

ANO
2017

JULIANO UCZAY - UTILIZAÇÃO DE HIDROLISADOS DE ORIGEM ANIMAL E VEGETAL EM DIETAS PARA JUVENIS DE JUNDIÁ



UDESC

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

TESE DE DOUTORADO

Utilização de hidrolisados de origem animal e vegetal em dietas para juvenis de jundiá

JULIANO UCZAY

Lages, 2017

Juliano Uczay

Utilização de hidrolisados de origem animal e vegetal em dietas para juvenis de jundiá

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

Orientador: Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat

Coorientador: Dr. Clovis Eliseu Gewehr

LAGES

2017

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

Uczay, Juliano
Utilização de hidrolisados de origem animal e
vegetal em dietas para juvenis de jundiá / Juliano
Uczay. - Lages , 2017.
96 p.

Orientador: Thiago El Hadi Perez Fabregat
Co-orientador: Clovis Eliseu Gewehr
Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal, Lages, 2017.

1. alimentos alternativos. 2. hidrolise . 3.
resíduo de tilápia. 4. fontes vegetais. 5. fonte
proteica . I. El Hadi Perez Fabregat, Thiago . II.
Eliseu Gewehr, Clovis . , .III. Universidade do
Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal. IV. Título.

Juliano Uczay

**UTILIZAÇÃO DE HIDROLISADOS DE ORIGEM ANIMAL E VEGETAL EM
DIETAS PARA JUVENIS DE JUNDIÁ**

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

Banca Examinadora

Orientador: _____
Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat
(Universidade do Estado de Santa Catarina)

Membro: _____
Dr. Gonzalo Martínez Rodríguez
(Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía)

Membro: _____
Dr. Wilson Rogério Boscolo
(Universidade Estadual do Oeste do Paraná)

Membro: _____
Dr. Marcos Luiz Pessatti
(Universidade do Vale do Itajaí)

Membro: _____
Dr. Dimas Estrasulas de Oliveira
(Universidade do Estado de Santa Catarina)

LAGES, SC, 08/12/17

Agradecimentos

Ao meu pai Sergio, mãe Diolisete e Irmã Mariana Uczay que sempre me acompanharam e me ajudaram durante a minha caminhada acadêmica!

A minha esposa Charlene que esteve sempre do meu lado ao longo do Doutorado, me apoiando e aguentando o fato de eu dividir os finais de semana entre ela e a tese...

Ao meu orientador Thiago El Hadi Fabregat que sempre se mostrou prestativo, desde a primeira vez que conversamos! Obrigado por todos os ensinamentos e por ter paciência durante todo o processo de escrita da tese!

Ao meu co-orientador Clovis Eliseu Gehwer por sempre se mostrar prestativo e me auxiliar durante o período do doutorado.

Ao professor Rafael Lazzari por disponibilizar a estrutura do Laboratório de Piscicultura e pelas sugestões na elaboração dos artigos.

Aos integrantes do Laboratório de Piscicultura – UFSM: Eduardo (Tuco), Emerson, Thamara, Luiza, Adelita, Samuel, Suziane e Juliano (Pimenta) que me auxiliaram durante os ensaios experimentais e análises de laboratório.

Aos integrantes do Laboratório de Piscicultura da UDESC, em especial ao José e a Bárbara, os pioneiros do professor Thiago na ciência de trabalhar com hidrolisados! Obrigado por toda ajuda!

Aos amigos Fernando, Lucas, Mauricio e Wagner, obrigado pela parceria e por disponibilizar a casa de vocês nos períodos em que estive cursando as disciplinas do doutorado.

A professora Nilce Coelho Peixoto por todos os ensinamentos na área de bioquímica! Agradeço também pelo auxílio nas análises bioquímicas e oxidativas que compõem esta tese, bem como também pela ajuda na elaboração dos artigos.

Ao professor Juan Miguel Mancera da Universidade de Cádiz por ser meu orientador durante o período de intercâmbio na Universidade de Cádiz. Agradeço também aos alunos do professor Juanmi: Nacho, Cristina, Arleta, Andre, Juan Miguel, Mirian e Adrian. Obrigado a todos pela amizade e pelos ensinamentos!

Ao Leandro e Ismael grandes amigos e que hoje considero os irmãos mais velhos que eu não tive. Agradeço pela paciência de me ensinar espanhol e pela amizade de vocês.

Aos amigos da “Residência Bahia” Alejandro, Arthur, Margaret, Ana Paula, Pao e Samir durante o tempo que estive na Universidade de Cádiz.

Ao Dr. Gonzalo sem ele não seria possível o intercâmbio na Universidade de Cádiz! Obrigado por ser uma pessoa hospitaleira e mesmo não sendo professor na profissão, é de alma, pois possui uma grande vontade de ensinar! Aproveito para agradecer também aos integrantes do Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía: Neda e Ali pela amizade e ensinamentos.

Aos pesquisadores e técnicos da Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) de Huelva, Espanha. Em especial ao Marcelino pelos ensinamentos durante os dias que passei neste centro de pesquisa.

Ao professor Marcos Pessatti pela disponibilidade de realizar partes das análises que compõe esta tese, bem como também por sua contribuição na elaboração dos artigos.

A Fundação Carolina por financiar meu intercambio na Universidade de Cádiz. Fato este que me proporcionou uma grande experiência científica e cultural no velho continente!

Aos programas Peipsm, Fiex 2016 e 2017 que proporcionaram recursos que financiaram parte das análises presentes nos manuscritos.

Aos peixes que deram a sua vida pelo pequeno progresso científico que este trabalho proporcionou!

A todos os verdadeiros trabalhadores da ciência brasileira, que mesmo sem recursos, sem equipamentos, sem incentivo e sem reconhecimento, ainda lutam para que a pesquisa prospere e possa trazer um pouco de avanço técnico-científico em nosso país!

**Caminante, son tus huellas
el camino y nada más;
Caminante, no hay camino,
se hace camino al andar.**

Antonio Machado

RESUMO

UCZAY, Juliano. **Utilização de hidrolisados de origem animal e vegetal em dietas para juvenis de jundiá** 2017. 96 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UDESC), Lages, SC, 2017.

A produção de hidrolisados proteicos de pescado (HPP) é uma alternativa para o reaproveitamento dos resíduos resultantes da aquicultura. Os HPP são ricos em aminoácidos e peptídeos de fácil absorção. Podem ser utilizados em dietas para peixes, visando a substituição da farinha de pescado de origem marinha. O alto teor proteico dos HPPs, junto com a quantidade de aminoácidos essenciais, favorece a formulação de dietas para peixes, principalmente nas fases iniciais. Os peptídeos de baixo peso molecular presentes nos HPPs promovem benefícios em termos de absorção proteica. A utilização de HPPs em dietas para peixes é bastante promissora, devido a quantidade de aminoácidos essenciais e peptídeos bioativos. Porém, nem sempre a utilização destas fontes proteicas se revertem em benefícios no crescimento e saúde de peixes cultivados. Neste sentido, este trabalho tem como objetivo avaliar a substituição da farinha de peixe de origem marinha por hidrolisado proteico de tilápia (TPH) e hidrolisado de soja (SBH) em dietas para o jundiá (*Rhamdia quelen*), verificando os efeitos sobre crescimento, composição corporal, parâmetros sanguíneos, parâmetros bioquímicos e biomarcadores de estresse oxidativo. Foram conduzidos dois ensaios experimentais, onde a farinha de peixe de origem marinha foi substituída por TPH (1º ensaio) e SBH (2º ensaio) em dietas para juvenis de jundiá. Para isso, em cada ensaio foram produzidas cinco dietas isoproteicas e isoenergéticas (37% de proteína bruta; 3500 kcal/kg de energia bruta) contendo níveis de substituição da farinha de peixe por TPH e SBH. Os níveis de inclusão dos hidrolisados (TPH e SBH) foram de 0, 5, 10, 15 e 20%, em ambos os ensaios experimentais. O tempo total do experimento com inclusão de TPH foi de 30 dias e do SBH foi de 60 dias. A inclusão de 20% de TPH nas dietas aumentou o crescimento de juvenis de jundiá. Níveis acima de 5% de TPH aumentou a incorporação de proteína nos tecidos, diminuiu a quantidade de amônia endógena e melhorou a eficiência do metabolismo oxidativo. A inclusão de SBH a partir do nível de 5% na dieta proporcionou melhor crescimento dos jundiás, não influenciando na deposição de proteína corporal. A dieta contendo de 20% de SBH promoveu um aumento nas quantidades dos tióis não proteicos nas brânquias e cérebro. A inclusão de SBH, não afetou a produção de compostos nitrogenados no fígado e músculo também. A substituição da farinha de peixe de origem marinha pelo TPH ou por SBH, é interessante do ponto de vista ambiental, considerando o declínio dos estoques pesqueiros no mundo e a otimização dos recursos naturais. Os hidrolisados TPH ou SBH podem ser utilizados em dietas para o jundiá como fonte proteica, pois promovem benefícios no crescimento e na saúde de juvenis de jundiá.

Palavras-chave: enzimas proteolíticas; metabolismo proteico; fonte proteica; ingredientes alternativos

ABSTRACT

UCZAY, Juliano. **U Use of hydrolysates of animal and vegetable origin in diets for south american catfish juveniles** 2017. 96 f. Thesis (Doctorate in Animal Science) - University of the State of Santa Catarina. Agroveterinárias Science Center (CAV/UDESC), Lages, SC, 2017.

The production of fish protein hydrolysates (HPP) is an alternative for the reuse of residues resulting from aquaculture. HPPs are rich in easily absorbed amino acids and peptides. They can be used in diets for fish, aiming at the substitution of fishmeal of marine origin. The high protein content of HPPs, along with the amount of essential amino acids, favors the formulation of fish diets, especially in the early stages. The low molecular weight peptides present in HPPs provide benefits in terms of protein absorption. The use of HPPs in fish diets is quite promising due to the amount of essential amino acids and bioactive peptides. However, the use of these protein sources does not always revert to benefits in the growth and health of farmed fish. In this sense, this work aims to evaluate the substitution of fish meal of marine origin by tilapia protein hydrolyzate (TPH) and soy hydrolyzate (SBH) in diets for south american catfish (*Rhamdia quelen*), verifying the effects on growth, composition body parameters, blood parameters, biochemical parameters and biomarkers of oxidative stress. Two experimental trials were conducted, where fishmeal of marine origin was replaced by TPH (1st test) and SBH (2nd test) in diets for south american catfish juveniles. For this, five isoproteic and isoenergetic diets (37% crude protein, 3500 kcal/kg crude energy) containing fishmeal replacement levels were produced by TPH and SBH. The inclusion levels of the hydrolysates (TPH and SBH) were 0, 5, 10, 15 and 20%, in both experimental trials. The total time of the experiment with inclusion of TPH was 30 days and the SBH was 60 days. The inclusion of 20% TPH in diets increased the growth of jundia juveniles. Levels above 5% TPH increased protein incorporation in tissues, decreased the amount of endogenous ammonia and improved the efficiency of oxidative metabolism. The inclusion of SBH from the 5% level in the diet provided a better growth of jundias, not influencing the deposition of body protein. The diet containing 20% of SBH promoted an increase in the amounts of non-protein thiols in the gills and brain. The inclusion of SBH did not affect the production of nitrogen compounds in the liver and muscle as well. The replacement of fishmeal of marine origin by the TPH or by SBH is interesting from the environmental point of view, considering the decline of fish stocks in the world and the optimization of natural resources. TPH or SBH hydrolysates can be used in diets for south american catfish as a protein source, since they promote growth and health benefits of jundiá juveniles.

Keywords: proteolytic enzymes; protein metabolism; protein source; alternative ingredients

Lista de Tabelas

Capítulo 1

Tabela 1 - Composição bromatológica e grau de hidrólise (GH) hidrolisados utilizados em dietas para peixes	41
Tabela 2 – Peso molecular e percentual de peptídeos observados em diferentes tipos de hidrolisados.....	42
Tabela 3 – Aminoácidos essenciais e não essenciais presentes nos diferentes tipos de hidrolisados.....	43
Tabela 4 – Principais benefícios dos hidrolisado utilizados em dietas para peixes.....	44

Capítulo 2

Tabela 1 - Composição proximal e grau de hidrólise (DH) do hidrolisado proteico de tilápia (TPH).....	66
Tabela 2 - Formulação, composição química e aminoácidos de dietas contendo diferentes níveis de adição do hidrolisado proteico de tilápia (TPH).....	67
Tabela 3 - Crescimento de juvenis de jundiás alimentados com diferentes níveis de inclusão de hidrolisado proteico de tilápia (TPH).....	68
Tabela 4 - Composição centesimal corporal e muscular de juvenis de jundiá alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de tilápia (TPH).....	68
Tabela 5 - Bioquímica do fígado e musculo de jundiá alimentados com diferentes níveis de hidrolisados proteicos de tilápia (TPH).....	69
Tabela 6 - Parâmetros da série vermelha e plasma de juvenis de jundiá alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de tilápia (TPH).....	69
Tabela 7 - Biomarcadores oxidativos de juvenis de jundiás alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico tilápia (TPH).....	69

Capítulo 3

Tabela 1 - Composição proximal e grau de hidrólise (DH) do hidrolisado proteico de soja (SBH).....	89
Tabela 2 - Formulação e composição centesimal de dietas contendo diferentes níveis de adição do hidrolisado proteico de soja (SBH).....	89
Tabela 3 – Composição de aminoácidos de dietas contendo diferentes níveis de hidrolisado proteico de soja (SBH).....	90
Tabela 4 - Parâmetros de crescimento de jundiás alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de soja (SBH).....	91
Tabela 5 - Composição química corporal e muscular de jundiás alimentados com diferentes níveis de hidrolisado de soja (SBH).....	91
Tabela 6 - Série vermelha sangue e parâmetros plasmáticos de jundiás alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de soja (SBH).....	92
Tabela 7 - Bioquímica do fígado e músculo de jundiás alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de soja (SBH).....	93
Tabela 8 - Tióis proteicos e não proteicos em tecidos de jundiás alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de soja (SBH).....	94

Lista de figuras

Capítulo 1

Figura 1 – Principais etapas presentes no processo de produção do HPP.....40

Figura 2 – Gráfico comparando o perfil de aminoácidos presente em hidrolisados e fontes proteicas tradicionais.....45

Capítulo 2

Figura 1 – Concentração de amônia no fígado de jundiás alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de tilápia (TPH)..... 70

Figura 2 – Concentração de amônia no musculo de jundiá alimentados com difentes niveis de hidrolisado proteico de tilápia (TPH)..... 70

Capítulo 3

Figura 1 – Peso final de juvenis de jundiá alimentados com diferentes níveis de hidrolisado de soja (SBH).....94

Sumário

Apresentação	15
Capítulo 1 - Composição de hidrolisados proteicos de pescado e inclusão em dietas para peixes cultivados: efeitos no crescimento, fisiologia e saúde	16
Introdução.....	18
Hidrolisados proteicos de pescado: produção e caracterização.....	20
Tipos de hidrolisado	20
Processos de produção de HPPs por hidrólise enzimática.....	21
Composição dos hidrolisados	22
Hidrolisados proteicos de pescado: utilização em dietas para peixes	26
Efeitos dos hidrolisados sobre o crescimento de peixes	26
Hidrolisados proteicos e palatabilidade das dietas para peixes	28
Hidrolisados em dieta para peixes e efeitos no metabolismo proteico	28
Perspectivas na utilização de hidrolisados em dietas para peixes cultivados	29
Conclusão	30
Referências.....	30
Capítulo 2 - Hidrolisado proteico de tilápia melhora o desempenho, a incorporação de proteína corporal e o estado antioxidante jundiá	46
1. Introdução	48
2. Material e métodos	50
2.1. Peixes e instalações experimentais	50
2.2. Produção do hidrolisado proteico de tilápia e dietas experimentais.....	51
2.3. Manejo alimentar e análises de parâmetros físico-químicos da água.....	52
2.4 Amostragem.....	53
2.5 Análises.....	53
2.5.1 Parâmetros de crescimento	54

2.5.2 Composição corporal e muscular	54
2.5.3 Bioquímica do fígado e do músculo.....	54
2.5.4 Parâmetros hematológicos e bioquímica sanguínea.....	55
2.5.5 Biomarcadores de estresse oxidativo	55
2.6 Análise estatística.....	55
3. Resultados.....	56
3.1 Crescimento.....	56
3.2. Composição corporal e muscular	56
3.3 Parâmetros bioquímicos do fígado e músculo.....	56
3.4. Parâmetros hematológicos e bioquímica do plasma	57
3.4 Biomarcadores oxidativos	57
4. Discussão	57
4.1. Crescimento.....	57
4.2 Composição corporal e parâmetros bioquímicos	59
4.3. Parâmetros hematológicos e plasmáticos.....	60
4.4. Biomarcadores oxidativos	61
Referências.....	62

Capítulo 3 - Desempenho, composição corporal e parâmetros bioquímicos de juvenis de jundiá alimentados com hidrolisado de soja em substituição a farinha de peixe ... 73

Resumo	72
Introdução	73
Material e métodos.....	74
Peixe e instalações experimentais	75
Processo de produção de hidrolisado de soja e dietas experimentais	75
Manejo alimentar e análise dos parâmetros físico-químicos da água	76
Coleta de amostras	76

Análises das amostras	77
Parâmetros de crescimento	77
Composição corporal e do músculo.....	77
Parâmetros bioquímicos do fígado e músculo	78
Parâmetros hematológicos e plasmáticos	78
Tióis totais e não proteicos	78
Análises estatísticas	78
Resultados	78
Crescimento	78
Composição corporal e do filé.....	79
Parâmetros sanguíneos.....	79
Parâmetros bioquímicos fígado e músculo	79
Tióis totais e não proteicos	79
Discussão	79
Conclusões	82
Referências Bibliográficas	82
Considerações finais.....	95

Apresentação

Esta tese contém três capítulos, sendo que nesses se encontram os seguintes manuscritos:

- **Capítulo 1** – Manuscrito elaborado no formato de revisão bibliográfica com o título: “Composição de hidrolisados proteicos de pescado e inclusão em dietas para peixes cultivados: efeitos no crescimento, fisiologia e saúde”. Este manuscrito está nas normas da Latin American Journal of Aquatic Research (LAJAR).
- **Capítulo 2** – Manuscrito elaborado na forma de artigo científico com o título “Hidrolisado proteico de tilápia melhora o desempenho, a incorporação de proteína corporal e o estado antioxidante jundiá”. Este manuscrito está de acordo com as normas do periódico “Animal feed science and technology”.
- **Capítulo 3** – Manuscrito elaborado na forma de artigo científico com o título: “Desempenho, composição corporal e parâmetros bioquímicos de juvenis de jundiá alimentados com hidrolisado de soja em substituição a farinha de peixe”. Este manuscrito está de acordo com as normas do periódico “Aquaculture research”.

Capítulo 1

**Composição de hidrolisados proteicos de
pescado e inclusão em dietas para peixes
cultivados: efeitos no crescimento,
fisiologia e saúde**

Composição de hidrolisados proteicos de pescado e inclusão em dietas para peixes cultivados: efeitos no crescimento, fisiologia e saúde

Composição de hidrolisados proteicos de pescado e inclusão em dietas para peixes cultivados: efeitos no crescimento, fisiologia e saúde

Juliano Uczay¹ Thiago El Hadi Perez Fabregat²

¹Doutorado em Ciência Animal, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Avenida Luís de Camões 2090, Lages, Brasil

²Departamento de Produção Animal, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Avenida Luís de Camões 2090, Lages, Brasil

Autor para correspondência: Thiago El Hadi Perez Fabregat (thiagofabregat@hotmail.com)

RESUMO. A produção de hidrolisados proteicos de pescado (HPP) é uma alternativa para o reaproveitamento dos resíduos resultantes da aquicultura. Os HPP são ricos em aminoácidos e peptídeos de alta digestibilidade. Podem ser utilizados em dietas para peixes visando a substituição da farinha de pescado de origem marinha. O alto teor proteico dos HPPs favorece a formulação de dietas para peixes, principalmente nas fases larval e juvenil. Atualmente presença de peptídeos de baixo peso molecular tem despertado o interesse no uso dos HPPs como promotores de crescimento. Os peptídeos presentes nos HPPs podem ainda atuar como antimicrobianos, imunoestimulantes e antioxidantes. Ensaio *in vivo* com várias espécies de peixes e diferentes tipos de HPPs foram realizados. Estes estudos verificam os efeitos destes ingredientes no crescimento e metabolismo proteico de peixes. Esta revisão teve como objetivo reunir trabalhos envolvendo a caracterização e utilização de hidrolisados de origem animal na alimentação de peixes cultivados.

Palavras-chaves: nutrição, hidrólise enzimática, ingredientes alternativos, peptídeos.

Utilización de hidrolizados proteicos de pescado en dietas para peces cultivados: efectos en crecimiento, fisiología y salud.

RESUMEN. La producción de hidrolizados proteicos de pescado (HPP) es una alternativa a los residuos resultantes de la acuicultura. Los HPP son ricos en aminoácidos y péptidos de alta digestibilidad. Pueden ser utilizados en dietas para peces para la sustitución de la harina de pescado de origen marino. Estas características también confieren a los HPP su uso en períodos de mayor demanda proteica para peces, que en el caso se encuentra en la fase larval y juvenil. La presencia de péptidos de bajo peso molecular ha despertado el interés en el uso de los HPP como promotores de crecimiento. Los péptidos presentes en los HPP pueden actuar como antimicrobianos, inmunoestimulantes y antioxidantes. Se realizaron ensayos en vivo con varias especies de peces y diferentes tipos de HPP. Estos estudios verificaron los efectos de estos ingredientes en el crecimiento, fisiología y salud de los peces. Esta revisión tuvo como objetivo reunir trabajos involucrando la caracterización y utilización de hidrolizados de origen animal en la alimentación de peces cultivados.

Palabras clave: nutrición, hidrólisis enzimática, ingredientes alternativos, péptidos.

Introdução

A farinha de peixe marinha é o ingrediente mais utilizado em dietas para organismos aquáticos (FAO, 2014). Este ingrediente possui uma alta digestibilidade da fração proteica, além de ter um perfil de aminoácidos adequado para atender as exigências de aminoácidos essenciais de peixes cultivados (Tacon & Metian, 2008). A utilização da farinha de peixe gera problemas ambientais, pois reduz estoques pesqueiros naturais (Chalamaiah *et al.*, 2012). O alto preço faz com que a indústria busque substitutos para este produto (Apper *et al.*, 2016). Neste contexto, há necessidade de encontrar produtos proteicos com qualidade similar ou superior a farinha de peixe que possam ser incluídos em dietas para peixes.

Os hidrolizados proteicos de pescado (HPPs) podem ser utilizados na substituição da farinha de peixe de origem marinha em dietas para peixes (Refstie *et al.*, 2004; Tang *et al.*, 2008; Bui *et al.*, 2014; Cai *et al.*, 2015; Khosravi, *et al.*, 2015). Os HPPs são produtos originados a partir da hidrólise enzimática de proteínas presentes nos resíduos de pescado, que resulta na liberação de pequenos peptídeos e aminoácidos livres, que são mais facilmente absorvidos pelos animais (Wisuthiphaet & Kongruang, 2015). Essa tecnologia transforma os resíduos em um

produto de alto valor biológico (Chabeaud *et al.*, 2009). O alto aproveitamento metabólico da fração proteica dos HPPs favorece a incorporação de proteína corporal (Bui *et al.*, 2014; Zheng *et al.*, 2014). Os peptídeos de baixo peso molecular presentes no HPP são mais facilmente absorvidos pelos enterócitos em comparação com macromoléculas de alto peso molecular (Zheng *et al.*, 2014). A substituição da farinha de peixe pelo HPP na dieta melhorou os parâmetros de crescimento de *Pseudosciaena crocea* (Tang *et al.*, 2008), salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (Refstie *et al.*, 2004), sea bream red (*Pagrus major*) (Bui *et al.*, 2014), olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) (Khosravi, *et al.*, 2015) e large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) (Cai *et al.*, 2015).

A inclusão de HPP na dieta também pode proporcionar benefícios para a saúde de peixes (Kotzamanis *et al.*, 2007; Shahidi & Janak Kamil, 2001; Chalamaiah *et al.*, 2012). Os benefícios são atribuídos aos peptídeos bioativos (Hou *et al.*, 2017; Martínez-Alvarez; *et al.*, 2015; Meisel, 2007). Os peptídeos bioativos são fragmentos proteicos específicos que exercem atividades regulatórias nas funções corporais, reduzindo o risco de doenças, ou aumentando uma determinada função fisiológica (Hou *et al.*, 2017; Meisel, 2007). Esses compostos conferem propriedades imunoestimulantes (Ahn *et al.*, 2012), antimicrobianas (Kotzamanis *et al.*, 2007) e antioxidantes (Sampath Kumar *et al.*, 2009) aos HPP. Os peptídeos bioativos podem ser utilizados em dietas para animais de produção, atuando como promotores de crescimento (Martínez-Alvarez *et al.*, 2015).

Os HPPs podem ser incluídos em dietas para peixes, inclusive nas fases mais jovens, para melhorar o crescimento (Gisbert *et al.*, 2012). As propriedades profiláticas podem ser exploradas nos estágios iniciais dos peixes (larval e juvenis) onde estas espécies são mais suscetíveis a doenças. No entanto, são necessárias formas de avaliar a qualidade dos HPPs como por exemplo ensaios *in vitro* (Chalamaiah *et al.*, 2012; Martínez-Alvarez *et al.*, 2015; Gisbert *et al.*, 2012). Os ensaios *in vivo* também são necessários, pois avaliam os benefícios que os HPPs proporcionam no metabolismo de peixes cultivados (Bui *et al.*, 2014; Cai *et al.*, 2015; Chalamaiah *et al.*, 2012; Tang *et al.*, 2008). O objetivo desta revisão é reunir as principais informações sobre a composição e utilização de hidrolisados proteicos em dietas para peixes cultivados, verificando efeitos sobre o crescimento, fisiologia e saúde. A partir deste trabalho espera-se obter novas conclusões sobre a utilização de HPPs em dietas para peixes.

Hidrolisados proteicos de pescado: produção e caracterização

Tipos de hidrolisado

A produção de HPP pode ser efetuada por silagem de pescado ou por hidrólise enzimática (Batista, 2011). A silagem é produzida através da moagem e adição de substâncias ácidas ou básicas que realizam o processo de quebra das proteínas (Batista, 2011). A silagem de pescado possui como principal vantagem o baixo custo. As desvantagens são a falta de padronização do processo e a produção de compostos tóxicos (Benjakul & Morrissey, 1997). A utilização da ensilagem é uma metodologia alternativa, podendo ser utilizada para processar pequenas quantidades de resíduos, sendo bastante conveniente para pequenas indústrias de processamento de pescado.

A hidrólise enzimática diferencia-se da silagem por não ser apenas um processo de quebra proteica química, pois nesta metodologia há a presença de enzimas endógenas ou exógenas (Batista, 2011). A autólise é um tipo de hidrólise enzimática que utiliza proteases endógenas (Silva *et al.*, 2014). A matéria-prima é ensilada junto com porções do trato gastrointestinal, onde então enzimas proteolíticas atuarão no processo de hidrólise (Goosen *et al.*, 2014). Recentes estudos mostraram que as proteases oriundas de vísceras de peixes, podem ser utilizadas na produção de FPH visando a produção de rações para peixes, pois são considerados uma boa fonte de aminoácidos essenciais (Silva *et al.*, 2014). A hidrólise enzimática pode também ser realizada utilizando exopeptidases (Batista, 2011; Kurozawa, *et al.*, 2009). A principal vantagem da hidrólise com exopeptidases é a padronização do processo e conseqüentemente do HPP, devido ao controle da atividade enzimática e temperatura (Aspmo *et al.*, 2005).

O processo de produção dos HPPs por hidrólise enzimática proporciona a formação de duas frações distintas uma solúvel e outra insolúvel (Wosniak *et al.*, 2016). A fração solúvel é a parte líquida do HPP, sendo constituída por peptídeos de baixo peso molecular e aminoácidos livres solúveis em água (Liaset & Espe, 2008). Esta fração concentra a maior parte de peptídeos de baixo peso molecular com características bioativas e por isso possui maior capacidade terapêutica (Chalamaiah *et al.*, 2012). A fração insolúvel é formada por proteínas não clivadas e aminoácidos insolúveis em água (Chalamaiah *et al.*, 2012). O perfil de aminoácidos presentes nestas frações são diferentes, assim a inclusão de ambas em dietas, contribui para um melhor desempenho de peixes (Wosniak *et al.*, 2016). Com isso, a separação das frações solúvel e insolúvel vai depender da finalidade do hidrolisado. Se o objetivo for utilizar hidrolisado para fins terapêuticos, é necessário separar e purificar a fração solúvel do hidrolisado. Porém, quando

o foco é o aproveitamento de resíduos na nutrição animal, é mais interessante utilizar o hidrolisado bruto, que combina os benefícios dos peptídeos, e o valor nutricional dos aminoácidos.

Processos de produção de HPPs por hidrólise enzimática

As etapas de produção dos HPPs estão apresentadas na figura 1. O processo envolve entre outras etapas escolha da matéria prima, da enzima utilizada, o ajuste do pH e temperatura de acordo com a enzima, a hidrólise enzimática, a separação das frações e a secagem (Batista, 2011). O controle da temperatura, tempo de hidrólise e pH, no processo de hidrólise enzimática reduz a destruição de aminoácidos e não prejudica o valor nutricional do HPP (Furlan & Oetterer, 2002). No entanto, não é somente a atuação da enzima que determina a qualidade do HPP, pois o substrato influencia diretamente a composição bromatológica (Nascimento *et al.*, 2008). A escolha da matéria prima que vai constituir o HPP é um dos principais cuidados a serem tomados, pois excesso de gordura, peles e escamas podem prejudicar o processo de hidrólise diminuindo a qualidade do produto final (Batista, 2011). O substrato utilizado pode ser da indústria de filetagem (vísceras, cabeças ou carcaças) ou ainda de peixes inteiros de baixo valor comercial oriundos da indústria da pesca (Chalamaiah *et al.*, 2012). O conhecimento das etapas de produção é importante, uma vez que a otimização dos parâmetros da hidrólise enzimática é essencial para desenvolver um processo ótimo e econômico (Kurozawa *et al.*, 2009).

As enzimas podem ser divididas conforme a especificidade da hidrólise em exopeptidases ou endopeptidases (Batista, 2011). As exopeptidases, atuam nas extremidades da cadeia peptídica (N-terminal e C-terminal) produzindo uma maior quantidade de aminoácidos livres quando comparado as endopeptidases que clivam ligações no interior da cadeia polipeptídica, produzindo mais peptídeos e poucos aminoácidos livres (Hsu *et al.*, 2009). Na produção de HPPs se utiliza geralmente endopeptidases, pois estas favorecem a produção de peptídeos com características funcionais (Valle *et al.*, 2015). As enzimas podem ser obtidas de vegetais, animais ou microrganismos (Kristinsson & Rasco, 2000). As enzimas de origem microbiana, como a alcalase e a neutrase são as mais utilizadas, devido a fácil produção, diversidade de enzimas e facilidade da manipulação genética dos microrganismos (Rao *et al.*, 1998). A Protamex[®] (Novozymes, Bagsvaerd, Dinamarca), é uma enzima bastante utilizada na produção de HPPs, sendo constituída de uma mistura de endo e exopeptidases produzidas a

partir de *Bacillus licheniformis* e *Bacillus amyloliquefaciens* (Liaset *et al.*, 2002). A principal vantagem na utilização da hidrólise enzimática é a produção de peptídeos funcionais (Chalamaiah *et al.*, 2012). A desvantagem é o alto custo para a obtenção destas enzimas (Batista, 2011). Para a produção de HPP, a pepsina é uma das principais endopeptidases de origem animal utilizadas. Possui a vantagem de limitar o crescimento microbiano e apresenta maior rendimento na hidrólise (Batista, 2011).

A enzima utilizada precisa estar em um pH ótimo para não prejudicar o processo de hidrólise, para assim converter o substrato em um HPP de qualidade (Batista, 2011; Chalamaiah *et al.*, 2012). O pH ideal de hidrólise da enzimas pode ser atingindo com a adição de uma solução básica ou ácida (Furlan & Oetterer, 2002). Os HPPs também podem ser produzidos a partir de enzimas básicas como alcalase e neutrase (Chalamaiah *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2014). As enzimas que atuam em meio básico geralmente apresentam uma maior solubilização da proteína (Chalamaiah *et al.*, 2012). O pH alcalino pode trazer desvantagens, aumentando a racemização dos aminoácidos, formando novos compostos que podem alterar as propriedades nutricionais e funcionais das proteínas, diminuindo a absorção proteica (Sgarbieri, 1996). A produção de HPPs pode também ser realizada com a utilização de proteases ácidas como a pepsina, e possui vantagens como menor crescimento microbiano, maior rendimento (Batista, 2011) e menor custo (He *et al.*, 2013). No entanto, o processo de hidrólise ácida pode destruir alguns aminoácidos (Batista, 2011; Sgarbieri, 1996) e aumentar o teor de cinzas comprometendo o valor nutricional da dieta.

Composição dos hidrolisados

A composição bromatológicas de HPPs utilizadas em dietas para peixes estão demonstradas na tabela 1. A matéria seca dos HPPs encontram-se em grande parte na faixa de 80-90% (Tabela 1). Durante o processo de produção dos HPPs adiciona-se água, para homogeneizar o substrato e também proporcionar um meio onde ocorrerá a hidrólise enzimática, o que posteriormente aumenta o teor de umidade (Batista *et al.*, 2011). A quantidade de água adicionada deve ser a mínima possível para não comprometer o processo de hidrólise e também facilitar o processo de secagem do hidrolisado (Batista, 2011; Chalamaiah *et al.*, 2012; Önal & Langdon, 2009). A utilização de processos de secagem eficientes como o spray dryer, diminui a quantidade de água nos HPPs e facilita a inclusão destes produtos em dietas para peixes (Chalamaiah *et al.*, 2010; Önal & Langdon, 2009).

O conteúdo de cinzas dos hidrolisados variou de 3,3 a 11% (Tabela 1). Essa variação pode ser ocasionada pelo processamento ou substrato utilizado na fabricação do HPP. Na fabricação do HPP, a etapa de separação de ossos e espinhas pode reduzir a quantidade de minerais principalmente o fósforo, que é considerado um elemento potencialmente poluente em águas (NRC, 2011). A maior quantidade de ossos, peles e escamas podem aumentar o conteúdo de cinzas de um HPP. Hidrolisados produzidos a partir de krill e camarão obtiveram 10,5% de cinzas, mais que o dobro presente em hidrolisado produzido com resíduos de tilápia que foi de 4,8% (Bui *et al.*, 2014). Neste caso o substrato influenciou, pois o exoesqueleto presente no camarão e no Krill, possivelmente contribuiu para o aumento das cinzas. A elevação do teor de cinzas dos HPPs pode ocorrer também devido a utilização de ácido ou base para ajustar pH ideal para determinada enzima (Choi *et al.*, 2009). O pH ácido ou alcalino elevado pode solubilizar os minerais presentes nos ossos, peles e espinhas presentes no substrato e com isso aumentar o teor de cinzas na fração solúvel do HPP (Batista, 2011).

A matéria mineral presente nos HPPs pode atender as demandas nutricionais de minerais em dietas para peixes peixes, no entanto estes precisam estar equilibrados para evitar a poluição de mananciais de água (NRC, 2011). Durante o processo de produção dos HPPs parte dos ossos e escamas podem ser removidos por filtragem diminuindo a quantidade de minerais, entre eles cálcio e fósforo. Esse fator torna o HPP um ingrediente com potencial poluidor menor, quando comparado com a farinha de peixe. No entanto, ainda não há trabalhos que avaliem a quantidade de minerais presentes nos HPPs e se o processo de hidrólise contribui para uma melhor absorção destes nutrientes.

Observa-se que há uma grande variação no teor de gordura dos HPPs (Tabela 1). Essa variação pode estar ligada ao processo de produção do hidrolisados. A utilização da separação das frações por centrifugação pode reduzir os teores de gordura dos HPPs para menos de 2% da dieta (Chalamaiah *et al.*, 2010). O substrato utilizado para produzir o HPP também pode influenciar no teor de gordura, visto que as vísceras possuem mais gordura que o músculo, por exemplo (NRC, 2011). O alto teor de gordura presente nos HPPs, favorece a utilização deste ingrediente para compor dietas para peixes carnívoros, pois estas espécies possuem uma alta exigência em energia proveniente de lipídeos (NRC, 2011). No caso de espécies marinhas, a fração de gordura presente nos HPPs pode ser fonte de EPA e DHA, que são ácidos graxos essenciais necessários para constituir membranas biológicas. Hidrolisado produzidos a partir de carcaça de tilápia obtiveram a predominância do ácido linolênico (Silva *et al.*, 2014).

Os HPP são considerados fontes de alta quantidade de proteína em sua composição (Chalamaiah *et al.*, 2012; Martínez-Alvarez *et al.*, 2015) e os dados confirmam isto, pois a proteína bruta dos HPPs atingem valores acima dos 60%. Os valores de proteína bruta são iguais ou maiores que o da farinha de peixe (Tabela 1). A maior solubilização da proteína durante o processo de hidrólise, combinado com a remoção das frações lipídica e mineral, concentra a proteína e aumenta o teor deste nutriente no HPP (Liceaga-Gesualdo & Li-Chan, 1999). O alto teor de proteína bruta dos HPPs permite a inclusão deste ingrediente em dietas de espécies carnívoras e também em espécies que encontram nas fases de larva e juvenil (NRC, 2011).

Os HPPs são ingredientes que possuem elevada quantidade de aminoácidos essenciais (Leal *et al.*, 2010). A farinha de peixe é considerada o ingrediente padrão em dietas para animais aquáticos, pois apresenta elevado valor biológico da proteína e equilíbrio de aminoácidos (NRC, 2011). Conforme a figura 1 algumas farinhas de peixe possuem quantidades (mg/kg) menores de lisina e metionina quando comparada com HPPs. A lisina e metionina são aminoácidos limitantes em dietas para peixes, sendo que muitas vezes é necessária a inclusão destes nutrientes na forma sintética para atender as exigências nutricionais de algumas espécies de peixes (NRC, 2011). A quantidade de lisina (Tabela 3) presente nas farinha de anchova, farinha de peixe de subprodutos de tuna e a de subprodutos de peixe branca (NRC, 2011), foi menor que a quantidade presente nos hidrolisados FIM, FSM, FSVI, PUFH, NUFH, RUFH e HPP (Tabela 3). A quantidade de metionina (Tabela 3) seguiu tendência similar, onde em comparação com farinha de anchova, farinha de peixe de subprodutos de tuna e a de subprodutos de peixe branca sendo encontrada em maiores quantidades em FIM, FSM, FSVI, PUFH, NUFH e RUFH.

O perfil de aminoácidos dos HPP pode variar conforme o processamento ou fração utilizada (Klompong *et al.*, 2009). A utilização de hidrólise em meio ácido ou básico pode destruir aminoácidos essenciais, em particular o triptofano, reduzindo o valor nutricional (Plascencia-Jatomea *et al.*, 2002). Isso explica a ausência de triptofano em vários hidrolisados comerciais como hidrolisado de krill, hidrolisado de camarão, hidrolisado de tilápia (Bui *et al.*, 2014) e hidrolisado de peixe (Gisbert *et al.*, 2012). As frações dos HPPs possuem diferentes perfis de aminoácidos, sendo que para o hidrolisado de sardinha a fração insolúvel concentrou a maior quantidade de todos aminoácidos essenciais, exceto a histidina, em comparação com a fração solúvel (Wosniak *et al.*, 2016). Aminoácidos como a alanina, valina, leucina, fenilalanina, prolina, triptofano, metionina e isoleucina, são hidrofóbicos e por isso se concentram mais na fração insolúvel dos HPPs (Liaset & Espe, 2008). Aminoácidos como

serina, treonina, cisteína, asparagina, tirosina, glutamina e glicina são hidrofílicos, e maiores quantidades são observadas na fração solúvel dos HPPs (Liaset & Espe, 2008).

O grau de hidrólise (GH) é um dos critérios que pode ser utilizado para definir a qualidade de um HPP. O grau de hidrólise mensura a extensão da proteólise, relacionando o percentual de clivagem das ligações peptídicas com a quantidade total de proteína do substrato utilizado para a produção do HPP (Martínez-Alvarez *et al.*, 2015). O GH pode ser mensurado pelas metodologias ácido trinitrobenzenosulfônico (TNBS), ácido tricloroacético (TCA), ortoftalaldeído (OPA) e pH stat (Nielsen, Petersen, & Dambmann, 2001). A metodologia do TNBS forma compostos de cor através da reação com os grupos amino, no entanto este reagente é instável e sensível à luz (Rajalingam *et al.*, 2009). O método que utiliza o ácido tricloroacético expressa a porcentagem de proteínas solúveis em TCA relacionando à quantidade de proteína inicial total determinada por micro Kjeldahl (Hoyle & Merritt, 1994). O ortoftalaldeído (OPA) reage com grupos amino-livres na presença de beta-mercaptoetanol, ocorrendo formação coloração detectável a 340 nm em espectrofotômetro (Schuster, 1988). O OPA é a metodologia mais recomendada por ser de fácil execução, além de ser mais precisa durante a leitura espectrofotométrica quando comparado com o TNBS (Batista, 2011; Rajalingam *et al.*, 2009). O pH stat pode ser utilizado para mensurar o GH (Flaschel, & Renken, 1994). A metodologia parte do princípio que quando a hidrólise ocorre em condições neutras ou alcalinas, prótons são liberados a partir dos aminoácidos livres, o que leva a uma redução do pH. Assim, o número de ligações peptídicas pode ser estimada a partir da quantidade de base necessária para manter o pH constante durante a reação (Adler-Nissen, 1986). A desvantagem é seu alto custo e a metodologia, pois esta técnica é inviável para HPPs com GH acima de 30% e além disso pode haver tamponamento durante a reação, o que altera os valores (Adler-Nissen, 1986). A mensuração do GH é importante, pois a adição de HPPs com alto GH em dietas para peixe pode comprometer a estabilidade dos peletes, pois aminoácidos e peptídeos hidrofílicos podem se solubilizar com a água diminuindo o valor proteico da dieta (Kristinsson & Rasco, 2000).

Além do GH, outras metodologias podem ser utilizadas para avaliar a qualidade de um HPP. HPLC e outras técnicas analíticas (por exemplo, espectroscopia de ressonância nuclear magnética, espectrometria de massa por ionização e dessorção a laser assistida por matriz, mapeamento de peptídeos e cromatografia de troca iônica) são empregados para caracterizar peptídeos em HPPs (Sapan & Lundblad, 2015). A caracterização do peso molecular dos peptídeos também é importante para encontrar possíveis compostos bioativos. Foi comprovado

em ensaios *in vitro* que alguns HPPs possuem peptídeos com propriedades como antimicrobiana, antioxidante, antifúngica (Chalamaiah *et al.*, 2012). A tabela 2 mostra o tamanho e o percentual de peptídeos presentes em alguns HPPs. Peptídeos com 5000 Da possuem cadeias polipeptídicas com 50 a 100 AA, de 1000 a 5000 Da possuem de 20 a 50 AA e de 1000 a 100 Da de 2 a 10 AA (Bakke *et al.*, 2010). Além de atuarem como compostos bioativos, peptídeos de baixo peso molecular (menores que 1000 Da) possuem uma absorção mais rápida pelos enterócitos quando comparado com macromoléculas de alto peso molecular (Refstie *et al.*, 2004; Aksnes *et al.*, 2006). A presença de peptídeos com peso molecular de 100-1000 Da estimulou a síntese de canais PEPT1, contribuindo para uma melhor absorção da fração proteica (Bakke *et al.*, 2010). Peptídeos com peso molecular entre 500 a 3000 estimulam a atividade de macrófagos em Salmão do Atlântico (Bogwald *et al.*, 1996). Os peptídeos de baixo peso molecular presentes nos HPPs estão associados ao ganho de desempenho e melhora da saúde em peixes (Gildberg *et al.*, 1996; Khosravi *et al.*, 2015; Skalli *et al.*, 2014; Zheng *et al.*, 2014).

Hidrolisados proteicos de pescado: utilização em dietas para peixes

Efeitos dos hidrolisados sobre o crescimento de peixes

A substituição da farinha de peixe por HPP pode aumentar o crescimento de peixes. A tabela 4 mostra alguns trabalhos relacionando a utilização de HPPs em dietas com o crescimento de peixes. A presença de peptídeos de baixo peso molecular em dietas promove um maior crescimento dos peixes (Aksnes *et al.*, 2006; Tang *et al.*, 2008; Khosravi *et al.*, 2015) em comparação com os aminoácidos sintéticos. Os aminoácidos livres sintéticos competem entre si por sítios de ligação no enterócito, onde alguns aminoácidos podem ser mais facilmente absorvidos em comparação com outros e isso pode levar a um desequilíbrio que leva ao catabolismo aumentando a excreção de compostos nitrogenados (Dabrowski *et al.*, 2010). Os HPPs podem promover um maior crescimento através do maior aproveitamento metabólico dos peptídeos, palatabilidade da dieta ou ainda devido a presença de peptídeos de baixo peso molecular que possuem propriedades bioativas (Aksnes *et al.*, 2006). Os níveis de adição de HPPs precisam ser observados, pois o excesso pode comprometer o desempenho, conforme ocorreu para *Halibut*, onde a inclusão de 30% de HPP promoveu um menor crescimento e menor estabilidade do alimento na água (Goosen *et al.*, 2014). A inclusão de 10% de hidrolisado de pollock (*Theragra chalcogramma*), substituiu 15,38% da farinha de peixe, aumentou o ganho de peso total, ganho de peso relativo e taxa de crescimento específico de

juvenis de yellow croacker (*Pseudosciaena crocea*) (Tang *et al.*, 2008). A inclusão de 4% de hidrolisado de krill na dieta, substituiu 8% da farinha de peixe, elevou a taxa de crescimento e diminuiu a conversão alimentar em juvenis de olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) (Khosravi *et al.*, 2015). Para salmão do atlântico, a substituição de 37,53% da farinha de peixe por HPP produzido a partir de resíduos de pollock, resultou em uma utilização mais eficiente da proteína para o crescimento devido ao aumento da retenção de proteína corporal (Refstie *et al.*, 2004). A substituição de farinha de peixe por níveis crescentes de hidrolisado proteico de arenque (*Clupea harengus*), em dietas para salmão (*Salmo salar*) com peso inicial de 174g durante 68 dias demonstraram que os peixes alimentados com as dietas contendo níveis médios de inclusão (180 - 240 g kg⁻¹), apresentaram maior taxa de crescimento específico. Entretanto, não houve diferença para os parâmetros de composição centesimal e análises hematológicas (Hevrøy *et al.*, 2005). A inclusão das frações solúveis e insolúveis de HPPs em dietas promoveu um maior crescimento de juvenis de jundia em comparação com as frações adicionadas de forma isolada, e isso foi atribuído a uma combinação dos peptídeos de alto e baixo peso molecular presentes nas frações proporcionam um melhor equilíbrio de aminoácidos essenciais (Wosniak *et al.*, 2015).

Trabalhos atribuem o maior crescimento a peptídeos de baixo peso molecular presentes nos HPPs. A adição de 11% FPH composto por 66% de peptídeos com peso molecular abaixo de 1000 Da aumenta o crescimento e a retenção de proteína corporal em juvenis de *Paralichthys olivaceus* (Zheng *et al.*, 2014). O uso de peptídeos com tamanhos variando de 500 a 3000 Da estimula a atividade da superóxido dismutase em salmão do Atlântico (Gildberg *et al.*, 1996). Dietas formuladas com hidrolisados de krill, tilápia e camarão contendo peptídeos com peso molecular abaixo de 5000 Da proporcionaram aumento da atividade enzimática da superóxido dismutase e lisosima, em juvenis de *Paralichthys olivaceus* (Khosravi *et al.*, 2015). A inclusão de 6% de hidrolisado de levedura contendo 94% dos peptídeos com peso molecular menor que 500 Da, proporcionou maior crescimento e sobrevivência de larvas de *Dicentrarchus labrax* quando comparados com dietas contendo 12% de FPH composto por 37% de peptídeos com peso molecular menor que 500 Da (Skalli *et al.*, 2014).

A inclusão de HPPs em dietas para peixes nem sempre melhoram os parâmetros de crescimento em peixes. A substituição de 15% da proteína da farinha de peixe por HPP ultrafiltrado (<1000 Da) produzido a partir de *Theragra chalcogramma* não melhorou o crescimento de *Scophthalmus maximus*, sendo que com 20% de substituição houve diminuição

do ganho de peso (Wei *et al.*, 2015). HPP comercial constituído por peptídeos menores que 66 kDa substituiu 15% das fontes proteicas constituída por farinhas de organismos aquáticos (camarão, lula e resíduos de filé de peixes marinhos), sem afetar o crescimento e a sobrevivência de juvenis de *Chirostoma estor* (Ospina-Salazar *et al.*, 2016). Possivelmente, nestes estudos não houve ganhos no crescimento porque os HPPs eram constituídos por peptídeos de baixo peso molecular (<1000 Da e < 66 kDa). Os peptídeos de baixo peso molecular estão ligados a efeitos benéficos a saúde e os de alto peso molecular contribuem para uma melhor metabolização da proteína e crescimento (Espe & Lied, 1999; Wosniak *et al.*, 2015).

Hidrolisados proteicos e palatabilidade das dietas para peixes

A adição de HPP pode contribuir para aumentar a palatabilidade de dietas para peixes. Os peixes detectam compostos solúveis através de corpúsculos gustativos distribuídos pela boca, esôfago, brânquias, barbilhões e na superfície externa do corpo (Halver & Hardy, 2002). Os peptídeos de baixo peso molecular presentes nos HPPs são detectados pelo sistema gustatório dos peixes e podem agir como atrativos alimentares (Kotzamanis *et al.*, 2007). A fração solúvel do hidrolisado proteico de sardinha com maior GH estimulou a busca de alimento em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) (Broggi *et al.*, 2017). A inclusão de 10% de hidrolisado de pollock aumentou a ingestão de alimento em salmão do Atlântico (Refstie *et al.*, 2004). O uso de hidrolisado de pescada-do-pacífico (*Merluccius productus*), para o salmão-chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*), aumentou o consumo de dietas contendo níveis elevados de farelo de soja (Ho *et al.*, 2014). Neste sentido, sugere-se que os HPPs podem ser incluídos em dietas com elevada inclusão de ingredientes vegetais ou ainda dietas experimentais semi-purificadas.

Hidrolisados em dieta para peixes e efeitos no metabolismo proteico

O fornecimento de proteínas hidrolisadas facilita a assimilação de AA, por meio de vias de absorção direta de peptídeos encontradas nas membranas das microvilosidades intestinais, que são absorvidos de forma mais eficiente em comparação com os AA livres e proteínas intactas (Espe *et al.*, 1993). Di e tri peptídeos têm uma rota absorção mais rápida no intestino (Gilbert *et al.*, 2008), através do simporte hidrogênio/peptídeo nos canais PEPT 1 e 2, que também evita a competição, por sítios de absorção nos enterócitos, com outros nutrientes, como minerais (Daniel, 2004). Os transportadores de peptídeos são proteínas encontradas nos enterócitos que atuam translocando di e tripeptídeos oriundos das dietas (Verri *et al.*, 2011). Ao

entrar no enterócito, os peptídeos são clivados por peptidases endógenas e, na forma de AA, são carreados via corrente sanguínea, para então serem metabolizados no fígado (Ostaszewska *et al.*, 2009). A relação entre os canais PEPT 1 e 2 e a presença de di e tri peptídeos foi evidenciada para juvenis de *Gadus morhua*, onde a substituição de 14,4% de farinha de peixe por hidrolisado, estimulou a expressão gênica de canais PEPT 1 e 2 no intestino (Bakke *et al.*, 2010). A utilização de di peptídeos em dietas para larvas de *Vimba vimba* aumentou a retenção de aminoácidos essenciais nos tecidos (Kwasek *et al.*, 2009).

A utilização de hidrolisado de músculo ou vísceras de sardinha em um nível de até 10% de substituição de farinha de peixe reduziu a excreção de amônia (Venturin *et al.*, 2016). A avaliação da excreção de amônia pode ser usada como um indicador da eficiência metabólica das dietas (Cheng *et al.*, 2003). A utilização de HPPs em dietas melhora o aproveitamento metabólico da fração proteica (Resfie *et al.*, 2004) o que reduz a excreção de compostos nitrogenados. No entanto, deve-se ter o cuidado com a inclusão da fração solúvel dos HPPs, pois a inclusão de 24% de hidrolisado solúvel de sardinha aumentou a quantidade de amônia na água, quando comparada com dietas contendo 24% das duas frações (solúvel e insolúvel) (Fabregat *et al.*, 2016). A poluição das águas ocasionada pela liberação de compostos nitrogenados é um dos principais problemas da piscicultura intensiva (Fang *et al.*, 2017). Na cadeia da piscicultura buscam-se estratégias de nutrição e manejo para reduzir a produção de compostos nitrogenados em sistemas de cultivos intensivos, especialmente amônia (Lim *et al.*, 2001). A utilização de HPPs em dietas para peixes, pode contribuir na redução da poluição ocasionada por compostos nitrogenados, no entanto trabalhos precisam ser realizados para confirmar esta informação.

Perspectivas na utilização de hidrolisados em dietas para peixes cultivados

Há uma série de vantagens relacionadas com a utilização de HPPs em substituição a farinha de peixe envolvendo melhoras no crescimento, metabolismo proteico, saúde e diminuição da produção endógena de compostos nitrogenados. No entanto, cada tipo de HPP vai possuir características diferentes que irão depender do tipo de peptídeo formado. A padronização do processo de produção dos HPPs é necessária, pois sabendo qual a origem do substrato, enzima utilizada e tempo de hidrolise, é possível controlar o tipo de peptídeo que será formado. Posteriormente, as análises irão mostrar o tamanho do peptídeo formado e a composição dos aminoácidos, parâmetros estes que definem o potencial bioativo do HPP. Cabe

ressaltar, que ensaios in vitro e biológicos necessitam ser feitos para verificar os efeitos dos HPPs no metabolismo dos peixes. Obtendo estas informações, o nutricionista animal, possui subsídios para definir qual a finalidade de cada HPP e os níveis de inclusão em dietas comerciais.

Conclusão

A utilização de HPPs em dietas para peixes cultivados é bastante promissora, porém antes de ser utilizado na indústria de rações, fatores como composição de aminoácidos, GH e tamanho dos peptídeos devem ser levados em consideração para que esta fonte proteica se reverta em benefícios no crescimento e saúde de peixes cultivados. O conhecimento das características de um HPP, são observações importantes, que o nutricionista deve possuir antes de tomar uma decisão ao incluir este ingrediente como uma fonte proteica ou aditivo em uma dieta.

Referências

- Ahn, C. B., Je, J. Y., & Cho, Y. S. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory peptide fraction from salmon byproduct protein hydrolysates by peptic hydrolysis. *Food Research International*, 49(1), 92–98. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.002>
- Aksnes, A., Hope, B., Jönsson, E., Björnsson, B. T., & Albrektsen, S. (2006). 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*, 261(1), 305–317. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.07.025>
- Apper, E., Weissman, D., Respondek, F., Guyonvarch, A., Baron, F., Boisot, P., Rodilesd, A., Merrifield, D. L. (2016). Hydrolysed wheat gluten as part of a diet based on animal and plant proteins supports good growth performance of Asian seabass (*Lates calcarifer*), without impairing intestinal morphology or microbiota, 453, 40–48. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.018>
- Aspmo, S. I., Horn, S. J., & Eijsink, V. G. H. (2005). Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera. *Process Biochemistry*, 40(5), 1957–1966. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.07.011>
- Bakke, S., Jordal, A.-E. O., Gómez-Requeni, P., Verri, T., Kousoulaki, K., Aksnes, A., & Rønnestad, I. (2010). Dietary protein hydrolysates and free amino acids affect the spatial expression of peptide transporter PepT1 in the digestive tract of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and*

- Molecular Biology*, 156(1), 48–55. <http://doi.org/10.1016/j.cbpb.2010.02.002>
- Batista, I. (2011). Hidrolisados proteicos de pescado. In A. A. Gonçalves (Ed.), *Tecnologia do Pescado: Ciência, tecnologia, inovação e legislação* (p. 608). São Paulo: Editora Atheneu.
- Benjakul, S., & Morrissey, M. T. (1997). Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(9), 3423–3430. DOI: 10.1021/jf970294g
- Bogwald, J., Dalmo, R. O. Y., Leifson, R. M., Stenberg, E., & Gildberg, A. (1996). The stimulatory effect of a muscle protein hydrolysate from Atlantic cod, *Gadus morhua* L., on Atlantic salmon, *Salmo salar* L., head kidney leucocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 6(1), 3-16.
- Broggi, J. A., Wosniak, B., Uczay, J., Pessatti, M. L., & Fabregat, T. E. H. P. (2017). Hidrolisado proteico de resíduo de sardinha como atrativo alimentar para juvenis de jundiá. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria E Zootecnia*, (1964), 505–512. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-8348>
- Bui, H. T. D., Khosravi, S., Fournier, V., Herault, M., & Lee, K. J. (2014). Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. *Aquaculture*, 418–419, 11–16. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.046>
- Cai, Z., Li, W., Mai, K., Xu, W., Zhang, Y., & Ai, Q. (2015). Effects of dietary size-fractionated fish hydrolysates on growth, activities of digestive enzymes and aminotransferases and expression of some protein metabolism related genes in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) larvae. *Aquaculture*, 440, 40–47. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.01.026>
- Chabeaud, A., Dutournié, P., Guérard, F., Vandanjon, L., & Bourseau, P. (2009). Application of response surface methodology to optimise the antioxidant activity of a saithe (*Pollachius virens*) hydrolysate. *Marine Biotechnology*, 11(4), 445–455. DOI: 10.1007/s10126-008-9158-x
- Chalamaiah, M., Dinesh Kumar, B., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, 135(4), 3020–3038. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.100>

- Chalamaiah, M., Rao, G. N., Rao, D. G., & Jyothirmayi, T. (2010). Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. *Food Chemistry*, *120*(3), 652–657. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.057>
- Choi, Y. J., Hur, S., Choi, B., Konno, K., & Park, J. W. (2009). Enzymatic hydrolysis of recovered protein from frozen small croaker and functional properties of its hydrolysates. *Journal of Food Science*, *74*(1). DOI: 10.1111/j.1750-3841.2008.00988.x
- Dabrowski, K., Zhang, Y., Kwasek, K., Hliwa, P., & Ostaszewska, T. (2010). Effects of protein-, peptide- and free amino acid-based diets in fish nutrition. *Aquaculture Research*, *41*(5), 668–683. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2010.02490.x
- Daniel, H. (2004). Molecular and Integrative Physiology of Intestinal Peptide Transport. *Annual Review of Physiology*, *66*(1), 361–384. <http://doi.org/10.1146/annurev.physiol.66.032102.144149>
- Espe, M., Hevrøy, E. M., Liaset, B., Lemme, A., & El-Mowafi, A. (2008). Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, *274*(1), 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.10.051>
- Espe, M., & Lied, E. (1999). Fish silage prepared from different cooked and uncooked raw materials: Chemical changes during storage at different temperatures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *79*(2), 327–332. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199902\)79:2<327::AID-JSFA207>3.0.CO;2-T](http://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199902)79:2<327::AID-JSFA207>3.0.CO;2-T)
- Espe, M., Lied, E., & Torrissen, K. R. (1993). Changes in plasma and muscle free amino acids in atlantic salmon (*Salmo salar*) during absorption of diets containing different amounts of hydrolysed cod muscle protein. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, *105*(3), 555–562. JOUR. [http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0300-9629\(93\)90434-6](http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0300-9629(93)90434-6)
- Fabregat, T. E. H. P. , Wosniak, B. , Gonçalves, A. F. N. , HA, N., Skoroski, E. , & Pessatti, M. L. (2016). Frações solúveis e insolúveis do hidrolisado proteico de resíduo de sardinha na alimentação do jundiá: consumo de ração e excreção de amônia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, *68*(3), 1713–1720. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9153>.
- Fang, L., Bai, X. L., Liang, X. F., He, S., Guo, X. Z., Li, L., Li, B., Shen, D., Tao, Y. X. (2017). Ammonia nitrogen excretion in Mandarin Fish (*Siniperca chuatsi*) and Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fed practical diets: the effects of water temperature. *Aquaculture Research*, *48*(3), 836–843. <http://doi.org/10.1111/are.12927>
- FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations (2014). The state of world

- fisheries and aquaculture. In F. F. a. A. Department (Ed.), Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations
- Furlan, E. F., & Oetterer, M. (2002). Hidrolisado protéico de pescado. *Ciência e Tecnologia*, 10(19), 79–89.
- Gilbert, E. R., Wong, E. A., & Webb, K. E. (2008). Board-invited review: peptide absorption and utilization: implications for animal nutrition and health. *Journal of Animal Science*, 86(9), 2135–2155. doi:10.2527/jas.2007-0826
- Gisbert, E., Skalli, A., Fernández, I., Kotzamanis, Y., Zambonino-Infante, J. L., & Fabregat, R. (2012). Protein hydrolysates from yeast and pig blood as alternative raw materials in microdiets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 338–341, 96–104. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.01.007>
- Goosen, N. J., Wet, L. F. de, & Görgens, J. F. (2014). The effects of protein hydrolysates on the immunity and growth of the abalone *Haliotis midae*. *Aquaculture*, 428–429, 243–248. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.03.018>
- Halver, J. E., & Hardy, R. W. (2002). *Fish nutrition*. Academic press.
- He, R., Alashi, A., Malomo, S. A., Girgih, A. T., Chao, D., Ju, X., & Aluko, R. E. (2013). Antihypertensive and free radical scavenging properties of enzymatic rapeseed protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 141(1), 153–159. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.087>
- Hermannsdottir, R., Johannsdottir, J., Smaradottir, H., Sigurgisladottir, S., Gudmundsdottir, B. K., & Bjornsdottir, R. (2009). 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 & Shellfish Immunology*, 27(5), 595–602. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.05.007>
- Hevrøy, E. M., Espe, M., Waagbø, R., Sandnes, K., Ruud, M., & Hemre, G. (2005). Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. *Aquaculture Nutrition*, 11(4), 301–313. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2005.00357.x
- Ho, T. C. W., Li-chan, E. C. Y., Skura, B. J., Higgs, D. A., & Dosanjh, B. (2014). Pacific hake (*Merluccius productus* Ayres , 1855) hydrolysates as feed attractants for juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum , 1792), 1140–1152. <http://doi.org/10.1111/are.12056>

- Hou, Y., Wu, Z., Dai, Z., Wang, G., & Wu, G. (2017). Protein hydrolysates in animal nutrition : Industrial production , bioactive peptides , and functional significance, 1–13. <http://doi.org/10.1186/s40104-017-0153-9>
- Hoyle, N. T.; Merritt, J. O. H. N. (1994) Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). *Journal of food Science*, 59, 76-79. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1994.tb06901.x
- Hsu, K. C., Lu, G. H., & Jao, C. L. (2009). Antioxidative properties of peptides prepared from tuna cooking juice hydrolysates with orientase (*Bacillus subtilis*). *Food Research International*, 42(5–6), 647–652. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.02.014>
- Giyatmi, L., Irianto H.E. Enzymes in Fermented fish. Chapter Ten-Enzymes in Fermented Fish. *Advances in Food and Nutrition Research*, 80, 99-216 doi: 10.1016/bs.afnr.2016.10.004.
- Khosravi, S., Bui, H. T. D., Rahimnejad, S., Herault, M., Fournier, V., Kim, S.-S., Jeong, J. B., Lee, K.-J. (2015). Dietary supplementation of marine protein hydrolysates in fish-meal based diets for red sea bream (*Pagrus major*) and olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 435, 371–376. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.019>
- Khosravi, S., Bui, H. T. D., S., R., Herault, M., Fournier V., J.B., J., & Kim J., L. (2015). Effect of dietary hydrolysate supplementation on growth performance, non-specific immune response and disease resistance of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture Nutrition*. <http://doi.org/10.1111/anu.12157>
- Kirkendale, L., Robertson-Andersson, D. V., & Winberg, P. C. (2010). Review on the use and production of algae and manufactured diets as feed for sea-based abalone aquaculture in Victoria. <http://ro.uow.edu.au/smfc/7/>
- Klompong, V., Benjakul, S., Yachai, M., Visessanguan, W., Shahidi, F., & Hayes, K. D. (2009). Amino acid composition and antioxidative peptides from protein hydrolysates of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*). *Journal of Food Science*, 74(2). DOI: 10.1111/j.1750-3841.2009.01047.x
- Kotzamanis, Y. P., Gisbert, E., Gatesoupe, F. J., Zambonino Infante, J., & Cahu, C. (2007). Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 147(1), 205–214. <http://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.12.037>
- Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000). Fish protein hydrolysates: production,

- biochemical, and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(1), 43–81. <https://doi.org/10.1080/10408690091189266>
- Kurozawa, L. E., Park, K. J., & Hubinger, M. D. (2009). Influência das condições de processo na cinética de hidrólise enzimática de carne de frango Influence of process conditions on enzymatic hydrolysis kinetics of chicken meat, 29(3), 557–566. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000300017>
- Kwasek, K., Zhang, Y., Hliwa, P., Gomułka, P., Ostaszewska, T., & Dabrowski, K. (2009). Free amino acids as indicators of nutritional status of silver bream (*Vimba vimba*), when using commercial and purified diets. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 153(2), 113–119.
- Leal, A. L. G., de Castro, P. F., de Lima, J. P. V., de Souza Correia, E., & de Souza Bezerra, R. (2010). Use of shrimp protein hydrolysate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) feeds. *Aquaculture International*, 18(4), 635–646. DOI : 10.1007/s10499-009-9284-0
- Liaset, B., & Espe, M. (2008). Nutritional composition of soluble and insoluble fractions obtained by enzymatic hydrolysis of fish-raw materials. *Process Biochemistry*, 43(1), 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.10.007>
- Liceaga-Gesualdo, A. M., & Li-Chan, E. C. Y. (1999). Functional properties of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, 64(6), 1000–1004. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1999.tb12268.x
- Lim, C. B., Chew, S. F., Anderson, P. M., & Ip, Y. K. (2001). Reduction in the rates of protein and amino acid catabolism to slow down the accumulation of endogenous ammonia: a strategy potentially adopted by mudskippers (*Periophthalmodon schlosseri* and *Boleophthalmus boddarti*) during aerial exposure in constant darkness. *The Journal of Experimental Biology*, 204(Pt 9), 1605–1614. <http://jeb.biologists.org/content/jexbio/204/9/1605.full.pdf>
- Martínez-Alvarez, O., Chamorro, S., & Brenes, A. (2015). Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. *Food Research International*, 73, 204–212. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.005>
- Meisel, H. (2007). Editorial [Hot Topic: Food-Derived Bioactive Proteins and Peptides as Potential Components of Nutraceuticals (Executive Editor: H. Meisel)]. *Current Pharmaceutical Design*. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.2174/138161207780414250>

- Nascimento, J. H. P., Verreschi, D. C. & Jesus, R. S. (2008). Hidrolisados Protéicos de Peixe em Dietas para Alevinos de Surubim, *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829) Jorge). *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 2(2), 1–6.
<http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/36>
- Nielsen, P. M., Petersen, D., & Dambmann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*, 66(5), 642–646. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x
- NRC. (2011). *Nutrient requirements of fish and shrimp*. Washington, USA: National academies press.
- Önal, U., & Langdon, C. (2009). Potential delivery of water-soluble protein hydrolysates to marine suspension feeders by three different microbound particle types. *Aquaculture*, 296(1–2), 174–178. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.07.002>
- Ospina-Salazar, G. H., Ríos-Durán, M. G., Toledo-Cuevas, E. M., & Martínez-Palacios, C. A. (2016). The effects of fish hydrolysate and soy protein isolate on the growth performance, body composition and digestibility of juvenile pike silverside, *Chirostoma estor*. *Animal Feed Science and Technology*, 220, 168–179.
<http://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.08.011>
- Ostaszewska, T., Dabrowski, K., Kamaszewski, M., Grochowski, P., Verri, T., Rzepkowska, M., & Wolnicki, J. (2010). The effect of plant protein-based diet supplemented with dipeptide or free amino acids on digestive tract morphology and PepT1 and PepT2 expressions in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 157(2), 158–169.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.06.162>
- Ostaszewska, T., Szatkowska, I., Verri, T., Dabrowski, K., Romano, A., Barca, A., Muszyńska, M., Dybus, A., Grochowski, P., Kamaszewski, M. (2009). Cloning two PepT1 cDNA fragments of common carp, *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 39(2), 81–86.
<http://doi.org/10.3750/AIP2009.39.2.01>
- Plascencia-Jatomea, M., Olvera-Novoa, M. A., Arredondo-Figueroa, J. L., Hall, G. M., & Shirai, K. (2002). Feasibility of fishmeal replacement by shrimp head silage protein hydrolysate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L) diets. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(7), 753–759. DOI: 10.1002/jsfa.1092
- Rajalingam, D., Loftis, C., Xu, J. J., & Kumar, T. K. S. (2009). Trichloroacetic acid-induced protein precipitation involves the reversible association of a stable partially structured

- intermediate. *Protein Science*, 18(5), 980–993. DOI: 10.1002/pro.108
- Rao, M. B., Tanksale, A. M., Ghatge, M. S., & Deshpande, V. V. (1998). Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), 597–635. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC98927/>
- Refstie, S., Olli, J. J., & Standal, H. (2004). Feed intake, growth, and protein utilisation by post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. *Aquaculture*, 239(1–4), 331–349.
<http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.015>
- Robert, M., Zatylny-Gaudin, C., Fournier, V., Corre, E., Le Corguillé, G., Bernay, B., & Henry, J. (2015). Molecular characterization of peptide fractions of a Tilápia (*Oreochromis niloticus*) by-product hydrolysate and in vitro evaluation of antibacterial activity. *Process Biochemistry*, 50(3), 487–492.
<http://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.12.022>
- Sampath Kumar, N. S., Nazeer, R. A., & Jaiganesh, R. (2012). Purification and identification of antioxidant peptides from the skin protein hydrolysate of two marine fishes, horse mackerel (*Magalaspis cordyla*) and croaker (*Otolithes ruber*). *Amino Acids*, 42(5), 1641–1649. <http://doi.org/10.1007/s00726-011-0858-6>
- Sapan, C. V., & Lundblad, R. L. (2015). Review of methods for determination of total protein and peptide concentration in biological samples. *PROTEOMICS-Clinical Applications*, 9(3–4), 268–276. DOI: 10.1002/prca.201400088
- Schuster, R. (1988). Determination of amino acids in biological, pharmaceutical, plant and food samples by automated precolumn derivatization and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 431, 271–284. [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(00\)83096-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)83096-0)
- Sgarbieri, V. C. (1996). Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações e modificações. In *Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações e modificações* São Paulo: Varela; 1996. 517p.
- Shahidi, F., & Janak Kamil, Y. V. A. (2001). Enzymes from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 12(12), 435–464. [http://doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00021-3](http://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00021-3)
- Silva, J. F. X., Ribeiro, K., Silva, J. F., Cahú, T. B., & Bezerra, R. S. (2014). Utilization of tilápia processing waste for the production of fish protein hydrolysate. *Animal Feed*

- Science and Technology*, 196, 96–106. <http://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.06.010>
- Tacon, A. G. J., & Metian, M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, 285(1–4), 146–158. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.015>
- Tang, H. G., Wu, T. X., Zhao, Z. Y., & Pan, X. D. (2008). Effects of fish protein hydrolysate on growth performance and humoral immune response in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.). *Journal of Zhejiang University Science B*, 9(9), 684–690. <http://doi.org/10.1631/jzus.B0820088>
- Valle, B. C. S., Dantas, E. M., Silva, J. F. X., Bezerra, R. S., Correia, E. S., Peixoto, S. R. M., & Soares, R. B. (2015). Replacement of fishmeal by fish protein hydrolysate and biofloc in the diets of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Aquaculture Nutrition*, 21(1), 105–112. <http://doi.org/10.1111/anu.12149>
- Venturini, A., Gonçalves, A. F. N., Oliveira, N. S., Skoronski, E., Pessatti, M. L., & Fabregat, T. E. H. P. (2016). Soluble fraction of sardine protein hydrolysates in the feeding of the South American catfish. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(4), 878–888. <http://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n4p878>
- Verri, T., Terova, G., Dabrowski, K., & Saroglia, M. (2011). Peptide transport and animal growth: the fish paradigm. *Biology Letters*, 7(4), 597–600. <http://doi.org/10.1098/rsbl.2010.1164>
- Wei, Y., Liang, M., Mu, Y., Zheng, K., & Xu, H. (2015). The effect of ultrafiltered fish protein hydrolysate level on growth performance, protein digestibility and mRNA expression of PepT1 in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture Nutrition*. <http://doi.org/10.1111/anu.12319>
- Wisuthiphaet, N., & Kongruang, S. (2015). Production of Fish Protein Hydrolysates by Acid and Enzymatic Hydrolysis. *Journal of Medical and Bioengineering*, 4(6), 466–470. <http://doi.org/10.12720/jomb.4.6.466-470>
- Wosniak, B., William, E., Melim, H., Há, N., Uczay, J., Pilatti, C., Pilatti, C., Pessatti, M. L., & Perez Fabregat, T. E. H. (2016). Effect of diets containing different types of sardine waste (*Sardinella* sp.) protein hydrolysate on the performance and intestinal morphometry of silver catfish juveniles (*Rhamdia quelen*), 44(5). <http://doi.org/10.3856/vol44-issue5-fulltext-x>
- Zheng, K., Liang, M., Yao, H., Wang, J., & Chang, Q. (2013). Effect of size-fractionated fish protein hydrolysate on growth and feed utilization of turbot (*Scophthalmus maximus* L.), 895–902. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03094.x>

Zheng, K., Xu, T., Qian, C., Liang, M., & Wang, X. (2014). Effect of low molecular weight fish protein hydrolysate on growth performance and IGF-I expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed high plant protein diets. *Aquaculture Nutrition*, 20(4), 372–380. <http://doi.org/10.1111/anu.12090>

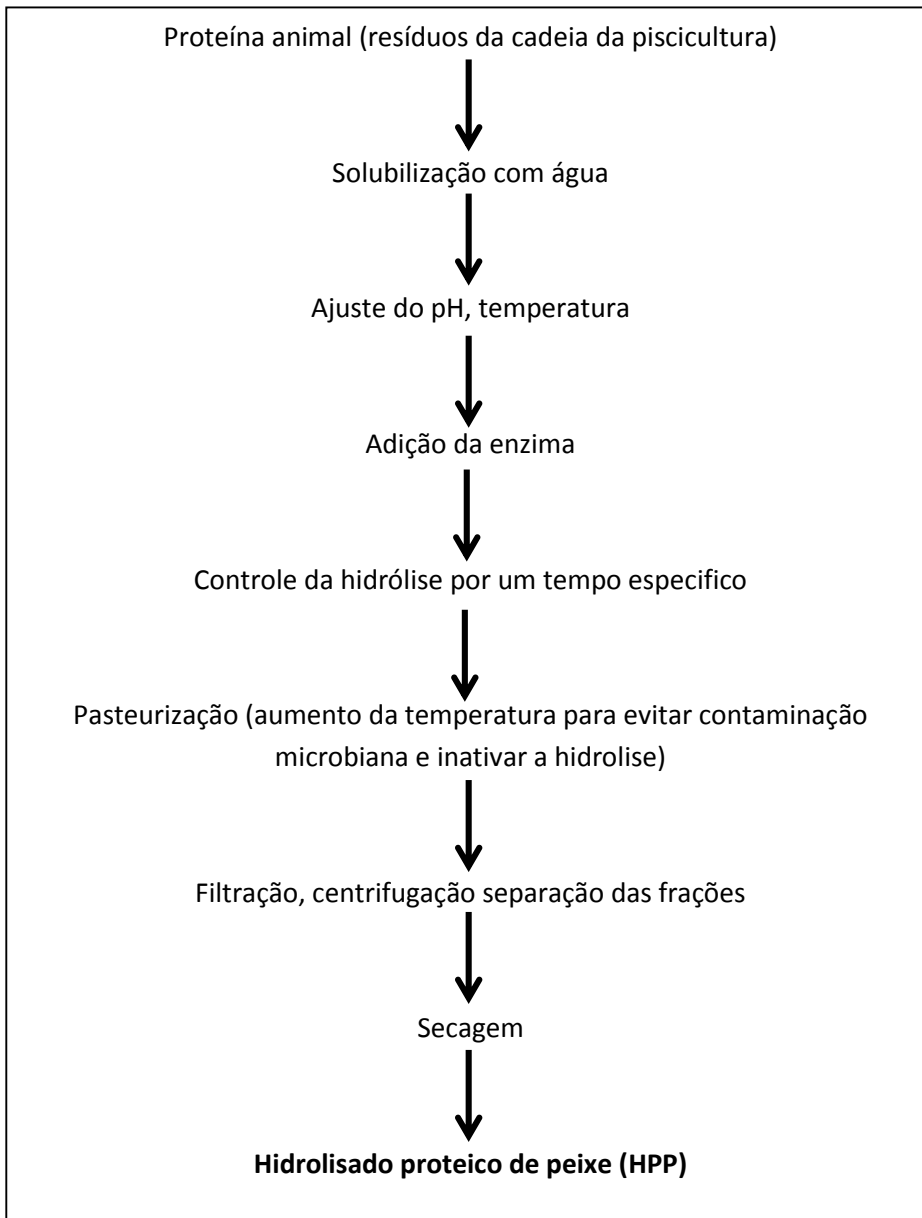


Figura 1 – Principais etapas presentes no processo de produção do HPP

Tabela 1 - Composição bromatológica e grau de hidrólise (GH) hidrolisados utilizados em dietas para peixes

Substrato	Enzima	Umi	MS	PB	MM	EE	EB	GH
FP	-	ND	92	64,1	2,5	8,2	ND	ND
FSM	Protamex [®]	93,28	ND	85,5	8	2	5108,8	20,1
FIM	Protamex [®]	35,08	ND	77,0	3,3	20,3	6097,7	9,97
HMS	Protamex [®]	76,6	ND	73,4	ND	6,4	ND	5,9
HCS	Protamex [®]	96,2	ND	82,5	ND	2,4	ND	22,2
FSVN	Protamex [®]	81,05	ND	77	6,2	4,28	5169,9	17,2
FSVI	Protamex [®]	90,40	ND	61,40	11,3	1,69	4607,8	54,0
HRT	Protamex [®]	ND	ND	80,2	5,4	7,4	ND	22,1
HK	NI	ND	56,1	44,1	10,5	2,3	ND	ND
HC	NI	ND	96	63,4	10,5	11,2	ND	ND
HT	NI	ND	95	71,2	4,8	15,4	ND	ND
HP	Flavourzyme e Alcalase	ND	ND	65,61	3,99	2,06	ND	45,5

FP = Farinha de peixe; FSM = Fração solúvel do hidrolisado de musculo de sardinha FIM = Fração insolúvel do hidrolisado de musculo de sardinha (Fabregat *et al.*, 2016); HMS = Hidrolisado de musculo de sardinha com baixo grau de hidrólise ; HMS= Hidrolisado de Músculo de *Sardinella* com alto grau de hidrólise (Broggi *et al.*, 2017); FSVN = Fração solúvel de viscera natural; FSVI = Fração Solúvel visceras Industriais (Wosniak *et al.*, 2016); HRT = Hidrolisado de resíduos de tilápia (Robert *et al.*, 2015); HK = Hidrolisado concentrado de krill ; HC = Hidrolisado de camarão; TH = Hidrolisado de tilápia (Bui *et al.*, 2014); HP = hidrolisado de pollock (*Theragra chalcogramma*) (Tang *et al.*, 2008).

Tabela 2 – Peso molecular e percentual de peptídeos observados em diferentes tipos de hidrolisados.

Peptídeos (Da)	KH	SH	TH	PUFH	NUFH	RUFH	FH	UFR	NFR	PH
% de peptídeos na proteína bruta										
>30.0000	<0,1	2	<0,1	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
20.000-30000	<0,1	<0,1	<0,1	NE	NE	NE	NE	NE	NE	<0,1
10.000-20.000	<0,1	<0,1	1	NE	NE	NE	<1	<1	<1	<0,1
5000-10.000	2	<0,1	2	NE	NE	NE	35,9	35	19,7	1,6
10.000-5000	18	12	27	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
5000-1000	16	18	18	NE	NE	NE	9,7	25,8	19,7	5,5
>2.000	NE	NE	NE	<1	<1	<1	NE	NE	NE	NE
2000-1000	NE	NE	NE	3,26	34,86	45,53	NE	NE	NE	NE
1000-100	NE	NE	NE	NE	NE	NE	36,1	28	58,8	66,4
1000-500	NE	NE	NE	22,01	24,45	30,51	NE	NE	NE	NE
<500	64	68	52	NE	NE	NE	16	6,7	9,00	NE
500-180	NE	NE	NE	45,26	24,12	17,93	NE	NE	NE	NE
<180	NE	NE	NE	29,15	16,46	5,38	NE	NE	NE	NE
<100	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	26,4

KH = hidrolisado de krill; SH = hidrolisado de camarão; TH = hidrolisado de tilápia (Bui *et al.*, 2014); PUFH = Hidrolisado de peixe ultrafiltrado; NUFH = Hidrolisado de peixe não-ultrafiltrado; RUFH = material retido após ultra filtração do hidrolisado de peixe; FH = Fish hydrolysate; UFR = material retido na ultra filtração; NFR = material retido na nano filtração (Bakke *et al.*, 2010); PH = hidrolisado de pollok (Zheng *et al.*, 2013); NE = peptídeo não encontrado.

Tabela 3 – Aminoácidos essenciais e não essenciais presentes nos diferentes tipos de hidrolisados.

	FM	FIM	FSM	FSVN	FSVI	KH	SH	TH	PUFH	NUFH	RUFH	HPP
<i>Aminoácidos essenciais</i>												
Histidina	1,65	2,08	4,61	0,86	2,60	0,50	1,35	1,36	1,35	1,54	1,55	1,1
Isoleucina	3,17	3,57	1,19	0,92	3,23	1,39	2,32	2,45	3,49	2,19	2,23	4,4
Lisina	5,04	5,87	4,61	1,46	5,31	2,85	3,54	4,23	7,26	6,64	7,31	8,1
Leucina	5,05	5,62	3,42	1,84	6,35	2,32	3,76	4,38	6,65	5,76	5,93	7,7
Metionina	1,99	2,37	1,19	0,59	2,08	0,87	1,15	1,58	2,48	2,19	2,23	1,4
Arginina	3,85	4,05	2,83	0,22	0,52	2,94	3,71	4,06	4,87	4,54	5,01	7,2
Fenilalanina	2,78	3,20	1,19	0,86	2,60	1,25	2,60	2,42	3,63	3,21	3,19	3,6
Triptofano	0,75	0,42	0,15	0,22	0,63	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Treonina	2,82	3,07	1,64	0,92	3,65	1,24	2,32	2,77	3,18	2,83	3,05	4,3
Valina	3,50	3,65	1,79	1,19	4,69	1,57	2,91	2,94	3,71	3,40	3,62	5,2
<i>Aminoácidos não essenciais</i>												
Glutamina	ND	9,06	8,04	2,59	10,10	ND	ND	ND	12,26	11,07	12,39	14,8
Alanina	ND	3,85	3,72	1,30	5,31	ND	ND	ND	4,66	4,07	4,41	7,6
Serina	ND	2,83	1,79	1,03	2,19	ND	ND	ND	2,75	2,47	2,7	4,3
Prolina	ND	2,80	2,53	1,08	3,96	ND	ND	ND	2,15	2,05	2,44	3,6
Cisteína	ND	1,43	0,45	0,32	1,15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2,2
Tirosina	ND	2,71	0,74	0,54	0,63	ND	ND	ND	2,01	2,31	1,83	3,0
Glicina	ND	3,56	4,76	1,57	5,73	ND	ND	ND	3,6	3,25	3,86	9,1
Aspartato	ND	7,29	4,02	1,57	5,52	ND	ND	ND	7,62	7,1	8,24	10,1

FM=Farinha de peixe; FSM = Fração solúvel do musculo; FIM = Fração insolúvel do musculo (Fabregat *et al.*, 2016) FSVN = Fração solúvel de víscera natural; FSVI = Fração Solúvel vísceras Industriais (Wosniak *et al.*, 2016); HK = Hidrolisado concentrado de krill ; HC = Hidrolisado de camarão; TH = Hidrolisado de tilápia (Bui *et al.*, 2014); PUFH =Hidrolisado de peixe ultra-filtrado; NUFH = Hidrolisado de peixe não- ultrafiltrado; RUFH = material retido após ultra filtração do hidrolisado de peixe; FH = Fish hydrolysate; UFR = material retido na ultra filtração; NFR =material retido na nano filtração (Bakke *et al.*, 2010) HPP = hidrolisado de peixe; (Gisbert *et al.*, 2012). ND = não determinado.

Tabela 4 – Principais benefícios dos hidrolisado utilizados em dietas para peixes.

Fonte do hidrolisado	Espécie	Benefício	Autor
<i>Sardinella brasiliensis</i>	<i>Rhamdia quelen</i>	Crescimento	Wosniak <i>et al.</i> , 2017
<i>Sardinella brasiliensis</i>	<i>Rhamdia quelen</i>	Redução da excreção de amônia	Venturin <i>et al.</i> , 2017
<i>Sardinella brasiliensis</i>	<i>Rhamdia quelen</i>	Palatabilidade	Broggi <i>et al.</i> , 2017
<i>Theragra chalcogramma</i> HPP comercial	<i>Scophthalmus maximus</i> <i>Chirostoma estor</i>	Crescimento	Wei <i>et al.</i> , 2015
<i>Theragra chalcogramma</i> Hidrolisado de krill	<i>Pseudosciaena crocea</i> <i>Paralichthys olivaceus</i>	Substituição de farinha de origem marinha	Ospina-Salazar <i>et al.</i> , 2016.
<i>Theragra chalcogramma</i> Hidrolisado de krill	<i>Pseudosciaena crocea</i> <i>Paralichthys olivaceus</i>	Crescimento	Tang <i>et al.</i> , 2008).
<i>Theragra chalcogramma</i> Hidrolisado de krill	<i>Paralichthys olivaceus</i>	Crescimento, redução da conversão alimentar e antioxidante	Khosravi <i>et al.</i> , 2015
<i>Theragra chalcogramma</i> HPP comercial	Salmão do atlântico	Crescimento, Melhora na eficiência proteica e palatabilidade	Refstie <i>et al.</i> , 2004
<i>Theragra chalcogramma</i> HPP comercial	Robalo	Crescimento e sobrevivência de larvas, imunoestimulante	Kotzamanis <i>et al.</i> , 2007
<i>Theragra chalcogramma</i> HPP comercial	Robalo	Expressão dos hormônios de crescimento	Aksnes <i>et al.</i> , 2006; Gómez-Requeni <i>et al.</i> , 2004; Zheng, <i>et al.</i> , 2013
Hidrolisado de tilápia	<i>Oreochromis niloticus</i>	Antioxidante	Bui <i>et al.</i> , 2014
<i>Merluccius productus</i>	<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	Palatabilidade	Ho <i>et al.</i> , 2014
Hidrolisado de pollock	<i>Halibut larvae</i>	Aumento na produção de lisozima	Hermannsdottir <i>et al.</i> , 2009
<i>Clupea harengus</i>	Salmão do atlântico	Aproveitamento da proteína	Hevrøy <i>et al.</i> , 2005
Hidrolisado comercial	<i>Haliotis midae</i>	Crescimento e estímulo do sistema imune	Goosen <i>et al.</i> , 2014

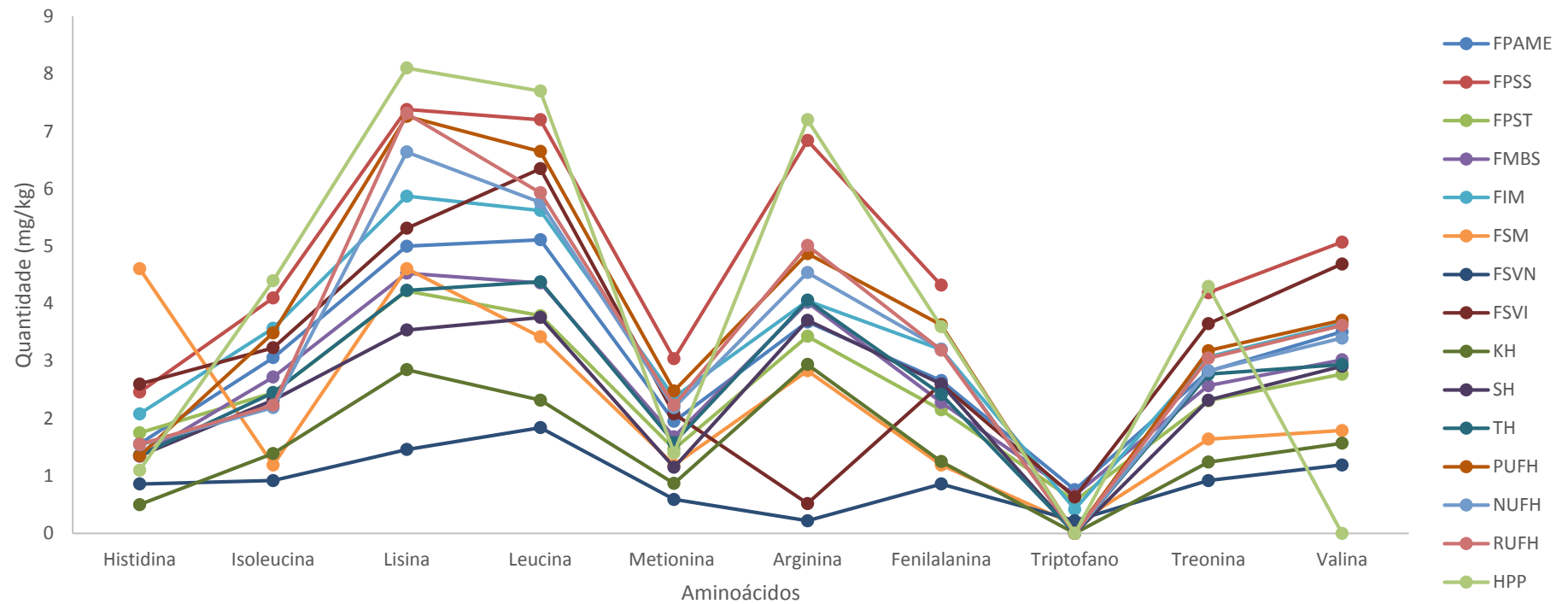


Figura 2 – Gráfico comparando o perfil de aminoácidos presente em hidrolisados e fontes proteicas tradicionais. FPAME = Farinha de peixe produzida com resíduos de carcaça de anchova mecanicamente extraído; FPSS = Farinha de peixe de subprodutos de salmão FPST = Farinha de peixe de subprodutos de tuna; FPBS = Farinha de peixe branca produzida a partir de subprodutos (NRC, 2011); FSM = Fração solúvel do musculo; FIM = Fração insolúvel do musculo (Fabregat *et al.*, 2016); FSVN = Fração solúvel de viscera natural; FSVI = Fração Solúvel visceras Industriais (Wosniak *et al.*, 2016); HK = Hidrolisado concentrado de krill; HC = Hidrolisado de camarão; TH = Hidrolisado de tilápia (Bui *et al.*, 2014); PUFH = Hidrolisado de peixe ultra-filtrado; NUFH = Hidrolisado de peixe não- ultrafiltrado; RUFH = material retido após ultra filtração do hidrolisado de peixe (Bakke *et al.*, 2010); HPP = hidrolisado de peixe; (Gisbert *et al.*, 2012).

Capitulo 2

Hidrolisado proteico de tilápia melhora o desempenho, a incorporação de proteína corporal e o estado antioxidante jundiá

Hidrolisado proteico de tilápia melhora o desempenho, a incorporação de proteína corporal e o estado antioxidante jundiá

J. Uczay ^{a*}, E. K. Battisti^b, T. L. S. Schneider^b, M. Pessatti^c, R. Lazzari^b, N. C. Peixoto^d,
T.E.H.P. Fabregat^a

^a*Departamento de produção animal, Universidade do Estado de Santa Catarina, Santa Catarina, Lages, SC, 95616, Brasil*

^b*Departamento de Zootecnia e Ciências biológicas, Universidade de Federal Santa Maria, Palmeira das Missões, RS, Brasil*

^c*Pós graduação em Ciência do Ambiente e Tecnologia, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, SC, Brasil*

^d*Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Palmeira das Missões, RS, Brasil*

*Autor para correspondência: Tel: 55-55-3742-8808; e-mail: uczay@ufsm.br

Endereço: Universidade Federal de Santa Maria, Laboratório de piscicultura e bromatologia, Avenida Independência 3751, bairro vista alegre, Palmeira das Missões, RS, Brasil. CEP: 98300-000.

Resumo

A obtenção de fontes proteicas com alto valor biológico e que reduzam a demanda por farinha de peixe nas dietas para organismos aquáticos é uma necessidade mundial. Este estudo tem como objetivo avaliar a substituição da farinha de peixe por hidrolisado proteico de tilápia (TPH) em dietas para o jundiá (*Rhamdia quelen*), verificando os efeitos sobre crescimento, composição corporal, parâmetros sanguíneos, parâmetros bioquímicos e biomarcadores de estresse oxidativo. Para isso foram produzidas cinco dietas isoproteicas e isoenergéticas (37% de proteína bruta; 3500 kcal/kg de energia bruta) que continham níveis de substituição da farinha de peixe por TPH (0, 5, 10, 15 e 20% de inclusão). A inclusão de 20% de TPH nas dietas aumentou o crescimento de juvenis de jundiá. Em níveis acima de 5% de inclusão de TPH houve aumento da incorporação de proteína nos tecidos e a eficiência do metabolismo oxidativo. A substituição da farinha de peixe de origem marinha pelo TPH, é interessante do ponto de vista ambiental, considerando-se o declínio dos estoques pesqueiros no mundo e a otimização dos recursos naturais.

Palavras-chaves: eficiência proteica, redução de amônia, antioxidante, ingrediente alternativo.

Abreviações FPH: Hidrolisado proteico de peixe; TPH: Hidrolisado proteico de tilápia; AA: aminoácidos.

1. Introdução

A produção mundial de tilápia é estimada em 3.670.259,0 toneladas (Food and Agriculture Organization, 2016). O processamento dessa espécie produz 60-70% de resíduos que incluem sobras de filés, cabeças, vísceras, pele, ossos e escamas (Clement and Lovell, 1994). Resíduos resultantes do processamento de pescados são um problema ambiental e pesquisas devem realizadas com o objetivo de encontrar soluções para uma destinação adequada. Esses resíduos

possuem quantidades satisfatórias de proteínas e lipídios, nutrientes necessários para a formulação de dietas para espécies carnívoras e onívoras (Tacon e Metian, 2008). O desenvolvimento de subprodutos como o hidrolisado proteico pode atender à demanda de ingredientes em dietas para peixes cultivados (Bui et al., 2014; Robert et al., 2015; Chalamaiah et al., 2012).

Hidrolisados de proteínas de peixe (FPH) são produtos originados a partir da hidrólise enzimática de proteínas, resultando na liberação de pequenos peptídeos e aminoácidos livres (Wisuthiphaet and Kongruang, 2015). Os FPH quando incluídos em dietas para peixes, melhoram a disponibilidade e a digestibilidade da fração proteica (Bui et al., 2014; Refstie et al., 2004). A substituição da farinha de peixe pelo FPH na dieta melhorou os parâmetros de crescimento de *Pseudosciaena crocea* (Tang et al., 2008), salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (Refstie et al., 2004), sea bream red (*Pagrus major*) (Bui et al., 2014), olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) (Khosravi et al., 2015) e large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) (Cai et al., 2015).

A inclusão de FPH na dieta também pode proporcionar benefícios para a saúde de peixes (Shahidi and Janak Kamil, 2001). Os hidrolisados possuem peptídeos bioativos com propriedades imunoestimulantes (Ahn et al., 2012), antimicrobianas (Kotzamanis et al., 2007) e antioxidantes (Sampath Kumar et al., 2012). Peptídeos presentes em hidrolisados podem sequestrar radicais de oxigênio, atuando como quelantes de íons metálicos pró-oxidantes e como inibidores da peroxidação lipídica (You et al., 2009). Nesse contexto, o FPH além de substituir a farinha de peixe em dietas, pode também atuar como um promotor de crescimento.

O jundiá é uma espécie onívora, com exigência nutricional de carnívoro, e por isso necessita de grande quantidade de proteína (Bibiano Melo et al., 2006; Salhi et al., 2004). Essa espécie, nativa do Brasil, está sendo criada em densidades maiores, resultando em problemas de saúde decorrentes do manejo e da criação. Devido aos benefícios que a inclusão de hidrolisados

promovem em dietas para peixes, foi objetivo deste estudo avaliar a substituição da farinha de peixe por hidrolisado proteico de tilápia (TPH) em dietas para o jundiá, verificando os efeitos sobre crescimento, composição corporal, parâmetros sanguíneos, parâmetros bioquímicos e biomarcadores de estresse oxidativo.

2. Material e métodos

O ensaio experimental foi realizado em um sistema de recirculação de água localizado no Laboratório de Cultura do Peixe da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Palmeira das Missões, Rio Grande do Sul, Brasil. O sistema de recirculação foi organizado em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições (20 unidades experimentais). Os juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) foram alimentados com uma dieta controle e quatro níveis de substituição (Tabela 2) de farinha de peixe por hidrolisado de proteico de tilápia (TPH) para avaliar os efeitos no desempenho, incorporação de proteína tecidual e parâmetros oxidativos. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFSM, sob o número de registro 003/2015.

2.1. Peixes e instalações experimentais

Os juvenis de jundiá ($6,42 \pm 0,10$ g) foram obtidos em uma piscicultura comercial (Piscicultura Aparecida Ltda., Ijuí, RS, Brasil) e aclimatados no laboratório durante duas semanas. Após a adaptação, os peixes foram distribuídos em um sistema com 20 peixes por tanque e cada tratamento consistiu em quatro unidades experimentais. Durante todas as manipulações, os peixes foram anestesiados com benzocaína (35 mg L^{-1}).

O sistema foi composto de tanques de polipropileno de 250 L (20 unidades), com dois termostatos (2000 W) dentro do reservatório para controle da temperatura, um filtro mecânico (500 L) e dois biofiltros (1000 L cada) para sistema de filtração biológica. O tempo total do

experimento foi estimado até o crescimento do peixe atingir o dobro do peso inicial, o que ocorreu aos 30 dias.

2.2. Produção do hidrolisado proteico de tilápia e dietas experimentais

O TPH foi preparado com a utilização de resíduos de filetagem (Carcaças sem vísceras e cabeça) do processamento de tilápia adquiridas em indústrias de peixe. Para a preparação do hidrolisado, adicionou-se 100 g de resíduos em 100 mL de água destilada e homogeneizou-se. Depois, adicionou-se a enzima pepsina de origem suína (Bella Vista enzimas[®], São Paulo, SP, Brasil) na proporção de 0,4 g para 100 g de resíduo. A solução foi peneirada para separar ossos e espinhas, incubada (Marconi[®], Piracicaba, SP, Brasil) em uma temperatura e agitação constante de 36°C durante 4 horas. Posteriormente, a solução foi aquecida a 100°C durante 10 minutos para desativar as enzimas, peneirada para remoção de ossos e espinhas e seca em estufa (55°C) durante 24 horas.

A composição proximal, o grau de hidrólise (DH) e o peso molecular dos peptídeos são apresentados na Tabela 1. As concentrações de matéria seca, proteína bruta, lipídios e cinzas nos ingredientes e das dietas foram analisados em quintuplicatas usando procedimentos padrão de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995). Os lipídios foram extraídos com metanol/ clorofórmio e quantificados pelo procedimento de Bligh e Dyer (1959). O DH foi determinado de acordo com Nielsen et al., (2001). A análise consiste na quantificação de grupos amino livres do hidrolisado, pela reação desses grupos com o-ftaldialdeído, em relação à proteína total da matéria-prima, determinada pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995). Para a determinação da distribuição de peso molecular dos peptídeos do TPH, foram realizadas corridas eletroforéticas em Tricina-SDS-PAGE, conforme Schägger (2006), em sistema de eletroforese mini-Protean (BioRad).

Uma dieta controle contendo farinha de peixe (tratamento de controle) e quatro dietas contendo diferentes níveis de substituição de farinha de peixe para TPH (5, 10, 15 e 20%). A composição analisada e os ingredientes utilizados para a confecção das dietas são mostrados na Tabela 2. Os ingredientes foram misturados em um homogenizador horizontal. Durante esse processo os suplementos de vitaminas e minerais, óleo e água destilada foram adicionados aos ingredientes. A massa produzida foi então peletizada. Os peletes foram secos a 55°C durante 24 h e após as dietas foram armazenadas em recipientes de vidro fechado a -15°C. As concentrações de umidade, proteína bruta, lipídios e cinzas nos ingredientes e as dietas foram analisadas em quintuplicado usando procedimentos padrão (AOAC, 1995). A composição de AA foi determinada de acordo com White et al. (1986).

2.3. Manejo alimentar e análises de parâmetros físico-químicos da água

Os peixes foram alimentados até a saciedade aparente. As dietas foram distribuídas em três refeições (às 9 h, às 13 h e às 17 h). Antes de cada alimentação, todos os resíduos foram removidos por sifonagem.

As seguintes características físicas e químicas da água foram analisadas: alcalinidade total ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) avaliada pelo método de titulação de neutralização, dureza total ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) pelo método de titulação de complexação e nitrito pela alfa-naftilamina segundo os métodos de análise da American Public Health Association (APHA, 2005). O pH foi medido com pHâmetro digital (YSI® F1100), temperatura e oxigênio dissolvido, com oxímetro (YSI ProODO®). Durante o período experimental, a qualidade da água permaneceu em condições ideais para a espécie (Baldisserotto e Silva, 2004), pH ($7,3 \pm 0,2$), temperatura pela manhã ($25,9 \pm 1,3^\circ\text{C}$), temperatura pela tarde ($26,7 \pm 1,1^\circ\text{C}$), oxigênio dissolvido ($5,01 \pm 0,68 \text{ mg L}^{-1}$), amônia total ($2,38 \pm 0,76 \text{ mg L}^{-1}$); nitrito ($0,16 \pm 0,05 \text{ mg L}^{-1}$), alcalinidade ($58,0 \pm 13,4 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) e dureza ($92,7 \pm 3,7 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$).

2.4 Amostragem

No final do período experimental, os peixes foram submetidos a jejum durante aproximadamente 24 h. Dois animais por tanque (oito por tratamento) foram selecionados aleatoriamente para coleta de sangue. Os peixes foram anestesiados e as amostras de sangue foram coletadas imediatamente da veia caudal utilizando uma seringa médica descartável e agulhas (25 × 0,7 mm) contendo anticoagulante (solução EDTA a 10%). Cada amostra de sangue foi dividida em duas alíquotas; uma (70 µL) foi colocada em um tubo com anticoagulante para medição dos parâmetros hematológicos (10 µL para hemoglobina, 10 µL de número total de glóbulos vermelhos, teste de 40 µL para micro hematócrito) e a outra foi centrifugada a 3500 rpm durante 10 minutos para análise dos parâmetros bioquímicos do plasma.

Foram realizadas medidas biométricas, com todos os animais individualmente pesados e medidos para avaliar o crescimento e o ganho de peso. Sete peixes por tanque foram removidos (28 por tratamento), anestesiados com benzocaína e submetidos a eutanásia por seccionamento da coluna vertebral, seguindo a metodologia utilizada por Menezes et al. (2015). Dos sete animais separados, três foram destinados para análises de composição centesimal e dois para coleta de tecido (fígado, brânquia e músculo) para a análise dos parâmetros bioquímicos (fígado e músculo) e dois para biomarcadores de estresse oxidativo (fígado, brânquias e músculo).

2.5 Análises

2.5.1 *Parâmetros de crescimento*

Para determinar os parâmetros de crescimento, os peixes foram pesados, no início e no final do período experimental. Antes da pesagem, os peixes foram submetidos a um período de jejum de 24 h. Durante a biometria os peixes foram anestesiados com benzocaína (35 mg L⁻¹). As seguintes medidas foram registradas e calculadas: peso inicial (gramas), peso final (gramas), ganho de peso (peso corporal final - peso corporal inicial, em gramas), biomassa (peso total de peixe por tanque, em gramas), ingestão alimentar (Dieta total consumida por tanque, em gramas) e conversão alimentar (consumo total de alimento / ganho de peso total, em gramas).

2.5.2 *Composição proteica corporal e muscular*

A análise da composição proteica da carcaça e do músculo foi realizada coletando amostras de três animais por tanque ao final do ensaio. A umidade foi determinada pela perda de peso após 4 h a 60 °C em estufa de circulação de ar forçado, por 8 h a 105 °C. Proteína bruta (N x 6.25) foi determinada pela metodologia de micro Kjeldahl (método 960.52) presente na AOAC (1995).

2.5.3 *Bioquímica do fígado e do músculo*

No fígado e nos músculos foram determinadas as quantidades de AA livres, amônia e transaminases. Para a quantificação dos AA livres (Spies, 1957) e transaminases, uma amostra de fígado de 50 mg foi homogeneizada e centrifugada a 3500 rpm durante 10 minutos. Foi utilizado um método enzimático para a quantificação de glicose no fígado a partir de um kit comercial. A amônia total foi determinada pela técnica do salicilato (Verdouw et al., 1978). Os níveis de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) foram quantificados usando um kit comercial colorimétrico (Reitman e Frankel, 1957).

2.5.4 Parâmetros hematológicos e bioquímica sanguínea

A coleta de sangue da veia caudal foi realizada no final do experimento com seringas heparinizadas (8 peixes por tratamento). Cinco minutos antes da coleta de sangue, os animais foram retirados do tanque e anestesiados com benzocaína (50 mg L⁻¹). O sangue foi utilizado para diferentes análises. Os triglicerídeos, o colesterol, a albumina, a proteína total e a glicose no plasma e a hemoglobina foram determinados por espectrofotometria (Biospectro[®]) com kits comerciais (Doles[®]). Uma alíquota de sangue foi utilizada para determinação de hematócrito (HCT), usando-se tubos capilares de microhematócrito

2.5.5 Biomarcadores de estresse oxidativo

Os tecidos foram homogeneizados conforme descrito por Azambuja et al., (2011). A peroxidação lipídica (LPO) foi estimada usando as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Buege e Aust, 1978). Os resultados são apresentados em nmol de malondialdeído (MDA) por grama de tecido. O teor de tióis (-SH), proteico e não proteico (NPSH) foi medida, após reação com o ácido 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzóico) (Ellman, 1959). O conteúdo de tióis proteicos e NPSH está apresentado em µmol SH / grama de tecido.

2.6 Análise estatística

Inicialmente, a análise foi realizada para a detecção de outliers, e os dados fora do intervalo de desvio padrão médio $\pm 2x$ foram excluídos. O teste Shapiro-Wilk foi aplicado para verificar a normalidade dos dados (homogeneidade das variâncias). Os dados com distribuição normal foram submetidos a análise de variância (ANOVA) de uma via. Os parâmetros com distribuição normal e níveis de TPH na dieta foram analisadas por regressão polinomial. Foram consideradas equações com confiabilidade superior a 90% ($r^2 > 0,90$). Foi utilizado o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_i^2 + \epsilon_{ij}$$

onde Y representa a observação, β representa a equação constante, βX representa o coeficiente de regressão linear, βX^2 representa o coeficiente de regressão quadrática e ϵ representa o erro residual.

As variáveis com distribuição não normal foram submetidas a ANOVA. Os dados que não se enquadram na regressão polinomial tiveram as médias comparadas pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software Statistical Analysis System[®].

3. Resultados

3.1 Crescimento

A inclusão de 20% de hidrolisado de tilápia melhorou o peso final ($p=0,0155$), ganho de peso ($p=0,155$) e biomassa ($p=0,0484$) em comparação com a dieta (Tabela 3). Nenhuma diferença foi observada no consumo ($p=0,118$) da dieta. A conversão alimentar diminuiu ($p=0,00014$) em todos os tratamentos contendo TPH na dieta.

3.2 Composição proteica e muscular

A composição proteica e do músculo estão apresentados na tabela 4. A inclusão de TPH aumentou a proteína corporal ($p=0,0109$) e muscular ($p=0,0289$) em comparação com o controle (sem hidrolisado).

3.3 Parâmetros bioquímicos do fígado e músculo

Os dados de amônia são apresentados nas figuras 1 e 2. Os níveis de amônia diminuíram linearmente no fígado ($Y=2,32-0,10327x$; $r^2 = 0,99$; $p=0,0001$) e músculo ($Y=13,60 - 0,33410x$; $r^2=0,93$; $p = 0,0001$) com a inclusão de TPH. Outros parâmetros são apresentados na

tabela 5. A atividade das transaminases (AST e ALT) aumentaram com a inclusão de TPH ($p=0,0001$). Aminoácidos livres no fígado também aumentaram com a adição de TPH nas dietas ($p=0,0001$). Glicose no fígado e glicogênio no músculo não tiveram diferenças entre os tratamentos ($p=0,51$ e $0,48$, respectivamente).

3.4. Parâmetros hematológicos e bioquímica do plasma

Não houve diferença no hematócrito ($p=0,23$), hemoglobina ($p=0,06$) e proteína total no sangue ($p=0,56$) nos peixes alimentados com hidrolisados quando comparados com a dieta contendo farinha de peixe (Tabela 6). Albumina foi maior em peixes alimentados com hidrolisados ($p=0,0031$).

3.4 Biomarcadores oxidativos

A LPO, medida por TBARS, diminuiu no músculo de jundiás alimentados com TPH ($p=0,0122$) em comparação com o tratamento controle (Tabela 7). O conteúdo de NPSH aumentou com a inclusão de TPH no músculo ($p=0,0001$) e brânquias ($p=0,0004$). Tióis totais não foram influenciados pela inclusão de TPH nas dietas ($p=0,2573$).

4. Discussão

4.1. Crescimento

A ingestão das dietas contendo TPH melhorou a conversão alimentar dos peixes. No nível mais alto de inclusão o hidrolisado também foi capaz de promover o crescimento dos peixes em relação à dieta controle. O TPH apresentou 46,9% dos peptídeos com tamanho menor que 20 kDa. Os peptídeos de baixo peso molecular presentes nos hidrolisados, possuem propriedades bioativas e favorecem o crescimento (Aksnes et al., 2006). Outros autores já mostraram que a ingestão de dietas contendo os hidrolisados pode melhorar o desempenho dos peixes em relação a dietas contendo farinha de peixe. A substituição da farinha de peixe por 10% de hidrolisado de pollock (*Theragra chalcogramma*) aumentou

o ganho de peso de juvenis de yellow croacker (*Pseudosciaena crocea*) (Tang et al., 2008). O hidrolisado de krill como substituto da farinha de peixe, em 10% da dieta, elevou a taxa de crescimento e diminuiu a conversão alimentar em juvenis de olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) (Khosravi et al., 2015). Para salmão do atlântico, a ingestão de dietas contendo FPH em comparação com uma dieta contendo farinha de peixe resultou em uma utilização mais eficiente da proteína para o crescimento (Refstie et al., 2004)

A análise de aminoácidos das dietas mostrou que a substituição da farinha de peixe pelo TPH proporcionou uma quantidade dos aminoácidos essenciais e não-essenciais muito semelhante entre os tratamentos. O perfil adequado de aminoácidos comprova o potencial do TPH como ingrediente de dietas para organismos aquáticos. Resultados semelhantes foram obtidos na produção de hidrolisado de vísceras de tilápia (Silva et al., 2014). Em alguns trabalhos, a substituição da farinha de peixe por FPH não proporcionou maior crescimento em relação a farinha de peixe (Ospina-Salazar et al., 2016; Wei et al., 2015). Ainda assim a substituição é positiva, pois a menor disponibilidade da farinha de peixe gera a necessidade de ingredientes alternativos. O uso do TPH é uma boa alternativa, pois além de substituir a farinha de peixe, promove o crescimento e não altera a proporção de aminoácidos essenciais e não essenciais das dietas.

O DH do TPH foi de 20,3%, estando este valor na faixa encontrada em outros trabalhos que foram de 9% a 54% (Fabregat et al., 2016; Venturin et al., 2016; Wosniak et al., 2016). O DH indica o percentual de ligações peptídicas quebradas, o que afeta as propriedades físico-químicas e funcionais do hidrolisado (Wasswa et al., 2007). Durante a hidrólise uma grande quantidade de peptídeos grandes, médios ou pequenos são formados, dependendo da enzima ou processo utilizado (Bougatef et al., 2010). Somente no nível de 20% de inclusão de TPH houve aumento no crescimento. Isto pode ter ocorrido porque a partir deste nível de inclusão os peixes tiveram aporte de uma quantidade suficiente de peptídeos para alterar o desempenho. Maiores taxas de crescimento foram observadas em jundiás alimentados com hidrolisados com maior DH (Wosniak et al., 2016). No entanto, na maioria dos trabalhos com hidrolisado de pescado os autores não avaliam o DH, sendo necessários mais estudos para elucidar melhor esta relação.

4.2 Composição corporal e parâmetros bioquímicos

A inclusão do TPH na dieta aumentou a deposição de proteína corporal e muscular dos juvenis de jundiá, assim como a quantidade de AA livres no fígado. Para juvenis do salmão atlântico a substituição de farinha de peixe por hidrolisado comercial também aumentou a retenção de proteína corporal (Refstie et al., 2004). Os hidrolisados proteicos possuem uma grande quantidade de peptídeos de baixo peso molecular (Liaset et al., 2000), os quais são absorvidos de forma mais eficiente em comparação com os AA livres e proteínas intactas (Espe et al., 1993). Peptídeos de baixo peso molecular têm uma rota de absorção mais rápida no intestino, através do simporte hidrogênio/peptídeo nos canais PEPT 1 e 2, que também evita a competição, por sítios de absorção nos enterócitos, com outros nutrientes, como minerais (Daniel, 2004). Ao entrar no enterócito, os peptídeos são clivados por peptidases endógenas e, na forma de AA, são carregados via corrente sanguínea, para então serem metabolizados no fígado (Ostaszewska et al., 2009). A relação entre os canais PEPT 1 e 2 e a presença de di e tripeptídeos foi evidenciada para juvenis de Atlantic Cod (*Gadus morhua*), em que a substituição de 14,4% de farinha de peixe por hidrolisado, estimulou a expressão gênica de canais PEPT 1 e 2 no intestino (Bakke et al., 2010). No presente estudo não foi avaliada a expressão gênica, mas o aumento dos AA livres no fígado e a presença de peptídeos de baixo peso molecular (46,9% dos peptídeos com tamanho menor que 20 kDa) indica que a absorção da fração proteica das dietas contendo TPH foi mais eficiente.

Houve uma maior atividade das enzimas AST e ALT no fígado dos jundiás alimentados com TPH. Estas enzimas são biomarcadores do metabolismo de AA e o aumento das suas atividades ocorre quando há processos de desaminação e transaminação (Cheng et al., 2010; Meton et al., 1999). A desaminação consiste na quebra de AA para utilização da cadeia carbonada como fonte de energia, levando a um aumento na produção de amônia endógena (Bibiano Melo et al., 2006), o que não foi observado nas dietas contendo TPH. Por outro lado,

a transaminação consiste na síntese de AA não-essenciais que serão utilizados para o incremento proteico, a partir da transferência de grupos amino a cadeias carbonadas (Cheng et al., 2010). A redução da amônia no fígado, juntamente com o aumento dos AA livres e da deposição de proteína corporal em peixes alimentados com TPH, sugerem que o aumento da atividade das aminotransferases foram decorrentes de processos de transaminação. A inclusão de 40% de hidrolisado na dieta de yellow croaker (*Larimichthys crocea*) estimulou a atividade das aminotransferases e melhorou o metabolismo dos AA, resultados atribuídos à presença de peptídeos de baixo peso molecular na dieta (Cai et al., 2015). A utilização do TPH em dietas para o jundiá reduziu a produção metabólica de amônia no fígado e no músculo. Um dos grandes problemas da piscicultura intensiva é a grande liberação de compostos nitrogenados, que são potencialmente danosos ao ambiente aquático natural (Fang et al., 2017). Na cadeia da piscicultura buscam-se estratégias de nutrição e manejo para reduzir a produção de compostos nitrogenados em sistemas de cultivos intensivos, especialmente amônia (Lim et al., 2001). A utilização do TPH em dietas para juvenis de jundiá promoveu uma melhor utilização da proteína, diminuindo a metabolização de amônia, contribuindo para a redução dos impactos ambientais causados pela piscicultura. Para juvenis de jundiá, a utilização de hidrolisado de músculo ou vísceras de sardinha em um nível de até 10% de substituição de farinha de peixe reduziu a excreção de amônia (Fabregat et al., 2016; Venturin et al., 2016).

4.3. Parâmetros hematológicos e plasmáticos

O nível de hemoglobina e do hematócrito não diferiram entre os tratamentos e apresentaram valores médios próximos do esperado para o jundiá (Sacol et al., 2013). A substituição de 4,23% a de farinha de peixe por TPH para juvenis de red seabream (*Pagrus major*) também não alterou os valores de hematócrito (Bui et al., 2014). Estes resultados indicam que o TPH pode ser utilizado de forma segura em dietas para o jundiá. O aumento da albumina pode ser

explicado pela maior disponibilidade de AA livres no fígado nos peixes alimentados com as dietas contendo TPH. A produção de albumina está correlacionada com a biodisponibilidade de AA (Whicher e Spence, 1987). Esses autores também relataram que a albumina possui funções de armazenamento e transporte, de modo que esta proteína pode ser utilizada nas células para fornecer AA necessários para a síntese de novos tecidos. O aumento da albumina confirma, mais uma vez, que a absorção da proteína foi mais eficiente nas dietas contendo TPH.

4.4. Biomarcadores oxidativos

A inclusão de TPH nas dietas influenciou positivamente o metabolismo oxidativo dos peixes. Houve uma diminuição da LPO muscular nos peixes alimentados com níveis a partir de 15% de TPH. Os di e tripeptídeos presentes no TPH podem ter atuado como “scavengers” de elétrons desapareados, agindo como agentes antioxidantes. Peptídeos derivados da hidrólise enzimática são capazes de eliminar espécies reativas de oxigênio e quelar íons metálicos pró-oxidantes, inibindo a peroxidação lipídica (You et al., 2010) e atuando como compostos antioxidantes (Raghavan et al., 2008; Ngo et al., 2010; Sampath Kumar et al., 2012; Ahn et al., 2012). Resultados anteriores já demonstraram que peptídeos presentes em hidrolisados aumentaram a capacidade antioxidante, prevenindo o estresse oxidativo em juvenis de *Otolithes ruber* (Nazeer et al., 2012).

O aumento de NPSH foi observado no músculo e nas brânquias de jundiás alimentados com TPH. O conteúdo do NPSH é uma medida indireta da glutathiona reduzida (Ellman, 1959). A glutathiona é um composto antioxidante não enzimático formado por glutamato, cisteína e glicina (Dandapat et al., 2000). A cisteína é um AA não-essencial cujo precursor é a metionina. A quantidade de metionina, glicina e glutamina presente nas dietas foi semelhante (tabela 2). Entretanto, os resultados dos parâmetros bioquímicos evidenciam um aumento na transaminação das dietas contendo TPH, sugerindo uma maior síntese de AA não-essenciais. A

maior disponibilidade de cisteína, glicina e glutamina aumenta a biossíntese dos NPSH por disponibilizar mais substrato (Meister, 1989), explicando a maior eficiência na produção NPSH.

A diminuição da LPO e o incremento de NPSH foram observados em estudos utilizando antioxidantes tradicionais para peixes como óleos essenciais (Saccol et al., 2013), selênio (Elia et al., 2011) e vitamina E (Dandapat et al., 2000). A substituição parcial de farinha de pescado por TPH, além de proporcionar bom crescimento, eficiência no uso de proteína dietética e evitar a utilização de farinha de peixe de captura, também estimula o sistema de defesa antioxidante. Assim, o TPH torna-se bastante promissor como um produto para manter a boa saúde de peixes de cultivo, podendo ser considerado um promotor de crescimento.

5. Conclusão

A inclusão de 20% de TPH nas dietas aumentou o crescimento de juvenis de jundiá. Em níveis acima de 5% observou-se aumento na incorporação de proteína nos tecidos e na eficiência do metabolismo oxidativo. É importante destacar que em adição a esses benefícios, a substituição da farinha de peixe de origem marinha pelo TPH é interessante do ponto de vista ambiental, considerando o declínio dos estoques pesqueiros no mundo.

Agradecimentos

Os autores agradecem a empresa Bela Vista[®] produtos enzimáticos para a doação de enzima pepsina.

Referências

- Ahn, C.B., Je, J.Y., Cho, Y.S., 2012. Antioxidant and anti-inflammatory peptide fraction from salmon byproduct protein hydrolysates by peptic hydrolysis. *Food Res. Int.* 49, 92–98. doi:10.1016/j.foodres.2012.08.002
- Aksnes, A., Hope, B., Jönsson, E., Björnsson, B.T., Albrektsen, S., 2006. 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* 261, 305–317.

- doi:10.1016/j.aquaculture.2006.07.025
- AOAC, 1995. AOAC Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA.
- APHA. American Public Health Association. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st ed. APHA: Washington, DC, USA
- Azambuja, C.R., Mattiazzi, J., Riffel, A.P.K., Finamor, I.A., Garcia, L. de O., Heldwein, C.G., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., Pavanato, M.A., Llesuy, S.F., 2011. Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to transport. *Aquaculture* 319, 156–161. doi:10.1016/j.aquaculture.2011.06.002
- Baldisserotto, B., Silva, L.V.F., 2004. Qualidade da água. In: Baldisserotto, B., Radunz Neto, J. (Eds.), Criação de jundiá vol. 1. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, pp. 73–92.
- Bakke, S., Jordal, A.-E.O., Gómez-Requeni, P., Verri, T., Kousoulaki, K., Aksnes, A., Ronnestad, I., 2010. Dietary protein hydrolysates and free amino acids affect the spatial expression of peptide transporter PepT1 in the digestive tract of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. Mol. Biol.* 156, 48–55. doi:10.1016/j.cbpb.2010.02.002
- Bibiano Melo, J.F., Lundstedt, L.M., Metón, I., Baanante, I.V., Moraes, G., 2006. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). *Comp. Biochem. Physiol. - A Mol. Integr. Physiol.* 145, 181–187. doi:10.1016/j.cbpa.2006.06.007
- Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911–917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Manni, L., Ravallec, R., Barkia, A., Guillochon, D., Nasri, M., 2010. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. *Food Chem.* 118, 559–565. doi:10.1016/j.foodchem.2009.05.021
- Buege, J.A., Aust, S.D., 1978. [30] Microsomal lipid peroxidation, in: Enzymology, S.F. and L.P.B.T.-M. in (Ed.), Biomembranes - Part C: Biological Oxidations. Academic Press, pp. 302–310. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(78\)52032-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6)
- Bui, H.T.D., Khosravi, S., Fournier, V., Heralut, M., Lee, K.J., 2014. Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. *Aquaculture* 418–419, 11–16. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.09.046
- Cai, Z., Li, W., Mai, K., Xu, W., Zhang, Y., Ai, Q., 2015. Effects of dietary size-fractionated fish hydrolysates on growth, activities of digestive enzymes and aminotransferases and expression of some protein metabolism related genes in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) larvae. *Aquaculture* 440, 40–47. doi:10.1016/j.aquaculture.2015.01.026
- Cheng, Z., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Ma, H., Li, Y., Zhang, J., 2010. Effects of dietary canola meal on growth performance, digestion and metabolism of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture* 305, 102–108. doi:10.1016/j.aquaculture.2010.03.031
- Clement, S., Lovell, R.T., 1994. Comparison of processing yield and nutrient composition of cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 119, 299–310. doi:10.1016/0044-8486(94)90184-8
- Dandapat, J., Chainy, G.B., Rao, K.J., 2000. Dietary vitamin-E modulates antioxidant defence system in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 127, 101–115. doi:10.1016/S0742-8413(00)00132-8
- Daniel, H., 2004. Molecular and Integrative Physiology of Intestinal Peptide Transport. *Annu. Rev. Physiol.* 66, 361–384. doi:10.1146/annurev.physiol.66.032102.144149
- Elia, A.C., Prearo, M., Pacini, N., Dörr, A.J.M., Abete, M.C., 2011. Effects of selenium diets on growth, accumulation and antioxidant response in juvenile carp. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74, 166–173. doi:10.1016/j.ecoenv.2010.04.006
- Ellman, G.L., 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 82, 70–77. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
- Espe, M., Lied, E., Torrissen, K.R., 1993. Changes in plasma and muscle free amino acids in atlantic salmon (*Salmo salar*) during absorption of diets containing different amounts of hydrolysed cod muscle protein. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Physiol.* 105, 555–562. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0300-9629\(93\)90434-6](http://dx.doi.org/10.1016/0300-9629(93)90434-6)

- Fabregat, T.E.H.P., Wosniak, B., Gonçalves, A.F.N., Ha, N.; Skoroski, E., Pessatti, M.L., 2016. Frações solúveis e insolúveis do hidrolisado proteico de resíduo de sardinha na alimentação do jundiá: consumo de ração e excreção de amônia. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.* 68, 1713–1720. doi:<http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9153>.
- Fang, L., Bai, X.L., Liang, X.F., He, S., Guo, X.Z., Li, L., Li, B., Shen, D., Tao, Y.X., 2017. Ammonia nitrogen excretion in Mandarin Fish (*Siniperca chuatsi*) and Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fed practical diets: the effects of water temperature. *Aquac. Res.* 48, 836–843. doi:10.1111/are.12927
- Food and Agriculture Organization, 2016. Cultured Aquatic Species Information Programme *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) [WWW Document].
- Khosravi, S., Bui, H.T.D., Rahimnejad, S., Herault, M., Fournier, V., Jeong, J.B., Lee, K.J., 2015. Effect of dietary hydrolysate supplementation on growth performance, non-specific immune response and disease resistance of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquac. Nutr.* 21, 321–331. doi:10.1111/anu.12157
- Kotzamanis, Y.P., Gisbert, E., Gatesoupe, F.J., Zambonino Infante, J., Cahu, C., 2007. Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Comp. Biochem. Physiol. - A Mol. Integr. Physiol.* 147, 205–214. doi:10.1016/j.cbpa.2006.12.037
- Liaset, B., Lied, E., Espe, M., 2000. Enzymatic hydrolysis of by-products from the fish-filleting industry; chemical characterisation and nutritional evaluation. *J. Sci. Food Agric.* 80, 581–589. doi:10.1002/(SICI)1097-0010(200004)80:5<581::AID-JSFA578>3.0.CO;2-I
- Lim, C.B., Chew, S.F., Anderson, P.M., Ip, Y.K., 2001. Reduction in the rates of protein and amino acid catabolism to slow down the accumulation of endogenous ammonia: a strategy potentially adopted by mudskippers (*Periophthalmodon schlosseri* and *Boleophthalmus boddarti*) during aerial exposure in constant darkness. *J. Exp. Biol.* 204, 1605–1614. doi:<http://jeb.biologists.org/content/jebbio/204/9/1605.full.pdf>
- Menezes, C., Ruiz-Jarabo, I., Martos-Sitcha, J.A., Toni, C., Salbego, J., Becker, A., Loro, V.L., Martínez-Rodríguez, G., Mancera, J.M., Baldisserotto, B., 2015. The influence of stocking density and food deprivation in silver catfish (*Rhamdia quelen*): a metabolic and endocrine approach. *Aquaculture* 435, 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.044>
- Meister, A., 1989. Metabolism and function of glutathione, in: Dolphin, D., Poulson, R. & Avramovic, O. (Ed.), *Glutathione: Chemical, Biochemical, and Medical Aspects*. John Wiley and Sons, New York, NY., pp. 367–474.
- Meton, I., Mediavilla, D., Caseras, A., Canto, E., Fernandez, F., Baanante, I. V, 1999. Effect of diet composition and ration size on key enzyme activities of glycolysis-gluconeogenesis, the pentose phosphate pathway and amino acid metabolism in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Br J Nutr* 82, 223–232. <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114599001403>
- Nazeer, R.A., Sampath Kumar, N.S., Jai Ganesh, R., 2012. In vitro and in vivo studies on the antioxidant activity of fish peptide isolated from the croaker (*Otolithes ruber*) muscle protein hydrolysate. *Peptides* 35, 261–268. doi:10.1016/j.peptides.2012.03.028
- Ngo, D.H., Qian, Z.J., Ryu, B., Park, J.W., Kim, S.K., 2010. In vitro antioxidant activity of a peptide isolated from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) scale gelatin in free radical-mediated oxidative systems. *J. Funct. Foods* 2, 107–117. doi:10.1016/j.jff.2010.02.001
- Nielsen, P.M., Petersen, D., Dambmann, C., 2001. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *J. Food Sci.* 66, 642–646. doi: 10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x
- Ospina-Salazar, G.H., Ríos-Durán, M.G., Toledo-Cuevas, E.M., Martínez-Palacios, C.A., 2016. The effects of fish hydrolysate and soy protein isolate on the growth performance, body composition and digestibility of juvenile pike silverside, *Chirostoma estor*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 220, 168–179. doi:10.1016/j.anifeedsci.2016.08.011
- Ostaszewska, T., Szatkowska, I., Verri, T., Dabrowski, K., Romano, A., Barca, A., Muszyńska, M., Dybus, A., Grochowski, P., Kamaszewski, M., 2009. Cloning two PepT1 cDNA fragments of common carp, *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae). *Acta Ichthyol. Piscat.* 39, 81–86. doi:10.3750/AIP2009.39.2.01
- Raghavan, S., Kristinsson, H.G., Leeuwenburgh, C., 2008. Radical Scavenging and Reducing Ability

- of Tilápia (*Oreochromis niloticus*) Protein Hydrolysates. *J. Agric. Food Chem.* 56, 10359–10367. doi:10.1021/jf8017194
- Refstie, S., Olli, J.J., Standal, H., 2004. Feed intake, growth, and protein utilisation by post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. *Aquaculture* 239, 331–349. doi:10.1016/j.aquaculture.2004.06.015
- Reitman, S., Frankel, S., 1957. A Colorimetric Method for the Determination of Serum Glutamic Oxalacetic and Glutamic Pyruvic Transaminases. *Am. J. Clin. Pathol.* 56–63. doi:http://dx.doi.org/10.1093/ajcp/28.1.56
- Robert, M., Zatylny-Gaudin, C., Fournier, V., Corre, E., Le Corguillé, G., Bernay, B., Henry, J., 2015. Molecular characterization of peptide fractions of a Tilápia (*Oreochromis niloticus*) by-product hydrolysate and in vitro evaluation of antibacterial activity. *Process Biochem.* 50, 487–492. doi:10.1016/j.procbio.2014.12.022
- Saccol, E.M.H., Uczay, J., Pês, T.S., Finamor, I.A., Ourique, G.M., Riffel, A.P.K., Schmidt, D., Caron, B.O., Heinzmann, B.M., Llesuy, S.F., Lazzari, R., Baldisserotto, B., Pavanato, M.A., 2013. Addition of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown essential oil to the diet of the silver catfish: An analysis of growth, metabolic and blood parameters and the antioxidant response. *Aquaculture* 416–417, 244–254. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.09.036
- Salhi, M., Bessonart, M., Chediak, G., Bellagamba, M., Carnevia, D., 2004. Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. *Aquaculture* 231, 435–444. doi:10.1016/j.aquaculture.2003.08.006
- Sampath Kumar, N.S., Nazeer, R.A., Jaiganesh, R., 2012. Purification and identification of antioxidant peptides from the skin protein hydrolysate of two marine fishes, horse mackerel (*Magalaspis cordyla*) and croaker (*Otolithes ruber*). *Amino Acids* 42, 1641–1649. doi:10.1007/s00726-011-0858-6
- Shahidi, F., Janak Kamil, Y.V.A., 2001. Enzymes from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry. *Trends Food Sci. Technol.* 12, 435–464. doi:10.1016/S0924-2244(02)00021-3
- Schägger, H. 2006. "Tricine-sds-page." *Nature protocols* v 1, n. 1, p.16 doi:10.1038/nprot.2006.4
- Silva, J.F.X., Ribeiro, K., Silva, J.F., Cahú, T.B., Bezerra, R.S., 2014. Utilization of tilápia processing waste for the production of fish protein hydrolysate. *Anim. Feed Sci. Technol.* 196, 96–106. doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.06.010
- Spies, J.R., 1957. [76] Colorimetric procedures for amino acids, in: *Enzymology*, B.T.-M. in (Ed.), Academic Press, pp. 467–477. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(57)03417-5
- Tacon, A.G.J., Metian, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285, 146–158. doi:10.1016/j.aquaculture.2008.08.015
- Tang, H.G., Wu, T.X., Zhao, Z.Y., Pan, X.D., 2008. Effects of fish protein hydrolysate on growth performance and humoral immune response in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.). *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 9, 684–690. doi:10.1631/jzus.B0820088
- Venturin, A., Gonçalves, A.F.N., Oliveira, N.S., Skoronski, E., Pessatti, M.L., Fabregat, T.E.H.P., 2016. Soluble fraction of sardine protein hydrolysates in the feeding of the South American catfish. *Bol. do Inst. Pesca* 42, 878–888. doi:10.20950/1678-2305.2016v42n4p878
- Verdouw, H., Van Echteld, C.J.A., Dekkers, E.M.J., 1978. Ammonia determination based on indophenol formation with sodium salicylate. *Water Res.* 12, 399–402. doi:10.1016/0043-1354(78)90107-0
- Wasswa, J., Tang, J., Gu, X., Yuan, X., 2007. Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chem.* 104, 1698–1704. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.044
- Wei, Y., Liang, M., Mu, Y., Zheng, K., Xu, H., 2015. The effect of ultrafiltered fish protein hydrolysate level on growth performance, protein digestibility and mRNA expression of PepT1 in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquac. Nutr.* doi:10.1111/anu.12319
- Whicher, J., Spence, C., 1987. When is serum albumin worth measuring? *Ann. Clin. Biochem.* 24 (Pt 6), 572–580. doi: 10.1177/000456328702400604

- White, A., Hart, R.J., Fry, J.C., 1986. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. *J Automat Chem.* 1986; 8, 170–177. doi:10.1155/S1463924686000330
- Wisuthiphaet, N., Kongruang, S., 2015. Production of Fish Protein Hydrolysates by Acid and Enzymatic Hydrolysis. *J. Med. Bioeng.* 4, 466–470. doi:10.12720/jomb.4.6.466-470
- Wosniak, B., William, E., Melim, H., Há, N., Uczay, J., Pilatti, C., Pessatti, M.L., El, T., Perez, H., Animal, C., Agroveterinárias, C.D.C., Santa, E. De, Veterinária, M., Agroveterinárias, C.D.C., Santa, E. De, 2016. Effect of diets containing different types of sardine waste (*Sardinella sp.*) protein hydrolysate on the performance and intestinal morphometry of silver catfish juveniles (*Rhamdia quelen*) 44. doi:10.3856/vol44-issue5-fulltext-x
- You, L., Zhao, M., Cui, C., Zhao, H., Yang, B., 2009. Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 10, 235–240. doi:10.1016/j.ifset.2008.08.007
- You, L., Zhao, M., Regenstein, J.M., Ren, J., 2010. Changes in the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates during a simulated gastrointestinal digestion. *Food Chem.* 120, 810–816. doi:10.1016/j.foodchem.2009.11.018

Tabela 1

Composição proximal e grau de hidrólise (DH) do hidrolisado proteico de tilápia (TPH).

	Quantidade (%)
<i>Composição centesimal (%)</i>	
Matéria seca	88,54
Proteína	52,22
Lipídios	27,17
Cinzas	5,98
DH	20,1
<i>Massa molecular dos peptídeos</i>	
> 50 kDa	7,5
30-50 kDa	15,1
20-30 kDa	10,5
10-20 kDa	10,7
5-10 kDa	20,0
2-5 kDa	13,3
< 2 kDa	22,9

Tabela 2

Formulação, composição química e aminoácidos de dietas contendo diferentes níveis de adição do hidrolisado proteico de tilápia (TPH).

<i>Ingredientes</i>	Hidrolisado proteico de tilápia (%)				
	0	5	10	15	20
Farelo de soja	15	15	15	15	15
TPH	0	5	10	15	20
Farelo de milho	12	14,5	15,5	17,5	18,5
Farelo de trigo	6,5	6	6	6	6
Farinha de peixe	45	40	35	30	25
Farinha de carne	15	13	12	10	9
Óleo de peixe	3	3	3	3	3
Calcário	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Vitamina e minerais	1	1	1	1	1
Sal	1	1	1	1	1
<i>Composição centesimal (%)*</i>					
Matéria seca	93,06± 0,33	93,78± 0,11	92,73± 0,10	92,51± 0,23	91,87± 0,66
Proteína	37,94± 0,24	37,75± 0,59	37,90± 0,49	38,21± 1,68	37,79± 0,45
Lipídios	13,73± 0,84	13,90± 0,59	14,46± 0,50	12,36± 0,59	11,79± 0,18
Cinzas	25,34± 0,20	23,90± 0,36	22,36± 0,19	20,42± 0,61	17,58± 0,67
Energia bruta (Kcal) [§]	3853	3859	3862	3867	3869
<i>Aminoácidos essenciais (mg/kg)**</i>					
Valina	1,93	1,92	1,93	2,08	1,92
Metionina	1,15	1,07	1,12	1,27	1,08
Cistina	0,02	0,01	0,01	0,08	0,02
Isoleucina	1,38	1,39	1,42	1,59	1,47
Leucina	2,76	2,82	2,85	3,13	2,95
Fenilalanina	1,67	1,66	1,67	1,79	1,64
Treonina	1,52	1,44	1,50	1,59	1,54
Tirosina	1,05	1,13	1,13	1,24	1,16
Lisina	1,20	1,11	1,22	1,75	1,48
Histidina	0,43	0,42	0,46	0,66	0,47
Arginina	3,27	3,33	3,23	3,14	2,95
<i>Aminoácidos não essenciais (mg/kg)**</i>					
Aspartato	1,95	1,92	2,07	1,47	2,56
Glutamina	5,41	5,50	5,97	5,10	6,24
Serina	1,94	1,89	1,93	1,85	1,86
Glicina	4,81	4,86	4,49	4,16	3,83
Alanina	3,20	3,16	3,05	3,07	2,86
Prolina	4,16	4,03	3,76	4,16	3,70
Total	37,94	37,75	37,9	38,21	37,79

[#]FDN = fibra em detergente neutro; *composição analisada; **Análises realizadas no laboratório de análises toxicológicas, LAMIC, conforme White et al, (1986); [§]valores obtidos por cálculo.

Tabela 3
Crescimento de juvenis de jundiás alimentados com diferentes níveis de inclusão de hidrolisado proteico de tilápia (TPH).

	Hidrolisado proteico de tilápia (%)					p
	0	5	10	15	20	
Peso inicial (g)	6,60±0,18	6,50±0,21	6,42±0,02	6,28±0,07	6,31±0,39	0,92
Peso final (g) [#]	17,33±0,51	16,55±0,50	17,49±0,54	17,80±0,68	19,60±0,68*	0,0155
Ganho de peso (g) [#]	11,00±0,51	10,22±0,50	11,16±0,54	11,47±0,68	13,27±0,68*	0,0155
Biomassa (g) [#]	258,79±16,04	255,59±24,45	302,59±10,93	311,74±16,65	345,09±34,15*	0,0484
Consumo (g) [#]	202,05±13,23	194,94±8,20	200,11±6,14	213,27±6,22	227,92±8,26	0,118
Conversão [#]	1,72±0,18	1,18±0,23*	1,09±0,26*	1,16±0,05*	1,18±0,08*	0,00014

[#] Kruskal-wallis ANOVA, * Diferença pelo teste de Dunnett em comparação com o controle (0% TPH).

Tabela 4
Composição proteica corporal e muscular de juvenis de jundiá alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de tilápia (TPH).

	Hidrolisado proteico de tilápia (%)					p
	0	5	10	15	20	
Peixe inteiro (%)						
Matéria seca	25,68±1,24	25,85±0,41	26,31±0,08	25,65±0,10	25,96±0,20	0,97
Proteína	14,54±0,41	16,80±0,11*	16,36±0,37*	16,99±0,09*	16,02±0,08*	0,0109
Muscular (%)						
Matéria seca	22,12±0,22	22,01±0,25	21,94±0,18	20,97±0,41	21,87±0,10	0,054
Proteína	14,10±0,72	15,19±0,28*	15,56±0,24*	15,34±0,58*	15,13±0,53*	0,0289

* Diferença pelo teste de Dunnett em comparação com o controle (0% TPH).

Tabela 5

Bioquímica do fígado e músculo de jundiá alimentados com diferentes níveis de hidrolisados proteicos de tilápia (TPH).

	Hidrolisado proteico de tilápia (%)					p
	0	5	10	15	20	
<i>Fígado</i>						
AA (dl)	2,44±0,34	7,13±0,54*	7,44±0,29*	8,13±0,81*	8,72±0,40*	0,0001
AST (UI/g)	3,52±0,08	3,91±0,06*	4,09±0,33*	3,81±0,07*	3,87±0,05*	0,0001
ALT (UI/g)	0,57±0,06	1,33±0,11*	1,37±0,10*	1,34±0,10*	1,88±0,07*	0,0001
Glicose (µmol/g)	16,54±1,53	14,06±1,72	17,56±1,49	14,36±1,65	15,81±1,16	0,51
<i>Músculo</i>						
Glicogênio (µmol/g)	13,67±0,55	17,09±2,06	17,20±1,38	15,08±1,29	16,38±1,28	0,48

AA = Aminoácidos livres, AST = Aspartato amino transferase; ALT = Alanina amino transferase; * Diferença pelo teste de Dunnett em comparação com o controle (0% TPH),

Tabela 6

Parâmetros da série vermelha e plasma de juvenis de jundiá alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de tilápia (TPH).

	Hidrolisado proteico de tilápia (%)					p
	0	5	10	15	20	
Hematócrito (%)	34,11±3,70	31,88±2,75	30,75±4,09	36,00±1,73	35,05±7,82	0,23
Hemoglobina (g/dL)	5,03±0,76	5,22±0,95	5,32±0,57	5,23±0,61	5,81±0,50	0,06
Proteína totais (g/dL)	3,84±0,07	3,41±0,26	3,76±0,30	3,52±0,33	3,94±0,02	0,56
Albumina (g/dL)	0,68±0,03b	0,89±0,05*	1,01±0,07*	1,04±0,07*	0,91±0,25*	0,0031

g/dL gramas por decilitro. * Diferença pelo teste de Dunnett em comparação com o controle (0% TPH).

Tabela 7

Biomarcadores oxidativos de juvenis de jundiás alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico tilápia (TPH).

	Hidrolisado proteico de tilápia (%)					p
	0	5	10	15	20	
<i>Músculo</i>						
TBARS (nmol MDA/g tecido)	2,69±0,36	1,64±0,20	1,65±0,27	1,71±0,16*	1,37±0,15*	0,0122
NPSH [§] (µmol SH/g tecido)	0,13±0,0062	0,26±0,01*	0,34±0,01*	0,31±0,001*	0,39±0,01*	0,0001
Tióis totais (µmol SH/g tecido)	1,13±0,09	0,96±0,04	1,11±0,09	1,17±0,04	1,19±0,13	0,2573
<i>Brânquias</i>						
NPSH [§] (µmol SH/g tecido)	0,23±0,36	0,19±0,02	0,30±0,01	0,36±0,02*	0,39±0,01*	0,0004

TBARS = Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico; NPSH = tióis não proteicos; * Diferença pelo teste de Dunnett em comparação com o controle (0% TPH).

Figura 1 – Concentração de amônia no fígado de jundiás alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de tilápia (TPH).

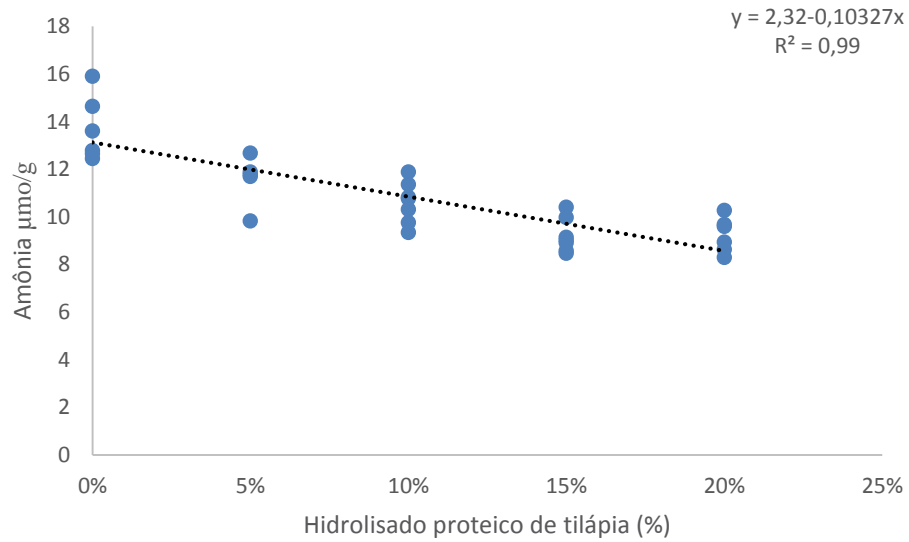
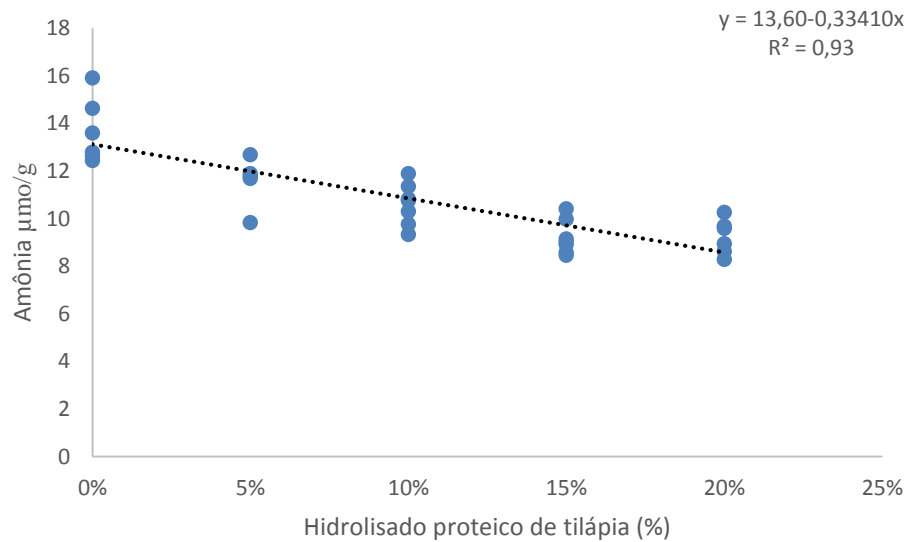


Figura 2 – Concentração de amônia no músculo de jundiá alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de tilápia TPH.



Capítulo 3

Desempenho, composição corporal e parâmetros bioquímicos de juvenis de jundiá alimentados com hidrolisado de soja em substituição a farinha de peixe

Desempenho, composição corporal e parâmetros bioquímicos de juvenis de jundiá alimentados com hidrolisado de soja em substituição a farinha de peixe

Nome completo dos autores:

Juliano Uczay^{1*}, Eduardo Kelm Battisti², Rafael Lazzari², Marcos Luiz Pessatti³, Thamara Luiza Schneider²; Luiza Beatriz Hermes²; Nilce Coelho Peixoto⁴; Thiago El Hadi Perez Fabregat¹

Filiação

¹Departamento de produção animal, Universidade do Estado de Santa Catarina, Santa Catarina, Lages, SC, 95616, Brasil

²Departamento de Zootecnia e Ciências biológicas, Universidade de Santa Maria, Palmeira das Missões, RS, Brasil

³Pós graduação em Ciência do Ambiente e Tecnologia, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, SC, Brasil

⁴Departamento de Ciências da Saúde, Universidade de Santa Maria, Palmeira das Missões, RS, Brasil

Running title: hidrolisado de soja em dietas para jundiá

*Universidade Federal de Santa Maria, Campus Palmeira das Missões, Brasil Avenida Independência 3751, Vista Alegre, Palmeira das Missões, Rio Grande do Sul 98300-000. E-mail: uczay@ufsm.br

Resumo

Neste estudo, foram avaliadas a substituição da farinha de peixe por hidrolisado de soja (SBH) em dietas para o jundiá e as alterações no crescimento, metabolismo proteico e de defesa antioxidante. No experimento, foram utilizados 300 jundiás, distribuídos em delineamento ao acaso com 5 tratamentos e 4 repetições. Foram testados níveis crescentes de hidrolisado de soja (0%, 5%, 10%, 15% e 20%) em dietas contendo (39,00 % de proteína), durante 60 dias. Os animais foram eutanasiados, coletou-se dados de crescimento e amostras biológicas para análises metabólicas e oxidativas. A inclusão de hidrolisado de soja na dieta proporcionou

melhor crescimento dos peixes, não influenciando na deposição de proteína corporal. A produção de compostos nitrogenados no fígado e músculo também não foi afetada por nenhuma das dietas. A dieta contendo 20% de SBH promoveu um aumento nas quantidades dos tióis não proteicos nas brânquias e cérebro. A inclusão de SBH em substituição à farinha de peixe para juvenis de jundiá até 20% é recomendada, pois substitui a farinha de peixe de origem marinha, aumenta o crescimento e contribui para o sistema de defesa antioxidante.

Declaração de relevância

A farinha de peixe é a principal fonte de proteína utilizada em dietas para peixes. No entanto, é necessário encontrar novas fontes alternativas para esse produto. Nosso manuscrito demonstra que o hidrolisado de soja (SBH) pode ser incluído na dieta em até 20%, substituindo a farinha de peixe, aumentando o crescimento e melhoras no sistema de defesa antioxidante de juvenis de jundiá.

Palavras-chave: hidrolisado vegetal; proteína de ingrediente; nutrição; comida alternativa.

Introdução

A estimativa de aumento na produção mundial de pescado é de 29 milhões de toneladas no ano de 2025, em comparação com 2015, sendo gerado pela aquicultura (Food and Agriculture Organization, 2016). Espera-se assim que a demanda por rações (aquafeeds) aumente proporcionalmente ao crescimento da aquicultura, demandando mais farinha de peixe (Gatlin III et al., 2007). A farinha de peixe é um dos principais ingredientes necessários para formular dietas para peixes, principalmente em fases mais jovens (Olsen & Hasan, 2012). A maior parte desta farinha é oriunda da pesca extrativista (Food and Agriculture Organization, 2016; Naylor et al., 2009). Neste contexto, há uma preocupação mundial para reduzir a utilização da farinha de peixe em dietas para animais de produção (Tacon & Metian, 2008).

A indústria de rações busca incluir na formulação de dietas para peixes, produtos de origem vegetal visando substituir a farinha de peixe (Sharawy, Goda, & Hassaan, 2016). As fontes vegetais possuem vantagens como maior disponibilidade e maior padronização, em comparação com a farinha de peixe (Gatlin III et al., 2007). No entanto, os produtos de origem vegetal possuem algumas desvantagens quando comparados à farinha de peixe, como, por exemplo, baixa digestibilidade, proteína de baixo valor biológico, presença de fatores antinutricionais e micotoxinas (Naylor et al., 2009). A utilização de processos tecnológicos e

biotecnológicos pode melhorar as características bromatológicas deste produtos, como o aumento da digestibilidade dos nutrientes e a diminuição de compostos antinutricionais (Barca, Alazar & Marini, 2000).

Os hidrolisados de origem vegetal podem substituir a farinha de peixe parcialmente e, em alguns casos, melhora o crescimento. O hidrolisado de soja substituiu parcialmente a farinha de peixe em dietas para juvenis de *Platichthys stellatus* (Song et al., 2014) e de *Paralichthys olivaceus* (Mamauag et al., 2011). O hidrolisado de glúten de trigo pode substituir a farinha de peixe para *Oncorhynchus mykiss* (Storebakken et al., 2015) e para *Lates calcarifer* (Apper et al., 2016). Peptídeos de cadeia curta e aminoácidos livres presentes nos hidrolisados aumentam a palatabilidade da dieta (Aksnes, Hope, Jönsson, Björnsson, & Albrektsen, 2006). A proteína de soja tratada com Flavorizyme[®] aumentou a quantidade de aminoácidos livres quimio-atractivantes (Hrckova, Rusnakova, & Zemanovic, 2002). A inclusão de hidrolisados pode melhorar a absorção da fração proteica em dietas para peixes. Sendo assim, há necessidade de pesquisas com biotecnologias envolvendo o tratamento enzimático em produtos de origem vegetal, com a intenção de aumentar a inclusão em dietas para peixes.

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é uma espécie onívora com exigências nutricionais de carnívoro, que demanda dietas com alta quantidade e qualidade de proteína (Salhi, Bessonart, Chediak, Bellagamba, & Carnevia, 2004). Devido a essas características biológicas, metodologias de processamento de fontes proteicas de origem vegetal, como por exemplo a produção concentrados proteicos utilizando processos químicos, são estudadas para aumentar a inclusão destes ingredientes em dietas para o jundiá (Lovatto et al., 2017; Goulart et al., 2013). Neste estudo, foram avaliadas a inclusão de hidrolisado de soja (SBH) em dietas para o jundiá e os efeitos no crescimento, composição corporal e bioquímica dos tecidos.

Material e métodos

O experimento foi realizado em um sistema de recirculação de água localizado no Laboratório de Cultura do Peixe da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Palmeira das Missões, Rio Grande do Sul, Brasil. O desenho experimental foi composto por 5 tratamentos e 4 repetições (20 unidades experimentais). Os juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) foram alimentados com uma dieta de controle e quatro diferentes níveis de substituição de farinha de peixe com hidrolisado de proteína de soja (SBH) por 60 dias. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal da UFSM, sob o número de registro 003/2015.

Peixes e instalações experimentais

Os juvenis de jundiá ($6,42 \pm 0,10$ g) foram obtidos a partir de uma piscicultura comercial e aclimatados no laboratório durante duas semanas. Após a adaptação, os peixes foram distribuídos em um sistema de recirculação com 15 peixes por tanque e cada tratamento consistiu em quatro unidades experimentais. Durante todas as manipulações, os peixes foram anestesiados com benzocaína (35 mg L^{-1}).

O sistema de recirculação era composto de tanques de polipropileno de 100 L (20 unidades) com dois termostatos (2000 W) para controle de temperatura, um filtro mecânico (500 L), dois biofiltros (1000 L cada) para compor o sistema de filtração biológica.

Processo de produção de hidrolisado de soja e dietas experimentais

O SBH foi preparado com farelo de soja. Para a preparação do hidrolisado, adicionou-se 100 g de farelo de soja em 100 mL de água destilada e homogeneizou-se. Depois, adicionou-se enzima pepsina de origem suína (Bella[®]) na proporção de 0,4 g para 100 g do farelo. A solução foi colocada em incubadora (Marconi[®]) com uma temperatura constante de 36°C e agitação durante 4 h. Posteriormente, a solução foi aquecida à 100 °C durante 10 minutos para desativar as enzimas e secas em estufa (55°C) durante 24 h.

A composição proximal, o grau de hidrólise (DH) e o perfil de peptídeos são mostrados na Tabela 1. As concentrações de matéria seca, proteína bruta, lipídios e cinzas nos ingredientes e nas dietas foram analisadas em quintuplicado usando procedimentos de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995). Os lipídios foram extraídos com metanol / clorofórmio e quantificados pelo procedimento de Bligh & Dyer, (1959). DH foi determinado de acordo com Nielsen et al. (2001). A análise consiste na quantificação de grupos amino livres na fração solúvel do hidrolisado proteico, pela reação desses grupos com o-ftaldialdeído, em relação à proteína total da matéria-prima, determinada pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995). Para a determinação da distribuição de peso molecular dos peptídeos do SBH, foram realizadas corridas eletroforéticas em Tricina-SDS-PAGE, conforme Schägger (2006), em sistema de eletroforese mini-Protean (BioRad).

Foi formulada uma dieta de controle contendo farinha de peixe (tratamento de controle) e quatro dietas contendo diferentes níveis de substituição de farinha de peixe para SBH (5, 10, 15 e 20%). A composição analisada e os ingredientes utilizados para o processamento das dietas são mostrados na Tabela 2. Os ingredientes foram misturados em um misturador horizontal. Durante esse processo, pré-mistura de vitaminas e minerais, óleo e água destilada foram

adicionados aos ingredientes. Posteriormente a massa formada foi peletizada. Os peletes foram secos a 55°C durante 24 h, após foram armazenados em recipientes de vidro fechado a -15°C. As concentrações de umidade, proteína bruta, lipídios e cinzas nos ingredientes e as dietas foram analisadas em quintuplicata usando procedimentos padrão (AOAC, 1995). A composição de aminoácidos livres (AA) foi determinada de acordo com White et al. (1986).

Manejo alimentar e análise dos parâmetros físico-químicos da água

Os peixes foram alimentados até a saciedade aparente. As dietas foram distribuídas em três refeições (9h da manhã, 13h e 17h). Antes de cada alimentação, todos os resíduos foram removidos por sifonagem.

As seguintes características físicas e químicas da água foram analisadas: a alcalinidade total (mg CaCO₃ L⁻¹) foi avaliada pelo método de titulação de neutralização, dureza total (mg CaCO₃ L⁻¹) por um método de titulação de complexação e nitrito pela alfa-naftilamina método segundo os métodos de análise manual da American Public Health Association (APHA, 2005). O pH foi medido com medidor de pH digital (YSI® F1100), temperatura e oxigênio dissolvido, com oxímetro (YSI ProODO®). Durante o experimento, a qualidade da água permaneceu em um nível ideal para as espécies (Baldisserotto & Silva, 2004) com pH (7,4 ± 0,6), temperatura da manhã (26,1 ± 1,8°C), temperatura da tarde (26,9 ± 1,3°C), oxigênio dissolvido (5,9 ± 0,51 mg L⁻¹), amônia total (1,03 ± 0,34 mg L⁻¹); nitrito (0,11 ± 0,3 mg L⁻¹), alcalinidade (61,0 ± 12,2 mg CaCO₃ L⁻¹) e dureza (95,8 ± 1,5 mg CaCO₃ L⁻¹).

Coleta de amostras

No final do período experimental, os peixes foram submetidos a jejum durante aproximadamente 24 h. Dois animais por tanque (oito por tratamento) foram selecionados aleatoriamente para coleta de sangue. Os peixes foram anestesiados e as amostras de sangue foram coletadas imediatamente da veia caudal utilizando-se uma seringa médica descartável e agulhas (25 × 0,7 mm) contendo anticoagulante (EDTA solução a 10%). Cada amostra de sangue foi dividida em duas alíquotas; um foi colocado em um tubo de anticoagulação para medição hematológica direta (hemoglobina, número total de glóbulos vermelhos, micro-hematócrito) e o outro foi centrifugado a 3500 rpm durante 10 minutos para análise dos parâmetros bioquímicos plasmáticos.

Foram tomadas medidas biométricas, com todos os animais individualmente pesados e medidos para avaliar o crescimento e o ganho de peso. Foram removidos sete peixes por tanque

(28 por tratamento) anestesiados com benzocaína e foram então sacrificados por secagem da coluna vertebral, seguindo a metodologia utilizada por Menezes et al., (2015). Após o processo de eutanásia, foram separados três animais para coleta e análise da composição centesimal. Dois animais foram destinados para remoção de tecidos (fígado, brânquias e músculos) para a análise dos parâmetros bioquímicos (fígado e músculo) e dois para biomarcadores de estresse oxidativo (fígado, brânquias, músculo e encéfalo).

Análises das amostras

Parâmetros de crescimento

Antes da pesagem, os peixes foram submetidos a um período de jejum de 24 h. Para determinar o crescimento animal, os peixes foram pesados individualmente, no início e no final do período experimental. Durante a medição biométrica, os peixes foram anestesiados com benzocaína (35 mg L^{-1}). As seguintes medidas foram registradas e calculadas: Peso inicial (g); Peso final (g);

Ganho de peso = (peso corporal final - peso corporal inicial; g);

Fator de condição = (Peso final / Comprimento padrão³) X 100

Biomassa = (peso total de peixe por tanque; g);

Ingestão de alimento = (Dieta total consumida por tanque; g);

Conversão de alimentar = (Consumo total de alimentos / ganho de peso total).

Composição corporal e do músculo

A análise da composição química e da qualidade da carcaça foram realizadas coletando-se amostra de três animais por tanque no final do ensaio. A matéria seca do músculo e do peixe inteiro foram determinados pela perda de peso após 4 h a 60°C em estufa de circulação forçada de ar, seguido de 8 h a 105°C . O teor de cinzas foi determinado a 550°C (método 923.03) de acordo com AOAC (1995). A proteína bruta ($\text{Nx}6.25$) foi determinada pelo procedimento de micro Kjeldahl (método 960.52) da AOAC (1995). Os lipídios foram extraídos com metanol/clorofórmio e quantificados (Bligh & Dyer, 1959).

Parâmetros bioquímicos do fígado e músculo

No fígado e músculo foram determinados AA livres e amônia. Para a quantificação de AA (Spies, 1957), uma amostra de 50 mg de fígado foi homogeneizado em tampão fosfato de potássio (50 mM) e centrifugado a 3500 rpm durante 10 min. Foi utilizado um método enzimático para a quantificação de glicose a partir de um kit comercial (Doles[®]). A amônia total foi determinada pela técnica do salicilato (Verdouw, Van Echteld, & Dekkers, 1978).

Parâmetros hematológicos e plasmáticos

A coleta de sangue foi realizada no final do experimento por punção caudal com seringas heparinizadas (10 peixes por tratamento). Cinco minutos antes da coleta de sangue, os animais foram retirados do tanque e anestesiados com benzocaína (50 mg L⁻¹). O sangue foi utilizado para diferentes análises. Os triglicerídeos, o colesterol, a albumina, a proteína total e a glicose no plasma e a hemoglobina foram determinados por espectrofotometria (Biospectro[®]) com kits comerciais (Doles[®]).

Tióis totais e não proteicos

Os tecidos foram homogeneizados conforme descrito por Azambuja et al., (2011). O conteúdo de tióis (SH), totais (TT) e não proteicos (NPSH), foram mensurados, após reação com ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoico) (Ellman, 1959). A quantidade de TT e NPSH está apresentada em $\mu\text{mol SH/g}$ de tecido.

Análises estatísticas

Os parâmetros avaliados não se adequaram aos modelos de regressão linear e quadrático. Assim, os dados foram comparados pelo teste de Duncan ($p < 0.05$). Os procedimentos estatísticos foram realizados utilizando o Statistical Analysis System[®] software.

Resultados

Crescimento

A inclusão de SBH em substituição à farinha de peixe melhorou o desempenho zootécnico de juvenis de jundiá (Tabela 4). O peso final (Figura 1; $p = 0,0036$), ganho de peso ($p = 0,0036$), taxa de crescimento específico ($p = 0,009$) e fator de condição ($p = 0,001$) foram

maiores em todos os níveis de inclusão de SBH em relação à dieta controle. O consumo de ração e a conversão alimentar não diferiram ($p>0,05$) entre os tratamentos.

Composição corporal e do filé

A inclusão de SBH em até 20% da dieta não alterou a composição corporal e do filé (Tabela 5) em juvenis de jundiá ($p>0,05$).

Parâmetros sanguíneos

A inclusão de até 20% de SBH e dietas para juvenis de jundiá não alterou os parâmetros sanguíneos da série vermelha e do plasma avaliados (Tabela 6).

Parâmetros bioquímicos fígado e músculo

Os parâmetros bioquímicos são apresentados na tabela 7. A inclusão de níveis de SBH em até 20% não alterou os parâmetros bioquímicos avaliados no fígado (AA, amônia e glicose) e no músculo (amônia e glicogênio).

Tióis totais e não proteicos

A inclusão de 20% de SBH estimula a produção de tióis não proteicos no encéfalo ($p=0,0264$) e nas brânquias ($p=0,001$) dos jundiás, em comparação com a farinha de peixe (Tabela 8). A quantidade de NPSH no músculo não sofreu alterações entre os níveis de SBH. A quantidade de TT nos tecidos avaliados não foi afetada pela inclusão de SBH.

Discussão

Os jundiás alimentados com dietas contendo SBH obtiveram um maior crescimento em comparação com dietas com farinha de peixe. Os ingredientes de origem vegetal podem apresentar problemas como excesso de polissacarídeos, fatores antinutricionais e baixa absorção (Chou, Her, Su, & Hwang, 2004). A utilização de processos biotecnológicos, como a hidrólise enzimática, pode melhorar as características nutricionais da soja e outros ingredientes de origem vegetal (Hou, Wu, Dai, Wang, & Wu, 2017). O processo de hidrólise disponibiliza de forma mais efetiva a fração proteica presente na soja, melhorando a absorção e o crescimento (Lamsal, Jung, & Johnson, 2007). A inclusão de 20% de SBH nas dietas melhorou o

crescimento de juvenis de *Paralichthys olivaceus* (Mamauag et al., 2011). A inclusão de 14 a 23,2% de SBH na dieta promoveu um maior crescimento, em comparação com a farinha de peixe, em juvenis de *Platichthys stellatus* (Song et al., 2014).

O DH obtido no SBH foi de 14,1%. O DH é considerado baixo quando comparado a outros trabalhos (Fabregat et al., 2016; Venturin et al., 2016; Wosniak et al., 2016). No entanto, mesmo assim os peptídeos formados podem ter contribuído para melhorar o crescimento dos juvenis de jundiá, uma vez que 52,79% deles continham peso molecular menor que 10 kDa. O maior crescimento de *Paralichthys olivaceus*, alimentado com SBH em substituição à farinha de peixe, foi atribuído à presença de peptídeos menores que 3 kDa, pois esses possuem um melhor aproveitamento metabólico (Mamauag et al., 2011). A inclusão de 40% de hidrolisado de soja em dietas, contendo peptídeos com peso molecular de 1 a 3 kDa, proporcionou um maior crescimento para *Pagrus major* e *Paralichthys olivaceus* (Teshima et al., 2004). A presença de AA e peptídeos de cadeia curta no lúmen intestinal de peixes estimula atividade enzimática (Song et al., 2016) e aumenta o tamanho das vilosidades (Wosniak et al., 2016). Sugere-se que estes peptídeos tenham contribuído para estimular o crescimento dos juvenis de jundiá. No entanto, trabalhos futuros precisam ser realizados para elucidar melhor a relação entre o DH e peptídeos presentes no SBH e seus efeitos na maturação intestinal e crescimento.

A inclusão de SBH em substituição à farinha de peixe não afetou o consumo e a conversão alimentar dos juvenis de jundiá. Isso indica que não houve problemas ligados à palatabilidade da dieta. A presença de produtos de origem vegetal em dietas para peixes pode diminuir a palatabilidade e, conseqüentemente, o consumo (Gatlin III et al., 2007). O consumo foi reduzido com a inclusão de 15% de farelo de soja em dietas para *Sparidentex hasta*, o que foi atribuído à menor palatabilidade em comparação com a farinha de peixe (Yaghoubi, Tor, Marammazi, Safari, & Gisbert, 2016). Uma solução para reduzir problemas com a palatabilidade em dietas vegetais é o tratamento com enzimas. A proteína de soja tratada com Flavorizyme[®] aumentou a quantidade de AA livres quimio-atractantes (Hrckova et al., 2002). Além dos AA, peptídeos presentes em hidrolisados estimulam a ingestão de alimento, o que já foi evidenciado para jundiás (Broggi, Wosniak, Uczay, Pessatti, & Fabregat, 2017). Sendo assim, a hidolise pode ser uma alternativa para problemas com redução de consumo e palatabilidade de alimentos.

A deposição proteica e os AA livres teciduais não foram afetados pela inclusão de SBH na dieta. Os hidrolisados proteicos possuem peptídeos de baixo peso molecular (Liaset, Lied, & Espe, 2000), os quais são absorvidos de forma mais eficiente em comparação com proteínas intactas (Tonheim, Espe, Hamre, & Ivar, 2005). Os AA livres no fígado e no musculo

não tiveram diferenças entre as dietas, indicando que o SBH, mesmo sendo um ingrediente vegetal, possibilitou o mesmo aproveitamento metabólico da proteína em comparação com a farinha de peixe. O processo de hidrólise disponibilizou peptídeos de baixo peso molecular, assim sugere-se que devido a presença destes compostos, a deposição proteica dos peixes alimentados com SBH foi igual aos alimentados com farinha de peixe.

O metabolismo de proteínas envolve processos de desaminação e transaminação (Cheng et al., 2010; Meton et al., 1999). A desaminação consiste na quebra de AA para a utilização de sua cadeia carbonada como fonte de energia e isto leva a um aumento na produção de amônia endógena (Bibiano Melo et al., 2006). Isso não foi observado nas dietas contendo SBH. Um dos grandes problemas da piscicultura intensiva é a liberação de compostos nitrogenados, que são potencialmente danosos ao ambiente aquático natural (Fang et al., 2017). A quantidade de amônia no plasma de *Gadus morhua* aumentou quando usadas dietas vegetais (Hansen, Rosenlund, & Karlsen, 2007). A inclusão de até 20% de SBH não afetou de forma significativa o metabolismo proteico. Portanto, o SBH pode ser incluído em dietas para jundiá até 20%, sem aumentar a produção de amônia endógena, evitando a contaminação por compostos nitrogenados.

Os parâmetros sanguíneos não foram afetados pela inclusão de SBH na dieta e os valores são próximos aos de outros trabalhos com jundiá (Saccol et al., 2013). O estado de saúde dos animais de criação pode ser avaliado através dos dados sanguíneos (Grant, 2015). A utilização de fontes de origem vegetal em substituição à farinhas de origem animal podem ocasionar problemas nos eritrócitos (Lim et al., 2011). A inclusão de 34% de farelo de soja na dieta para juvenis de *Sparidentex hasta* causou anemia, pela diminuição da contagem de glóbulos vermelhos e hematócrito (Yaghoubi et al., 2016). A inclusão de concentrado de soja tratado com proteases microbianas não interferiu nos parâmetros sanguíneos dos animais (Biswas et al., 2017).

A quantidade de NPSH nas brânquias e cérebro foi maior nos jundiás alimentados com dietas que continham 20% de SBH. O conteúdo do NPSH é uma medida indireta da glutathiona reduzida (Ellman, 1959). A glutathiona é um composto antioxidante não enzimático formado por glutamato, cisteína e glicina (Dandapat, Chainy, & Rao, 2000). A cisteína é um AA não-essencial cujo precursor é a metionina (NRC, 2011). O aumento dos NPSH pode estar relacionado à uma melhor absorção dos AA metionina, ácido glutâmico e glicina presentes no SBH. A maior disponibilidade de cisteína, glicina e glutamina aumenta a biossíntese dos NPSH

por fornecer mais substrato (Meister, 1989), explicando a maior eficiência na produção de NPSH.

O incremento de NPSH foi observado em estudos com antioxidantes tradicionais para peixes, como óleos essenciais (Saccol et al., 2013), selênio (Elia, Prearo, Pacini, Dörr, & Abete, 2011) e vitamina E (Dandapat et al., 2000). Os peptídeos possuem capacidade antioxidante atuando como doadores de elétrons (Ngo, Qian, Ryu, Park, & Kim, 2010; You, Zhao, Regenstein, & Ren, 2010). A inclusão de SBH em dietas para *Platichthys stellatus* aumentou a capacidade antioxidante e a atividade da superóxido dismutase (Song et al., 2014). Os peptídeos presentes no SBH podem ter atuado como doadores de elétrons e com isto não foi necessária a utilização dos NPSH, o que aumentou a quantidade deste composto no organismo dos peixes.

Cabe ressaltar que o SBH substituiu 20% da farinha de peixe de origem marinha. A utilização da hidrólise enzimática no processamento de produtos de origem vegetal pode trazer benefícios para a cadeia da produção de peixes. A redução na utilização da farinha de peixe é uma demanda mundial, pois os estoques pesqueiros estão em redução, sendo assim, no futuro não haverá viabilidade econômica e ambiental para se utilizar esta fonte em dietas para peixes (Gatlin III et al., 2007). A substituição parcial da farinha de peixe por hidrolisados vegetais foi possível em várias espécies como *Acipenser schrenckii* (Xu, Wang, Zhao, & Luo, 2012), *Platichthys stellatus* (Song et al., 2014) e *Rachycentron canadum* (Zhou et al., 2005). Com a inclusão de SBH em dietas é possível realizar uma substituição considerável de farinha de peixe, melhorando o crescimento e sem afetar a deposição proteica nos tecidos. A inclusão de SBH também indica melhoras no sistema de defesa antioxidante. Sendo assim, mais estudos devem ser realizados com hidrolisados, utilizando outros substratos de origem vegetal ou outras enzimas.

Conclusões

A substituição da farinha de peixe por SBH para a alimentação de juvenis de jundiá até o nível de 20% é recomendada, pois melhora o crescimento e a condição corporal. A inclusão de SBH em dietas diminui a utilização de farinha de peixe marinha. O SBH estimula a síntese de NPSH, contribuindo com o sistema de defesa antioxidante não-enzimático.

Referências Bibliográficas

Aksnes, A., Hope, B., Jönsson, E., Björnsson, B. T., & Albrektsen, S. (2006). 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*, 261(1), 305–317. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.07.025>
- AOAC. (1995). *AOAC Association of Official Analytical Chemists*. (P. Cunniff, Ed.). Arlington, VA.
- APHA. American Public Health Association. (2005). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. APHA: Washington, DC, USA (21st ed.).
- Apper, E., Weissman, D., Respondek, F., Guyonvarch, A., Baron, F., Boisot, P., ... Merri, D. L. (2016). Hydrolysed wheat gluten as part of a diet based on animal and plant proteins supports good growth performance of Asian seabass (*Lates calcarifer*), without impairing intestinal morphology or microbiota, 453, 40–48. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.018>
- Azambuja, C. R., Mattiazzi, J., Riffel, A. P. K., Finamor, I. A., Garcia, L. de O., Heldwein, C. G., ... Llesuy, S. F. (2011). Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to transport. *Aquaculture*, 319(1–2), 156–161. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.06.002>
- Barca, A. M. C. de La, Alazar, R. A. R., & Marini, M. E. J. (2000). Enzymatic Hydrolysis and Synthesis of Soy Protein to Improve its Amino Acid Composition and Functional Properties, *Journal of food science* 65(2), 246–253. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2000.tb15988.x
- Bibiano Melo, J. F., Lundstedt, L. M., Metón, I., Baanante, I. V., & Moraes, G. (2006). Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 145(2), 181–187. <http://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.06.007>
- Biswas, A., Araki, H., Nakamori, T., Sakata, T., Takii, K., & Kato, K. (2017). Fish meal replacement by soy protein from soymilk in the diets of red sea bream (*Pagrus major*), (September 2016), 1–11. <http://doi.org/10.1111/anu.12513>
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917. <https://doi.org/10.1139/y59-099>
- Broggi, J. A., Wosniak, B., Uczay, J., Pessatti, M. L., & Fabregat, T. E. H. P. (2017). Hidrolisado proteico de resíduo de sardinha como atrativo alimentar para juvenis de jundiá. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria E Zootecnia*, (1964), 505–512.

<http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-8348>.

Cheng, Z., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Ma, H., Li, Y., & Zhang, J. (2010). Effects of dietary canola meal on growth performance, digestion and metabolism of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 305(1–4), 102–108.

<http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.031>

Chou, R. L., Her, B. Y., Su, M. S., & Hwang, G. (2004). Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*, 229, 325–333.

[http://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00395-8](http://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00395-8)

Dandapat, J., Chainy, G. B., & Rao, K. J. (2000). Dietary vitamin-E modulates antioxidant defence system in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology : CBP*, 127(1), 101–15.

[http://doi.org/10.1016/S0742-8413\(00\)00132-8](http://doi.org/10.1016/S0742-8413(00)00132-8)

Elia, A. C., Prearo, M., Pacini, N., Dörr, A. J. M., & Abete, M. C. (2011). Effects of selenium diets on growth, accumulation and antioxidant response in juvenile carp. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(2), 166–173. <http://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.04.006>

Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82(1), 70–77. JOUR. [http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)

Fabregat, T. E. H. P., Wosniak, B., Gonçalves, A. F. N. ., HA, N., Skoroski, E., & Pessatti, M. L. (2016). Frações solúveis e insolúveis do hidrolisado proteico de resíduo de sardinha na alimentação do jundiá: consumo de ração e excreção de amônia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 68(3), 1713–1720.

<http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9153>.

Fang, L., Bai, X. L., Liang, X. F., He, S., Guo, X. Z., Li, L., ... Tao, Y. X. (2017). Ammonia nitrogen excretion in Mandarin Fish (*Siniperca chuatsi*) and Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fed practical diets: the effects of water temperature.

Aquaculture Research, 48(3), 836–843. <http://doi.org/10.1111/are.12927>

Food and Agriculture Organization. (2016). Cultured Aquatic Species Information Programme *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758).

Gatlin III, D. M., Barrows, F. T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T. G., Hardy, R. W., ... Souza, E. J. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review, 551–579. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>

Goulart, F. R., Sefrin Speroni, C., de Menezes Lovatto, N., Loureiro, B. B., Corrêia, V., Radünz Neto, J., & Picolli da Silva, L. (2013). Atividade de enzimas digestivas e parâmetros de crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com

- farelo de linhaça in natura e demucilada. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(6). DOI: 10.5433/1679-0359.2013v34n6p3069
- Grant, K. R. (2015). Fish Hematology and Associated Disorders, 18, 83–103.
<http://doi.org/10.1016/j.cvex.2014.09.007>
- Hansen, A., Rosenlund, G., & Karlsen, Ø. (2007). Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I — Effects on growth and protein retention, 272, 599–611. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.034>
- Hou, Y., Wu, Z., Dai, Z., Wang, G., & Wu, G. (2017). Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance, 1–13.
<http://doi.org/10.1186/s40104-017-0153-9>
- Hrckova, M., Rusnakova, M., & Zemanovic, J. (2002). 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*, 20(1), 7–14.
<http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/50861.pdf>
- Lamsal, B. P., Jung, S. A., & Johnson, L. A. (2007). Rheological properties of soy protein hydrolysates obtained from limited enzymatic hydrolysis, 40, 1215–1223.
<http://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.08.021>
- Liaset, B., Lied, E., & Espe, M. (2000). Enzymatic hydrolysis of by-products from the fish-filleting industry; chemical characterisation and nutritional evaluation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(5), 581–589. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(200004\)80:5<581::AID-JSFA578>3.0.CO;2-I](http://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(200004)80:5<581::AID-JSFA578>3.0.CO;2-I)
- Lim, S., Kim, S., Ko, G., Song, J., Oh, D., Kim, J., ... Lee, K. (2011). Fish meal replacement by soybean meal in diets for Tiger puffer, *Takifugu rubripes*. *Aquaculture*, 313(1–4), 165–170. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.01.007>
- Lovatto, N., Goulart, F. R., Loureiro, B. B., Adorian, T. J., Freitas, S. T., Pianesso, D., ... Silva, L. P. (2017). Effects of phosphorylated protein concentrate of pumpkin seed meal on growth and digestive enzymes activity of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquaculture Nutrition*, 23(1), 201–209. doi: 10.1111/anu.12381
- Mamauag, R. E. P., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Gao, J., Nguyen, B. T., & Ragaza, J. A. (2011). Soy peptide inclusion levels influence the growth performance, proteolytic enzyme activities, blood biochemical parameters and body composition of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 321(3–4), 252–258.
<http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.09.022>

- Meister, A. (1989). Metabolism and function of glutathione. In O. Dolphin, D., Poulson, R. & Avramovic (Ed.), *Glutathione: Chemical, Biochemical, and Medical Aspects* (pp. 367–474). New York, NY.: John Wiley and Sons.
- Menezes, C., Ruiz-Jarabo, I., Martos-Sitcha, J. A., Toni, C., Salbego, J., Becker, A., ... Baldisserotto, B. (2015). The influence of stocking density and food deprivation in silver catfish (*Rhamdia quelen*): a metabolic and endocrine approach. *Aquaculture*, 435, 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.044>
- Meton, I., Mediavilla, D., Caseras, A., Canto, E., Fernandez, F., & Baanante, I. V. (1999). Effect of diet composition and ration size on key enzyme activities of glycolysis-gluconeogenesis, the pentose phosphate pathway and amino acid metabolism in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Br J Nutr*, 82(3), 223–232. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10655969
- Naylor, R. L., Hardy, R. W., Bureau, D. P., Chiu, A., Elliott, M., Farrell, A. P., ... Hua, K. (2009). Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(36), 15103–15110. doi: 10.1073/pnas.0905235106
- Ngo, D. H., Qian, Z. J., Ryu, B., Park, J. W., & Kim, S. K. (2010). In vitro antioxidant activity of a peptide isolated from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) scale gelatin in free radical-mediated oxidative systems. *Journal of Functional Foods*, 2(2), 107–117. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2010.02.001>
- Nielsen, P. M., Petersen, D., & Dambmann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*, 66(5), 642–646. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x
- Olsen, R. L., & Hasan, M. R. (2012). A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends in Food Science & Technology*, 27(2), 120–128. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.06.003>
- Saccol, E. M. H., Uczay, J., Pês, T. S., Finamor, I. A., Ourique, G. M., Riffel, A. P. K., ... Pavanato, M. A. (2013). Addition of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown essential oil to the diet of the silver catfish: An analysis of growth, metabolic and blood parameters and the antioxidant response. *Aquaculture*, 416–417, 244–254. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.036>
- Salhi, M., Bessonart, M., Chediak, G., Bellagamba, M., & Carnevia, D. (2004). Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. *Aquaculture*, 231(1–4), 435–444.

- <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.08.006>
- Sharawy, Z., Goda, A. M. A., & Hassaan, M. S. (2016). Partial or total replacement of fish meal by solid state fermented soybean meal with *Saccharomyces cerevisiae* in diets for Indian prawn shrimp, *Fenneropenaeus indicus*, Postlarvae. *Animal Feed Science and Technology*, 212, 90–99. <http://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.12.009>
- Schägger, H. 2006. "Tricine-sds-page." *Nature protocols*, v.1, n.1, p.16
doi:10.1038/nprot.2006.4
- Song, Z., Li, H., Wang, J., Li, P., Sun, Y., & Zhang, L. (2014). 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*, 426–427, 96–104.
<http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.002>
- Song, Z., Li, P., Wang, J., Huang, B., Li, B., Wang, S., ... Tan, Q. (2016). Effects of seaweed replacement by hydrolyzed soybean meal on growth , metabolism , oxidation resistance and body composition of sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Aquaculture*, 463, 135–144. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.020>
- Spies, J. R. (1957). [76] Colorimetric procedures for amino acids. In B. T.-M. in *Enzymology* (Ed.) (Vol. Volume 3, pp. 467–477). CHAP, Academic Press.
[http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(57\)03417-5](http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(57)03417-5)
- Storebakken, T., Zhang, Y., Ma, J., Øverland, M., Torunn, L., Fjeld, O., ... Feneuil, A. (2015). Feed technological and nutritional properties of hydrolyzed wheat gluten when used as a main source of protein in extruded diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 448, 214–218. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.029>
- Tacon, A. G. J., & Metian, M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, 285(1–4), 146–158. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.015>
- Teshima, S. I., Koshio, S., Ishikawa, M., Alam, M. S., & Hernandez, L. H. H. (2004). Effects of protein and lipid sources on the growth and survival of red sea bream *Pagrus major* and Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* receiving micro-bound diets during larval and early juvenile stage. *Aquaculture Nutrition*, 10(4), 279–287. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2004.00303.x
- Tonheim, S. K., Espe, M., Hamre, K., & Ivar, R. (2005). Pre-hydrolysis improves utilisation of dietary protein in the larval teleost Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.), 321, 19–34. <http://doi.org/10.1016/j.jembe.2004.12.036>

- Venturin, A., Gonçalves, A. F. N., Oliveira, N. S., Skoronski, E., Pessatti, M. L., & Fabregat, T. E. H. P. (2016). Soluble fraction of sardine protein hydrolysates in the feeding of the South American catfish. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(4), 878–888.
<http://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n4p878>
- Verdouw, H., Van Echteld, C. J. A., & Dekkers, E. M. J. (1978). Ammonia determination based on indophenol formation with sodium salicylate. *Water Research*, 12(6), 399–402.
[http://doi.org/10.1016/0043-1354\(78\)90107-0](http://doi.org/10.1016/0043-1354(78)90107-0)
- White, A., Hart, R. J., & Fry, J. C. (1986). An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials NH₂--CH--COO-, 8(4), 170–177. doi: 10.1155/S1463924686000330
- Wosniak, B., William, E., Melim, H., Há, N., Uczay, J., Pilatti, C., ... Santa, E. De. (2016). Effect of diets containing different types of sardine waste (*Sardinella* sp.) protein hydrolysate on the performance and intestinal morphometry of silver catfish juveniles (*Rhamdia quelen*), 44(5). <http://doi.org/10.3856/vol44-issue5-fulltext-x>
- Xu, Q. Y., Wang, C. A., Zhao, Z. G., & Luo, L. (2012). Effects of Replacement of Fish Meal by Soy Protein Isolate on the Growth , Digestive Enzyme Activity and Serum Biochemical Parameters for Juvenile Amur Sturgeon (*Acipenser schrenckii*), 25(11), 1588–1594. doi:10.5713/ajas.2012.12192
- Yaghoubi, M., Tor, M., Marammazi, J. G., Safari, O., & Gisbert, E. (2016). Dietary replacement of fish meal by soy products (soybean meal and isolated soy protein) in silvery-black porgy juveniles (*Sparidentex hasta*), 464, 50–59.
<http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.002>
- You, L., Zhao, M., Regenstein, J. M., & Ren, J. (2010). Purification and identification of antioxidative peptides from loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. *Food Research International*, 43(4), 1167–1173. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.02.009>
- Zhou, Q., Mai, K., Tan, B., & Liu, Y. (2005). Partial replacement of fishmeal by soybean meal in diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture Nutrition*, 11(3), 175-182. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2005.00335.x

Tabela 1.

Composição proximal e grau de hidrólise (DH) do hidrolisado proteico de soja (SBH).

	Quantidade (%)
<i>Composição centesimal (%)</i>	
Matéria seca	87,00
Proteína	40,60
Lipídios	2,00
Cinzas	7,00
DH	14,1
<i>Massa molecular dos peptídeos</i>	
> 100 kDa	6,32
50,1-100 kDa	4,34
30,1-50 kDa	20,45
20,1-30 kDa	15,51
10,1-20 kDa	0,31
5,1-10 kDa	39,16
2,1-5 kDa	10,57
1,1-2 kDa	0,42
<1kDa	2,64

*Estimado por eletroforese (Tris-Tricina SDS-PAGE).

Tabela 2 - Formulação e composição centesimal de dietas contendo diferentes níveis de adição do hidrolisado proteico de soja (SBH).

	SBH (%)				
	0	5	10	15	20
Farinha de peixe	45	40	35	30	25
SBH	0	5	10	15	20
Farelo de milho	13,5	10,6	8,7	6,3	3
Farelo de trigo	5	7,5	9	11	14
Farelo de soja	15	15	15	15	15
Farinha de carne	15	15	15	15	15
Óleo de peixe	3	3,4	3,8	4,2	4,5
Calcário	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Vitaminas e minerais	1	1	1	1	1
Sal	1	1	1	1	1
Total	100	100	100	100	100
<i>Composição centesimal (%)*</i>					
Matéria seca	93,3	94,34	93,86	93,53	93,61
Proteína	39,23	39,59	39,50	39,08	39,01
Lipídios	11,42	11,56	11,62	11,76	11,27
Cinzas	24,44	23,11	21,69	20,29	19,52
Energia bruta (kcal kg ⁻¹) [§]	3856,22	3890,69	3926,53	3961,48	3989,63

*Composição analisada; [§]cálculo EB=((PBx5,65)+(EEEx9,4)+(ENNx4,15))x10

Tabela 3 – Composição de aminoácidos de dietas contendo diferentes níveis de hidrolisado proteico de soja (SBH).

	SBH (%)				
	0	5	10	15	20
<i>Aminoácidos essenciais (mg kg⁻¹)</i>					
Isoleucina	1,43	1,46	1,49	1,63	1,52
Leucina	2,86	2,96	2,99	3,20	3,05
Fenilalanina	1,73	1,74	1,75	1,83	1,70
Lisina	1,25	1,17	1,28	1,80	1,53
Histidina	0,45	0,45	0,48	0,68	0,49
Arginina	3,39	3,50	3,38	3,22	3,05
Tirosina	1,10	1,19	1,19	1,27	1,20
Treonina	1,57	1,51	1,57	1,63	1,59
Metionina	1,20	1,13	1,18	1,31	1,11
Valina	2,00	2,01	2,03	2,14	1,98
<i>Aminoácidos não essenciais (mg kg⁻¹)</i>					
Cistina	0,03	0,01	0,01	0,09	0,02
Alanina	3,31	3,32	3,19	3,14	2,95
Prolina	4,31	4,23	3,94	4,26	3,82
Aspartato	2,02	2,01	2,16	1,51	2,65
Glutamina	5,60	5,77	6,24	5,23	6,44
Serina	2,01	1,99	2,03	1,90	1,92
Glicina	4,98	5,11	4,70	4,26	3,96
Total	39,23	39,59	39,50	39,08	39,01

Tabela 4 - Parâmetros de crescimento de jundiás alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de soja (SBH).

	SBH (%)					p
	0	5	10	15	20	
PI	6,60±0,09	6,43±0,15	6,24±0,38	6,52±0,12	6,30±0,08	0,81
GP	7,60±0,64b	13,46±1,04a	13,16±0,60a	14,66±1,17a	12,89±1,85a	0,036
TCE	1,27±0,07b	1,92±0,06a	1,90±0,09a	1,19±0,09a	1,18±0,18a	0,009
FC	0,71±0,01b	0,97±0,02a	0,93±0,02a	1,05±0,008a	1,08±0,03a	0,001
CON	596,1±14,7	562,1±12,2	570,0±25,5	609,3±36,6	584,4±36,8	0,65
CA	1,32±0,07	1,33±0,02	1,32±0,10	1,36±0,04	1,31±0,009	0,97

PI = peso inicial (g); PF = peso final (g); GP = Ganho de peso (g); TCE = taxa de crescimento específico (g); FC = fator de condição; CON = consumo (g); CA = Conversão alimentar; Letras diferentes na mesma linha indica diferença pelo teste de Duncan.

Tabela 5 - Composição química corporal e muscular de jundiás alimentados com diferentes níveis de hidrolisado de soja (SBH).

	SBH (%)					p
	0	5	10	15	20	
<i>Peixe inteiro (%)</i>						
Matéria seca	26,20±0,34	26,28±0,42	25,08±1,25	26,28±0,44	27,19±0,59	0,23
Proteína	14,88±0,37	14,04±0,11	14,05±0,25	14,76±0,11	14,11±0,20	0,80
Lipídios	4,51±0,35	4,19±0,15	4,75±0,57	4,92±0,29	4,83±0,25	0,32
Cinzas	3,41±0,28	4,07±0,37	3,37±1,03	3,34±0,44	2,71±0,39	0,54
<i>Musculo (%)</i>						
Matéria seca	26,95±0,65	26,42±0,68	29,62±0,56	26,35±1,40	26,90±0,81	0,54
Proteína	21,00±0,53	21,49±0,41	21,20±0,48	21,01±0,74	21,85±0,62	0,60
Lipídios	1,82±0,57	1,83±0,29	1,49±0,22	2,44±0,25	1,71±0,63	0,56
Cinzas	1,64±0,04	1,64±0,04	1,80±0,05	1,60±0,06	1,61±0,07	0,14

Tabela 6 - Série vermelha sangue e parâmetros plasmáticos de jundiás alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de soja (SBH).

	SBH (%)					p
	0	5	10	15	20	
<i>Série vermelha</i>						
Eritrócitos (x 10 ⁶ /μL)	2,14±2,56	2,46±5,59	2,19±8,80	2,26±3,41	1,98±2,85	0,92
Hematócrito (%)	26,95±,66	28,50±1,48	26,70±1,19	28,85±1,01	28,30±1,22	0,55
Hemoglobina (g/dL)	5,44±0,27	5,42±0,19	4,92±0,28	5,33±0,19	5,31±0,23	0,55
MCV (fL)	147,11±21,82	167,94±27,74	109,25±22,48	134,39±25,06	143,03±23,46	0,63
MCH (pg)	28,71±3,40	29,37±4,15	20,38±4,27	24,76±4,60	26,66±4,27	0,62
MCHC (%)	20,28±1,09	19,43±0,99	18,90±1,13	18,62±0,72	19,00±0,96	0,77
<i>Parâmetros plasmáticos</i>						
Proteínas totais (g/dL)	5,58±0,14	5,55±0,08	5,45±0,21	5,37±0,06	5,51±0,15	0,83
Albumina (g/dL)	0,87±0,06	0,67±0,05	0,64±0,06	0,66±0,06	0,71±0,07	0,10
Colesterol (g/dL)	164,09±11,77	159,87±3,32	144,67±5,15	166,09±3,97	159,79±10,75	0,39

VCM = volume corpuscular médio; HCM= hemoglobina corpuscular média; CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média.

Tabela 7 – Bioquímica do fígado e músculo de jundiás alimentados com diferentes níveis de hidrolisado proteico de soja (SBH).

	SBH (%)					p
	0	5	10	15	20	
<i>Fígado</i>						
AA (dL)	5,20±0,64	5,45±0,60	4,21±0,73	4,39±0,28	4,58±0,48	0,49
Amônia (µmol/g)	9,09±1,26	12,47±1,21	13,61±0,85	11,62±1,44	12,67±1,16	0,17
Glicose (µmol/g)	31,39±6,01	33,22±7,15	30,42±6,35	40,33±2,66	32,89±2,15	0,73
<i>Musculo</i>						
Amônia (µmol/g)	22,84±1,46	22,38±1,56	19,78±0,58	21,44±0,28	21,26±1,31	0,38
Glicogênio (µmol/g)	202,72±74,23	166,56±34,08	99,47±25,97	175,35±35,7	144,04±13,33	0,51

AA = aminoácidos livres, Letras diferentes na mesma linha indica diferença pelo teste de Duncan.

Tabela 8 - Tióis proteicos e não proteicos em tecidos de jundiás alimentados com diferentes

	SBH (%)					p
	0	5	10	15	20	
<i>Musculo</i>						
NPSH	0,015±0,002	0,016±0,005	0,016±0,002	0,016±0,0006	0,015±0,0004	0,90
TT	2,56±0,14	2,43±0,1	2,40±0,05	2,39±0,10	2,34±0,06	0,61
<i>Cérebro</i>						
NPSH	0,014±0,001b	0,01±0,010b	0,016±0,001b	0,010±0,001b	0,020±0,002a	0,02
<i>Brânquias</i>						
NPSH	0,010±0,004b	0,009±0,004b	0,008±0,003b	0,010±0,003b	0,014±0,001a	0,001
TT	1,73±0,11	1,60±0,02	1,56±0,13	1,26±0,09	1,29±0,15	0,10

níveis de hidrolisado proteico de soja (SBH).

NPSH = tióis não proteicos; TT = tióis totais; valores expressos em $\mu\text{mol SH/g}$ tecido. Letras diferentes na mesma linha indica diferença pelo teste de Duncan.

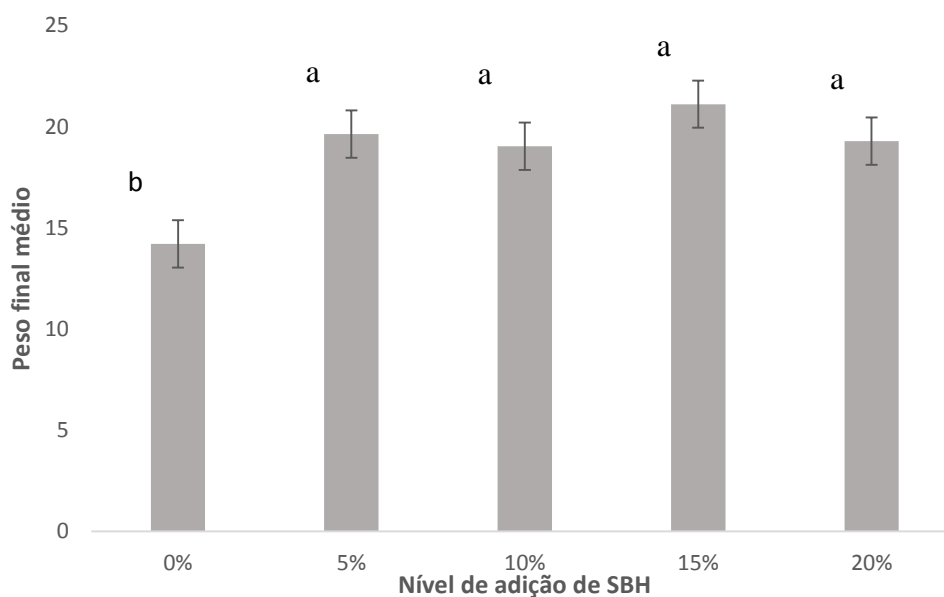


Figura 1 – Peso final de juvenis de jundiá alimentados com diferentes níveis de hidrolisado de soja (SBH). Letras diferentes indicam diferença pelo teste de Duncan.

Considerações finais

A revisão bibliográfica sobre a utilização de hidrolisados proteicos de pescado (FPH) da cadeia da aquicultura levantou questões interessantes. A primeira foi em relação da qualidade proteica destes produtos, que possuem quase todos os aminoácidos essenciais em quantidades necessárias para suprir as exigências nutricionais das principais espécies comerciais do mundo. A qualidade dos FPHs é comparável a várias farinhas de peixe de diversas origens, tendo apenas a desvantagem de possuir baixos níveis de triptofano. A pouca quantidade desse aminoácido essencial deve-se ao processo de hidrólise que acaba destruindo esse nutriente, sendo assim necessária a sua suplementação em dietas para peixes. Além de atuar como ingrediente, o FPH pode também ser considerado um promotor de crescimento. Peptídeos bioativos presentes nos FPHs conferem a esses produtos propriedades antioxidante, imunoestimulante e antimicrobiana a esses produtos. Com todas estas vantagens apontadas, os FPHs são considerados uma alternativa promissora para compor dietas para peixes, principalmente nas fases iniciais.

O hidrolisado proteico de tilápia (TPH) foi o que proporcionou maior quantidade de benefícios quando adicionado em dietas para o jundiá. Esse produto além de promover um melhor crescimento e saúde, substituiu uma fonte proteica tradicional (farinha de peixe) e ainda diminuiu a produção metabólica de amônia. A menor produção de amônia metabólica contribuiu para uma menor excreção de compostos nitrogenados, diminuindo o dano ambiental ocasionado por estes produtos. Cabe ressaltar ainda que, para o processo de produção do TPH foram utilizados resíduos de filetagem de tilápia (*Oreochromis niloticus*), sendo que esses são passivos ambientais algumas vezes não aproveitados pela indústria ou ainda transformados em subprodutos como farinha de peixe e comercializados a baixos valores de mercado. Neste contexto, sugerem-se mais estudos envolvendo a utilização de TPH em dietas para outras espécies de peixes, bem como também um estudo econômico para verificar a viabilidade de produção e uso em dietas para peixes comerciais.

O hidrolisado proteico de soja (SBH) não proporcionou a mesma quantidade de benefícios quando comparado ao TPH, quando adicionados em dietas para o jundiá. No entanto, a hidrólise proporcionada pela adição de pepsina suína, apresentou a formação de peptídeos bioativos de baixo peso molecular, que proporcionaram o crescimento dos juvenis de jundiá. A adição de SBH também auxiliou na síntese de tióis não proteicos, isso proporcionou benefícios ao sistema de defesa antioxidante. Cabe ressaltar que a adição de SBH substituiu a farinha de peixe em até 20% de inclusão na dieta, o que é um bom resultado, considerando que a espécie jundiá (*Rhamdia quelen*), que possui hábito alimentar onívoro com exigências proteicas de carnívoro, demandando dietas com uma alta qualidade da fração proteica.

Os hidrolisados proteicos tanto de origem animal ou vegetal antes de virem a ser amplamente utilizadas pela indústria de rações para peixes, precisam que alguns pontos sejam elucidados:

- O custo de produção necessita ser avaliado, verificando qual enzima, substrato e processo é mais viável para a produção de hidrolisados.

- Ganhos de desempenho e econômicos de peixes que foram alimentados com hidrolisados. A inclusão de hidrolisados em dietas precisa ser avaliada em espécies comercializadas atualmente, como a tilápia.
- Estudos de impacto ambiental envolvendo o dano ocasionado pelo resíduos das indústrias de pescado e de peixes não aproveitados pela pesca precisam ser feitos visando justificar o uso da biotecnologia dos hidrolisados.
- Um maior volume de investimento em pesquisa para buscar novas propriedades dos peptídeos presentes nos hidrolisados

RESUMO

A produção de hidrolisados proteicos de pescado (HPP) é uma alternativa para o reaproveitamento dos resíduos resultantes da aquicultura. Os HPP são ricos em aminoácidos e peptídeos de alta digestibilidade. Podem ser utilizados em dietas para peixes, visando a substituição da farinha de pescado de origem marinha. O alto teor proteico dos HPPs, junto com a quantidade de aminoácidos essenciais, favorece a formulação de dietas para peixes, principalmente nas fases iniciais. Os peptídeos de baixo peso molecular presentes nos HPPs promovem benefícios em termos de absorção proteica. A utilização de HPPs em dietas para peixes é bastante promissora, devido a quantidade de aminoácidos essenciais e peptídeos bioativos. Porém, nem sempre a utilização destas fontes proteica se revertem em benefícios no crescimento e saúde de peixes cultivados. Neste sentido, este trabalho tem como objetivo avaliar a substituição da farinha de peixe de origem marinha por hidrolisado proteico de tilápia (TPH) e hidrolisado de soja (SBH) em dietas para o jundiá (*Rhamdia quelen*), verificando os efeitos sobre crescimento, composição corporal, parâmetros sanguíneos, parâmetros bioquímicos e biomarcadores de estresse oxidativo. Para isso, foram produzidas cinco dietas isoproteicas e isoenergéticas (37% de proteína bruta; 3500 kcal/kg) contendo níveis de substituição da farinha de peixe por TPH e SBH (0, 5, 10, 15 e 20%). O tempo total do experimento com inclusão de TPH foi de 30 dias e do SBH foi de 60 dias. A inclusão de 20% de TPH nas dietas aumentou o crescimento de juvenis de jundiá. Níveis acima de 5% de TPH aumentou a incorporação de proteína nos tecidos, diminuiu a quantidade de amônia endógena e melhorou a eficiência do metabolismo oxidativo. A inclusão de SBH a partir do nível de 5% na dieta proporcionou melhor crescimento dos jundiás, não influenciando na deposição de proteína corporal. A dieta contendo de 20% de SBH promoveu um aumento nas quantidades dos tióis não proteicos nas brânquias e cérebro. A inclusão de SBH, não afetou a produção de compostos nitrogenados no fígado e músculo também. A substituição da farinha de peixe de origem marinha pelo TPH ou por SBH, é interessante do ponto de vista ambiental, considerando o declínio dos estoques pesqueiros no mundo e a otimização dos recursos naturais. Os hidrolisados TPH ou SBH podem ser utilizados em dietas para o jundiá como fonte proteica, pois promovem benefícios no crescimento e na saúde de juvenis de jundiá.

Orientador: Prof. Dr. Thiago El Hadi Fabregat

Coorientador: Prof. Dr. Clóvis Eliseu Gewehr

Lages, 2017