

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 30/11/2017.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE
POLYPEPTÍDEOS DE SILAGENS DE PEIXE

Ligia Maria Neira
Zootecnista

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE
POLYPEPTÍDEOS DE SILAGENS DE PEIXE

Ligia Maria Neira

Orientador: Prof. Dr. Dalton José Carneiro

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias –
Unesp, Campus de Jaboticabal,
como parte das exigências para
obtenção do título de Doutor em
Zootecnia

2016

Neira, Ligia Maria
N415c Caracterização e avaliação nutricional de polipeptídeos de
 silagens de peixe / Ligia Maria Neira. – – Jaboticabal, 2016
 vi, 69 p. : il. ; 29 cm

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
 Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
 Orientador: Dalton José Carneiro
 Banca examinadora: João Pizauro Martins Jr., Luciano Hauschild,
 Rose Meire Vidotti, Eduardo Gianini Abimorad.
 Bibliografia

 1. Fracionamento. 2. Nutrição. 3. *Oreochromis niloticus*. 4.
 Peptídeos. 5. Proteína. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências
 Agrárias e Veterinárias.

 CDU 639:3:043

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

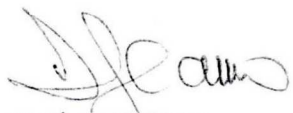
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE POLIPEPTÍDEOS DE
SILAGENS DE PEIXE

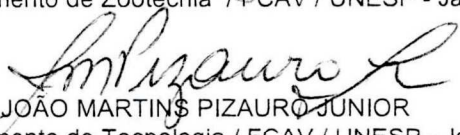
AUTORA: LIGIA MARIA NEIRA

ORIENTADOR: DALTON JOSÉ CARNEIRO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ZOOTECNIA,
pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. DALTON JOSÉ CARNEIRO
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. JOÃO MARTINS PIZAURRO JUNIOR
Departamento de Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. LUCIANO HAUSCHILD
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pesquisadora Dra. ROSE MEIRE VIDOTTI
APTA - Pólo Regional Centro Norte - São José do Rio Preto/SP



Pesquisador Dr. EDUARDO GIANINI ABIMORAD
APTA / Votuporanga/SP

Jaboticabal, 30 de novembro de 2016.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LIGIA MARIA NEIRA – nascida em 2 de junho de 1986, na cidade de Taquaral (SP), filha de Rodolfo Neira *in memorian* e Rosa Maria Trindade Neira, ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras/UFLA em agosto de 2004, onde foi bolsista de Iniciação Científica pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), graduando-se em julho de 2009. Em março de 2011 ingressou no Curso de Pós-Graduação em Aquicultura, a nível de mestrado, no Centro de Aquicultura da UNESP – Câmpus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Dalton José Carneiro, onde foi bolsista pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP); obteve o título de mestre em fevereiro de 2013. Em março do mesmo ano iniciou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia, a nível de doutorado, Área de Concentração Nutrição e Alimentação, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP – Câmpus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Dalton José Carneiro, onde também foi bolsista pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida, proteção, força e conforto.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Fapesp, pela concessão da bolsa de estudos, processo FAPESP 2013/16773-9 .

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias e ao Centro de Aquicultura da Unesp, por toda estrutura disponibilizada.

Ao Prof. Dr. Dalton José Carneiro pela orientação, ensinamentos, apoio, conselhos profissionais e pessoais, que o tornou, acima de tudo, um amigo.

As minhas “Irmãs” e companheiras Hellen e Lidiane que juntamente com nosso “Irmão” Thiago formam minha equipe de Laboratório, Pesquisa, Publicações e de Aprendizado.

Aos amigos do Laboratório de nutrição e amigos do CAUNESP: Bruna, Jesaías, Natália, Juliano, Thiago (Nogento), Juliana (Tomys), Thyssia, Amanda, Ivan, Thalys, Silvia, Suerli, Valdecir e Márcio (Perereca) que sempre colaboraram e conviveram comigo durante os ensaios experimentais.

Ao Prof. Dr. José Otávio proprietário da Piscicultura Tuiuiu que forneceu os resíduos para produção das silagens estudados.

Ao Prof. Dr. João Martins Pizauro Jr. por me acolher no laboratório e auxiliar na realização das análises.

Aos amigos do LEA: Adriano (bigola), Luiz Flávio (pudendo), Rafael (dopamina), Caroline (frígida), Gabriela (prima) e todos os estagiários que me acolheram, ensinaram e nunca desistiram de me ajudar a alcançar ótimos resultados.

A Profa. Dra. Priscila Vieira Rosa (UFLA) pelo auxílio nas análises histológicas e Amizade de longa data.

Ao Prof. Dr. Emmanoel Vieira da Silva Filho (UFF) pelo empréstimo da coluna de filtração em gel.

Ao Prof. Dr. Celso Beneditti (LNBio - CNPEM) e sua técnica Jackeline Zanella por todo treinamento e parceria durante as cromatografias.

Aos membros das comissões examinadoras do exame geral de qualificação e defesa pelas contribuições e tempo dedicado.

À minha família por sempre estarem presente, pelo amor incondicional e ensinamentos, vocês são o verdadeiro valor da vida.

Ao Caio, meu noivo, companheiro e porto seguro.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais	1
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. OBJETIVOS	6
2.1 Objetivo geral	6
2.2. Objetivos específicos	6
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	7
CAPÍTULO 2 -PRODUÇÃO E AVALIAÇÃO PEPTÍDICA DAS SILAGENS DE RESÍDUOS DE FILETAGEM DA TILÁPIA DO NILO	12
1. INTRODUÇÃO.	13
2. OBJETIVO	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	19
5. RESULTADOS.....	19
6. DISCUSSÃO	28
7. CONCLUSÃO	29
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
CAPÍTULO 3 - DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES E ENERGIA DE SILAGENS DE RESÍDUOS DE TILÁPIA DO NILO.	33
1. INTRODUÇÃO	34
2. OBJETIVO	35
3. MATERIAIS E MÉTODOS	35
4. RESULTADOS.....	39
5. DISCUSSÕES	40
6. CONCLUSÃO	42
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
CAPÍTULO4 -SUBSTITUIÇÃO PARCIAL OU TOTAL DA PROTEÍNA DA FARINHA DE TILÁPIA PELA DE SILAGEM DE RESÍDUO, ISOLADO PROTEICO DE SOJA OU AMINOÁCIDOS CRISTALINOS EM DIETAS PARA JUVENIS DA TILÁPIA DO NILO.	47
1. INTRODUÇÃO	48
2. OBJETIVO	50
3. MATERIAIS E MÉTODOS	50
4. RESULTADOS.....	56
5. DISCUSSÃO	63
6. CONCLUSÃO	66
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 018777/13 do trabalho de pesquisa intitulado **"Produção de polipeptídeos de hidrolisados proteicos e sua eficiência na nutrição de juvenis de Tilápia-do-nilo"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Dalton José Carneiro está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 06 de setembro de 2013.

Jaboticabal, 06 de setembro de 2013.

Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi
Coordenador - CEUA

CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE POLIPEPTÍDEOS DE SILAGENS DE PEIXE

RESUMO – Na aquicultura, o aproveitamento dos resíduos para produção de silagens torna a produção mais sustentável. Foram realizados três experimentos para estudar a viabilidade de fracionamento da proteína da silagem de resíduos de tilápia por meio de avaliações dos processos da hidrólise da proteína e da eficiência de sua utilização de seus polipeptídeos em dietas práticas sobre o desempenho produtivo, nutricional e morfologia intestinal. O primeiro experimento, teve os objetivos de produzir e avaliar as silagens dos resíduos da filetagem de tilápia do Nilo. Foram utilizados dois tipos de matéria-prima, vísceras ou resíduos totais (cabeça, espinha, nadadeiras e vísceras, sem pele), dois processos de hidrólise, ácida e fermentada, com três metodologias para interrupção dos processos, aquecimento, congelamento ou neutralização. Os resultados experimentais mostraram que a hidrólise ocorreu em tempos diferentes para as diferentes matérias-primas e processos de hidrólise. A produção das silagens foram viáveis e apresentaram características favoráveis para utilização deste produto em dietas para peixes. Realizou-se o segundo experimento, para determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente de proteína bruta (CDA_{PB}), energia bruta (CDA_{EB}), lisina (CDA_{Lys}) e metionina (CDA_{Met}) das silagens com diferentes tempos de interrupção da hidrólise em dietas para juvenis de tilápia do Nilo. Foram utilizados 720 juvenis ($9,36 \pm 0,74$ g). Foram formuladas 12 dietas-teste, constituídas de 69,5% de uma dieta referência, 0,5% de óxido de cromo III e 30% de uma silagem, ácida ou fermentada, produzido com vísceras ou com resíduos totais, em tempos diferentes de hidrólises (SVA 24, 72 e 144 horas, SVF 24, 48 e 120 horas, STA e STF 24, 96 e 192 horas de hidrólise). As médias dos CDA da proteína, lisina e metionina das silagens variaram de 91,75 a 95,80%. Os menores valores de CDA foram determinados para energia bruta e variaram de 79,30% a 83,62%. Estes resultados mostraram que só as silagens de resíduos totais apresentam altos valores de PB e de CDA_{PB} . Portanto, foram selecionados os tempos de 96 e 192 horas de hidrólise para a ácida e fermentada, respectivamente, para serem utilizados como ingredientes em dietas práticas para a tilápia do Nilo. O terceiro experimento teve como objetivo a avaliação do desempenho e da eficiência nutricional de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com oito dietas diferentes, contendo farinha de tilápia e sua substituição parcial ou total por silagens, ácida (SA) ou fermentada (SF), isolado proteico de soja (IPS) ou aminoácidos livres (AAS). Foram utilizados 640 juvenis ($7,18 \pm 5,43$ g). Os resultados mostraram que os peixes alimentados com dietas contendo FT, sua substituição parcial (SA_{50} , ST_{50} e IPS_{50}) e substituição total por SA, apresentaram os melhores resultados de eficiência alimentar, e o seu crescimento foi significativamente maior quando comparado aos peixes que receberam as dietas contendo SF e AAS. Estes resultados mostram que a substituição da FT pelas silagens foi possível.

Palavras-chave: fracionamento, nutrição, *Oreochromis niloticus*, peptídeos e proteína

CHARACTERIZATION AND NUTRITIONAL EVALUATION OF POLYPEPTIDES FROM FISH SILAGE

Abstract – In Aquaculture, to be sustainable should use of the waste to produce fish silages. Three experiments were conducted to study the feasibility of fractionation protein from tilapia waste hydrolysate through evaluations of the hydrolysis processes of protein and the efficient use of their polypeptides in practical diets on performance, nutrition and intestinal morphology. The experiment 1, aimed to produce and evaluate the silages of Nile tilapia filleting waste. Two types of raw materials, viscera or total residues were used (head, spine, fins and viscera), two processes of hydrolysis, acid and fermented with three methodologies to interrupt the processes, heating, freezing or neutralization. The experimental results showed that the hydrolysis took place at different times for different raw materials and hydrolysis processes. The silage production was viable and showed favorable characteristics for this product use in fish diets. The second experiment was carried out to determinate the apparent digestibility of crude protein (ADCCP), gross energy (ADCGE), lysine (ADCLys) and methionine (ADCMet) of fish silages with different time of hydrolysis in diets for Nile tilapia juvenile. 720 juveniles were used (9.36 ± 0.74 g). 12 test diets were formulated, constituted 69.5% of a reference diet, 0.5% chromium III oxide and 30% of an acid or fermented silage, produced with viscera or total residues at different times of hydrolysis (SVA 24, 72 and 144 hours SVF 24, 48 and 120 hours, and STA STF 24, 96 and 192 hours of hydrolysis). The ADC mean of protein, lysine and methionine silages ranged from 91.75 to 95.80%. The lowest ADC values were determined for crude energy and ranged from 79.30% to 83.62%. These results showed that only total waste silage have high levels of CP and ADCCP. The times 96 and 192 hours of hydrolysis were selected to the acid and fermented, respectively, for use as ingredients in practical diets for Nile tilapia. The third experiment was aimed to evaluate the performance and nutritional efficiency of Nile tilapia juvenile fed with eight different diets containing tilapia meal and partial or total replacement for acid (SA) or fermented (SF) fish silage, soybean protein isolate (SPI) or free amino acid (FAA). 640 juveniles were used (7.18 ± 5.43 g). The results showed that the fish fed diets containing TM, partial replacement (SA₅₀, ST₅₀ and IPS₅₀) and total replacement by SA showed the best results of feed efficiency, and their growth was significantly higher when compared to fish that received the diets containing SF and FAA. These results show that the substitution of FT by hydrolyzed was possible.

Keywords: fractionation, nutrition, *Oreochromis niloticus*, peptides and protein

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução geral

A aquicultura moderna embasada em pilares como a produção lucrativa, a preservação do ambiente e o desenvolvimento social (MCCAUSLAND et al., 2006) apresenta o desafio de moldar-se ao conceito de sustentabilidade, que implica em agregar valores à produção de conhecimento e novas técnicas (ELER; MILLANI, 2007). Entre estas técnicas, evidencia-se a otimização do uso dos recursos naturais, das instalações e da mão-de-obra, a introdução de sistemas integrados de produção (como os policultivos), a racionalização do uso de insumos, principalmente na elaboração de dietas, e o aproveitamento dos resíduos do beneficiamento (TURECK; OLIVEIRA, 2003). A tilapicultura está em grande expansão no Brasil (IBGE, 2014), tendo sua produção concentrada no sistema intensivo (ZANIBONI FILHO et al, 2005), necessitando exclusivamente de alimento exógeno de alta qualidade e que atenda suas exigências para o crescimento.

Na produção comercial de dietas para peixes é comumente utilizada a farinha de pescado, ingrediente oneroso e de baixa disponibilidade na cadeia produtiva (FAO, 2009). Considerando que o aumento da produção mundial da aquicultura atinge 6,2% ao ano (FAO, 2013) e que a farinha de pescados capturados permanece constante (FAO, 2009), os estudos atuais visam a sua substituição por outros ingredientes de maior disponibilidade e que proporcionem o mesmo desempenho produtivo (NAYLOR et al.,2009). A maioria dos resultados encontrados nestes estudos mostra que as fontes vegetais não atendem nutricionalmente as exigências da espécie, e o principal problema está no provimento dos aminoácidos limitantes como os sulfurados, necessitando assim da suplementação com aminoácidos cristalinos (HU et al.,2008; ABIMORAD et al.,2009; BODIN et al.,2012).

A suplementação com aminoácidos cristalinos, muito empregado em nutrição de aves e suínos, não tem mostrado eficiência em nutrição de peixes, principalmente pela grande facilidade em sua excreção através das brânquias, além de ocupar a maioria dos sítios de absorção com a oferta contínua de grandes proporções destes nutrientes disponíveis. Grande parte dos trabalhos conduzidos nesta linha de pesquisa mostram que o aumento da suplementação

por aminoácidos cristalinos promove diminuição no desempenho, na eficiência de retenção de proteína e no consumo (AOE et al., 1970; ZHANG et al., 2006; NEIRA, 2013). A própria silagem de resíduos de pescado apresenta o mesmo problema, quando usada como principal concentrado proteico em dietas, por conter elevadíssima proporção de aminoácidos livres. De acordo com Zarate e Lovell (1997), esta resposta baixa nos resultados pode ocorrer também pela perda por lixiviação dos aminoácidos cristalinos, por serem altamente solúveis no meio aquático, em relação aos proteicos.

Um ingrediente de origem vegetal que vem recebendo atenção nas formulações de dietas para animais é o isolado proteico de soja, por apresentar adequado balanceamento em aminoácidos. É obtido a partir dos flocos ou farinha de soja desengordurada e contém, no mínimo, 90% de proteína (MARTINS, 2005). Mas sua utilização em alimentos para peixes geralmente tem sido limitada pelo seu alto custo (RICHIE et al., 2001), sendo uma alternativa pouco viável.

Segundo Sharp e Mariojouis (2012), as indústrias da pesca e da aquicultura produzem mundialmente 130 milhões de toneladas de resíduos de pescado por ano, consistindo de capturas em excesso, de resíduos de bordo e industriais, e de desperdício doméstico. No Brasil, a situação é semelhante, pois a tilápia é a espécie de peixe de água doce mais industrializada, com produção de 198 mil toneladas (IBGE, 2014) tendo seu rendimento médio dos filés de aproximadamente 30%, e os 70% restantes são considerados resíduos, incluindo cabeça, esqueleto com carne aderida, vísceras, pele e escamas (VIDOTTI; GONÇALVES, 2006).

Muitas são as opções de uso para os resíduos de pescado, mas a grande maioria delas não se mostra economicamente viável, em vista do elevado investimento inicial. Por outro lado, os aterros sanitários e lagoas de tratamento de efluentes não são alternativas recomendáveis, devido aos altos riscos de contaminação que podem provocar nas áreas costeiras ou água doce e pelo odor desagradável que produzem (FERRAZ DE ARRUDA, 2004). Uma opção viável para minimizar os problemas ambientais gerado pela quantidade elevada de resíduos de pescado é a sua transformação em produtos para serem incorporados como ingredientes nas dietas para animais (RISTIC et al.,

2002), colaborando desta forma, com um aumento correspondente no volume de alimento para o avanço da aquicultura.

Os três métodos mais comuns para processamento e utilização dos resíduos de organismos aquáticos são: fabricação de farinha de peixe e/ou óleo, fabricação de fertilizantes orgânicos ou a produção de silagens (FAO, 2010). A tecnologia de produção de silagem, mesmo em larga escala, é simples, o investimento é pequeno, os efluentes e odores são reduzidos, não sendo necessário o armazenamento refrigerado, o processo de obtenção é rápido em climas tropicais e pode ser utilizado de imediato (BEERLI et al., 2002). A produção de silagens pode ser por ação de ácidos (silagem química), fermentação microbiana induzida por carboidratos (silagem biológica) e consequente ação de enzimas proteolíticas naturalmente presente nos peixes, principalmente nas vísceras, ou adicionadas (silagem enzimática) na forma purificada (KOMPIANG, 1981), que realizam o processo de forma controlada, porém sendo mais onerosa (VIEGAS, 2002).

A silagem ácida de pescado, com pH entre 3,9 e 4,2, após a adição de ácidos minerais e orgânicos, liquefaz-se suficientemente em quatro dias, à temperatura ambiente de 27°C a 30°C, conservando a atividade enzimática por muitos meses. Já as silagens biológicas são produzidas pelo processo de fermentação anaeróbica, utilizando micro-organismos como os *Lactobacillus* e uma fonte de carboidratos. A produção de ácido láctico é importante por causar diminuição do pH (em torno de 4,0) (VIDOTTI; GONÇALVES, 2006). O pH baixo propicia a ação das enzimas naturalmente presentes no pescado e/ou adicionadas, que são responsáveis pela hidrólise proteica, originando produto rico em proteínas, peptídeos de cadeia curta e principalmente aminoácidos livres (KOMPIANG, 1981; STONE; HARDY, 1986; GODDARD; PERRET, 2005). Além da acidez, acredita-se que a habilidade de certas bactérias ácido-láticas em produzir compostos antibacterianos (chamados bacteriocinas), colaboram na inibição do crescimento de microrganismos patogênicos (BORRESEN, 1990).

A silagem de pescado é um ingrediente proteico de alta qualidade e pode ser utilizado como suplemento na dieta de vários animais, e os peixes não são exceção (HAARD et al., 1985). Entre as vantagens, pode-se citar que este produto apresenta maior digestibilidade quando comparado à farinha de

peixe (HASSAN; HEATH, 1987), mas, por apresentar alto grau de hidrólise, seus aminoácidos estão prontamente disponíveis, não sendo muito aproveitados quando utilizados em grandes quantidades em dietas para peixes. Muitos autores acreditam que a silagem apresenta elevado potencial para a utilização na aquicultura pela sua semelhança com a matéria-prima em sua composição de aminoácidos (FAGBENRO, 1994; FAGBENRO; JAUNCEY, 1995a, 1995b; GODDARD; AL-YAHYAI, 2001; VIDOTTI et al., 2003).

As silagens são utilizadas na nutrição animal como substitutos de leite para bezerros (RITCHIE; MACKIE, 1982), leitões (NØRGAARD et al., 2012), suplemento proteico para aves de postura (OPHEIM et al., 2016) e utilizados no *weaning* de larvas de peixes (CAHU; INFANTE, 2001; KOTZAMANIS et al., 2007). Apresentam alta digestibilidade da proteína, são palatáveis e mais facilmente absorvidos do que a proteína intacta, pois não necessitam de digestão prévia por proteases pancreáticas (GILBERT et al., 2008). Como a proteína é o nutriente mais importante para o crescimento dos peixes (LOVEL, 1989), seu aproveitamento poderá implicar em um melhor desenvolvimento dos animais.

Durante o desenvolvimento dos peixes, o aparelho digestivo desempenha um papel importante na manutenção da homeostase do organismo. Os enterócitos são os locais do primeiro contato com os alimentos, onde é absorvido, digerido e transportado para a circulação sanguínea. Uma composição inadequada da dieta pode induzir perturbações no desenvolvimento e função, que pode resultar em redução do crescimento (OSTASZEWSKA et al., 2005)

A mucosa intestinal dos peixes teleósteos tem inúmeras projeções denominadas vilos, possuindo células indiferenciadas que sofrem sucessivas mitoses para formação das células epiteliais do vilo (JOBILING, 1995). A distribuição e frequência destas células são diferentes e dependem das espécies de peixe e da alimentação (ANDREOZZI et al., 1997). A substituição da proteína animal pela da soja ou de seus coprodutos em dietas de peixe pode induzir a uma inflamação no intestino, chamada enterite (BAKKE-MCKELLEP et al., 2000; URÁN et al., 2008). Os sintomas mais encontrados são: redução das vilosidades da mucosa e redução na área de absorção do enterócito, redução nos vacúolos supranuclear do enterócito, alargamento da

lâmina própria e mucosa subepitelial com uma severa infiltração de células inflamatórias, e um aumento no número de células caliciformes intestinais (BAKKE-MCKELLEP et al., 2000)

Nutricionalmente, para melhorar a qualidade da silagem, alguns autores (STONE et al., 1989; GODDARD; AL-YAHYAI, 2001) observaram que, controlando a hidrólise proteica, o valor nutricional do produto final poderia ser superior ao excessivamente hidrolisado. Convencionalmente, o nitrogênio atribuído aos peptídeos era determinado pela subtração do nitrogênio amoniacal e aminoácidos livres do total de nitrogênio medido pelo método de titulação formal de Sorrensen, tratando-se de uma análise pouco precisa, uma vez que, esta é passível de erros acumulativos devido à manipulação, durante as inúmeras fases desta metodologia.

O conceito de que os peptídeos menores são absorvidos pelo intestino dos vertebrados tem sido revisado (WEBB et al., 1992; ADIBI, 1997; BIER, 2003). Mas há evidências de que, em peixes, um único peptídeo pode ser mais eficientemente absorvido que uma mistura de aminoácidos idênticos (BOGE et al., 1981; RESHKIN; AHEARN, 1991). Porém, a importância nutricional e metabólica da mistura de peptídeos ainda é inconclusiva pois os estudos para peixes são escassos (HAARD et al., 1985; STONE; HARDY, 1986; STONE et al., 1989).

O material autolisado caracteriza-se por uma degradação da proteína original do produto da pesca a condição de peptídeos e aminoácidos, em maior ou menor grau, dependendo da técnica empregada na sua elaboração (MEINKE; MATIL, 1973). No caso deste estudo, com a técnica empregada pretende-se interromper o processo de hidrólise para obtenção de maior proporção de peptídeos em relação à proteína original e/ou aminoácidos livres. Para interromper a ação das enzimas sobre a matéria-prima, será estudada a eficiência do uso de variações extremas de temperaturas (-196 e 100°C), e também da neutralização com hidróxido de sódio.

A influência da temperatura sobre a reação enzimática é geralmente representada em termos de atividade ou velocidade de reação, ou seja, a maioria das reações químicas se processa a uma velocidade maior, à medida que a temperatura aumenta ocorrendo a perda da atividade biológica da enzima no processo de desnaturação térmica. As enzimas, quando sujeitas a

baixas temperaturas, ficam inativas devido à falta de energia de ativação para provocar o choque entre as moléculas enzimáticas e as do substrato. No entanto, com o aumento gradual da temperatura, verifica-se também o aumento da atividade enzimática até se atingir um máximo de atividade na temperatura ótima. A partir desse valor, verifica-se uma diminuição da atividade até atingir um valor em que a enzima deixa de atuar devido à desnaturação da proteína que a constitui, perdendo sua configuração espacial e, por consequência, o centro ativo (LEHNINGER et al., 2004).

Neste âmbito, o presente estudo sobre avaliação de processamento das silagens poderá contribuir para obtenção de um produto que apresente maior eficiência nutricional, proporcionando melhor desempenho das tilápia, além da padronização de uma metodologia, que possa ser usada em escala comercial pelas processadoras de pescado e utilizada nas indústrias de rações.

6. CONCLUSÕES

Os resultados de desempenho e eficiência nutricional dos peixes mostraram que a proteína da FT em dietas para juvenis de tilápia do Nilo pode ser substituída parcialmente por SA e SF, ou mesmo totalmente por SA quando seu processamento de hidrólise for interrompido antes de apresentarem altos teores de aminoácidos livres (96 horas para SA e 192 horas para SF), demonstrando um efeito positivo para a utilização destes compostos de proteína de pequena massa molecular. Já os resultados de IPS e AAS não foram tão eficientes e prejudicaram

o desempenho dos peixes.

Agradecimento

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa (Processo 2013/16773-9). Ao Prof. José Otávio e piscicultura Tuiuiú pela doação dos resíduos da filetagem de tilápia para produção das silagens. A Profa. Dra. Priscila Viera Rosa pela supervisão das análises morfométricas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. **Official Methods of Analysis**, 16th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., 2000.

BARROGA, A. J.; PRADHAN, R.; TOBIOKA, H. Evaluation of fish silage-sweet potato mixed diet with Italian ryegrass silage as basal ration on nitrogen utilization and energy balance in growing lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, n.3, p.189-197, 2001.

DOMENEGHINI, C.; ARRIGHIA, S.; RADAELLI, G.; BOSIA, G.; VEGGETTI, A. Histochemical analysis of glycoconjugate secretion in the alimentary canal of *Anguilla anguilla* L. **Acta Histochemical**, Jena, v.106, n.6, p.477–487, 2005.

EL-HAKIM, N.F.A.; EL-GENDY, M.O.A.; SALEM, M.F.I. Effect of incorporation of fish silage into diets on growth performance and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Egyptian Journal of Aquatic Biology Fisheries**, Cairo, v.11, p.101–117, 2007.

EVANS, J.J.; PASNIK, D.J.; PERES, H.; LIM, C.; KLESIUS, P.H. No apparent differences in intestinal histology of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed heat-treated and non-heat treated raw soybean meal. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.11, n.2, p.123-129, 2005.

GILDBERG, A. Review: enzymic processing of marine raw materials. **Process Biochemistry**, Barking, v.28, p.1-15, 1993.

GOOSEN, N.J.; DE WET, L.F.; GÖRGENS, J. F. Rainbow trout silage as immune stimulant and feed ingrediente in diets for Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). **Aquaculture Research**, Amsterdam, v.47, n.1, p.329-340, 2016.

GOOSEN, N.J.; DE WET, L. F.; GÖRGENS, J.F. Comparison of hydrolysed proteins from different raw materials in diets for Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus*. **Aquaculture International**, London, v.23, p.1165–1178, 2015.

HERNÁNDEZ, C.; OLVERA-NOVOA, M.A.; VOLTOLINA, D.; HARDY, R.W.; GONZÁLEZ-RODRIGUEZ, B.; DOMINGUEZ-JIMENEZ, P.; VALVERDE-ROMERO, M.; AGRAMON-ROMERO, S. Use of tuna industry waste in diets for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fingerlings: effect on digestibility and growth performance. **Latin American Journal Aquatic Research**, Valparaiso, Chile, v.41, p.468–478, 2013.

HONORATO, C.A.; CRUZ, C.; CARNEIRO, D.J.; MACHADO, M.R.F. Histologia e histoquímica do intestino anterior de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo silagem de peixe. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, Sao Paulo, v. 48, n. 4, p. 281-288, 2011.

HUMASON, G.L. **Animal tissue techniques**. San Francisco: WH Freeman, 1979. 641 p.

IBGE. **Produção da pecuária municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, 2014. v.42, p.1-39.

KJOS, N.P.; HERSTAD, O.; SKREDE, A.; ØVERLAD, M.; SKREDE, A. Effects of dietary fish silage and fish fat on performance and egg quality of laying hens. **Canadian Journal Animal Science**, Ottawa, v.80, n.4, p.245-261, 2001.

KOTZAMANIS, Y.P.; GISBERT, E.; GATESOUPÉ, F.J.; ZAMBONINO INFANTE, J.; CAHU, C. 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 Physiology**, London, v.147A, p.205–214, 2007.

KOUSOULAKI, K.; ALBREKTSSEN, S.; LANGMYHR, E.; OLSEN, H.J.; CAMPBELL, P.; AKSNES, A. The water soluble fraction in fish meal (stickwater) stimulates growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) given high plant protein diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v.289, p.74–83, 2009.

LEAL, A.L.G.; DE CASTRO, P.F.; DE LIMA, J.P.V.; CORREIA, E.S.; BEZERRA, R.S. Use of shrimp protein hydrolysate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) feeds. **Aquaculture International**, London, v.18, p.635–646, 2010.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger**: princípios de bioquímica. 4.ed. São Paulo: Editora Sarvier, 2004.

LIQUORI, G.E.; MASTRODONATO, M.; ZIZZA, S.; FERRI, D. Glycoconjugate histochemistry of the digestive tract of *Triturus carnifex* (Amphibia, Caudata). **Journal of Molecular Histology**, Dordrecht, v.38, n.3, p.191-199, 2007.

MADAGE, S.S.K.; MEDIS, W.U.D.; SULTANBAWA Y. Fish Silage as Replacement of Fishmeal in Red Tilapia Feeds, **Journal of Applied Aquaculture**, Binghamton, v.27, n.2, p.95-106, 2015.

MAJUMDAR, R.K.; DEB, S.; NATH, K.C. Effect of co-dried silage from fish market waste as substitute for fish meal on the growth of the Indian major carp *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings **Indian Journal Fisheries**, New Delhi, v.61, n.4, p.63-68, 2014.

NGUYEN, T.N.; DAVIS, D.A.; SAOUD. I.D. Evaluation of alternative protein sources to replace fish meal in practical diets for juvenile tilapia, *Oreochromis* spp. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v.40, p.113–121, 2009.

NRC - National Research Council. **Nutrient requirement of fish and shrimp**. Washington: National Academy Press, 2011.

OLIVEIRA CAVALHEIRO, J.M.; SOUZA, E.O.; BORA, P.S. Utilization of shrimp industry waste in the formulation of tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) feed. **Bioresource Technology**, Essex, v.98, p.602–606, 2007.

RAMÍREZ, J.; IBARRA, J.; ARCE, F.; ROSAS, P.; ULLOA, J.; MATSUMOTO, K.; VALLEJO, B.; MAZORRA, M. Preparation of biological fish silage and its effect on the performance and meat quality characteristics of quails (*Coturnix coturnix japonica*). **Brazilian Archives of Biology and Technology an International Journal**, Curitiba, v.56, p.1002, 2003.

ROMARHEIM, O. H.; ZHANG, C.; PENN, M.; LIU, Y. J.; TIAN, L. X.; SKREDE, A.; KROGDAHL, A.; STOREBAKKEN, T. Growth and intestinal morphology in cobia (*Rachycentron canadum*) fed extruded diets with two types of soybean meal partly replacing fish meal. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.14, n.2, p.174-180, 2008.

SANTOS, J. F.; CASTRO, P. F.; LEAL, A. L. G.; DE FREITAS JÚNIOR, A. C. V.; LEMOS, D.; CARVALHO JÚNIOR, L. B.; BEZERRA, R. S. Digestive enzyme activity in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) submitted to diferente dietary levels of shrimp protein hydrolysate. **Aquaculture International** London, v.21, p.563–577, 2013.

SKALLI, A.; ZAMBONINO-INFANTE, J.L.; KOTZAMANIS, Y.; FABREGAT, R.; GISBERT, E. Peptide molecular weight distribution of soluble protein fraction affects growth performance and quality in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.20, p.118–131, 2014.

ŠLIŽYTĖ, R., DAUKŠAS, E., FALCH, E., STORRØ, I., RUSTAD, T. Characteristics of protein fractions generated from cod (*Gadus morhua*) by-products. **Process Biochemistry**, Amsterdam, v. 40, p. 2021–2033, 2005.

SRICHANUN, M., TANTIKITTI, C., KORTNER, T. M., KROGDAHL, Å., CHOTIKACHINDA, R. Effects of different protein hydrolysate products and levels on growth, survival rate and digestive capacity in Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) larvae. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 428–429, p. 195–202, 2014.

SROUR, T.M. Fish waste and shrimp head silage as dietary protein sources for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Egyptian Journal of Animal Production**, Cairo, v.46, n.1, p.69-84, 2009.

STONE, F.E.; HARDY, R.W.; SHEARER, K.D.; SCOTT, T.M. Utilization of fish silage by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Aquaculture**, Amsterdam, v.76, p.109–118, 1989.

ZAMBONINO-INFANTE, J. L., CAHU, C. L., PÉRES, A. Partial substitution of di and tripeptides for native proteins in seabass diet improves *Dicentrarchus labrax* larval development. **Journal of Nutrition**, Rockville, v. 127, p. 608–614, 1997.

ZHENG, K.; LIANG, M.; YAO, H.; WANG, J.; CHANG, Q. Effect of dietary fish protein hydrolysate on growth, feed utilization and IGF-I levels of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v.18, p.297–303, 2012.