

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**PROTEÍNA HIDROLISADA DE FÍGADO SUÍNO EM  
DIETAS PARA ALEVINOS DE DOURADO (*Salminus  
brasilensis*) E TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)**

**Ricácio Luan Marques Gomes**

Jaboticabal – SP

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**PROTEÍNA HIDROLISADA DE FÍGADO SUÍNO EM  
DIETAS PARA ALEVINOS DE DOURADO (*Salminus  
brasilensis*) E TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)**

**Ricácio Luan Marques Gomes**

**Orientador: Prof. Dr. Eduardo Antônio Sanches**

**Co-orientador: Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor.

Jaboticabal – SP

2022

G633p Gomes, Ricácio Luan Marques  
Proteína hidrolisada de fígado suíno em dietas para alevinos de  
dourado (*Salminus brasiliensis*) e tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) /  
Ricácio Luan Marques Gomes. -- Jaboticabal, 2022  
x, 76 p. : il., tabs. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de  
Aqüicultura, 2022

Orientador: Eduardo Antônio Sanches

Coorientador: Wilson Rogério Boscolo

Banca examinadora: Dacley Hertes Neu, Fábio Bittencourt, Giovani  
Sampaio Gonçalves, Luiz Eduardo Lima de Freitas

Bibliografia

1. Abordagens biotecnológicas. 2. Coprodutos agroindustriais. 3.  
Ingredientes inovadores. 4. Hidrólise enzimática. 5. Nutrição animal. I.  
Título. II. Jaboticabal-Centro de Aqüicultura.

CDU 639.3.043

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO:** Proteína hidrolisada de fígado suíno em dietas para alevinos de dourado (*Salminus brasiliensis*) e tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)

**AUTOR:** RICÁCIO LUAN MARQUES GOMES

**ORIENTADOR:** EDUARDO ANTÔNIO SANCHES

**COORIENTADOR:** WILSON ROGÉRIO BOSCOLO

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



Prof. Dr. EDUARDO ANTÔNIO SANCHES (Participação Virtual)  
Engenharia de Pesca / Campus Experimental de Registro, Unesp, Registro-SP



Prof. Dr. FÁBIO BITTENCOURT (Participação Virtual)  
Engenharia de Pesca / Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo-PR



Prof. Dr. GIOVANI SAMPAIO GONCALVES (Participação Virtual)  
Centro do Pescado Continental / Instituto de Pesca, IP, São José do Rio Preto-SP



Prof. Dr. DACLEY HERTES NEU (Participação Virtual)  
Faculdade de Ciências Agrárias / Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, Dourados-MS



Dr. LUIZ EDUARDO LIMA DE FREITAS (Participação Virtual)  
Núcleo Temático de Pesca e Aquicultura / EMBRAPA, Palmas-TO

Jaboticabal, 31 de maio de 2022

Centro de Aqüicultura da Unesp Coordenação  
do Programa de Pós-Graduação

Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 Jaboticabal SP Brasil Tel  
55 16 32032110 ramal 214 fax 55 16 32032268

## DEDICATÓRIA

*Ao meu pai Risaldo Gomes e minha mãe Sônia Gomes, por todo amor, confiança, educação, ensinamentos ao longo de toda minha vida, incentivos, orações e por acreditarem em mim. Minha eterna gratidão!*

*A minha irmã Ryanne Carolynne, por todo amor, amizade e incentivo.*

*À minha namorada Gabriela Gomes, por todo amor, apoio, amizade, compreensão e paciência.*

*À minha filha Ana Rita, que mesmo ainda sem conhecer ainda, veio para iluminar ainda mais minha vida.*

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida, por permitir que vivenciasse todos esses momentos e por mim da sabedoria para vencer os obstáculos da vida.

À Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura pelo Centro de Aquicultura (CAUNESP).

Aos meus pais por todo amor, apoio e por sempre acreditarem em mim e apoiarem minhas decisões. Vocês são exemplos de vida e minha inspiração. Amo vocês!

À minha irmã Ryanne Carolynne por todo amor, amizade e incentivo em todos os momentos. Te amo!

À minha namorada Gabriela Gomes, pelo amor, amizade, compreensão, paciência e ensinamentos. Grato por caminhar comigo na estrada da vida. Você e Ana Rita, são minhas inspirações para vencer os desafios da vida. Amo vocês!

Ao Professor e orientador, Dr. Eduardo Antônio Sanches, pela dedicada orientação, amizade, confiança, paciência e ensinamentos a mim transmitidos. O senhor é um grande exemplo de profissional e pessoa. Foi uma honra trabalharmos juntos!

Ao Professor e co-orientador, Dr. Wilson Rogério Boscolo, pela amizade, atenção, confiança, ensinamentos repassados, incentivo na pesquisa e pela dedicada co-orientação. Muito obrigado!

Ao Professor Dr. Fábio Bittencourt, pela amizade, atenção, confiança, conselhos, leituras e correções dos artigos. Grato!

Aos Professores Dr. Altevir Signor e Dr. Érico Rodrigues que participaram da banca examinadora da qualificação, pelas sugestões, dicas e ensinamentos.

Aos professores e funcionários da UNESP, CAUNESP e UNIOESTE, que contribuíram de forma direta e indireta na minha formação.

Ao aluno de doutorado do CAUNESP, Bruno Sosa pela amizade, convívio, paciência, ensinamentos, ajuda e momentos de divertimento.

Ao Grupo Fish Reproduction, por todos ensinamentos.

Ao Grupo de Estudos e Manejo na Aquicultura (GEMAq), por ceder a estrutura para a realização das pesquisas e pelo suporte técnico.

Aos membros do GEMAq, Marta Cruz, Odair Souza e Robson Araújo, pelo apoio, convívio e paciência durante a realização dos trabalhos.

Aos amigos e colegas do GEMAq, pelo auxílio, convívio, ensinamentos e confraternizações.

Ao Evandro Bilha Moro, pela atenção, auxílio e por todas as horas de descontração em Jaboticabal - SP.

Ao pessoal da República Xicreti, por todos os momentos de descontração e ajuda em Jaboticabal – SP.

Ao seu Amazilio Consolini, Katita Robotini e Vinicius Robotini, pela amizade, convívio e apoio em Registro – SP.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

**MUITO OBRIGADO!**

## **BIOGRAFIA**

Ricácio Luan Marques Gomes, filho de Sônia Maria Marques Gomes e Risaldo Gomes da Silva, nasceu em Pesqueira – PE, no dia 06 de setembro de 1992.

Em agosto de 2010, ingressou no curso de Engenharia de Pesca da Universidade Federal Rural de Pernambuco, *campus* Serra Talhada. Em agosto de 2015, conclui a graduação obtendo título de Engenheiro de Pesca.

Em março de 2016, iniciou no curso de Pós-Graduação nível Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* Toledo, sendo que em fevereiro de 2018 obteve o título de Mestre.

Em março de 2018, iniciou o Doutorado em Aquicultura pelo Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, *campus* Jaboticabal. Em julho de 2021, obteve a qualificação. Em maio de 2022, submeteu-se à banca examinadora para a defesa da tese e obtenção de título de Doutor em Aquicultura.

## **APOIO FINANCEIRO**

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Processo n° 88882.433854/2019-1 pela concessão da bolsa. A BRF Ingredients pela disponibilização do ingrediente para o desenvolvimento do estudo e auxílio nas análises.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	x
LISTA DE ABREVIATURAS .....	xi
RESUMO .....	1
ABSTRACT .....	3
1.0 INTRODUÇÃO GERAL .....	5
1.1 Referência bibliográficas .....	7
2.0 OBJETIVOS .....	10
2.1 <i>Objetivo geral</i> .....	10
2.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	10
3.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	11
3.1 Mercado mundial de carne suína .....	11
3.2 Fígado suíno .....	11
3.3 Coprodutos agroindustriais gerados na suinocultura .....	12
3.4 Hidrolisados proteicos .....	12
3.5 Propriedades nutritivas, funcionais e composição nutricional dos hidrolisados proteicos: atratividade e palatabilidade, crescimento, imunomoduladores e metabolismo proteico .....	14
3.6 Sugestões para trabalhos futuros a curto e médio prazo .....	20
3.7 Referências bibliográficas .....	22
4.0 ARTIGO I .....	27
Artigo I: Hidrolisado proteicos em dietas para alevinos de tilápia-do-Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) .....	27
4.1 Resumo .....	28
4.2 Abstract .....	29
4.3 Introdução .....	30
4.4 Material e métodos .....	31
4.4.1 <i>Local e período</i> .....	31
4.4.2 <i>Peixes e condições experimentais</i> .....	31
4.4.3 <i>Qualidade da água</i> .....	31
4.4.4 <i>Dietas experimentais e manejo alimentar</i> .....	32
4.4.5 <i>Coleta de dados e desempenho produtivo</i> .....	34
4.4.6 <i>Análises de composição centesimal</i> .....	35
4.4.7 <i>Histomorfometria da fibra muscular, intestinal e hepática</i> .....	36
4.4.8 <i>Integridade hepática</i> .....	38
4.4.9 <i>Análise econômica</i> .....	39
4.4.10 <i>Análise estatística</i> .....	40
4.5 Resultados .....	40
4.6 Discussão .....	47
4.7 Conclusão .....	50
4.8 Referências bibliográficas .....	51
5.0 ARTIGO II .....	56
ARTIGO II: Atratividade e palatabilidade da proteína hidrolisada de fígado suíno em dietas para alevinos de dourado ( <i>Salminus brasiliensis</i> ) e tilápia-do-Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) .....	56
5.1 Resumo .....	57
5.2 Abstract .....	58

5.3 Introdução .....	59
5.4 Material e métodos .....	60
5.4.1 <i>Nota ética e delineamento experimental</i> .....	60
5.4.2 <i>Dietas experimentais</i> .....	64
5.4.3 <i>Análises químicas</i> .....	65
5.4.4 <i>Avaliação do índice de palatabilidade</i> .....	66
5.4.5 <i>Análise estatística</i> .....	67
5.5 Resultados .....	67
5.6 Discussão .....	69
5.7 Conclusão .....	71
5.8 Referências bibliográficas .....	72
6.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	76

## LISTA DE TABELAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

<b>Tabela 1.</b> Efeitos positivos do hidrolisado proteico na nutrição de peixes .....	15
<b>Tabela 2.</b> Composição nutricional dos hidrolisados .....	18

### ARTIGO I

#### **Hidrolisado proteico de fígado suíno em dietas para alevinos de tilápia-do-Nilo**

<b>Tabela 1.</b> Composição percentual, centesimal e custos das rações experimentais contendo diferentes níveis de inclusão de proteína hidrolisada de fígado suíno para alevinos de tilápia-do-Nilo .....	33
<b>Tabela 2.</b> Composição dos aminoácidos totais ( $\text{g.kg}^{-1}$ ) das dietas experimentais .....	36
<b>Tabela 3.</b> Lesões hepáticas detectadas em alevinos de tilápia-do-Nilo alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) .....	39
<b>Tabela 4.</b> Desempenho produtivo de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) ....	44
<b>Tabela 5.</b> Composição centesimal da carcaça de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) .....	45
<b>Tabela 6.</b> Frequência de distribuição das fibras musculares em três classes de diâmetros ( $<20 \mu\text{m}$ , entre $20$ e $50 \mu\text{m}$ e $>50 \mu\text{m}$ ) em alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) .....	45
<b>Tabela 7.</b> Histomorfometria do intestino médio e hepática em alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS).	45
<b>Tabela 8.</b> Lesões histopatológicas de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) ...	46
<b>Tabela 9.</b> Custo da produção de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) .....	46

### ARTIGO II

#### **Atratividade e palatabilidade da proteína hidrolisada de fígado suíno em dietas para alevinos de dourado (*Salminus brasiliensis*) e tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

<b>Tabela 1.</b> Composição percentual e centesimal das rações experimentais contendo diferentes níveis de inclusão de proteína hidrolisada de fígado suíno para alevinos de tilápia-do-Nilo .....	64
<b>Tabela 2.</b> Composição dos aminoácidos ( $\text{g.k}^{-1}$ ) das dietas experimentais .....	66
<b>Tabela 3.</b> Comportamento alimentar de alevinos de dourado e tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) .....	68

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

**Figura 1.** Fluxograma da produção de hidrolisado proteico .....14

### ARTIGO I

#### **Hidrolisado proteico de fígado suíno em dietas para alevinos de tilápia-do-Nilo**

**Figura 1.** Fotomicrografia de corte transversal da musculatura de alevinos de tilápia-do-Nilo (HE, objetiva de 10x) .....37

**Figura 2.** Fotomicrografia de corte transversal da parede do intestino médio de alevinos de tilápia-do-Nilo (HE, objetiva de 10x). A) Altura do vilos; B) Altura total dos vilos; C) Largura dos vilos .....

**Figura 3.** Fotomicrografia de corte transversal do tecido hepático de alevinos de tilápia-do-Nilo (HE, objetiva de 40x) .....38

**Figura 4.** Desempenho produtivo de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) ...41

**Figura 5.** Modelo gráfico das regressões polinomiais para o peso final, ganho em peso, conversão alimentar, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica e taxa de retenção energética aparente de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) .....42

**Figura 6.** Fotomicrografia de corte transversal do tecido hepático de alevinos de tilápia-do-Nilo (HE, objetiva de 40x). a) Necrose (estrela); B) Perda do limite celular (quadrado); C) Melanomacrófagos (seta); D) Congestão de sinusóides (círculo); E) Infiltração leucocitária (retângulo); F) Vacúolos citoplasmáticos característicos de esteatose hepática (seta pontilhada) .....47

### ARTIGO II

#### **Atratividade e palatabilidade da proteína hidrolisada de fígado suíno em dietas para alevinos de dourado (*Salminus brasiliensis*) e tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

**Figura 1.** Delineamento experimental .....63

## LISTA DE ABREVIATURAS

% – Porcentagem

(w) – Fator de Importância

( $\alpha$ ) – Escore

°C – Grau Celsius

$\mu\text{m}$  – Micrômetro

$\mu\text{m}^2$  – Micrômetro quadrado

ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal

ANOVA – Análise de Variância

AOAC – Association Official of Agricultural Chemists

CAA – Conversão Alimentar Aparente

CCK – Colecistocinina

CEUA – Comitê de ética no Uso de Animais

Cm – Centímetro

CS – Congestão de Sinusóides

ECA-I – Inibição da Enzima de Conversão da Angiotensina

ED – Energia Digestível

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

G – Grama

GEMAQ – Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura

H – Hora

HCL – Ácido Clorídrico

HE – Hematoxilina – Eosina

IFL – Inflamação dos Leucócitos

K<sup>+</sup> – Potássio

Kcal – Quilocaloria

Kg – Quilograma

L – Litro

Ln –Logarítimo Neperiano

Mg – Miligrama

Min – Minutos

MM – Melanomacrófago

Mm – Milímetro

N – Necrose

NA<sup>+</sup> – Sódio

NRC – National Research Council

PD – Proteína Digestível

PepT1 – Transportador de peptídeos 1

pH – Potencial Hidrogeniônico

PHFS – Proteína Hidrolisada de Fígado Suíno

PLC – Perda do Limite Celular

Σ– Sigma

VC – Vacualização Citoplasmática

## RESUMO

Ingredientes inovadores desenvolvidos por processos biotecnológicos como as proteínas hidrolisadas produzidas por meio da hidrólise enzimática a partir de coprodutos agroindustriais de origem animal propiciam peptídeos bioativos que exercem funções essenciais no metabolismo do animal. Foram realizados dois experimentos com o objetivo de avaliar níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) por meio do desempenho produtivo de alevinos de tilápia-do-Nilo e no comportamento alimentar dos alevinos de dourado e tilápia-do-Nilo. Para tanto, foram elaboradas seis dietas, sendo uma ração controle contendo farinha de peixe (FPE) e outras cinco dietas com níveis de inclusão da PHFS (1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0%), para os respectivos ensaios experimentais. No primeiro experimento, foram utilizados 480 alevinos de tilápia-do-Nilo com peso médio de  $(0,80 \pm 0,07 \text{ g})$ , distribuídos em 24 tanques (70 litros), em um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições. Peixes que receberam a suplementação de PHFS apresentaram maior sobrevivência ( $P < 0,05$ ) em comparação com os peixes alimentados com a dieta controle. Com base na regressão polinomial de segunda ordem, os melhores resultados de peso final, ganho em peso, conversão alimentar aparente e taxa de crescimento específico foram obtidos nos peixes que receberam as dietas contendo 2,02%; 2,91%; 2,91% e 2,31% de PHFS, respectivamente. Foram encontradas diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos para o peso final, ganho em peso, ganho em peso diário, taxa de crescimento específico, conversão alimentar aparente, custo da ração, custo do milheiro e receita líquida. Não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) para as variáveis de composição centesimal, crescimento muscular, tecido hepático, microvilosidade intestinal e custo de alevinos. Conclui-se, que a PHFS pode ser utilizado eficientemente pela tilápia-do-Nilo. Recomenda-se a inclusão de 2,91% de PHFS em dietas para a fase inicial de criação. No segundo experimento, foram utilizados 12 alevinos de tilápia-do-Nilo ( $2,80 \pm 0,17 \text{ g}$ ), e 12 alevinos de dourado ( $7,89 \pm 1,05 \text{ g}$ ). Para ambos os modelos biológicos, os peixes foram distribuídos em 12 aquários com volume de 10 litros, num delineamento experimental em quadrado latino com duas medidas repetidas (manhã e tarde). Os animais passaram por um período de adaptação e treinamento de dez dias para que os peixes se adaptassem a presença humana, para o registro do comportamento alimentar, quantificação de pelete até a saciedade aparente, e horários de alimentação e manejo dos aquários. Os peixes foram alimentados duas vezes

ao dia, para cada alimentação ao longo do dia foram fornecidos 20 peletes por peixe e o ensaio teve duração de seis dias. Em ambos os ensaios, foram observados os comportamentos alimentares referentes ao número de peletes consumidos, número de rejeição do pelete após a captura, número de aproximação sem haver a captura do pelete e tempo de captura do primeiro pelete (s). Foram estabelecidos um período de três minutos de filmagens para cada alimentação realizada com uma câmera digital. Não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) para os comportamentos alimentares. As dietas contendo PHFS proporcionam um índice de palatabilidade positivo para as respectivas espécies. Conclui-se que o uso da PHFS apresenta compostos químicos solúveis em água, atraindo os alevinos de dourado e tilápia-do-Nilo ao alimento, e a uma maior ingestão por parte dos animais. Recomenda-se a inclusão de 5% de PHFS para ambas as espécies.

**Palavras-chave:** Abordagens biotecnológicas; coprodutos agroindustriais; ingredientes inovadores; hidrólise enzimática; nutrição animal.

## ABSTRACT

Innovative ingredients developed by biotechnological processes such as hydrolyzed proteins produced through enzymatic hydrolysis from agro-industrial by-products of animal origin provide bioactive peptides that play essential roles in the animal's metabolism. Two experiments were carried out with the objective of evaluating increasing levels of swine liver hydrolysate protein (PHFS) through the productive performance of Nile tilapia fingerlings and on the feeding behavior of dourado and Nile tilapia fingerlings. For that, six diets were elaborated, being a control diet containing fish meal (FPE) and other five diets with PHFS inclusion levels (1.0; 2.0; 3.0; 4.0 and 5.0% ), for the respective experimental tests. In the first experiment, 480 Nile tilapia fingerlings with an average weight of  $(0.80 \pm 0.07 \text{ g})$  were distributed in 24 tanks (70 liters), in a completely randomized design with six treatments and four replications. Fish that received PHFS supplementation showed greater survival ( $P < 0.05$ ) compared to fish fed the control diet. Based on second-order polynomial regression, the best results for final weight, weight gain, apparent feed conversion and specific growth rate were obtained in fish that received diets containing 2.02%; 2.91%; 2.91% and 2.31% of PHFS, respectively. Differences ( $P < 0.05$ ) were found between treatments for final weight, weight gain, daily weight gain, specific growth rate, apparent feed conversion, feed cost, cost per thousand and net income. There were no differences ( $P > 0.05$ ) for the variables of proximate composition, muscle growth, liver tissue, intestinal microvilli and fingerling cost. It is concluded that PHFS can be used efficiently by Nile tilapia. The inclusion of 2.91% PHFS in diets for the initial rearing phase is recommended. In the second experiment, 12 Nile tilapia fingerlings ( $2.80 \pm 0.17 \text{ g}$ ) and 12 dourado fingerlings ( $7.89 \pm 1.05 \text{ g}$ ) were used. For both biological models, the fish were distributed in 12 aquariums with a volume of 10 liters, in a Latin square experimental design with two repeated measurements (morning and afternoon). The animals underwent a period of adaptation and training of ten days for the fish to adapt to human presence, to record feeding behavior, quantification of pellets until apparent satiety, and feeding schedules and aquarium management. The fish were fed twice a day, for each feeding throughout the day, 20 pellets were provided per fish and the trial lasted six days. In both trials, feeding behavior was observed regarding the number of pellets consumed, number of pellet rejection after capture, approximation number without pellet capture and time of capture

of the first pellet (s). A period of three minutes of filming was established for each feeding performed with a digital camera. No differences ( $P>0.05$ ) were observed for eating behaviors. Diets containing PHFS provide a positive palatability index for the respective species. It is concluded that the use of PHFS presents chemical compounds soluble in water, attracting the gold and Nile tilapia fingerlings to the food, and to a greater ingestion by the animals. The inclusion of 5% PHFS is recommended for both species.

**Keywords:** Biotechnological approaches; agro-industrial by-products; innovative ingredients; enzymatic hydrolysis; animal nutrition.

## 1.0 INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura é uma das grandes vertentes do setor agropecuário mundial, pois pode contribuir substancialmente na obtenção de alimentos funcionais para a saúde humana e no aspecto socioeconômico e ambiental (FAO, 2020). O crescimento da atividade aquícola faz com que a demanda pela produção de ingredientes com qualidade aumente proporcionalmente, a fim de maximizar o desempenho produtivo do animal, bem como, melhorar o valor nutritivo das dietas (Pastore et al., 2012).

É sabido que a farinha de peixe é o ingrediente proteico de origem animal mais utilizado na elaboração de rações para peixes e camarões marinhos, pelo fato de ser uma excelente fonte de nutrientes (NRC, 2011). As rações para peixes tropicais pouco/sequer usam este insumo.

Fontes proteicas obtidas de animais e plantas terrestres têm sido utilizado como ingredientes convencionais em rações para organismos aquáticos (Pastore et al., 2012). Entretanto, existem limitações quanto á inclusão desses componentes principalmente associados a composição nutricional, palatabilidade, digestibilidade, qualidade física, aparência física, presença de fatores antinutricionais e problemas no processamento (Rodrigues et al., 2013), o que compromete a elaboração e formulação de rações.

Neste cenário, uma alternativa promissora para elaboração de dietas aquícolas com a utilização de ingredientes ricos em proteínas é a produção de hidrolisados proteicos a partir de resíduos de coprodutos agroindustriais de suínos (Aristoy & Toldrá, 2011). A produção brasileira de suínos ocupa a quarta posição no ranking mundial de produção (ABPA, 2021), gerando resíduos oriundos das etapas de abate e processamento que podem ser transformados por meio do emprego de biotecnologia através da hidrólise enzimática que catalisam hidroliticamente as ligações peptídicas da molécula de proteína melhorando a disponibilidade de nutrientes, e conseqüentemente o valor nutricional das matérias-primas (Martínez-Alvarez et al., 2015).

A sustentabilidade do crescimento da cadeia produtiva da piscicultura depende de estratégias nutricionais que visam buscar ingredientes alternativos com alta qualidade nutricional, que atendam as exigências nutricionais das espécies, que sejam economicamente viáveis, maximizando o desempenho produtivo e mitigando o impacto ambiental (Cyrino et al., 2010).

O fígado suíno é um ingrediente potencial que apresenta características desejáveis devido a sua alta qualidade biológica como fonte de proteínas, aminoácidos, minerais e

vitaminas (Nollet & Toldrá, 2011). Sendo assim, os peixes apresentam uma excelente oportunidade para destino do produto, pois anualmente são produzidos  $82 \times 10^6$  t no mundo (FAO, 2020) e 841.005 t no Brasil (PEIXE BR, 2022), o que demandam cerca de  $51,36 \times 10^6$  t de ração a nível global (ALLTECH, 2022), e  $1,35 \times 10^6$  t a nível nacional (SINDIRAÇÕES, 2022).

Dentre as espécies de peixes, que apresenta maior destaque no Brasil, é a tilápia-do-Nilo, com 534.005 t em 2021, é a espécie mais criada e que demanda a maior quantidade de ração (PEIXE BR, 2022). Outras nativas, no entanto, não são muito produzidas, como é o caso do *Salminus brasiliensis*, popularmente conhecido como dourado, peixe carnívoro, nativo das bacias dos rios Paraná, Paraguai, Uruguai, Alto rio Chaparé e Mamoré (Flora et al., 2010). Mesmo não apresentando alta quantidade de produção, é muito apreciado pelo sabor de sua carne (Flora et al., 2010; Weingartner & Zaniboni-Filho, 2013), sendo parte dos motivos da baixa produtividade da espécie ausência de tecnologia de produção, tais como ausência de ração específica para sua criação.

Apesar de vários avanços recentes na nutrição da tilápia-do-Nilo (Carvalho et al., 2020; Toyas-Vargas et al., 2020; Dos Santos Cardoso et al., 2021; Romaneli et al., 2021) e algumas para o dourado (Braga et al., 2008; Borghesi et al., 2009; Moro et al., 2016; Moro et al., 2017), existe ainda uma lacuna de informações que avaliam a inclusão de novos ingredientes com base em proteína hidrolisada de coprodutos de frigoríficos, tais como o de fígado suíno. Dessa maneira, estudos visam avaliar as respostas fisiológicas, comportamentais e de desempenho zootécnico diante de dietas que contém proteína hidrolisada de fígado suíno, são necessários para compreender se este ingrediente pode ser utilizado e conseqüentemente, contribuir para o aumento da produtividade e da qualidade dos pescados, auxiliando no fortalecimento da cadeia produtiva da piscicultura.

## 1.1 Referências bibliográficas

- ABPA. **Associação Brasileira de Proteína Animal**. Relatórios Anual 2020. São Paulo: ABPA, p. 75, 2021. Disponível em: <http://abpa-br.org/relatorios/>.
- ALLTECH. **Perspectivas do setor agroalimentar**, p. 11, 2022.
- ARISTOY, M.C.; TOLDRÁ, F.L. **Handbook of analysis of edible animal by-products**. NOLLET, M.L., TOLDRÁ, F (Eds.), New York, CRC Press. Essential Amino Acids, p. 123-135, 2011.
- BORGHESI, R.; DAIRIKI, J.K.; CYRINO, J.E.P. Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for dourado *Salminus brasiliensis*. **Aquaculture Nutrition**, v. 15, p. 453–458, 2009.
- BRAGA, L.G.T.; BORGHESI, R.; CYRINO, J.E. Apparent digestibility of ingredients in diets for *Salminus brasiliensis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 2, p. 271-274, 2008.
- CARVALHO, K.V.; LUCZINSKI, T.G.; BOSOCOLO, W.R.; FREITAS, J.M.A.; SIGNOR, A. Poultry byproducts and swine liver used in diets for Nile tilapia Juveniles. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 48, n. 5, p. 895–900, 2020.
- CYRINO, J.E.P.; BICUDO, A.J.A.; SADO, R.Y.; BORGHESI, R.; DAIRIKI, J.K. A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 68-87, 2010.
- DOS SANTOS CARDOSO, M.; GODOY, A.C.; OXFORD, J.H.; RODRIGUES, R.; DOS SANTOS CARDOSO, M.; BITTENCOURT, F.; SIGNOR, A.; BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A. Apparent digestibility of protein hydrolysates from chicken and swine slaughter residues for Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 530, p. 1-8, 2021.
- FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**, Rome, p. 224, 2020.
- FLORA, M.A.D.; MASCHKE, F.; FERREIRA, C.C.; PEDRON, F.A. Biologia e cultivo do dourado (*Salminus brasiliensis*). **Acta Veterinária Brasilicasa**, v. 4, n. 1, p. 7-14, 2010.
- MORO, G.V.; SILVA, T.S.C.; ZANON, R.B.; CYRINO, J.E.P. Starch and lipid in diets for dourado *Salminus brasiliensis* (Cuvier 1816): growth, nutrient utilization and digestive enzymes. **Aquaculture Nutrition**, v. 22, p. 890–898, 2016.

MORO, G.V.; SIVA, T.S.C.; CYRINO, J.E.P. Feed processing affected the digestibility carbohydrate sources for dourado *Salminus brasiliensis*. **Aquaculture Nutrition**, p. 40-45, 2017.

MULLEN, A.M.; ÁLVAREZ, C.; ZEUGOLIS, D.I.; HENCHION, M.; O'NEILL, E.; DRUMMOND, L. Alternative uses for co-products: Harnessing the potential of valuable compounds from meat processing chains. **Meat Science**, v.132, p. 90-98, 2017.

NRC. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. The national academies press, Washington, p. 379, 2011.

PASTORE, S.C.G.; GAIOTTO, J.R.; RIBEIRO, F.A.S.; NUNES, A.J.P. Formulações de rações e boas práticas de fabricação. In: Fracalossi, D.M. e Cyrino, J.E.P. (eds), **NUTRIAQUA – Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. 1ª ed. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, cap. 16, p. 295-346, 2012.

PEIXE BR. Associação Brasileira da Piscicultura. **Anuário 2022**. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuário-2021/>. Acesso em: 23 de fevereiro de 2022.

RODRIGUES, A.P.O.; BERGAMIN, G.T.; DOS SANTOS, V.R.V. Nutrição e alimentação de peixes – in: Rodrigues APO, Lima AF, Alves AL, Rosa D K, Torati LS, Dos Santos VRV. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. (p.440). Brasília, Distrito Federal. 1ª ed. Brasília, DF: Embrapa, cap. 6, p. 117-214, 2013.

ROMANELI, R.S.; NASCIMENTO, T.M.T.; GOUS, R.M.; REIS, M.P.; GOUS, R.M.; REIS, M.P.; MANSANO, C.F.M.; KHAN, K.U.; SAKOMURA, N.K.; FERNANDES, J.B.K. Response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to lysine: Performance, body composition, maintenance and efficiency of utilization. **Aquaculture**, v.538, p. 1–10, 2021.

SINDIRAÇÕES. **Boletim informativo do setor**. 2022. Disponível em: <https://sindiracoes.org.br>. Acesso em 02 de Junho de 2022.

TOLDRÁ, F.; AISTOY, M.C.; MORA, L.; REIG, M. Innovations in value-addition of edible meat by-products. **Meat Science**, v. 92, n. 3, p. 290-296, 2012.

TOYES-VARGAS, E.A.; PARRISH, C.C.; VIANA, M.T.; CARREÓN-PALAU, L.; MAGALLÓN-SERVÍN, P.; MAGALLÓN-BARAJAS, F.J. Replacement of fish oil with camelina (*Camelina sativa*) oil in diets for juvenile tilapia (var. GIFT *Oreochromis niloticus*) and its effect on growth, feed utilization and muscle lipid composition. **Aquaculture**, v. 523, p. 1–41, 2020.

WEINGARTNER, M.; ZANIBONI-FILHO, E. Biologia e cultivo de dourado. In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L.C. (Ed.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria, RS: Editora da Universidade Federal de Santa Maria, v.2, cap. 9, p. 245-282, 2013.

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a inclusão de níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno sobre aspectos da atrato-palatabilidade em dietas para alevinos de dourado (*Salminus brasiliensis*) e tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), e no desempenho produtivo de alevinos de tilápia-do-Nilo.

### **2.2 Objetivos Específicos**

#### **Artigo I: Hidrolisado proteico de fígado suíno em dietas para alevinos de tilápia-do-Nilo**

- Avaliar o desempenho produtivo de alevinos de tilápia-do-Nilo com níveis de inclusão de proteína hidrolisada de fígado suíno;
- Analisar a composição centesimal de alevinos, submetidos a dietas com distintos níveis de hidrolisado proteico;
- Estimar o nível de inclusão de proteína hidrolisada de fígado suíno que melhor expressa o desempenho zootécnico de alevinos de tilápia-do-Nilo;
- Investigar possíveis influências e alterações histomorfométricas causadas pela inclusão dos hidrolisados nas dietas sobre o crescimento muscular, células hepáticas do fígado e microvilosidades intestinais;
- Verificar a integridade hepática dos alevinos alimentados com hidrolisado proteico;
- Examinar a viabilidade econômica da proteína hidrolisada de fígado suíno com variáveis percentuais na alimentação de alevinos de tilápia-do-Nilo.

#### **Artigo II: Atratividade e palatabilidade da proteína hidrolisada de fígado suíno em dietas para alevinos de dourado (*Salminus brasiliensis*) e tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

- Caracterizar o comportamento alimentar de alevinos de tilápia-do-Nilo em relação aos parâmetros de atratividade e palatabilidade.

### **3.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Mercado mundial de carne suína**

O Brasil está em quarto lugar mundial em produção e em exportação de carne suína (ABPA, 2021), isso se deve ao desenvolvimento da cadeia produtiva da suinocultura por meio de uma criação tecnificada e industrial, e avanços em elementos como sanidade, nutrição, genética, bom manejo de granja e produção integrada.

Devido a esses fatores, a suinocultura vem se destacando e crescendo no Brasil nas últimas décadas e contribuindo para o aumento da proteína de origem animal. O país tem atendido a demanda interna de carne suína, e conquistado o mercado internacional por meio de exportações em grandes volumes, gerando lucratividade para o setor agropecuário (ABPA, 2021). Esta atividade compete com outras cadeias produtivas como a avicultura, bovinocultura e piscicultura no fornecimento de alimento de origem animal.

A carne suína apresenta um alto valor biológica além de ser saborosa. A parte muscular é a porção do animal mais consumida, e a utilização de coprodutos tais como vísceras, carcaças e outros órgãos internos são usados como alimento, podendo ser consideradas iguarias de altos preços, bem como, material residual a ser descartado (Toldrá et al., 2012).

Dentro do cenário mundial, a China é o maior produtor de carne suína, seguida pela União Europeia, Estados Unidos, Brasil e Rússia (ABPA, 2021). A China também ocupa o primeiro lugar na importação do respectivo tecido muscular.

#### **3.2 Fígado suíno**

O fígado suíno apresenta uma composição química com um conteúdo nutricional rico em proteínas, aminoácidos, vitaminas e minerais (Nollet & Toldrá, 2011). Existem variações nos macros e micronutrientes presentes na composição química do fígado suíno podendo ser atribuído a fatores como sexo, idade, raça, tempo de crescimento do animal a ser abatido, clima e ração oferecida (Honikel, 2011).

Esta matéria-prima pode ser utilizado na alimentação humana e animal (Seong et al., 2015). Na aquicultura, alguns estudos relatam a obtenção de hidrolisado proteico a partir do fígado suíno, demonstrando que a inclusão deste ingrediente alternativo em dietas apresenta uma alta digestibilidade (Lorenz et al., 2018), e benefícios ao crescimento dos animais (Lewandowski et al., 2013; Dieterich, 2014; Lorenz et al., 2021).

### **3.3 Coprodutos agroindustriais gerados na suinocultura**

A suinocultura brasileira está em uma crescente expansão na produção de carne com boa qualidade nutricional. Contudo, esse crescimento na cadeia produtiva gera coprodutos oriundos das etapas de abate e processamento (Mullen et al., 2017).

Em geral, esses produtos gerados pela industrialização da carne suína são constituídos por sangue, pele, vísceras, ossos e gordura (Tápparo et al., 2019). Estima-se que o volume do coproduto para esta atividade seja de 48% em relação ao peso do animal (Villamil et al., 2017; Ferreira et al., 2018). Estes coprodutos têm levantado discussões quanto ao risco de contaminação ambiental (Kunz et al., 2012).

Neste sentido, nos últimos anos, por meio da aplicação de ciência, tecnologia e inovação, a indústria de carnes vem desenvolvendo a transformação de resíduos em produtos que agregam valor e aumentam a rentabilidade econômica da cadeia produtiva (Toldrá et al., 2012). Esses produtos além de apresentarem alta qualidade nutricional (Aristoy & Toldrá, 2011), também apresentam ingredientes funcionais (Toldrá et al., 2016), algo que instiga o interesse industrial.

Dentre as biotecnologias empregadas a hidrólise enzimática vem destacando, pois é uma técnica que envolve a utilização de enzimas proteolíticas, vegetais ou de origem microbiana (Korhonen, 2009), as quais catalisam hidroliticamente as ligações peptídicas da molécula de proteína para melhorar o valor nutricional da matéria-prima (Martínez-Alvarez et al., 2015).

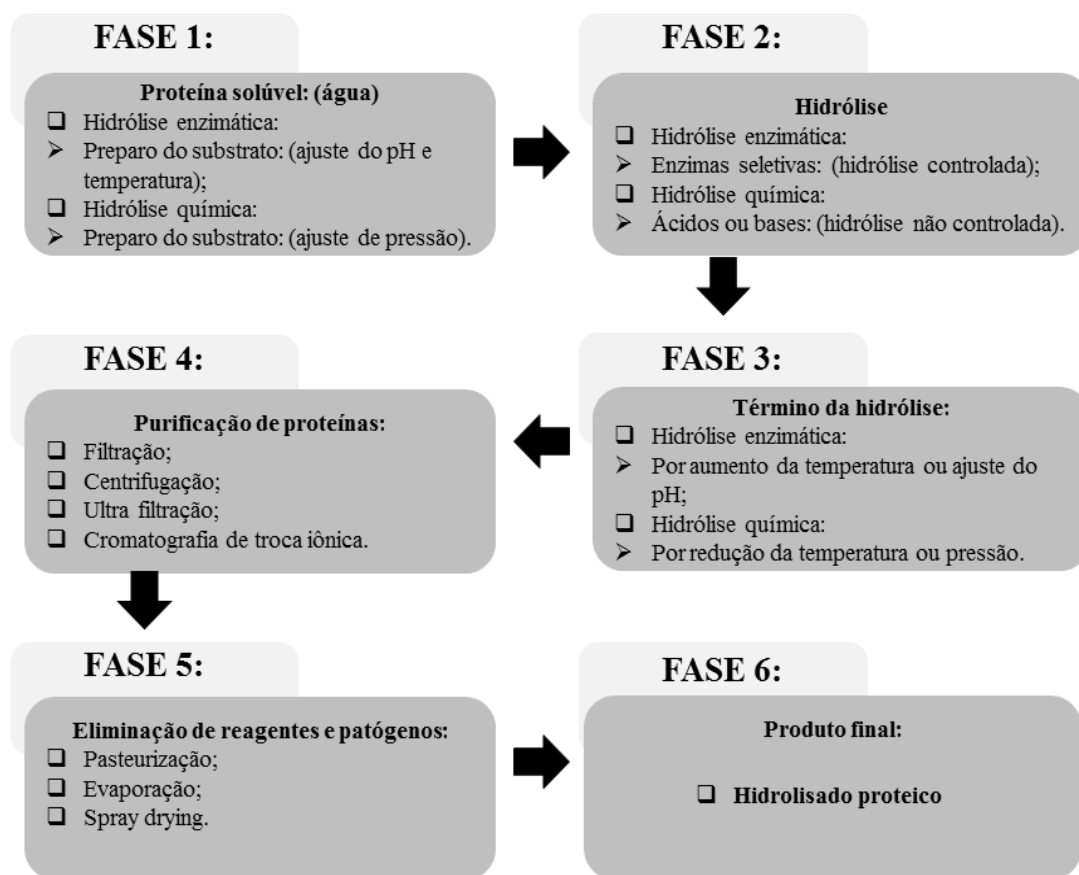
### **3.4 Hidrolisados proteicos**

O hidrolisado proteico consiste no fracionamento de moléculas de proteínas em unidades peptídicas de diversos tamanhos, que podem ser obtidas a partir da hidrólise química (ácida e alcalina) e hidrólise enzimática com adição de enzimas (Pasupeleti & Braun, 2010). O processo de hidrólise enzimática é o mais empregado devido ao seu valor

nutritivo (Furlan & Oetterer 2002). Esta reação química que ocorre na estrutura da proteína permite o surgimento de aminoácidos livres e compostos peptídicos que podem ser facilmente empregados na nutrição animal e humana (Mullen et al., 2017).

Na hidrólise ácida e alcalina, o processo ocorre sob condições não brandas gerando produtos degradados, o que implica em um menor valor nutritivo do alimento, o que resulta em um enfraquecimento nas propriedades físicas, químicas e nutricionais, ocasionando a rejeição da ingestão do mesmo (Holanda, 2004; Srichanum et al., 2014). Em princípio, a hidrólise enzimática apresenta vantagem para o processo de clivagem química das proteínas pela sua rapidez e praticidade, por utilizar menores concentrações de reagentes, assim como, controlar o grau de hidrólise permitindo a conservação das suas propriedades nutricionais e funcionais para o uso na nutrição (Toldrá et al., 2016).

O processo da produção de um hidrolisado proteico consiste basicamente em seis diferentes fases (Figura 1), aos quais compreendem desde a preparação da proteína solúvel até no produto final (Pasupuleti & Braun, 2010) sendo utilizadas pHmetro digital, termômetro digital para alimentos tipo espeto e balança semi-analítica para pesagem dos reagentes (Maluf 2020). Geralmente as matérias-primas são produzidas em um processador de alimentos (trituradas), posteriormente encaminhadas para reator industrial de aço inox ou agitador mecânico, banho termostaticado e por fim os hidrolisados obtidos passam por um processo de filtração em peneira de 0,5 e 1,0 mm (Dieterich, 2014; Silva et al., 2017).



**Figura 1.** Fluxograma da produção de hidrolisado proteico (Adaptado de Pasupuleti & Braun, 2010).  
Fonte: Ricácio Gomes.

### 3.5 Propriedades nutritivas, funcionais e composição nutricional dos hidrolisados proteicos: atratividade e palatabilidade, crescimento e imunomoduladores

Nos últimos anos, a aquicultura faz uso parcial e/ou total de proteínas hidrolisadas como fonte proteica em substituição à farinha de peixe, em que evidencia melhor êxito na absorção dos nutrientes das dietas, refletindo no melhor crescimento e nas respostas fisiológicas de diferentes espécies de peixes (Tabela 1).

A composição da ração das proteínas hidrolisadas é variável (Tabela 2), dispendo de proteína (8,80 a 66,50%), lipídios (1,32 a 15,40%), matéria mineral (4,52 a 11,60%) e umidade (35,70 a 96,00%) em sua composição química.

**Tabela 1.** Efeitos positivos do hidrolisado proteico na nutrição de peixes.

Hidrolisados	Espécie	Dietas - níveis de inclusão	Duração (dias)	Resultado	Bibliografia
Hidrolisado proteico de fígado suíno e resíduo de processamento de tilápia ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	Pintado real ( <i>Pseudoplatystoma sp</i> )	Dieta controle, 20 % de hidrolisado de fígado suíno com Alcalase®, 20% de hidrolisado de fígado suíno com Brauzin®, 20% de coproduto de tilápia com Alcalase® e 20% de coproduto de tilápia com Brauzin®	50	A inclusão de 20% de ambos hidrolisados melhorou a conversão alimentar aparente e a taxa de crescimento específico	Dieterich, 2014
Hidrolisado proteico comercial	Abalone ( <i>Haliotis midae</i> )	Duas dietas com alto e baixo nível de silagem de truta arco-íris, duas dietas com alto e baixo nível de hidrolisado comercial (ACTIPAL HP1)	153	Melhora no crescimento e na saúde	Goosen et al., 2014
Hidrolisado proteico de fígado suíno e de tilápia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) com enzimas endógenas: alcalase e papaína	Larvas de jundiá ( <i>Rhamdia voluezi</i> ) e mandi ( <i>Pimelodus bretsikii</i> )	Dieta basal sem inclusão de hidrolisado (CO), 20,0% de inclusão de hidrolisado de fígado suíno com alcalase (FA), 20,0% de inclusão de hidrolisado de fígado suíno com papaína, 20,0% de inclusão de hidrolisado de tilápia com alcalase (TA) e 20,0% de inclusão de hidrolisado de tilápia com papaína (TP).	30	Ambos hidrolisados podem ser um ingrediente alternativo à farinha de peixe / Não promoveu prejuízos ao crescimento animal	Lewandowski et al., 2014

Hidrolisado proteico de atum amarelo ( <i>Thunnus albacares</i> )	Estuário Persa ( <i>Acipenser pessions</i> )	Controle (Farinha de peixe) e níveis crescentes de hidrolisados (10,0; 25,0 e 50,0%)	45	Melhora o crescimento e o consumo de ração	Ovissipour et al., 2014
Hidrolisado proteico de subproduto da sardinha ( <i>Sardinella brasiliensis</i> )	Jundiá ( <i>Rhamdia quelen</i> )	Controle; hidrolisado de músculo (5,00; 10,00 e 25,0%) e hidrolisado de víscera (5,0; 10,0 e 25,0%)	ND	Melhora o aproveitamento metabólico: redução da excreção da amônia	Venturin et al., 2016
Hidrolisado proteico de camarão branco do Pacífico ( <i>Litopenaeus vannamei</i> )	Bijupirá ( <i>Rachycentron canadum</i> )	Controle; hidrolisado (6,0; 12,0 e 18,0%)	30	A inclusão de 12% do hidrolisado proteico pode ser utilizado sem comprometer os parâmetros zootécnicos	Costa-Bomfim et al., 2017
Hidrolisado proteico de resíduos da filetagem de tilápias ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	Tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	0,0; 2,0; 4,0, 6,0 e 8,0%	ND	Elevados coeficiente de digestibilidade para proteína bruta e energia bruta / Não afeta o desempenho produtivo	Sary et al., 2017
Hidrolisado proteico de subproduto de tilápia ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	Tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	0,0; 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0%	40	Alta digestibilidade / Crescimento das fibras musculares / A inclusão de 4,75% melhora o peso, ganho em peso e taxa de eficiência proteica	Silva et al., 2017
Hidrolisado proteico de camarão branco do Pacífico ( <i>Litopenaeus vannamei</i> )	Robalo europeu ( <i>Dicentrarchus labrax</i> )	Farinha de peixe (5,0; 15,0 e 20%); 5,0% de farinha de peixe suplementada com 5,0% de hidrolisado; e 15,0% de farinha de peixe mais 5,0% de hidrolisado	110	Benefícios imunomoduladores / Promove e melhora a saúde na prevenção de doenças ocasionadas por <i>Vibrio pelagius</i>	Gisbert et al., 2018

Hidrolisados cárneos de aves e suínos	Tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	5,0% de farinha de peixe; 5,0% de proteína hidrolisada de frngo; 5,0% de proteína hidrolisada de fígado suíno; 5,0% proteín hidrolisada de penas	8	A proteína hidrolisada de frango aumentou o índice de palatabilidade, o consumo de peletes, proporcionou o menor número de rejeições e menor número de aproximação sem captura do pelete	Alves et al., 2019
Hidrolisado proteico de resíduos da filetagem de tilápia ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	Tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	0,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0%	30	A inclusão de 5% melhora o desempenho / Ambas as dietas melhoraram a resistência dos peixes no estresse por exposição ao ar	Farias, 2019
Hidrolisado proteico de aves e suínos aminEUA Tilápia®	Tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	0,00; 0,30; 0,60; 0,90; 1,20 e 1,50%	45	A inclusão de 0,60% de hidrolisado proteico de aves e suínos em rações para larvas de tilápia, é o nível ideal de concentração para ganho em peso e comprimento, e boa resposta a resistência ao estresse por exposição ao ar	Peron et al., 2020
Hidrolisado proteico de frango	Tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 e 6,0%	30	A inclusão de PHF não prejudicou a performance produtiva dos alevinos de Tilápia do Nilo em níveis até 6,0% deste produto nas dietas. Recomenda-se a utilização de 3,0% de PHF para melhor ganho em peso dos animais	Rocha et al., 2021

---

ND= não determinado.

**Tabela 2.** Composição da ração dos hidrolisados.

Hidrolisados	Espécie	Dieta e níveis de inclusão	Composição da ração dos hidrolisados (%)				Bibliografia
			PB	EE	MM	UM	
Hidrolisado de peixe	Salmão do Atlântico ( <i>Salmo salar</i> )	5% de HPP	38,35	3,83	6,72	94,50	Resfie et al., 2004
		10% de HPP	38,61	3,84	6,27	94,68	
		15% de HPP	38,43	3,76	5,86	94,37	
Hidrolisado proteico de escamudo-do-alaska ( <i>Theragra chalcogramma</i> )	Linguado azeitona ( <i>Paralichthys olivaceus</i> )	UF1	46,70	9,87	10,09	*****	Zheng et al., 2012
		UF2	46,92	9,48	10,39	*****	
		NUF	46,26	9,83	10,17	*****	
Hidrolisado de víscera de bonito-litrado ( <i>Skipjack tuna</i> )	Robalo asiático ( <i>Lates calcarifer</i> )	40% de HPP	65,70	3,60	8,30	*****	Chotikachinda et al., 2013
		60% de HPP	66,50	3,40	7,30	*****	
Hidrolisado de resíduos cárneos	Surubim do Iguazu ( <i>Steindachneridion melnodermatum</i> )	HPFS	14,80	1,32	5,59	73,69	Lewandowski et al., 2013
		HPT	8,80	13,39	4,52	71,51	
		HPS	12,21	1,55	5,21	76,10	
		HPK	44,10	2,30	10,50	56,10	
Hidrolisado de subprodutos de camarão e peixe	Dourada ( <i>Red sea bream</i> )	HPC	63,40	11,20	10,50	96,00	Bui et al., 2014
		HPT	71,20	15,40	4,80	95,00	
Hidrolisado proteico de resíduo de tilápia e sardinha	Tilápia-do-Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	1% de HPP	29,73	3,70	*****	*****	Rocha, 2014
		2% de HPP	29,73	3,81	*****	*****	
		3% de HPP	29,73	3,92	*****	*****	
		4% de HPP	29,73	4,03	*****	*****	
Hidrolisado proteico de resíduo de atum fresco e krill ( <i>Euphasia superba</i> )	Dourada ( <i>Red sea bream</i> ) e linguado azeitona ( <i>Paralichthys olivaceus</i> )	<i>Red seabream</i> – HPP	44,80	1,60	11,60	58,20	Khosravi et al., 2015
		HPK					
		<i>Paralichthys olivaceus</i> – HPP	22,00	2,60	7,10	35,70	
		HPK					

Hidrolisado proteico de coproduto de sardinha ( <i>Sardinella</i> sp.)	Jundiá ( <i>Rhamdia quelen</i> )	HPFSM	85,50	2,00	8,00	93,28	Fabregat et al., 2016
		HPFIM	77,00	2,03	3,30	35,08	
Hidrolisado proteico de sardinha ( <i>Sardinella</i> sp.)	Jundiá ( <i>Rhamdia quelen</i> )	HPFSM	85,50	2,00	8,00	93,28	Venturin et al., 2016
		HPFVÍS	61,40	1,69	11,30	90,40	
Hidrolisado de fígado suíno	Dourado ( <i>Salminus brasiliensis</i> )	7% de HPFS	44,82	7,30	10,97	94,58	Lorenz, 2017
		14% de HPFS	44,21	8,33	10,49	94,80	
		21% de HPFS	43,83	9,97	11,03	94,92	
		28% de HPFS	44,60	9,65	12,08	89,10	
		2% de HPP	39,39	*****	13,99	*****	
Hidrolisado proteico de subproduto de sardinha ( <i>Sardinella</i> sp.)	Jundiá ( <i>Rhamdia quelen</i> )	5% de HPP	39,52	*****	13,16	*****	Há et al., 2019
		10% de HPP	39,83	*****	11,83	*****	

PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; MM = matéria mineral; UM = umidade; HPP = hidrolisado de proteína de peixe; UF1 =hidrolisado ultrafiltrado; UF2= hidrolisado ultrafiltrado; HPFS =hidrolisado de proteína de fígado suíno; HPT = hidrolisado de proteína de tilápia; HPS = hidrolisado de proteína de sardinha; HPK =hidrolisado de proteína de krill; HPC = hidrolisado de proteína de camarão; HPFSM =hidrolisado de proteína de fração solúvel músculo; HPFSIM = hidrolisado de proteína fração insolúvel músculo; HPFVÍSC = hidrolisado proteico de fração de vísceras.

### 3.6 Sugestões para trabalhos futuros a curto e médio prazo

Os coprodutos agroindustriais representam matéria-prima que podem ser transformadas em produtos que agregam valor devido a sua qualidade nutricional com elevado teor de proteínas, contemplando um perfil de aminoácidos essenciais, entre outras substâncias orgânicas.

Através do processo biotecnológico, as proteínas presentes nestes resíduos do processamento podem ser catalisadas em unidades peptídicas de diversos tamanhos, por meio da hidrólise química (alcalina ou ácida) e enzimática.

A hidrólise enzimática é uma técnica que proporciona melhor disponibilidade dos nutrientes permitindo uma elevada qualidade nutricional e funcional da matéria-prima, assim como, características organolépticas agradáveis contribuindo para uma melhor assimilação dos nutrientes pelos animais.

As proteínas hidrolisadas são um ingrediente chave para a elaboração de dietas específicas para organismos aquáticos, e mais estudos devem ser realizados com esses produtos, considerando que ainda existem gargalos referentes ao entendimento sobre o efeito desses hidrolisados sobre a fisiologia dos peixes, bem como, técnicas de produção e viabilidade econômica quanto ao seu uso. Dessa maneira, para a elaboração de pesquisas futuras, recomenda-se que sejam realizadas:

- Estudos sobre a viabilidade econômica para se produzir os hidrolisados proteicos em escala industrial;
- Avaliação dos diferentes métodos enzimáticos, assim como, a escolha da proteína específica, visto que, cada enzima apresenta uma especificidade quanto as ligações peptídicas produzindo diferentes composições aminoacídicas e propriedades funcionais;
- Realização de testes sobre as condições dos processos dos hidrolisados enzimáticos: temperatura, pH, tempo de hidrólise, tipo de substrato e relação enzima/substrato;
- Determinação da biodisponibilidade de peptídeos: tamanho, peso molecular, sequência de aminoácidos, carga, estabilidade e degradação enzimática;
- Investigação de possíveis estratégias na incorporação em dietas para proteger os peptídeos e melhorar a absorção de peptídeos no trato gastrointestinal dos peixes no âmbito: microencapsulação e nanoencapsulação;

- Recomenda-se o desenvolvimento de pesquisas quanto ao uso desse ingrediente na nutrição dos peixes, levando em consideração aspectos relacionados ao tempo de período experimental adequado para esclarecer a atuação dos hidrolisados no metabolismo e fisiologia das espécies, estudos para determinar os níveis de inclusão dos mesmos em diferentes fases de criação dos animais e também nos diferentes sistemas de cultivo.

### 3.7 Referências Bibliográficas

- ABPA. **Associação Brasileira de Proteína Animal**. Relatórios Anual 2020. São Paulo: ABPA, p. 75, 2021. Disponível em: <http://abpa-br.org/relatorios/>.
- ALVES D.R.S.; OLIVEIRA, S.R.; LUCZINSKI, T.G.; PAULO, I.G.P.; BOSCOLO, W.R.; BITTENCOURT, F.; SIGNOR, A. Palatability of protein hydrolysates from industrial byproducts for Nile tilapia juveniles. **Animals**, v. 9, p. 1-11.
- ARISTOY, M.C.; TOLDRÁ, F.L. **Handbook of analysis of edible animal by-products**. NOLLET, M.L., TOLDRÁ, F (Eds.), New York, CRC Press. Essential Amino Acids, p. 123-135, 2011.
- BUI, H.T.D.; KHOSRAVI, S.; FOURNIER, V.; HERAULT, M.; LEE, K.J. Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. **Aquaculture**, p. 11-16, 2014.
- CHOTIKACHINDA, R.; TANTIKITTI, C.; BENJAKUL, S.; RUSTAD, T.; KUMARNSTI, E. Production of protein hydrolysate from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) viscera as feeding attractants for Asian seabass (*Lates calcarifer*). **Aquaculture Nutrition**, v. 19, p. 773–784, 2013.
- COSTA-BOMFIM, C.N.; SILVA, V.A.; BEZERRA, R.S.; DRUZIAM, J.I.; CAVALLI, R.O. Growth, feed efficiency and body composition of juvenile cobia (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) fed increasing dietary levels of shrimp protein hydrolysate. **Aquaculture Research**, p. 1-8, 2017.
- DIETERICH, FABIANA. Desenvolvimento, avaliação físico-química e biológica de hidrolisado proteico de resíduos agroindustriais para surubim. Trabalho de conclusão de curso (Doutorado). Universidade Estadual Paulista (Centro de Aquicultura). Jaboticabal, São Paulo, p. 74, 2014.
- FABREGAT, T.E.H.P.; WOSNIAK, B.; GONÇALVES, A.F.N.; HÁ, N.; SKOROSKI, E.; PESSATTI M.L. 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**, v. 68, p. 1713–1720, 2016.
- FARIAS, A.C.A. Digestibilidade aparente do hidrolisado proteico de resíduos de filetagem de tilápia e sua inclusão em rações para pós larvas de tilápia do Nilo. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de

Engenharias e Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca. Toledo, Paraná, p. 19, 2019.

FERREIRA, A.; KUNH, S.S.; CREMONEZ, P.A.; DIETER, J.; TELEKEN, J.G.; SAMPAIO, S.C.; KUNH, P.D. Brazilian poultry activity waste: Destinations and energetic potential. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 81, p. 3081-3089, 2018.

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

GISBERT, E.; FOURNIER, V.; SOLOVYEV, M.; SKALLI, A.; ANDREE, K.B. Diets containing shrimp protein hydrolysates provided protection to European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) affected by a *Vibrio pelagius* natural infection outbreak. **Aquaculture**, v. 495, p. 136–143, 2018.

GOOSEN, N.J.; WET, L.F.; GÖGENS, J.F. The effects of protein hydrolysates on the immunity and growth of the abalone *Haliotis midae*. **Aquaculture**, v. 428-429, p. 243-248, 2014.

HA, N.; JESUS, G.F.A.; GONÇALVES, A.F.N.; DE OLIVEIRA, N.S.; SUGAI, J.K.; PESSATTI, M.L. Sardine (*Sardinella spp.*) protein hydrolysate as growth promoter in South American catfish (*Rhamdia quelen*) feeding: Productive performance, digestive enzymes activity, morphometry and intestinal microbiology. **Aquaculture**, v. 500, p. 99–106, 2019.

HOLANDA, H.D. Hidrólise enzimática do resíduo do camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) e caracterização dos subprodutos. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo: [s.n], 2004.

HONIKEL, K.O. **Handbook of analysis of edible animal byproduct**. Boca Raton, FL, Usa: Crc Press. Chapter Composition and Calories. p. 105-121, 2011.

Khosravi S, Rahimnejad S, Herault M, Fournier V, Lee C, Bui HTD, Jeong J, Lee K (2015) Effects of protein hydrolysates supplementation in low fish meal diets on growth performance, innate immunity and disease resistance of red sea bream *Pagrus major*. *Fish & Shellfish Immunology* **45**: 858-868.

KORHONEM, H. Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. **Journal of Functional Foods**, v. p. 177-187, 2009.

KUNZ, A.; STEINMETZ, R.; DAMASCENO, S.; COLDEBELA, A. Nitrogen removal from swine wastewater by combining treated effluente with raw manure. **Scientia Agricola**, v. 69, p. 352-356, 2012.

LEWANDOWSKI, L.; DECARLI, J.A.; PEDRON, F DE A.; SIGNOR, A.; BOSCOLO W.R. Hidrolisados cárneos na alimentação do surubim do Iguaçu (*Steindachneridion melanodermatum*). **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 20, 222-226, 2013.

LEWANDOWSKI, L.; SARY, C.; SCHULLER, J.M.; DIETERICH, F.; FEIDEN, A.; SIGNOR, A.; BOSCOLO, W.R. Hidrolisados proteicos em dietas para larvas de peixes. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 12, p. 277-282, 2004.

LORENZ, E.K. Hidrolisados proteicos na alimentação de juvenis de dourado *Salimus brasiliensis*. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”). Piracicaba, São Paulo, p. 81, 2017.

LORENZ, E.K.; BARONE, R.S.C.; YAMAMOTO, F.Y.; CYRINO, J.E.P. Dietary protein hydrolysates from animal by-products: digestibility and enzymatic activity for Dourado *Salminus brasiliensis*. **Journal Aquatic Food Product Technology**, v. 27, p. 236–246, 2018.

LORENZ, E.K.; SABIONI, R.E.; VOLKOFF, H. Growth performance, health, and gene expression of appetite-regulating hormones in Dourado *Salminus brasiliensis*, fed vegetable-based diets supplemented with swine liver hydrolysate. **Aquaculture**, v. 548, p. 1-12, 2021.

MALUF, J.U. Hidrólise enzimática de fígado suíno e caracterização de potenciais bioatividades formadas. Tese (Doutorado). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Program de Pós-Graduação “Stricto Sensu” em Engenharia Química. (p.177). Toledo, Paraná, p. 177, 2020.

MARTÍNEZ-ALVAREZ, O.; CHAMORRO, S.; BRENES, A. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. **Food Research International**, p. 1-9, 2015.

MULLEN, A.M.; ÁLVAREZ, C.; ZEUGOLISDI, D.I.; HENCHION M, O'NEILL, E.; DRUMMOND, L. Alternative uses for co-products: Harnessing the potential of valuable compounds from meat processing chains. **Meat Science**, v. 132, p. 90-98, 2017.

NOLLET, L.M.L.; TOLDRÁ, F. **Handbook of analysis of edible animal by-products**. Boca Raton, FI, USA: Crc Press, Chapter Introduction, Offal meat: Definitions, regions, cultures. Generalities. P. 3-11, 2011.

OVISSIPOUR, M.; ABEDIAN KENARI, A.; NAZARI, R.; MOTAMEDZADEGAN, A.; RASCO, B. Tuna viscera protein hydrolysate: nutritive and disease resistance properties for Persiansturgeon (*Acipenser persicus* L.) larvae. **Aquaculture Research**, v. 45, 591–601, 2014.

PASUPULETI, V.K.; BRAUN, S. State of the art manufacturing of protein hydrolysates. In: Pasupuleti VK, Demain AL. **Protein hydrolysates in biotechnology**. New York: Springer Dordrec. p. 11-32, 2010.

PERON, F.P.; PAULA, B.B.; DOS SANTOS, A.J.F. Avaliação de proteína hidrolisada de aves e suínos aminEUA Tilápia® sobre o desempenho e resistência ao estresse da tilápia do Nilo na fase inicial. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, p. 55058-55064, 2020.

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

ROCHA. J.D. Hidrolisado proteico de pescado em dietas para alevinos de tilápia do Nilo. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca. Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Centro de Engenharias e Ciências Exatas). p.40. Toledo, Paraná, p. 40, 2014.

ROCHA, J.D.M.; ROSSETTO, J.F.; SILVA, T.C.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W.R.; SIGNOR, A. Proteína hidrolisada de frango em dietas para alevinos de tilápia. **Research, Society and Development**, v. 10, p. 1-11, 2021.

SARY, C.; DE PARIS, L.D.; BERNADI, D.M.; LEWANDOWSKI, V.; SIGNOR, A.; BOSCOLO, W.R. Tilapia by-product hydrolysate poder in diets for tilapia larvae. **Acta Scientiarium**, v. 39, p. 1-6, 2017.

SILVA, T.C.; ROCHA, J.D.M.; MOREIRA.; P.; SIGNO, A.; BOSCOLO, W.R. Fish protein hydrolysate in diets for Nile tilapia post-larvae. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, p.485-492, 2017.

SRICHANUN, M.; TANTIKITI, C.; KORTNER, T.M.; KROGDAHN, A.; 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**, v. 428-429, p. 195-202, 2004.

TÁPPARO, D.C.; DO AMARL, A.C.; STEINMETZ, R.L.R.; KUNZ, A. Co-digestion of Animal Manure and Carcasses to Increase Biogas Generation. **Improving Biogas Production**, v. 9, p. 99-116, 2019.

TOLDRÁ, F.; M-CONCEPCIÓN, A.; MORA, L.; REIG, M. Innovations in value-addition of edible meat byproducts. **Meat Science**, v. 92, p. 290-296, 2012.

TOLDRÁ, F.; MORA, L.; REIG, M. New insights into meat by-product utilization. **Meat Science**, v.120, p.54-59, 2016.

VENTURIN, A.; GONÇALVES, A.F.N.; OLIVEIRA, N.S.; SKORONSKI, E.; PESSATTI, M.L.; FABREGAT, T.H.P. Soluble fraction of sardine protein hydrolysates in the feeding of the South american catfish. **Boletim Instituto de Pesca**, v. 42, p. 878-888, 2016.

VILLAMIL, O.; VÁQUIRO, H.; SOLANILLA, J.F. Fish viscera protein hydrolysates: Production, potential applications and functional and bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 224, n. 1, p. 160-171, 2017.

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**, v. 18, p. 297–303, 2012.

## 4.0 ARTIGO I

### **Hidrolisado proteico de fígado suíno em dietas para alevinos de tilápia-do-Nilo**

Este artigo é parte da tese intitulada “Hidrolisado proteico de fígado suíno em dietas para alevinos de dourado (*Salminus brasiliensis*) e tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)” e está formatado de acordo com as normas da revista *Aquaculture*, <https://www.journals.elsevier.com/aquaculture>

## Hidrolisado proteico de fígado suíno em dietas para alevinos de tilápia-do-Nilo

### 4.1 Resumo

O estudo foi realizado com o objetivo de avaliar níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) para alevinos de tilápia-do-Nilo, sobre os aspectos do desempenho produtivo, composição centesimal, crescimento muscular, histologia hepática, microvilosidades intestinais e análise econômica. Utilizaram-se 480 alevinos ( $0,80 \pm 0,07$  g), distribuídos em 24 tanques (70 litros), em um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições. Foram formuladas seis dietas (40 % PD e 3250 Kcal de ED), com níveis crescentes da proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS - 0; 1; 2; 3; 4 e 5%). A sobrevivência foi superior ( $P < 0,05$ ) para peixes alimentados com as dietas contendo PHFS. Observaram-se diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos para o peso final, ganho em peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar aparente, taxa de eficiência proteica, taxa de retenção energética aparente, custo da ração, custo do milheiro e receita líquida. Não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) para as variáveis da composição centesimal, crescimento muscular, tecido hepático, microvilosidade intestinal e custo de alevinos. Os níveis de suplementação de PHFS pode ser utilizada como um ingrediente proteico pela tilápia-do-Nilo, indicando a inclusão de 2,91% de PHFS na fase inicial de criação.

**Palavras-chave:** Biotecnologia; coprodutos agroindustriais; nutrição de peixes; *Oreochromis niloticus*, peptídeos bioativos; sustentabilidade.

## Swine liver hydrolyzate protein in diets for Nile tilapia fingerlings

### 4.2 Abstract

The study was carried out with the objective of evaluating increasing levels of swine liver hydrolyzate protein (PHFS) for Nile tilapia fingerlings, on aspects of productive performance, proximate composition, muscle growth, liver histology, intestinal microvilli and economic analysis. . A total of 480 fingerlings ( $0.80 \pm 0.07$  g) were used, distributed in 24 tanks (70 liters), in a completely randomized design with six treatments and four replications. Six diets (40% PD and 3250 Kcal of DE) were formulated with increasing levels of hydrolyzed pork liver protein (PHFS - 0; 1; 2; 3; 4 and 5%). Survival was superior ( $P < 0.05$ ) for fish fed diets containing PHFS. Differences ( $P < 0.05$ ) were observed between treatments for final weight, weight gain, specific growth rate, apparent feed conversion, protein efficiency rate, apparent energy retention rate, feed cost, cost per thousand and net income. There were no differences ( $P > 0.05$ ) for the variables of proximate composition, muscle growth, liver tissue, intestinal microvilli and fingerling cost. Supplementation levels of PHFS can be used as a protein ingredient by Nile tilapia, indicating the inclusion of 2.91% of PHFS in the initial rearing phase.

**Keywords:** Biotechnology; agro-industrial co-products; fish nutrition, *Oreochromis niloticus*, bioactive peptides; sustainability.

### 4.3 Introdução

O crescimento da aquicultura tem aumentado ao longo das últimas décadas (FAO, 2020). Paralelamente a este aumento, houve uma maior demanda de insumos para a produção de rações (SINDIRAÇÕES, 2022). A farinha de peixe oriunda da pesca extrativa, é um dos ingredientes proteicos mais utilizados para a formulação de dietas para peixes (Stuart et al., 2021). O crescimento e a intensificação da aquicultura aumentaram a demanda por este insumo (FAO, 2018). Sendo assim, nos últimos anos vem sendo desenvolvidas pesquisas científicas com a finalidade de buscar sucedâneos a esse ingrediente convencional.

Ao mesmo tempo em que a piscicultura vem se consolidando no mercado, esta atividade vem gerando uma grande fonte de resíduos pela indústria de processamento de pescado (Bacerlar & Muratori, 2020). Os subprodutos representam 60% em peso da matéria-prima, sendo obtido da sobra do processamento do filé que resulta em cabeça, nadadeira, pele e vísceras (Chalamaiah et al., 2012). Esse resíduo apresenta um alto valor biológico, e através do processamento dessa matéria-prima em farinha de resíduo de peixe pode proporcionar fonte de agregação de valor, e conseqüentemente, aumentar a lucratividade da cadeia produtiva da piscicultura, além de contribuir para a redução do impacto ambiental.

Outra abordagem biotecnológica na forma de hidrolisado proteico vem sendo utilizada para transformar o resíduo das agroindústrias em um produto com alto valor nutritivo (Mullen et al., 2017). Os hidrolisados proteicos são produtos oriundo de um processo de hidrólise enzimática de proteínas intactas dos subprodutos em peptídeos de diversos tamanhos e aminoácidos livres que tem por objetivo melhorar a disponibilidade de nutrientes da matéria-prima (Dieterich et al., 2014). Geralmente apresentam propriedades funcionais com amplo espectro de ações fisiológicas ao organismo (Hou et al., 2017) e com cerca de 2 a 20 aminoácidos (Pihlanto-Leppälä, 2000).

A inclusão de hidrolisados proteicos em dietas para organismos aquáticos pode influenciar positivamente o crescimento dos animais (Lewandowski et al., 2013), conversão alimentar aparente, taxa de eficiência proteica (Dieterich, 2014; Khosravi et al., 2015), atratividade e palatabilidade (Alves et al., 2019), saúde e resistência orgânica (Sampath Kumar et al., 2012; Bui et al., 2014; Gisbert et al., 2018). Neste sentido, a aplicação de nutrientes que possibilitem melhor aproveitamento e desempenho é imprescindível para atingir uma produção mais sustentável, e conseqüentemente mais

competitiva no mercado (Cyrino et al., 2010), principalmente para espécies que são amplamente produzidas no mundo, como é o caso da tilápia-do-Nilo. Esta espécie apesar de ser a terceira espécie de peixe mais produzida no mundo (FAO, 2020) e com muitos estudos voltados à nutrição (Ng e Romano, 2013; Andrade et al., 2015; Alemayehu et al., 2018; Makwinja e Geremew, 2020), existem ainda lacunas de informações sobre os efeitos da proteína hidrolisada de fígado suíno para dietas de alevinos na fase inicial de criação.

Neste sentido, objetivou-se avaliar a inclusão de níveis crescentes de hidrolisado de fígado suíno, sobre o desempenho produtivo, composição centesimal, crescimento muscular, histologia hepática, microvilosidades intestinais e na viabilidade econômica em alevinos de tilápia-do-Nilo na fase inicial de criação.

#### **4.4 Material e métodos**

##### *4.4.1 Local e período*

O experimento foi conduzido por 30 dias (fevereiro a março de 2020) no Laboratório de Aquicultura do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura – GEMAAq, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste – Toledo, PR, Brasil (24° 43' 27.9" S e 53° 45' 10.1" W) e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA, da mesma instituição sob o protocolo (n°02/21).

##### *4.4.2 Peixes e condições experimentais*

Foram utilizados 480 alevinos de tilápia-do-Nilo ( $0,80 \pm 0,07$  g), distribuídos em 24 tanques plásticos retangulares (70 litros), alocados em um mesmo sistema de recirculação de água (2.180 litros) com filtro biológico central, controle de temperatura, aeração constante (por caixa) por meio de soprador de ar externo e iluminação, respeitando seu ciclo natural (12L:12E do fotoperíodo). Diariamente, ao final do período vespertino, os tanques foram sifonados para a retirada de resíduos metabólicos e/ou restos alimentares.

##### *4.4.3 Qualidade da água*

Durante o período experimental foi realizado o monitoramento das variáveis físico-químicas, sendo mensuradas semanalmente o oxigênio dissolvido ( $5,61 \pm 1,44$  mg.L<sup>-1</sup>), pH ( $7,15 \pm 0,42$ ) e a temperatura ( $27,25 \pm 0,93$ °C), com auxílio de uma sonda multiparâmetro (YSI, Pro Plus, Yellow Springs-Ohio, USA). Os parâmetros de qualidade

da água mantiveram-se na faixa ideal para o desempenho produtivo da espécie segundo Ridha e Cruz (2001).

#### 4.4.4 *Delineamento experimental, dietas experimentais e manejo alimentar*

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições. Considerou-se como uma unidade experimental, uma caixa de 70L contendo 20 peixes. Foram avaliadas seis dietas, cinco contendo níveis crescentes de inclusão da proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS – 1, 2, 3, 4 e 5%), e uma dieta controle contendo farinha de peixe de resíduo de tilápia (FPRT). As dietas foram formuladas através do programa Supercrack®, sendo isoenergéticas (3.250 Kcal de energia digestível.kg da dieta<sup>-1</sup>) e isoproteicas (40% de proteína bruta), de acordo com Furuya (2010) e NRC (2011) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Composição percentual, centesimal e custos das rações experimentais contendo diferentes níveis de inclusão de proteína hidrolisada de fígado suíno para alevinos de tilápia-do-Nilo.

Ingredientes (%)	Diets contendo PHFS (%)					
	0	1	2	3	4	5
Farinha de penas	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Farinha de sangue	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Farinha de vísceras de aves	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Farelo de soja 48%	16,33	15,99	15,65	14,31	14,96	14,62
Farinha de resíduo de tilápia	5,00	4,00	3,00	2,00	1,00	0,00
Hidrolisado proteico de fígado suíno	0,00	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00
Fubá de milho	34,13	34,16	34,16	34,20	34,23	34,27
Arroz quirera	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	0,59	0,65	0,71	0,78	0,84	0,90
Premix <sup>1</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Calcário	0,11	0,21	0,30	0,40	0,50	0,60
Fosfato bicalcico	0,35	0,49	0,62	0,76	0,89	1,02
Cloreto de colina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Antifungico	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Vitamina C	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
L-lisina HCL	0,08	0,09	0,11	0,12	0,13	0,14
L-triptofano	0,01	0,02	0,02	0,03	0,04	0,05
DL-metionina	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
<b>Nutrientes calculados (%)</b>						
Ácido linoleico	1,82	1,84	1,86	1,88	1,90	1,92
Amido	25,60	25,61	25,62	25,63	25,64	25,65
Energia digestível tilápia (Kcal)	3250	3250	3250	3250	3250	3250
Proteína bruta	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
Fibra bruta	1,30	1,29	1,27	1,26	1,25	1,23
Fósforo total	1	1	1	1	1	1
Gordura total	6,01	6,09	6,17	6,25	6,33	6,41
Cálcio	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Matéria mineral	6,20	6,06	5,92	5,77	5,63	5,48
Vitamina C	490,00	490,00	490,00	490,00	490,00	490,00
Colina	1200	1200	1200	1200	1200	1200
Arginina total	2,60	2,57	2,53	2,50	2,46	2,43
Fenilalanina + tirosina total	3,24	3,23	3,22	3,21	3,20	3,19
Histidina total	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
Isoleucina total	1,55	1,55	1,54	1,54	1,54	1,54
Leucina total	3,07	3,07	3,07	3,07	3,07	3,07
Lisina total	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13
Metionina total + cisteína total	1,57	1,57	1,57	1,57	1,57	1,57

Metionina total	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
Treonina	1,69	1,69	1,68	1,67	1,66	1,65
Triptofano	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Valina	2,31	2,31	2,31	2,31	2,31	2,31
Custo da dieta (US\$ kg <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	0,67	0,70	0,73	0,75	0,78	0,81

<sup>1</sup>Níveis de garantia por quilograma do produto: vit. A - 500.000 UI; vit. D3 - 200.000 UI; vit. E - 5.000 mg; vit. K3 - 1.000 mg; vit. B1 - 1.500 mg; vit. B2 - 1.500 mg; vit. B6 - 1.500 mg; vit. B12 - 4.000 mg; ácido fólico - 500 mg; pantotenato de cálcio - 4.000 mg; vit. C - 15.000 mg; biotina - 50 mg; inositol - 10.000; nicotinamida - 7.000; colina - 40.000 mg; cobalto - 10 mg; cobre - 500 mg; ferro - 5.000 mg; iodo - 50 mg; manganês - 1.500 mg; selênio - 10 mg; zinco - 5.000 mg. <sup>2</sup> 1 US\$ dólar = 5,38.

\* Hidrolisado de proteína em pó produzido por meio de um processo de hidrólise enzimática e fornecido pela empresa BRF Ingredient's® (Concórdia – SC, Brasil).

Para a produção das rações, os macroingredientes foram triturados em moinho tipo martelo (Moinhos Vieira, modelo MS 280, Tatuí – São Paulo, Brasil) em peneira de malha 0,3 mm de diâmetro. Uma pré-mistura foi combinada e misturados com o hidrolisado proteico e demais ingredientes. A umidade da mistura foi ajustada para (20 s 22%). A mistura obtida foi extrusada (Exteec Máquinas, Ribeirão Preto – São Paulo, Brasil) a 100°C em matriz de 1 mm de diâmetro, e os grânulos resultantes foram secos a 55C por 24 horas em estufa de ventilação forçada.

As quantidades de óleo de soja incluída nas dietas experimentais variaram (0,59 a 0,90%). Após a secagem das dietas foi feita o óleo de soja foi adicionado a massa resultante por meio de aspersão e as dietas foram colocadas por 10 minutos em um misturador mecânico tipo “Y”, (modelo MA 200, marca Marconi Equipamentos Laboratoriais, Piracicaba – SP, Brasil), e por fim armazenada em freezer (-20°C) até serem utilizadas.

A alimentação era ofertada diariamente, sete dias da semana, por seis vezes ao dia (08h00min, 10h00min, 12h00min, 14h00min, 16h00min e 18h00min), até a saciedade aparente. O consumo diário de ração por tanque foi registrado pelo cálculo da diferença de peso da primeira e depois da última alimentação.

#### 4.4.5 Coleta de dados e desempenho produtivo

Ao final do experimento, os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas para o esvaziamento do trato gastrointestinal e, posteriormente foram sedados em eugenol, na dose de 75 mg.L<sup>-1</sup> (Deriggi et al., 2006) para a coleta das medidas individuais de peso (g) e comprimento (cm).

As variáveis do desempenho produtivo avaliados foram o peso final médio (g); ganho em peso (g) = (peso final – peso inicial); comprimento total (cm); conversão

alimentar aparente = (consumo de ração (g) / ganho em peso (g)); sobrevivência (%) = [(número de peixes final / número de peixes inicial)]\*100; taxa de crescimento específico (% dia<sup>-1</sup>) = [(ln peso final (g) – ln peso inicial (g)) / dias de experimento] \*100; taxa de eficiência proteica (%) = ganho em peso (g) / ingestão total da proteína na matéria seca (g); taxa de retenção proteica aparente (%) = [(peso final (g) \* proteína corporal final (g.kg<sup>-1</sup>) – (peso inicial (g) \* proteína corporal inicial (g.kg<sup>-1</sup>)) / ingestão total de proteína] \*100; e taxa de retenção energética aparente (%) = (peso final (g) \* energia corporal final (g.kg<sup>-1</sup>) – (peso inicial (g) \* energia corporal inicial (g.kg<sup>-1</sup>)) / ingestão total de energia] \*100.

Para coleta de amostras, todos os peixes de cada unidade experimental foram eutanasiados em água com eugenol na dose de 300 mg.L<sup>-1</sup>, sendo três acondicionadas em gelo para a retirada dos órgãos e gordura para cálculos dos índices hepatossomático (%) = [(peso do fígado (g) / peso final (g))\*100; da gordura visceral (%) = [(peso da gordura visceral (g) / peso final (g))\*100; e do quociente intestinal = (%) [(comprimento do intestino / comprimento total do peixe)]\*100. Outros três animais de cada unidade experimental foram amostrados para as avaliações histológicas do tecido muscular, intestino médio e fígado e os oito peixes restantes foram armazenados em freezer a (-20°C) no laboratório de Controle de Qualidade do Grupo de Estudos em Manejo na Aquicultura (GEMAQ) para posteriores análises de composição centesimal.

#### 4.4.6 Análises de composição centesimal

A composição centesimal das carcaças (peixe inteiro com vísceras) e das dietas experimentais seguiram os métodos estabelecidos pela AOAC (2005), sendo: umidade (pré-secagem em estufa de ventilação forçada de ar a 55 °C por 72 horas, seguida de secagem a 105 °C por 8 horas); proteínas (método de Kjeldhal; Modle MA-036, Piracicaba – São Paulo, Brasil); extrato etéreo (extrator de Soxhlet com éter de petróleo como solvente; Modle TE-0,44, Piracicaba – São Paulo, Brasil); matéria mineral (calcinação das amostras a 550 °C por 6 horas; Modle 2000B, Belo Horizonte – Minas Gerais, Brasil); e a energia bruta determinada em bomba calorimétrica (IKA\*C2000 basic). As análises de aminoácidos totais das dietas (Tabela 2) foram determinadas pelo método MA-009 (White et al., 1986; Hagen et al., 1989) por um laboratório comercial (CBO Análises Laboratoriais Ltda., Valinhos – SP).

**Tabela 2.** Composição dos aminoácidos totais das dietas experimentais.

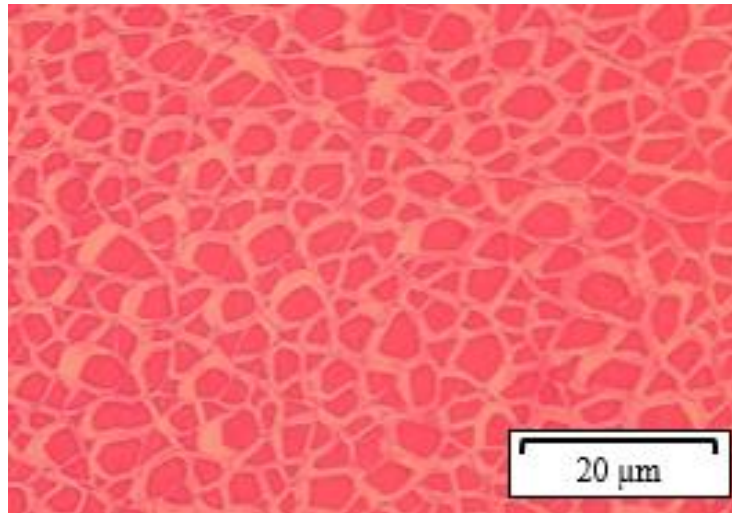
Aminoácidos (%)	Níveis de PHFS (%)					
	0	1	2	3	4	5
<i>Essenciais</i>						
Arginina	3,22	2,76	3,38	2,75	2,78	3,2
Fenilalanina	1,47	1,86	1,35	2,01	2,05	1,38
Histidina	0,84	0,86	0,81	1,01	1,09	0,74
Isoleucina	1,18	1,59	1,10	1,53	1,50	1,09
Leucina	2,80	3,30	2,57	3,62	3,70	2,57
Lisina	2,43	1,91	2,25	2,12	2,20	2,31
Metionina	0,75	0,89	0,71	0,89	0,88	0,71
Treonina	1,54	1,7	1,39	1,70	1,75	1,37
Valina	1,88	2,14	1,74	2,35	2,33	1,76
<i>Não essenciais</i>						
Ácido Aspártico	2,53	3,34	2,22	3,30	3,62	2,48
Ácido Glutâmico	5,06	5,12	4,74	5,16	5,22	4,94
Alanina	4,00	2,18	4,26	2,38	2,44	3,99
Cistina	0,50	1,02	0,39	0,96	0,97	0,46
Glicina	6,62	2,86	7,47	2,94	2,91	6,94
Prolina	4,16	2,73	4,63	2,66	2,70	4,26
Serina	1,84	2,64	1,70	2,56	2,61	1,74
Taurina	0,09	ND	ND	ND	ND	0,08
Tirosina	1,02	1,31	0,92	1,38	1,37	0,96
<i>Total de aminoácidos</i>	41,93	38,21	41,7	39,12	40,12	40,98

AA(%)= Aminoácidos; ND= Não detectado.

#### 4.4.7 Histomorfometria da fibra muscular, intestinal e hepática

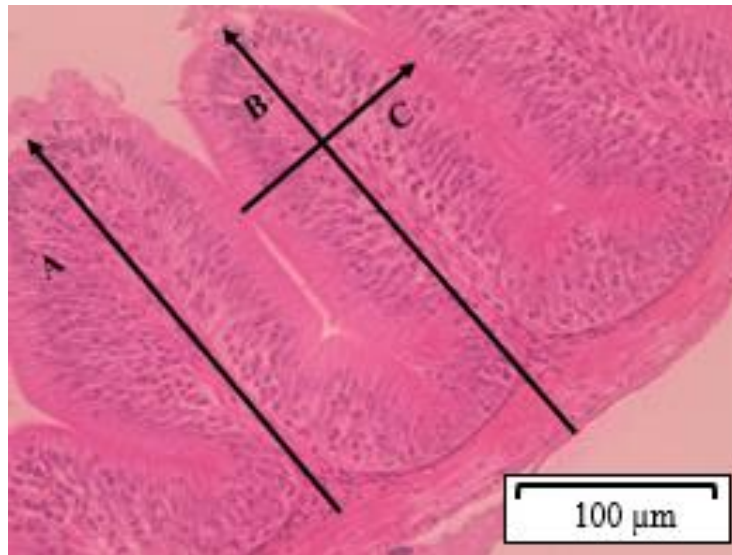
As amostras foram fixadas em solução de alfac (álcool, formaldeído e ácido acético) por 24 horas e, posteriormente, transferidos para solução de álcool 70°. O material foi desidratado por passagens em séries crescentes de álcoois, diafanizado em xilol e embebidos em parafina, para obtenção de cortes transversais seriados de 7µm de espessura para as amostras de intestino e fígado, e 5µm de espessura para o tecido muscular com auxílio de micrótomo rotativo (Thermo Scientific – Microm HM 340E, Alemanha). Posteriormente, as lâminas foram coradas em Hematoxilina – Eosina (HE) conforme descrito por Bancroft e Stevens (1982), avaliadas por meio da fotodocumentação (captura de imagens) através de um microscópio óptico (P1 Olympus BX 50 – Manila, Filipinas) acoplado a uma câmera (Olympus PMC 35 B – Berlim, Alemanha). As mensurações foram realizadas com o auxílio de um sistema de análise de imagem (Software cellSens Standard 1.15®).

A avaliação do crescimento muscular foi realizada em concordância com Almeida et al. (2010), onde se determinou o menor diâmetro de 200 fibras musculares por animal, as quais foram agrupadas em classes de diâmetros ( $< 20\mu\text{m}$ ,  $20\text{-}50\mu\text{m}$  e  $> 50\mu\text{m}$ ) para verificar, por meio de uma objetiva de 10x, o processo de hiperplasia e de hipertrofia muscular nos peixes (Figura 1).



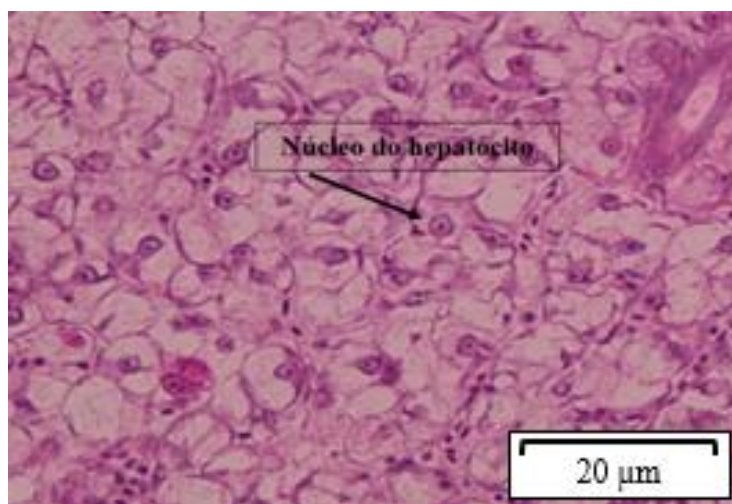
**Figura 1.** Fotomicrografia de corte transversal da musculatura de alevinos de tilápia-do-Nilo (HE, objetiva de 10x).

Para a determinação da histomorfometria das vilosidades intestinais, foram utilizados 12 intestinos por tratamento e dez vilos por animal perfazendo um total de 120 imagens por tratamento, analisadas com um microscópio óptico na objetiva de 10x. Foram mensurados a altura do vilão (que corresponde a distância do ápice das vilosidades até o término da serosa), altura total do vilos (que condiz à distância do ápice das vilosidades até o início da túnica) e largura do vilão (próximo a região do ápice dos vilos) (Figura 2).



**Figura 2.** Fotomicrografia de corte transversal da parede do intestino médio de alevinos de tilápia-do-Nilo (HE, objetiva de 10x). A) Altura do vilão; B) Altura total dos vilões; C) Largura dos vilões.

A histomorfometria do fígado foi realizada determinando o número de hepatócitos por área (área útil de contagem:  $2.000\mu\text{m}^2$ ), utilizando-se uma objetiva de 40x, em oito imagens por corte (24 imagens por animal), totalizando 192 imagens por tratamento sendo quantificado 300 núcleos por tratamento (Figura 3).



**Figura 3.** Fotomicrografia de corte transversal do tecido hepático de alevinos de tilápia-do-Nilo (HE, objetiva de 40x).

#### 4.4.8 Integridade hepática

As análises de alterações morfológicas foram avaliadas qualitativamente por meio do índice de lesões, calculado a partir do índice Bernet =  $\Sigma$  fator de importância (w) x escore ( $\alpha$ ) (Bernet et al., 1999), onde (w), representa o nível da lesão, pode ser classificada

em: (1) razoável; (2) moderada; (3) irrisível, essa última levando à perda parcial ou total do órgão; e o escore (a), que corresponde a alteração histopatológica, variando de 0 a 6, dependendo do grau de alteração, sendo (0) sem alteração; (2) pouca ocorrência; (4) moderada ocorrência; (6) lesão de ocorrência grave. Para determinar as lesões, foi desenvolvida uma tabela própria para o respectivo estudo, indicando as principais lesões histopatológicas encontradas (Tabela 3).

**Tabela 3.** Lesões hepáticas detectadas em alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS).

Variável	Índice de Bernet	
	Alterações observadas no fígado	Fator de importância
Hepatócitos	CS	1
	MM	1
	VC	1
	IFL	2
	PLC	2
	N	3

CS = Congestão de sinusóides; MM = Melanomacrófago; Vacuolização citoplasmática; IFL = inflamação dos leucócitos; PLC = Perda do limite de celular; N = Necrose.

#### 4.4.9 Análise econômica

A análise econômica foi realizada com base nos os custos de produção, levando-se em consideração o período da fase de vida estudada (alevinos). Os dispêndios considerados na avaliação foram com os custos unitários de cada ingrediente e àqueles envolvidos na produção de alevinos em milheiros. Para ambos os cálculos, foi considerada o valor de cotação da moeda norte-americana (US\$) 5,38 de 24/09/2021. As dietas produzidas com continham na sua formulação os níveis crescentes de PHFS (1, 2, 3, 4 e 5%), sendo que os peixes foram alimentados seis vezes ao dia por 30 dias.

Para o cálculo do custo do quilograma de cada uma das rações experimentais foram empregadas as cotações de preço (22/09/2021) e os percentuais de inclusão de cada ingrediente na formulação foram empregadas. Multiplicando-se o custo unitário de cada ingrediente pela quantidade utilizada encontrou-se o custo por ingrediente. O somatório de cada ingrediente correspondeu ao custo total da ração e dividindo-se o mesmo por 100 kg, obteve-se o custo unitário. Adicionando ao custo total o custo de processamento e dividindo o total encontrado por 100, encontra-se o custo unitário da ração (US\$.kg<sup>-1</sup>), segundo os custos da ração em função dos níveis crescentes de PHFS (Tabela 1).

Com base no custo das dietas, e nos dados de conversão alimentar aparente (CAA) e de sobrevivência (%) foram realizados os cálculos relacionados aos aspectos econômicos e índices produtivos: custo da ração (US\$.kg<sup>-1</sup>) = preço unitário da ração (g) \* CAA; juvenis.kg<sup>-1</sup> = 1000 / peso final (g); custo de juvenis (US\$) = ((juvenis.kg<sup>-1</sup> / SO(%))\* valor de compra dos alevinos (US\$); custo total da alimentação + juvenis (US\$) = custo da ração (US\$) + custo de juvenis (US\$); custo do milheiro (US\$) = custo de alimentação + juvenis (US\$) / juvenis.kg<sup>-1</sup>\*1000; e receita líquida do milheiro (US\$) = valor de venda (US\$) – custo do milheiro (US\$). Para esse cálculos foram utilizados valores usualmente praticados na Região do Oeste do Paraná, a saber (valores de compra US\$ 27,88.milheiro<sup>-1</sup>), e de venda (US\$ 55.76.milheiro<sup>-1</sup>) para peixes pesando 10 g.

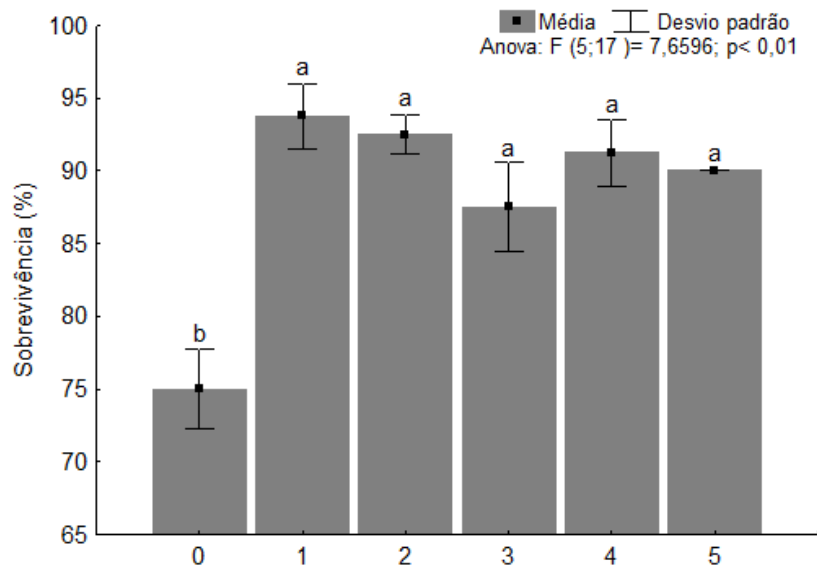
#### 4.4.10 Análise estatística

Os pressupostos de normalidade dos resíduos e homocedasticidade de variância foram checados e a partir disto os dados foram submetidos à análise de variância de um fator (one-way ANOVA) e, quando apresentaram diferenças significativas foi realizado o teste de comparação de médias de *Tukey*, em nível de 5% de significância. Para a determinação do melhor nível de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) foi aplicada a análise de regressão polinomial de segunda ordem. As análises foram realizadas pelo software *Statistic 7.1*<sup>®</sup>.

#### 4.5 Resultados

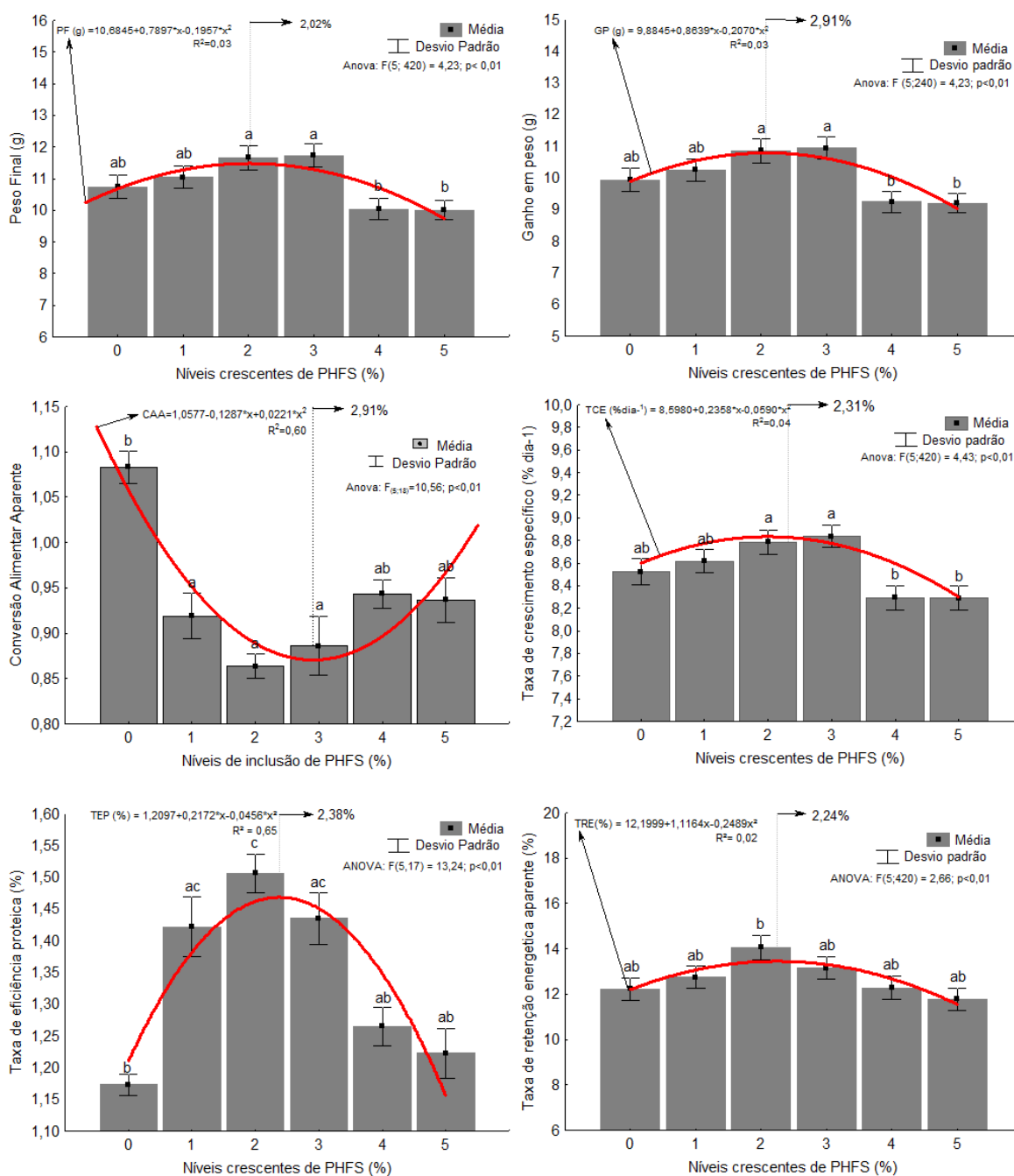
Os níveis de inclusão de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) em dietas para alevinos de tilápia-do-Nilo influenciaram (P<0,05) o peso final, o ganho em peso, a conversão alimentar aparente, a taxa de crescimento específico, a taxa de eficiência proteica e a taxa de retenção energética aparente. Entretanto, o consumo das dietas não foi afetado (P>0,05), assim como o comprimento total, o quociente intestinal, o índice hepatossomático, índice de gordura visceral e a taxa de retenção proteica aparente (Tabela 4).

A inclusão de PHFS em qualquer nível de inclusão apresentou os melhores resultados (P<0,05) de sobrevivência em relação aos valores obtidos para os peixes que consumiram a dieta controle (Figura 4).



**Figura 4.** Desempenho produtivo de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS). Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Com base no peso final, ganho em peso, conversão alimentar aparente e taxa de crescimento específico, foram estimados os melhores níveis de inclusão de PHFS para alevinos de tilápia-do-Nilo. A partir do modelo de regressão polinomial de segunda ordem, verificou-se que para melhor peso final, ganho em peso, conversão alimentar aparente, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica e a taxa de retenção energética aparente o nível de inclusão ótimo de PHFS de 2,02%, 2,91%, 2,91%, 2,31%, 2,38% e 2,24% respectivamente (Figura 5).



**Figura 5.** Modelo gráfico das regressões polinomiais para peso final, ganho em peso, conversão alimentar aparente e taxa de crescimento específico de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolizada de fígado suíno (PHFS).

O consumo de dietas com níveis crescentes de PHFS não influenciou ( $P > 0,05$ ) a composição corporal dos peixes para as variáveis de umidade, proteína bruta, extrato etéreo e matéria mineral (Tabela 5) a distribuição das fibras musculares (Tabela 6), assim como, a histomorfometria do intestino e o número de hepatócitos (Tabela 7).

De forma similar, a integridade do tecido hepático dos alevinos de tilápia-do-Nilo não foi afetada pela inclusão de PHFS nas dietas ( $P>0,05$ ) (Tabela 8). Por outro lado, foram observadas as seguintes alterações nos peixes: congestão de sinusóides, melanomacrófagos, infiltração leucocitária, perda do limite celular e necrose (Figura 6), sendo as severidades das lesões classificadas como razoáveis.

Para os dados de viabilidade econômica dos peixes, foram observadas diferenças ( $P<0,05$ ) para as variáveis de custo da ração, do milho e a receita líquida do milho. Contudo, o dispêndio das dietas contendo PHFS não influenciou o parâmetro do custo de alevinos ( $P>0,05$ ). Foi verificado uma maior margem de lucro nos alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas contendo os níveis de PHFS, em comparação aos peixes alimentados com a dieta controle ( $P<0,05$ ) (Tabela 9).

**Tabela 4.** Desempenho produtivo de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS).

Variáveis*	Níveis de inclusão de PHFS (%)						Efeito
	0	1	2	3	4	5	
<b>PF (g)</b>	10,74 ± 3,07ab	11,05 ± 3,25 ab	11,66 ± 3,46a	11,73 ± 3,15a	10,04 ± 2,99b	10,00 ± 2,75b	Quadrático
<b>GP (g)</b>	9,94 ± 3,07ab	10,25 ± 3,25ab	10,86 ± 3,46a	10,93 ± 3,15a	9,24 ± 2,99b	9,20 ± 2,76b	Quadrático
<b>CT (cm)</b>	8,11 ± 0,89	7,99 ± 0,75	8,12 ± 0,87	8,03 ± 0,90	8,08 ± 0,75	7,90 ± 0,92	NS
<b>CI (%)</b>	4,91 ± 1,13	4,34 ± 1,00	4,70 ± 0,85	4,26 ± 0,72	3,92 ± 0,88	4,13 ± 0,37	NS
<b>IHS (%)</b>	3,07 ± 0,82	2,73 ± 1,14	2,97 ± 0,71	2,58 ± 0,48	2,94 ± 1,15	3,56 ± 1,82	NS
<b>IGV (%)</b>	0,31 ± 0,33	0,97 ± 0,84	0,66 ± 0,69	0,67 ± 0,51	0,66 ± 0,54	1,09 ± 0,88	NS
<b>CAA</b>	1,08 ± 0,04b	0,92 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,86 ± 0,03a	0,89 ± 0,07a	0,94 ± 0,03ab	0,94 ± 0,11ab	Quadrático
<b>SO (%)</b>	75,00 ± 5,00b	93,75 ± 4,79 <sup>a</sup>	92,50 ± 2,89a	87,50 ± 6,45a	91,25 ± 4,79a	90,00 ± 0,00a	NS
<b>TCE (% dia<sup>-1</sup>)</b>	8,52 ± 0,94ab	8,62 ± 0,95ab	8,78 ± 0,99a	8,84 ± 0,88a	8,29 ± 0,97b	8,29 ± 0,94b	Quadrático
<b>TEP (%)</b>	1,17 ± 0,04b	1,42 ± 0,10ac	1,51 ± 0,06c	1,44 ± 0,09ac	1,26 ± 0,06ab	1,27 ± 0,11ab	Quadrático
<b>TRP (%)</b>	25,12 ± 9,42	25,58 ± 9,88	26,64 ± 10,21	25,18 ± 9,25	24,23 ± 9,99	23,30 ± 9,52	NS
<b>TRE (%)</b>	12,23 ± 3,85ab	12,74 ± 4,25ab	14,06 ± 4,58b	13,16 ± 4,20ab	12,28 ± 4,29ab	11,78 ± 4,11ab	Quadrático
<b>Equações</b>							<b>P - valor</b>
<b>PF (g)</b>	Y= 10,6845 + 0,7897x + 0,0221x <sup>2</sup> ; R <sup>2</sup> = 0,03; PHFS = 2,02%						0,01
<b>GP (g)</b>	Y= 9,8845 + 0,8639x + 0,2070x <sup>2</sup> ; R <sup>2</sup> = 0,03; PHFS = 2,91%						0,01
<b>CAA</b>	Y= 1,0577 - 0,1287x + 0,0221x <sup>2</sup> ; R <sup>2</sup> = 0,06; PHFS = 2,91%						0,01
<b>TCE (% dia<sup>-1</sup>)</b>	Y= 8,5980 + 0,7897x - 0,1957x <sup>2</sup> ; R <sup>2</sup> = 0,04; PHFS = 2,31%						0,01
<b>TEP (%)</b>	Y= 1,2097+0,2172x-0,0456x <sup>2</sup> ; R <sup>2</sup> = 0,65; PHFS = 2,38%						0,01
<b>TRE (%)</b>	Y=12,1999+1,1164x-0,2489x <sup>2</sup> ; R <sup>2</sup> = 0,02; PHFS = 2,24%						0,01

PHFS = Proteína hidrolisada de fígado suíno.

PF= Peso final (g) GP= Ganho em peso (g); CT= Comprimento total (cm); QI= Quociente intestinal (cm); IHS= Índice hepatossomático (%); IGV= Índice de gordura visceral (%); CAA= Conversão alimentar aparente; SO= Sobrevivência (%); TCE= Taxa de crescimento específico (% dia<sup>-1</sup>); TRP= Taxa de retenção proteica aparente (%); TRE= Taxa de retenção energética aparente (%). NS= Não significativo (P>0,05).

**Tabela 5.** Composição centesimal da carcaça de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS).

Variáveis	Níveis de inclusão de PHFS (%)						P-valor
	0	1	2	3	4	5	
UM (%)	73,57 ± 0,50	73,88 ± 0,47	73,81 ± 0,47	73,53 ± 0,50	73,01 ± 0,48	73,43 ± 0,49	0,19
PB (%)	15,63 ± 0,36	15,36 ± 0,62	15,24 ± 0,54	15,44 ± 0,22	15,96 ± 0,28	15,54 ± 0,35	0,30
EE (%)	6,40 ± 0,58	6,58 ± 0,64	6,83 ± 0,25	6,93 ± 0,33	6,80 ± 0,17	6,56 ± 0,31	0,49
MM (%)	3,12 ± 0,08	3,16 ± 0,06	3,06 ± 0,03	3,13 ± 0,07	3,14 ± 0,07	3,13 ± 0,05	0,40

PHFS= Proteína hidrolisada de fígado suíno.

UM= Umidade (%); PB= Proteína bruta (%); EE= Extrato etéreo (%); MM= Matéria mineral (%).

**Tabela 6.** Frequência de distribuição das fibras musculares em três classes de diâmetros (<20 µm, entre 20 e 50 µm e > 50 µm) em alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS).

Variáveis	Níveis de inclusão de PHFS (%)						P-valor
	0	1	2	3	4	5	
<20 µm	31,96 ± 4,38	29,00 ± 5,32	28,27 ± 8,15	28,12 ± 9,02	29,31 ± 9,34	30,54 ± 7,01	0,76
20-50 µm	66,50 ± 8,42	69,92 ± 5,06	70,35 ± 4,94	70,42 ± 4,25	69,38 ± 5,43	68,88 ± 5,28	0,51
>50 µm	1,54 ± 0,69	1,12 ± 0,42	1,38 ± 1,24	1,42 ± 0,70	1,31 ± 0,75	1,31 ± 0,60	0,20

PHFS= Proteína hidrolisada de fígado suíno.

**Tabela 7.** Histomorfometria do intestino médio e hepática em alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS).

Variáveis	Níveis de inclusão de PHFS (%)						P-valor
	0	1	2	3	4	5	
Altura do vilo (µm)	183,97 ± 26,24	202,85 ± 61,59	177,24 ± 51,71	182,85 ± 72,40	174,63 ± 76,64	134,23 ± 32,12	0,29
Altura total do vilo (µm)	206,13 ± 30,66	226,84 ± 57,72	196,01 ± 56,45	202,83 ± 67,87	195,45 ± 86,01	161,53 ± 31,33	0,34
Largura do vilo (µm)	81,58 ± 8,55	78,53 ± 8,70	87,83 ± 10,12	89,99 ± 14,18	81,12 ± 13,76	85,38 ± 4,95	0,37
NH (µm)	192,16 ± 18,00	193,63 ± 14,90	193,30 ± 16,56	203,19 ± 19,65	206,93 ± 25,88	196,37 ± 30,83	0,55

PHFS= Proteína hidrolisada de fígado suíno.

NH = Número de hepatócitos (µm).

**Tabela 8.** Lesões histopatológicas de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno.

Variável	Níveis de inclusão de PHFS (%)						P-valor
	0	1	2	3	4	5	
<b>Índice de Bernet</b>	20,50 ± 4,50	19,33 ± 4,21	21,27 ± 4,84	20,19 ± 19,65	19,00 ± 3,02	22,50 ± 6,02	0,53

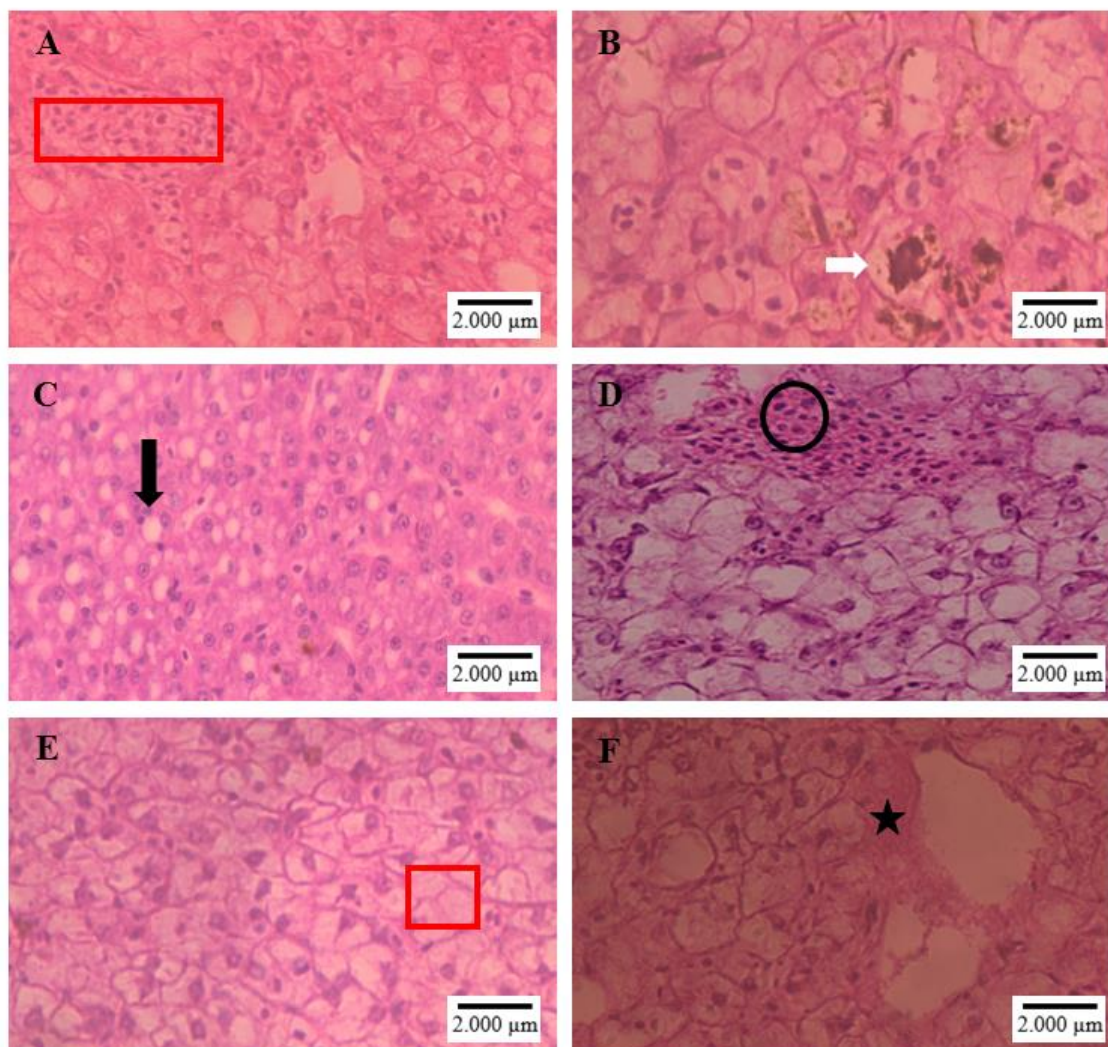
PHFS= Proteína hidrolisada de fígado suíno.

**Tabela 9.** Custo da produção de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno.

Variáveis	Níveis de inclusão de PHFS (%)						P-valor
	0	1	2	3	4	5	
<b>CR (US\$.kg<sup>-1</sup>)</b>	0,73 ± 0,02bc	0,64 ± 0,04a	0,63 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,66 ± 0,05ab	0,74 ± 0,03bc	0,76 0,04bc	0,01
<b>CALEV (US\$)</b>	3,30 ± 0,28	2,76 ± 0,49	2,78 ± 0,30	2,77 ± 0,43	3,09 ± 0,41	3,14 ± 0,41	0,26
<b>CM (US\$.milheiro<sup>-1</sup>)</b>	45,64 ± 2,50b	36,88 ± 0,40a	37,06 ± 1,83 <sup>a</sup>	39,80 ± 1,60 <sup>a</sup>	38,02 ± 1,78a	38,59 ± 1,37a	0,01
<b>RL (US\$.milheiro<sup>-1</sup>)</b>	10,12 ± 2,50a	18,89 ± 0,40b	18,70 ± 1,83b	15,96 ± 1,60b	17,74 ± 1,78b	17,17 ± 1,37b	0,01

PHFS= Proteína hidrolisada de fígado suíno.

CR= Custo de ração (US\$.kg<sup>-1</sup>); CALEV = Custo de alevinos (US\$); CM= Custo do milheiro (US\$.milheiro<sup>-1</sup>); RL= Receita líquida para produzir o milheiro (US\$.milheiro<sup>-1</sup>). \*Valores seguidos por letras distintas na mesma linha, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).



**Figura 6.** Fotomicrografia de corte transversal do tecido hepático de alevinos de tilápia-do-Nilo (HE, objetiva de 40x). A) Congestão de sinusóides (retângulo); B) Melanomacrófagos (seta); C) Vacúolos citoplasmáticos característicos de esteatose hepática (seta); D) Infiltração leucocitária (círculo); E) Perda do limite celular (quadrado); F) Área de necrose (estrela).

#### 4.6 Discussão

O fornecimento da proteína hidrolisada representada pela presença de peptídeos de baixa massa molecular é facilmente assimilado, pois, di e tripeptídeos têm uma via de absorção rápida no intestino que se dá por meio do simporte hidrogênio e peptídeos no canal PEPT 1 (Gilbert et al., 2008), resultando em benefícios ao crescimento e desenvolvimento dos animais (Gisbert et al., 2018). A hidrólise enzimática ao qual o fígado suíno foi submetido resultou em um produto final com peptídeos bioativos com massa molecular inferior a 3000 Da formadas por 2 a 20 aminoácidos que podem exercer

algumas propriedades bio-funcionais aos animais. A sua bioatividade depende principalmente dos aspectos estruturais, características físico-químicas dos aminoácidos, bem como, sua composição e sequência (Sánchez & Vásquez, 2017).

No presente estudo, a inclusão de 2% de PHFS na dieta resultou em melhores resultados de desempenho produtivo (peso final, ganho em peso, conversão alimentar aparente, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica e taxa de retenção energética) para os alevinos de tilápia-do-Nilo, podendo atribuir à devida dieta propriedades bioativas que provavelmente atuaram como promotores do crescimento. Possivelmente, a dieta contendo este nível de inclusão, proporcionou maior biodisponibilidade dos nutrientes, de modo, a aumentar a capacidade de absorção da dieta e síntese dos tecidos, e portanto, influenciando positivamente no crescimento dos animais.

Lorenz (2017), avaliando níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno para juvenis de *Salminus brasiliensis*, verificou que a melhor suplementação de hidrolisado é de 140 g.kg<sup>-1</sup>. Sabe-se que mudança no tamanho, nível e composição de aminoácidos e peptídeos pode ocasionar a saturação do mecanismo de transporte para o intestino (Tonheim et al., 2005), resultando na diminuição da rota de absorção das membranas das microvilosidades intestinais, devido ao desequilíbrio de aminoácidos que intensifica a oxidação dessas moléculas orgânicas e redução da síntese proteica (Aragão et al., 2004). Por esse motivo, níveis apropriados de inclusão associados ao conhecimento da composição aminoacídica e perfil de peptídeos são imprescindíveis para o manifesto dos compostos bioativos dos hidrolisados.

A taxa de sobrevivência foi superior nos peixes que consumiram receberam as dietas contendo qualquer um dos níveis de PHFS frente à dieta controle. Este resultado é importante principalmente para esta fase de criação, pois uma maior sobrevivência resulta em maior produção de alevinos e maior retorno econômico. Possivelmente, a resposta obtida para esta variável produtiva pode estar relacionado ao processo de hidrólise que propicia o surgimento de peptídeos bioativos com baixo peso molecular, com propriedades bioativas tais como efeitos imunomoduladores, antimicrobiano e antioxidante (Zheng et al., 2012; Bui et al., 2014; Wosniak et al., 2016; Uczay, 2017). Esta é a fase de maior susceptibilidade do animal a doenças, pois os peixes estão em condições estressantes ao manejo produtivo. O mesmo comportamento foi demonstrado por Sary et al. (2017) que verificaram que as larvas de tilápia-do-Nilo alimentadas com níveis crescentes de hidrolisado proteico de resíduo de filetagem de tilápia apresentaram maiores taxas de sobrevivências.

A conversão alimentar aparente é um importante índice produtivo que tem como objetivo mensurar a eficiência do aproveitamento da ração pelos peixes. No presente trabalho, este parâmetro foi influenciado pelo uso de PHFS nas dietas. A dieta contendo 2% de PHFS apresentou o menor valor de CAA e uma melhor taxa de eficiência proteica, podendo estar relacionado a uma melhor eficiência metabólica dos animais quanto a utilização da proteína da dieta pelos peixes. Da mesma forma, Dieterich (2014), constatou que o incremento dos hidrolisados proteicos de fígado suíno e resíduo de tilápia melhorou a CAA e a TEP para juvenis de *Pseudoplastystoma corruscans*.

Os níveis de PHFS nas dietas fornecida não foram suficientes para alterar a taxa de retenção proteica aparente. As dietas contendo PHFS influenciaram a taxa de retenção energética aparente, contudo, o estoque energético não foi capaz de alterar o índice de gordura visceral, índice hepatossomático e a composição de extrato etéreo corporal. Apesar de não apresentar gordura corporal nos peixes, provavelmente esta reserva energética atuou como acúmulo de gordura muscular para o crescimento dos peixes.

A composição corporal dos peixes não foi influenciada pelo uso de PHFS nas dietas, corroborando com os resultados obtidos por Lewandowski et al. (2013) em trabalho com *Steindachneridion melanodermatum*, assim como, na pesquisa desenvolvida por Dieterich (2014) para o *Pseudoplastystoma corruscans*. No presente estudo, as dietas foram elaboradas para manterem-se isoproteicas e isoenergéticas, evitando alterações na composição centesimal dos animais.

A nutrição pode potencializar o efeito do crescimento muscular (Kousmans e Akster, 1995), que pode aumentar a concentração e disponibilidade de aminoácidos, mantendo as funções vitais do organismo, assim como, auxiliar na síntese de proteína (Houlihan et al., 1995). No presente estudo, os resultados obtidos demonstram que os níveis de inclusão de hidrolisado avaliados não influenciam na frequência de distribuição das fibras musculares em alevinos de tilápia-do-Nilo, sugerindo que o mecanismo da síntese proteica foi similar para o crescimento muscular das fibras em todos os tratamentos. Foi verificada a maior com diâmetros entre 20 e 50µm, sendo um indicativo da fase de alevinos, ocasionando o mecanismo de hipertrofia das fibras musculares, num padrão mosaico, com fibras de diferentes tamanhos (Almeida et al., 2010). Esse padrão de crescimento de massa muscular é de grande relevância para maximização do desempenho produtivo do animal, bem como, melhorar a qualidade da carne, produto final da criação de peixes.

O aumento das vilosidades intestinais está relacionado com a capacidade do aumento da absorção dos nutrientes (Junqueira e Carneiro, 2005). Apesar do processo de hidrólise gerar pequenos peptídeos e aminoácidos livres que podem ser facilmente absorvidos pelos animais (Wisuthiphaet et al., 2015), no presente estudo foi observado que as dietas contendo níveis crescentes de PHFS não acarretaram em alterações na histomorfometria do intestino de alevinos de tilápia-do-Nilo, sugerindo que as dietas ao entrarem em contato com o intestino, não ocorreu um desequilíbrio entre o processo de renovação celular e perda das células, determinando o turnover celular contante, ou seja, o animal não precisou gastar energia, mantendo a capacidade de assimilação por meio dos sítios de absorção destinando a energia para o crescimento dos peixes.

A avaliação quantitativa dos hepatócitos não apresentou diferença nos peixes alimentados com PHFS e o grupo controle, o que conseqüentemente justifica que o balanço nutricional das dietas pode ter contribuído para uma eficiente metabolização dos nutrientes ingeridos pelos alevinos de tilápia-do-Nilo. A integridade hepática apresentou influência devido aos níveis de PHFS suíno nos parâmetros morfológicos do tecido hepático. Contudo, foram observadas lesões hepáticas razoáveis, podendo estar relacionado com o atual sistema de criação, bem como, o fornecimento de alimento até a saciedade aparente, exigindo uma maior demanda do fígado para metabolizar os nutrientes.

Com relação à viabilidade econômica, ficou claro que o incremento dos percentuais de PHFS na composição da dieta aumentaram os valores do custo por quilo da ração. Apesar da alimentação representar o maior custo na produção intensiva de peixes (Gatlin et al., 2007), a incorporação dos hidrolisados aumentaram a receita líquida parcial em relação à dieta controle, demonstrando um input de valor em cima da nutrição do peixe, tendo uma maior sobrevivência e menor conversão alimentar gerando melhores resultados zootécnicos e garantindo a produtividade, sendo uma evidência que este ingrediente alternativo pode ser incluso em dietas para alevinos de tilápia-do-Nilo.

#### **4.7 Conclusão**

A inclusão de PHFS pode ser eficientemente utilizado, e sua inclusão de 2,91% é recomendada para máximo ganho em peso para a tilápia-do-Nilo na fase inicial de criação.

#### 4.8 Referências bibliográficas

- Alemayehu, T.A., Geremew, A., Getahun, A., 2018. The role of functional feed additives in Tilapia Nutrition. *Fisheries and Aquaculture Journal*, 9, 1-6. <https://doi:10.4172/2150-3508.1000249>.
- Almeida, F.L.A., Pessotti, N.S., Pinhal, D., Padovani, C.R., Leitão, N.J., Carvalho, R.F., Martins, C., Portella, M.C., Dal Pai-Silva, M., 2010. Quantitative expression of myogenic regulatory factors MyoD and myogenin in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) skeletal muscle during growth. *Micron*, 41, 997-1004. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2010.06.012>.
- Alves, D.R.S., Silva, T.C., Rocha, J.D.M., Oliveira, S.R., Signor, A., Boscolo, W. R., 2019a. Compelling palatability of protein hydrolysates for Nile tilapia juveniles. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47, 371–376. <https://doi.org/10.3856/vol47-issue2-fulltext-19>.
- Andrade, C.L., Rodrigues, F.S., Carvalho, D.P., Pires, S.F., Pires, M.F., 2015. Nutrição e alimentação de Tilápias do Nilo. *Nutritime*, 12, 4464-4469.
- AOAC – Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official methods of analysis of analyses of the Association Analytical Chemists. 18th ed. Gaithersburg: AOAC.
- Aragão, C., Conceição, L.E.C., Fyhn, H.J., Dinis, M.T., 2004. Estimated amino acid requirements during early ontogeny in fish with diferente life styles: gilthead seabream (*Sparus aurata*) and Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture*, 242, 589-605. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.09.015>.
- Bancroft, J.D., Stevens, A., 1982. Theory and practice of histological techniques. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone. p. 1-111.
- Bacelar R.G.A., Muratori, M.C.S., 2020. Utilização de resíduos de filetagem de tilápia na tecnologia de alimentos: uma revisão. *Revista Científica Rural* 22: 263-278. <https://doi.org/10.30945/rcv-v22i2.3278>
- Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., Wahli, T., 1999. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22(1), 25-34. <https://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2761.1999.00134.x>.

- 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.046>.
- 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, 3020 – 3038. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.100>.
- Cyrino, J.E.P., Bicudo, A.J.A., Sado, R.Y, Borghesi, R, Dairiki, J.K., 2010. A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39: 68-87.
- Deriggi, G.F., Luis Antonio, A.K.A.I., Moraes, G., 2006. Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of eugenol as an alternative anesthetic. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 28, 269-274.
- Dieterich, F., 2014. Desenvolvimento, avaliação físico-química e biológica de hidrolisado proteico de resíduos agroindustriais para surubim. Tese (doutorado). Universidade Estadual Paulista (Centro de Aquicultura). (p.74). Jaboticabal, São Paulo.
- Dieterich, F., Boscolo, W.R., Pacheco, M.T.B., Silva, V.S.N., Gonçalves, G.S., Vidotti, R.M., 2014. Development and characterization of protein hydrolysates originated from animal agro industrial byproducts. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, 1(2), 1-7.
- FAO, 2018. *The State of World Fisheries and Aquaculture* (p.227). Rome: FAO.
- FAO, 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture* (p.224). Rome: FAO.
- Furuya, W.M., 2010. Tabelas brasileiras para nutrição de tilápias. 100P. GFM, Toledo.
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. *Aquaculture Research*, 38, 551-579. <https://doi:10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>.
- Gilbert, E.R., Wong, E.A., Webb, Jr, K. E., 2008. Board-invited review: Peptide absorption and utilization: implications for animal nutrition and health. *Journal of Animal Science*, 86, 2135-2155. <https://doi:10.2527/jas.2007-0826>.

- Gisbert, E., Fournier, V., Solovyev, M., Skalli, A., Andree, K.B., 2018. Diets containing shrimp protein hydrolysates provided protection to European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) affected by a *Vibrio pelagius* natural infection outbreak. *Aquaculture*, 495, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.04.051>.
- Hagen, S.R., Frost, B., Augustin, J., 1989. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid-chromatography of amino-acids in food. *Journal of the association of official analytical chemists*, 72, 912-916.
- Hou, Y., Wu, Z., Dai, Z., Wang, G., Wu, G., 2017. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8, 1-13. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0153-9>.
- Houlihan, D.F., Pedersen, B.H., Steffensen, J.F., Brechin, J., 1995. Protein synthesis, growth and energetics in larval herring (*Clupea harengus*) at different feeding regimes. *Fish Physiology and Biochemistry*, 14, 195–208.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., 2005. *Histologia Básica*. 10 ed. Rio de Janeiro, Guanabara.
- Khosravi, S., Rahimnejad, S., Herault, M., Fournier, V., Lee, C., Bui, H. T. D., Jeong, J., Lee, K., 2015. Effects of protein hydrolysates supplementation in low fish meal diets on growth performance, innate immunity and disease resistance of red sea bream *Pagrus major*. *Fish & Shellfish Immunology*, 45, 858-868. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.039>.
- Koumans, J.T.M., Akster, H.A., 1995. Myogenic cells in development and growth of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology: Part A: Physiology*, 110, 3-20.
- Lewandowski, L., Decarli, J.A., Peron, F. DE A., Signor, A., Boscolo, W.R., 2013. Hidrolisados cárneos na alimentação do surubim do Iguaçu (*Steindachneridion melanodermatum*). *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 20, 222-226. <https://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2014.008>.
- Lorenz, E.K., 2017. Hidrolisados proteicos na alimentação de juvenis de dourado *Salminus brasiliensis*. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”). (p. 81). Piracicaba, São Paulo.
- Makwinja, R., Geremew, A., 2020. Roles and requirements of trace elements in tilapia nutrition: Review. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46, 281-287. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.05.001>.

- Mullen, A.M., Álvarez, C., Zeugolis, D.I., Henschion, M., O'Neill, E., Drummond, L., 2017. Alternative uses for co-products: Harnessing the potential of valuable compounds from meat processing chains. *Meat Science*, 132, 90 – 98. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.243>.
- Ng, W. K., Romano, N., 2013. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. *Reviews in Aquaculture*, 5, 220-254. <https://doi:10.1111/raq.12014>.
- National Research Council (NRC). 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. The national academies press, 379.
- Pihlanto-Leppälä, A., 2000. Bioactive peptides derived from bovine whey proteins: Opioid and ace-inhibitory peptides. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 347 – 356. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00003-6](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00003-6).
- 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. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0858-6>.
- Sánchez, A., Vásquez, A., 2017. Bioactive peptides: A review. *Food Quality and Safety*, 1, 29-46. <https://doi.org/10.1093/fqs/fyx006>.
- Sary, C., De Paris, L.D., Bernadi, D.M., Lewandowski, V., Sinor, A., Boscolo, W.R., 2017. Tilapia by-product hydrolysate poder in diets for tilapia larvae. *Acta Scientiarum*, 39, 1-6. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v39i1.32805>.
- Stuart, K.R., Barrows, F.T., Silbernagel, C., Alfrey, K., Rotstein, D., Drawbridge., 2020. Complete replacement of fish oil and fish meal in the diet of juvenile California yellowtail *Seriola dorsalis*. *Aquaculture Research*, 52, 655-665. <https://doi:10.1111/are.14923>.
- SINDIRAÇÕES. Boletim informativo do setor. 2022. Disponível em: [https://sindiracoes.org.br](https://https://sindiracoes.org.br). Acesso em 02 de Junho de 2022.
- Tonheim, S.K., Espe, M., Hamre, K., Ronnestad, I., 2005. Pre-hydrolysis improves utilisation of dietary protein in the larval teleost Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 321, 19-34. <https://doi:10.1016/j.jembe.2004.12.036>.
- Uczay, J., 2017. Utilização de hidrolisados de origem animal e vegetal em dietas para juvenis de jundiá. 96 f. Trabalho de conclusão de curso (Doutorado). Universidade do estado de Santa Catarina (Centro de Ciências Agroveterinárias). Lages, Santa Catarina.

- White, J.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. Autom. Chem*, 8, 170-177.
- Wisuthiphaet, N., Kongruang, S., Chamcheum, C., 2015. Production of fish protein hydrolysate by acid and enzymatic hydrolysis. *Journal of Medical and Bioengineering*, 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*). *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 44, 957-966. <https://doi.org/10.3856/vol44-issue5-fulltext-8>.
- Zheng, K., Liang, M., Yao, H., Wang, J., Chang, Q., 2012. Effect of dietary fish protein hydrolysate on growth, feed utilization and IGF-I levels of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture Nutrition*. 18, 297–303. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00896.x>.

## 5.0 ARTIGO II

### **Atratividade e palatabilidade da proteína hidrolisada de fígado suíno em dietas para alevinos de dourado (*Salminus brasiliensis*) e tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

Este artigo é parte da tese intitulada “Hidrolisado proteico de fígado suíno em dietas para alevinos de dourado (*Salminus brasiliensis*) e tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)” e está formatado de acordo com as normas da revista *Aquaculture research*, <https://onlinelibrary.wiley.com/journal/13652109>

## **Artigo II: Atratividade e palatabilidade da proteína hidrolisada de fígado suíno em dietas para alevinos de dourado (*Salminus brasiliensis*) e tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

### **5.1 Resumo**

Uma adequada formulação das dietas atrelada a compostos químicos solúveis em água, representados pelos aminoácidos livres, juntamente com peptídeos de baixo peso molecular, apresentam papel essencial em atrair o peixe ao alimento e estimular o consumo. O objetivo do presente estudo foi determinar índice de palatabilidade (IP) de dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) para alevinos de dourado e tilápia-do-Nilo. Foram utilizados 12 alevinos de dourado ( $7,89 \pm 1,05$  g) e 12 alevinos de tilápia-do-Nilo ( $2,80 \pm 0,17$  g). Cada espécie foi distribuída em 12 aquários com volume de 10 litros. Foram elaboradas seis dietas, sendo uma ração controle, contendo farinha de resíduo de tilápia (FPRT), e outras cinco dietas com níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS – 1; 2; 3; 4 e 5%). Os dourados e as tilápias-do-Nilo foram alimentadas duas vezes ao dia com a mesma quantidade de ração em todos os aquários. Com auxílio de uma câmera digital foram analisados os seguintes comportamentos alimentares: tempo de captura do 1º pelete (s); número de rejeição do pelete após captura; número de aproximações sem captura do pelete; e número de peletes consumidos. Não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) para os respectivos parâmetros. Todas as dietas apresentam compostos químicos solúveis em água, resultando em um potencial estimulante alimentar. Recomenda-se a inclusão de 5% de PHFS para ambas as espécies.

**Palavras-chave:** ingrediente alternativo; lixiviação de nutrientes; nutrição animal; quimiorrecepção; subprodutos da carne.

**Article II: Attractability and palatability of swine liver hydrolysate protein in diets for dourado (*Salminus brasiliensis*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings**

**5.2 Abstract**

An adequate diet formulation linked to water-soluble chemical compounds, represented by free amino acids, together with low molecular weight peptides, play an essential role in attracting fish to the food and stimulating consumption. The aim of the present study was to determine the palatability index (PI) of diets containing increasing levels of swine liver hydrolysate protein (PHFS) for dourado and Nile tilapia fingerlings. Twelve dourado fingerlings ( $7.89 \pm 1.05$  g) and 12 Nile tilapia fingerlings ( $2.80 \pm 0.17$  g) were used. Each species was distributed in 12 aquariums with a volume of 10 liters. Six diets were prepared, being a control diet, containing tilapia residue meal (FPRT), and another five diets with increasing levels of hydrolyzed pork liver protein (PHFS – 1; 2; 3; 4 and 5%). Dorado and Nile tilapia were fed twice a day with the same amount of feed in all aquariums. With the aid of a digital camera, the following feeding behaviors were analyzed: time of capture of the 1st pellet (s); pellet rejection number after capture; number of approaches without pellet capture; and number of pellets consumed. No differences ( $P > 0.05$ ) were observed for the respective parameters. All diets feature water-soluble chemical compounds, resulting in a potential food stimulant. The inclusion of 5% PHFS is recommended for both species.

**Keywords:** alternative ingredient; nutrient leaching; animal nutrition; chemiorreception; meat by-products.

### 5.3 Introdução

A carne suína vem ganhando espaço no mercado consumidor devido ao seu alto valor nutritivo de forma a se consolidar no fornecimento de proteína animal. O Brasil ocupa a 4º posição no ranking mundial em produção e exportação de carne suína (ABPA, 2021). A produção de suínos cresce continuamente, assim como, a geração de resíduos da industrialização da carne suína tais como vísceras, carcaças e órgãos internos (Tápparo et al., 2019). Esses coprodutos despertam o interesse da indústria alimentícia e cosmética devido as potencialidades de transformações em produtos que agregam valor e aumentem a rentabilidade econômica da cadeia produtiva, além de resolver o problema quanto a questão com o descarte dos resíduos (Toldrá et al., 2016).

A aquicultura cresce em ritmo acelerado (FAO, 2020). Dentro os segmentos desta atividade, destaca-se a piscicultura no fornecimento de proteína de origem animal com alto valor biológico. Para atender à crescente demanda desta atividade, é de grande relevância adotar estratégias nutricionais e utilizar ingredientes alternativos adequados para formular rações que atendam às exigências nutricionais das espécies alvos e garantir a sustentabilidade do crescimento da cadeia produtiva de peixes (Cyrino et al., 2010; Godoy et al., 2016).

A substituição de fontes tradicionais de proteínas por ingredientes alternativos que podem fornecer proteína a baixo custo e com um alto valor nutricional são necessários para elaboração de rações para alimentação dos peixes (FAO, 2018). Nos últimos anos, a indústria aquafeed vem avaliando ingredientes com potencial e características desejáveis para serem inclusos na formulação de rações destinadas à piscicultura. A farinha de resíduo da indústria de filetagem de tilápias é um alimento proteico com boa disponibilidade de nutrientes (Boscolo et al., 2008), e com potencial para inclusão em rações. Coprodutos agroindustriais do processamento de suínos a base de fígado suíno apresenta potencial para ser empregado na nutrição de peixes por apresentar fontes ricas em nutrientes necessários, como proteínas, aminoácidos, minerais e vitaminas (Toldrá, 2011).

A boa qualidade biológica e o baixo custo desta matéria-prima tem potencialidade para a produção de hidrolisado proteico por meio do emprego da biotecnologia que melhora a propriedade química e funcional deste coproduto (Mullen et al., 2017), apresentando características adequadas para o uso na nutrição de peixes.

Assim, o hidrolisado proteico consiste na clivagem da proteína em moléculas menores de polipeptídeos e aminoácidos, cujo método pode ocorrer pela ação enzimática, ácida ou alcalina (Pasupuleti et al., 2008).

Na aquicultura, os estudos com proteína hidrolisada de fígado suíno são recentes e têm se mostrado favorável, resultando em benefícios ao crescimento dos peixes, qualificando como uma fonte proteica altamente digestível (Lewandowski et al., 2013; Dieterich, 2014; Lorenz et al., 2018; Lorenz et al., 2021; Cardoso et al., 2021).

Para maximizar o desempenho produtivo das espécies, consolidar a cadeia produtiva da aquicultura na produção de proteína animal e ter lucratividade na atividade, é necessário o desenvolvimento de dietas altamente balanceadas a fim de atender às exigências nutricionais dos animais. Para isso, a atratividade e palatabilidade é um ponto chave para se formular rações, em virtude de determinar o comportamento alimentar do animal frente a ingestão ou rejeição de um alimento (Silva & Pezzato, 2000).

O dourado (*Salminus brasiliensis*) e a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) apresentam características zootécnicas favoráveis para a criação (Weingartner & Zanboni-Filho, 2013; Brito et al., 2017). A realização deste estudo é de suma importância, pois a atratividade e palatabilidade são pontos-chaves para o desenvolvimento de estratégias nutricionais seguras, a fim de maximizar os aspectos produtivos, promover a resistência imunológica dos peixes, mitigar o impacto ambiental e custos de produção.

Desta maneira, o objetivo do presente trabalho foi determinar o índice de palatabilidade de dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) na alimentação de alevinos de dourado e tilápia-do-Nilo.

## **5.4 Material e métodos**

### *5.4.1 Nota ética e delineamento experimental*

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquicultura do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura – GEMAq, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste – Toledo, PR, Brasil (24° 43' 27.9" S e 53° 45' 10.1" W). O período experimental foi de 16 dias para cada modelo biológico, sendo para os alevinos de tilápia-do-Nilo (dezembro de 2019 a janeiro de 2020) e para os alevinos de dourado (janeiro de 2021 a fevereiro de 2021). O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da mesma instituição sob o protocolo (n° 12/20).

Foram utilizados 12 alevinos de dourado (*Salminus brasiliensis*) com peso médio inicial de  $7,89 \pm 1,05$ g, e 12 alevinos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) com peso médio inicial de  $2,80 \pm 0,17$  g. Cada modelo biológico foram distribuídos em 12 aquários sendo um peixe por unidade experimental. Cada aquário possuía um volume de 10L revestidos com material impermeabilizante à base de látex, com o intuito de isolar os animais da movimentação rotineira do laboratório a fim de minimizar possíveis efeitos sobre o comportamento dos peixes. Os aquários continham individualmente sistema de aeração, controle de temperatura (termostato de 15 watts) e iluminação, respeitando seu ciclo natural (12L:12E do fotoperíodo). Cada unidade experimental possuía uma tampa transparente com um orifício no centro para a adição dos peletes.

Os peixes passaram por um período de adaptação e treinamento de dez dias para que os animais se adaptassem a presença humana, para o registro de comportamento alimentar, quantificação de pelete necessário à sua saciedade aparente, horários de alimentação e manejo dos aquários. Neste período, os peixes foram alimentados até a saciedade aparente duas vezes ao dia nos horários (10h00min e 15h00min) com uma ração comercial com 40% de proteína bruta e diâmetro do pelete de 1,0mm.

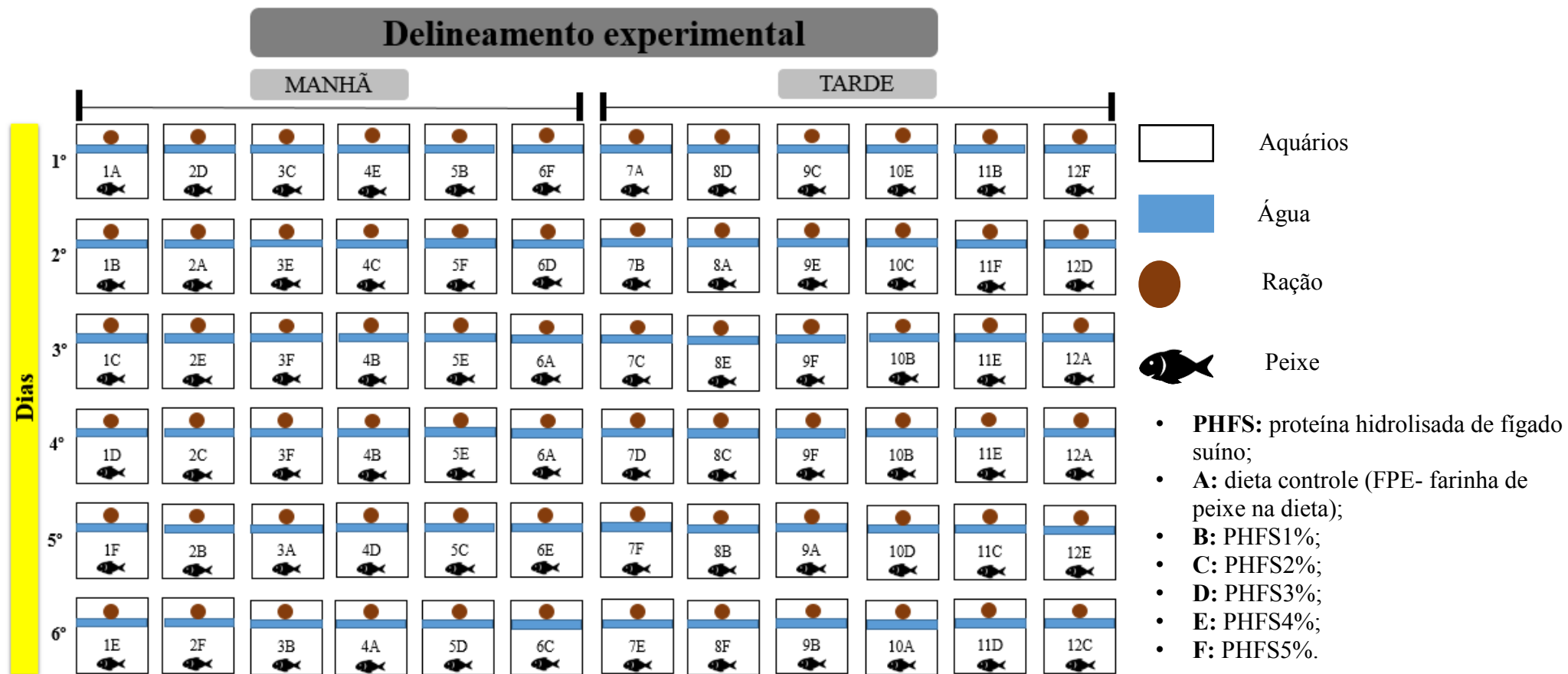
As alimentações foram divididas em duas etapas (manhã e tarde) em consequência do parâmetro comportamental referente ao período de trato (alimentação) dos indivíduos ser um fator de condição para a seleção do alimento. Para isso, essa metodologia do treinamento alimentar permitiu observar que ambas as espécies consumiram em média cerca de 20 peletes por refeição.

Diariamente, todos os aquários foram sifonados para remoção de excretas e/ou restos alimentares e então foi realizado a renovação da água (30%). O delineamento experimental foi do tipo quadrado latino com duas medidas repetidas (manhã e tarde), distribuídos de forma inteiramente casualizado nas respectivas unidades experimentais. Esse planejamento experimental foi selecionado por proporcionar o controle simultâneo das variações individuais dos peixes e da ordem de oferta das dietas experimentais, visto que, cada peixe recebeu em alternância entre os seis dias, cada uma das dietas (Sampaio, 2002). Como existiam à disposição 12 aquários, o quadrado latino foi realizado com duas réplicas para ambas as espécies (Figura 1).

Foi estabelecido um período de três minutos de filmagem para cada alimentação realizada com uma câmera modelo GoPro® Hero 5 Black 12 MP 4K, assim que a dieta foi introduzida nos aquários de observação. A câmera foi instalada fora do aquário e acoplada em um tripé específico para a mesma. A mesma era retirada e colocada no

próximo aquário. Para ambos os estudos, o ensaio teve a duração de seis dias, obtendo-se 288 filmagens (12 peixes x seis alimentações, dois ensaios ao dia), para cada alimento testado houve 72 ensaios de alimentação.

O monitoramento das variáveis físico-químicas foi realizado durante o período experimental, sendo mensuradas diariamente a temperatura da água ( $29,00 \pm 0,36$  °C), oxigênio dissolvido ( $5,41 \pm 0,61$  mg.L<sup>-1</sup>) e pH ( $7,05 \pm 0,26$ ), com o auxílio de uma sonda multiparâmetro (YSI, Pro Plus, Yellow Springs-Ohio, USA). Os parâmetros de qualidade da água mantiveram-se na faixa ideal para o desenvolvimento de ambas as espécies.



**Figura 1.** Delineamento experimental.  
 Fonte: Ricácio Gomes.

#### 5.4.2 Dietas experimentais

Foram elaboradas seis dietas, cinco contendo níveis crescentes de inclusão da proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS – 1, 2, 3, 4 e 5%), e uma dieta controle contendo farinha de peixe de resíduo de tilápia (FPRT). As dietas foram formuladas através do programa Supercrack®, sendo isoenergéticas (3.250 Kcal de energia digestível.kg da dieta<sup>-1</sup>) e isoproteicas (40% de proteína bruta), de acordo com Furuya (2010) e NRC (2011) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Composição percentual e centesimal das rações experimentais contendo diferentes níveis de inclusão de proteína hidrolisada de fígado suíno para alevinos de dourado e tilápia-do-Nilo.

Ingredientes	Dietas contendo níveis crescentes de PHFS (%)					
	0	1	2	3	4	5
Farinha de penas	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Farinha de sangue	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Farinha de vísceras de aves	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Farelo de soja 48%	16,33	15,99	15,65	14,31	14,96	14,62
Farinha de tilápia	5,00	4,00	3,00	2,00	1,00	0,00
Fígado suíno	0,00	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00
Fubá de milho	34,13	34,16	34,16	34,20	34,23	34,27
Arroz quirera	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	0,59	0,65	0,71	0,78	0,84	0,90
Premix <sup>1</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Calcário	0,11	0,21	0,30	0,40	0,50	0,60
Fosfato bicalcico	0,35	0,49	0,62	0,76	0,89	1,02
Cloreto de colina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Antifungico	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Vitamina C	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
L-lisina HCL	0,08	0,09	0,11	0,12	0,13	0,14
L-triptofano	0,01	0,02	0,02	0,03	0,04	0,05
DL-metionina	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
<b>Nutrientes (%)</b>						
Ácido linoleico	1,82	1,84	1,86	1,88	1,90	1,92
Amido	25,60	25,61	25,62	25,63	25,64	25,65
Energia digestível tilápia (Kcal)	3250	3250	3250	3250	3250	3250
Proteína bruta	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
Fibra bruta	1,30	1,29	1,27	1,26	1,25	1,23
Fósforo total	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Gordura total	6,01	6,09	6,17	6,25	6,33	6,41
Cálcio	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50

Matéria mineral	6,20	6,06	5,92	5,77	5,63	5,48
Vitamina C	490,00	490,00	490,00	490,00	490,00	490,00
Colina	1200	1200	1200	1200	1200	1200
Arginina total	2,60	2,57	2,53	2,50	2,46	2,43
Fenilalanina + tirosina total	3,24	3,23	3,22	3,21	3,20	3,19
Histidina total	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
Isoleucina total	1,55	1,55	1,54	1,54	1,54	1,54
Leucina total	3,07	3,07	3,07	3,07	3,07	3,07
Lisina total	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13
Metionina total + cisteína total	1,57	1,57	1,57	1,57	1,57	1,57
Metionina total	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
Treonina	1,69	1,69	1,68	1,67	1,66	1,65
Triptofano	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Valina	2,31	2,31	2,31	2,31	2,31	2,31

#### Composição química (Matéria natural %)

Energia bruta (Kcal)	4468	4409	4555	4506	4609	4493
Matéria seca	95,46	94,36	96,05	95,35	95,55	93,97
Proteína bruta	52,65	49,18	51,11	50,27	50,70	51,80
Extrato etéreo	6,01	6,09	6,17	6,25	6,33	6,41
Matéria mineral	7,21	7,36	7,45	7,79	7,69	7,30

<sup>1</sup>Níveis de garantia por quilograma do produto: vit. A - 500.000 UI; vit. D3 - 200.000 UI; vit. E - 5.000 mg; vit. K3 - 1.000 mg; vit. B1 - 1.500 mg; vit. B2 - 1.500 mg; vit. B6 - 1.500 mg; vit. B12 - 4.000 mg; ácido fólico - 500 mg; pantotenato de cálcio - 4.000 mg; vit. C - 15.000 mg; biotina - 50 mg; inositol - 10.000; nicotinamida - 7.000; colina - 40.000 mg; cobalto - 10 mg; cobre - 500 mg; ferro - 5.000 mg; iodo - 50 mg; manganês - 1.500 mg; selênio - 10 mg; zinco - 5.000 mg.

\* Hidrolisado de proteína em pó produzido por meio de um processo de hidrólise enzimática e fornecido pela empresa BRF Ingredient's® (Concórdia – SC, Brasil).

Para a produção das rações, os macroingredientes foram triturados em moinho tipo martelo (Moinhos Vieira, modelo MS 280, Tatuí – São Paulo, Brasil) em peneira de malha 0,3 mm de diâmetro. Uma pré-mistura foi combinada e misturados com o hidrolisado proteico e demais ingredientes. A umidade da mistura foi ajustada para (20 a 22%). A mistura obtida foi extrusada (Exteec Máquinas, Ribeirão Preto – São Paulo, Brasil) a 100°C em matriz de 1 mm de diâmetro, e os grânulos resultantes foram secos a 55°C por 24 horas em estufa de ventilação forçada.

As quantidades de óleo de soja incluída nas dietas experimentais variaram (0,59 a 0,90%). Após a secagem das dietas foi feita o óleo de soja foi adicionado a massa resultante por meio de aspersão e as dietas foram colocadas por 10 minutos em um misturador mecânico tipo “Y”, (modelo MA 200, marca Marconi Equipamentos Laboratoriais, Piracicaba – SP, Brasil), e por fim armazenada em freezer (-20°C) até serem utilizadas.

#### 5.4.3 Análises químicas

A composição centesimal das dietas foi determinada pela metodologia proposta pela AOAC (2005). As análises de energia bruta foram realizadas com o auxílio da bomba calorimétrica (IKA® C2000). Essas análises foram realizadas no Laboratório de Qualidade de Alimentos – LQA do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura – GEMaQ – da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE. As análises de aminoácidos totais das dietas (Tabela 2) foram determinadas pelo método MA-009 (White et al., 1986; Hagen et al., 1989) por um laboratório comercial (CBO Análises Laboratoriais Ltda., Valinhos – SP).

**Tabela 2.** Composição dos aminoácidos ( $\text{g.kg}^{-1}$ ) das dietas experimentais.

AA(%)	Dietas contendo níveis crescentes de PHFS (%)					
	0	1	2	3	4	5
<i>Essenciais</i>						
Arginina	3,22	2,76	3,38	2,75	2,78	3,2
Fenilalanina	1,47	1,86	1,35	2,01	2,05	1,38
Histidina	0,84	0,86	0,81	1,01	1,09	0,74
Isoleucina	1,18	1,59	1,10	1,53	1,50	1,09
Leucina	2,80	3,30	2,57	3,62	3,70	2,57
Lisina	2,43	1,91	2,25	2,12	2,20	2,31
Metionina	0,75	0,89	0,71	0,89	0,88	0,71
Treonina	1,54	1,7	1,39	1,70	1,75	1,37
Valina	1,88	2,14	1,74	2,35	2,33	1,76
<i>Não essenciais</i>						
Ácido Aspártico	2,53	3,34	2,22	3,30	3,62	2,48
Ácido Glutâmico	5,06	5,12	4,74	5,16	5,22	4,94
Alanina	4,00	2,18	4,26	2,38	2,44	3,99
Cistina	0,50	1,02	0,39	0,96	0,97	0,46
Glicina	6,62	2,86	7,47	2,94	2,91	6,94
Histidina	0,84	0,86	0,81	1,01	1,09	0,74
Prolina	4,16	2,73	4,63	2,66	2,70	4,26
Serina	1,84	2,64	1,70	2,56	2,61	1,74
Taurina	0,09	ND	ND	ND	ND	0,08
Tirosina	1,02	1,31	0,92	1,38	1,37	0,96
<i>Total de aminoácidos</i>	41,93	38,21	41,7	39,12	40,12	40,98

AA(%)= Aminoácidos totais; ND= Não detectado.

#### 5.4.4 Avaliação do índice de palatabilidade

Após a coleta dos dados, as filmagens foram examinadas com o propósito de analisar os posteriores comportamentos alimentares: a) número de peletes consumidos; b) número de rejeição do pelete após captura; c) número de aproximação sem haver a captura do pelete; e d) tempo de captura do primeiro pelete.

O ensaio de palatabilidade foi realizado por meio da metodologia descrita por Kasumyan e colaboradores (Kasumyan & Morsi, 1996; Kasumyan & Doving, 2003). Estes autores indicaram o índice de palatabilidade como um cálculo aproximado da preferência gustativa (em porcentagem) empregando a seguinte fórmula:

$$IP = ((R-C)/(R+C)) * 100;$$

no qual:

IP = Índice de palatabilidade;

R = Consumo de peletes da ração teste; e

C = Consumo de peletes da ração controle.

Sendo assim, o índice de palatabilidade foi calculado para cada tratamento.

#### 5.4.5 Análise estatística

Os dados das variáveis do comportamento alimentar foram observados quanto a normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Teste de Levene) foram checados, e a partir disto os dados foram submetidos à análise de variância fatorial, a fim de verificar diferenças na interação dos níveis crescentes de inclusão de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) e período (manhã e tarde) e, quando apresentaram diferenças significativas foi realizado o teste de comparação de médias de Tukey, em nível de 5% de significância com auxílio do software *Statistic 7.1*<sup>®</sup>.

### 5.5 Resultados

Todas as dietas contendo proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) apresentaram valores positivos para o índice de palatabilidade para ambas as espécies. As variáveis de consumo de peletes (%), número de rejeição de peletes após a captura do pelete, número de aproximação sem haver a captura de pelete e tempo de captura do primeiro pelete (s) apresentaram resultados semelhantes ( $P > 0,05$ ) não apresentaram interação entre os fatores, diferenças entre período do dia e dietas contendo níveis crescentes de proteínas hidrolisadas de fígado suíno ( $P > 0,05$ ) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Comportamento alimentar de alevinos de dourado e tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS).

Espécies	Variáveis*	Período	Níveis crescentes de PHFS (%)						Probabilidade (P-valor)		
			0	1	2	3	4	5	AL <sup>7</sup>	P <sup>8</sup>	I <sup>9</sup>
Dourado ( <i>Salminus brasiliensis</i> )	CP <sup>1</sup> (%)	M <sup>5</sup>	64,17 ± 8,48	66,25 ± 9,56	65,42 ± 9,88	65,83 ± 10,41	67,08 ± 12,15	72,08 ± 11,96	0,11	0,09	0,89
		T <sup>6</sup>	65,00 ± 10,00	66,67 ± 10,94	69,17 ± 11,04	72,08 ± 7,22	72,08 ± 10,76	73,33 ± 8,88			
	NR <sup>2</sup>	M	2,00 ± 0,74	2,17 ± 0,72	2,08 ± 0,79	2,08 ± 0,67	2,17 ± 0,83	1,83 ± 0,83	0,85	0,92	0,96
		T	2,08 ± 0,79	2,00 ± 0,74	2,17 ± 0,72	2,25 ± 0,87	2,00 ± 0,85	1,92 ± 0,79			
	NAPROX <sup>3</sup>	M	2,58 ± 1,08	2,33 ± 0,98	2,33 ± 0,78	2,00 ± 0,85	1,83 ± 0,83	2,08 ± 0,90	0,49	0,13	0,71
		T	2,08 ± 0,90	2,08 ± 0,79	1,92 ± 1,00	1,92 ± 0,79	2,08 ± 0,79	1,75 ± 0,62			
	TCP <sup>4</sup> (s)	M	20,25 ± 3,52	20,42 ± 3,00	19,42 ± 2,68	19,83 ± 3,21	19,50 ± 2,88	19,67 ± 2,46	0,93	0,74	0,87
		T	19,83 ± 3,21	20,25 ± 3,28	20,08 ± 2,75	19,67 ± 3,37	20,92 ± 2,15	19,33 ± 2,61			
Tilápia-do- Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	CP <sup>1</sup> (%)	M	80,00 ± 16,24	81,67 ± 14,97	83,33 ± 13,03	85,42 ± 11,57	87,92 ± 10,97	89,17 ± 9,49	0,11	0,69	0,88
		T	79,17 ± 9,73	83,75 ± 11,31	88,33 ± 10,08	87,50 ± 9,65	86,67 ± 9,13	86,67 ± 10,30			
	NR <sup>2</sup>	M	2,08 ± 0,79	2,00 ± 0,74	1,92 ± 0,79	1,75 ± 0,75	1,75 ± 0,75	1,83 ± 0,83	0,78	1,00	0,99
		T	2,00 ± 0,74	2,00 ± 0,74	2,00 ± 0,74	1,92 ± 0,67	1,92 ± 0,67	1,75 ± 0,87			
	NAPROX <sup>3</sup>	M	1,92 ± 0,79	1,92 ± 0,79	1,92 ± 0,90	1,83 ± 0,72	1,75 ± 0,75	1,83 ± 0,83	0,97	0,84	1,00
		T	2,00 ± 0,74	1,92 ± 0,79	1,92 ± 0,79	1,92 ± 0,90	1,83 ± 0,83	1,75 ± 0,87			
	TCP <sup>4</sup> (s)	M	1,92 ± 0,67	1,83 ± 0,83	1,92 ± 0,79	2,08 ± 0,67	1,92 ± 0,79	2,08 ± 0,79	0,96	0,91	0,99
		T	2,00 ± 0,74	1,83 ± 0,72	1,92 ± 0,79	2,00 ± 0,74	2,00 ± 0,74	1,92 ± 0,79			

PHFS= Proteína hidrolisada de fígado suíno.

<sup>1</sup>Consumo de peletes; <sup>2</sup>Número de rejeição de pelete após a captura; <sup>3</sup>Número de aproximação sem haver a captura do pelete; <sup>4</sup>Tempo de captura do primeiro pelete; <sup>5</sup>Manhã; <sup>6</sup>Tarde; <sup>7</sup>Alimento; <sup>8</sup>Período; <sup>9</sup>Interação.

## 5.6 Discussão

No presente estudo, observou-se uma sequência de comportamento alimentar de alevinos de dourado e tilápia-do-Nilo composta por reações de procura, movimentação de busca, detecção, ataque, captura, deglutição e rejeição.

No atual estudo, as dietas contendo níveis crescentes de PHFS incrementaram o índice de palatabilidade para ambas as espécies, demonstrando sua elevada propriedade nutricional (substâncias aminoacídicas fortemente solúveis em água encontrados nos hidrolisados) que desperta a sensibilidade do sistema de quimiorrecepção (olfato) dos alevinos de dourado a localizarem o alimento (Halver & Hardy, 2002), de modo, que esses compostos químicos agiram como atrativos e palatabilizantes promovendo o consumo alimentar dos peixes.

Em se tratando do dourado, a utilização desse ingrediente alternativo em dietas aquícolas se torna uma estratégia nutricional interessante principalmente para espécies carnívoras que exigem um alto teor de proteína na ração (Oliva-Teles et al., 2015), bem como, no custo de produção (NRC, 2011).

O aumento dos níveis de PHFS nas dietas não influenciou o parâmetro referente ao número de rejeição do pelete após a captura para as duas espécies, sendo que o dourado e a tilápia-do-Nilo apresentaram um número médio de 2,07 e 1,93 de péletes rejeitados por trato (quantidade média de rejeição) semelhante a dieta controle. Foi verificado, que após os alevinos de dourado capturarem os peletes, bem como, os alevinos de tilápia-do-Nilo, os mesmos passaram por um determinado período na boca dos peixes definido como tempo de retenção (Kasumyan & Mikhailova, 2018), bem como, foi constatada uma série de rejeições, particularidade de muitos peixes (Mikhailova & Kasumyan, 2016).

Dessa forma, sugere-se que os diferentes níveis de suplementação de PHFS (composição aminoacídica) e a dieta controle não inibiram a detecção de substâncias estimulantes, o que melhorou a taxa de ingestão e o índice de palatabilidade.

Os aminoácidos desempenham papel importante no fornecimento de substâncias químicas (incitantes e estimulantes) sobre o sistema extraoral e oral dos peixes (Kasumyan & Dövin, 2003). A atratividade é um requisito essencial nas dietas dos peixes, pois é um dos fatores que influencia se o animal será capaz de responder a estímulos olfativos por meio de processos de movimentação (natação) em busca de determinada fonte quimioatrativa (Barnad, 2006).

Valentinčič (2004) enfatiza que os peixes têm um sistema quimiossensorial extremamente sensível aos aminoácidos, sendo capazes de detectarem milhares de odores por via de células receptoras que transmitem sinais (axônios) para o bulbo olfatório, que em associação com o reflexo encefálico fornecem informações sobre as substâncias incitantes.

No presente estudo, todas as dietas proporcionaram um número de aproximação sem captura do pelete menor que a dieta controle, entretanto, não afetaram o respectivo comportamento alimentar, sugerindo que as duas espécies foram capazes de detectarem as fontes quimioatrativas, de modo, a estimularem o sistema olfativo dos peixes.

De forma similar, outras pesquisas foram conduzidas com o intuito de avaliar compostos químicos em dietas para peixes, em respostas aos comportamentos alimentares. Nesse sentido, Alves et al. (2019a), testaram subprodutos de aves (vísceras e penas) e suínos (miúdos) na dieta para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) e demonstraram que os peixes que receberam as dietas contendo proteína hidrolisada de frango e fígado suíno apresentaram um menor número de aproximação sem captura do pelete em relação a dieta controle (farinha de peixe).

Sabe-se que os hidrolisados proteicos são obtidos após a conversão enzimática ou química de proteínas intactas, gerando um produto com uma composição físico-química rica em aminoácidos (Dieterich et al., 2014). Assim, em função da importante função dos processos hidrolíticos sobre o fornecimento destes compostos químicos, salienta-se a importância da realização de novos estudos com o intuito de ter o entendimento sobre o comprimento e sequência de aminoácidos, visto que, esses fatores podem neutralizar as fontes quimioatrativas.

A avaliação de um ingrediente depende de sua composição química, digestibilidade, atratividade e palatabilidade, além de suas propriedades físicas. Como resultado, estratégias nutricionais baseadas nestes aspectos influenciarão positivamente na máxima utilização dos nutrientes, e conseqüentemente, no crescimento dos animais (Glencross et al., 2007).

O efeito sinérgico entre atratividade e palatabilidade sobre as dietas é um elemento chave para reduzir o tempo que os peixes gastam para ingerir o alimento, restringindo a lixiviação dos nutrientes e mitigando a degradação do ambiente de criação (Cyrino et al., 2000).

É notório que a nutrição está diretamente atrelada ao sucesso produtivo sobre aspectos do crescimento e rentabilidade na criação de peixes (Furuya, 2010). De maneira

geral, a proteína é o nutriente mais dispendioso na formulação de dietas, sendo responsável por 70% dos custos de produção (Cyrino, 2000). Dessa forma, o comportamento alimentar referente a resposta gustativa (olfato) é de suma importância para avaliar a atratividade do alimento, visto que, a rápida procura e captura da ração reduz a perda de nutrientes que está associada a redução dos custos (Tacon & Foster, 2003).

O aumento dos níveis de PHFS nas dietas não influenciaram ( $P>0,05$ ) o comportamento alimentar referente ao tempo de captura do 1º pelete. Apesar da ausência de diferença significativa, foi observado que todas as dietas contendo o ingrediente teste reduziram o tempo médio em segundos de captura do pelete em relação à dieta controle. Percebe-se que a suplementação das dietas contendo níveis de PHFS apresentou substâncias incitantes (compostos aminoacídicos) que estimularam a imediata assimilação do alimento, podendo ser um indicativo do desenvolvimento do sistema extraoral dos peixes (Kasumyan & Dövin, 2003).

Os resultados deste estudo demonstraram que as dietas contendo níveis crescentes de proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS) tiveram a capacidade de atrair e estimular o consumo alimentar de alevinos de dourado e tilápia-do-Nilo.

O entendimento do comportamento alimentar do dourado e da tilápia-do-Nilo quanto ao uso de hidrolisado torna-se necessário para o desenvolvimento seguro de estratégias nutricionais, visto que, existem ausências de informações sobre o uso da proteína hidrolisada de fígado suíno na nutrição das espécies. É necessário a realização de novos estudos sobre preferência alimentar (sistema gustativo), desempenho e respostas fisiológicas em diferentes fases de criação do dourado e da tilápia-do-Nilo, bem como, outras espécies de cunho comercial.

## **5.7 Conclusão**

As dietas contendo proteína hidrolisada de fígado suíno estimulam o sistema extraoral e oral dos alevinos de dourado e tilápia-do-Nilo, assim, refletindo positivamente no índice de palatabilidade em relação à dieta controle. Portanto, recomenda-se a inclusão de 5% de PHFS nas formulações de dietas comerciais para indução da captura e ingestão das dietas para as duas espécies.

## 5.8 Referências bibliográficas

- Alves, D. R. S., Silva, T. C., Rocha, J. D. M., Oliveira, S. R., Signor, A., & Boscolo, W. R. (2019). Compelling palatability of protein hydrolysates for Nile tilapia juveniles. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47(2), 371–376. <https://doi.org/10.3856/vol47-issue2-fulltext-19>
- Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA). (2021). Relatórios Anual 2020. São Paulo, p. 75. Disponível em: <http://abpa-br.org/relatorios/>.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2005). Official Methods of Analysis of AOAC International. 18<sup>th</sup>. Ed. AOAC International, Gaithersburg, p. 1094.
- Barnad, P. (2006). Gustatory and olfactory feeding responses in Japanese Koi carp (*Cyprinus carpio*). Tese (Doctor). Faculty of Agricultural Sciences, Department of Animal Sciences, at the University of Stellenbosch, p. 67.
- Boscolo, W. R., Hayashi, C., Feiden, A., Meurer, F., Signor, A.A. (2008). Composição química e digestibilidade aparente da energia e nutrientes da farinha de resíduos da indústria de filetagem de tilápias, para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Ciência Rural*, 38 (9), 2579-2586.
- Brito, J. M., Pontes, T. C., Tsujii, K. M., Araújo, F. E., Richther, B. L. (2017). Automação na tilapicultura: revisão de literatura Desempenho, piscicultura, tecnologia, tilápias. *Nutritime*, 14(3), 5053-5062.
- Cyrino, J. E. P. (2000). Condicionamento alimentar e exigências nutricionais de espécies carnívoras: desenvolvimento de uma linha de pesquisa. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo (Escola de Agricultura “Luiz de Queiroz”). Piracicaba, São Paulo, p. 200.
- Cyrino, J.E.P., Bicudo, A.J.A., Sado, R.Y, Borghesi, R, Dairiki, J.K. (2010). A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39, 68-87.
- Dieterich, F. (2014). Desenvolvimento, avaliação físico-química e biológica de hidrolisado proteico de resíduos agroindustriais para surubim. Tese (doutorado). Universidade Estadual Paulista (Centro de Aquicultura). (p.74). Jaboticabal, São Paulo.

- Dieterich, F., Boscolo, W. R., Pacheco, M. T. B., Silva, V. S. N., Gonçalves, G. S., Vidotti, R. M. (2014). Development and characterization of protein hydrolysates originated from animal agro industrial byproducts. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, 1(2), 1-8. [https://doi: 10.15406/jdvar.2014.01.00012](https://doi.org/10.15406/jdvar.2014.01.00012)
- Dos Santos Cardoso, M., Godoy, A. C., Oxford, J. H., Rodrigues, R., Dos Santos Cardoso, M., Bittencourt, F., Signor, A., Boscolo, W. R., Feiden, A. (2021). Apparent digestibility of protein hydrolysates from chicken and swine slaughter residues for Nile tilapia. *Aquaculture*, 530, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735720>.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rome, p.224.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2018). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rome, p. 227.
- Furuya, W. M. (2010). *Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias*, p. 100: Toledo: GFM.
- Godoy, A. C., Fries, E., Corrêia, A.F., Melo, I. W. A., Rodrigues, R. B., Boscolo, W. R. (2016). Apparent digestibility of fish meat and bone meal in Nile tilapia. *Archivos de Zootecnia*, 65(251), 341–348.
- Glencross, B. D., Booth, M., & Allan, G. L. (2007). A feed is only as good as its ingredients—a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. *Aquaculture nutrition*, 13, 17-34.
- Hagen, S.R., B. Frost & J. Augustin. 1989. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid-chromatography of amino-acids in food. *J. Assoc. Of. Anal. Chem.*, 72(6), 912-916.
- Halver JE, Hardy RW (2002). *Fish nutrition* (3th ed., 839 p). San Diego, CA: Elsevier Science.
- Kasumyan, A. O., & Doving, K. B. (2003) Taste preferences in fishes. *Fish and Fisheries*, 4, 289-347. <https://doi.org/10.1046/j.1467-2979.2003.00121.x>
- Kasumyan, A. O., & Mikhailova, E. S. (2018). Rapid gustatory food evaluation in Fish. *Journal of Ichthyology*, 58(6), 916-926. <https://doi:10.1134/S0032945218060073>

- Kasumyan, A.O. & A.M. Morsi. (1996). Taste sensitivity of common carp *Cyprinus carpio* to free amino acids and classical taste substances. *Journal of Ichthyology*, 36(3), 391-403.
- Lewandowski, L., Decarli, J.A., Peron, F. DE A., Signor, A., Boscolo, W. R. (2013). Hidrolisados cárneos na alimentação do surubim do Iguaçu (*Steindachneridion melanodermatum*). *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 20(4), 222-226. <https://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2014.008>.
- Lorenz, E. K., Barone, R. S. C., Yamamoto, F. Y., Cyrino, J. E. P. (2018). Dietary protein hydrolysates from animal by-products: digestibility and enzymatic activity for Dourado *Salminus brasiliensis*. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 27(2), 236-246. <https://doi.org/10.1080/10498850.2018.1424745>
- Lorenz, E. K., Sabioni, R. E., Volkoff, H., Cyrino, J. E. P. (2021). Growth performance, health, and gene expression. Of appetite-regulating hormones in Dourado *Salminus brasiliensis*, fed vegetable-based diets supplemented with swine liver hydrolysate. *Aquaculture*, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737640>
- Mikhailova, E. S., & Kasumyan, A. O. (2016). Orosensory food testing in fish: chronology of behavior. *Biology Bulletin*, 43(4), 318-328.
- Mullen, A.M., Álvarez, C., Zeugolis, D.I., Henschion, M., O'Neill, E., Drummond, L. (2017). Alternative uses for co-products: Harnessing the potential of valuable compounds from meat processing chains. *Meat Science*, 132, 90-98. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.243>
- National Research Council (NRC). (2011). *Nutrient requirements of fish and shrimp*. The national academies press, Washington, 379p.
- Oliva-Teles, A., Enes, P., & Peres, H. (2015). Replacing fishmeal and fish oil in industrial aquafeeds for carnivorous fish. *Feed and feeding practices in aquaculture*, 203-233. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100506-4.00008-8>
- Pasupuleti, V.K., Brauns, S. (2010). State of the art manufacturing of protein hydrolysates. In: Pasupuleti, V. K, Demain, A.L. *Protein hydrolysates in biotechnology*. New York: Springer Dordrec. p. 11-32.

- Pereira-da-Silva, E. M., Pezzato, L.E. (2000). Respostas da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) à atratividade e palatabilidade de ingredientes utilizados na alimentação de peixes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29(5), 1273-1280.
- Tacon, A. G. J., Forster, I. P. (2003). Aquafeeds and the environment: policy implications. *Aquaculture*, 226, 181-189. [https://doi:10.1016/S0044-8486\(03\)00476-9](https://doi:10.1016/S0044-8486(03)00476-9)
- Tápparo, D. C., Do Amaral, A.C., Steinmetz, R. L. R., Kunz, A. (2019). Co-digestion of animal manure and carcasse to increase biogás generation. *Biofuel and Biorefinery Technologies*, 9, 99-116. [https://doi.1007/978-3-030-10516-7\\_5](https://doi.1007/978-3-030-10516-7_5)
- Toldrá, F., Reig, M. (2011). Innovations for healthier processed meats. *Trends in Food Science & Technology*, 22(9), 517-522. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.08.007>
- Toldrá, F., Mora, L., & Reig, M. (2016). New insights into meat by-products utilization. *Meat Science*, 120, 54-59. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.021>
- Valentinčič, T. (2004). Taste and olfactory stimuli and behavior in fishes. *The Senses of Fish*. p. 90-108. [https://doi.10.1007/978-94-007-1060-3\\_4](https://doi.10.1007/978-94-007-1060-3_4)
- Weingartner, M., Zaniboni-Filho, E. (2013). Biologia e cultivo de dourado. In: *Espécies Nativas para Piscicultura no Brasil* (Baldisseroto, B., Gomes, L.C. (Eds.)). Editora UFSM, Santa Maria, RS, Brasil. p. 257-286.
- White, J. A., Hart, R. J., Fry, J. C. (1986). An Evaluation of the Waters pico-tag system for the amino-acid-analysis of food materials. *Journal of Automatic Chemistry*, 8(4), 170-177.

## 6.0 Considerações finais

Nos últimos anos, a criação de peixes no Brasil vem se desenvolvendo e conquistando maior espaço no mercado. Simultaneamente, aumenta a demanda de farinha de peixe na formulação de rações que possam assegurar a condição nutricional e, assim, proporcionar mais saúde, melhorar o desempenho produtivo dos animais e índices de produtividade. Contudo, a alimentação corresponde de 50 a 70% do custo de produção dos animais. Desta maneira, a escolha por ingredientes alternativos que sejam ricos em proteínas e que apresente custo mais acessíveis, e que mantenha a mesma qualidade são imprescindíveis para proporcionar uma nutrição adequada e melhorar o metabolismo dos animais a fim de manter a produção de peixes em ascensão.

Nas condições experimentais utilizada nesta pesquisa a proteína hidrolisada de fígado suíno, mostra-se um ingrediente alternativo para alevinos de dourado e tilápia-do-Nilo. Para o ensaio de desempenho produtivo, as dietas contendo PHFS ode ser eficientemente utilizado garantindo ganho em performance, peso, sobrevivência e lucratividade. A suplementação de PHFS para esta fase de desenvolvimento da tilápia-do-Nilo é de 2,91%. Para o experimento de atratividade e palatabilidade, os níveis de PHFS estimulou o consumo de ração das espécies, sendo que a dieta contendo 5% do respectivo ingrediente ofereceu o melhor índice de palatabilidade para ambas as espécies.

Desta forma, as informações obtidas nesse estudo em conjunto com novas pesquisas em diferentes fases de criação, podem servir de subsídios para a formulação de rações específicas com o intuito de promover melhoria de performance, saúde e custo-benefício.