

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA –  
UDESC  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV  
DEPARTAMENTO DE PRODUÇÃO ANIMAL

BÁRBARA WOSNIAK

EFEITO DE DIFERENTES TIPOS DE HIDROLISADO DE  
SARDINHA (*Clupeidae*), SOBRE O DESEMPENHO DE JUVENIS  
DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

LAGES  
2015

BÁRBARA WOSNIAK

EFEITO DE DIFERENTES TIPOS DE HIDROLISADO DE  
SARDINHA (*Clupeidae*), SOBRE O DESEMPENHO DE JUVENIS  
DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat.

Co-orientador: Dr. Marcos Luiz Pessatti.

LAGES

2015

B229e Bárbara Wosniak  
Efeito de diferentes tipos de  
hidrolisado de sardinha (*Clupeidae*), sobre o  
desempenho de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*)  
/ Bárbara Wosniak - Lages, 2015.  
43 p.: il.; 21 cm

Orientador: Thiago El Hadi Perez  
Fabregat

Coorientador: Marcos Luiz Pessatti  
Bibliografia: p. 37-43

Dissertação (mestrado) - Universidade do  
Estado de  
Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação  
em Ciência Animal, Lages, 2015.

1. Hidrólise enzimática. 2. Resíduo de  
pescado. 3. Alimentação animal. I. Bárbara  
Wosniak. II. Thiago El Hadi Perez Fabregat.  
III. Universidade do Estado de Santa Catarina.  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. IV.  
Título

BÁRBARA WOSNIAK

EFEITO DE DIFERENTES TIPOS DE HIDROLISADO DE  
SARDINHA (*Clupeidae*), SOBRE O DESEMPENHO DE JUVENIS  
DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência Animal  
como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência  
Animal.

**Banca Examinadora:**

Orientador: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat.  
(Universidade do Estado de Santa Catarina)

Membro: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Maria de Lourdes Borba Magalhães.  
(Universidade do Estado de Santa Catarina)

Membro: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Carlos Prentice-Hernández.  
(Universidade Federal do Rio Grande)

LAGES, 29/06/15

Dedico este trabalho as pessoas que estiveram sempre ao meu lado, acreditando em meus sonhos e minhas loucuras. Pai, mãe, irmão e marido... Esta conquista também é de vocês!

## AGRADECIMENTOS

À Deus por toda iluminação e benção ao meu ser nesta caminhada.

À meus pais, Cleusa e Osmar, e ao meu irmão Gonçalo, por serem meu porto seguro e exemplo de honestidade.

À meu marido Cristian, por fazer parte da minha vida, apoiar todas minhas escolhas, acreditando na minha capacidade e sem medir esforços para que esse dia acontecesse.

À meu orientador Thiago El Hadi Fabregat, por todo conhecimento a mim repassado, pelo apoio e dedicação, e por ter acreditado em mim desde nosso primeiro contato.

À meu co-orientador, Marcos Luiz Pessati, pelos por todo conhecimento repassado.

À Cláudia Fernanda da Silva, por ter-me acolhido em sua casa com todo carinho e dedicação mesmo sem me conhecer. Sua amizade vale mais que ouro para mim!

À Erick Willian e Nadine Cunha, por todo auxílio em meu experimento.

Ao CNFQ pela bolsa de estudo fornecida e suporte financeiro ao projeto, sem ao qual este trabalho não se concretizaria.

Aos integrantes do laboratório de Bioquímica da Univali, por todo conhecimento e experiência a mim repassado, além de todas as risadas proporcionadas em meio a momentos difíceis!

Enfim, a todos que de alguma forma participaram e auxiliaram nesta conquista e realização deste grande sonho!

“Na vida nada deve ser Temido,  
apenas Compreendido”  
Marie Currie

## RESUMO

WOSNIAK, Bárbara. **EFEITO DE TIPOS DE HIDROLISADO DE DE SARDINHA** (*Clupeidae*), **SOBRE O DESEMPENHO DE JUVENIS DE JUNDIÁ** (*Rhamdia quelen*). 2015. 45f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Produção Animal). Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2015.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização das frações solúveis e insolúveis de hidrolisados proteicos de diferentes resíduos de sardinha (*Sardinella sp.*), sobre o desempenho de juvenis de jundiá. Foram testados dois tipos de hidrolisado de músculo, fração solúvel e insolúvel avaliadas individualmente (FSM e FIM) e combinadas entre si (FSM+FIM), e dois tipos de hidrolisado de vísceras, fração solúvel de vísceras natural e industrializada (FSVN E FSVI). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos (tipos de hidrolisado) e cinco repetições. Os juvenis foram mantidos em aquários de 30 litros, com densidade de 8 peixes por aquário, ao qual foram cultivados por 56 dias. Os resultados foram analisados por meio de Análise de Variância Paramétrica (ANOVA), e submetidos ao teste de Duncan (5% de significância). Os melhores resultados de peso final, ganho de peso, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica foram obtidas com a dieta contendo a combinação das frações solúveis e insolúveis do hidrolisado de músculo, e com a dieta contendo a fração solúvel do hidrolisado de vísceras industrial. A dieta contendo hidrolisado solúvel de vísceras industrial também foi a mais consumida pelos animais. A dieta contendo o hidrolisado insolúvel de músculo foi a que proporcionou os piores resultados de consumo. A pior conversão alimentar foi obtida para a dieta contendo o hidrolisado solúvel de músculo. A sobrevivência, a composição corporal e a excreção de amônia não diferiram entre os tratamentos. Os melhores resultados de desempenho são obtidos com hidrolisados brutos que combinam os benefícios das duas frações. O grau de hidrólise tem efeito direto sobre o consumo de ração. Além disso, foi demonstrado que os hidrolisados solúveis podem ser utilizados em níveis elevados de inclusão, desde que os nutrientes das dietas sejam adequadamente balanceados.

**Palavras-chaves:** Hidrólise Enzimática. Resíduo de Pescado. Alimentação animal.



## ABSTRACT

WOSNIAK, Bárbara. **EFFECT OF TYPES OF SARDINE HYDROLYZED DIFFERENT (*Clupeidae*), ON CATFISH YOUTH PERFORMANCE (*Rhamdia quelen*)**. 2015. 45f. Dissertação (Master of Animal Science - Animal Production) .Programa Graduate in Animal Science, Lages, 2015.

The objective of this study was to evaluate the use of soluble and insoluble fractions of protein hydrolysates of different waste sardines (*Clupeidae*), on the performance of juvenile catfish. We tested two types of muscle hydrolyzate, soluble fraction and insoluble assessed individually (WSF and FIM) and combined with each other (WSF + END), and two types of viscera hydrolyzed soluble fraction of natural guts and industrialized (FSVN FSVI E) . The experimental design was completely randomized with five treatments (type hydrolyzate) and five repetitions. The juveniles are kept in tanks of 30 liters with densidadel 8 fish per tank, to which were cultured for 56 days. The results were analyzed using parametric variance analysis (ANOVA) and subjected to the Duncan test (5% significance). The final best results, weight gain, feed conversion and protein efficiency ratio were obtained with the diet containing a combination of soluble and insoluble fractions of the hydrolyzate muscle, and the diet containing the soluble fraction of the hydrolyzate of industrial offal. A diet containing hydrolyzed soluble industrial viscera was also the most consumed by the animals. A diet containing hydrolyzed insoluble muscle was the one that gave the worst results consumption. The worst feed conversion was obtained for the diet containing the soluble hydrolyzed muscle. Survival, body composition and ammonia excretion did not differ between treatments. The best performance results are obtained using crude hydrolysates which combine the benefits of both fractions. The degree of hydrolysis has a direct effect on feed intake. Furthermore, it was shown that soluble hydrolysates can be used at high levels of inclusion, from which nutrients are adequately balanced diets.

**Keywords:** Enzymatic Hydrolysis. Fish waste. Animal feed.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Gráfico 1</b> - Produção total (t) da pesca extrativista e da aquicultura em águas marinhas e continentais, 1998 – 2007 .....	15
<b>Figura 1</b> – Processo de produção de hidrolisados.....	24

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Composição bromatológica dos hidrolisados.....	25
<b>Tabela 2</b> - Grau de hidrólise dos hidrolisados.....	28
<b>Tabela 3</b> - Composição de aminoácido de hidrolisados.....	30
<b>Tabela 4</b> - Composição das rações experimentais.....	31
<b>Tabela 5</b> - Composição calculada de aminoácido das dietas experimentais.....	31
<b>Tabela 6</b> - Desempenho de juvenis de jundiá alimentados com diferentes tipos de hidrolisados após 56 dias de experimentos.....	32
<b>Tabela 7</b> - Índices organométricos e composição corporal de juvenis de jundiá alimentados com diferentes tipos de hidrolisados após 56 dias de experimento.....	32

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
2	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
2.1	PESCA EXTRATIVISTA MARINHA E INDÚSTRIA PROCESSADORA .....	14
2.2	RESÍDUOS DA INDÚSTRIA PESQUEIRA: PRODUTO DE ALTO VALOR .....	15
2.3	HIDRÓLISE PROTEICA .....	16
2.4	DETERMINAÇÃO DE GRAU DE HIDRÓLISE .....	18
2.5	HIDROLISADOS PROTEICOS DE PESCADO NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES .....	20
3	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	23
3.1	PRODUÇÃO DE HIDROLISADOS .....	23
3.2	CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROLISADOS .....	24
3.3	ANIMAIS E INSTALAÇÕES .....	26
3.4	DIETAS EXPERIMENTAIS .....	26
3.5	ÍNDICES ORGANOMÉTRICOS E COMPOSIÇÃO CORPORAL .....	27
3.6	EXCREÇÃO DE AMÔNIA .....	28
3.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	29
4	<b>RESULTADOS</b> .....	30
4.1	ENSAIO DE DESEMPENHO .....	32
4.2	ÍNDICES ORGANOMÉTRICOS E COMPOSIÇÃO CORPORAL .....	32
4.3	EXCREÇÃO DE AMÔNIA .....	33
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	34

6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	37
7	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	38



## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o apelo pelo consumo de alimentos saudáveis resultou em um aumento da procura por pescados. Segundo dados publicados por Univalli/CTTMar (2011), Santa Catarina é o maior produtor de pesca extrativista, sendo que em 2010 foram desembarcadas 114.000 toneladas, ao qual deste montante, a maior parte corresponde a sardinha-verdadeira. Entretanto, a industrialização de sardinhas, gera uma elevada quantidade de resíduos, variando de 35% a 47,8%, devido ao baixo rendimento de carcaça, e oriundos principalmente da linha de eviscerados e espalmados (PESSATTI, 2001). Apenas uma pequena parcela é destinada a fabricação de ração animal, e uma grande porcentagem é despejada no meio ambiente sem praticamente nenhum tratamento ocasionando grandes impactos ambientais (STORI; BONILHA; PESSATTI, 2002).

Assim, a fim de agregar valor econômico aos resíduos da agroindústria de pescado, já que estes são ricos em proteínas aos quais desempenham funções dinâmicas e estruturais (OETTERER; GALVÃO, 2005), sugere-se a produção de hidrolisado proteico de pescado – FPH (Fish Protein Hydrolysed), conforme designado pela Food and Agriculture Organization (FAO) (OETTERER, 2001). Segundo definição mais recente, hidrolisados proteicos de pescado são produtos da reação de hidrólise de ligações peptídicas de proteínas e resultam em peptídeos mais curtos ou aminoácidos de fácil absorção para os animais (WISUTHIPHAET; KONGRUANG; CHAMCHEUN, 2015).

A hidrólise enzimática é o processo mais utilizado atualmente, por tratar-se de um processo rápido, que permite reprodução a fim de obter um mesmo perfil de peptídeos, além de permitir total controle (BATISTA, 2011). O grau de hidrólise pode ser acompanhado durante o processo através da metodologia de o-phthaldialdehyde (OPA) (NIELSEN; PETERSEN; DAMBMANN, 2001) já que esta gera resultados mais rápidos, além de usar menos reagentes e reagentes menos tóxicos do que a metodologia de precipitação pelo ácido tricloroacético (TCA) (RAJALINGAM; LOFTIS; KUMAR, 2009).

Para Oliva-Teles; Cerqueira; Gonçalves (1999), a matéria seca do hidrolisado enzimático proteico de pescado pode ser amplamente utilizada na aquicultura, principalmente como suplemento de proteína, aumentando a digestibilidade da refeição devido ao tratamento enzimático, promovendo o aumento de aminoácidos livres e peptídeos de baixo peso molecular. Nascimento; Verreschi; Jesus (2008) verificaram a alta

qualidade nutricional, principalmente em relação à concentração de proteína e composição de aminoácidos dos hidrolisados. Segundo o autor, o valor nutricional é herdado principalmente da matéria-prima, e também devido à possibilidade de controle do processo de hidrólise através da utilização de enzimas específicas.

Através do processo de hidrólise enzimática é possível obter-se duas frações distintas, sendo nomeadas de fração solúvel e fração insolúvel, ao qual se acredita que a fração solúvel é composta pelo material mais hidrolisado, ou seja, peptídeos de menor peso molecular, e a fração insolúvel de material não hidrolisado, ou seja, peptídeos de maior peso molecular (LIASET; ESPE, 2008). Porém, os resultados da utilização das frações separadas ou unidas em concentrações pré-estipuladas na alimentação animal não estão totalmente descritas (LIASET; ESPE, 2008). De acordo com Berger, Storebakken (1998), quando administrados na dieta, aminoácidos livres são extensivamente utilizados no catabolismo, como fonte de energia, em contraste com os aminoácidos resultantes da hidrólise digestiva, são incorporados no tecido muscular de forma mais eficiente.

Outra grande lacuna presente na produção animal são as informações sobre alimentação e cultivo de peixes nativos (BALDISSEROTTO; GOMES, 2013), como por exemplo, o jundiá (*Rhamdia quelen*). Estes tem atraído a atenção de pesquisadores de clima temperado, mostrando excelente potencial para ser incluído na piscicultura nacional. Os principais motivos são sua boa aceitação no mercado consumidor, seu bom rendimento de filé sem espinhos e de bom sabor, além da boa adaptação ao clima, hábito alimentar onívoro e domínio da reprodução induzida que é realizada com relativa facilidade (GOMES; GOLOMBIESKI; GOMES, 2000).

Assim, este trabalho teve como objetivo geral avaliar a utilização das frações solúveis e insolúveis de hidrolisados proteicos de diferentes resíduos de sardinha (*Sardinella sp.*), sobre o desempenho de juvenis de jundiá, e como objetivo específico avaliar os índices organométricos e composição corporal dos animais, bem como a excreção de amônia quando alimentados com diferentes dietas.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 PESCA EXTRATIVISTA MARINHA E INDÚSTRIA PROCESSADORA

Estudos relatam que o consumo mundial de pescado é crescente, porém no Brasil o consumo encontra-se bem abaixo do estimado mundialmente, mesmo possuindo características extremamente positivas, como a dimensão continental do território brasileiro, a diversidade de biomas e a imensa biodiversidade, criam um cenário bastante complexo (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2012; BRASIL, 2013; ROCHA et al., 2013).

Mesmo no Brasil havendo inúmeros fatores que propiciam a expansão da aquicultura, a pesca extrativista marinha, é a maior contribuinte do montante total de organismos aquáticos produzidos, representando 50,4% da produção total, conforme demonstrado no gráfico 1.

Das cinco regiões contidas no Brasil, a região sul é responsável pela maior parte da produção pesqueira brasileira, sendo que em 2007 o valor total estimado da produção foi de R\$ 355.332.875,00 (IBAMA, 2007). Dos três estados pertencentes à região sul brasileira, Santa Catarina destacou-se como maior produtora da pesca extrativista brasileira, (IBAMA, 2007) destacando-se principalmente as cidade de Itajaí e Navegantes (SPILLERE; BEAUMORD, 2006). Dentre os principais produtos fornecidos pelas indústrias de Santa Catarina destacam-se: a) sardinha; b) camarão vermelho, sete-barbas e rosa; c) tunídeos, principalmente bonito listado; d) cações, principalmente cação anjo; e) peixe demersais, destacadamente, abrótea, corvina, linguado e pescado; f) diversas espécies demersais, na forma de mistura; g)tainha; h) lulas (ANDRADE, 1998).

**GRÁFICO 1** - Produção total (t) da pesca extrativista e da aquicultura em águas marinhas e continentais, 1998 – 2007.



Fonte: IBAMA, 2007.

Avaliando a indústria de pescados, em geral, cerca de 70% dessa produção passa por beneficiamento em indústrias antes de ser repassada ao consumidor, e os demais 30% passam por intermediários e são colocados *in natura* no mercado de consumo (NETO; GRUMANN, 1995). E somando a produção de resíduos; ao qual inclui cabeça, vísceras, espinhaços, caudas e restos de músculo; com os peixes impróprios para o consumo humano, 40% do total desembarcado, somando 30 milhões de toneladas anuais, são diretamente processados como farinha para ração animal ou ainda despejados no meio ambiente sem praticamente nenhum tratamento, onde a maior parte é desperdiçado sem um destino correto (STORI; BONILHA; PESSATTI, 2002), sendo direcionado principalmente ao mar sem nenhum tratamento, sendo considerados um problema de difícil solução (ANDRADE, 1998).

## 2.2 RESÍDUOS DA INDÚSTRIA PESQUEIRA: PRODUTO DE ALTO VALOR

A grande quantidade e resíduos produzidos pela indústria de pescados revela-se ser um grande problema tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento. O aumento do abate de pescados necessário para suprir a demanda, gera a grande necessidade de utilização dos resíduos que são inexplorados ou sub-explorados (SLIZYTE et al., 2005).

E refletindo as ótimas características nutricionais do pescado, o resíduo da agroindústria demonstra boa quantidade de material rico em proteína que normalmente são processados em produtos de baixo valor de mercado, ou até mesmo descartados (HSU, 2010).

Os resíduos são empregados em pequenas quantidades na produção de produtos de alta proteína, como farinha de peixe, surimi, concentrado de proteína de peixe e hidrolisados de proteína de peixe (FPH) (SLIZYTE et al., 2005). Entretanto, o produto que vem mais se destacando é o hidrolisado proteico de pescado (JONES, 1989; SHAHIDI; SYNOWIECK, 1995).

### 2.3 HIDRÓLISE PROTEICA

Os hidrolisados podem ser definidos como proteínas clivadas através da despolimerização enzimática das proteínas, por reação de hidrólise, gerando peptídeos de vários tamanhos e aminoácidos, diminuindo seu peso molecular, alterando o número de grupos ionizáveis e causando a exposição de grupos hidrofóbicos que estavam protegidos na estrutura original da proteína (PANYAM; KILARA, 1996). O processo de hidrólise difere-se do processo de silagem devido a adição de enzimas endógenas e por ser um processo mais rápido (FURLAN; OETTERER, 2002). Este processo pode ser realizado por três métodos distintos: hidrólise ácida, hidrólise alcalina e hidrólise enzimática (GONÇALVES, 2011).

O processo de hidrólise ácida e alcalina é muito parecido, no processo de hidrólise ácida a quebra das ligações peptídicas é realizada através da adição de um ácido, na maioria das vezes ácido clorídrico, e na hidrólise alcalina a quebra das ligações é realizada pela adição de uma base, sendo amplamente empregada industrialmente devido ao seu alto rendimento (GONÇALVES, 2011; FURLAN; OETTERER, 2002). Contudo, segundo os mesmos autores, devido a necessidade de neutralizar a reação com uma base forte ou ácido forte, neste processo há a formação de uma grande concentração de sal, e conseqüentemente alto teor de cinza. Tanto o processo de hidrólise ácida como no processo de hidrólise alcalina possuem algumas limitações por haver destruição de alguns aminoácidos, comprometendo o valor nutricional da proteína, e dificuldade de controle de processo, gerando quase sempre produtos com composição química e propriedades funcionais variáveis (SGARBIERI, 1996).

Já no processo de hidrólise enzimática há a adição de enzimas exógenas, permitindo a obtenção de características específicas para uma

determinada aplicação, através do controle das condições de hidrólise enzimática e a escolha adequada da enzima (KUROZAWA; PARK; HUBINGER, 2009). Este processo possui algumas vantagens quando comparada com a hidrólise ácida e alcalina, destacando-se: controle das características do produto final a partir da especificidade da enzima, digestão sob condições moderadas, evitando pH e temperaturas extremas que poderiam comprometer a qualidade nutritiva do hidrolisado, taxa de hidrólise controlada através da desativação da enzima por aquecimento, propriedades funcionais atraentes, como solubilidade e dispersibilidade, e nenhuma destruição dos aminoácidos, retendo o valor nutritivo da proteína (DINIZ; MARTINS, 1999).

Industrialmente, a aplicação do processo de hidrólise enzimática ainda possui um fator indesejável, que é o elevado custo das enzimas comerciais, sendo que estas não são reutilizáveis. Entretanto, segundo Adler-Nissen (1986), o conhecimento dos fatores: concentração (relação enzima:substrato) e especificidade da enzima, temperatura e pH da reação, e a natureza do substrato; resulta na otimização do processo em termos de rendimento, tempo e, conseqüentemente, custos.

As enzimas empregadas no processo de hidrólise são nomeadas de peptidases, peptídeo-hidrolases ou proteases, que são capazes de clivar ligações peptídicas nas proteínas e em fragmentos delas (BARRETT, 1994). O estudo destas enzimas iniciou no fim do século XVI, motivado pelo interesse na fisiologia do sistema digestivo humano, sendo que atualmente elas são divididas quanto sua especificidade: endopeptidases, que são capazes de clivar ligações no interior da cadeia polipeptídica; exopeptidases, atuando nas extremidades da cadeia peptídica; entre outras, ao qual tem seletividade em relação à sequência de aminoácidos vizinhos à ligação (HSU, 2010). Atualmente, as principais proteases utilizadas são de origem vegetal (papaína, bromelina e ficcina), animal (peptidases digestivas) ou microbiana, sendo que as duas primeiras fontes não atendem a demanda industrial, favorecendo o uso das de origem microbiana, principalmente pelo pequeno tempo de geração e pela diversidade e facilidade de manipulação genética dos microorganismos (RAO et al., 1998).

O processo de hidrólise enzimática é relativamente fácil de ser conduzido. Inicialmente, realiza-se a moagem da matéria-prima a ser utilizada, a fim de obter partículas de pequeno tamanho, seguindo-se da adição e homogeneização com igual volume de água, a fim de obter uma massa viscosa que facilitará o acesso das enzimas às proteínas. Após o homogeneizado é aquecido até a temperatura ótima de atividade da enzima, e caso seja necessário, corrige-se o pH da mistura para o pH ótimo

de atividade enzimática, e por último adiciona-se a enzima. O tempo de hidrólise depende do grau de hidrólise ao qual se tem interesse, da relação enzima/substrato, da pureza da enzima e concentração do substrato. Acabado o processo de hidrólise, realiza-se a inativação da enzima através do aumento da temperatura ou mudança de pH, para que ocorra a desnaturação desta, e por fim o material hidrolisado é recuperado, através de processo de centrifugação ou filtração à vácuo (GONÇALVES, 2011).

Através do processo de recuperação do hidrolisado, o material bruto é dividido em duas frações distintas, a fração solúvel, onde encontra-se concentrado os peptídeos de menor peso molecular, e a fração insolúvel, ao qual contém os peptídeos de maior peso molecular (LIASET; JULSHAMN; ESPE, 2003). Além da separação do perfil de peptídeos, no processo de recuperação do hidrolisado há a separação de micro e macronutrientes, ao qual ainda não está totalmente claro. Porém, devido ao fato de vitaminas do complexo B, muitos dos minerais, elementos traços e alguns dos aminoácidos serem hidrofílicos, possivelmente estes podem estar enriquecendo a fração insolúvel. Assim, a avaliação das duas frações podem ser valiosas principalmente para a nutrição animal (LIASET; ESPE, 2008).

Outro fator que afeta a aplicação dos hidrolisados é o grau de hidrólise (GH) obtido. Portanto, hidrolisados com grau de hidrólise limitado entre 1% e 10% são utilizados para melhorar as propriedades funcionais dos alimentos, devido a melhor absorção; hidrolisados com diferentes graus de hidrólise podem ser utilizados como flavorizantes e, por último, hidrolisados com graus de hidrólise superiores a 10% podem ser utilizados como suplementos proteicos em dietas para tratamento de doenças específicas (VIOQUE et al., 2001).

## 2.4 DETERMINAÇÃO DE GRAU DE HIDRÓLISE

De maneira geral o GH é definido como a porcentagem de ligações peptídicas clivadas em relação às ligações peptídicas totais existentes na proteína original (SCHUSTER, 1988). Sendo que este é um dos principais fatores que influenciam a aplicação dos hidrolisados é o grau de hidrólise (GH) obtido, assim, devendo ser controlado durante o processo de hidrólise. Assim, dentre as várias metodologias disponíveis para o controle do GH durante o processo de hidrólise, ao qual destacam-se três: pH-sat, reação com ácido trinitrobenzenosulfônico (TNBS) e reação com

o-Phthaldialdehyde (OPA) (NIELSEN; PETERSEN; DAMBMANN, 2001).

O método pH-sat ao qual utiliza o pH-sat realiza o controle de GH através da adição de base ou ácido, a fim de manter o pH constante durante a hidrólise, sendo que a quantidade a ser adicionada é proporcional ao GH. Entretanto, quando avaliado de forma prática, o método de pH-sat acaba sendo inviável quando se objetiva uma hidrólise alta (acima de 30%), pois a realização da técnica é inviável em condições de pH superiores a 7, este sendo o pH de atividade de muitas enzimas ao qual são ativadas para obtenção de um alto grau de hidrólise (ADLER-NISSEN, 1986). Além disso, por se tratar de um equipamento caro, o pH-sat não encontra-se disponível em todos os laboratórios.

Tradicionalmente, a clássica metodologia do TNBS é a mais utilizada. Nesta metodologia, os íons de tricloroacético carregados negativamente desencadeiam perturbações nas interações eletrostáticas que estabilizam a conformação natural das proteínas (RAJALINGAM et al.,2009). O desdobramento parcial de proteínas resulta na exposição de superfície acessível ao solvente não polar o que conduzem a sua precipitação, assim ficando solúvel somente as proteínas hidrolisadas. GH é determinado a partir da proporção de proteína solubilizada do hidrolisado em relação ao teor de proteína total da amostra. Após utiliza-se o TNBS, que forma compostos de cor através da reação com os grupos amino. Contudo, este reagente é bastante instável, e as soluções preparadas para a análise tem que ser mantido longe da luz ou eles vão desenvolver uma cor que influencia as medições, além de ser extramente perigoso devido ao risco de explosão quando manipulado sobre a forma sólida (RAJALINGAM et al.,2009).

Outra metodologia disponível para determinação de GH utiliza o reagente ortoftalaldeído (OPA), que através da reação com grupos amino-livres na presença de beta-mercaptoetanol há formação de um composto colorido detectável a 340 nm em espectrofotômetro (SCHUSTER, 1988). Esta metodologia, quando comparada as demais já citadas, para aplicações de ordem prática é a que mais se destaca por ser um método mais preciso, além de poder ser utilizado para seguir a reação de hidrólise durante o processo, já que os resultados estão disponíveis 2 minutos depois da colheita da amostra, e pelo reagente ser mais estável e menos tóxico quando comparado com o TNBS (RAJALINGAM et al.,2009).

## 2.5 HIDROLISADOS PROTEICOS DE PESCADO NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES

Hidrolisados proteicos de pescado são produzidos a partir de resíduos da agroindústria pesqueira, onde utiliza-se enzimas hidrolíticas para ocorrer a degradação das proteínas (BERGE; STOREBAKKEN, 1996), assim refletindo o perfil de aminoácidos do material inicial, exceto para os aminoácidos sensíveis, tais como metionina e triptofano onde há um relativo aumento durante a hidrólise enzimática (JONES, 1989; SHAHIDI; SYNOWIECK, 1995), mas podendo ter uma variação de acordo com as enzimas e condições do processo de hidrólise, como temperatura e tempo de hidrólise (KLOMPONG et al., 2009).

Contudo, não somente o perfil de aminoácidos é reflexo da matéria-prima inicial, como também macro e micronutrientes. Assim, quando utilizado resíduos de peixes marinhos, como sardinhas que são ricos em ácidos graxos ômega-3 ou série n3 (ZAMBOM; SANTOS; MODESTO, 2004), os hidrolisados também serão ricos nestes ácidos graxos. Portanto, mesmo que a presença de ácidos graxos altamente insaturados nos óleos de peixes torna-os muito suscetíveis aos processos de oxidação, podendo haver a formação de radicais livres altamente instáveis e hidroperóxidos (HALLDORS DOTTIR et al., 2014), o processo de deslipidificação não é interessante quando o hidrolisado é administrado na alimentação animal devido aos grandes benefícios proporcionados pelos ácidos graxos ômega-3.

A qualidade nutricional dos hidrolisados proteicos é de grande interesse, principalmente quando administrado na alimentação de indivíduos que não podem digerir a proteína intacta. Devido a fatores como perfil de aminoácidos equilibrados, boa digestibilidade e rápida absorção, reconhecendo assim seu valor nutricional, o hidrolisado vem sendo muito utilizado em rações para animais, principalmente para aqueles ao qual não tem o sistema gastrointestinal completamente formado ou um trânsito gastrointestinal muito rápido (GONÇALVES, 2011), como por exemplo, os peixes.

Além da qualidade nutricional dos hidrolisados, estes atuam como atrativos alimentares em peixes (SHAHIDI; SYNOWIECK, 1995), já que quanto maior o grau de hidrólise maior proporção de proteínas solúveis de baixo peso molecular, favorecendo a detecção pelo sistema gustativo dos peixes, que são altamente sensíveis a substâncias solúveis dissolvidas na água (MARUI; CAPRIO, 1992; HALVER; HARDY, 2002) e

favorecendo o crescimento devido ao aumento consumo de ração (HEVROY et al., 2005). Nascimento; Verreschi; Jesus (2008) verificou o aumento da palatabilidade de dietas contendo hidrolisado proteico quando incorporado a dietas de alevino de pintado. Esta característica deve ser explorada não somente para larvicultura, por haver dificuldade no consumo de ração, mas também para outras espécies de monogástricos, principalmente suínos, durante a fase de desmame para aumento da adaptação a dieta seca, e devido a imaturidade do sistema digestório e as drásticas alterações na fisiologia intestinal de leitões com duas a três semana de idade, havendo prejuízos ao processo digestório e absorptivo (BOUDRY et al., 2004). Porém, quando administrados em baixos ou altos níveis podem causar efeitos negativos no crescimento (ESPE et al., 1999; HEVROY et al., 2005).

Após o processo de hidrólise enzimática, através da filtração, o hidrolisado é dividido em duas frações, a fração solúvel, taurina, potássio, magnésio, vitaminas do complexo B e aminas biogênicas (LIASET; ESPE, 2008), enquanto a fração insolúvel possui uma maior concentração de quase todos os aminoácidos, com exceção apenas da taurina, pois devido à presença de regiões hidrofóbicas nas proteínas, estas não são alcançadas pelas enzimas, impossibilitando a liberação de aminoácidos livres, havendo maior permanência destes na fração insolúvel (CHOTHIA, 1974;1975). Assim, o maior crescimento animal é alcançado quando há a mistura de peptídeos e aminoácidos livres, conforme já verificado por Zheng et al. (2012) que relataram que hidrolisado de proteína de peixe ultrafiltrada em um nível de inclusão dietética de 3,7% pode aumentar o crescimento de juvenis de linguado japonês. E Refstie et al. (2004) obtiveram uma taxa de crescimento mais rápida do salmão do Atlântico quando 10-15% de farinha de peixe foi substituída por hidrolisado de proteína de peixe. Já, em contrapartida, Oliva-Teles; Cerqueira; Gonçalves (1999) mostraram que a substituição parcial do farelo de peixe por hidrolisado de proteína de peixes não melhora o crescimento de juvenis de Pregado.

Contudo, administração em forma conjunta da fração solúvel e insolúvel resulta não somente em uma complementação de nutriente, como também em uma divisão das vias de absorção, já que os aminoácidos livres são absorvidos pela membrana apical através de simportes aminoácidos/Na<sup>+</sup> e pode haver o bloqueio da absorção de dois ou mais aminoácidos quando são absorvidos pelo mesmo transportador. O bloqueio da absorção pode acontecer com pequenos peptídeos, ao qual são absorvidos na porção posterior do intestino através de PEPT1 e



PEPT2, e hidrolisados por peptidases existentes dentro dos enterócitos (BALDISSEROTTO, 2009).

Os hidrolisados proteicos estão sendo alvo de estudo também por serem fontes de peptídeos biologicamente ativos (FRIEDMAN, 1996). Estes peptídeos são caracterizados como componentes de alimentos que podem exercer uma atividade de regulação no organismo humano, independentemente das suas funções nutritivas (GOBBETTI; MINERVINI; RIZZELLO, 2004).

A cada ano que passa, numerosas pesquisas têm descrito diferentes atividades fisiológicas e metabólicas após ensaios, in vivo e in vitro, com proteínas e peptídeos bioativos, encontram-se efeitos antimicrobiano, antioxidante, inibidor de enzima conversora de angiotensina (ECA), imunomodulador, e como fator de crescimento (SOARES, 2013).

Em frações menos hidrolisadas de restos de camarão, cabeças de bacalhau e cabeças e vísceras de sardinhas, foram detectados fatores de crescimento, que são definidos como grupo diversificado de agentes reguladores polipeptídicos que controlam as repostas celulares por uma série de mecanismos análogos aos hormônios endócrinos (GONÇALVES, 2011).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Piscicultura do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina localizado na cidade de Lages/SC. Foi avaliado o efeito de diferentes tipos de hidrolisados sobre o desempenho e metabolismo de juvenis de jundiá. Assim, foram testados dois tipos de hidrolisado de músculo, fração solúvel e insolúvel avaliadas individualmente e combinadas entre si, e dois tipos de hidrolisado de vísceras, fração solúvel de vísceras natural e industrializada. As matérias-primas utilizadas para produção dos hidrolisados foram gentilmente fornecida pela empresa Gomes da Costa S/A. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos (tipo de hidrolisado) e cinco repetições.

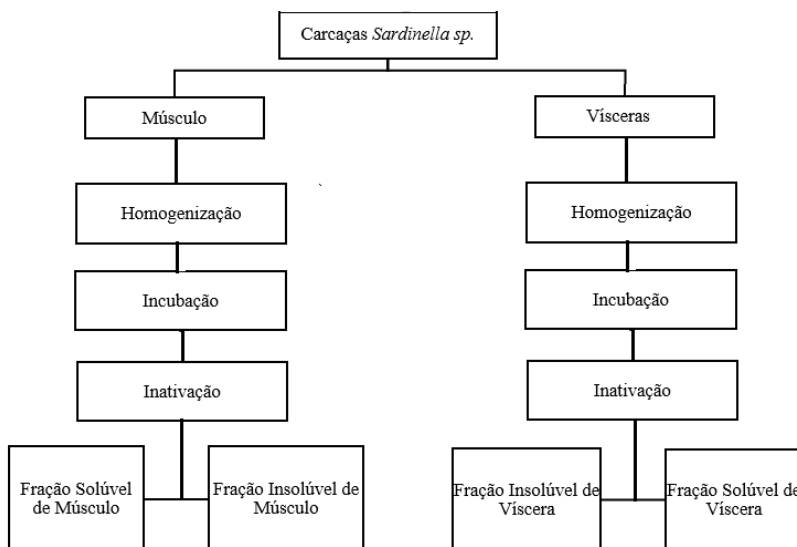
#### 3.1 PRODUÇÃO DE HIDROLISADOS

O hidrolisado proteico muscular foi produzido com carcaças limpas (desprovidas de cabeça, cauda e vísceras) de sardinhas (*Sardinella* sp.) e derivaram as frações solúveis (FSM) e as insolúveis (FIM). Já os hidrolisados de vísceras foram produzidos a partir de duas matérias-primas: vísceras integrais removidas de animais inteiros e vísceras coletadas pela indústria, diretamente das linhas de produção, através de sucção. No caso dos animais inteiros, os espécimes foram mantidos inteiros em freezer à -20°C até o processamento, e foi denominada Víscera Natural (VN). As amostras coletadas pela indústria, denominadas Víscera Industrial (VI), foram coletadas em frascos plásticos de 1 litro, etiquetadas e mantidas em gelo até a chegada ao laboratório. No mesmo dia as amostras foram fracionadas (para se evitar ciclos de congelamento/descongelamento) e mantidas em freezer à - 20° C até o processamento.

Alíquotas com cerca de 300 g de amostra, foram homogeneizadas em liquidificador com 3 volumes de água e incubadas com a enzima protease bacteriana de *Bacillus licheniformis* e *Bacillus amyloliquefaciens* (Protamex® Novozymes A/S) (1:500 enzima:peixe) a 50°C durante 90 minutos, seguido de inativação da enzima a 75-90°C durante 15 minutos (Figura 1). As suspensões foram misturadas e submetidas à filtração Büchner com papel de 80 g Unifil® e vácuo em kitassato. O material retido foi considerado como a fração insolúvel, e o filtrado foi considerado fração solúvel. Ambas as frações foram secas à 60° C, em estufa com

circulação de ar. O tempo de secagem (4-16 horas) variou em função da biomassa colocada na estufa e, principalmente, da distribuição do leite líquido (altura/volume).

**Figura 1** – Processo de produção de hidrolisados



Fonte: O autor.

Foram geradas frações solúveis e insolúveis de músculo, de víscera natural e víscera industrial. Entretanto, devido aos teores de lipídeos bastante elevados das amostras de fração insolúvel de hidrolisado de vísceras, não puderam ser utilizadas, pois desbalanceariam as formulações das rações.

### 3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROLISADOS

As análises químicas dos hidrolisados e das respectivas matérias-primas foram efetuadas de acordo com os métodos da AOAC (1995). O teor de umidade foi determinado por radiação infravermelha e o teor de lipídeos pelo método de Soxhlet. O teor de matéria mineral foi determinado por gravimetria, com incineração à 650° C por 2 horas e o de proteína total determinada pelo método de Kjeldahl. O teor de proteínas

solúveis foi determinado pelo método de Lowry; Rosenbrough; Farr (1951) e realizada uma curva de calibração utilizando-se soro albumina bovina como padrão. Na Tabela 1 estão apresentadas as composições dos hidrolisados:

**TABELA 1** – Composição bromatológica dos hidrolisados

	Sigla	Umidade (%)	PB (%)	EB (%)	EE (%)	MM (%)	ENN (%)
Fração solúvel músculo	FSM	93,28	85,5	5108,8	2,00	8,0	4,50
Fração insolúvel músculo	FIM	35,08	77,0	6097,7	20,3	3,3	0,00
Fração solúvel visc. Natural	FSVN	81,50	77,0	5169,9	4,28	6,2	12,52
Fração solúvel visc. Industrial	FSVI	90,40	61,4	4607,8	1,69	11,3	25,54

PB- Proteína Bruta, EB – Energia Bruta, EE – Extrato Etéreo, MM – Matéria Mineral, ENN – Extrato não-nitrogenado .

Fonte: O autor.

Para a determinação do GH utilizou-se o método OPA, que foram realizados em microplacas de fundo transparente, pela adição de 40 µl de amostra e 260 µl do reagente OPA. As leituras de absorbância foram realizadas em 340 nm no leitor de microplacas modelo Genius, marca Tecan, e mediam o teor de grupamentos amino-livres, como equivalentes de serina. As concentrações de serina (mequivalentes) por grama de proteína foram calculadas a partir de uma curva de calibração prévia de serina (0,1 a 16 µg). O GH foi determinado pela relação percentual entre o número de ligações peptídicas hidrolisadas (h) e o número total de ligações peptídicas na proteína original ( $h_{tot}$ ). O valor de h foi determinado através da equação:

$$h = (\text{Serina-NH}_2 - \beta) / \alpha \text{ meqv} / \text{g proteína}$$

Os valores de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $h_{tot}$  foram os determinados previamente por ADLER-NISSEN (1986) para pescado: 1,00; 0,40 e 8,6, respectivamente. O teor de equivalentes de serina foi determinado na solução hidrolisada e relacionado à medida padrão de serina (0,9516 meqv/L), determinada em 340 nm. O grau de hidrólise foi calculado pela relação entre h e  $h_{tot}$ , através da equação:

$$\text{GH} (\%) = h / h_{tot} * 100$$

As análises de aminoácidos foram realizadas pelo laboratório CBO – Análises Laboratoriais®, ao qual utilizou a metodologia de análise por cromatografia em HPLC, onde inicialmente realizou-se a individualização dos monômeros através da hidrólise por HCl 6N em uma estufa a 110°C por 24 horas. Após empregou-se o HPLC ao qual possui uma precisão superior a  $\pm 0,5\%$ , seguindo de uma leitura detector espectrofotométrico. A partir dos dados obtidos sobre o teor de aminoácidos de cada hidrolisado estimou-se a composição de aminoácidos nas dietas formuladas.

### 3.3 ANIMAIS E INSTALAÇÕES

Os juvenis de jundiá ( $0,78 \pm 0,23$  g) foram aclimatados em biotério por no mínimo 30 dias, em caixas d'água 500L equipadas com sistema de aeração e aquecimento. Os animais foram alimentados com ração comercial e as excretas e restos alimentares eram sifonados diariamente. A seguir foram distribuídos em aquários experimentais de volume útil de 30 L na densidade inicial de 8 peixes por aquário, onde foram cultivados por 56 dias.

O experimento foi realizado em temperatura constante, mantida por meio de banhos termostatizados, e os aquários equipados com sistema de filtro biológico. Diariamente, cerca de 20% da água era renovada e eram retirados os restos de alimentos e verificada a presença de animais mortos. A qualidade da água foi monitorada periodicamente e as médias foram: temperatura  $24,72 \pm 0,91$ °C; oxigênio  $5,24 \pm 0,41$  mg/L; amônia  $0,01 \pm 0,1$   $\mu$ /L e pH  $8,16 \pm 0,25$ . Os valores mantiveram-se dentro dos parâmetros recomendados para o cultivo do jundiá (BALDISSEROTO; RADÚNZ, 2004).

### 3.4 DIETAS EXPERIMENTAIS

Foram avaliadas cinco dietas isoproteicas (39% de proteína bruta) e isoenergéticas (cerca de 4450 kcal de energia bruta/ kg). Foram utilizados diferentes tipos de hidrolisado de resíduo de sardinha de forma a fornecer 50% da proteína das rações (Tabela 2). Além do hidrolisado, as dietas foram formuladas utilizando-se farinha de carne e farelo de soja como fontes proteicas e o amido de milho e o óleo de peixe com fontes energéticas. Os ingredientes foram previamente analisados (HORWITS, 1997) para garantir maior precisão durante a formulação. Depois de

misturados, os ingredientes foram finamente triturados em moinho de faca com peneira de 2 mm de diâmetro de malha. As dietas foram peletizadas (5 mm), separadas em tamanho pela granulometria e armazenadas em freezer até o momento da utilização.

### 3.5 ENSAIO DE DESEMPENHO

O experimento foi realizado em temperatura constante, mantida por meio de banhos termostatizados, e os aquários equipados com sistema de filtro biológico. Diariamente, cerca de 20% da água era renovada e eram retirados os restos de alimentos e verificada a presença de animais mortos. A qualidade da água foi monitorada periodicamente e as médias mantiveram-se dentro dos parâmetros recomendados para o cultivo do jundiá (BALDISSEROTO; RADÜNZ, 2004).

Os peixes foram pesados no início do estudo, aos 28 e aos 56 dias. Os seguintes parâmetros de desempenho foram avaliados: peso final, ganho de peso, consumo individual aparente de ração (CR= alimento consumido no período), conversão alimentar aparente (CA= consumo de ração/ ganho de peso) e taxa de eficiência proteica (TEP =  $100 \times (\text{ganho de peso absoluto/proteína bruta consumida})$ ) e sobrevivência.

### 3.6 ÍNDICES ORGANOMÉTRICOS E COMPOSIÇÃO CORPORAL

Um peixe de cada repetição foi sacrificado para retirada imediata do fígado e vísceras. Os órgãos foram pesados para os seguintes cálculos de índice hepatossomático (IHS), que trata-se da relação entre o peso do fígado e o peso do animal; e índice gorduro-viscerossomático (IGVS), que é caracterizado como a relação do peso da gordura visceral e o peso do animal. Também foi coletado um peixe de cada repetição para as análises de composição corporal de matéria seca, proteína e extrato etéreo segundo metodologia recomendada por Horwits (1997).

**Tabela 2 - Composição das rações experimentais**

Ingredientes (%)	FSM	FIM	FSM + FIM	FSVN	FSVI
Farelo de soja	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Milho	27,90	31,90	29,90	24,90	15,90
F. solúvel músculo	24,00	0,00	12,00	0,00	0,00
F. insolúvel músculo	0,00	26,00	13,00	0,00	0,00
F. solúvel visc. Natural	0,00	0,00	0,00	26,00	0,00
F. solúvel visc. ind.	0,00	0,00	0,00	0,00	33,00
Farinha de carne	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Óleo de peixe	7,00	1,00	4,00	7,00	7,00
Premix*	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição calculada (%)					
Matéria seca	92,85	92,38	92,62	93,11	94,01
Proteína Bruta	41,21	41,05	41,13	40,92	41,34
Energia Bruta	4482,2	4458,5	4448,22	4414,54	4428,1
Extrato Etéreo	11,14	10,18	10,66	11,68	10,80
Fibra Bruta	2,46	2,55	2,51	2,47	2,42
Matéria Mineral	7,60	6,59	7,10	7,32	9,46

\*Ácido fólico – 2.400mg, ácido nicotínico – 48g, ácido pantotênico – 24g, biotina – 96mg, vit. A – 2.400.000UI, vit. D3 – 400.000UI, vit. E – 24.000UI, vit. B1 – 9.600mg, vit. B2 – 9.600mg, vit. B6 – 9.600mg, vit. B12 – 9.600mg, vit K3 – 4.800mg, vit. C – 96g, ferro – 100g, manganês – 40g, zinco – 6.000mg, cobalto – 20mg, iodo – 200mg, selênio – 200mg. Antioxidante – 19,6g.

Fonte: O autor

### 3.7 EXCREÇÃO DE AMÔNIA

Para avaliar a eficiência metabólica das dietas, avaliações da excreção de amônia foram realizadas a cada quinze dias. No dia das coletas, após a primeira alimentação do dia (8:00 horas), os aquários foram limpos e o filtro biológico retirado, sendo mantido o sistema de aeração. As coletas foram realizadas em intervalos de quatro horas durante 24 horas. A determinação de amônia total foi realizada segundo o método colorimétrico do azul de indofenol. O método se baseia na formação do composto azul de indofenol, resultante da reação do íon amônio com fenol, na presença de hipoclorito de sódio como agente oxidante e nitroprussiato de sódio como catalisador. A leitura é realizada em um espectrofotômetro Pharo 300 da Merck em 620 nm. Para a realização da análise, a amostra inicialmente foi filtrada em membrana de acetato de celulose com abertura igual a 0,42 mm para eliminar o efeito da turbidez da amostra na leitura.

### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados por meio de Análise de Variância Paramétrica (ANOVA), e submetidos ao teste de Duncan (5% de significância). Antes de todas as análises foi verificada a normalidade dos erros (Cramer-von Mises) e homocedasticidade das variâncias (Teste de Levene).



## 4 RESULTADOS

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROLISADOS.

A partir do método de OPA, foi possível determinar o grau de hidrólise de cada fração, ao qual se encontra descrita na tabela 3. Para este trabalho, valores de GH até 10% foram considerados de baixo grau de hidrólise; entre 10 e 16%, médio GH; entre 16 e 40% alto GH e acima de 40% muito alto GH. De modo geral, as frações solúveis foram as que apresentaram maior GH, enquanto as frações insolúveis apresentaram os menores GHs.

**TABELA 3** - Grau de hidrólise dos hidrolisados

Hidrolisados	GH (%)
FSM	20,1
FIM	9,97
FSVN	17,2
FSVI	54,0

FSM – fração solúvel de músculo; FIM – fração insolúvel de músculo; FSVN – fração solúvel víscera natural; FSVI – fração solúvel víscera industrial.

Fonte: O autor.

Através dos laudos de análises emitidos pelo laboratório CB0 – Análises laboratoriais verificou-se uma maior concentração de aminoácidos tanto essenciais como não essenciais na amostra com fração insolúvel de músculo, conforme resultados explanados na tabela 4.

A partir dos dados obtidos sobre o teor de aminoácidos contidos nos hidrolisados, e da composição de aminoácidos das demais fontes proteicas utilizadas nas dietas obtidas na literatura, foi possível estimar a composição de aminoácidos nas dietas formuladas, ao qual encontram-se descrita na tabela 5.

**TABELA 4** - Composição de aminoácido (% matéria seca) de hidrolisados

Aminoácidos	FIM	FSM	FSVN	FSVI
Ácido aspártico	7,29	4,02	1,57	5,52
Ácido glutâmico	9,06	8,04	2,59	10,10
Serina	2,83	1,79	1,03	2,19
Glicina	3,56	4,76	1,57	5,73
Histidina	2,08	4,61	0,86	2,60
Taurina	0,02	1,49	0,49	1,98
Arginina	4,05	2,83	0,22	0,52
Treonina	3,07	1,64	0,92	3,65
Alanina	3,85	3,72	1,30	5,31
Prolina	2,80	2,53	1,08	3,96
Tirosina	2,71	0,74	0,54	0,63
Valina	3,65	1,79	1,19	4,69
Metionina	2,37	1,19	0,59	2,08
Cistina	1,43	0,45	0,32	1,15
Isoleucina	3,57	1,19	0,92	3,23
Leucina	5,62	3,42	1,84	6,35
Fenilalanina	3,20	1,19	0,86	2,60
Lisina	5,87	4,61	1,46	5,31
Triptofano	0,42	0,15	0,22	0,63

Fonte: O autor.

**TABELA 5** - Composição calculada de aminoácido das dietas experimentais

Aminoácidos	FSM	FIM	FMS+	FSVN	FSVI	Exigências Jundiá*
Lisina	4,98	6,04	5,51	3,22	6,46	5,80
Metionina	1,31	2,13	1,72	0,99	2,23	2,13
Met + Cis	2,10	3,59	2,85	1,72	3,64	3,11
Treonina	2,48	3,51	3,00	2,10	4,35	3,00
Triptofano	0,49	0,68	0,59	0,54	0,89	0,27
Arginina	4,87	5,83	5,35	3,36	3,53	3,72
Valina	7,82	9,15	8,49	7,56	10,40	2,65
Isoleucina	2,26	3,86	3,06	2,15	4,07	2,54
Leucina	9,95	11,63	10,79	9,12	12,75	5,03
Histidina	3,65	2,31	2,98	1,51	2,98	1,31
Fenilalanina	2,57	3,94	3,26	2,42	3,86	2,69
Fen + Tir	4,20	6,88	5,54	3,94	5,47	4,79

\*MEYER, FRACALOSSO, 2005

Fonte: O autor

#### 4.2 ENSAIO DE DESEMPENHO

Os melhores resultados ( $P < 0,05$ ) de peso final, ganho de peso, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica foram obtidas com as dietas FMS+FMI e FSVI. A dieta FSVI também foi a mais consumida ( $P < 0,05$ ) pelos animais. A dieta FMI foi a que proporcionou os piores ( $P < 0,05$ ) resultados de consumo. A pior conversão alimentar foi obtida para a dieta FMS. A sobrevivência não diferiu ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos (Tabela 6).

**TABELA 6** - Desempenho de juvenis de jundiá alimentados com diferentes tipos de hidrolisados após 56 dias de experimentos

	FMS	FMI	FMS + FMI	FSVN	FSVI	CV (%)
Peso final (g)	1,95±0,37b	1,95±0,19b	2,79±0,46a	2,12±0,46b	3,23±0,76a	28,47
GP (g)	1,16±0,21b	1,17±0,29b	2,03±0,28a	1,36±0,35b	2,47±0,60a	38,71
Consumo (g)	2,63±0,16b	2,09±0,27c	2,31±0,11bc	2,53±0,45bc	3,28±0,43a	19,49
CA	2,31±0,34c	1,85±0,36b	1,16±0,16a	1,94±0,44bc	1,37±0,21a	29,7
TEP	2,98±0,54b	2,99±0,74b	5,19±0,73a	3,48±0,90b	6,33±1,55a	38,71
Sobrev. (%)	97,5±5,59a	95,0±11,1a	100,0±0,0a	100,0±0,0a	100,0±0,0a	8,28

GP - ganho de peso; TCE - taxa de crescimento específico; CA - conversão alimentar; TEP - taxa de eficiência proteica; FC - fator de condição; FSM – fração solúvel de músculo; FIM – fração insolúvel de músculo; FSVN – fração solúvel víscera natural; FSVI – fração solúvel víscera industrial. Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ).

Fonte: O autor.

#### 4.3 ÍNDICES ORGANOMÉTRICOS E COMPOSIÇÃO CORPORAL

Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre os peixes alimentados com as diferentes dietas para os índices organométricos e para a composição corporal.

**TABELA 7** - Índices organométricos e composição corporal de juvenis de jundiá alimentados com diferentes tipos de hidrolisados após 56 dias de experimento.

	FMS	FMI	FMS + FMI	FSVN	FSVI	CV (%)
IHS (%)	0,81±0,10a	0,70±0,29a	0,91±0,24a	0,83±0,90a	0,92±0,23a	14,61
IGVS (%)	0,29±0,16a	0,26±0,09a	0,19±0,05a	0,14±0,09a	0,17±0,04a	31,04
Matéria seca (%)	22,80±3,51a	22,15±0,90a	19,97±2,13a	20,66±1,33a	19,94±0,70a	5,04
Proteína (%)	11,81±0,89a	12,52±0,50a	12,57±0,96a	12,75±0,74a	12,84±0,91a	3,44
Gordura (%)	1,40±0,46a	1,35±0,12a	1,85±1,01a	2,49±0,34a	2,19±0,65a	16,9

IHS - índice hepatossomático; IGVS - índice gorduroviscerossomático; FSM – fração solúvel de músculo; FIM – fração insolúvel de músculo; FSVN – fração solúvel víscera natural; FSVI – fração solúvel víscera industrial.

Fonte: O autor.

#### 4.4 EXCREÇÃO DE AMÔNIA

O fornecimento de dietas contendo diferentes tipos de hidrolisados não interferiu ( $P>0,05$ ) na excreção de amônia dos juvenis de jundiá. Os valores medidos foram de  $0,084\pm 0,092$  mg/L de amônia total.

## 5 DISCUSSÃO

Ao avaliar os dados obtidos, verificou-se que alguns tratamentos contendo a combinação das frações solúveis e insolúveis do hidrolisado de músculo, e a fração solúvel da víscera industrial obtiveram um resultado mais significativo de desempenho quando comparado aos demais, merecendo uma reflexão mais profunda sobre os reais motivos que levaram a obtenção destes dados.

O fornecimento das frações solúvel e insolúvel do hidrolisado de músculo de forma combinada melhorou o crescimento e a conversão alimentar dos peixes. A combinação das duas frações potencializa o valor nutricional da dieta, pois o fracionamento por filtração não somente resulta na separação de aminoácidos e peptídeos entre as frações solúvel e insolúvel, como também na separação dos nutrientes oriundos da matéria-prima. A fração solúvel dos hidrolisados de pescado normalmente é rica em taurina, potássio, magnésio, vitaminas do complexo B e aminas biogênicas, enquanto a fração insolúvel possui uma maior concentração de quase todos os aminoácidos, com exceção apenas da taurina (LIASET; ESPE, 2008). Além disso, a combinação de diferentes tipos de peptídeos e aminoácidos pode melhorar a absorção da proteína da dieta, pois ocorre menos competição pelas vias de absorção. Quando um par de aminoácidos ou de peptídeos depende do mesmo transportador para serem absorvidos, este pode ficar saturado, limitando a absorção dos nutrientes (BALDISSEROTTO, 2009).

Outros autores já mostraram que os hidrolisados não devem ser a única fonte de proteína e os melhores resultados de desempenho são obtidos com a combinação de proteínas intactas e diferentes tipos de hidrolisados (CARVALHO et al., 1997). A mistura de proteínas intactas da farinha de peixe com hidrolisados de diferentes origens foi eficiente para aumentar o crescimento de salmão do Atlântico (REFSTIE; OLLI; STANDAL, 2004) e linguado japonês (ZHENG et al., 2012). Segundo Aksnes et al. (2006a; 2006b), que verificou que a substituição parcial da proteína intacta vegetal por hidrolisados proteicos de pescado melhora o crescimento e a eficiência alimentar de truta arco-íris e bacalhau do Atlântico, levanta a hipótese de que alguns dos pequenos peptídeos tem um papel essencial para o desenvolvimento biológico.

A dieta contendo a fração solúvel de víscera industrial em alta concentração proporcionou bons resultados de desempenho, semelhantes aos obtidos através da administração da fração solúvel e insolúvel de músculo quando foram combinadas. Esta melhora no desempenho pode ser atribuída a dois motivos principais: uma melhora na palatabilidade e

ao melhor balanço de aminoácidos. O hidrolisado de víscera industrial possui um grau de hidrólise muito elevado (54%) e foi a dieta mais consumida. A alta palatabilidade da dieta com elevado grau de hidrólise tem sido sugerido como um dos efeitos de promoção de crescimento de hidrolisados proteicos (HEVROY et al., 2005; REFSTIE; OLLI; STANDAL, 2004). Quanto maior o grau de hidrólise, maior proporção de proteínas solúveis de baixo peso molecular, o que pode ter favorecido a detecção pelo sistema gustativo dos peixes, que são altamente sensíveis a substâncias solúveis dissolvidas na água (MARUI; CAPRIO, 1992; HALVER; HARDY, 2002), gerando assim um maior consumo de ração (HEVROY et al., 2005). Em relação ao balanço de aminoácidos, verificou-se que o tratamento ao qual utilizou-se a fração solúvel da víscera industrial atingiu todas as exigências de aminoácidos do jundiá. Na víscera industrial houve tempo para a ação enzimas endógenas presentes no trato digestório (BALDISSEROTTO, 2009), pois elas foram removidas dos peixes por sucção e encaminhadas para um container no exterior da indústria, e a exposição destas vísceras já bastante fragmentadas à temperatura ambiente, pode ter contribuído para uma maior liberação de aminoácidos para a fração solúvel. Segundo Klompong et al.(2009), a composição de aminoácidos e peptídeos de um hidrolisado varia de acordo com as enzimas e condições do processo de hidrólise, como temperatura e tempo de hidrólise.

A fração solúvel de músculo e a fração solúvel de víscera natural proporcionaram um menor ganho de peso e conversão alimentar para os peixes, mesmo seu consumo sendo equivalente aos demais tratamentos. O efeito positivo das frações solúveis dos hidrolisados sobre o desempenho dos peixes já está descrito na literatura (AKSNES et al., 2006a; ESPE et al., 1999; HEVROY et al., 2005). Mas por outro lado, Gossen et al., (2014) relata que níveis elevados (>15%) de inclusão de hidrolisados solúveis na dieta diminuem a estabilidade da ração e podem comprometer os resultados de conversão alimentar. Realmente, a dieta contendo 24% de hidrolisado solúvel de músculo foi a que teve a pior conversão alimentar. Entretanto, no presente estudo o alto nível de inclusão (33%) do hidrolisado de vísceras solúvel com elevado grau de hidrólise (>60%) não impediu que bons resultados de conversão alimentar fossem obtidos. De fato, a solubilidade da dieta não é a única explicação, pois as dietas contendo os hidrolisados solúveis de músculo e víscera natural eram deficientes em alguns aminoácidos essenciais (lisina, metionina e treonina) para o jundiá (MEYER; FRACALLOSSI, 2005). Este fato pode ser explicado pelo fato de que há cinco aminoácidos hidrofóbicos (isoleucina, valina, leucina, fenilalanina e metionina) constituindo regiões

nas proteínas nomeadas de hidrófobas, ao qual o acesso pela enzima é limitado (CHOTHIA, 1974;1975). Como o processo de hidrólise enzimática depende de interações físicas entre o substrato e a enzima, estas regiões não são hidrolisadas, assim havendo a liberação dos aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos presentes nestas (CHOTHIA, 1974;1975).

A fração insolúvel do hidrolisado de músculo também não proporcionou bons resultados de desempenho. É constituída de peptídeos com maior peso molecular, que ficaram retidos durante o processo de filtragem, resultando em um menor grau de hidrólise. Neste sentido, não foram observados os mesmos efeitos sobre o consumo, que foram observados sobre as outras dietas. Mas é importante salientar que a fração insolúvel proporcionou um balanço de aminoácidos suficiente para atingir as exigências do jundiá

No atual estudo, a composição corporal dos juvenis de jundiá não foi afetada pela utilização de diferentes tipos de hidrolisados de sardinha nas dietas. Mesmo nas dietas que não proporcionaram um desempenho ótimo, a composição corporal não foi afetada, indicando que não houve alterações metabólicas suficientes para influenciar na deposição de músculo e gordura. O mesmo resultado já foi observado por Oliva-Teles; Cerqueira; Gonçalves (1999) e Bui et al. (2014), quando não observaram diferenças na composição centesimal das carcaças dos animais ao qual tiveram a inclusão de hidrolisados proteicos de pescado na alimentação destes.

Em relação às análises de amônia, o fato dos animais utilizados no experimento serem pequenos foi positivo, pois os peixes tiveram um crescimento satisfatório, mas por outro lado, resultou em baixos valores de amônia total, impedindo a detecção de diferenças na avaliação metabólica entre os tratamentos.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados mostram que a separação das frações solúveis e insolúveis não é necessária, ou mesmo recomendada, quando o objetivo é utilizar o hidrolisado como ingrediente na alimentação de peixes. Os melhores resultados de desempenho são obtidos com hidrolisados brutos, que combinam os benefícios das duas frações. O grau de hidrólise tem efeito direto sobre o consumo de ração. Além disso, foi demonstrado que os hidrolisados solúveis podem ser utilizados em níveis elevados de inclusão, desde que os nutrientes das dietas sejam adequadamente balanceados.



## REFERÊNCIAS

- ADLER-NISSEN, J. Enzymic hydrolysis of food proteins. **Elsevier Applied Science Publishers**. 1986. p 110-169.
- AKSNES, A.; HOPE, B.; HØSTMARK, Ø; ALBREKTSEN, S. Inclusion of size fractionated fish hydrolysate in high plant protein diets for Atlantic cod, *Gadus morhua*. **Aquaculture**, v. 261, p. 1102–1110, 2006a.
- AKSNES, A.; HOPE, B.; JÖNSSON, E.; BJÖRNSSON, B. T.; ALBREKTSEN, S. Size-fractionated fish hydrolysate as feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed high plant protein diets. I: growth, growth regulation and feed utilization. **Aquaculture**, v. 261, p. 305–317, 2006b.
- ANDRADE, H. A. **A produção da pesca industrial em Santa Catarina**. Notas Técnicas da Faculdade de Ciências do Mar. 1998.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Association Official Methods of Analysis**. 16. ed. Arlington: AOAC, 1995.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Universidade Federal de Santa Maria. 2.ed. 2009. 350p.
- BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ, J. N. **Criação de Jundiá**. Ed. UFSM, Santa Maria, 2004.
- BALDISSEROTTO, B; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2. ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2013. v. 1. 606p.
- BARRETT, A. J. Classification of peptidases. **Meth Enzymol**, California. v. 244, p. 1-15, 1994.
- BATISTA, I., GONÇALVES, A. A. **Hidrolisado proteico de pescado. Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. 1ed. São Paulo: Atheneu, 2011, p.181-190.

BERGE, G. M.; STOREBAKKEN, T. Fish protein hydrolyzate in starter diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. **Aquaculture**. 205-212, 1998.

BOUDRY, G.; et al. Weaning induces both transient and long-lasting modifications of absorptive, secretory, and barrier properties of piglets intestine. **Journal of Nutrition**, v.134, n.9, p.2256-2262, 2004.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Consumo de pescado no Brasil aumenta 23,7% em dois anos**. 2013. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/imprensa/noticias/2226-consumo-de-pescado-no-brasil-aumenta-237-em-dois-anos>>. Acesso em: 18 out. 2014.

BUI, H. T. D. *et al.* Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. **Aquaculture**. p.11-16. jan. 2014.

CARVALHO, A. P.; ESCAFFRE, A. M.; OLIVA-TELES, A.; BERGOT, P. First feeding of common carp larvae on diets with high levels of protein hydrolysates. **Aquaculture International**, v. 5, p. 361-367, 1997.

CHOTHIA C. Hydrophobic bonding and accessible surface-area in proteins. **Nature**, v. 248, p. 338-9, 1974.

CHOTHIA C. Structural invariants in protein folding. **Nature**, v. 254, p. 304-8, 1975.

DINIZ, F. M.; MARTINS, A. M. **Hidrolisado protéico de pescado** In: OGAWA, M. & MAIA, E. L. Manual de Pesca. São Paulo: Varela, 1999.

ESPE, M., et al. (1999) Nutrient absorption and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed fish protein concentrate. **Aquaculture**, v.174, p. 119-137, 1999.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The state of world fisheries and aquaculture 2012**. Rome: FAO, 2012. 209p.

FRIEDMAN, M. Nutritional value of proteins from different food sources: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D C, v. 44, n. 1, p. 6-29, 1996.

FURLAN, E. F.; OETTERER, M. Hidrolisado protéico de pescado. **Revista de Ciência & Tecnologia**, v. 10, n. 19, p. 79-89, 2002.

GOBBETTI, M.; MINERVINI, F.; RIZZELLO, C. Angiotensin I-converting-enzyme- inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. **International Journal of Dairy technology**, Wiley Online Library, v. 57, p. 173-188, 2004.

GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI J.I.; GOMES, A. R. C.. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). (Revisão bibliográfica). **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, 2000.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. São Paulo: Ateneu, 2011. 608 p.

HALLDORSDDOTTIR, S. M.; SVEINSDOTTIR, H.; FREYSDOTTIR, J.; KRISTINSSON, H. G. Oxidative processes during enzymatic hydrolysis of cod protein and their influence on antioxidant and immunomodulating ability. **Food Chemistry**, v. 142, n.0, p. 201-209, 2014.

HALVER, J. E.; HARDY, R. W. **Fish Nutrition**. 3rd version. Elsevier Science, San Diego, USA. 2002. 839 p.

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

HORWITZ, W. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16. ed. Gaithersburg: AOAC, 1997.

HSU, K. Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product. **Food Chemistry**, v.122, p. 42–48, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). **Estatística da Pesca 2007 Brasil**: Grandes regiões e unidades de Federação. Brasília: 2007.

JACOBSEN, C. F.; LÉONIS, J.; LINDERSTRØM-LANG, K.; OTTESEN, M. The pH-stat and its use in biochemistry. **Meth Biochem Anal.**, v.4, p. 171-210, 1957.

JONES, K. A. The palatability of amino acids and related compounds to rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. **J. Fish Biol.**, v., 34, p. 149-160, 1989.

KLOMPONG, V.; BENJAKUL, S.; YACHAI, M.; VISESSANGUAN, W.; SHAHIDI, F.; HAYES, K. D. Amino acid composition and antioxidative peptides from protein hydrolysates of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*). **J. Food Sci.**,v. 74, p. C126–C133, 2009.

KRISTINSSON, H. G.; RASCO, B. A. Fish protein hydrolysates: production, biochemical and functional properties. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 40, p. 43–81, 2000.

KUROZAWA, L. E.; PARK, K. J.; HUBINGER, M. D. Influência das condições de processo na cinética de hidrólise enzimática de carne de frango. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 3, 2009.

LIASET, B., ESPE, M. Nutritional composition of soluble and insoluble fractions obtained by enzymatic hydrolysis of fish-raw materials. **Process Biochem.**, v. 43, n. 1, p. 42–48, 2008.

LIASET, B.; JULSHAMN, K; ESPE, M. Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fractions from enzymic hydrolysis of salmon frames with Protamex(TM). **Process Biochem**,v. 38, p. 1747–59, 2003.

LOWRY, O. H.; ROSENBROUGH, N. J.; FARR, A. L. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, Maryland, v.. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

MARUI, T.; CAPRIO, J. Teleost gustation. **Fish chemoreception**. Ed.T.J Hara, London, p.171-198, 1992.

- MEYER, G.; FRACALOSSO, D. M. Estimation of jundia (*Rhamdia quelen*) dietary amino acid requirements based on muscle amino acid composition. **Sci. Agr.**, v. 62, p. 401-405, 2005.
- NASCIMENTO, J. H. P.; VERRESCHI, D. C.; JESUS, R. S. Hidrolisado Protéico de peixe em Dietas para Alevinos de Surubim, *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829). **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 2, n. 2, p.1-6, jan. 2008.
- NETO, F. M. O. & , A. GRUMANN. **Cadeias Produtivas**. Programa: Aqüicultura e Pesca. EPAGRI. 1995.64 pp.
- NIELSEN, P.M.; PETERSEN, D.; DAMBMANN, C. Improved Method for Determining Food Protein Degree of Hydrolysis. **Journal of Food Science**, v. 66, n.5, 642-646, 2001.
- OETTERER, M. **Tecnologia do pescado**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2001.
- OETTERER, M.; GALVÃO, J. A. **Rastreabilidade da cadeia produtiva de pescado cultivado – tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. Projeto MCT/FINEP, Aqüicultura – Ação transversal 12/2005. Brasília, 2005. 22p.
- OLIVA-TELES, A.; CERQUEIRA, A. L.; GONÇALVES, P. The utilization of diets containing high levels of fish protein hydrolysate by turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. **Aquaculture**, v. 179, p. 195-201, 1999.
- PANYAM, D.; KILARA, A. Enchanting the functionality of food proteins by enzymatic modification. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 7, n.4, p. 120-125, 1996.
- PESSATTI, M. L. Aproveitamento dos sub-produtos do pescado. Itajaí: **MAPA/UNIVALI**, p. 130, 2001.
- RAJALINGAM, D.; LOFTIS, C.; XU, J. J.; KUMAR, T. K. S. Trichloroacetic acid-induced protein precipitation involves the reversible association of a stable partially structured intermediate. **Protein Science**, v. 18, p. 980-983, 2009.

RAO, M. B; TANKASALE, A. M; GHATGE, M. S. Deshpande VV. Molecular and biotechnological aspects of microbial peptidases. **Microbiol. Mol Biol. Rv.**, v. 62, p. 597-635, 1998.

REFSTIE, S.; OLLI, J. J.; STANDAL, H. Feed intake, growth, and protein utilization by postsmolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. **Aquaculture**, v. 239, p. 331–349, 2004.

ROCHA, C. M. C; RESENDE, E. K.; ROUTLEDGE, E. A. B.; LUNDSTEDT, L. M. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. **Pesq. agropec. bras.**, v. 48, n. 8, p. IV-VI, 2013.

SCHUSTER, R. Determination of amino acids in biological, pharmaceutical, plant and food samples by automated precolumn derivatization and high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 431, p. 271-284, 1988.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações.** São Paulo: Editora-Livraria Varela, v. 517, p. 139-157, 1996.

SHAHIDI, F, H.;, SYNOWIECK, J. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). **Food Chemical**,v. 53, p. 285–93, 1995.

SLIZYTE R., et al. Yield and composition of different fractions obtained after enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products, **Process Biochem.**, v. 40, p. 1415-1424, 2015.

SOARES, N.B. **Obtenção de hidrolisado proteico de torta de soja e avaliação de sua atividade antimicrobiana.** 2013. 89f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2013

SPILLERE, L. C.; BEAUMORD, A. C. Formulação de uma hipótese global de situação de impacto para o parque industrial pesqueiro instalado em Itajaí e Navegantes - SC. **Eng. Sanit. Ambient. [online]**, v. 11, n. 4, p. 380-384, 2006. ISSN 1413-4152. <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522006000400011>>. Acesso em 03 fev. 2015>

STORI, F. T.; BONILHA, L. E. C.; PESSATTI, M. L. **Proposta de aproveitamento dos resíduos das indústrias de beneficiamento de pescado de Santa Catarina com base num sistema gerencial de bolsa de resíduos.** In: Instituto Ethos de Empresas e Responsabilidade Social. **Jornal Valor Econômico.** Responsabilidade social das empresas. São Paulo, p. 373-406, 2002.

UNIVALI/CTTMar, 2011. **Boletim estatístico da pesca industrial de Santa Catarina – Ano 2010.** Universidade do Vale do Itajaí, Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar, Itajaí, SC. Volume 10, número 1, 59 p.

VIOQUE, J.; CLEMENTE, A.; PEDROCHE, J.; YUST, M.; MILLÁN, F. Obtention and uses of protein hydrolysates. **Grasas y aceites**, v. 52, n. 2, p. 132-136, 2001.

WISUTHIPHAET, N.; KONGRUANG, S.; CHAMCHEUN, C. Production of Fish Protein Hydrolysates by Acid and Enzymatic Hydrolysis. **Journal of Medical and Bioengineering**, p. 466-470, 2015. Disponível em: <  
<http://www.jomb.org/uploadfile/2015/0428/20150428025445602.pdf>> .  
Acesso em: 06.05.15

ZAMBOM, M. A.; SANTOS, G. T. ;MODESTO E.C. Importância das gorduras poli-insaturadas da saúde humana. **Revista - Sociedade Brasileira de Zootecnia**, p.547-553. 2004.

ZHENG, K., et al. Effect of dietary fish protein hydrolysate on growth, feed utilization and IGF-I level of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquac. Nutr.**, v. 18, p. 297–303, 2012.