



**UDESC**

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**HIDROLISADO DE FARELO DE SOJA E  
DE VÍSCERAS DE SARDINHA PARA  
POEDEIRAS SEMIPESADAS**

JAQUELINE KUNHEN MAYER

LAGES, 2017

**JAQUELINE KUNHEN MAYER**

**HIDROLISADO DE FARELO DE SOJA E DE VÍSCERAS DE SARDINHA PARA  
POEDEIRAS SEMIPESADAS**

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

Orientador: Prof. Dr. Clóvis Eliseu Gewehr

**LAGES, SC  
2017**

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com  
auxílio do programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

Kunhen Mayer, Jaqueline  
Hidrolisado de farelo de soja e de vísceras de  
sardinha para poedeiras semipesadas / Jaqueline  
Kunhen Mayer. - Lages , 2017.  
60 p.

Orientador: Clóvis Eliseu Gewehr  
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado  
de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Animal, Lages, 2017.

1. Energia metabolizável. 2. hidrólise. 3.  
prebiótico. I. Eliseu Gewehr, Clóvis. II.  
Universidade do Estado de Santa Catarina.  
Programa de Pós-Graduação. III. Título.

JAQUELINE KUNHEN MAYER

HIDROLISADO DE FARELO DE SOJA E DE VÍSCERAS DE SARDINHA PARA  
POEDEIRAS SEMIPESADAS

Dissertação apresentada à coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Banca examinadora:

Orientador:



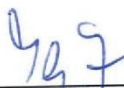
Prof. Dr. Clóvis Eliseu Gewehr  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro:



Prof. Dr. Fabiano Dahlke  
Universidade Federal de Santa Catarina

Membro:



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

Lages, SC, 23 de Fevereiro de 2017.

À minha família, dedico!

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por todas as oportunidades de crescimento ao longo desse período e pelas pessoas maravilhosas que colocaste em meu caminho.

Aos meus pais Wilmar Mayer e Stela Kuhnen Mayer, minha irmã Josiane Kuhnen Mayer e ao meu cunhado Maurício Hames por todos os momentos.

Ao Leandro que durante todo esse período esteve ao meu lado, apesar da distância sempre me apoiando e me ajudando nas horas de necessidade.

Ao meu orientador professor Clóvis Eliseu Gewehr pela oportunidade de crescimento, confiança, orientação e dedicação.

Aos Profs. Henrique Ribeiro Filho – Laboratório de Nutrição Animal e Bromatologia, Luiz Claudio Miletto - Laboratório de Bioquímica de Hemoparasitas e Vetores e Thiago El Hadi Perez Fabregat – Setor de Piscicultura por disponibilizarem seus respectivos laboratórios e setores para a realização das análises e pelo apoio durante a execução do experimento.

Ao Prof. Marcos Luiz Pessatti do Laboratório de Bioquímica e Bromatologia da Universidade do Vale do Itajaí pelo apoio oferecido para a realização do experimento e colaboração com as análises.

Ao Prof. Diovani Paiano do Laboratório de Nutrição Animal – CEO/UDESC pelo treinamento oferecido para a utilização da bomba colorimétrica e pela disposição, mesmo longe, em sanar as dúvidas durante a realização das análises.

A Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – Epagri - Gerência Regional de Lages, Laboratório de Nutrição Animal, a colaboração e fornecimento de tempo e para a realização das análises de energia. Agradecimento especial para as funcionárias Ângela Fonseca Rech e Maria Cássia de Lourdes Colombo Alves.

Aos colegas mestrandos/doutorandos do Setor de Avicultura que não limitaram esforços para passar seus conhecimentos, auxiliando durante o período do experimento. Agradeço principalmente a Aline Félix Schneider e ao Flavio Manabu Yuri que estiveram presentes durante todos os momentos que precisei, pelos ensinamentos passados, pela paciência, pelo auxílio nas análises laboratoriais e

pelas conversas (muitas vezes relacionadas à astrologia, haha) e mates (não muito quente, claro) durante o tempo de espera entre uma análise e outra (que não foram poucos), pelos cafés e comilanças, com certeza não seria a mesma coisa sem vocês!! E aos demais integrantes do grupo, Amanda D'Ávila Verardi, Cleverson de Souza, Jonathan José Barbosa Jaimes e Paula Horácio Cesar.

Aos bolsistas e estagiários do Setor de Avicultura, Giovana Ghislandi, Helio Schlemper Neto, Karoline Campos, Leonardo Hasckel, Lucas Daiprai, Mainara Oliveira e Vanessa Mattei que de alguma forma contribuíram durante o mestrado. Desejo a todos muito sucesso!

A Ana Carolina Lovatel e Gustavo Ferreira de Oliveira que me ensinaram o verdadeiro significado da palavra amizade! E que foram minha segunda família durante esse período, com certeza não poderia ter encontrado pessoas melhores para dividir os momentos “família” aqui em Lages. Os almoços de domingo e os filmes muito legais (haha) não serão mais os mesmos!

Agradeço ainda a Cynthia Akemi, Diego Roters, Gustavo Modolon e Sabrina Sgarbi que de alguma forma se fizeram presentes durante minha passagem por Lages.

A Universidade do Estado de Santa Catarina e ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Centro Nacional de Pesquisa Científica (CNPq) pela concessão da bolsa.

Por fim agradeço a todos que me ajudaram a concluir mais essa etapa, de forma direta ou indireta.

**Obrigada!**

“É proibido chorar sem aprender,  
Levantar-se um dia sem saber o que fazer  
Ter medo de suas lembranças.

É proibido não rir dos problemas  
Não lutar pelo que se quer,  
Abandonar tudo por medo, [...]

[...] É proibido sentir saudades de alguém sem se alegrar,  
Esquecer seus olhos, seu sorriso,  
Só porque seus caminhos se desconstruíram, [...]

(É proibido – Alfredo Cuervo Barreto)



## RESUMO

MAYER, Jaqueline Kunhen. **HIDROLISADO DE FARELO DE SOJA E DE VÍSCERAS DE SARDINHA PARA POEDEIRAS SEMIPESADAS**. 2017. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Área: Produção Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2017.

O processo de hidrólise consiste na quebra da proteína em aminoácidos livres e pequenos peptídeos, podendo ser obtido pela utilização de enzimas, melhorando assim o valor nutricional e as propriedades funcionais das proteínas, alguns peptídeos oriundos da hidrólise possuem funções bioativas. Objetivou-se analisar o perfil bromatológico e determinar a energia metabolizável do HFS e HVS utilizados na dieta de poedeiras comerciais. Foram utilizadas 48 poedeiras semipesadas da linhagem Hy-Line Brown, com 64 semanas de idade distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições de duas aves cada. Os tratamentos consistiram de ração referência (RR) a base de milho e farelo de soja e quatro rações teste (RR com dois níveis de substituição de HFS 20 e 40 % e RR com dois níveis de substituição de HVS 7 e 10 %). O período experimental foi composto de cinco dias para adaptação e quatro dias para coleta de excretas. No nono dia as aves foram sacrificadas por deslocamento cervical e procedeu-se a coleta do terço inicial do íleo para quantificação de *Lactobacillus* spp. e a mensuração do peso do fígado e pâncreas para cada repetição. Os dados foram comparados pelo teste Dunnett com nível de significância de 5 %. A análise bromatológica mostrou que o HFS possui 44,93 % de proteína bruta (PB) 4.403 Kcal/Kg de energia bruta (EB) e energia metabolizável aparente (EMA) de 2.506 Kcal/Kg já o HVS possui 34,55 % de PB, 5.850 Kcal/Kg de EB e EMA de 3.695 Kcal/Kg. Para a quantificação de *Lactobacillus* spp. não houve diferença ( $P>0,05$ ) para os níveis avaliados de HFS e HVS quando comparados com o controle. Para peso e índice de fígado, tanto o HVS quanto HFS apresentaram valores similares ( $P>0,05$ ) quando comparados ao controle. Já para peso e índice de pâncreas foi possível observar que para todos os níveis utilizados houve diferença para o controle ( $P<0,05$ ), sendo que para o HVS o índice (0,15 e 0,16 % para 7 e 10 %, respectivamente) e peso (3,21 e 3,20 g para 7 e 10 %, respectivamente) foram menores, já para o HFS esperava-se resultados similares aos encontrados para o HVS, porém tanto para peso (3,92 e 4,12 g para 20 e 40 %, respectivamente) quanto para índice (0,19 % para 20 e 40 %) o HFS foi superior ao controle (3,76 g e 0,17 % para peso e índice, respectivamente) ( $P<0,05$ ). O HFS bem como o HVS possuem qualidade nutricional e energética que possibilitam sua utilização como fonte alimentícia nas dietas de poedeiras comerciais sem afetar o índice de fígado, porém elevando o índice de pâncreas para os níveis estudados. Não alteram a quantificação de *Lactobacillus* spp., não podendo ser considerados um alimento prebiótico nas presentes condições de estudo.

**Palavras-chave:** Energia metabolizável, hidrólise, prebiótico.



## ABSTRACT

MAYER, Jaqueline Kunhen. **HYDROLYSATES OF SOY MEAL AND SARDINE GUTS FOR LAYING HENS**. 2017. 60 f. Dissertation (MSc in Animal Science - Area: Animal Production) - Santa Catarina State University. Postgraduate Program in Animal Science, Lages, 2017.

The hydrolysis process consists in the breakdown of the protein in free amino acids and small peptides. This can increase nutritional values and improve functional properties of the proteins. Some peptides generated from hydrolysis have bioactive functions. There are few studies about the utilization of soy meal hydrolysate (SMH) and sardine guts hydrolysate (SGH) in the feed of hens. The objective of this study is to evaluate the bromatological composition and metabolizable energy amount of SMH and SGV utilized in the diets of commercial egg-laying hens. Forty-eight semi-heavy layers hens (Hy-Line Brown; 64 weeks old) were distributed in a completely randomized design with five treatments and five repeats: control ration (CR), which was composed by corn and soy meal; CR + 20 % SMH; CR + 40 % SMH; CR + 7 % SGH; and CR + 10 % SGH. The experiment was conducted in nine days: five days for adaptation of the feed and four days for the stool collection. On the ninth day, all hens were sacrificed by cervical dislocation and the initial part of the ileum was collected to quantify the amount of *Lactobacillus* spp. The weight and the yield of the liver and pancreas was evaluated for each repeat. The results were submitted to analysis of variance and those items that showed statistical difference were compared by the Dunnett test with a 5 % significance. The bromatological composition of SMH exhibited 44.93 % of crude protein (CP), 4,403 kcal/kg of gross energy (GE), and 2,506 kcal/kg of apparent metabolizable energy (ME). For SGH were found 34.55 % CP, 5.850 kcal/kg GE, and 3,695 kcal/kg ME. There was no statistical difference ( $P>0,05$ ) between the values of *Lactobacillus* spp found in the treatments with different levels of SMH and SGH when compared to hens fed with the CR. There was no statistical difference ( $P>0,05$ ) between weight and yield of the liver in the treatments with different levels of SMH and SGH when compared to CR. However, for the weight and yield of the pancreas, it was possible to observe that for all the levels tested there was statistical difference from the control ( $P<0.05$ ). The yield of the pancreas from hens fed with SGH was 0,15 and 0,16 % for 7 and 10 %, respectively. The weight was 3,21 g and 3,20g for 7 and 10 %, respectively. Both measures were lower compared to the CR (0.17 % and 3.76 g). On the other hand, the values found for SMH were higher than CR (3.92 and 4.12 g for 20 and 40 %, respectively; and 0,19 % to 20 and 40 %) ( $P<0.05$ ). Both ingredients (SMH and SGH) have great nutritional quality and can be included in the feed of commercial-laying hens without compromising the health of the liver and pancreas. Nonetheless, the ingredients tested cannot be used as prebiotic food, as it didn't change the amount of *Lactobacillus* spp in all levels studied.

**Keywords:** Metabolizable energy, hydrolysis, prebiotic.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma de produção de hidrolisado proteico.....	21
Figura 2 - Produção do hidrolisado de farelo de soja .....	28
Figura 3 - Determinação do grau de hidrólise.....	29
Figura 4 - A) Sala de metabolismo; B) gaiolas metabólicas.....	31
Figura 5 - Coleta total de excretas.....	33
Figura 6 - Terço inicial do íleo coletado para a quantificação de <i>Lactobacillus</i> spp..	34
Figura 7 - A) Pesagem do fígado; B) Pesagem do pâncreas.....	35

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição nutricional e calculada da ração referência utilizada no experimento .....	32
Tabela 2 - Composição química do hidrolisado de farelo de soja (HFS) e de vísceras de sardinha (HVS) <sup>a</sup> .....	36
Tabela 3 - Energia metabolizável aparente (EMA), EMA corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) e coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), da energia bruta (CDEB) e da proteína bruta (CDPB) de dietas contendo hidrolisado de farelo de soja (HFS) e hidrolisado de vísceras de sardinha (HVS).....	37
Tabela 4 – Grau de hidrólise (GH) do hidrolisado de farelo de soja (HFS) e de vísceras de sardinha (HVS). .....	38
Tabela 5 - Quantificação de Lactobacillus spp. na digesta de aves que receberam hidrolisados de farelo de soja (HFS) e de vísceras de sardinha (HVS) na dieta. ....	39
Tabela 6 - Peso (g) e índice (%) de fígado de aves que receberam hidrolisados de farelo de soja (HFS) e de vísceras de sardinha (HVS) na dieta. ....	40
Tabela 7 - Peso (g) e índice (%) de pâncreas de aves que receberam hidrolisados de farelo de soja (HFS) e de vísceras de sardinha (HVS) na dieta. ....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Microgramas
µL	Microlitros
Ca	Cálcio
CDEB	Coeficiente de digestibilidade da energia bruta
CDMS	Coeficiente de digestibilidade da matéria seca
CDPB	Coeficiente de digestibilidade da proteína bruta
EB	Energia bruta
ED	Energia digestível
EE	Extrato etéreo
EL	Energia líquida
EM	Energia metabolizável
EMA	Energia metabolizável aparente
EMAn	Energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio
EMV	Energia metabolizável verdadeira
EMVn	Energia metabolizável verdadeira corrigida para o balanço de nitrogênio
FB	Fibra bruta
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
g	Gramas
GH	Grau de hidrólise
h	Horas
HFS	Hidrolisado de farelo de soja
HVS	Hidrolisado de vísceras de sardinha
IC	Incremento calórico
Kcal/Kg	Quilocalorias por quilograma
Kg	Quilogramas
m	Metros
min	Minutos
mL	Mililitros
MM	Matéria mineral
MS	Matéria seca
nm	Nanômetros
P	Fósforo
PB	Proteína bruta
pH	Potencial hidrogeniônico
PHS	Proteína hidrolisada de soja
UFC/g	Unidades formadoras de colônias por gramas de fezes

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
1.1	JUSTIFICATIVA E FORMULAÇÃO DO PROBLEMA.....	17
1.2	OBJETIVOS .....	18
<b>1.2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>18</b>
<b>1.2.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>19</b>
2.1	HIDRÓLISE DE PROTEÍNAS.....	19
<b>2.1.1</b>	<b>Processo de hidrólise</b> .....	<b>19</b>
2.1.1.1	<i>Hidrólise ácida</i> .....	20
2.1.1.2	<i>Hidrólise alcalina</i> .....	20
2.1.1.3	<i>Hidrólise enzimática</i> .....	20
2.1.1.3.1	Enzimas.....	21
2.1.1.3.2	Relação enzima:substrato .....	22
2.1.1.3.3	Potencial hidrogeniônico (pH) e temperatura .....	22
2.1.1.3.4	Grau de hidrólise .....	23
<b>2.1.2</b>	<b>Hidrolisado de farelo de soja</b> .....	<b>24</b>
<b>2.1.3</b>	<b>Hidrolisado de vísceras de sardinha</b> .....	<b>25</b>
2.2	ENERGIA DOS ALIMENTOS .....	26
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>28</b>
3.1	PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROLISADOS.....	28
<b>3.1.1</b>	<b>Produção do hidrolisado de farelo de soja</b> .....	<b>28</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Produção do hidrolisado de vísceras de sardinha</b> .....	<b>29</b>
<b>3.1.3</b>	<b>Determinação do grau de hidrólise (GH) dos hidrolisados</b> .....	<b>29</b>
<b>3.1.4</b>	<b>Análise bromatológica dos hidrolisados</b> .....	<b>30</b>
3.2	LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO .....	30
3.3	RAÇÃO REFERÊNCIA E INGREDIENTES TESTES.....	31
3.4	CONDUÇÃO EXPERIMENTAL .....	32
<b>3.4.1</b>	<b>Variáveis analisadas</b> .....	<b>33</b>
3.4.1.1	<i>Valores energéticos dos ingredientes</i> .....	33
3.4.1.2	<i>Quantificação de Lactobacillus spp.</i> .....	34
3.4.1.3	<i>Índice de fígado e pâncreas</i> .....	35
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	35

<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>36</b>
4.1	COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ENERGÉTICA DOS INGREDIENTES.....	36
4.2	GRAU DE HIDRÓLISE .....	38
4.3	QUANTIFICAÇÃO DE <i>Lactobacillus</i> spp. ....	38
4.4	ÍNDICE DE FÍGADO E PÂNCREAS .....	40
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>43</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se mundialmente no setor agropecuário, sendo a avicultura uma das atividades de maior importância. Atualmente detém a posição de maior exportador e 2º maior produtor de carne de frango do mundo e a produção de ovos vêm crescendo a cada ano. Em 2015 o Brasil produziu mais de 39 bilhões de unidades com um consumo per capita de 191 unidades (ABPA, 2016).

Atualmente os ingredientes mais utilizados nas rações para poedeiras são o milho, como principal fonte energética e o farelo de soja, como fonte proteica, além da possibilidade da inclusão do óleo vegetal, como fonte adicional rica em energia. Sabe-se que em torno de 70 % dos gastos na produção são referentes à alimentação, isso faz com que se busquem novas alternativas que atendam às exigências nutricionais dos animais e que reduzam os custos de produção sem comprometer seu desempenho (VIEITES, 1999). Fontes alternativas de alimentos e subprodutos da indústria estão sendo buscadas para que sejam utilizadas na formulação de rações economicamente viáveis e eficientes, além de reduzir o impacto que possivelmente possam causar ao meio ambiente.

Os hidrolisados vêm se destacando no mercado, pois são produzidos a partir de resíduos industriais que ao invés de serem descartados, contaminando o meio ambiente podem ser utilizados na alimentação animal. Os mesmos possuem inúmeras características de qualidades que os tornam importantes na nutrição animal, sendo efetivos como substitutos do leite na alimentação de bezerros e suínos e como suplemento proteico em rações para peixes e animais domésticos (DINIZ; MARTIN 1999).

### 1.1 JUSTIFICATIVA E FORMULAÇÃO DO PROBLEMA

Os hidrolisados vêm ganhando destaque na alimentação animal, pois possuem alta qualidade nutricional, além de possuírem peptídeos com funções bioativas (BATISTA et al., 2010; CHEN et al., 1998; CHEN et al., 2004; HERMANNSDOTTIR et al., 2009; NAGAOKA et al., 1999; PEÑA-RAMOS; XIONG, 2002; WU; DING, 2001) as quais podem contribuir para o melhor desempenho das aves. Porém, poucos são os estudos sobre a utilização do hidrolisado de farelo de

soja e de vísceras de sardinha, na alimentação de aves. Com isso são necessários estudos para a determinação da energia metabolizável e avaliação proteica dos hidrolisados para as aves, para que assim possam ser formuladas dietas específicas e para realização de estudos futuros.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo geral

Analisar o perfil bromatológico, determinar a energia metabolizável e os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, da energia bruta e da proteína bruta de hidrolisado de farelo de soja e hidrolisado de vísceras de sardinha utilizados na nutrição de poedeiras comerciais.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

- a) Determinar a energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) dos hidrolisados de farelo de soja e de vísceras de sardinha na alimentação de poedeiras comerciais;
- b) Determinar os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), da energia bruta (CDEB) e da proteína bruta (CDPB) dos hidrolisados de farelo de soja e de vísceras de sardinha na alimentação de poedeiras comerciais;
- c) Quantificar *Lactobacillus* spp. na digesta de poedeiras comerciais que receberam hidrolisado de farelo de soja e de vísceras de sardinha na dieta.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 HIDRÓLISE DE PROTEÍNAS**

O termo hidrólise pode ser definido como o resultado da clivagem das ligações peptídicas das quais originam peptídeos de diferentes tamanhos e aminoácidos livres (CLEMENTE, 2000). Grimble et al. (1986) aponta como um dos principais critérios na caracterização de um hidrolisado para a utilização dietética o tamanho dos peptídeos, já que sabe-se que o comprimento da cadeia peptídica influencia diretamente na taxa de absorção.

Os hidrolisados proteicos apresentam inúmeras características de qualidades que os tornam importantes na nutrição animal, sendo efetivos como substitutos do leite na alimentação de bezerros e suínos e como suplemento proteico em rações para peixes e animais domésticos (DINIZ; MARTIN 1999). Alguns autores relatam que os hidrolisados proteicos também podem ser usados como fonte de nitrogênio para o crescimento de microorganismos de interesse comercial além de destacar-se como palatilizante de alimentos para animais monogástricos (GOLDHOR; REGENSTEIN, 1988).

#### **2.1.1 Processo de hidrólise**

O processo de hidrólise consiste na obtenção de aminoácidos livres e peptídeos de diversos tamanhos com composições pré-definidas os quais são nutricionalmente desejáveis, os produtos hidrolisados podem ser obtidos sinteticamente ou podem ser catalisados por ácidos, bases e enzimas (ADLER-NISSEN, 1979; LAHL; BRAUN, 1994; SILVA et al., 2014). Entretanto, os tratamentos ácidos e alcalinos oferecem diversas desvantagens, consequência de reações adversas, pela severidade das condições operacionais ou pela composição do produto final (MIRANDA, 2012). A hidrólise enzimática torna-se vantajosa, devido à especificidade da enzima com o substrato, controle do grau de hidrólise e condições moderadas de ação, além de proporcionar a liberação de peptídeos biologicamente ativos (ZAVAREZE et al. 2009).

### 2.1.1.1 *Hidrólise ácida*

A hidrólise ácida é utilizada industrialmente principalmente em produtos de origem vegetal, sua utilização é preferida devido ao custo relativamente baixo, à rapidez e à produção de sabor agradável (MACLEOD; SEYYDAIN-ARDEBILI, 1981). Os processos de hidrólise ácida podem ser realizados a partir de dois tipos de catalisadores: ácido diluído, com concentrações do ácido menores que 5 % (m/v), e ácido concentrado, com concentrações do ácido maiores que 5 % (m/v) (GURGEL, 2010).

No processo de hidrólise ácida com a utilização de ácido clorídrico (HCl) a neutralização do mesmo é feita com hidróxido de sódio (NaOH), porém esse processo acarreta em uma elevada produção de sal (NaCl) no produto final (VELÍZEK, 1991). Aaslyng et al. (1998) apontam que um hidrolisado resultante da utilização de ácidos tem em sua composição final cerca de 40 % de sal e 80 % do total de aminoácidos na forma livre, impossibilitando a utilização como fonte proteica em dietas.

### 2.1.1.2 *Hidrólise alcalina*

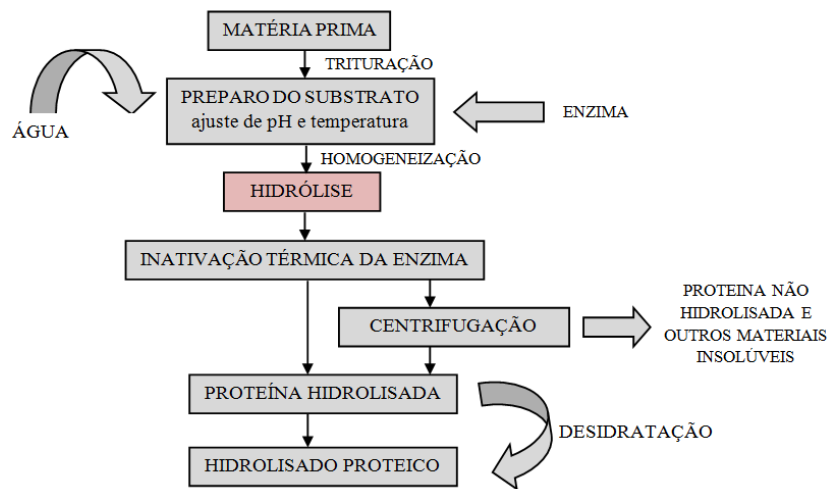
A hidrólise alcalina é um termo utilizado quando se utiliza um catalisador básico ou alcalino. Aaslyng et al. (1998) afirmam que a obtenção de hidrolisados por soluções básicas ou alcalinas podem causar alterações estruturais (recemização, destruição de aminoácidos e ligações cruzadas) assim reduzindo severamente o valor nutricional das proteínas podendo levar a uma possível toxicidade.

### 2.1.1.3 *Hidrólise enzimática*

A hidrólise enzimática por sua vez possui vantagens sobre os outros dois métodos, pois utiliza proteases específicas, conseguindo controlar o grau de hidrólise, as condições moderadas de ação, a formação mínima de subprodutos e o baixo conteúdo de sal no produto final (MANNHEIM; CHERYAN, 1992). Adler-Nissen (1979) relata que a hidrólise enzimática tem se destacado, pois proporciona melhoria das propriedades funcionais das proteínas, como solubilidade, poder emulsificante, textura, fazendo com que possa ser empregado em vários produtos alimentícios.

A utilização de enzimas específicas para a quebra das proteínas tem sido bastante empregada para a hidrólise de soja e outros vegetais, além de realizar a solubilização de concentrados de peixes, amaciamento de carnes, hidrólise de caseína, melhoria da textura de queijos, aumentando significativamente a qualidade e o valor nutritivo dos produtos (CHEFTEL et al., 1989). O fluxograma para a obtenção de hidrolisado proteico pode ser observado na Figura 1.

Figura 1 - Fluxograma de produção de hidrolisado



Fonte: Adaptado de Furlan; Oetterer (2002)

### 2.1.1.3.1 Enzimas

As enzimas possuem uma organização estrutural específica assim, o seu sítio ativo permite ligações apenas com seu substrato, trazendo grande especificidade para a catálise. As enzimas proteolíticas são utilizadas para a hidrólise de proteínas, não atuando sobre carboidratos ou lipídeos, dos quais necessitam de enzimas específicas (MARZZOCO; TORRES, 2007).

Estima-se que 60 % do total das enzimas industriais são proteases, amplamente empregadas na indústria de alimentos (HAARD, 1992). As enzimas proteolíticas podem ser classificadas como endo e exopeptidases. As endopeptidases são utilizadas normalmente em resíduos específicos e são utilizadas para hidrolisar as ligações peptídicas produzindo grandes peptídeos. Por outro lado, as exopeptidases atuam sobre o nitrogênio terminal dos aminoácidos formando

assim as aminopeptidases ou então atuam sobre o carbono terminal e produzem carboxipeptidases (TORRUCO-UCO et al., 2008).

O grau de especificidade vai variar de acordo com a enzima utilizada, a pepsina é uma enzima secretada no estômago sendo classificada como uma endopeptidase e tem a função de hidrolisar ligações peptídicas das quais participam grupos carboxílicos de aminoácidos aromáticos (triptofano, fenilalanina e tirosina) (MARZZOCO; TORRES, 2007). Protamex é uma protease bacteriana de *Bacillus* sp. e é uma mistura de endo e exopeptidases, sendo usada na indústria alimentar, para melhorar as propriedades nutricionais e funcionais da proteína (SLIZYTÉ et al., 2009).

#### 2.1.1.3.2 Relação enzima:substrato

Existe uma grande diferença de tamanho entre as moléculas de enzimas e as de seus substratos. As enzimas, por mais simples que sejam, são formadas de mais de uma centena de aminoácidos, variando sua massa molar de 10.000 a alguns milhões, enquanto a massa molar dos substratos é de uma grandeza muito inferior (MARZZOCO; TORRES, 2007).

Ritchie; Mackie (1982) realizaram um trabalho onde produziram hidrolisados proteicos de peixe oriundos de três diferentes fontes (peixe branco sem cabeça, vísceras de peixe branco e espécies pelágicas inteiras) dos quais foram hidrolisados utilizando-se a enzima papaína em diferentes níveis de relação enzima:substrato e observaram que a melhor relação foi a de 0,05 %.

#### 2.1.1.3.3 Potencial hidrogeniônico (pH) e temperatura

A estrutura e a forma do sítio ativo são decorrentes da estrutura tridimensional da enzima e podem ser afetadas por agentes capazes de provocar mudanças na conformação da proteína, ou seja, a atividade enzimática torna-se dependente das características do meio, principalmente do pH e da temperatura (MARZZOCO; TORRES, 2007). Martins et al. (2014) avaliaram a hidrólise de resíduo insolúvel de corvina por dez variedades de fungos em meio ácido e alcalino e observaram que no substrato alcalino, a liberação de aminoácidos teve início antes quando comparado

com o substrato ácido, onde uma liberação eficaz começou apenas a partir de 24 h de reação.

A temperatura é outro fator importante para a velocidade da reação, quando estiver próxima de 0 °C a velocidade da reação apresentará valores próximos à zero. Com o aumento da temperatura a velocidade de reação é favorecida, pois ocorre um aumento na energia cinética das moléculas, fazendo com que um número cada vez maior delas atinja o estado de transição (MARZZOCO; TORRES, 2007). Como as enzimas são termolábeis, o calor de desnaturação resulta em uma perda gradual de suas propriedades catalíticas, sendo crescente a taxa de inativação com o aumento da temperatura. Sendo assim, se por um lado a temperatura elevada aumenta o rendimento das reações enzimáticas, por outro, podem provocar a inativação da enzima, dependendo do calor aplicado (BIASUTTI, 2006). Acima de 50-55 °C a maioria das enzimas são desnaturadas e assim ocorre uma grande alteração na conformação da molécula, acarretando a perda do poder de catálise (MARZZOCO; TORRES, 2007).

Um estudo realizado por Paiva et al. (2015) os quais avaliaram a atividade da protease de *Aspergillus flavo-furcatis* em faixas de temperatura entre 25 e 80 °C, em pH 7,0 e 9,0 mostrou que a atividade da protease foi observada em todas as faixas de temperatura avaliadas, entretanto, a máxima atividade foi observada em 50 °C.

#### 2.1.1.3.4 Grau de hidrólise

O grau de hidrólise (GH) pode ser influenciado por alguns fatores, tais como a relação enzima:substrato, tempo de hidrólise, temperatura, tipo de proteína utilizada e método de avaliação (SILVA, 2010). Existe uma relação entre a atividade das enzimas e o grau de hidrólise, sabendo-se que quanto maior a atividade enzimática maior será a quebra das proteínas, fazendo com que haja uma melhor digestibilidade e um melhor aproveitamento dos aminoácidos durante o consumo do alimento (SILVA, 2010).

O grau de hidrólise pode influenciar as características funcionais do produto final, como solubilidade, capacidade de retenção de água, formação de espuma e emulsificação. Um aumento no tempo de hidrólise ou na relação enzima:substrato resulta em uma redução do comprimento médio da cadeia de peptídeos na fração solúvel. Porém, uma proteólise prolongada poderá resultar na formação de

peptídeos extremamente solúveis com propriedades funcionais indesejáveis e promover a formação do gosto amargo (DINIZ; MARTIN, 1999).

### **2.1.2 Hidrolisado de farelo de soja**

São escassos os trabalhos referentes à utilização de hidrolisado de farelo de soja, seja ele para utilização em dietas animais ou para outros fins. Porém existe uma vasta literatura referente à proteína de soja hidrolisada, tanto para alimentação humana quanto para a alimentação animal. Alguns autores relatam que a hidrólise enzimática pode melhorar significativamente o valor nutricional e as propriedades funcionais da proteína de soja (AO, 2011; HRČKOVÁ et al., 2002; SONG et al., 2014), além de melhorar sua digestibilidade e eliminar os fatores antinutricionais nela presente (AO, 2011; BARCA et al.; 2000).

A hidrólise também afeta a estabilidade térmica da proteína de soja, a pH 4,5 os hidrolisados da proteína de soja isolada (PSH) apresentaram maior estabilidade ao calor do que a proteína de soja intacta (PSI). Esse aumento na estabilidade ao calor foi atribuído a uma maior solubilidade dos hidrolisados a pH 4,5. Contudo, pH abaixo de 3,5, os PHS apresentaram uma menor estabilidade térmica em comparação com PSI. Porém, a pH 3,5 a solubilidade dos hidrolisados foi relatada como sendo significativamente mais baixa do que a de PSI (KIM; PARK; RHEE, 1990).

A PSH possui alguns peptídeos com funções bioativas, dentre essas funções algumas se destacam as ações antihipertensiva (CHEN et al., 2004; WU; DING, 2001), hipocolesterolêmica (NAGAOKA et al., 1999), imunomodulador (KONG et al., 2008) e a antioxidante (CHEN et al., 1998; PEÑA-RAMOS; XIONG, 2002). Atualmente, são escassas as informações sobre a utilização de PHS na alimentação de aves, porém alguns estudos demonstram resultados positivos na utilização de PSH em espécies aquáticas. Song et al. (2014) utilizando PHS em substituição a farinha de peixe na dieta de juvenis de linguado estrelado observaram que a substituição de até 50 % à farinha de peixe apresentou melhores resultados no desempenho dos animais.



### 2.1.3 Hidrolisado de vísceras de sardinha

O processamento do pescado gera uma grande quantidade de resíduos, dos quais uma parte é processada como farinha para a utilização na nutrição animal e outra parte descartada no meio ambiente sem praticamente nenhum tratamento (STORI et al., 2002). Com o declínio da produção dos recursos marinhos, tem-se enfatizado a necessidade de um melhor aproveitamento dos subprodutos da pesca, através da hidrólise enzimática, transformando os resíduos oriundos das indústrias de beneficiamento, em um produto de alto valor biológico agregado (CHABEAUD et al., 2009).

Uma alternativa para dar valor econômico a estes resíduos é a produção do hidrolisado proteico de pescado, o qual é produzido a partir de subprodutos da indústria pesqueira por processos que incluem a utilização de enzimas hidrolíticas, através das quais ocorre a degradação das proteínas com consequente aumento da sua digestibilidade (BERGE; STOREBAKKEN, 1996). Assim como a PHS, são escassas as informações sobre a utilização de hidrolisado de peixe na alimentação de aves, porém na área da piscicultura/aquicultura são amplamente estudados.

O elevado valor nutricional qualifica o hidrolisado para ser utilizado na composição das rações em cultivos que demandam uma dieta de qualidade, como larviculturas (HERMANNSDOTTIR et al., 2009) e produção de peixes carnívoros (HEVROY, 2005). Para Oliva-Teles et al. (1999), a matéria seca do hidrolisado enzimático proteico de pescado pode ser amplamente utilizada em 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. Batista et al. (2010) vêm usando resíduos do peixe-espada preto (*Apanopus carbo*), incluindo cabeça, vísceras e pele, para a produção de subprodutos através da hidrólise enzimática, com aplicação em alimentação animal, apresentando ótimas atividades antioxidantes e imuno-estimulantes. Efeitos sobre o sistema imunológico também foram encontrados por Hermansdottir et al. (2009), que observou aumento da produção de lisozima e C3 em larvas alimentadas com dietas enriquecidas com hidrolisado.

## 2.2 ENERGIA DOS ALIMENTOS

De origem grega a palavra energia pode ser definida como a capacidade de realização de trabalho (BERTECHINI, 2012). A energia não é um nutriente, é o resultado da oxidação dos nutrientes ocorrida ao longo do metabolismo (NRC, 1994), sendo fator limitante para o ótimo desempenho das aves, pois o consumo voluntário diminui à medida que o conteúdo energético da dieta aumenta (LEESON; CASTON; SUMMERS, 1997).

Em nutrição, essa capacidade máxima de realizar trabalho está relacionada com a máxima produção do animal (BERTECHINI, 2012). A energia que é liberada da oxidação dos alimentos, bem como o calor produzido pelo metabolismo energético, é expressa em caloria ou joule. Sendo que uma caloria é definida como a quantidade de calor necessária para elevar a temperatura da água em 1 °C, sendo um joule igual a 0,239 calorias (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2007).

Os constituintes dos alimentos (carboidratos, lipídios, proteínas e parte das fibras) são fornecedores de energia para o organismo animal, no entanto, nem toda energia que é produzida pela oxidação dos nutrientes pode ser aproveitada pelos animais (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2007). No organismo, a primeira energia utilizada é para a manutenção das funções vitais e a segunda é a energia utilizada para a realização do trabalho. Sendo que o organismo animal possui uma eficiência energética de aproximadamente 40% (BERTECHINI, 2012).

A energia presente nos alimentos pode ser expressa de várias formas, dentre essas estão à energia bruta (EB), a digestível (ED), a metabolizável (EM) e a líquida (EL).

A EB indica apenas a energia presente no alimento e é produzida pela oxidação total da matéria orgânica dos alimentos medida em bomba calorimétrica. A ED representa a energia do alimento que é absorvida após o processo de digestão nos animais, sendo determinada pela diferença entre a EB do alimento consumido e a EB das fezes. A EM é a mais comum e a que melhor quantifica a energia disponível no alimento para as aves (HILL; ANDERSON, 1958) e é obtida pela diferença entre a EB do alimento e a EB das excretas (fezes e urina). Já a EL é obtida pela diferença entre a EM e a energia perdida como incremento calórico (IC). O IC denominado para juntar várias formas de perda de calor, não sendo usado nos

processos produtivos. Podendo ser dividida em energia líquida para manutenção e produção de ganho de peso, de ovo ou leite (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2007).

Existem vários métodos para a determinação da EM dos ingredientes, podendo ser realizados em experimentos de métodos biológicos e não biológicos. Para a determinação através de métodos biológicos podemos citar as metodologias de Sibbald, de Farrel e o de coleta total, enquanto a determinação *in vitro* e as equações de predição são exemplos de métodos não biológicos. Por estes métodos podem se determinar os valores de energia metabolizável aparente (EMA), EMA corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn), energia metabolizável verdadeira (EMV), EMV corrigida para o balanço de nitrogênio (EMVn) (ALBINO, 1994). Em aves utiliza-se comumente EMAn (ALBINO et al., 1992). Essa correção é necessária, pois em aves em crescimento, a proteína retida no corpo da ave não contribui para a energia das fezes e urina. Porém, em animais adultos, parte dos compostos nitrogenados é catabolizado e excretado como ácido úrico (SIBBALD, 1982).

A metodologia mais utilizada para determinação da EM das rações e/ou ingredientes é a de coleta total de excretas descrita por Hill; Anderson (1958), a qual baseia-se no princípio de mensurar o total de alimento ingerido e o total de excretas produzidas durante um período de tempo determinado. Essa técnica é amplamente utilizada devido a sua facilidade e pela obtenção de bons resultados (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2007).

Existe uma série de fatores que pode interferir na determinação dos valores de EM dos ingredientes, entre eles a quantidade de ingrediente teste, o nível de substituição da ração referência, a idade das aves e a condição de ambiente em que as aves são criadas, entre outros (KATO, 2011). O processamento dos alimentos ou subprodutos influencia diretamente nos valores de digestibilidade e metabolizabilidade dos nutrientes. O tempo de passagem pelo trato digestório da ave pode alterar a digestibilidade e, conseqüentemente, a disponibilidade de nutrientes (KATO, 2011).

Outro fator que pode influenciar nos valores de EM são as evoluções que a criação avícola vem tendo, dentre elas na genética a qual promoveu uma mudança nas taxas metabólicas basais, em função das altas taxas de produção de ovos, ganho de peso, deposição de proteínas e gorduras na carcaça (SHIRES et al., 1980).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

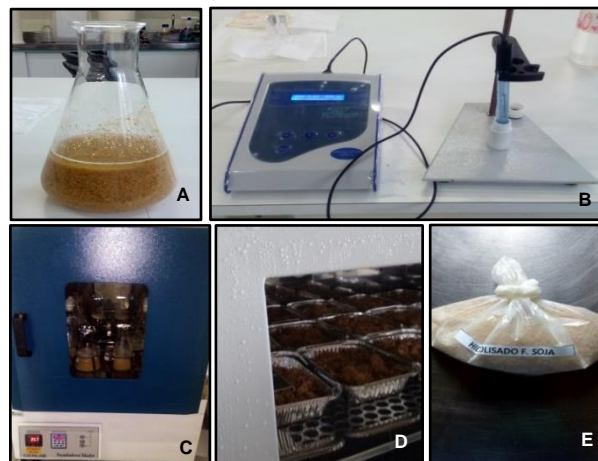
O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal – CETEA da Universidade dos Estado de Santa Catarina - UDESC, sob o número de protocolo 8336060416.

#### 3.1 PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROLISADOS

##### 3.1.1 Produção do hidrolisado de farelo de soja

O hidrolisado de farelo de soja (HFS) foi produzido no Laboratório de Bioquímica de Hemoparasitas e Vetores – CAV/UDESC. Para a confecção do HFS pesou-se em erlenmeyer (600 mL) alíquotas de 100 g de farelo de soja, adicionando-se água destilada na proporção de 1:3, sendo o pH ajustado para a faixa de 2,5 a 3,0. Em seguida adicionou-se 0,4 g de pepsina suína em pó (1:10.000 NF) e procedeu-se a incubação sob agitação (4 h, 37 °C). O pH foi aferido em intervalos de uma hora mantendo-se a faixa de 2,5 a 3,0. Após o período de incubação, prosseguiu-se com a inativação da enzima a 75-90 °C durante 105 min., então o HFS foi armazenado em recipiente plástico e congelado a -20 °C. Posteriormente, as amostras foram descongeladas e secas em estufa de ventilação forçada (55 °C por 72 h), moídas e armazenadas para a realização do experimento (Figura 2).

Figura 2 - Produção do hidrolisado de farelo de soja



A) preparação da amostra; B) Medição do pH; C) Incubação; D) Secagem; E) Hidrolisado pronto  
Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

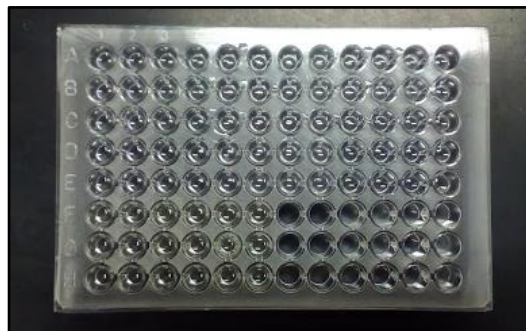
### 3.1.2 Produção do hidrolisado de vísceras de sardinha

O hidrolisado de vísceras de sardinha foi produzido em parceria com o Laboratório de Bioquímica e Bromatologia – Univali/Itajaí. As amostras de vísceras foram coletadas na indústria Gomes da Costa S.A., diretamente das linhas de produção através de sucção. Alíquotas de 300 g de material foram homogeneizadas em liquidificador com três volumes de água e incubadas com a enzima Protamex® Novozymes A/S (1:100 enzima:vísceras) a 50 °C durante 90 min, seguido de inativação da enzima a 75-90 °C durante 15 min. As suspensões foram misturadas e submetidas à filtração em peneira comum (malha 1 mm) com a finalidade de separar restos inorgânicos como espinhas e escamas da solução. O HVS teve sua umidade reduzida para 30 % em placa aquecedora (50 °C) o qual foi armazenado em recipiente plástico congelado a -20 °C. Após as amostras foram descongeladas e secas em estufa de ventilação forçada (55 °C por 72 h) para a realização do experimento.

### 3.1.3 Determinação do grau de hidrólise (GH) dos hidrolisados

Para a determinação do GH utilizou-se o método de ortoftaldialdeído (OPA), realizado em microplacas de fundo transparente (Figura 3), adaptado de Nielsen et al. (2001). Adicionou-se 40 µL de amostra e 260 µL do reagente OPA, prosseguindo com leitura de absorbância em leitor de microplacas (Genius, Tecan) a 340 nm a qual media o teor de grupamentos amino-livres, como equivalentes de serina. As concentrações de serina (miliequivalentes) por grama de proteína foram calculadas a partir de uma curva de calibração prévia de serina (0,1 a 16 µg).

Figura 3 - Determinação do grau de hidrólise



Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

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:

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

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 e para soja: 0,97; 0,342 e 7,8, 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:

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

### 3.1.4 Análise bromatológica dos hidrolisados

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal e Bromatologia – CAV/UEDESC e Laboratório de Nutrição Animal – Epagri/Lages e em seguida determinadas as composições dos ingredientes quanto à matéria seca (MS), proteína bruta (PB), energia bruta (EB), extrato etéreo (EE), fibra bruta (FB), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), matéria mineral (MM), cálcio (Ca), fósforo (P) conforme metodologias descritas por Silva; Queiroz (2012).

## 3.2 LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO

O experimento foi realizado em sala de metabolismo do Setor de Avicultura do Departamento de Produção Animal e Alimentos do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (UEDESC) – Lages. Foram utilizadas 48 poedeiras semipesadas da linhagem Hy-Line Brown durante nove dias (cinco para adaptação e quatro para coleta), com idade inicial de 64 semanas e peso médio inicial de 2,11 kg, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições de duas aves cada. As aves foram alocadas em gaiolas metabólicas (0,50 x 0,50 x 0,40 m)

providas de bandeja coletora de excretas, revestidas com plástico para facilitar as coletas. As gaiolas construídas em arame galvanizado eram dotadas de comedouro tipo calha frontal e dois bebedouros tipo *nipple* (Figura 4).

Figura 4 - A) Sala de metabolismo; B) gaiolas metabólicas.



Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

### 3.3 RAÇÃO REFERÊNCIA E INGREDIENTES TESTES

A ração referência (Tabela 1) foi formulada de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2011). Foram avaliados dois ingredientes através do método de substituição em base na matéria natural, em que se substituiu uma fração da ração referência pelo ingrediente a ser avaliado. Os níveis de substituição da ração referência pelo hidrolisado de vísceras de sardinha foram de 7 e 10 % e de 20 e 40 % para o hidrolisado de farelo de soja seguindo recomendações de Sakomura; Rostagno (2007). Cada nível de substituição possuía cinco repetições de duas aves, exceto o tratamento referência que continha quatro repetições de duas aves.

Tabela 1 - Composição nutricional e calculada da ração referência utilizada no experimento

Ingredientes	%
Milho	53,41
Farelo de Soja 45%	28,13
Calcário Calcítico	11,65
Fosfato Bicálcico	1,11
Metionina	0,12
Sal Comum	0,54
Óleo Vegetal	3,64
Suplemento Vitamínico e mineral <sup>1</sup>	0,40
Celite <sup>TM</sup>	1,00
<b>Total</b>	<b>100,00</b>
<b>Níveis Nutricionais</b>	
Energia Metabolizável (Kcal/Kg)	2.800
Proteína Bruta (%)	17,0
Cálcio (%)	4,20
Fósforo (%)	0,30
Sódio (%)	0,23
Metionina (%)	0,35
Lisina (%)	0,82

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico e mineral contendo por kg: Vit. A – 2.333.330 UI, Vit. D3 – 666.670 UI, Vit. E – 1.666.670, Vit. K3 – 533.330, Vit. B2 – 1.000 mg, Vit. B12 – 2.666.670 mg, Niacina – 6.666.670 mg, Colina – 78.120 mg, Ác. Pantotênico – 1.166.670 mg, Cobre – 2.666.700 mg, Ferro – 16.670 g, Mang anês – 23.330 g, Zinco – 16.670 g, Iodo – 400 mg, Selênio 66.670 mg, Bacitracina de Zinco – 6.666.670 mg

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

### 3.4 CONDUÇÃO EXPERIMENTAL

As aves foram pesadas individualmente e distribuídas aleatoriamente em 24 gaiolas (unidades experimentais), recebendo água e ração experimental à vontade. O método utilizado para coleta foi o método tradicional de coleta total das excretas conforme descrito por Hill; Anderson (1958), onde as aves foram mantidas nas gaiolas metabólicas por um período de nove dias, sendo cinco dias para adaptação e quatro dias para coleta das excretas. Para marcar o início do período de coleta foi utilizado 1 % de óxido férrico na ração. As excretas foram coletadas uma vez ao dia sempre no período da manhã (8:00 h), armazenadas em sacos plásticos, identificadas por repetição e congeladas em freezer a -20 °C (Figura 5).



Figura 5 - Coleta total de excretas



Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

As excretas e rações experimentais foram descongeladas e homogeneizadas para análise de matéria seca, nitrogênio total e energia bruta, realizadas no Laboratório de Nutrição Animal e Bromatologia CAV/UEDESC e Laboratório de Nutrição Animal – Epagri/Lages.

### 3.4.1 Variáveis analisadas

#### 3.4.1.1 Valores energéticos dos ingredientes

Foram determinados, por meio de cálculos, os valores de energia metabolizável aparente (EMA), aparente corrigida para balanço de nitrogênio (EMAn). Os valores energéticos dos ingredientes, apresentados em kcal/kg de MS, de acordo com fórmula descrita por Matterson et al. (1965) e ajustados para retenção de nitrogênio, de acordo com as fórmulas:

$$EMA_{RR \text{ ou } RT} = \frac{EB_{ingerida} - EB_{excretada}}{MS_{ingerida}}$$

$$EMA_{Alimento} = EMA_{RR} + \frac{(EMA_{RT} - EMA_{RR})}{g/g \text{ de substituição}}$$

$$EMAn_{RT \text{ ou } RR} = \frac{EB_{ingerida} - (EB_{Excretada} - 8,22 \times BN)}{MS_{ingerida}}$$

$$EMAn_{Alimento} = EMAn_{RR} + \frac{(EMAn_{RT} - EMAn_{RR})}{g/g \text{ de substituição}}$$

BN = N ingerido – N excretado

Sendo: RT = Ração teste; RR = Ração referência e BN = Balanço de Nitrogênio

### 3.4.1.2 Quantificação de *Lactobacillus* spp.

Ao final do período experimental (9<sup>o</sup> dia), as aves foram sacrificadas por deslocamento cervical, método aceito pela Resolução nº 1000, de 11 de maio de 2012 do Conselho Federal de Medicina Veterinária e o primeiro um terço do íleo foi coletado, amarrado nas extremidades e armazenado em sacos plásticos identificados por repetição os quais foram mantidos em isopor com gelo e encaminhados imediatamente após a coleta para o Centro de diagnóstico de sanidade animal (CEDISA), localizado na cidade de Concórdia – SC, laboratório anexo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Suínos e aves para a quantificação de *Lactobacillus* spp. (Figura 6).

Figura 6 - Terço inicial do íleo coletado para a quantificação de *Lactobacillus* spp.



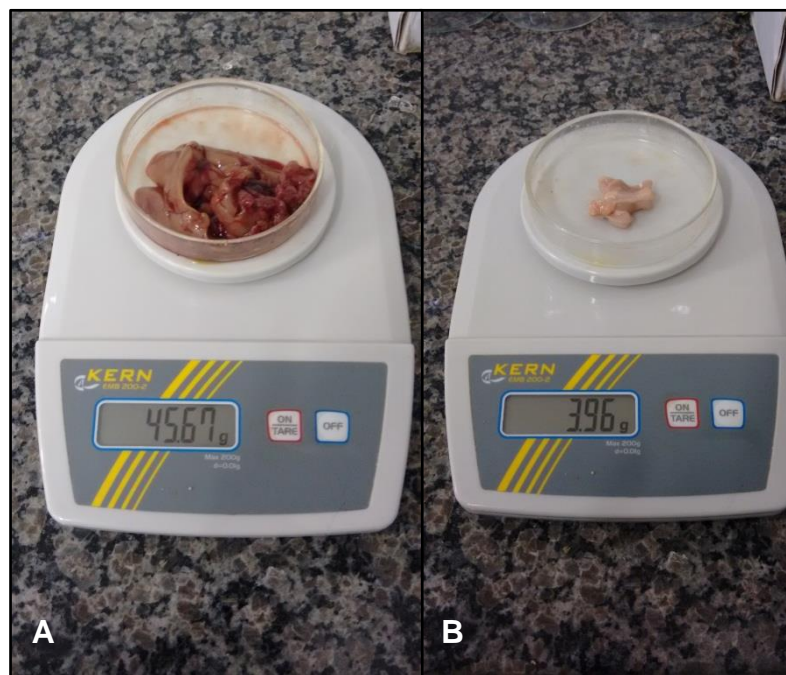
Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

A quantificação dos *Lactobacillus* spp. seguiu protocolo utilizado pelo laboratório. Para esta determinação, pesou-se um grama de fezes as quais foram diluídas em 9 mL de água peptonada a 0,1 %, foram realizadas diluições na base 10. A partir das diluições, foram semeados 10 µL em ágar Rogosa (2 mL) e as placas foram incubadas a 37 °C em jarra com 10 % de CO<sub>2</sub> por 72 h. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por grama de fezes (UFC/g).

### 3.4.1.3 Índice de fígado e pâncreas

Das aves abatidas, procedeu-se coleta do fígado e pâncreas, aferidas em balança de precisão de 0,001 g (Figura 7) para o cálculo do índice dos mesmos, o qual foi calculado através da relação do peso vivo da ave e o peso do órgão.

Figura 7 - A) Pesagem do fígado; B) Pesagem do pâncreas.



Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

## 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram submetidos à análise estatística, através do software estatístico SAS 9.0 (2009), inicialmente os dados foram submetidos ao teste Shapiro-Wilk para avaliação da normalidade e posteriormente procedeu-se a análise de variância (ANOVA) e aqueles quesitos que apresentaram diferença foram comparadas pelo teste Dunnett com nível de significância de 5 %.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ENERGÉTICA DOS INGREDIENTES

A composição química do HFS e do HVS é apresentada na tabela 2. Para os alimentos estudados não foram encontradas informações da composição nutricional em tabelas mais recentes de composição dos alimentos (NRC, 1994; ROSTAGNO et al., 2011).

Tabela 2 - Composição química do hidrolisado de farelo de soja (HFS) e de vísceras de sardinha (HVS)<sup>a</sup>

Componente	HFS	HVS
Matéria seca (%)	93,32	89,20
Proteína bruta (%)	44,93	34,55
Energia bruta (Kcal/Kg)	4.403	5.850
Extrato etéreo (%)	1,68	47,42
Fibra bruta (%)	4,98	-
Fibra em detergente neutro (%)	12,12	-
Fibra em detergente ácido (%)	7,62	-
Matéria Mineral (%)	5,57	9,47
Cálcio (%)	0,23	0,09
Fósforo (%)	0,57	0,54

<sup>a</sup> Com base na matéria natural.

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

O valor de proteína bruta (PB) do HFS foi próximo ao precursor farelo de soja (FS), onde a literatura indica 45,22 % (ROSTAGNO et al., 2011) e 44,47 % (Silva et al., 2009). Quanto ao valor de extrato etéreo (EE), verificou-se que foi inferior ao valor de FS encontrado por Silva et al. (2009), em 55,36 %, enquanto que o encontrado por Rostagno et al. (2011) foi praticamente igual ao obtido nesse estudo.

O teor de fibra bruta (FB) foi inferior ao de FS observado por Rostagno et al. (2011) e por Silva et al. (2009), já para fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), os valores encontrados nesse estudo foram menores do que os encontrados por Rostagno et al. (2011) e Silva et al. (2009) para FS (45 %). Já o teor de energia bruta (EB) foi 7,11 e 5,25 % superior aos encontrados por Rostagno et al. (2011) e Silva et al. (2009) em relação ao FS (45 %), respectivamente para HVS e HFS. A variação da composição química é esperada, visto que um mesmo ingrediente pode ser influenciado por fatores como a região geográfica, condições de plantio, fertilidade do solo, variabilidade genética dos

cultivares, formas de armazenamento, processamento dos grãos (NAGATA et al., 2004) ou, como no caso desse estudo, pelo processo de hidrólise em que o farelo de soja foi submetido.

Situação singular obtido nos resultados do presente estudo é que o HVS pode ser considerado um alimento de dupla funcionalidade (proteico e energético), pois sua composição química indica valor de proteína bruta superior a 20 % e valor energético de 5.850 Kcal/Kg. Alimento mais próximo ao HVS quanto à origem seria a farinha de vísceras de aves de alta gordura que também pode ser considerado um alimento de dupla função, possuindo 55,30 % de PB, o que confere como sendo 60 % superior ao HVS. Já para EE e EB, o HVS é 56,56 % e 8,67 % superior à farinha de vísceras de aves de alta gordura, respectivamente (ROSTAGNO et al., 2011).

Os resultados de energia metabolizável aparente (EMA), EMA corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) e os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), da energia bruta (CDEB) e da proteína bruta (CDPB) de dietas contendo HFS e HVS são apresentados na tabela 3.

Tabela 3 - Energia metabolizável aparente (EMA), EMA corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) e coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), da energia bruta (CDEB) e da proteína bruta (CDPB) de dietas contendo hidrolisado de farelo de soja (HFS) e hidrolisado de vísceras de sardinha (HVS)

Variáveis	HFS	HVS
EMA (Kcal/Kg <sup>-1</sup> MS)	2.506	3.695
EMAn (Kcal/Kg <sup>-1</sup> MS)	2.396	3.504
CDMS (%)	68,44	71,68
CDEB (%)	75,55	83,38
CDPB (%)	32,80	52,52

<sup>a</sup> Com base na matéria seca.

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Para ambos os alimentos avaliados, os valores de EMA foram superiores aos valores de EMAn, indicando que durante o período experimental, as aves apresentaram balanço de nitrogênio positivo, que se caracteriza pela retenção do nitrogênio presente no alimento.

O valor energético dos dois alimentos apresentou variação em relação à literatura consultada, podendo ser causado por diversos fatores. Segundo Vieites (1999), o conteúdo de PB e de EE são os principais fatores que contribuem para as variações nos valores energéticos dos alimentos, entretanto, fatores como o

processamento (hidrólise), idade das aves e os níveis de inclusão do alimento na dieta também podem afetar os valores de energia metabolizável.

Os valores de EMA encontrados nesse estudo mostraram-se próximos aos encontrados por Rostagno et al. (2011) para alimentos similares aos utilizados. Para o FS a EMA foi de 2.333 Kcal/Kg, já para a farinha de vísceras de aves de alta gordura foi de 3.682 Kcal/Kg.

## 4.2 GRAU DE HIDRÓLISE

O grau de hidrólise (GH) dos hidrolisados em estudo (HFS e HVS) é apresentado na tabela 4.

Tabela 4 – Grau de hidrólise (GH) do hidrolisado de farelo de soja (HFS) e de vísceras de sardinha (HVS).

Hidrolisados	GH (%)
HFS	15,50
HVS	44,15

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Os valores de GH para o HFS e HVS foram de 15,50 % e 44,15 %, respectivamente. Alguns autores explicam que quanto maior o GH, maior é a proporção de proteínas solúveis de baixo peso molecular (NEVES; MIRA; MARQUEZ, 2004).

O GH é o parâmetro utilizado para comparar hidrolisados proteicos entre si (ADLER-NISSEN 1986), porém muitas são as variáveis envolvidas no processo de hidrólise, como atividade e especificidade da enzima, relação enzima:substrato, pH, temperatura, tempo de reação, entre outros, não podendo se estabelecer uma comparação entre os hidrolisados quando estas condições de hidrólise são diferentes, pois cada processo poderá resultar em diferentes produtos hidrolisados.

## 4.3 QUANTIFICAÇÃO DE *Lactobacillus* spp.

A quantificação de *Lactobacillus* spp. da digesta das aves que receberam hidrolisados na dieta está apresentado na tabela 5.

Tabela 5 - Quantificação de *Lactobacillus* spp. na digesta de aves que receberam hidrolisados de farelo de soja (HFS) e de vísceras de sardinha (HVS) na dieta.

	<i>Lactobacillus</i> spp. (UFC/g)*	CV (%)
Ração Referência (RR)	48,50x10 <sup>6</sup>	71,93
93 % RR + 07 % HVS	30,12x10 <sup>6</sup>	132,96
90 % RR + 10 % HVS	18,50x10 <sup>6</sup>	33,76
80 % RR + 20 % HFS	80,75x10 <sup>6</sup>	71,15
60 % RR + 40 % HFS	55,75x10 <sup>6</sup>	89,74

\* Não ocorreu diferença significativa ( $P>0,05$ ) em relação à ração referência (RR).

P: probabilidade; CV: Coeficiente de variação.

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Não houve diferença ( $P>0,05$ ) na quantificação de *Lactobacillus* spp. para os níveis avaliados comparados com o controle. As aves que receberam o HFS, dos quais eram os maiores níveis de substituição testados, obtiveram em número os maiores resultados (80,75x10<sup>6</sup> e 55,75x10<sup>6</sup> UFC/g para inclusão de 20 e 40 %, respectivamente), enquanto que as aves que receberam o HVS, dos quais eram os menores níveis de substituição testados, obtiveram os menores resultados (30,12x10<sup>6</sup> e 18,50x10<sup>6</sup> UFC/g para 7 e 10 % de inclusão, respectivamente), porém não diferindo do controle (48,50x10<sup>6</sup> UFC/g).

Esse resultado mostra-se diferente do encontrado por Yadav et al. (2016), os quais testaram a utilização de iogurte suplementado com casca de psilium (*Plantago psyllium*) não hidrolisada e hidrolisada para ratos observando que a utilização da casca hidrolisada aumenta significativamente a quantidade de *Lactobacillus* no conteúdo intestinal dos animais. Essa diferença pode estar relacionada com forma de fabricação dos hidrolisados (condições de processamento, tipo de enzima utilizada, etc.) e com a matéria prima utilizada, podendo interferir na sequência peptídica que é responsável pela ação prebiótica.

Uma alternativa para obtenção de resultados satisfatórios, pode ser a combinação de hidrolisados com probióticos, Duarte et al. (2014) utilizaram farinha hidrolisada de torta de coco combinada com probiótico *Bacillus cereus* var. *toyoi* e verificaram que a combinação dos dois tem potencial para melhorar a morfologia intestinal, comportando-se como um bom promotor de crescimento com possibilidade de alternativa aos antibióticos.

#### 4.4 ÍNDICE DE FÍGADO E PÂNCREAS

O peso e índice de fígado das aves que receberam hidrolisado de farelo de soja e hidrolisado de vísceras de sardinha na dieta estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6 - Peso (g) e índice (%) de fígado de aves que receberam hidrolisados de farelo de soja (HFS) e de vísceras de sardinha (HVS) na dieta.

	Peso (g)*	P	CV (%)	Índice de fígado (%)*	P	CV (%)
Ração Referência (RR)	42,48	-	8,89	1,94	-	10,31
93 % RR + 07 % HVS	39,81	2,833	8,17	1,86	0,125	7,75
90 % RR + 10 % HVS	42,52	5,541	13,01	1,99	0,252	7,19
80 % RR + 20 % HFS	38,92	1,946	7,49	1,86	0,127	7,12
60 % RR + 40 % HFS	38,36	1,382	13,97	1,93	0,190	7,72

\* Não ocorreu diferença significativa ( $P > 0,05$ ) em relação à ração referência (RR).

P: probabilidade; CV: Coeficiente de variação

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

O fígado tem como principais funções a estocagem de gorduras e a secreção de bile (BOLELI; MAIORKA; MACARI, 2002), como o HVS possuía uma quantidade considerável de gordura em sua composição (47,42 %) achou-se necessária à mensuração do peso e rendimento do mesmo para verificar se haveria uma sobrecarga hepática fazendo com que o fígado aumentasse consideravelmente seu tamanho.

Tanto o HVS quanto HFS apresentaram valores similares ( $P > 0,05$ ) de peso (39,81; 42,52; 38,92 e 38,36 g para 7 e 10 % de HVS e 20 e 40 % de HFS, respectivamente) e índice (1,86; 1,99; 1,86 e 1,93 % para 7 e 10 % de HVS e 20 e 40 % de HFS, respectivamente) quando comparados ao controle (42,48 g e 1,94 % para peso e índice, respectivamente). Tal situação indica que mesmo apresentando essa quantidade de gordura os níveis testados foram favoráveis para a manutenção hepática.

O pâncreas por sua vez, possui como uma de suas principais funções exócrinas a liberação de enzimas que realizam a hidrólise das proteínas (BOLELI; MAIORKA; MACARI, 2002). Como os alimentos utilizados nesse estudo são hidrolisados proteicos e que possuem uma quantidade significativa de proteína na composição (44,93 e 34,55 % para HFS e HVS, respectivamente) também fez-se necessária à mensuração do peso e índice do mesmo (Tabela 7).



Tabela 7 - Peso (g) e índice (%) de pâncreas de aves que receberam hidrolisados de farelo de soja (HFS) e de vísceras de sardinha (HVS) na dieta.

	Peso (g)	P	CV (%)	Índice de pâncreas (%)	P	CV (%)
Ração Referência (RR)	3,76	-	7,73	0,17	-	8,05
93 % RR + 07 % HVS	3,21	0,024	12,39	0,15	0,007	13,17
90 % RR + 10 % HVS	3,20	0,036	6,64	0,16	0,013	10,90
80 % RR + 20 % HFS	3,92	0,045	11,87	0,19	0,046	17,75
60 % RR + 40 % HFS	4,12	0,049	14,15	0,19	0,048	16,64

\* Não ocorreu diferença significativa ( $P > 0,05$ ) em relação a ração referência (RR).

P: probabilidade; CV: Coeficiente de variação

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

É possível observar que para todos os níveis utilizados houve diferença para o controle ( $P < 0,05$ ), sendo que o para o HVS o índice (0,15 e 0,16 % para 7 e 10 %, respectivamente) e peso (3,21 e 3,20 g para 7 e 10 %, respectivamente) foram menores. Isso pode ser explicado devido ao alimento já ter sofrido hidrólise de suas proteínas no momento de sua elaboração fazendo com que o pâncreas não fosse sobrecarregado. Para o HFS esperava-se resultados similares aos encontrados para o HVS, porém tanto para peso (3,92 e 4,12 g para 20 e 40 %, respectivamente) quanto para índice (0,19 % para 20 e 40 %) o HFS foi superior ao controle ( $P < 0,05$ ). Isso pode ser explicado pelo fato que o HFS foi utilizado em níveis elevados de substituição deixando a ração com uma quantidade proteica elevado fazendo com que o pâncreas ficasse sobrecarregado.

## 5 CONCLUSÃO

Os hidrolisados de farelo de soja bem como o de vísceras de sardinha possuem boa qualidade nutricional e energética e podem ser utilizados como fonte alimentícia nas dietas de poedeiras comerciais sem afetar o índice de fígado, porém elevando o índice de pâncreas para os níveis estudados.

Os hidrolisados de farelo de soja e de vísceras de sardinha não alteram a quantificação de *Lactobacillus* spp. nos níveis estudados, não podendo ser considerados um alimento prébiótico.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AASLYNG, M. D.; MARTENS, M.; POLL, L.; NIELSEN, P. M.; FLYGE, H.; LARSEN, L. M. Chemical and Sensory Characterization of Hydrolyzed Vegetable Protein, a Savory Flavoring. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. Copenhagen, v. 46, n. 2, p. 481-489, Jan. 1998.

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual 2016. 136 p, 2016.

ADLER-NISSEN, J. Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. **Agricultural and Food Chemistry**, Bagsvaerd, v. 27, n. 6, p. 1256-1262, June 1979.

ADLER-NISSEN J. **Enzymic hydrolysis of food proteins**. New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1986. 427p.

ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; FONSECA, J. B.; TORRES, R. A. Utilização de diferentes sistemas de avaliação energética dos alimentos na formulação de rações para frangos de corte. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, [S. l.], v. 21, n. 6, p. 1037-1046, 1992.

ALBINO, L. F. T.; BRUM, P. A. R.; FIALHO, F. B.; PAIVA, G. J.; HARA, C. Análise individual versus “pool” de excreta na determinação de energia bruta em ensaio de energia metabolizável. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 467-473, mar. 1994.

AO, T. Y. Using exogenous enzymes to increase the nutritional value of soybean meal in poultry diet. In: HANY, E. S. (Ed.). **Soybean and Nutrition**. New York : InTech, p. 201–214. 2011.

BARCA, A. M. C.; RUIZ-SALAZAR, R. A.; MARINI, M. E. J. Enzymatic hydrolysis and synthesis of soy protein to improve its amino acid composition and functional properties. **Journal of Food Science**, [S. l.], v. 65, n. 2, p. 246–253, 2000.

BATISTA, I.; RAMOS, C.; COUTINHO, J.; BANDARRA, N. M.; NUNES, M. L. Characterization of protein hydrolysates and lipids obtained from black scabbardfish (*Aphanopus carbo*) by-products and antioxidative activity of the hydrolysates produced. **Process Biochemistry**, Portugal, v. 45, p. 18-24, 2010.

BERGE, G. M.; STOREBAKKEN, T. Fish protein hydrolyzate in starter diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. **Aquaculture**, Noruega, v. 145, p. 205-212, May. 1996.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: UFLA, 2012. 373p.

BIASUTTI, E. A. R. **Otimização das condições da hidrólise enzimática das proteínas do soro de leite para obter elevado teor de oligopeptídeos: utilização da subtilisina e da pancreatina**. Dissertação (Mestrado). – Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte – MG, 2006.

BOLELI, I. C.; MAIORKA, A.; MACARI M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. (Ed). **Fisiologia Aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, 2002. p. 75-92.

CHABEAUD, A.; VANDAJON, L.; BOURSEAU, P.; JAOUEN, P.; GUÉRARD, F. Fractionation by ultrafiltration of a saithe protein hydrolysate (*Pollachius virens*): Effect of material and molecular weight cut-off on the membrane performances. **Journal of Food Engineering**, [S. l.], v. 91, p. 408–414, 2009.

CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENTE, D. **Proteínas alimentarias: bioquímica - propiedades funcionales - valor nutricional - modificaciones químicas**. Zaragoza: Acribia, 1989, 346 p.

CHEN, H. M.; MURAMOTO, K.; YAMAUCHI, F.; FUJIMOTO, K.; NOKIHARA, K. Antioxidative Properties of Histidine-Containing Peptides Designed from Peptide Fragments Found in the Digests of a Soybean Protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Japão, v. 46, n. 1, p. 49-53, Nov. 1998.

CHEN, J. R.; YANG, S. C.; SUETSUNA, K.; CHAO, J. C. J. Soybean protein-derived hydrolysate affects blood pressure in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Food Biochemistry**, Connecticut, v. 28, p. 61-73, May. 2004.

CLEMENTE, A. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v.11, p. 254-262, 2000.

DINIZ, F. M.; MARTIN, A M. **Manual de Pesca**. São Paulo: Varela, 1999.

DUARTE, K. F.; IBUKI, M.; FUKUI, K.; KATO, M.; SANTOS, E. T.; JUNQUEIRA, O. M. Effect of hydrolyzed copra meal separately or in combination with *Bacillus cereus* var. *toyoi* on growth performance of broiler chickens. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 36, n. 4, p. 373-377, 2014.

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

GURGEL, L. V. A. **Hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar**: Estudo cinético de sacarificação de celulose para produção de etanol. Tese (Doutorado). – Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos - SP, 2010.

GOLDHOR, S.H.; REGENSTEIN, J.M. U.S. Fisheries products: a selective update and review. **Foodstuffs**, v. 60, n. 20, p. 14-16, 1988.

GRIMBLE, G. K.; KEOHANE, P. P.; HIGGINS, B. E.; JUNIOR KAMINSKI, M. V.; SILK, D. B. Effect of peptide chain length on amino acid and nitrogen absorption from two lactoalbumin hydrolysates in the normal human jejunum. **Clinical Science**, Londres, v. 71, n. 1, p. 65-9, 1986.

HAARD, N. F. A review of proteolytic enzymes from marine organisms and their applications in the food industry. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 1, n.1, p. 17-35, 1992.

HERMANNSDOTTIR, R.; JOHANNSDOTTIR, J.; SMARADOTTIR, H.; SIGURGISLADOTTIR, S.; GUDMUNDSDOTTIR, B. K.; BJORNSDOTTIR, R. Analysis of effects induced by a pollock protein hydrolysate on early development, innate immunity and the bacterial community structure of first feeding of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. **Fish and Shellfish Immunology**, [S. l.], v. 27, p. 595-602, 2009.

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.

HILL, F. W.; ANDERSON, D. L. Comparison of metabolizable energy and productive energy determinations with growing chicks. **Journal of Nutrition**, Nova Iorque, v. 64, n. 3, p. 587-604, 1958.

HRČKOVÁ, M.; RUSŇÁKOVÁ, M.; ZEMANOVIČ, J. Enzymatic Hydrolysis of Defatted Soy Flour by Three Different Proteases and their Effect on the Functional Properties of Resulting Protein Hydrolysates. **Czech Journal of Food Sciences**, [S.l.], v. 20, n. 1, p. 7-14, 2002.

KATO, R. K.; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, E. J.; de BRITO, J. A. G.; CASTRO, S. F. metabolizable energy of corn hybrids for broiler chickens at different ages. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1218-1226, nov./dez., 2011.

KIM, S. Y.; PARK, P. S. W.; RHEE, K. C. Functional properties of proteolytic enzyme modified soy protein isolate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.38, n.3, p.651–656, 1990.

KONG, X.; GUO, M.; HUA, Y.; CAO, D.; ZHANG, C. Enzymatic preparation of immunomodulating hydrolysates from soy proteins. **Bioresource Technology**, v.99, p.8873–8879, 2008.

LAHL, W.J.; BRAUN, S.D. Enzymatic production of protein hydrolysates for food use. **Food Technology**, v. 48, n. 10, p. 68-71, 1994.

LEESON, S., CASTON, L., SUMMERS, J. D. Layer performance of four strains of leghorn pullets subjected to various rearing programs. **Poultry Science**, v. 76, p. 1-5, 1997.

MACLEOD, G.; SEYYDAIN-ARDEBILI, M. Natural and simulated meat flavors. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 14, p. 309-347, 1981.

MANNHEIM, A.; CHERYAN, M. Enzyme-modified proteins from corn gluten meal: preparation and functional properties. **Journal of the American Oil Chemists' Society, Urbana**, v. 69, n. 12, p. 1163 - 1169, dez. 1992.

MARTINS, V. G.; PELAZI, S. C.; COSTA, J. A. V.; PRENTICE, C. Hydrolysis of Insoluble Fish Protein Residue from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) by Fungi. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 57, n. 1, p. 96-102, 2014.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica Básica**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2007.

MATTERSON, L. D.; POTTER, L. M.; STUTZ, N. W. SINGSEN, E. P. The metabolizable energy of feed ingredients for chickens. **Agricultural Experiment Station Research Report**, v. 7, p. 3-22, July. 1965.

MIRANDA, L. C. **Obtenção e caracterização de hidrolisados enzimáticos de proteínas do farelo de soja**. Dissertação (Mestrado). – Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos - SP, 2012.

NAGAOKA, S.; MIWA, K.; ETO, M.; KUZUYA, Y.; HORI, G.; YAMAMOTO, K. Soy Protein Peptic Hydrolysate with Bound Phospholipids Decreases Micellar Solubility and Cholesterol Absorption in Rats and Caco-2 Cells. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1725-1730, 1999.

NAGATA, A. K.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F.; BERTECHINI, A. G.; FIALHO, E. T. Energia metabolizável de alguns alimentos energéticos para frangos de corte, determinada por ensaios metabólicos e por equações de predição. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 668-677, maio/jun., 2004.

NEVES, R. A. M.; DE MIRA, N. V. M.; MARQUEZ, U. M. L. Caracterização de hidrolisados enzimáticos de pescado. **Ciência e tecnologia de alimentos**, Campinas, v. 24, n. 1, p.101-108, jan/mar., 2004.

NIELSEN, P.M.; PERTERSEN, D.; DAMBMANN, C. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. **Food Chemistry and Toxicology**, v.66, p.642-646, 2001.

NRC. **National Research Council. Nutrient requirements of poultry - 9 ed.** Washington, D. C., National Academy of Science. 157 pp. (Nutrient requirements of domestic animals), 1994

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.

PAIVA, F. C.; ALECRIM, M. M.; TEIXEIRA, M. F. S.; KIRSCH, L. S.; JESUS, R. S. Produção de hidrolisado proteico de pirarucu utilizando-se protease de *Aspergillus flavo-furcatis* e pancreatina. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 1, p. 89-96, 2015.

PEÑA-RAMOS, E. A.; XIONG, Y. L. Antioxidant Activity of Soy Protein Hydrolysates in a Liposomal System. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 8, p. 2952-2956, 2002.

RITCHIE, A. H.; MACKIE, I.M. Preparation of fish protein hydrolysates. **Animal Feed Science and Technology**, v. 7, p. 125-133, 1982.

ROSTAGNO, H. S, ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. Ed. Viçosa - MG: UFV, 2011, 252 p.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: Funep, 2007, 283 p.

SAS INSTITUTE. **SAS User's guide: statistics**. Software Version 9.0. Cary, NC, USA, 2004.

SHIRES, A.; ROBBLEE, A. R.; HARDIN, R.T.; CLANDININ, D. R. Effect of the age of chickens on true metabolizable energy values of feed ingredients. **Poultry Science**, Champaign, v. 59, n. 2, p. 396-403, Mar. 1980.

SIBBALD, I. R. Measurement of bioavailable energy in poultry feedingstuffs: A review. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 62, n. 4, p. 983-1048, 1982.

SILVA, E. P.; RABELLO, C. B.; LIMA, M. B.; LOUREIRO, R. R. S.; GUIMARÃES, A. A. S.; DUTRA JUNIOR, W. M. valores energéticos de ingredientes convencionais para aves de postura comercial. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 91-100, jan./mar. 2009.

SILVA, J. F. X. **Produção e caracterização de hidrolisado protéico provenientes de resíduos de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2010. 75f. (Dissertação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, 2010.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa - MG: UFV, 2012, 235 p.



SILVA, C. M.; FONSECA, R. A. S.; PRENTICE, C. Comparing the hydrolysis degree of industrialization byproducts of Withemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) using microbial enzymes. **International Food Research Journal**, v. 21, n. 5, p. 1757-1761, 2014.

SLIZYTÉ, R., MOZURAITYTÉ, R., MARTÍNEZ-ALVAREZ, O., FALCH, E., FOUCHEREAU-PERON, M.; RUSTAD, T. Functional, bioactive and antioxidative properties of hydrolysates obtained from cod (*Gadus morhua*) backbones. **Process Biochemistry**, v. 44, p. 668-677, 2009

SONG, Z.; LI, H.; WANG, J.; LI, P.; SUN, Y.; ZHANG, L. Effects of fishmeal replacement with soy protein hydrolysates on growth performance, blood biochemistry, gastrointestinal digestion and muscle composition of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). **Aquaculture**, v. 426-427, p. 96-104, 2014.

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.

TORRUCO-UCO, J.G., DOMINGUEZ-MAGAÑA, M.A., DAVILA-ORTIZ, G., MARTINEZ-AYALA, A., CHEL-GUERRERO, L.A. AND BETANCUR-ANCONA, D.A. Péptidos antihipertensivos, una alternativa de tratamiento de origen natural: una revisión. **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, v. 6, n. 2, p. 158-168, 2008.

VELÍZEK, J.; DAVÍDEK, T.; DAVÍDEK, J; KUBELKA, V.; VÍDEN, I. 3-Chloro1,2-propanediol derived amino alcohol in protein hydrolysates. **Journal of Food Science**, v. 56, p. 136-138, 1991.

VIEITES, F.M. **Valores energéticos e de aminoácidos digestíveis de farinhas de carne e ossos para aves**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 75p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1999.

ZAVAREZE, E. R.; SILVA, C. M.; SALAS-MELLADO, M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Funcionalidade de hidrolisados proteicos de cabrinha (*prionotus punctatus*) obtidos a partir de diferentes proteases microbianas. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1739-1743, 2009.

WU, J.; DING, X. Hypotensive and Physiological Effect of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Peptides Derived from Soy Protein on Spontaneously Hypertensive Rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 501-506, 2001.

YADAV, N.; SHARMA, V.; KAPILA, S.; MALIK, R. K.; ARORA, S. Hypocholesterolaemic and prebiotic effect of partially hydrolysed psyllium husk supplemented yoghurt. **Journal of Functional Foods**, v. 24, p.351–358, 2016.