



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

SUBSTITUIÇÃO DA FARINHA DE PEIXE POR HIDROLISADO PROTEICO
DE PEIXE EM RAÇÕES PARA O CAMARÃO MARINHO
***Litopenaeus vannamei* NA FASE DE BERÇÁRIO**

Bruna Paula Torres Quinto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Mestre

Profa Dra Roberta Borda Soares

Orientadora

Recife,
Agosto/2016

Ficha catalográfica

Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE

Q7s Quinto, Bruna Paula Torres

Substituição da farinha de peixe por hidrolisado proteico de peixe em rações para o camarão marinho *Litopenaeus vannamei* na fase de berçário/ Bruna Paula Torres Quinto. - Recife, 2016

74 folhas.: il.

Orientadora: Roberta Borda Soares

Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Recife, 2016

Inclui bibliografia

C

CDD 639

1. Aquicultura

2. Carça

3. Proteína alternativa

4. Tilápia

I. Soares, Roberta Borda

II. Título

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

SUBSTITUIÇÃO DA FARINHA DE PEIXE POR HIDROLISADO PROTEICO
DE PEIXE EM RAÇÕES PARA O CAMARÃO MARINHO
***Litopenaeus vannamei* NA FASE DE BERÇÁRIO**

Bruna Paula Torres Quinto

Dissertação julgada adequada para
obtenção do título de mestre em
Recursos Pesqueiros e Aquicultura.
Defendida e aprovada em 30/08/2016
pela seguinte Banca Examinadora.

Profa. Dra. Roberta Borda Soares
(Orientadora)
[Departamento de Pesca e Aquicultura]
[Universidade Federal Rural de Pernambuco]

Prof. Dr. Ranilson de Souza Bezerra
[Departamento de Bioquímica]
[Universidade Federal de Pernambuco]

Prof. Dr. Alfredo Oliveira Gálvez
[Departamento de Pesca e Aquicultura]
[Universidade Federal Rural de Pernambuco]

Dedicatória

Às pessoas mais importantes da minha vida:

Diogo , meu irmão Victor
e meus pais Vicente e Vilma

Agradecimentos

Gostaria de agradecer ao Programa de Pós graduação e Recursos Pesqueiros em Aquicultura, à Capes, pela concessão da bolsa e à minha orientadora Roberta Soares pela oportunidade de integrar o programa de pós-graduação, pelos ensinamentos, disposição e paciência na orientação. Aos professores Ranilson Bezerra e Alfredo Gálvez pelas contribuições no trabalho.

Aos meus amigos do Laboratório de Tecnologia em Aquicultura pelo esforço durante o experimento: Bruno, Slaython, Tempestade, Sidney, Felipe, Karin , Camila Brito e Juliana. Ao meu braço direito, João Victor que ralou bastante para que tudo desse certo e pela quebração de cabeça nos momentos críticos. À Cecília e Bárbara por tantas noites mal dormidas no laboratório e por toda a contribuição. À Flávio , por todo o esforço e por me fazer rir nas horas mais precisas. À Bruna por toda a ajuda antes, durante e após o meu trabalho. À Roberta Nery, Camila Barros e à Marina por me ajudar bastante nas análises moleculares e ao pessoal do LABENZ por toda a ajuda que precisei, Robson, Cibebe e Rafael.

Ao pessoal do Lapaq; Maria, Ítalo e ao professor Eudes, sempre atencioso e disposto à ajudar. Ao pessoal do LPM pelas dicas e momentos de descontração: Leilane, Henrique, e Clébson. Aos professores Ronaldo Cavalli e Raquel Coimbra, pela atenção.

Aos meus amigos Lourinalda, Polyanna e Felipe por me darem força sempre. À Diogo Albuquerque, meu querido parceiro, por me ajudar integralmente no experimento (quase um estagiário do LTA), e por todo o seu amor e dedicação. À minha sogra Elisângela e seu marido Luciano pelo acolhimento. Ao meu tio Severo por toda a preocupação e esforço para que eu conseguisse terminar o mestrado. Ao professor Wellington e aos meus amigos Rodrigo e Jéssica pela disposição e ajuda com a estatística. Aos meus colegas de trabalho que sempre me incentivaram Érika, Aline, Thaísa, Gustavo, Deoclécio Inonahn e meu antigo chefe Euclides pelo apoio ao término da pesquisa. Aos meus pais, que sempre se esforçaram para o meu crescimento pessoal e a todos os familiares que contribuíram com a minha vitória.

Resumo

A depleção dos estoques pesqueiros associada a crescente demanda da aquicultura por farinha de peixe para fabricação de rações tem ocasionado a elevação de seu custo. Na busca de meios para tornar a aquicultura menos dependente da pesca, diversas matérias primas alternativas estão sendo utilizadas na fabricação de rações para peixes e crustáceos. No presente estudo foram utilizadas carcaças de tilápia provenientes de indústrias de filetagem de pescado na fabricação de hidrolisados proteicos de peixe e sua posterior incorporação em rações para pós-larvas de camarões marinhos. Foram produzidos dois hidrolisados de peixe (HPP) com tempos de hidrólise de uma (HPP 1) e duas horas (HPP 2). Foi utilizada a protease comercial alcalase na reação. Os hidrolisados produzidos foram caracterizados estruturalmente e nutricionalmente. Foram determinados os graus de hidrólise, os perfis eletroforéticos, zimograma, composição centesimal e teores de aminoácidos e ácidos graxos. Os graus de hidrólise obtidos variaram de 34,01 a 48 %. Foram detectados peptídios de 10 a 250 kDa e foram observados 4 bandas no zimograma, para cada hidrolisado, cujos pesos variaram de 75 a 250 kDa. Os teores de proteína bruta dos hidrolisados foram de 68,04% (HPP 1) e 70,69 % (HPP 2). Em seguida foram elaboradas 7 rações experimentais que continham substituições graduais de farinha de peixe nas proporções de 0% (controle), 10, 20 e 30 % pelos hidrolisados HPP1 e HPP2 totalizando sete dietas formuladas (0%, H₁10%, H₁20%, H₁30%, H₂10%, H₂20% e H₂30%). Essas rações foram fornecidas para camarões marinhos na fase inicial de pós-larva 12 durante 45 dias. Ao término do cultivo foi avaliado o desempenho zootécnico dos camarões alimentados com as rações formuladas. Foi constatado que os camarões alimentados com as rações contendo o HPP 2 tiveram melhores crescimentos que os demais tratamentos, provando que o hidrolisado pode ser utilizado em rações para pós larvas de *Litopenaeus vannamei* substituindo em 15 % a farinha de peixe.

Palavras-chave: aquicultura, carcaça, proteína alternativa, tilápia

Abstract

The depletion of fisheries combined with growing demand from aquaculturists for fish meal to manufacture feed has led to increased costs for this product. In the search for ways to make aquaculture less dependent on fisheries, several alternative raw materials are being used to manufacture feed for fish and crustaceans. In this study we used tilapia carcasses from fish filleting operations to produce fish protein hydrolysates and subsequently incorporated them into feed for marine post-larval shrimp. Two fish protein hydrolysates were produced (FPH) with hydrolysis times of 1 (FPH1) and 2 hours (FPH2). The commercial protease alcalase was used in the reaction. The hydrolysates obtained were subjected to structural and nutritional analysis. The following data were determined: degree of hydrolysis, electrophoretic profile, zymography, composition (to the hundredth), and levels of amino acids and fatty acids. The degree of hydrolysis obtained ranged from 34.01 to 48%. Peptides from 10 to 250 kDa were detected, and 4 bands were observed in the zymography for each hydrolysate, with weights ranging from 75 to 250 kDa. The levels of crude protein hydrolysates were 68.04% (FPH1) and 70.69% (FPH2). Next, experimental feeds were prepared containing gradual substitutions of fish meal with the hydrolysates FPH1 and FPH2 in the proportions of 0% (control), 10%, 20%, and 30%, totaling seven formulated feeds (0%, H₁10%, H₁20%, H₁30%, H₂10%, H₂20%, and H₂30%). These feeds were fed to marine shrimp in the initial post-larvae phase 12 for 45 days. At the end of the crop, the performance of the shrimp fed the experimental feed was evaluated. We found that the shrimp fed the formulations containing FPH2 had better growth than the other treatments, proving that hydrolysate can be used in feed for post-larvae stage *Litopenaeus vannamei*, replacing 15% of fish meal.

Keywords: aquaculture, carcass, alternative protein, tilapia

Lista de figuras

	Página
Figura 1- Eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE e zimograma.....	59
Figura 2- Grau de hidrólise dos hidrolisados proteicos de tilápia produzidos nos tempos de 0, 30, 60, 90 e 120 minutos.....	60
Figura 3-Curvas de regressões de Ganho de peso, Peso final, Taxa de crescimento espcífica e Sobrevivência.....	61

Lista de tabelas

	Página
Tabela 1-Composição centesimal, aminoácidos e ácidos graxos (g kg ⁻¹ de matéria seca) dos principais componentes das rações.....	55
Tabela 2-Formulação das dietas contendo substituições parciais de farinha de peixe por HPP (g /kg ⁻¹ de matéria seca).	56
Tabela 3-Pesos moleculares e respectivas quantidades (%) de bandas presentes nos hidrolisados submetidos à eletroforese e zimograma.....	56
Tabela 4- Composição proximal, aminoácidos, ácidos graxos (g /kg ⁻¹ de matéria seca) e energia bruta (kj/g) das rações formuladas com substituições parciais de farinha de peixe por HPP.....	57
Tabela 5-Médias ± Desvios padrões dos resultados de desempenho do <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentado com dietas formuladas com diferentes níveis de substituição da farinha de peixes por hidrolisados proteicos de peixe.	58

Sumário

	Página
Dedicatória.....	4
Agradecimento.....	5
Resumo.....	6
Abstract.....	7
Lista de figuras.....	8
Lista de tabelas.....	9
1-Introdução.....	11
1.2. Objetivos.....	18
1.2.3.Objetivos específicos.....	18
2-Referências.....	19
3-Artigo científico.....	33
4-Considerações finais.....	46
5-Referências.....	48
ANEXOS.....	55

1- Introdução

1.1. Contextualização da pesquisa

O incremento da produção aquícola mundial e a simultânea estagnação da pesca extativista é um fato que tem sido observado nos últimos 30 anos. Em 1974, a aquicultura era responsável por apenas 7 % do pescado mundial para o consumo humano, passando para 39% no ano de 2004 enquanto a obtenção de pescado por meio da pesca tem se mantido em inércia (FAO, 2016). Além disso há o grande desperdício do pescado, onde cerca de 35 % do total é perdido desde a captura até o seu processamento. Desses, 8% são jogados no mar por advirem de capturas acessórias que não são utilizadas para o consumo humano (FAO, 2016).

A aquicultura se sobrepõe à essa atividade como uma alternativa à exploração indiscriminada dos estoques pesqueiros tendo ganhado cada vez mais destaque. A tendência é que esse setor seja capaz de superar a pesca no fornecimento de pescado nos próximos 10 anos (FAO, 2016).

A Ásia é o maior produtor aquícola mundial, respondendo por 54% da produção enquanto que os demais continentes, contribuem com cerca de 15 %, cada. A piscicultura é o setor aquícola mais atuante, contribuindo com cerca de 67,7% da produção e 80,6 % dos lucros. O cultivo de crustáceos aparece em segundo lugar, sendo responsável por 22% do lucro e 8,2% da produção. Os camarões são o grupo de crustáceos mais produzidos no mundo (FAO, 2016), sendo o *Litopenaeus vannamei* a espécie mais cultivada. Ela foi introduzida com sucesso em diversos países devido a sua boa adaptabilidade às mais diversas condições de cultivo. É uma espécie que tolera altas variações de salinidade e temperatura, é bem resistente a doenças, e gera respostas satisfatórias quanto ao crescimento e conversão alimentar (BRIGGS et al., 2005; LEBEL et al., 2010). No Brasil começou a ser cultivada em 1996 promovendo um rápido desenvolvimento ao setor e alcançando o auge da sua produção em 2003, quando atingiu 90 mil toneladas, comparado a cinco mil toneladas no ano de 1996 (BOSCARDIN, 2008). Porém em 2005, a produção caiu para 65 mil toneladas devido a doenças e desastres naturais. Tal crise manteve-se por quatro anos, conseguindo reverter-se em 2010 graças aos avanços tecnológicos que vem sendo implementados

nos sistemas de cultivo como o emprego de probióticos (ROCHA, 2011) e a implantação de berçários nos cultivos (FAO,2014).

Esse sistema de cultivo consiste em um estágio intermediário entre a larvicultura e a engorda, compreendido entre as fases de pós-larvas e de juvenil (ROSENBERRY, 1994; NUNES, 2002; MISRHA et al., 2008; MAMMUM et al., 2010). Durante a fase de berçário, as pós-larvas passarão por um período de adaptação prévio à engorda, caracterizando-se por altas densidades de estocagem (3 a 6 pós-larvas por litro) e controle das condições ambientais (D' ABRAMO et al., 2003; SANTOS et al., 2007).

Com o objetivo de desenvolver esses sistemas, pesquisas começaram a ser desenvolvidas na universidade do Texas (Texas A & M University) em 1986 (STUMER et al., 1992). Assim, surgiu um novo modelo de cultivo: o Bifásico (duas fases) compreendendo a larvicultura e a engorda, contrastando com o modelo monofásico, em que pós-larvas são estocadas diretamente nos viveiros de engorda permanecendo no mesmo durante todo o ciclo (NUNES,2002). Alternativamente vem sendo implementado o modelo trifásico, no qual existe a fase de pré-berçário adicionalmente à de berçário e de engorda. O pré-berçário diferencia-se do berçário por estocar maiores densidades de pós-larvas em tanques de concreto ou fibra de vidro, enquanto que no berçário secundário, elas são estocadas em pequenos viveiros em menores densidades (SEIFERT, 2003; NUNES, 2011).

Os berçários, começaram a ter uma considerável aceitação entre os produtores após 1993, quando houveram consideráveis surtos de doenças causadas pelo vírus da síndrome de taura-VST (SAMOCHA, 2010) o qual originou-se no equador, em meados de 1991 e espalhou-se para o restante do continente americano nos anos subsequentes, causando perdas consideráveis na produção de camarões (LIGHTNER, 2011). O surgimento de outras doenças, o estresse por altas variações ambientais e a predação também foram fatores que fizeram com que os berçários ganhassem cada vez mais aceitação nos cultivos (BRIGGS, 1991; MISHRA et al, 2008; NUNES, 2011; ROCHA, 2011).

Esse modelo diferencia-se dos demais por permitir o melhor controle e avaliação dos estoques (PRETO 1983, SANDIFER et al., 1991; STUMER et al., 1992; SAMOCHA, 2010), melhores taxas de crescimento , sobrevivência (NUNES 2002; TIDWELL et al., 2005; MISHRA et al., 2008) , rendimento (SAMOCHA et al., 2000 e

SAMOCHA et al., 2002) e maior rotatividade de ciclos anuais (STUMER et al., 1992). Os juvenis vão para os viveiros de engorda com um peso médio de 0,1 a 0,3 g e peso individual de 0,4 a 0,8 g cada, com sobrevivência de 55 a 80% (D' ABRAMO et al., 2003). Nessa fase de cultivo é fornecida uma alimentação balanceada com alto teor de proteína bruta, geralmente 40% (NUNES, 2011). A proteína ideal é fornecida pela farinha de peixe, por conter todas as exigências de aminoácidos essenciais e um teor de proteína bruta que varia de 65 a 72% e uma digestibilidade elevada com valores acima de 95%. É ainda uma importante fonte de minerais, ácidos graxos essenciais poli-insaturados, fosfolípidos, vitaminas lipossolúveis e esteróides (MILES e CHAPMAN, 2006).

A farinha de peixe pode ser produzida a partir de peixes inteiros, advindos da pesca industrial (capturados exclusivamente para esse propósito), de peixes vindos de capturas acessórias ou de partes do peixe não aproveitadas para o consumo humano, como as aparas e as vísceras resultantes da filetagem (WINDSOR, 2001; MILES e CHAPMAN, 2006;). A qualidade da farinha de peixe, irá depender da sua matéria prima. A farinha produzida a partir de peixes inteiros é de melhor qualidade do que as farinhas resultantes de resíduos de pescado (WINDSOR, 2001; NRC, 2011). Alguns países são conhecidos pela farinha de peixe de alta qualidade, como o Peru, a Noruega e a África do Sul (WINDSOR, 2001). No Brasil, a farinha de peixe é de baixa qualidade por ser produzida a partir de restos do processamento do pescado, devido à baixa disponibilidade de peixes em seu mar territorial. Fazendo com que muitas vezes, a farinha de peixe necessite ser importada (TSUKAMOTO e TAKAHASHI, 1992).

Sendo assim, é necessário buscar meios que possam tornar a aquicultura menos dependente da farinha de peixe tendo em vista a diminuição crescente de sua disponibilidade ocasionada pela pesca predatória. A sobrepesca tem aumentado com o passar dos anos, chegando a níveis de 31,4 % no ano de 2013 ao passo que os estoques de populações de peixes a níveis sustentáveis tem diminuído substancialmente, passando de 90% em 1974 para 68,6 % em 2013. Aproximadamente 16 milhões de toneladas de peixes foram destinados apenas para a produção de farinha em 2014 (FAO, 2016). A grande quantidade de peixes necessária para a produção de farinha de peixe tem ocasionado grandes impactos ambientais. Estima-se que para alimentar um quilo de peixe são necessários 5 quilos de peixe sob a forma de farinha, acarretando

substancialmente na diminuição de populações de peixes que servem de alimento para as espécies de níveis tróficos superiores, visto que são utilizadas pequenas espécies forrageiras como sardinha, arenque, cavalinha e anchova (NAYLOR et al., 2000; NRC, 2011). Além da alta demanda por essa matéria prima, o crescente uso de pequenos peixes pelágicos para o consumo humano tem contribuído para o aumento do preço da farinha (FAO, 2014). Com isso, o seu preço aumentou 3,6 vezes mais desde 1983, quando uma tonelada custava 400 dólares (TACON e METIAM, 2008), passando para 1500 dólares no ano de 2014 (FAO, 2014) o preço da tonelada. Dessa forma, o desenvolvimento da aquicultura está atrelado à busca de fontes proteicas alternativas advindas de práticas sustentáveis e economicamente viáveis (TACON, 2011).

Há uma imensa variedade de fontes proteicas alternativas, de diversas origens, que têm sido testadas para substituir o uso da farinha de peixe. Dentre eles subprodutos de aves, de carne, proteína de soja, farelo de algodão (LIM et al., 2008), farelo de soja (PIEDAD-PASCUAL et al., 1990; HOLLAND e BORSKI, 1992; DAVIS e ARNOLD, 2000; SILVA e PEZATO, 2000; AMAYA et al., 2007; ABE et al., 2008; HU et al., 2008; TERRAZAS et al., 2010; SCOPEL et al., 2011), farinhas de lula, de krill e de crustáceo; hidrolisados de krill e de peixe (SMITH et al., 2005); farinha de carne e vísceras (SCOPEL et al., 2011), farinha de mexilhão (CAVALLI et al., 2004), spirulina (NETO et al., 2012) entre outros. No entanto, muitas vezes subprodutos da agropecuária são deficientes em alguns aminoácidos essenciais, principalmente a lisina e a metionina.

Devido ao seu baixo custo, há uma maior busca por ingredientes de origem vegetal (AMAYA et al., 2007). Dentre eles, o farelo de soja é o que tem maior potencial para substituir a farinha de peixe, por conter um alto teor proteico com bom perfil de aminoácidos, e ter alta digestibilidade. Porém, a sua baixa palatabilidade e a baixa quantidade de lisina e metionina atrelada à deficiência dos ácidos graxos essenciais EPA e DHA acaba limitando o seu uso na dieta dos animais cultivados (POPMA e LOVSHIN, 1995; FOX et al., 2004; ALAM et al., 2005; NUNES et al., 2006; AMAYA et al., 2007).

Fontes proteicas de origem marinha contém um bom perfil de aminoácidos, possui um bom teor de proteínas, ácidos graxos, vitaminas e minerais (DAVIS e ARNOLD, 2000). Sendo assim, uma boa alternativa ao uso da farinha de peixe é a utilização de subprodutos da indústria pesqueira (NAYLOR et al., 2009) que podem alcançar um teor

de 75% de proteína(NUNES et al.,2014). A partir desses resíduos é possível produzir o hidrolisado protéico de peixe, um bioproduto com grande potencial para ser utilizado como alimento na aquicultura (SILVA et al., 2014).

O hidrolisado protéico de peixe (HPP) é um produto derivado de uma tecnologia que utiliza enzimas para solubilizar proteínas do peixe (SILVA et al., 2014), resultando em peptídios e aminoácidos solúveis na sua composição (HERTRAMPF e PIEDAD-PASCUAL, 2000). O HPP pode ser obtido por hidrólise química (ácida ou alcalina) ou enzimática (KRISTINSSON e RASCO, 2000), na qual podem ser empregadas endo ou exoproteases (KECHAOU et al., 2009 ;FOH et al., 2011;DO VALLE et al., 2015) que são enzimas obtidas de vegetais, microorganismos e animais (KRISTINSSON e RASCO, 2000) ou ainda, por meio de autólise, onde são empregadas proteases do próprio organismo que será submetido à hidrólise (PADILLA-PEREZ et al., 2001; MARTONE et al., 2005; SILVA et al., 2014). Apesar de a autólise ser mais viável economicamente, é difícil se ter o controle da hidrólise com esse tipo de enzima, visto que irá depender de diversos fatores que se alteram com a espécie de peixe utilizada (BENJAKUL e MORISSEY, 1997). Já a hidrólise empregada com proteases comerciais é mais vantajosa, visto que é possível controlar o grau de hidrólise, evitando dessa forma, propriedades funcionais indesejáveis ao produto (FURLAN e OETTERER, 2002).

A hidrólise ácida tem um custo relativamente reduzido (HE et al., 2013; OETTERER, 2001) tem rendimentos mais elevados em menos tempo, porém resulta em elevada produção de sal, o que afeta a palatabilidade e a funcionalidade do produto, devido ao emprego de uma base (NAOH) para neutralizar o ácido clorídrico utilizado nesse processo. Além disso, há um elevado teor de cinzas e destruição de alguns aminoácidos (FURLAN e OETETER, 2002). Na hidrólise alcalina, além de haver destruição dos aminoácidos, ocorre o processo de rancemização (GONÇALVES, 2011).

A hidrólise enzimática consiste na adição de enzimas para quebrar as proteínas, melhorando suas propriedades funcionais sem prejudicar o seu valor nutricional visto que não há destruição dos aminoácidos (FURLAN e OETETER, 2002; HE et al., 2013). Além disso, o grau de hidrólise pode ser controlado, e não é necessária a remoção das enzimas, pois são empregadas em concentrações muito baixas (ZAVAREZE et al., 2009). Segundo os mesmos autores, a hidrólise enzimática normalmente acarreta num sabor amargo ao produto final, que é mais intenso à medida que se tem uma proteólise

mais prolongada, dependendo assim, do tamanho dos peptídios resultantes e da quebra das ligações. Dessa forma, são utilizadas proteases microbianas que estão associadas à diminuição do sabor desagradável, como a enzima alcalase (FURLAN e OETTERER, 2002; KRISTINSSON e RASCO, 2000). A figura 1 mostra o processo de obtenção do hidrolisado proteico de peixe, adaptado de Silva et al.(2014).

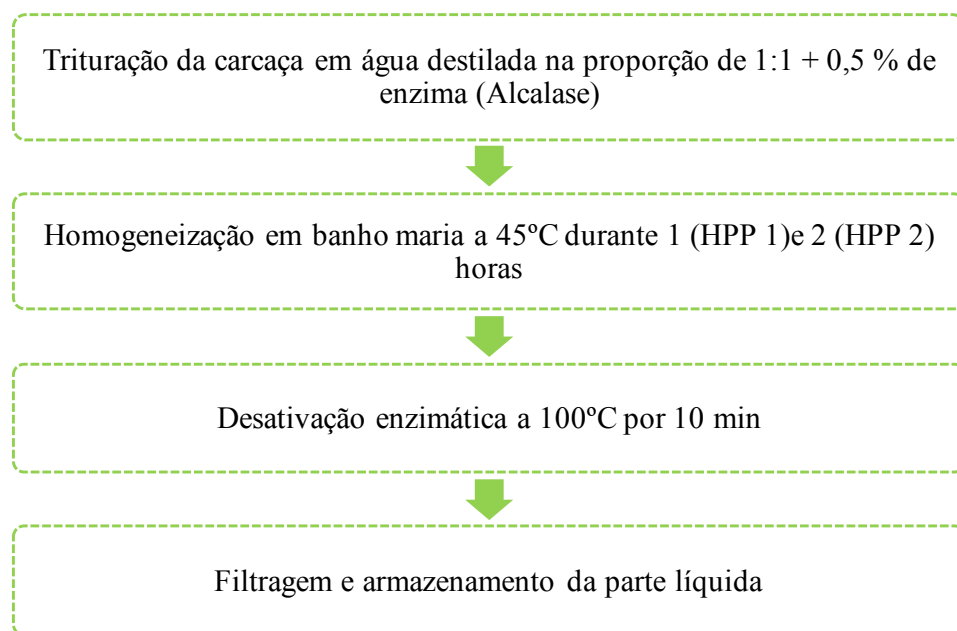


Figura 1. Processo de obtenção de hidrolisado proteico de peixe

O hidrolisado possui um alto teor de proteína bruta, podendo chegar a níveis de até 90 % (ZAVAREZE et al., 2009; CHAMALAIAH et al., 2012), e é rico em aminoácidos essenciais (CHAMALAIAH et al., 2012). Este produto é capaz de promover o estímulo alimentar (FURLAN e OETTERER, 2002) e aumentar a palatabilidade e digestibilidade para muitos animais (GOLDHOR e REGENSTEIN, 1988; FOH et al., 2011;) podendo também ser uma importante fonte de endo e exoproteases quando submetidos a um processo de autólise (SILVA et al., 2014). São ainda, eficientes imunoestimulantes e antioxidantes (MURRAY et al., 2003; NAJAFIAN E BABJI, 2012; HE et al., 2013; BUI et al., 2014). O hidrolisado também possui propriedades funcionais utilizadas na fabricação de produtos alimentares, como a solubilidade, a capacidade de retenção de água, emulsificação, formação de espuma e absorção de gordura (GESUALDO E LI-CHAN,1999; FURLAN E OETTERER, 2002;

MARTONE et al., 2005; GONÇALVES, 2011; CHAMALALIAH et al., 2012; HE et al., 2013).

Para se obter hidrolisados com propriedades nutricionais elevadas é necessário se ter o controle do processo de reação e a caracterização dos hidrolisados com base no tamanho dos peptídeos formados (GUADIX et al., 2000) pois o tamanho dos peptídeos influencia na sua absorção. Em humanos, dietas que apresentam excesso de aminoácidos livres acarretam em um desequilíbrio osmótico ocasionando disenteria. Sendo os dipeptídeos e tripeptídeos absorvidos mais eficientemente que os aminoácidos livres (GRIMBLE et al., 1986). O uso de aminoácidos livres em dietas para camarões tem produzido respostas insatisfatórias. A alta solubilidade dos aminoácidos na água associada à lenta ingestão do alimento pelos camarões acarreta em grande perda destes por lixiviação (WILLIAMS et al., 2001; BROWDY et al., 2012; NUNES et al., 2014).

Córdova-Murueta e García-Carreño (2002) utilizaram hidrolisados com diferentes tempos de hidrólise na dieta de camarões. O hidrolisado que conteve o melhor equilíbrio entre aminoácidos livres, oligopeptídios e peptídeos promoveu as melhores taxas de crescimento dos camarões. A dieta que possuía grande quantidade de aminoácidos livres foi responsável pelo pior resultado.

Carvalho et al. (1997), utilizaram caseína hidrolisada na alimentação de larvas de carpa, constatando que a substituição de 8 a 16,5% de proteína insolúvel pela hidrolisada aumentou a sobrevivência, o crescimento e o ganho de peso dos animais, pois essas dietas apresentaram um balanço equilibrado de peptídios (27,9%), oligopeptídios (42,2%) e aminoácidos livres (29,9%).

Zambonino-Infante et al. (1997) constataram que o uso de uma dieta contendo 20% de hidrolisado de peixe aumentou significativamente o crescimento, a sobrevivência e a atividade enzimática de larvas de robalo. A composição peptídica mostrou que o teor de di e tri-peptídios foi maior (75%) que o de peptídios (20%) e de aminoácidos livres (5%). Similarmente, Cahu et al. (1999) encontraram os mesmos resultados.

Nguyen et al. (2012) utilizaram diferentes tempos de hidrólise para a produção de hidrolisados. As dietas que apresentaram menor predominância de aminoácidos livres na dieta promoveu o aumento do crescimento e da sobrevivência dos camarões.

Hernandez (2011) usou hidrolisado proteico de atum na alimentação de *Litopenaeus vannamei* e constatou que 5% de inclusão desse composto na dieta aumentou o ganho de peso e a taxa de conversão alimentar do camarão.

Bui et al. (2014), utilizaram hidrolisados de krill, camarão e de tilápia para avaliar a sanidade e parâmetros zootécnicos de juvenis do peixe *Pagrus major* os quais mostraram-se ser mais eficientes que o grupo controle, devido ao fato de apresentarem um baixo peso molecular dos peptídios. Resultados semelhante foram obtidos em camarões (ZHAO et al., 2011) e em peixes (KHOSRAV et al., 2015) devido ao baixo peso molecular dos peptídios presentes nos hidrolisados .

Refstie et al. (2004) utilizaram hidrolisado proteico de peixe na dieta do salmão do atlântico constatando que substituições parciais de 10 a 15 % na dieta aumentaram o seu crescimento e sua digestibilidade. Resultados similares foram obtidos por Tang et al. (2008), com o peixe *Pseudocianeia Crocea*, os quais tiveram melhor crescimento, sobrevivência e resistência quando alimentados com hidrolisado de peixe nos mesmos níveis de substituição na dieta. Outros estudos demonstraram que a substituição parcial do hidrolisado pela farinha de peixe apenas não mostrou nenhuma alteração (OLIVA-TELES et al., 1999).

1.2. Objetivos do trabalho

O presente estudo objetiva avaliar o desempenho zootécnico de pós-larvas de *L. vannamei* alimentadas com rações contendo diferentes níveis de hidrolisado proteico de peixe em substituição à farinha de peixe.

1.2.3. Objetivos específicos

- Produção de dois hidrolisados proteicos de peixe
- Caracterização das propriedades nutricionais e estruturais dos hidrolisados
- Avaliar qual o melhor tipo de hidrolisado
- Avaliar qual o melhor nível de inclusão do hidrolisado nas rações experimentais

2- Referências

ABE,M.P.;FRÓES,C.N.; HERNÁNDEZ,P.C.; WASIELESKY,W.J.; CAVALLI,R.O. **Fishmeal replacement by soybean meal in practical diets for shrimp *Farfantepenaeus paulensis***.Ciência Rural, v.38, n.1, p.219-224, 2008.

AKIYAMA, D.M., DOMINY, W.G., LAWRENCE, A. **Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry: revised. In: Akiyama, D.M., Tan, R.K.H. (Eds.), Proceeding of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition. Workshop, September 19– 25, 1991. American Soybean Association, Singapore, p. 80– 97, 1991.**

ALAM, M.S.; TESHIMA, S.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; UYAN, O.; HERNANDEZ, L. H.; MICHAEL, F.R. **Supplemental effects of coated methionine and/or lysine to soy protein isolate diet for juvenile kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus***. Aquaculture, v.248, p.13-19, 2005.

AMAYA,E.; DAVIS, D.A.; ROUSE,D.B. **Alternative diets for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei***. Aquaculture (262) pag. 419–425, 2007.

ANDREWS, J.W., SICK, L.V. **Studies on the nutritional requirements of penaeid shrimps**.Proc. World Maricult. Soc. 3,p. 403– 414, 1972.

ASPMO,S.I ; HORN,S.J.; EIJSINK,V.G.H. **Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera**. Process Biochemistry 40 (2005) 1957–1966.

BENJAKUL,S.;MORRISSEY,M.T. **Protein Hydrolysates from Pacific Whiting Solid Wastes** .J. Agriculture. Food Chemistry. V 45 (9), pp 3423–3430 ,1997.

BESERES,J.J.; A. L. LAWRENCE, A.L.; FELLER, R.J. **Variation in fiber, protein, and lipid content of shrimp feed—effects on gut passage times measured in the field**.Journal of Shellfish Research, Vol. 24, No. 1, 301–308, 2005.

BOSCARDIN,N.R. **A produção aquícola brasileira.** In: OSTRENSKY,A.; BORGHETTI,J.R.; SOTTO,D. **Aquicultura no Brasil: O desafio é crescer.** Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca/FAO. Brasília-2008.276 p.

BOYD,C.E. **Manejo da qualidade de água na aquicultura e no cultivo do camarão marinho.** 1. ed. Recife: ABCC, 2000.

BOYD, C. E. **Parâmetros da qualidade de água: oxigênio dissolvido.**Revista da ABCC, Recife, v. 4, n. 1, p. 66-69, 2002.

BOYD,C.E. **Feed efficiency indicators for responsible aquaculture.** Global Aquaculture Advocate. December 2005

BRIGGS, M; FUNGE-SMITH, S.; SUBASINGHE, R.P.; PHILLIPS, M. **Introductions and movement of two panaeid shrimp species in Asia and the Pacific.**FAO Fisheries Technical Paper No. 476, Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome. 2005.

BROWDY,V.L.; BHARADWAJ, A.S.; VENERO J.A., NUNES,A.J.P. **Supplementation with 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid (HMTBa) in low fish meal diets for the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*** .Aquac. Nutr., 18 (2012), pp. 432–440

BUI, H,T,D.; KHOSRAVI,S.; HERAULT,M.; JUN-LEE,K. **Growth performance, feed utilization, innate immunity,digestibility and disease resistance of juvenile red seabream(*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates.** Aquaculture 418-519(2014)11-16.

CAHU, C.L., ZAMBONINO, J.L., QUAZUGUEL, M. **Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae.** Aquaculturev.171, p.109–119,1999.

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

CARVALHO, A.P.; SA, R.; OLIVA-TELES, A.; BERGOT, P. **Solubility and peptide profile affect the utilization of dietary protein by common carp (*Cyprinus carpio*) during early larval stages.** Aquaculture 234 (2004) 319 – 333.

CAVALLI, R.O. ZIMMERMANN, S.; SPECK, R.C. **Growth and feed utilization of the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* fed diets containing different marine protein sources.** Ciência Rural, v.34, n.3, mai-jun, 2004.

CHALAMAIAH, M.; B.D. KUMAR, B.D.; HEMALATHA, R.; JYOTHIRMAYI, T. **Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review.** Food Chemistry 135:3020-3038, 2012.

CÓRDOVA-MURUETA, J.H.; GARCÍA-CARREÑO, F.L. **Nutritive value of squid and hydrolysed protein supplement in shrimp feed.** Aquaculture rev. 210, p. 371–384, 2002.

DAVIS, D.A.; ARNOLD, C.R. **Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*.** Aquaculture, v. 185, p. 291-298, 2000.

DO VALLE, B.C.S.F.; DANTAS, E.M.JR.; SILVA, J.D.F.X.; BEZERRA, R.D.S.; CORREIA, E.S.; PEIXOTO, S.R.M.; SOARES, R.B. **Replacement of fishmeal by fish protein hydrolysate and biofloc in the diets of *Litopenaeus vannamei* postlarvae.** Aquaculture nutrition, 2015. v, 21. p 105-112.

FAO. **The State of World Fisheries and Agriculture**-Rome, 2014. Disponível em <http://fao.org/2/sofia14e>; Acesso em 2 de Agosto de 2014.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2016 (SOFIA)**.Disponível em <http://www.fao.org/documents/card/en/c/2c8bcf47-2214-4aeb-95b0-62ddef8a982a/>.

Acesso em 20 de Julho de 2016.

FORSTER,P.; DOMINY, W.G.; **Efficacy of three methionine sources in diets for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei***. J. World Aquacult. Soc., 37 (2006), pp. 474–480.

FOH, M.B.K., KAMARA M.T., AMADOU I., FOH B.M.; WENSHUI X. **Chemical and physicochemical properties of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish protein hydrolysates and concentrate**. International Journal of Biological Chemistry 5:21-36, 2011

FURLAN,E.F. E OETTERER, M. **Hidrolisado Proteico de Pescado**. Revista de Ciência e Tecnologia V. 10, Nº 19 – p. 79-89, 2002.

GESUALDO, A.M.L.; LI-CHAN, E.C.Y. **Functional Properties of Fish ProteinHydrolysate from Herring (*Clupea harengus*)**.Journal of Food Science, Vol 64, No. 6, 1999

GOLDHOR, S.H. & REGENSTEIN, J.M. **U.S. Fisheries products: a selective update and review**. Foodstuffs, p.213-221, 1988.

GONÇALVEZ,A.A. **Tecnologia do Pescado- Ciência, tecnologia, inovação e Legislação**. Atheneu. São Paulo, 2011. p.386-397.

GONZÁLEZ,D.; CÓRDOBA, J.; INDORF,F.; BUITRAGO, E. **Estudios preliminares en la formulación de dietas para camarón blanco (*litopenaeus schmitti*) utilizando ensilado de pescado**. Revista Científica, FCV- LUZ/ Vol. XVII, Nº2, 166-172, 2007.

GONZÁLEZ-FÉLIX, M.L.. **Effect of various dietary lipid levels on quantitative essential fatty acid requirements of juvenile pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei***.J. World Aquacult. Soc., 33, 330–340.2002.

GUADIX, A.; GUADIX, E.M.; PÁEZ-DUEÑAS, M. P.; GONZÁLEZ-TELLO, P.; CAMACHO, F. **Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas**. Ars Pharmaceutica, 41:1; 79-89 , 2000.

GUILLAUME, J. **Protein and amino acids**. In: D'Abramo, L.R., Conklin, D.E., Akiyama, D.M. Eds. Crustacean Nutrition. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, pp. 26–50. 1997.

GRIMBLE G.K., KEOHANE P.P., HIGGINS B.E., KAMINSKI M.V. Y SILK D.B.A. (1986). **Effect of peptide chain length on aminoacid and nitrogen absorption from two lactalbumin hydrolysates in the normal human jejunum**. Clinical Sci. 71:65- 69

HE,S.; FRANCO,C.; ZHANG, W. **Functions, applications, and productionof protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP), Review**. Food Research International 50 (2013) 289-297.

HERNÁNDEZ, C.; OLVERA-NOVOA M. A.; SMITH, D. M.; HARDY, R. W. GONZALEZ-RODRIGUEZ, B. **Enhancement of shrimp *Litopenaeus vannamei* diets based on terrestrial protein sources via the inclusion of tuna by-product protein hydrolysates**.Aquaculture. V.317,p.117–123, 2011.

HERNÁNDEZ, J. Z.; NUNES, A J. P. **Biossegurança no cultivo de camarão marinho: qualidade da água e fatores ambientais**.Revista da ABCC, Recife, v. 3, n. 2, p. 55-59, 2001.

HERTRAMPF, J.W.; PIEDAD-PASCUAL,F. **Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds**. Dordrecht, Holanda. Kluwer Academic Publishers, 2000.p. 192-197.

HOLLAND, K.N; BORSKI, R.J. **A palatability bioassay for determine ingestive stimuli in the marine shrimp *Pennaeus vannamei*.** Aquaculture (109). Pag 153-164, 1993.

HU, Y.; TAN, B.; MAI, K.; AI, Q.; ZHENG, S.; CHENG, K. **Growth and body composition of juvenile white shrimp, *Litopenaues vananmei* feed different ratios of dietary protein to energy.** Aquaculture Nutrition, 2008. 14; 499–506.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** IV edição, Brasília, 2005.

KANASHIRO, E.S. **O desenvolvimento de rações cada vez mais elaboradas e sistemas de proteção ambiental, fornecem maior sustentabilidade à produção de peixes.** Temas atuais em biologia. 2015. ISSN 2358-8616. DOI: 10.4322/temasbio.n2.022.

KECHAOU,E.S.; DUMAY,J.; DONNAY-MORENO,C.; JAOUEN,P.; GOUYGOU,J.; BERGE,J.; AMAR,R.B. **Enzymatic hydrolysis of cuttlefish (*Sepia officinalis*) and sardine (*Sardina pilchardus*) viscera using commercial proteases: Effects on lipid distribution and amino acid composition.** Journal of Bioscience and Bioengineering. V 107,n 2., 158- 164, 2009.

KHOSRAVI,S.; BUI, H.T.D.; RAHIMNEJAD, S.; HERAULT, M.; FOURNIER, V.; JEONG, J.B.; LEE, K.J. **Effect of dietary hydrolysate supplementation on growth performance, non-specific immune response and disease resistance of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) challenged with *Edwardsiella tarda*.** Aquaculture Nutrition. Volume 21, Issue 3, pages 321–331, June 2015

KRISTINSSON, H.G., RASCO, B.A. **Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties.**Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 40 (1), 43–81.2000.

LAEMMLI, U.K. **Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4.** Nature. V. 227, p. 680-685, 1970.

LEBEL, L; MUNCKUNG,R; GHEEWALA, S. H; LEBEL, P. **Innovation cycles, niches and sustainability in the shrimp aquaculture industry in Thailand.** Environmental science & polyci. V.13, p. 291-302, 2010.

LIM,C; LEE,C,S; WEBSTER,C.D. **Alternative protein sources in aquaculture diets.** Inbunden, CRC Press Inc. 626 p, 2008.

MAMUN, M.M.A.; HOSSAIN, M.A.; HOSSAIN, M.S.; ALI, M.L. **Effects of different types of artificial substrates on nursery production of freshwater prawn, Macrobrachium rosenbergii (de Man) in recirculatory system.** Journal of Agricultural University 8(2): 333- 340. 2010.

MARTONE, C.B., BORLA, O.P., & SÁNCHEZ. J.J. **Fishery by-product as a nutrient sourcefor bacteria and archaea growth media.**Bioresource Technology. v.96, p. 383-387, 2005.

MILLAMENA, O.M. ;BAUTISTA-TERUEL, M.N.; REYES,O.S.; KANAZAWA, A. **Threonine requirement of juvenile marine shrimp Penaeus monodon.** Aquaculture, 151 (1997), pp. 9–14.

MILLAMENA, O.M. ;BAUTISTA-TERUEL, M.N.; REYES,O.S.; KANAZAWA, A. **Requirements of juvenile marine shrimp Penaeus monodon (Fabricius) for lysine and arginine.** Aquaculture, 164 (1998), pp. 95–104

MILLAMENA, O.M., BAUTISTA-TERUEL, M.N.; KANAZAWA, A.; TESHIMA, S. **Quantitative dietary requirements of postlarval tiger shrimp, Penaeus monodon, for histidine, isoleucine, leucine, phenylalanine and tryptophan.** Aquaculture, 179 (1999), pp. 169–179.

MISHRA,J.K.; SAMOCHA, T.M.; PATNAIK,S.; SPEED.M.; GANDY,R.L.; ALI D ,A.M. **Performance of an intensive nursery system for the Pacific white shrimp,**

***Litopenaeus vannamei*, under limited discharge condition** . Aquacultural Engineering 38 (2008) 2–15.

MOSS, K.K. & SM MOSS. 2004. **Effects of artificial substrate and stocking density on the nursery production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei***. J. World Aquac. Soc., 35: 536-542.

MURRAY,A.L.; PASCHO,R.J.; ALCORN,S.W.; FAIRGRIEVE,W.T.; SHEARER,K.D.; ROLEY,D. **Effects of various feed supplements containing fish protein hydrolysate or fish processing by-products on the innate immune functions of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kitsuch*)**. Aquaculture 220 (2003) 643-653.

NAJAFIAN,L.; BABJI,A.S.; **A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides:their production, assessment, and applications**. Peptides 33 (2012) 178-185.

NAYLOR, R.L.; GOLDBURG,R.J.; PRIMAVERA,J.H.; KAUTSKYSK, N.; BEVERIDGE,M.C.M.; JASON CLAY,J.; FOLKESK,C.; JANE LUBCHENCO,J.; MOONEY, H.; TROELL, M. **Effect of aquaculture on world fish supplies**.Nature.vol 405,p. 1017-1024, 2000.

NAYLOR, R.L., HARDY, R.W., BUREAU, D.P., CHIUA, A., ELLIOTT, M., FARRELL, A.P., FORSTER, I., GATLIN, D.M., GOLDBURG, R.J., HUA, K., NICHOLS, P.D. **Feeding aquaculture in an era of finite resources**. PNAS106, 36, 2009.

NEAL, R.A. **Penaeid shrimp culture research at the National Marine Fisheries Service Galveston Laboratory**. In: Pillay, T.V.R., Dill, W.A. (Eds.), **Advances in Aquaculture**. FAO Technical Conference on Aquaculture. Kyoto, 26 May – 2 June 1976. Fishing News Books, Oxford, UK, 653 pp. 1980.

NETO, J.F.S.; NUNES, A.J.P.; NETO, H.S.; SA, M.V.C. **Spirulina meal has acted as a strong feeding attractant for *Litopenaeus vannamei* at a very low dietary inclusion level.** Aquaculture Research. vol 43, 430–437, 2012.

NGUYEN, H.T.M.; GALVEZ-PEREZ, R. BERGE, J.P.; **Effect of diets containing tuna head hydrolysates on the survival and growth shrimp *Penaeus vannamei*.** Aquaculture, v 324-325, p.127-134, 2012.

NIU, J.; ZHANG, Y. LIU, Y.; TIAN, L.; LIN, H.; CHEN, X.; YANG, H.; LIANG, G.; **Effects of graded replacement of fish meal by fish protein hydrolysate on growth performance of early post-larval Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone).** Journal of Applied Animal Research, Vol. 42, No. 1, 6_15. 2014.

NUNES, A.J.P. **Camarões marinhos: engenharia e logística operacional de berçários intensivos.** Panorama da Aquicultura, v.12, n.69, p.25-37, 2002.

NUNES, A.J.P.; **Brazil's intensive shrimp nursery systems improve P.L. management, shorten growout.** Global Aquaculture Advocate. V 14, p 27-29 . 2011.

NUNES, A.J.P.; SÁ, M.V.C.; NETO, F.F.A.; LEMOS, D. **Behavioral response to selected feed attractants and stimulants in Pacific White shrimp, *Litopenaeus vannamei*.** Aquaculture vol.260, p. 244-254, 2006.

NUNES, A.J.P.; SÁ, M.V.C.; BROWDY, C.L.; VAZQUEZ-ANON, M. **Practical supplementation of shrimp and fish feeds with crystalline amino acids.** Review. Aquaculture 431 (2014) 20–27.

NRC - National Research Council. **Nutrient requirements of fish and shrimp.** National Research Council of the National Academies, Washington, DC, USA. 2011.

OETTERER, M. **Produtos Obtidos por Interferência na Fração Protéica do Pescado.** Piracicaba: ESALQ, 2001.

OLIVA-TELES, A. L. (1999). **The utilization of diets containing high levels of fish protein hydrolysate by turbot *Scophthalmus maximus*/ juveniles.** *Aquaculture*, 179; 195–201.

PADILLA-PEREZ,P.; PEREIRA-FILHO,M.; MORI-PINEDO,L.A.; OLIVEIRA-PEREIRA,M.I. **Influência do ensilado biológico de peixe e do resíduo de peixe cozido no crescimento e na composição corporal de alevinos de tambaqui *Colossoma macropomum*(Cuvier,1818).***Acta Amazonia* 31(3): 501-507, 2001.

PIEDAD-PASCUAL,F.; CRUZ,E,M.; SUMALANGCAY,A. **Supplemental feeding on *Penaeus monodon* juveniles with diets containing various levels of defatted soybean meal.***Aquaculture* 89, 183-191, 1990.

PLAKAS, S.M., KATAYAMA, T. **Apparent digestibilities of amino acids from three regions of the gastrointes-tinal tract of carp (*Cyprinus carpio*) after ingestion of a protein and a corresponding free amino acid diet.** *Aquaculture* 24, 309 – 314, 1981.

POPMA, T. J.; LOVSHIN, L. L. 1996. **Worldwide prospects for commercial production of tilapia.** Research and Development Series n 41., Alabama, 23p.

PRETTO, RM. . ***Penaeus* shrimp pond grow-out in Panama.** In: J.P. McVey and J.R. Moore (eds.), **CRC Handbook of Mariculture**, Vol. 1. Crustacean Aquaculture. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 169-178. 1983.

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

RICHARD,L.;BLANC,P.P.;RIGOLET,V.;KAUSHIK, S.J.;GEURDEN,I. **Maintenance and growth requirements for nitrogen, lysine and methionine and their utilization**

efficiencies in juvenile black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, using a factorial approach. Br. J. Nutr., 103 (2010), pp. 984–995.

ROCHA, I. **Current status and trends of the Brazilian shrimp farming industry. Overview of Brazilian Farmed Shrimp Production.** Revista Feed & food. p.68-69, 2013.

ROSENBERRY, B. **Camarão marinho: o cultivo passo a passo.** Panorama da Aquicultura. Ed 23, Maio/Junho 1994.

SAMOCHA, T.M.; BLACHER, T.; CORDOVA, J.; DE WIND, A. **Raceway nursery production increases shrimp survival and yields in Ecuador.** Global Aquacult. Advocate, 3 (6) (2000), pp. 66–68

SAMOCHA, T.M.; HAMPER, L.; EMBERSON, C.R.; DAVIS, D.A.; MCLINTOSH, D.; LAWRENCE, A.L.; VAN WYK, P.M. **Review of some recent developments in sustainable shrimp farming practices in Texas, Arizona and Florida.** J. Appl. Aquacult., 12 (2002), pp. 1–42

SAMOCHA, T.M. **Use of intensive and super intensive nursery systems :** In Alday-Sanz, V.I. **The shrimp book** . Nottingham University Press .Nottingham, United Kingdom. 919 pag, December, 2010.

SANDIFER, P.A., STOKES, A.D., HOPKINS, J.S. **Further intensification of pond shrimp culture in South Carolina.** In: Sandifer, P.A., (Ed.), **Shrimp Culture in North America and the Caribbean.** Advances in World Aquaculture. J. World Aquacult. Soc. 4, 84–95. 1991.

SANTOS, C.H.A.; LOURENÇO, J.A.; COSTA, H.J.M.S.; IGARASHI, M.A. **Avaliação do ganho de peso de pós-larvas do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (boone, 1931), alimentados com peixes da fauna acompanhante do camarão marinho.** Ciência Animal Brasileira , v. 8, n. 1, p. 7-15, jan./mar. 2007.

SCOPEL, B.R; SCHVEITZER, R; WALTER QUADROS SEIFFERT,W.Q; PIERRI,V; ARANTES,R.F.; VIEIRA,F.N; VINATEA,L.A. **Substituição da farinha de peixe em dietas para camarões marinhos cultivados em sistema bioflocos.** pesq. agropec. bras., Brasília, v.46, n.8, p.928-934, ago. 2011

SHIAU, S.Y. **Nutrient requirements of penaeid shrimps.** Aquaculture v.164 . p. 77–93, 1998.

SILVA, E.M.P.; PEZZATO,L.E. **Resposta da Tilápia do Nilo (*Oreochromis nilticus*) à atratividade e palatabilidade de ingredientes utilizados na alimentação de peixes.** Revista Brasileira de Zootecnia 29(5): 1273-1289, 2000.

SILVA,J.F,X.; RIBEIRO,K.; J.F. SILVA,J.F.; CAHÚ,T.B.; BEZERRA,R.S. **Utilization of tilapia processing waste for the production of fish protein hydrolysate.** Animal Feed Science and Technology, 2014.

SMITH, D.M., TABRETT, S.J., BARCLAY, M.C., IRVIN, S.J. **The efficacy of ingredients included in shrimp feeds to stimulate intake.**Aquaculture Nutrition. Vol. 11, p. 263–272, 2005.

STURMER, L.N. et al. **Intensification of penaeid nursery systems.** In: FAST, A.W.; LESTER, L.G. (Ed.). **Culture of marine shrimp: principles and practices.** Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 1992. cap. 13, p. 321-344.

SUÁREZ, J.A., GAXIOLA, G., MENDOZA, R., CADAVID, S., GARCIA, G., ALANIS, G., SUÁREZ, A. FAILLACE, J.; CUZON, G. **Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931).** Aquaculture, 289(1–2): 118–123. (2009).

SVENNING, C.; MOLLAND, T.; LANGSRUD, T.; VEGARUD, G.E. **A characterization study of peptides derived from casein proteolysis.** In: International Dairy Federation Sem. Protein Fat glob. Mod., p. 96-106, 1993.

TERRAZAS,M.; CIVERA,R.; IBARRA,L.; GOYTORTUA,E. **Coefficientes de utilization digestiva aparente de matéria seca, proteína y aminoácidos esenciales de ingredientes terrestres para el camarón del Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae).**Revista Biología Tropical.V 58(4):1516-1576, 2010.

TACON,A.G.J.; **The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp – A training manual. The essential nutrients.** Brasilia, FAO. 117 p. 1987.

TACON,A.G.J; METIAN,M. **Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects.** Aquaculture (285) 146-158, 2008.

TACON,A.G.J. **Rendered animal by-products: A necessity in aquafeeds for the new millennium.** Global Aquaculture Advocate, v 14, p 18-19, 2011.

TANG,H.G.; WU,T.X.; ZHAO,Z.; PAN,X. **Effects of fish protein hydrolysate on growth performance and humoral immune response in large yellow coraker (*Pseudosciaena crocea* R).**Journal of Zhejiang University Science B. 9 (9):683-690, 2008.

TIDWELL,J.H.; D'ABRAMO,L.R.; COYLE, S.D.; YASHARIAN, D. **Overview of recent research and development in temperate culture of the freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii* De Man) in the South Central United States.**Aquaculture Research.Volume 36, Issue 3 pages 264–277, February 2005.

THURSTON, RV. **Some factor affecting the toxicity of ammonia to fishes.** EPA Ecol. Res. Ser., EPA-600/9-80-034: 118-137 1980.

WATANABE, T.; PONGMANEERAT,J. **Quality evaluation of animal protein sources for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*.** Nippon Suisan Gakkaishi, v. 57, p. 459-501.1991.

WINDSOR, M.L. **Torry advisory note No. 49 Fish meal**, Torry Advisory Note, 2001.

WILLIAMS, K., BARLOW, C., RODGERS, L., 2001. **Efficacy of crystalline and protein-bound amino acid enrichment of diets for barramundi/Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch)**. Aquac. Res. 32, 415–429.

WEI, Y.; LIANG, M.; MU, Y.; ZHENG, K.; XU, H. **The effect of ultrafiltered fish protein hydrolysate level on growth performance, protein digestibility and mRNA expression of PepT1 in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.)**. Aquaculture nutrition. 2015.

XIAO, W.W. ; FENG, L.; KUNG,S.Y.; LIU, Y.; JIANG, J.; JIANG, W.D.; HU, K.; LI, S.H.; TANG, C.; ZHOU, X.Q. **Lipid peroxidation, protein oxidant and antioxidant status of muscle and serum for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio*) fed graded levels of methionine hydroxyl analogue**. Aquac. Nutr., 18 (2012), pp. 90–97

ZAMBONINO INFANTE, J.L., CAHU, C.L., PERES, A. **Partial substitution of di- and tripeptides for native proteins in sea bass diet improves *Dicentrarchus labrax* larval development**.J. Nutr. 127, 608 – 614.1997

ZAVAREZE, E. R.; SILVA, C.M.; MELLADO, M.S.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. **Funcionalidade de hidrolisados proteicos de cabrinha (*prionotus punctatus*) obtidos a partir de diferentes proteases microbianas**. Quim. Nova. vol. 32, pag. 1739-1743. 2009.

ZHAO, J.; HUANG, G.R.; ZHANG, M.N.; CHEN, W.W.; JIANG, J.X.; 2011. **Amino acid composition, molecular weight distribution and antioxidant stability of shrimp processing byproduct hydrolysate**.Am. J. Food Technol. 6, 904–913.

3- Artigo científico

Artigo científico a ser submetido para publicação na revista *Aquaculture Nutrition*

SUBSTITUIÇÃO DA FARINHA DE PEIXE POR HIDROLISADO PROTEICO DE PEIXE EM RAÇÕES PARA PÓS- LARVAS DO CAMARÃO MARINHO

Litopenaeus vannamei

Bruna Paula Torres Quinto*, João Vitor Albuquerque, Ranilson de Souza Bezerra, Silvio Peixoto, Roberta Soares

I. Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), R. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Departamento de Pesca e Aquicultura – Laboratório de Tecnologia em Aquicultura. Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

*Autor para correspondência. E-mail: bruna.ufrpe@yahoo.com.br

Telefone (87) 38311325/ (81)9 97199124

RESUMO

Durante o filetagem da tilápia cerca de 70 % do seu volume corpóreo é descartado, correspondendo à carcaça e às vísceras. Essas partes são importantes fontes de proteínas que podem servir de alimento nas atividades aquícolas a partir da produção de hidrolisados proteicos. No presente estudo, foram produzidos 2 hidrolisados proteicos de tilápia com uma (HPP 1) e duas (HPP 2) horas de hidrólise para inclusão em dietas para pós- larvas do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. A composição nutricional dos hidrolisados mostrou teores desejáveis de proteína bruta e aminoácidos essenciais. O grau de hidrólise obtido corroborou com estudos anteriores e atingiu valores de até 48% de proteína. A eletroforese revelou peptídeos que variaram de 10 a 250 kDa. Adicionalmente foi constatada atividade caseínolítica através de zimograma. Os hidrolisados foram incorporados separadamente em dietas experimentais nas proporções de 0, 10, 20 e 30 % totalizando 7 dietas denominadas 0% (controle), H₁10%, H₁20%, H₁30%, H₂10%, H₂20% e H₂30%. Foi realizado um cultivo experimental com duração de 45 dias para avaliar o desempenho zootécnico das pós-larvas alimentadas

com as referidas dietas. Os resultados mostraram que o HPP 2 foi responsável pelos melhores crescimentos, podendo substituir a farinha de peixe em níveis de até 15% sem afetar a sobrevivência dos camarões.

Palavras- chave: alcalase, resíduos de pescado, bioproduto, tilápia do nilo

INTRODUÇÃO

A farinha de peixe é a principal fonte proteica das rações utilizadas para alimentar os animais aquáticos cultivados (KANASHIRO, 2015). A pesca indiscriminada de pequenas espécies de peixes pelágicos para a produção de farinha de peixe tem ocasionado fortes pressões sobre os estoques pesqueiros afetando toda a cadeia produtiva (FAO, 2016). A sobrepesca de espécies forrageiras diminui a disponibilidade de alimento para as espécies carnívoras ocasionando um grande desequilíbrio ambiental nos oceanos (NAYLOR et al., 2000). Cerca de 20% do pescado mundial é destinado apenas para a produção de óleo e farinha de peixe (KANASHIRO, 2015). O declínio da matéria prima para a produção da farinha de peixe, tem ocasionado a elevação de seu custo. Assim, esforços tem sido feitos na busca de fontes proteicas alternativas para alimentação dos animais aquáticos cultivados (NAYLOR et al., 2000).

Fonte proteicas de origem vegetal são de baixo custo, porém a presença de alguns fatores antinutricionais e a baixa quantidade de alguns aminoácidos limitantes (lisina e metionina) tem restringido o seu uso na alimentação de camarões (ALAM et al., 2005; AMAYA et al., 2007).

Os resíduos derivados do filetagem de peixes são importantes fontes de proteínas e ácidos graxos poliinsaturados porém grande parte deste material é

geralmente descartada (STEVANATO et al., 2007). Dessa forma, o uso desses resíduos para a produção de hidrolisado proteico de peixe surge como uma alternativa mais econômica e sustentável à farinha de pescado (CENTENARO, 2009).

O hidrolisado proteico de peixe (HPP) é um bioproduto resultante da solubilização de proteínas do pescado a partir de enzimas (KRISTINSSON e RASCO, 2000) ou de substâncias químicas (ESPE et al., 1992). O HPP é caracterizado por conter peptídios e aminoácidos solúveis (HERTRAMPF e PIEDAD-PASCUAL, 2000), com elevadas propriedades nutricionais (GOLDHOR e REGENSTEIN, 1988; ZAVAREZE et al., 2009; FOH et al., 2011; CHAMALAIAH et al., 2012;; BUI et al., 2014) além de ser uma importante fonte de endo e exoproteases quando submetidos a um processo de autólise (SILVA et al., 2014).

Estudos realizados com o uso de hidrolisado de peixe em dietas para camarões marinhos demonstraram que esse componente pode substituir a farinha de peixe em níveis que variam de 5 a 50 %, promovendo o aumento da sobrevivência e do crescimento dos mesmos (CÓRDOVA-MURUETA e GARCÍA-CARREÑO, 2002; HERNANDEZ, 2011; NGUYEN et al., 2012; NIU et al., 2014; DO VALLE et al., 2015).

O uso dietético dos hidrolisados proteicos deve levar em consideração o controle do pH, temperatura, tempo da hidrólise, tipo e concentração de matéria prima, relação enzima substrato, inativação enzimática (SVENNING et al., 1993) e tamanho dos peptídeos formados (GUADIX et al., 2000).

Dessa forma, o presente estudo objetivou avaliar o desempenho zootécnico de camarões alimentados com dietas formuladas com níveis crescentes de substituição da

farinha de peixe por dois hidrolisados proteicos de peixes produzidos com diferentes tempos de hidrólise.

MATERIAIS E MÉTODOS

Produção dos hidrolisados proteicos de peixe (HPP)

Foram obtidos resíduos de tilápia (cabeça, pele, carcaça e aparas) em indústrias de beneficiamento de pescado para a produção do HPP. Seguindo a metodologia de Silva et al. (2014) foram produzidos dois hidrolizados, HPP1 e HPP2, diferenciados pelo tempo de hidrólise de uma e duas horas, respectivamente.

Os resíduos de tilápia foram descongelados, lavados com água filtrada e triturados com água destilada, na proporção de 1:1, em liquidificador, seguido da adição de 0,5% enzima comercial (Alcalase, Sigma–Aldrich, St. Louis, MO, USA) para quebra da cadeia proteica. O produto foi levado a banho-maria sob agitação contínua e moderada, com temperatura de 45° C por uma hora (HPP 1) e duas horas (HPP 2) sendo homogeneizado para ativação enzimática. Em seguida o hidrolisado foi mantido a uma temperatura de 100°C, durante 10 minutos, para a desativação enzimática. Terminado este processo, o bioproduto foi filtrado em peneira para retirada do material não digerido, composto de escamas e ossos. A parte líquida foi acondicionada em recipientes hermeticamente fechados e mantidos a -20° C até o momento da análise de sua composição. Durante o preparo do hidrolisado foram colhidas amostras nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos para determinação do perfil temporal da hidrólise. Em seguida as amostras foram fervidas a 100°C durante 10 minutos.

O perfil temporal de hidrólise das amostras foi determinado de acordo com o método de Warbug et al., (1941). Uma alíquota de 50 µL de cada amostra foi adicionada de 150 µL de Ácido Tricloroacético (TCA). Em seguida as amostras foram centrifugadas a 8000 xg durante 5 minutos e sua absorbância foi medida no comprimento de onda de 260 e 280 nm a cada 0, 10, 15, 30, 60, 90 e 120 minutos. Adicionalmente foi determinada a concentração de proteínas total pelo método de Smith et al. (1985) e a partir desses valores foi possível calcular o percentual de proteína hidrolisada em cada tempo de reação utilizando-se a equação:

$$\% GH = \frac{\text{proteína hidrolisada solúvel em TCA 10\%}}{\text{proteína total (mg)}} \times 100$$

Onde, GH = Grau de hidrólise; TCA = Ácido Tricloroacético

Os pesos moleculares das proteínas presentes nos hidrolisados foram determinados através de Eletroforese em gel de Poliacrilamida (SDS-PAGE), segundo metodologia descrita por Laemmli (1970). Em seguida foi preparado um gel de concentração a 4% e um de separação a 12,5%. O corante do gel foi preparado a partir de uma solução composta de 0,01% de Azul de Comassie, 25% de metanol e 10% de ácido acético. Como descorantes foram utilizados apenas o metanol e o ácido acético. O padrão de peso molecular utilizado para comparação (BIO-RAD) era composto de miosina (205 kDa), B-galactosidase (116 kDa), fosforilase b (97 kDa), transferrina (80 kDa), BSA (66 kDa), glutamato diidrogenase (55 kDa), ovalbumina (45 kDa), anidrase carbônica (30 kDa) inibidor de tripsina (21 kDa) e aprotinina (6,5 kDa).

O zimograma foi realizado baseado na metodologia de Garcia-Carreño et al. (1993). Foi preparado o mesmo gel usado para a eletroforese e após a corrida o gel foi imerso em Triton X-100 a 2,5 % dissolvido em tampão Tris-HCl 0,1 M pH 8,0 para remoção do SDS (sodium dodecyl sulfate) e incubado com caseína a 3% em tampão Tris-HCl 0,1 M pH 8,0 a 4°C por 30 minutos e depois elevada para 37°C e mantida por 90 minutos para permitir a digestão da caseína pelas frações ativas. Por fim, o gel foi corado em azul brilhante de comassie diluído em ácido acético e metanol (10:25 % v/v) e descorado em ácido acético e metanol (10:25 % v/v). As partes descoradas mostraram as bandas da protease digeridas pela caseína.

A composição centesimal, aminoácidos e ácidos graxos essenciais dos hidrolisados foram determinados segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005) em análises realizadas em laboratório comercial (Tabela 1).

Dietas experimentais

As dietas foram formuladas de modo a serem isoproteicas e isoenergéticas, com um teor de 40% de proteína bruta e 4027,5 kcal/kg de energia bruta. A farinha de peixe foi substituída gradualmente nas proporções de 0% (controle), 10, 20 e 30 % pelos hidrolisados HPP1 e HPP2 totalizando sete dietas formuladas (0%, H₁10%, H₁20%, H₁30%, H₂10%, H₂20% e H₂30%) de acordo com atabela 2.

Para o preparo das rações foram utilizados os seguintes ingredientes: farinha de peixe, farelo de trigo, farelo de soja, premix mineral óleo de peixe, gelatina e os hidrolisados. Os ingredientes secos foram triturados em uma granulometria de 150µm. Em seguida, foi feita a mistura dos ingredientes secos seguido da adição dos úmidos. A mistura foi seca em uma estufa de circulação forçada a uma temperatura de 50°C

durante 4 a 5 horas. Após, a ração foi peneirada em três diferentes granulometrias (0,85, 1,44 e 2,00mm), secas novamente em estufa por mais 30 minutos e por fim, armazenadas a -18°C até o início do experimento.

Desenho experimental

O experimento foi conduzido no Laboratório de Tecnologia em Aquicultura, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, em ambiente fechado durante 45 dias. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado composto por 21 tanques (7 tratamentos com 3 repetições) de 50 litros unidos por um sistema de recirculação de água, abastecido com água salgada a uma salinidade de 27 g/L⁻¹.

Pós-larvas de *Litopenaeus vannamei* com 10 dias (PL 10) foram adquiridas em larvicultura comercial e trazidas para o laboratório. Em seguida, as pós-larvas foram aclimatadas e distribuídas em tanque de recepção de 310 L, sendo alimentados com náuplios de artêmia, e mantidos em salinidade de 27 e temperatura de 31°C. Após dois dias de aclimação foi feito o povoamento das parcelas experimentais com 150 animais cada (três animais por litro). O peso médio inicial foi de 0,0017 g. A alimentação foi fornecida três vezes ao dia, iniciando-se com 50% da biomassa no tanque fracionada em 30% às 8 horas, 20% às 13 horas e 50 % às 18 horas. A quantidade de ração era ajustada de acordo com o peso dos animais, o qual foi avaliado semanalmente.

Os parâmetros físico químicos foram avaliados diariamente, através de multiparâmetro modelo YSI 556 MPS (temperatura, salinidade, pH, oxigênio dissolvido) e espectrofotômetro Hach DR 3900 (amônia e nitrito). O fundo das unidades foi sifonado todas as manhãs para remoção de fezes e sobras de alimento.

As biometrias foram realizadas semanalmente, retirando-se 30 animais de cada tanque para pesagem em balança com precisão de 0,1mg (Marte modelo AY-220). Ao final do experimento, foram avaliados os seguintes parâmetros zootécnicos: Peso final (PF), ganho de peso (GP=Peso final-peso inicial), fator de conversão alimentar (FCA=matéria seca fornecida/ganho de biomassa), taxa de crescimento específica (TCE=100x (ln Peso final-ln Peso inicial)/ tempo), relação de eficiência proteica (REP= Ganho de peso/proteína consumida) e sobrevivência S= (nº de indivíduos final/ nº de ind. inicial)x100.

Análise dos dados

Os parâmetros de desempenho zootécnico foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) em esquema fatorial após serem atendidas as premissas necessárias (normalidade e homocedasticidade). A conversão alimentar e a relação de eficiência proteica foram previamente normalizadas através de uma transformação Box-Cox. As médias foram comparadas através do teste de Tukey ($P<0.05$). Foi utilizado o software Statistica 13.0.

A regressão quadrática foi aplicada para se observar a relação entre as dietas experimentais e os parâmetros: Peso final, ganho de peso, taxa de crescimento específica e sobrevivência. Foi utilizado o programa Assistat 7.7 ($P<0.05$).

RESULTADOS

Caracterização dos hidrolisados

Os hidrolisados produzidos apresentaram um teor de proteína bruta próximos ao da farinha de salmão utilizada (69,32%). O HPP2 obteve maior nível de proteína bruta

(70,69 %), com maiores teores de arginina, histidina e treonina. O HPP1 também apresentou alto valor protéico com 68,04% PB e com perfil de aminoácidos próximo ao do HPP2 (Tabela 1).

A eletroforese SDS PAGE revelou as cadeias peptídicas presentes nos hidrolisados. O controle (HPP 0) mostrou bandas variando de 10 a 250 kDa enquanto que no HPP 1 as bandas variaram de 37 a 250 kDa e no HPP 2 de 10 a 250 kDa (Figura 1). As atividades proteolíticas das enzimas presentes nos hidrolisados foi detectada através de zimograma contendo caseína como substrato (figura 1). Foram observadas 4 bandas nos hidrolisados com peptídios variando de 75 a 250 kDa. A tabela 3 contém as proporções de cada banda dos hidrolisados presentes na eletroforese e no zimograma.

Os hidrolisados obtidos foram avaliados quanto ao grau de hidrólise. Ao final de 120 minutos, os resultados obtidos foram de 34,01% (T0), 39,02% (T30), 41,71 % (T60), 44,2% (T90) e 48% (T120). As curvas podem ser visualizadas na figura 2.

Em relação aos ácidos graxos essenciais altamente insaturados (HUFA) , os hidrolisados apresentaram o teor de 0,07% de DHA, e 0% EPA e dentre os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA's) os teores obtidos foram de 3,79 % (HPP1) e 4,84 % (HPP2) de linoleico e 0,28% (HPP1) e 0,55% (HPP2) de linolênico (Tabela 1).

Dietas experimentais e desempenho zootécnico

As rações utilizadas no experimento foram formuladas com o objetivo de alcançarem 40 % de proteína bruta, no entanto, os teores de proteína bruta variaram entre as dietas (tabela 4). Contudo, os níveis dos aminoácidos essenciais nas diferentes rações se mantiveram próximos aos níveis recomendados.

Os parâmetros de desempenho zootécnico estão indicados na tabela 5. Para o fator tempo de hidrólise apenas os parâmetros ganho de peso, peso final e taxa de crescimento específica diferiram significativamente. Os tratamentos que continham o HPP2 obtiveram os melhores valores. Em relação ao fator nível de substituição, não houveram diferenças significativas entre os tratamentos. A interação entre os dois fatores também não mostrou médias que diferiram significativamente. Dessa forma, a análise mostrou que o uso do HPP2 promoveu melhores respostas independente da quantidade.

As curvas de regressão quadrática mostram a relação entre os parâmetros avaliados e as dietas experimentais indicando a possibilidade de maiores níveis de utilização para o HPP2 (Figura 3). As curvas de ganho de peso e peso final indicaram melhores níveis de substituição de 1,075 % para o HPP1 e de 15 % para o HPP2. As curvas da taxa de crescimento específica indicaram níveis de 6% (HPP 1) e 16,5% (HPP 2) como melhores níveis de substituição. Avaliando-se a sobrevivência, a regressão mostrou melhores níveis de inclusão nas dietas de 11% de HPP1 e de 21,5% de HPP2.

As médias ($\pm$ DP) dos parâmetros de qualidade de água (temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, amônia nitrito e pH) foram $29,17 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$, $5,3 \pm 0,37 \text{ mg/L-1}$, $28 \pm 1,13 \text{ g L-1}$, $0,25 \pm 0,81 \text{ mg/L-1}$, $0,8 \pm 1,38 \text{ mg/L-1}$ e $7,6 \pm 0,43$, respectivamente.

DISCUSSÃO

O hidrolisado de peixe pode chegar a níveis de até 90 % de proteína, sendo rico em aminoácidos essenciais importantes para a formação dos tecidos, transporte de minerais e formação de enzimas (CHAMALIAH et al., 2012). Os hidrolisados produzidos no presente estudo apresentaram teores de aminoácidos essenciais

semelhantes ao perfil da farinha de peixe demonstrando sua excelente qualidade nutricional.

O hidrolisado possui alta digestibilidade devido a maior facilidade de absorção de aminoácidos e oligopeptídeos resultantes do seu processo de obtenção (GOLDHOR e REGENSTEIN, 1988; FOH et al., 2011). Porém não é desejável que os aminoácidos estejam em quantidades muito elevadas, pois devido a sua alta solubilidade, eles lixiviam rapidamente na água não sendo incorporados pelos camarões (NUNES et al., 2014). Além do mais, estudos com peixes e camarões sugerem que di e tripeptídeos tem melhor absorção do que os aminoácidos livres (CARVALHO et al., 1997; ZAMBONINO-INFANTE et al., 1997; CÓRDOVA-MURUETA e GARCÍA-CARREÑO, 2002; BROWDY et al., 2012)

O HPP1 revelou a ocorrência de peptídios de médio a alto peso molecular (37 a 250 kDa), enquanto que no HPP2 foram observados peptídios de baixo a alto peso molecular (10 a 250 kDa). Silva et al. (2014) encontraram pesos moleculares variando de 30 a 190 kDa nos extratos brutos de tilápia e no hidrolisado produzido com a enzima Alcalase os peptídios alcançaram um tamanho de 53,89 kDa. Aspino et al. (2005) obtiveram perfis variando de 28 a 180 kDa. No presente estudo predominaram médios peptídios de 50 kDa nos dois hidrolisados. Córdova-Murueta e García-Carreño (2002) e Nguyen et al. (2012) demonstraram que camarões alimentados com dietas contendo hidrolisados com poucas quantidades de aminoácidos livres tiveram ótimas respostas de crescimento e sobrevivência. Respostas similares também foram observadas em alevinos de carpa (CAHU e ZAMBONINO INFANTE, 1995; CARVALHO et al., 2004). O zimograma mostrou o mesmo padrão de bandas que o hidrolisado de tilápia produzido por Silva et al. (2014), representando enzimas em atividade. Dentre elas, a

quimiotripsina, segundo os mesmos autores. As curvas temporais de hidrólise mostraram uma reação inicial rápida, tendendo a alcançar uma fase estacionária após cerca de 30 a 60 minutos de reação. Segundo Kristisson e Rasco (2000), esse padrão de curva está relacionado à grande quantidade de ligações peptídicas que estão sendo rompidas no começo da reação. Após certo período a hidrólise tende a diminuir, pois quanto maior a relação enzima/substrato, maior será o grau de hidrólise. Porém não é desejável um grau de hidrólise muito elevado pois pode acarretar em hidrolisados com sabor amargo devido à exposição de grupos hidrofóbicos provenientes de peptídios de baixo peso molecular (DAMODARAM, 2008). Os resultados obtidos corroboraram com Centenaro (2009), Ovissipour et al. (2009) e Silva et al. (2014), cujos graus de hidrólise atingiram valores de 47,7% (hidrolisado de corvina), 46,13% (hidrolisado de esturjão- persa) e 41,66% (hidrolisado de tilápia), respectivamente.

Os hidrolisados apresentaram composições de ácidos graxos em teores inferiores ao da farinha de peixe, aspecto que deve ser corrigido nas formulações com uso de ingredientes complementares ricos em ácidos graxos essenciais.

Os parâmetros de qualidade de água estiveram em níveis dentro do recomendado de acordo com Ponce-Palafox et al. (1997), Hernandez e Nunes (2001); Boyd (2002), Nunes (2002) e Nunes et al. (2005).

As taxas de sobrevivência não variaram significativamente entre os tratamentos, consistindo com as de Nguyem et al. (2012) que obtiveram valores entre 82 a 97% de sobrevivência dos camarões alimentados com hidrolisado de peixe. Da mesma forma, a eficiência proteica e a conversão alimentar não diferiam nos tratamentos. Foram determinadas taxas aparentes dos parâmetros supracitados, visto que as rações eram fornecidas em excesso e não foi possível coletar os resíduos da ração devido a pequena

granulometria. Mesmo assim, as taxas de conversões alimentares estiveram próximas ao padrão que geralmente ocorre de 1,5 a 2,5, segundo Boyd (2005).

As curvas de regressão quadrática de ganho de peso, peso final, crescimento específico e sobrevivência indicaram que o HPP2 pode ser acrescentado em maiores níveis na ração do que o HPP1. No HPP2 houve uma maior hidrólise, comprovado pelo perfil peptídico, com tamanhos variando de alto a baixo peso molecular e pelo maior grau de hidrólise (48%). Pequenos peptídios e aminoácidos livres tem um efeito positivo no crescimento de camarões através da promoção do estímulo alimentar, aumentando o consumo de alimento e consequentemente o ganho de peso (HATT et al., 1981; NUNES, 2011). No entanto é importante que essas moléculas estejam em quantidades moderadas para se evitar a sua perda excessiva devido a sua alta solubilidade na água (NUNES et al., 2014). Esses peptídios estiveram presentes em pequenas quantidades no HPP2 sendo responsáveis pelos melhores resultados.

Há uma informação limitada sobre os valores de hidrolisado de peixe que devem ser incluídos nas dietas de pós-larvas do camarão branco (NIU et al., 2014). Os níveis de substituições de hidrolisado de peixe na dieta podem variar em função de sua composição lipídica e para tal é necessário o controle do grau de hidrólise durante a sua produção para evitar a quebra excessiva das proteínas (CÓRDOVA-MURUETA e GARCÍA-CARREÑO, 2002). O mesmo autor encontrou níveis ideais do uso de hidrolisado de peixe em torno de 4 %. Similarmente, Hernandez et al. (2011) encontrou níveis de 5 %. Tais hidrolisados apresentaram uma grande quantidade de aminoácidos livres, o que acabou limitando a sua concentração nas formulações. No presente estudo, níveis de até 21,5 % de inclusão de hidrolisado (HPP2) nas rações mostraram respostas satisfatórias.

Do Valle et al. (2015), obtiveram melhores respostas ao nível de 15,75% de substituição de hidrolisado em associação com farinha de biofloco. Neste caso, foi o teor de lipídios que limitou a sua inclusão nas rações. Do mesmo modo, González et al. (2007) constataram que a substituição de farinha de peixe por 15 % de hidrolisado em dietas para *L. schmitti* promoveu o bom desempenho. Niu et al. (2014) encontraram níveis ótimos de 21,2 % de substituição para pós-larvas do camarão marinho, enquanto Nguyem et al. (2012) conseguiram substituir 50 % da farinha de peixe pelo hidrolisado. Os autores obtiveram elevados teores de proteína bruta (88%) e baixos níveis lipídicos (7 %). O perfil peptídico também mostrou uma variedade de tamanhos moleculares com aproximadamente 15 % de aminoácidos livres, 17% de peptídios maiores que 7000 Da e o restante variando entre 250 a 7000 Da.

Pode-se concluir que a substituição da farinha de peixe por hidrolisado de peixe com tempo de hidrólise de duas horas (HPP2) em níveis de até 15% promove melhor crescimento de pós larvas de *L. vannamei* sem afetar negativamente a sua sobrevivência.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Centro de Apoio à Pesquisa da UFRPE (CENAPESQ).

4- Considerações finais

O hidrolisado proteico de peixe produzido com um tempo de hidrólise de 2 horas provou ser uma ótima alternativa ao uso da farinha de peixe em rações para camarões

marinhos. Foi constatado que esse bioproduto apresentou valores desejáveis de grau de hidrólise, e cadeias peptídicas de baixo a alto peso molecular, sendo responsável por melhores respostas de crescimento nos camarões cultivados.

5-Referências

- AKIYAMA, D.M., DOMINY, W.G., LAWRENCE, A. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry: revised. In: Akiyama, D.M., Tan, R.K.H. (Eds.), Proceeding of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition. Workshop, September 19– 25, 1991. American Soybean Association, Singapore, p. 80– 97, 1991.
- ALAM, M.S.; TESHIMA, S.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; UYAN, O.; HERNANDEZ, L. H.; MICHAEL, F.R. Supplemental effects of coated methionine and/or lysine to soy protein isolate diet for juvenile kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture*, v.248, p.13-19, 2005.
- AMAYA,E.; DAVIS, D.A.; ROUSE,D.B. Alternative diets for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* (262) pag. 419–425, 2007.
- BESERES,J.J.; A. L. LAWRENCE, A.L.; FELLER, R.J. Variation in fiber, protein, and lipid content of shrimp feed—effects on gut passage times measured in the field. *Journal of Shellfish Research*, Vol. 24, No. 1, 301–308, 2005.
- BOYD,C.E. Manejo da qualidade de água na aqüicultura e no cultivo do camarão marinho. 1. ed. Recife: ABCC, 2000.
- BOYD, C. E. Parâmetros da qualidade de água: oxigênio dissolvido. *Revista da ABCC*, Recife, v. 4, n. 1, p. 66-69, 2002.
- BOYD,C.E. Feed efficiency indicators for responsible aquaculture. *Global Aquaculture Advocate*. December 2005
- BROWDY,V.L.; BHARADWAJ, A.S.; VENERO J.A., NUNES,A.J.P. Supplementation with 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid (HMTBa) in low fish meal diets for the white shrimp, *Litopenaeus vannamei* .*Aquac. Nutr.*, 18 (2012), pp. 432–440

BUI, H.T.D.; KHOSRAVI,S.; HERAULT,M.; JUN-LEE,K. Growth performance, feed utilization, innate immunity,digestibility and disease resistance of juvenile red seabream(*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. *Aquaculture* 418-519(2014)11-16.

CABALLERO-CÓRDOBA, G.M., PACHECO, M.T.B., SGARBIERI, V.C. Composição química de biomassa de levedura integral (*Saccharomyces* sp.) e determinação do valor nutritivo da proteína, em células íntegras ou rompidas mecanicamente. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.17, n.2, p.102-106, 1997.

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

CENTENARO,G.S.; PRENTICE-HERNÁNDEZ,C.; SALAS-MELLADO,M. Efeito da concentração de enzima e de substrato no grau de hidrólise e nas propriedades funcionais de hidrolisados proteicos de corvina (*Micropogonias furnieri*). *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 7, 1792-1798, 2009

CHALAMAIAH, M.; B.D. KUMAR, B.D.; HEMALATHA,R.; JYOTHIRMAYI,T. Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry* 135:3020-3038, 2012.

CÓRDOVA-MURUETA, J.H.; GARCÍA-CARREÑO, F.L. Nutritive value of squid and hydrolysed protein supplement in shrimp feed. *Aquaculture* v. 210,p. 371–384,2002.

DAMODARAN, S. Amino Acids, Peptides, and Proteins. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA,O.R. *Fennema's Food Chemistry*. Fourth edition. CRC Press. Taylor and Francis Group. U.S. 2008.

DO VALLE, B.C.S.F.; DANTAS, E.M.JR.; SILVA, J.D.F.X.; BEZERRA, R.D.S.; CORREIA, E.S.; PEIXOTO, S.R.M.; SOARES, R.B. Replacement of fishmeal by fish protein hydrolysate and biofloc in the diets of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Aquaculture nutrition*, 2015. v, 21. p. 105-112.

ESPE, M.; HAALAND, H.; NJAA, L.; RAA, J. Growth of young rats on diets based on fish silage with different degrees of hydrolysis. *Food Chem.* 44, 195–200. 1992.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016 (SOFIA). Disponível em <http://www.fao.org/documents/card/en/c/2c8bcf47-2214-4aeb-95b0-62ddef8a982a/>. Acesso em 20 de Julho de 2016.

FOH, M.B.K., KAMARA M.T., AMADOU I., FOH B.M.; WENSHUI X. Chemical and physicochemical properties of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish protein hydrolysates and concentrate. *International Journal of Biological Chemistry* 5:21-36, 2011

GOLDHOR, S.H. & REGENSTEIN, J.M. U.S. Fisheries products: a selective update and review. *Foodstuffs*, p.213-221, 1988.

GONZÁLEZ-FÉLIX, M.L.. Effect of various dietary lipid levels on quantitative essential fatty acid requirements of juvenile pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquacult. Soc.*, 33, 330–340.2002.

GUADIX, A.; GUADIX, E.M.; PÁEZ-DUEÑAS, M. P.; GONZÁLEZ-TELLO, P.; CAMACHO, F. Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. *Ars Pharmaceutica*, 41:1; 79-89 , 2000.

HATT H.J.; BAUER, U.; DUDEL, J. 1981. Characteristics of Single Chemoreceptive Units Sensitive to Amino Acids and Related Substances in the Crayfish Leg. *Journal of Comparative Physiology*. 144: 67-74.

HERNÁNDEZ, C.; OLVERA-NOVOA M. A.; SMITH, D. M.; HARDY, R. W. GONZALEZ-RODRIGUEZ, B. Enhancement of shrimp *Litopenaeus vannamei* diets based on terrestrial protein sources via the inclusion of tuna by-product protein hydrolysates. *Aquaculture*. V.317,p.117–123, 2011.

HERNÁNDEZ, J. Z.; NUNES, A J. P. Biossegurança no cultivo de camarão marinho: qualidade da água e fatores ambientais. *Revista da ABCC, Recife*, v. 3, n. 2, p. 55-59, 2001.

HERTRAMPF, J.W.; PIEDAD-PASCUAL,F. Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds. Dordrecht, Holanda. Kluwer Academic Publishers, 2000.p. 192-197.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. IV edição, Brasília, 2005.

KANASHIRO, E.S. O desenvolvimento de rações cada vez mais elaboradas e sistemas de proteção ambiental, fornecem maior sustentabilidade à produção de peixes. *Temas atuais em biologia*. 2015. ISSN 2358-8616. DOI: 10.4322/temasbio.n2.022.

KRISTINSSON, H.G., RASCO, B.A. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 40 (1), 43–81.2000.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. *Nature*. V. 227, p. 680-685, 1970.

MILLAMENA, O.M. ;BAUTISTA-TERUEL, M.N.; REYES,O.S.; KANAZAWA, A.Threonine requirement of juvenile marine shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 151 (1997), pp. 9–14.

MILLAMENA, O.M. ;BAUTISTA-TERUEL, M.N.; REYES,O.S.; KANAZAWA, A. Requirements of juvenile marine shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius) for lysine and arginine. *Aquaculture*, 164 (1998), pp. 95–104

MILLAMENA, O.M., BAUTISTA-TERUEL, M.N.; KANAZAWA, A.; TESHIMA, S. Quantitative dietary requirements of postlarval tiger shrimp, *Penaeus monodon*, for histidine, isoleucine, leucine, phenylalanine and tryptophan. *Aquaculture*, 179 (1999), pp. 169–179.

MOSS, K.K. & SM MOSS. 2004. Effects of artificial substrate and stocking density on the nursery production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquac. Soc.*, 35: 536-542.

NAYLOR, R.L.; GOLDBURG,R.J.; PRIMAVERA,J.H.; KAUTSKYSK, N.; BEVERIDGE,M.C.M.; JASON CLAY,J.; FOLKESK,C.; JANE LUBCHENCO,J.; MOONEY, H.; TROELL, M. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*.vol 405,p. 1017-1024, 2000.

NGUYEN,H.T.M.; GALVEZ-PEREZ,R. BERGE,J.P.; Effect of diets containing tuna head hydrolysates on the survival and growth shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, v 324-325,p.127-134, 2012.

NIU, J.; ZHANG, Y. LIU, Y.; TIAN, L.; LIN, H.; CHEN, X.; YANG, H.; LIANG, G.; Effects of graded replacement of fish meal by fish protein hydrolysate on growth performance of early post-larval Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone). *Journal of Applied Animal Research*, Vol. 42, No. 1, 6_15. 2014.

NUNES, A.J.P. Camarões marinhos: engenharia e logística operacional de berçários intensivos. *Panorama da Aqüicultura*, v.12, n.69, p.25-37, 2002.

NUNES, A. J. P., GESTEIRA, T. C. V., OLIVEIRA, G. G., LIMA, R. C.; MIRANDA, P. T. C.; MADRID, R. M. 2005. Princípios para boas práticas de manejo na engorda de

camarão marinho no Estado do Ceará. Instituto de Ciências do Mar (Labomar/ UFC). Programa de Zoneamento Ecológico Econômico (ZEE) do Estado do Ceará, Fortaleza, Ceará, 109 p.

NUNES,A.J.P. e NETO,F.F.A. 2011. O Papel dos atrativos e estimulantes químicos na alimentação e nutrição dos camarões peneídeos. Revista ABCC.

NRC - National Research Council. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Research Council of the National Academies, Washington, DC, USA. 2011.

OVISSIPOUR, M.; ABEDIAN, A.; MOTAMEDZADEGAN,A.; RASCO,B.; SAFARI,R.; SHAHIRI,H.The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera.Food Chemistry. Volume 115, Issue 1, 1 July 2009, Pages 238–242.

PONCE-PALAFOX, J. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. Aquaculture, v. 157, p. 107-115. 1997.

RICHARD,L.;BLANC,P.P.;RIGOLET,V.;KAUSHIK, S.J.;GEURDEN,I. Maintenance and growth requirements for nitrogen, lysine and methionine and their utilization efficiencies in juvenile black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, using a factorial approach. Br. J. Nutr., 103 (2010), pp. 984–995.

SHIAU, S.Y. Nutrient requirements of penaeid shrimps. Aquaculture v.164 . p. 77–93, 1998.

SILVA,J.F,X.; RIBEIRO,K.; J.F. SILVA,J.F.; CAHÚ,T.B.; BEZERRA,R.S. Utilization of tilapia processing waste for the production of fish protein hydrolysate. Animal Feed Science and Technology, 2014.

SMITH, P.K., KROHN, R.I., HERMANSON, G.T., MALLIA, A.K., GARTNER, F.H., PROVENZANO, M., FUJIMOTO, E.K., GOEKE, N.M., KLENK, D.C., 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* 150 (1), 76–85.

STEVANATO FB, PETENUCCI ME, MATSUSHITA M, MESOMO MC, SOUZA NE, VISENTAINER JEL, ALMEIDA VV, VISENTAINER JV (2007). Avaliação química e sensorial da farinha de resíduo de tilápias na forma de sopa. *Ciênc Tecnol Aliment* 27: 567-571.

SUÁREZ, J.A., GAXIOLA, G., MENDOZA, R., CADAVID, S., GARCIA, G., ALANIS, G., SUÁREZ, A. FAILLACE, J.; CUZON, G. Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*, 289(1–2): 118–123. (2009).

SVENNING, C.; MOLLAND, T.; LANGSRUD, T.; VEGARUD, G.E. A characterization study of peptides derived from casein proteolysis. In: *International Dairy Federation Sem. Protein Fat glob. Mod.*, p. 96-106, 1993.

WARBURG, O.; CHRISTIAN, W. Isolierung und kristallisation des garungs ferments enolase. *Biochemical Zeitschrift*, v 310. p. 384-421, 1941.

ZAMBONINO INFANTE, J.L., CAHU, C.L., PE´RES, A. Partial substitution of di- and tripeptides for native proteins in sea bass diet improves *Dicentrarchus labrax* larval development. *J. Nutr.* 127, 608 – 614.1997

Tabela 1. Composição centesimal, aminoácidos e ácidos graxos (g kg⁻¹ de matéria seca) dos principais componentes das rações.

	farinha de peixe	HPP 1	HPP 2	farinha de trigo*	farelo de trigo*	farelo de soja*	levedura de cerveja*
Aminoácidos							
Lis	51	47,5	47,5	5,8	3,6	28,3	32,2
His	20,6	12,6	13,2	3,9	3	11,7	10,9
Arg	47	46	49,1	8,6	6,4	32,3	22
Thr	29,8	28,5	29,3	4,6	3,7	17,3	22
Cis	11	9	7,6	2,6	2,7	7	5
Val	32	28,7	27,8	6,9	5,9	24	23,9
Met	27,5	16	15,7	1,9	2,1	6,1	7,4
Isso	27,8	24,3	23,3	5,1	5,1	19,9	21,5
Leu	48	39,5	38	9,2	8,9	34,2	31,3
Tir	20,5	18,1	18,6	3,8	4,3	16,9	15,5
Phe	27,6	24,4	24	5,5	6,3	21,8	18,3
Ácidos graxos							
EPA (20:5n-3)	29,5	0	0	-	-	-	-
DHA (22:6n-3)	38,5	0,7	0,7	-	-	-	-
Ácido Linolênico ô-3	350	2,8	3,5	-	-	-	5,7 ^a
Ácido Linoleico ô-6	100	37,9	48,4	-	-	-	44,2 ^a
Composição centesimal							
PB	693,2	680,4	706,9	117	148	450	426
EE	92,4	243,7	293,6	12	40	17,4	10
CZ	229,2	28,8	30,8	4	53	63	66
UMI	71,1	857,6	857,6	120	110	117,8	70
FB	15,1	7	6,7	13	99	55,7	32

* NRC, 2011. ^aCaballero-Córdoba et al., 1997

Tabela 2. Formulação das dietas contendo substituições parciais de farinha de peixe por hidrolisado proteico de peixe (g /kg⁻¹ de matéria seca).

Ingredientes	0%	H ₁ 10%	H ₁ 20%	H ₁ 30%	H ₂ 10%	H ₂ 20%	H ₂ 30%
Farinha de Peixe	400	360	320	280	360	320	280
Farelo de soja	130	150	150	150	130	130	130
Farelo de trigo	150	150	150	150	150	150	150
Farinha de trigo	230	230	230	230	230	230	230
Óleo de peixe	30	10	10	10	30	30	30
premix	10	10	10	10	10	10	10
gelatina	20	20	20	20	20	20	20
levedura	30	30	30	30	30	30	30
HPP 1	0	40	80	120	0	0	0
HPP 2	0	0	0	0	40	80	120

Tabela 3. Pesos moleculares e respectivas quantidades (%) de bandas presentes nos hidrolisados submetidos à eletroforese e zimograma.

		Bandas (KDa)											
		250	242	220	150	100	75	50	37	25	20	15	10
HPP													
A (Eletroforese)													
0	9	-	-	15,6	21,5	14,4	16	8,9	5,3	9,5	6	2,8	
1	6,1	-	-	12,2	18,3	8,8	39,6	14,6	-	-	-	-	
2	1,1	-	-	2	8	2,1	49,8	20	4	2	3	8	
B (Zimograma)													
0	29,8	-	-	13,7	11,9	44,6	-	-	-	-	-	-	
1	0,1	29,9	-	15,4	12,3	40,3	-	-	-	-	-	-	
2		-	35,4	16,6	15,3	31,5	-	-	-	-	-	-	

A primeira coluna refere-se aos hidrolisados produzidos nos tempo 0, 1 e 2 horas. A: Quantidade (%) de bandas com diferentes pesos moleculares presentes nos hidrolisados submetidos à eletroforese. B: Quantidade (%) de bandas com diferentes pesos moleculares presentes nos hidrolisados submetidos ao zimograma.

Tabela 4. Composição proximal, aminoácidos, ácidos graxos (g /kg⁻¹ de matéria seca) e energia bruta (kj/g) das rações formuladas com substituições parciais de farinha de peixe por hidrolisado proteico de peixe.

	0%	H ₁ 10%	H ₁ 20%	H ₁ 30%	H ₂ 10%	H ₂ 20%	H ₂ 30%	Níveis recomendados
Aminoácidos								
Arginina	25,5	26,2	24,8	24,2	25,4	23,8	22,4	19 ^a
Histidina	11,2	11,4	10,5	10,2	11	10,5	10	8 ^b
Isoleucina	15,7	16,1	14,8	14,4	15,9	14,8	14	10 ^b
Leucina	28,4	28,5	26,7	26,3	27,6	26,5	25,3	17 ^b
Lisina	32,8	33,3	30,6	29,1	31,7	30	28	21 ^a
Metionina	8,8	8,4	7,8	7,7	8,5	7,9	7,2	7,2 a 12,4 ^c
Fenilalanina	16,9	17,3	16,3	16	16,4	15,9	15,3	14 ^b
Treonina	15,2	15,2	14,4	14	14,5	13,9	13,5	14 ^d
Valina	17,1	17,5	16	15,3	17,2	16,3	15,5	14 ^e
Triptofano	2,8	3,8	3,1	2,2	2,1	1,7	1,9	2 ^b
Aminoácidos totais	40	41,24	39,39	38,16	38,73	38,13	36,05	
Ácidos graxos								
EPA (20:5n-3)	1,8	1,6	2	2	2,1	1,9	1,8	0,5 ^f
DHA (22:6n-3)	3,3	3	3,8	3,8	3,9	3,5	3,5	>0,6 ^e
Ácido Linolênico ô-3	7,7	7,2	9,2	9,3	9,9	9,2	8,9	
Ácido Linoleico ô-6	16,6	16,9	24,5	27	29,5	30,1	30,5	>5 ^e
Composição centesimal								
Umidade	90,8	156,2	157,6	189,1	122	153,2	184,4	
Proteína bruta	417,2	411,9	399,3	384,7	398,2	380,4	366,8	400 ^f
Extrato etéreo	59,5	60,3	90,1	100,2	102,3	105,2	108,3	45 a 105 ^f
Fibra Bruta	5,3	5,1	7,9	7,4	6,5	3,6	4,7	< 35 ^g
Cinzas	81,2	77,2	72,2	75,5	77,4	82,5	80,8	< 82 ^g
Energia bruta	17,6	18	18	18	18	18	18	12,5 a 17 ^h

^a Millamena et al, (1998). ^bMillamena et al, (1999).^c Richard et al (2010), ^dMillamena et al, (1997).^e, NRC,2011.^fAkiyama e Lawrence, 1991. ^gSuárez et al, (2009) ^h Beseres et al, (2005).

Tabela 5. Médias $\pm$ Desvios padrões dos resultados de desempenho *Litopenaeus vannamei* alimentado com dietas formuladas com diferentes níveis de substituição da farinha de peixes por hidrolisados proteicos de peixe.

		SOBRE (%)	PF	GP	TCE(%)	FCA	REP
Fator A	HPP 1	89 $\pm$ 0,08	0,37 $\pm$ 0,06 b	0,37 $\pm$ 0,06 b	12,23 $\pm$ 0,37 b	2,58 $\pm$ 0,24	0,66 $\pm$ 0,11
	HPP2	86 $\pm$ 0,27	0,45 $\pm$ 0,1 a	0,45 $\pm$ 0,1 a	12,56 $\pm$ 0,47 a	2,69 $\pm$ 0,33	0,63 $\pm$ 0,16
Fator B	0%	89 $\pm$ 0,05	0,39 $\pm$ 0,03	0,39 $\pm$ 0,03	12,35 $\pm$ 0,17	2,73 $\pm$ 0,25	0,6 $\pm$ 0,07
	10%	87 $\pm$ 0,09	0,44 $\pm$ 0,1	0,44 $\pm$ 0,14	12,39 $\pm$ 0,73	2,8 $\pm$ 0,34	0,65 $\pm$ 0,18
	20%	90 $\pm$ 0,11	0,42 $\pm$ 0,1	0,42 $\pm$ 0,1	12,49 $\pm$ 0,5	2,46 $\pm$ 0,22	0,66 $\pm$ 0,1
	30%	90 $\pm$ 0,32	0,39 $\pm$ 0,03	0,39 $\pm$ 0,03	12,34 $\pm$ 0,2	2,54 $\pm$ 0,23	0,65 $\pm$ 0,13
AxB	H0%	82 $\pm$ 0,05	0,39 $\pm$ 0,03	0,39 $\pm$ 0,03	12,35 $\pm$ 0,17	2,73 $\pm$ 0,25	0,6 $\pm$ 0,07
	H110%	90 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,05	0,37 $\pm$ 0,05	12,56 $\pm$ 0,11	2,56 $\pm$ 0,15	0,7 $\pm$ 0,003
	H120%	91 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,04	0,37 $\pm$ 0,04	12,23 $\pm$ 0,18	2,56 $\pm$ 0,08	0,64 $\pm$ 0,004
	H130%	92 $\pm$ 0,01	0,36 $\pm$ 0,01	0,36 $\pm$ 0,01	12,18 $\pm$ 0,08	2,45 $\pm$ 0,03	0,67 $\pm$ 0,003
	H210%	84 $\pm$ 0,01	0,52 $\pm$ 0,01	0,52 $\pm$ 0,01	12,63 $\pm$ 0,12	3,04 $\pm$ 0,07	0,60 $\pm$ 0,01
	H220%	89 $\pm$ 0,03	0,48 $\pm$ 0,02	0,47 $\pm$ 0,02	12,75 $\pm$ 0,05	2,36 $\pm$ 0,16	0,69 $\pm$ 0,02
	H230%	89 $\pm$ 0,03	0,42 $\pm$ 0,04	0,42 $\pm$ 0,04	12,06 $\pm$ 0,16	2,63 $\pm$ 0,11	0,63 $\pm$ 0,01

PF=Peso final; GP= ganho de peso;; FCA= fator de conversão alimentar; REP= relação de eficiência proteica; Sobre= sobrevivência; TCE= Taxa de crescimento específica. Diferentes letras na mesma coluna indicam diferença significativa ($P < 0.05$). Foi utilizado um esquema de análise de variância bifatorial. O fator A corresponde à variável tempo de hidrólise. O fator B, à variável substituição. A interação dos dois fatores é representada por AxB.

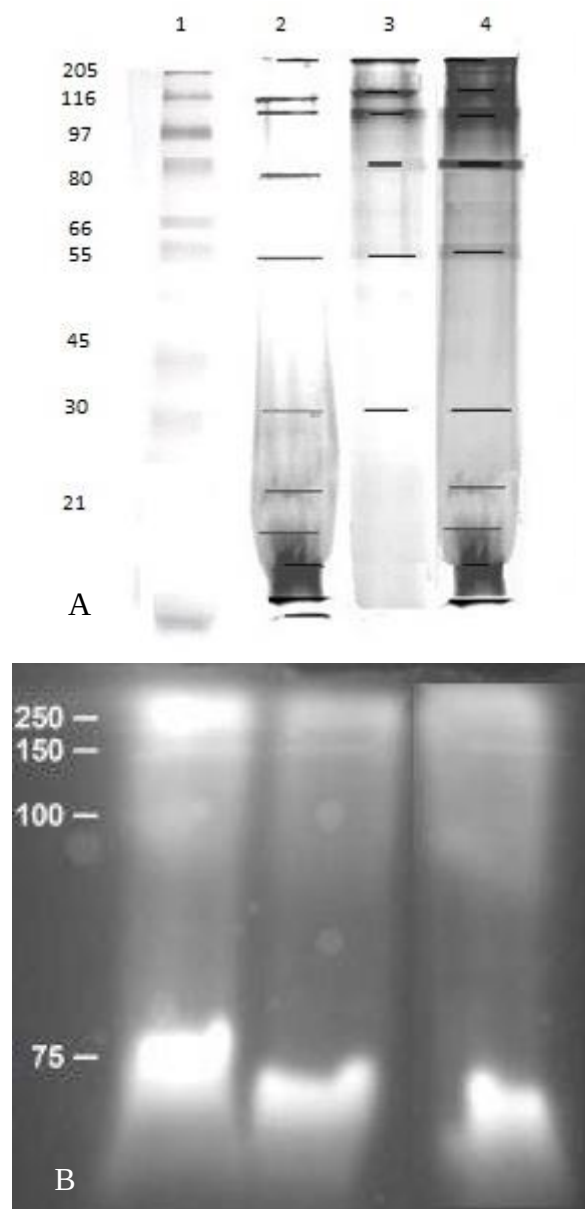


Figura 1. Eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE (A) e zimograma (B). A: Poço 1-padrão de peso molecular. Poços 2, 3 e 4 -hidrolisados de peixe nos tempo 0, 1 e 2 horas, respectivamente. As bandas foram realçadas para facilitar a visualização. B: Poços 1, 2 e 3- hidrolisados de peixe nos tempos 0, 1 e 2 horas, respectivamente.

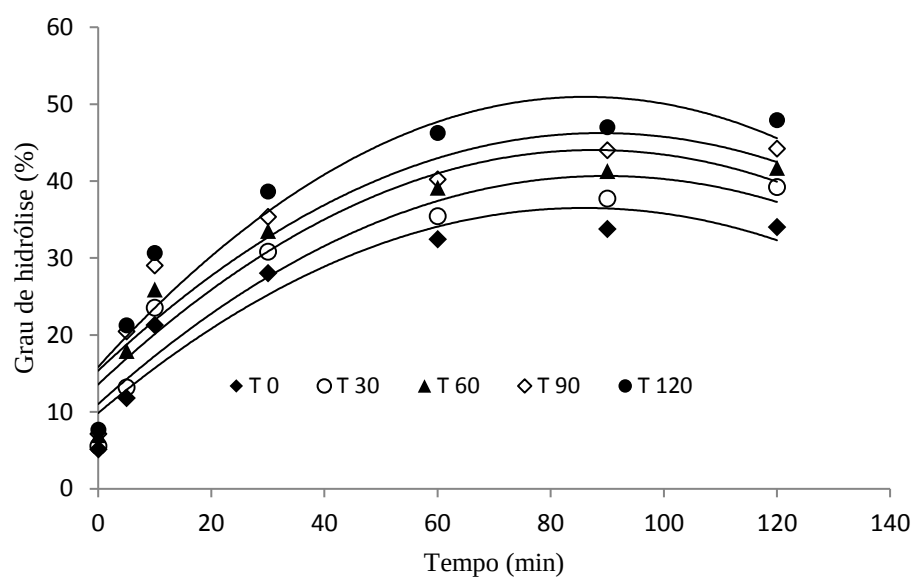
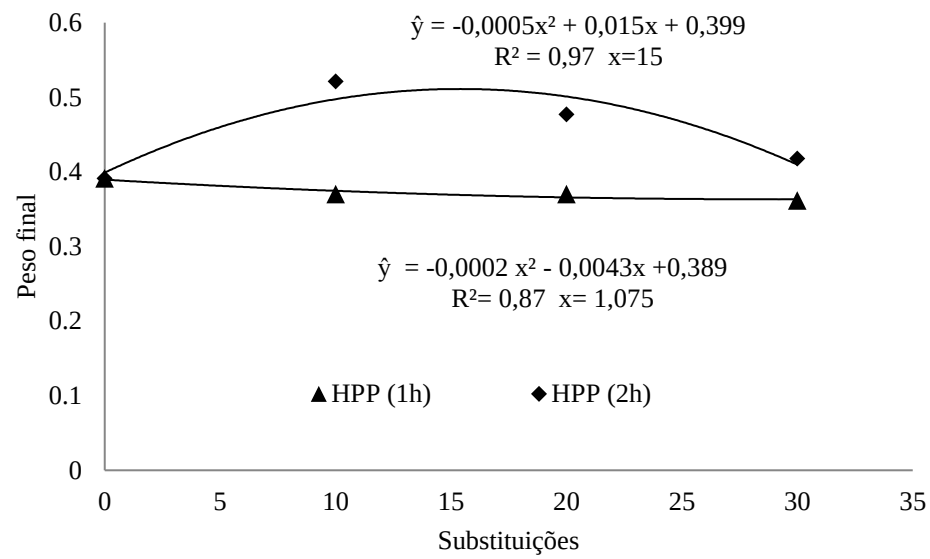
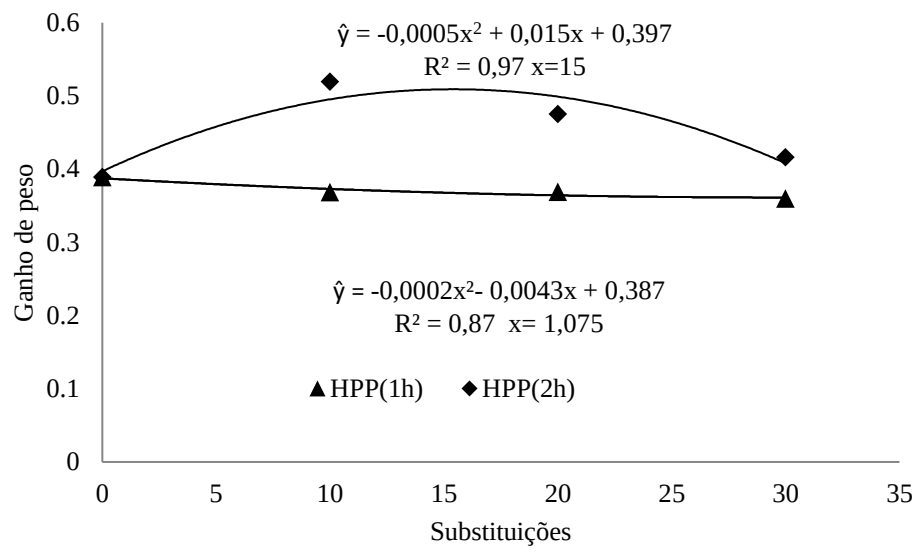


Figura 2. Grau de hidrólise dos hidrolisados proteicos de tilápia produzidos nos tempos de 0, 30, 60, 90 e 120 minutos.



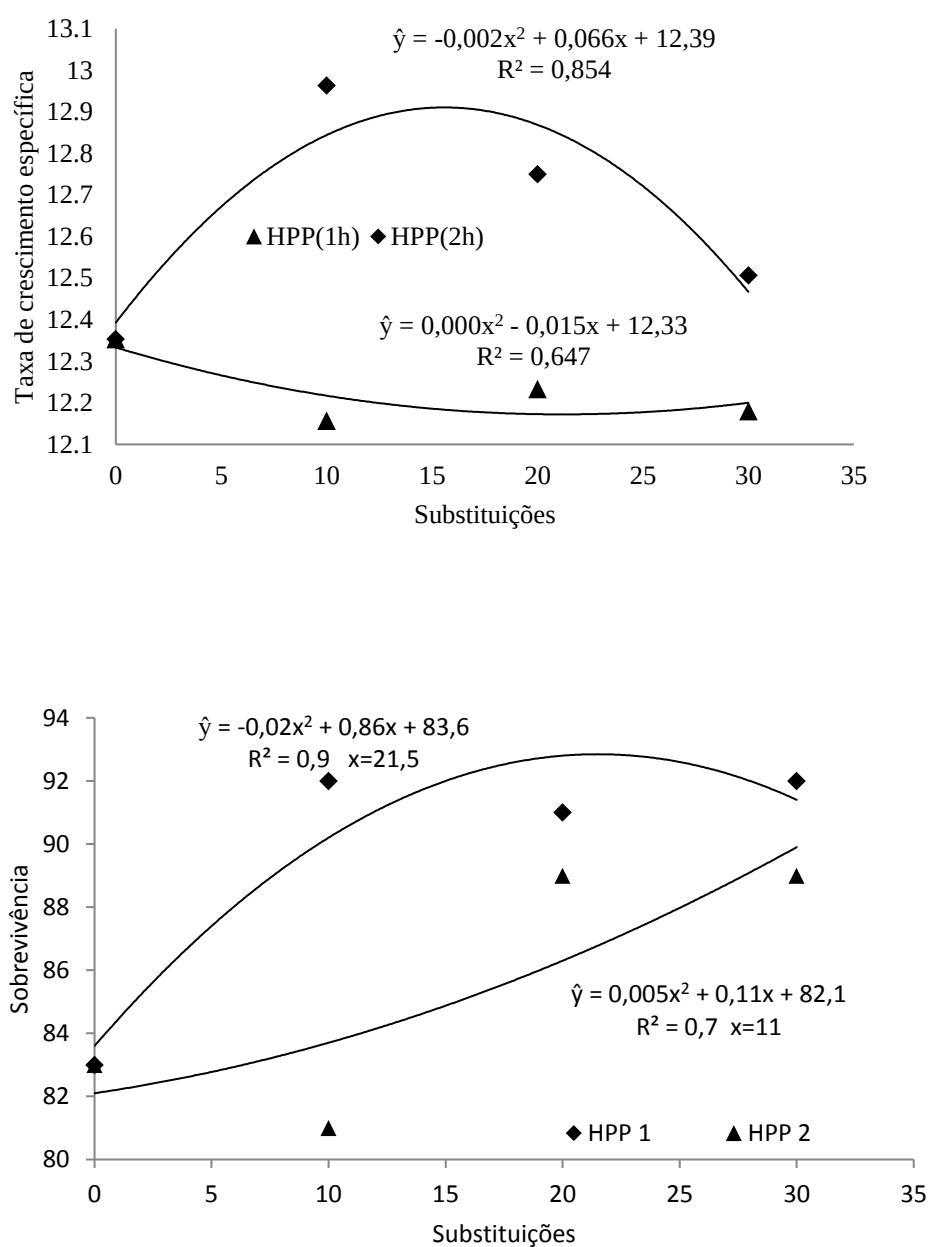


Figura 3. Curvas de regressões de Ganho de peso, Peso final, Taxa de crescimento específica e Sobrevivência. X= níveis ideais de substituição do HPP na ração.

Normas da Revista Aquaculture Nutrition

Periódico : *Aquaculture Nutrition*

Site: [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1365-2095](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1365-2095)

ISSN: 1365-2095 **Fator de impacto:** 1.511

Author Guidelines

Effective with the 2014 volume, this journal will be published in an online-only format. No printed issue of this title will be produced but authors will still be able to order offprints of their own articles.

Manuscript Submission

Manuscripts should be submitted online at <http://mc.manuscriptcentral.com/anu>. Full instructions and support are available on the site and a user ID and password can be obtained on the first visit. Support can be contacted by phone (+1 434 817 2040 ext. 167), e-mail (support@scholarone.com) or at <http://mcv3support.custhelp.com>. If you cannot submit online, please contact Anette Hatland in the Editorial Office by telephone (+47 55905200) or by e-mail (an@nifes.no).

A covering letter must be included, signed by the corresponding author (i.e., the author to whom correspondence should be addressed), and stating on behalf of all the authors that the work has not been published and is not being considered for publication elsewhere. Authors are encouraged to suggest four potential referees for their manuscripts.

Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve its grammar, spelling,

punctuation, and clarity. Please visit the following website <http://wileyeditingservices.com/en/> to learn about the options. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Copyright

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below: CTA Terms and Conditions http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-_301.html

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-_301.html and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by certain funders [e.g. The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) or the Austrian Science Fund (FWF)] you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements.

For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

Authors are responsible for obtaining permission to reproduce copyright material from other sources.

New: Online-only format

Effective with the 2014 volume, this journal will be published in an online-only format. No printed edition will be published. Your article will therefore appear online-only. All normal author benefits and services remain in place e.g. authors will continue to be able to order print reprints of articles if required. Furthermore, there will be no cost to authors for the publication of colour images in the online-only edition.

Page Charges

Original research articles exceeding 8 pages when in proof will be subject to a

page charge of GBP 100 per additional page. The first 8 pages will be published free of charge. An average 8-page article will have approximately 6200 words in manuscript, with approximately 5 figures or tables and 50 references. An invoice will be sent to authors for these charges upon publishing Online in an issue of their article. Invited and review articles are excluded from this rule. DownloadPage Charge Form.

Preparation of the Manuscript

All sections of the manuscript should be double-spaced and with 30mm margins. Articles are accepted for publication only at the discretion of the Editor(s). Authors will receive prompt acknowledgement of receipt of their paper and a decision will be reached within 3 months of receipt. A manuscript should consist of the following sections:

Title page

This should include: the full title of the paper; the full names of all the authors; the name(s) and address(es) of the institution(s) at which the work was carried out (the present addresses of the authors, if different from the above, should appear in a footnote); the name, address, and telephone and fax numbers of the author to whom all correspondence and proofs should be sent; a suggested running title of not more than fifty characters, including spaces; and six key words to aid indexing.

Main text

Generally, all papers should be divided into the following sections and appear in the order: (1) Abstract or Summary, not exceeding 150-200 words, (2) Introduction, (3)

Materials and Methods, (4) Results, (5) Discussion, (6) Acknowledgements, (7) References, (8) Figure legends, (9) Tables, (10) Figures.

The Results and Discussion sections may be combined and may contain subheadings. The Materials and Methods section should be sufficiently detailed to enable the experiments to be reproduced. Trade names should be capitalized and the manufacturer's name and address given.

All pages must be numbered consecutively from the title page, and include the acknowledgements, references and figure legends, which should be submitted on separate sheets following the main text. The preferred position of tables and figures in the text should be indicated in the left-hand margin.

Units and spellings

Système International (SI) units should be used. The salinity of sea water should be given as g L⁻¹. Use the form g mL⁻¹ not g/mL. Avoid the use of g per 100g, for example in food composition, use g kg⁻¹. If other units are used, these should be defined on first appearance in terms of SI units, e.g. mmHg. Spelling should conform to that used in the Concise Oxford Dictionary published by Oxford University Press. Abbreviations of chemical and other names should be defined when first mentioned in the text unless they are commonly used and internationally known and accepted.

Scientific names and statistics

Complete scientific names should be given when organisms are first mentioned in the text and in tables, figures and key words. The generic name may subsequently be

abbreviated to the initial, e.g. *Gadus morhua* L., otherwise *G. morhua*. Carry out and describe all appropriate statistical analyses.

References

List all sources in the reference list alphabetically by name. . In text citations should follow the author-date method. This means that the author's last name and the year of publication for the source should appear in the text, for example, (Jones, 1998), and a complete reference should appear in the reference list at the end of the paper.

References are styled according to the sixth edition of the *Publication Manual of the American Psychological Association*. A sample of the most common entries in reference lists appears below. Please note that for journal articles, issue numbers are not included unless each issue in the volume begins with page one.

Journal article:

Phelps, L. (1996). Discriminative validity of the WRAML with ADHD and LD children. *Psychology in the Schools*, 33, 5-12.

Book edition:

Bradley-Johnson, S. (1994). *Psychoeducational assessment of students who are visually impaired or blind: Infancy through high school* (2nd ed.). Austin, TX: Pro-ed.

References should refer only to material listed within the text.

References in Articles

We recommend the use of a tool such as EndNote (<http://www.endnote.com/>) or

Reference Manager (<http://www.refman.com/>) for reference management and formatting.

EndNote reference styles can be searched for here: <http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>

Reference Manager reference styles can be searched for here: <http://www.refman.com/support/rmstyles.asp>

Illustrations and tables

These should be referred to in the text as figures using Arabic numbers, e.g. Fig. 1, Fig. 2, etc., in order of appearance. Three copies of each figure should be submitted and each figure should be marked on the back with its appropriate number, together with the name(s) of the author(s) and the title of the paper. Where there is doubt as to the orientation of an illustration the top should be marked with an arrow.

Photographs and photomicrographs should be unmounted glossy prints and should not be retouched. Labelling should be clearly indicated on an overlay or photocopy. Colour illustrations are acceptable when found necessary by the Editor.

Line drawings should be on separate sheets of white paper in black indelible ink (dot matrix illustrations are not permitted); lettering should be on an overlay or photocopy and should be no less than 4 mm high for a 50% reduction. Please note, each figure should have a separate legend; these should be grouped on a separate page at the end of the manuscript. All symbols and abbreviations should be clearly explained.

Tables should be self-explanatory and include only essential data. Each table must be typewritten on a separate sheet and should be numbered consecutively with Arabic

numerals, e.g. Table 1, and given a short caption. No vertical rules should be used. Units should appear in parentheses in the column headings and not in the body of the table. All abbreviations should be defined in a footnote.

All tables and figures that are reproduced from a previously published source must be accompanied by a letter of permission from the Publisher or copyright owner.

Supporting Information

Supporting material that is too lengthy for inclusion in the full text of the manuscript, but would nevertheless benefit the reader, can be hosted as online-only content, linked to the online manuscript. The material should not be essential to understanding the conclusions of the paper, but should contain data that is additional or complementary and directly relevant to the article content. Such information might include the study protocols, more detailed methods, extended data sets/data analysis, or additional figures.

The materials considered as supporting data must be uploaded separately as such with the manuscript files during submission. Please indicate clearly the material intended as Supplementary Data upon submission. Also ensure that the Supplementary Data is referred to in the main manuscript. Label these supplementary figures/tables as S1, S2, S3, etc. Full details on how to submit supporting data, can be found at <http://authorservices.wiley.com/bauthor/supinfo.asp>

Please note that these data will not be edited or altered from its original format during the Production process. Although a proof of your Supporting Information is not available, it will appear online when your article is published

Acknowledgements

These should be brief and must include references to sources of financial and logistical support.

Page Proofs and Reprints

Proofs will be sent via e-mail as an Acrobat PDF (portable document format) file. The e-mail server must be able to accept attachments up to 4 MB in size. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site:<http://www.adobe.com/prodindex/acrobat/main.html>. This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Editor within 3 days of receipt, ideally by fax. Only typographical errors can be corrected at this stage. Major alterations to the text cannot be accepted.

Author Services

NEW: Online production tracking is now available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services.

Author Services enables authors to track their article – once it has been accepted – through the production process to publication online. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to

register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

Offprints

Offprints of articles may be ordered at the proof stage. The corresponding author will be provided with five free copies of the published issue. Where there are more than two authors, the corresponding author will receive two free copies for distribution to each author.

Free access to the final PDF offprint of your article will be available via author services only. Please therefore sign up for author services if you would like to access your article PDF offprint and enjoy the many other benefits the service offers.

Additional paper offprints may be ordered online. Please click on the following link fill in the necessary details and ensure that you type information in all of the required fields.

<http://offprint.cosprinters.com/blackwell>

If you have queries about offprints please email offprint@cosprinters.com

Early View

Aquaculture Nutrition is covered by Wiley-Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in Online issue. Articles are therefore available as soon as they are ready, rather than having to wait for the next scheduled Online issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After Online publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

OnlineOpen

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen_Terms.

Any author wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the payment form available [here](#).

Prior to acceptance there is no requirement to inform the Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.