31 ± 0,18	15,62 ± 2,33	1098,34 ± 115,42	286,84 ± 53,24	0,02 ± 0,00 ^a
T5	49,52 ± 9,26 ^b	0,24 ± 0,08	13,81 ± 0,31	1120,58 ± 409,94	407,10 ± 153,42	0,03 ± 0,00 ^a
T6	36,55 ± 3,13 ^{ab}	0,27 ± 0,08	13,44 ± 0,78	1161,62 ± 171,74	361,28 ± 162,43	0,03 ± 0,00 ^a

*T1 - Controle (farinha de peixe); T2 - Proteína hidrolisada de frango (PHF); T3 - Hidrolisado enzimático de penas de frango; T4 - Aquabite®; T5 - PHF + Maltodextrina; T6 - PHF + Levedura.

**Diferentes letras sobrescritas na mesma coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05).

3.3.4 Contagem total de hemócitos

Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos na contagem total de hemócitos ($p > 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5. Contagem total de hemócitos de *Penaeus vannamei* na fase de engorda.

Tratamento	Total de células hemolíticas
T1	$9 \times 10^6 \pm 5 \times 10^5$
T2	$10 \times 10^6 \pm 4 \times 10^5$
T3	$10 \times 10^6 \pm 7 \times 10^5$
T4	$11 \times 10^6 \pm 5 \times 10^5$
T5	$12 \times 10^6 \pm 6 \times 10^5$
T6	$11 \times 10^6 \pm 4 \times 10^5$

*T1 - Controle (farinha de peixe); T2 - Proteína hidrolisada de frango (PHF); T3 - Hidrolisado enzimático de penas de frango; T4 - Aquabite®; T5 - PHF + Maltodextrina; T6 - PHF + Levedura.

3.4 DISCUSSÃO

Os hidrolisados proteicos, provenientes de diferentes fontes, são ingredientes passíveis de serem utilizados na nutrição de organismos aquáticos, em substituição à farinha de peixe. Estes ingredientes levam a melhora da taxa de crescimento e conversão alimentar de peixes e crustáceos, além de melhorar a imunidade inespecífica ou serem utilizados como fonte de peptídeos bioativos [32]. Também melhoram o aproveitamento metabólico da fração proteica, reduzindo a excreção de compostos nitrogenados e favorecendo a qualidade de água nos sistemas de produção, além de melhorar a palatabilidade das rações sem afetar o comportamento alimentar dos animais [33]. A inclusão de proteína hidrolisada de subprodutos de aves e suínos na dieta de *P. vannamei* alterou a atividade enzimática do hepatopâncreas e a composição da microbiota intestinal. A inclusão desse hidrolisado proteico na dieta alterou a atividade enzimática dos camarões quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$). A atividade da amilase aumentou proporcionalmente à porcentagem de reposição proteica na dieta. Além disso, uma análise metagenômica revelou alterações no microbioma intestinal do camarão, com níveis crescentes de reposição proporcionando maior riqueza e diversidade na microbiota intestinal nos tratamentos 75% e 100%, o que esteve relacionado principalmente

com mudanças nas abundâncias nas famílias Rhodobacteraceae e Flavobacteriaceae. Também foi verificada diminuição na abundância da família Vibrionaceae, mostrando que o hidrolisado proteico promoveu alterações benéficas quando adicionado à dieta de *P. vannamei* [10].

Para *P. vannamei* na fase de engorda, a substituição parcial (6 %) da farinha de peixe por hidrolisado enzimático de frango, com ou sem aditivos, e hidrolisado enzimático de pena de frango não afetou o desempenho zootécnico dos animais, comprovando que as dietas estavam nutricionalmente balanceadas e que estes ingredientes podem ser utilizados na alimentação da espécie em estudo. Ademais, outra variável que não diferiu entre os tratamentos analisados foi a taxa de conversão alimentar, que foi semelhante ou melhor que o resultado obtido em estudos com diferentes hidrolisados proteicos [34, 35], o que comprova a boa digestibilidade dos nutrientes e que o camarão em estudo tem capacidade de aproveitá-las.

Já a substituição da farinha peixes (6%) por hidrolisado enzimático de penas de frango, proteína hidrolisada de frango adicionada de maltodextrina e/ou levedura teve efeito positivo sobre o tamanho das antenas. O comprimento de antena dos camarões, é considerado um fator relacionado ao bem estar dos animais, pois qualquer alteração no ambiente que venha a ocasionar algum estresse, causa danos às mesmas [36, 37]. Portanto, antenas longas e intactas indicam que os animais estavam em um ambiente adequado. O comprimento da antena é utilizado como indicador de bem-estar animal. No tratamento T4 foi observada limitação no comprimento da antena, o que pode estar relacionado à composição nutricional da dieta oferecida, visto que todas as demais condições são idênticas entre os tratamentos.

A análise centesimal da composição química corporal é usada para determinar parâmetros de saúde e estado fisiológico dos organismos aquáticos porque sua composição corporal é diretamente afetada quando há deficiências nutricionais nos alimentos fornecidos [38]. Neste estudo, a matéria seca corporal do camarão foi afetada pela inclusão de diferentes hidrolisados, sendo o maior teor observado no tratamento com o produto comercial Aquabite®, e o menor no tratamento controle. O extrato etéreo foi maior nos tratamentos controle, hidrolisado proteico de pena de frango, hidrolisado enzimático de penas de frango e Aquabite® ($p < 0,05$), enquanto o teor de resíduo mineral foi maior nos tratamentos com hidrolisado proteico de penas de frango e hidrolisado enzimático de penas de frango ($p < 0,05$). Embora tenha havido diferença significativa entre os tratamentos para esses parâmetros, a análise bromatológica não indicou anormalidades, sugerindo que as dietas oferecidas forneceram os nutrientes necessários aos camarões na fase de engorda, e todos os ingredientes

testados apresentaram boa absorção de nutrientes pelos camarões sem comprometer seu desempenho zootécnico e saúde.

A regulação das enzimas digestivas em camarões define suas capacidades digestivas e, portanto, os ingredientes que podem ser incluídos nas dietas [39]. Neste estudo, foram detectadas variações nas atividades das enzimas amilase e tripsina. Amilase é uma enzima digestiva responsável por hidrolisar ligações α (1,4) glicosídicas em polissacarídeos, liberando açúcares mais simples [40]. Maior atividade da enzima amilase foi observada no tratamento com CPH + maltodextrina, mas os demais tratamentos, exceto CPH, apresentaram atividades semelhantes. Isso indica que *P. vannamei* tem capacidade de modular a atividade digestiva de acordo com o ingrediente utilizado.

Entre as proteases digestivas mais importantes está a tripsina, que catalisa a separação das ligações peptídicas no lado carboxila dos aminoácidos lisina e arginina (41). No presente estudo, foi observada maior atividade de tripsina nas dietas com farinha de peixe, hidrolisado proteico de frango e hidrolisado enzimático de penas de frango ($p < 0,05$). Os peptídeos de baixo peso molecular presentes nos hidrolisados proteicos podem ter atuado como ingredientes funcionais, semelhantes aos hormônios, regulando assim a atividade enzimática do camarão [11]. A alta atividade da tripsina promove a digestão e absorção das proteínas da dieta, promovendo assim o crescimento do camarão [4].

Dentre os parâmetros imunológicos, a contagem total de hemócitos (CTH) é um dos mais afetados por condições de estresse, seja ambiental ou devido a infecções ou períodos de muda, e serve como indicador do estado de saúde do animal (42). No presente estudo, o uso do hidrolisado não ocasionou alterações significativas no padrão de contagens de hemócitos realizadas, quando comparado ao tratamento controle para a espécie e fase de produção.

3.5 CONCLUSÃO

Conclui-se que a substituição parcial da farinha de peixe por diferentes hidrolisados proteicos na dieta de *P. vannamei* na fase de crescimento não afetou o desempenho zootécnico e a saúde animal. A inclusão de hidrolisados teve efeitos positivos no bem-estar animal e na modulação das atividades das enzimas digestivas, demonstrando que esta espécie possui a capacidade de modular as atividades das enzimas amilase e tripsina de acordo com o ingrediente utilizado garantindo a disponibilidade de nutrientes ao metabolismo das células. O efeito positivo no comprimento da antena do camarão quando a farinha de peixe foi

substituída (6%) por hidrolisado enzimático de penas de frango sugere um fator relacionado ao bem-estar animal, pois qualquer mudança ambiental que possa causar estresse pode danificar as antenas [36, 37]. Portanto, todos os hidrolisados e combinações de aditivos testados, bem como o produto comercial incluíram até 6% do ingrediente total da dieta de *P. vannamei* na fase de crescimento, mantendo equivalente bom desempenho de crescimento, bem-estar, composição química da carcaça e atividade das enzimas digestivas. O nível de inclusão recomendado nas dietas de *P. vannamei* na fase para qualquer um dos ingredientes testados é de 6%. Além disso, este estudo fornece informações importantes para a formulação de dietas nutricionalmente balanceadas e com reduzida dependência de farinha de peixe para camarão branco do Pacífico.

3.6 REFERÊNCIAS

1. Food and Agriculture Organization. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. 2022. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>.
2. Richardson, A. ; Dantas-Lima, J. ; Lefranc, M. ; Walraven, M. Effect of a black soldier fly ingredient on the growth performance and disease resistance of juvenile Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Animals*, 11(5), 1450, 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11051450>.
3. Araripe, M. N. B. A.; Araripe, H. G. A.; Lopes, J. B.; Castro, P. L.; Braga, T. E. A.; Ferreira, A. H. C.; Abreu, M. L. T. Redução da proteína bruta com suplementação de aminoácidos em rações para alevinos de tambatinga. *R. Bras. Zootec.*, 40(90), 1845–1850, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000900001>.
4. Shao, J.; Zhao, W.; Liu, X.; Wang, L. Growth performance, digestive enzymes, and TOR signaling pathway of *Litopenaeus vannamei* are not significantly affected by dietary protein hydrolysates in practical conditions. *Front. Physiol.*, 9, 998, 2018. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00998>.
5. Médale, F.; Kaushik, S. Les sources protéiques dans les aliments pour les poissons d'élevage. *Cah. Agric.*, 189(2-3), 103–111, 2009. <https://doi.org/10.1684/agr.2009.0279>.
6. National Research Council - NRC. Nutrient requirements of fish and shrimp. Animal Nutrition Series, National Research Council of the National Academies, 2011. 376 p.
7. González-Félix, M. L.; Perez-Velazquez, M.; Ezquerro-Brauer, J. M.; Bringas-Alvarado, L.; Sánchez-Sánchez, A.; Torres-Arreola, W. Evaluation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) byproduct hydrolysates obtained by acid-enzymatic hydrolysis and by autohydrolysis in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *J. Food Sci. Technol.*, 34(3), 2014. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.6414>.
8. Niu, J.; Zhang, Y.; Liu, Y.; Tian, L.; Lin, H.; Chen, X.; Yang, H.; Liang, G. Effects of graded replacement of fish meal by fish protein hydrolysate on growth performance of early post-larval Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone). *J. Appl. Anim. Res.*, 42(1), 6-15, 2014. <https://doi.org/10.1080/09712119.2013.795897>.
9. Quinto, B. P. T.; Albuquerque, J. V.; Bezerra, R. S.; Peixoto, S.; Soares, R. Replacement of fishmeal by two types of fish protein hydrolysate in feed for post

- larval shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquac. Nutr.*, 24(2), 768–776, 2017. <https://doi.org/10.1111/anu.12605>.
10. Soares, M.; Rezende, P. C.; Corrêa, N. M.; Rocha, J. S.; Martins, M. A.; Andrade, T. C.; Fracalossi, D.M.; Vieira, F. N. Protein hydrolysates from poultry by-product and swine liver as an alternative dietary protein source for the Pacific white shrimp. *Aquac. Rep.*, 17, e.100344, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100344>.
 11. Soares, M.; Gonçalves, P.; Schleder, D. D.; Delgadillo-Diaz, M.; Gullian-Klanian, M.; Vieira, F. N. Protein hydrolysate of poultry by-product and swine liver in the diet of pacific white shrimp. *Bol. Inst. Pesca*, 47, e657, 2021. <https://doi.org/10.20950/1678-2305/bip.2021.47.e657>.
 12. Hou, Y.; Wu, Z.; Dai, Z.; Wang, G.; Wu, G. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 8, 24, 2017. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0153-9>.
 13. Chalamaiah, M.; Kumar, B. D.; Hemalatha, R.; Jyothirmayi, T. Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: a review. *Food Chem.*, 135(4), 3020–3038, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.100>.
 14. Santos, R. A.; Piovesan, M. R.; Oliveira, S. R.; Hattori, J. F. A.; Souza, O. J.; Boscolo, W. J.; Signor, A.; Bittencourt, F. Atratividade e palatabilidade da proteína hidrolisada de penas para juvenis de tambacu (*Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*). *Res., Soc. Dev.*, 11(1)6, p. e19111637352, 2022. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i16.37352>.
 15. Bui, H. T. D.; Khosravi, S.; Fournier, V.; Herault, M.; Lee, K. J. Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. *Aquac.*, 418–419, 11–16, 2014. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.046>.
 16. Chalamaiah, M.; Jyothirmayi, T.; Diwan, P. V.; Kumar, B. D. Antioxidant activity and functional properties of enzymatic protein hydrolysates from common carp (*Cyprinus carpio*) roe (egg). *J. Food Sci. Technol.*, 52(9), 5817–5825, 2015. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1714-6>.
 17. Mahdy, M. A.; Jamal, M. T.; Al-Harb, M.; Al-Mur, B. A.; Haque, M. F. Use of yeasts in aquaculture nutrition and immunostimulation: A review. *J. Appl. Biol.*, 10(5), 59–65. <https://doi.org/10.7324/jabb.2022.100507>.
 18. Fawzya, Y. N.; Nursatya, S. M.; Susilowati, R.; Chasanah, E. Characteristics of fish protein hydrolysate from Yellowstripe Scad (*Selaroides leptolepis*) produced by a local microbial protease. *E3S Web Conf.*, 147, e03017, 2020. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202014703017>.
 19. American Public Health Association - APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21^o ed. Washington, 2005.
 20. Boyd, C. E. Water quality in warmwater fish ponds (n^o. 639.3 B6923w Ej. 1 009523). Auburn University, 1979.
 21. Van Wyk, P.; Davis-Hodgkins, M.; Laramore, R.; Main, K. L.; Mountain, J.; Scarpa, J. Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems. Ft. Pierce, FL: Harbor Branch Oceanographic Institution, 1999.
 22. Cheng, W.; Liu, C. H.; Kuo, C. M. Effects of dissolved oxygen on hemolymph parameters of freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquac.*, 220 (1-4), 843–856, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00534-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00534-3).
 23. Bett, C.; Vinatea, L. Combined effect of body weight, temperature and salinity on shrimp *Litopenaeus vannamei* oxygen consumption rate. *Braz. J. Oceanogr.*, 57, 305–314, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1679-87592009000400005>.

24. Kuhn, D. D.; Smith, S. A.; Boardman, G. D.; Angier, M. W.; Marsh, L.; Flick Jr, G. J. Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquac.*, 309(1-4), 109-114, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.014>.
25. Association of Official Analytical Chemist – AOAC. Official methods of analysis of AOAC international, 16th edn. AOAC Inc., Arlington, VA, 1995.
26. Retcheski, M. C.; Maximowski, L. V.; Escorsin, K. J. S.; Kurosaki, J. K. A. R.; Romão, S.; Bitencourt, T. B.; Parra, J. E.G.; Cazarolli, L. H. Yarrowia lipolytica biomass—a potential additive to boost metabolic and physiological responses of Nile tilapia. *Fish Physiol. Biochem.*, 49, 655–670, 2023. <https://doi.org/10.1007/s10695-023-01219-z>.
27. Hummel, B. C. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37(12), 1393-1399, 1959.
28. Niiyama, T.; Toyohara, H. Widespread distribution of cellulase and hemicellulase activities among aquatic invertebrates. *Fish. Sci.*, 77, 649–655, 2011. <https://doi.org/10.1007/s12562-011-0361-8>.
29. Ashley, P. J. Fish welfare: current issues in aquaculture. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 104, 199-235, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.09.001>.
30. Vieira, F. D. N.; Jatobá, A.; Mouriño, J. L. P.; Buglione Neto, C. C.; Silva, J. S. D.; Seiffert, W. Q.; Vinatea, L. A. Use of probiotic-supplemented diet on a Pacific white shrimp farm. *R. Bras. Zootec.*, 45(5), 203-207, 2016. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902016000500001>.
31. Zar, J. H. Biostatistical analysis. 5th ed., New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2010.
32. Martínez-Alvarez, O.; Chamorro, S.; Brenes, A. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: a review. *Food Res. Int.*, 73, 204–212, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.005>.
33. Alves, D. R. S.; Oliveira, S. R.; Luczinski, T. G.; Paulo, I. G. P.; Boscolo, W. R.; Bittencourt, F.; Signor, A. Palatability of protein hydrolysates from industrial byproducts for Nile tilapia juveniles. *Animals*, 9(6), 311, 2019. <https://doi.org/10.3390/ani9060311>.
34. Hernández, C.; Olvera-Novoa, M. A.; Aguilar-Vejar, K.; González-Rodríguez, B.; Parra, I. A. Partial replacement of fish meal by porcine meat meal in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquac.*, 277(3-4), 244–250, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.016>.
35. Bauer, W.; Prentice-Hernandez, W.; Tesser, M.B.; Wasielesky Jr., W.; Poersch, L.H.S. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquac.*, 15, 112–116, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.02.023>.
36. New, M.; Valenti, W.; Tidwell, J.; D’Abramo, L.; Kutty, M. Freshwater prawns: Biology and farming. 1 ed. Wiley-Blakwell, 2010. 544 p.
37. Eap, D.; Correa, S.; Ngo-Vu, H.; Derby, C. D. Chemosensory basis of feeding behavior in pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Biol. Bull.*, 239 (2), 115–131, 2020. <https://doi.org/10.1086/710337>.
38. Ebadi, H.; Zakeri, M.; Mousavi, S. M.; Yavari, V.; Souri, M. The interaction effects of dietary lipid, vitamin E and vitamin C on growth performance, feed utilization, muscle proximate composition and antioxidant enzyme activity of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquac. Res.*, 52(5), 2048-2060, 2020. <https://doi.org/10.1111/are.15056>.

39. Carrillo-Farnés, O.; Forrellat-Barrios, A.; Guerrero-Galván, S.; Vega-Villasante, F. A review of digestive enzyme activity in Penaeid shrimps. *Crustaceana*, 80(3), 257–275, 2007.
40. Roy, S.; Kumar, V.; Mitra, A.; Manna, R. K.; Suresh, V. R.; Homechaudhur, S. Amylase and protease activity in shrimps and prawn of Sundarbans, West Bengal, India. *Indian Journal of Geo Marine Sciences*, 47(1), 53-59.
41. Aguiñaga-Cruz, J. A.; Sainz-Hernández, J. C.; García-Rodríguez, L. D.; García-Ulloa, M.; García-Gutiérrez, C.; Montoya-Mejía, M. Trypsin polymorphism and modulation in *Penaeus vannamei* (Boone, 1931): a review. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 47(5), 723-732, 2019. <https://dx.doi.org/10.3856/vol47-issue5-fulltext-1>.
42. Costa, A. M.; Martins, P. C. C. Análise da contagem total de hemócitos e capacidade coagulante da hemolinfa do camarão *Litopenaeus vannamei* (BOONE,1931) em cultivos com ocorrência de necrose muscular. *Bol. Inst. Pesca*, 35(4), 545 – 551, 2009.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na fase de berçário do *Penaeus vannamei*, todos os hidrolisados testados nas dietas, com e sem aditivo, e também o produto comercial, podem ser utilizados na substituição parcial da farinha de peixe, mantendo-se equivalentes o bom desempenho de crescimento, bem-estar, composição química da carcaça e atividade de enzimas digestivas.

Na fase de engorda, a substituição parcial da farinha de peixe por diferentes hidrolisados proteicos na dieta teve efeitos positivos no bem-estar animal (comprimento da antena do camarão) e na modulação das atividades das enzimas digestivas, demonstrando que esta espécie possui a capacidade de modular as atividades das enzimas amilase e tripsina de acordo com o ingrediente utilizado garantindo a disponibilidade de nutrientes ao metabolismo das células.

Em ambas as fases de produção do *P. vannamei* (berçário e engorda), o nível de inclusão recomendado nas dietas, de qualquer um dos ingredientes testados, é de 6%.

Por fim, este estudo fornece suporte para a formulação de dietas nutricionalmente balanceadas e com reduzida dependência de farinha de peixe para o camarão branco do Pacífico. Estudos futuros devem ser realizados para identificar os peptídeos bioativos presentes nos hidrolisados e aperfeiçoar o uso nas dietas para conseguir respostas desejadas no cultivo dos camarões.