



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RAMIRES ELOISE QUEIROZ RAFAEL

**NOVOS INSUMOS PROTEICOS PARA RAÇÃO DE TILÁPIA DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) A PARTIR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS
PROCESSADOS**

Recife
2020

RAMIRES ELOISE QUEIROZ RAFAEL

**NOVOS INSUMOS PROTEICOS PARA RAÇÃO DE TILÁPIA DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) A PARTIR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS
PROCESSADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Área de concentração:

Biotecnologia.

Orientador: Prof^o. Dr. Ranilson de Souza Bezerra.

Coorientadores: Prof^a. Dr^a. Juliana Ferreira Dos Santos

Dr. Thiago Barbosa Cahú.

Recife

2020

Catálogo na Fonte:
Elaine C Barroso, CRB-4/1728

Rafael, Ramires Eloise Queiroz

Novos insumos proteicos para ração de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) a partir de resíduos agroindustriais processados / Ramires Eloise Queiroz Rafael – 2020.

63 f.: il., fig., tab.

Orientador: Ranilson de Souza Bezerra

Coorientadores: Juliana Ferreira dos Santos e Thiago Barbosa Cahu
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Recife, 2020.

Inclui referências.

1. Nutrição animal 2. Tilápia (peixe) 3. Rações I. Bezerra, Ranilson de Souza (orient.) II. Santos, Juliana Ferreira dos (coorient.) III. Cahu, Thiago Barbosa (coorient.) IV. Título

636.0852

CDD (22.ed)

UFPE/CB-2021-328

RAMIRES ELOISE QUEIROZ RAFAEL

**NOVOS INSUMOS PROTEICOS PARA RAÇÃO DE TILÁPIA DO NILO
(*Oreochromis Niloticus*) A PARTIR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS
PROCESSADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ranilson de Souza Bezerra (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Thiago Cahú Barbosa (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Danielli Matias de Macêdo Dantas (Examinadora Externa)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dedico esse trabalho a Deus, a toda minha família e amigos, pois sei que sou a soma de todos eles e resultado de todos esforços e ajuda concedidos a mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pois sem Ele eu seria nada. Agradeço ao meu orientador Ranilson de Souza Bezerra pela oportunidade, confiança, dedicação e ensinamentos cedidos a mim. E por todos as conversas e momentos de descontrações cheios de levezas.

A minha coorientadora querida Juliana Ferreira dos Santos, pela amizade, esforços e dedicações, sem a senhora eu não seria quem sou hoje.

Aos meus queridos amigos Thiago Cahú e Janilson Félix que tanto me ajudaram e ensinaram no desenvolvimento deste trabalho e por tornarem a rotina no LABENZ mais leve e divertida, amo vocês.

A toda minha família, que são minha base. Pois tudo o que tenho são resultados dos esforços de todos. Agradeço em especial a minha avó Maria Antônia dos Santos Rezende, que não mede esforços por mim.

A todos os amigos do LABENZ: Lidiane, Milena, Kívia, Elizabel, Cybelle, Leila, Rafael, Luciano, Marly, Robson, Rudã, Ângelo, Max, Caio, Flávia, Nadjada e em especial a Luiz Panda, Daniel Crispim e Anderson que me ajudaram diretamente neste trabalho.

As minhas amigas, que em momentos de tensão tiveram atitudes sensíveis de me ajudar e compreender: Elisângela, Jéssica Albino, Rafaella França e Valquíria Gomes.

Aos meus amigos da UAST Prof. Dario Falcon, Rafaella Brás, Júlio Gabriel e em especial a João Lucas Rocha que sempre está comigo, independente da distância. A Leandro dos Santos, pela amizade, conversas, compreensão, ensinamentos, carinho e acolhimento.

As minhas amigas da UAST que se mantiveram presentes em minha vida e de alguma maneira contribuíram: Priscilla Gouveia, Kaeline Feitosa, Keylane Nunes e Morgana Xavier, esta que viabilizou as cabeças de camarão (risos).

Ao querido Alejandro Risco, pela amizade e gentileza de cozinha pra mim durante a escrita, aos queridos Renata Farias, Valdemir Queiroz, Otávio Augusto e Eduarda Almeida pela amizade, descontrações e gentilezas e aos demais colegas da república: Laura, Sônia, David e Arturene.

A prof.^a Dani Matias que aceitou participar da minha banca, mais uma vez.

A todos, meu carinho e meu muito obrigada.

“Meu filho, quero lhe contar uma história.

Quando eu tinha sua idade e vi minha família morrendo no Sertão, decidi que não daria pra minha família a vida que eu estava tendo. Eu queria que meus herdeiros tivessem o que eu não tive. Então fugi e passei 3 noites só, no mato, até encontrar uma casa que me desse emprego. Até crescer e vir pra esta cidade, que tem universidade, pra sua mãe, seus tios e você tivessem o que eu não tive.

Então por favor, não desonre o meu esforço e toda vez que não tiver vontade de estudar leia este repente que te fiz:

LEI DO TRABALHO

Estude e não esmoreça.

Pois traz erguida a cabeça,

Quem cumpre o dever.

A vida, é luta e batalha

E nela, só quem trabalha

Merece e deve vencer”.

- Avô de Rossandro Klinjey

RESUMO

A tilápia foi a quarta espécie de peixe mais produzida no Brasil e mundo em 2016, em 2018 atingiu 311,5 mil toneladas no Brasil. Ração é o insumo mais oneroso na aquicultura, podendo chegar a 70% da produção total e o crescimento expressivo no preço dos ingredientes tradicionais torna imprescindível a busca por alternativas mais viáveis. Subprodutos do camarão podem corresponder a 50% de seu peso total, tornando importante seu aproveitamento, bem como subprodutos das culturas de cacau e mamona, estes podem ser aptos para o consumo animal através da fermentação em estado sólido. Este trabalho desenvolveu e testou *in vitro* dois novos ingredientes para elaboração de ração para tilápia do Nilo, M30 e C30, utilizando o Farelo de Soja como controle. O M30 obteve 54,5% de Proteína Bruta (PB) e o C30 45,6%, resultados semelhantes ao controle (46,7%). Os dois novos ingredientes possuíram valores melhores, para exigência nutricional da tilápia do Nilo, de aminoácidos e ácidos graxos do que o farelo soja. Os resultados de inibição não se demonstraram eficientes para detecção de toxicidade e a inibição enzimática demonstrou que os novos ingredientes podem ser utilizados em rações, sem causar danos fisiológicos aos peixes. Deste modo, considerou-se que os novos ingredientes são aptos a utilização em dietas de tilápias, porém, para melhor utilização mais estudos devem ser realizados, como digestibilidade e desempenho de crescimento.

PALAVRAS-CHAVE: Nutrição; *Oreochromis niloticus*; *Litopenaeus vannamei*; Ricina; Metilxantinas.

ABSTRACT

Tilapia was the fourth closest fish species in Brazil and the world in 2016, in 2018 it reached 311.5 thousand tons in Brazil. Feed is the most expensive input in aquaculture, reaching 70% of the total production and the expressive growth in the price of traditional ingredients makes the search for more viable alternatives essential. Shrimp by-products can correspond to 50% of their total weight, making it important to use them, as well as by-products from cocoa and castor crops, these can be suitable for animal consumption through solid state fermentation. This work developed and tested in vitro two new ingredients for preparing feed for Nile tilapia, M30 and C30, using Soybean Meal as a control. M30 obtained 54.5% of Crude Protein (CP) and C30 45.6%, similar results to the control (46.7%). The two new ingredients have better values, for the nutritional requirement of Nile tilapia, of amino acids and fatty acids than soybean meal. The inhibition results have not been shown to be effective in detecting toxicity and the necessary enzymatic inhibition that the new ingredients can be used in diets, without causing physiological damage to fish. Therefore, consider that the new ingredients are suitable for use in tilapia diets, however, for better use, more studies should be carried out, such as digestibility and growth performance.

Keywords: Nutrition; *Oreochromis niloticus*; *Litopenaeus vannamei*; Ricin; Methylxanthine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Revisão Bibliográfica

Figura 1 –	Produção mundial da aquicultura de 1990 a 2016.....	16
Figura 2 –	Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	17
Figura 3 –	Hierarquia de Recuperação de Alimentos.....	19
Figura 4 –	Composição da ração do salmão norueguês e preço da farinha de peixe ao longo do tempo.....	20
Figura 5 –	Camarão branco do Pacífico (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	21
Figura 6 –	Fruto do cacauieiro (<i>Theobroma cacao</i>).....	23
Figura 7 –	Fluxograma do Processamento do Cacau.....	24
Figura 8 –	Mamona (<i>Ricinus communis</i> L.)	26
Figura 9 –	Gel de poli(acrilamida) realizado com duas colunas de padrões de ricina em diferentes concentrações e tortas de mamona <i>in natura</i> e fermentada nos tempos 24, 48, 72 e 96h.....	27
Figura 10 –	Crescimento de Vero células cultivadas na presença de diferentes tempos de fermentação da mamona e <i>in natura</i> .	28

Artigo 1

Gráfico 1 –	Hemólise dos processamentos dos ingredientes e da soja.	48
Gráfico 2 –	Inibição enzimática dos ingredientes e da soja	50
Gráfico 3 –	Inibição enzimática das rações	51

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1 –	Formulação das rações	35
Tabela 2 –	Composição centesimal dos ingredientes.....	38
Tabela 3 –	Composição de aminoácidos dos ingredientes	41
Tabela 4 –	Composição de ácidos graxos dos novos ingredientes	46

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	GERAL	15
2.2	ESPECÍFICOS	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1	Aquicultura	16
3.2	Tilapicultura.....	17
3.3	Ingredientes e subprodutos na aquicultura.....	18
3.4	Camarão branco do Pacífico (<i>Litopenaeus vannamei</i>): resíduos e processamento	21
3.5	Resíduos do cacau (<i>Theobroma cacao</i>) e processamento	22
3.6	Resíduos da mamona (<i>Ricinus communis L.</i>) e processamento.....	25
4	RESULTADOS.....	29
4.1	ARTIGO 1 (Novos insumos proteicos para ração de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) a partir de resíduos agroindustriais processados).....	29
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59
	REFERÊNCIAS	60

1. INTRODUÇÃO

O pescado e seus derivados têm papel crucial na nutrição e segurança alimentar mundial. Em países de baixa renda, o seu consumo é reforçado por estes produtos conterem nutrientes e micronutrientes valiosos (vitaminas, minerais, aminoácidos e ácidos graxos essenciais) e necessários para resolver algumas das deficiências nutricionais mais graves e generalizadas. Além disto, evidências confirmam os efeitos benéficos do consumo de peixes para a saúde mental e prevenção de doenças cardiovasculares, acidente vascular cerebral e degeneração macular relacionada à idade (FAO, 2018).

A produção de pescados atingiu, em 2016, cerca de 171 milhões de toneladas no mundo, no qual a aquicultura foi responsável por 47% deste volume (FAO, 2018). Ainda segundo a FAO (2018), o cultivo de tilápia do Nilo pode ser encontrado em 87 países e foi a quarta espécie de peixe mais produzida no mundo em 2016. Segundo os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2018), a tilápia foi o peixe mais produzido no Brasil neste ano, com 311,5 mil toneladas despescadas. Esta produção representa 60% da piscicultura nacional, no qual a região Sul foi a maior produtora de tilápia, representando 48,5% do total da produção. Com relação a produção mundial, segundo a Associação Brasileira de Piscicultura (PEIXEBR, 2019), o Brasil é o quarto maior produtor de tilápia do mundo desde 2017, ficando atrás da China, Indonésia e Egito.

O camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) foi o crustáceo mais produzido no mundo em 2016, representando 53% da carcinicultura mundial (FAO, 2018), já no Brasil esta espécie alcançou aproximadamente 45,8 mil toneladas em 2018, no qual houve um aumento de 11,4% em relação ao ano anterior (IBGE, 2018). A região Nordeste é responsável por quase toda a produção desta espécie, aproximadamente 99%, sendo os estados do Rio Grande do Norte e Ceará os principais produtores com 43,2 e 28,5% da produção nacional, respectivamente (IBGE, 2018).

O seguimento que mais se desenvolveu nas últimas décadas, foi a formulação de alimentos voltados para aquicultura, em comparação aos demais setores da produção animal, com crescimento de aproximadamente 12% ao ano (ZANI, 2013). A procura por ingredientes tradicionais e a inconstância do

mercado mundial causaram um crescimento expressivo no preço destes ingredientes, tornando imprescindível a busca por alternativas mais viáveis do ponto de vista ecológico e econômico, que possam suprir as necessidades nutricionais das espécies a serem cultivadas, garantindo resultados satisfatórios na produtividade (EL - SAIDY e GABER, 2003; BOSCOLO et al., 2004 e ABIMORAD et al., 2014).

Segundo Heu et al. (2003), os subprodutos do camarão correspondem a aproximadamente 50% de seu peso total, que são compostos por cabeça, exoesqueleto e cauda. Considerando a produção do camarão branco do Pacífico já citado, aproximadamente 26 mil toneladas de resíduos de camarão podem ter sido descartadas no país, tornando importante o seu aproveitamento nas vertentes da sustentabilidade.

Devido à crescente demanda do camarão na pesca, assim como na aquicultura, seu resíduo foi considerado uma fonte potencial de proteína para alimentação animal, sendo melhor aproveitado como proteína hidrolisada em substituição da farinha proteica tradicional (OETTERER, 2002). Este fato está relacionado com a qualidade nutricional da proteína hidrolisada, que pode estar relacionada com a elevada concentração de pequenos peptídeos e aminoácidos essenciais, como também de compostos que estimulam a resposta imune, promovendo assim crescimento e resistência a doenças (GILDBERG e STENBERG, 2001). Vale salientar que o simples uso da farinha de cabeça de camarão na formulação de alimentos para organismos aquáticos não é recomendado, devido a sua alta concentração de fibras e cinzas, que também resulta na formação de péletes com uma baixa estabilidade em água (CAVALHEIRO et al., 2007).

Como outras fontes de proteínas e de aminoácidos, resíduos de culturas como cacau (*Theobroma cacao*) e mamona (*Ricinus communis*), podem constituir alternativas economicamente viáveis e sustentáveis. Estima-se que a produção de cacau no Brasil chegará à 232.134 toneladas em 2018 (IBGE, 2018), desta maneira, a produção do farelo de cacau chegará à aproximadamente 23 mil toneladas, considerando-se que 10% da produção das amêndoas secas representa o farelo de cacau (NETO et al., 2008). O IBGE (2018) também estimou a produção da mamona (*Ricinus communis*) para 2018, que poderá chegar à 24.690 toneladas. A torta da mamona é o subproduto mais

importante para formação de óleo de rícino. O resíduo desta torta, após a fermentação, possui grande quantidade de proteínas, que podem ser utilizadas para alimentação animal (ASLANI, 2007). O cacau e a mamona possuem fatores antinutricionais e tóxicos, porém com o processo de Fermentação em Estado Sólido (FES), tais fatores podem ser reduzidos, tornando os resíduos propícios para o consumo animal (AMORIM, 2012; GODOY, 2012).

Este trabalho consiste na investigação da possibilidade da utilização de dois novos ingredientes proteicos para dietas de tilápias do Nilo, possibilitando implementar maior produtividade, que atenda ao crescimento do consumo de produtos da aquicultura, além da busca por novas alternativas nutricionais economicamente e regionalmente viáveis e de fontes sustentáveis.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Elaboração, caracterização e avaliação *in vitro* de dois novos ingredientes derivados da combinação de resíduos da agroindústria da carcinicultura, mamona e cacau.

2.2. Específico

- Adquirir os insumos e processá-los, para elaboração de novos ingredientes;
- Elaborar dois novos ingredientes através da junção de resíduos processados da indústria camaroneira com o farelo de cacau e manona, separadamente;
- Otimizar a metodologia de formulação dos ingredientes;
- Caracterizar os ingredientes elaborados, do ponto de vista nutricional;
- Produzir rações para tilápia do Nilo com os novos ingredientes;
- Analisar *in vitro* a eficiência dos ingredientes processados e das rações, através de hemólise e inibição enzimática, comparando-os ao farelo de soja.

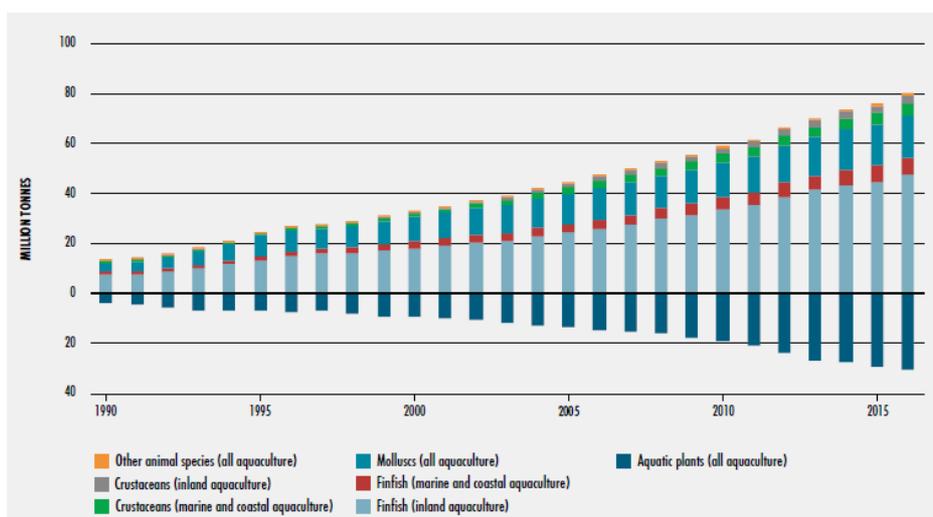
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Aquicultura

A produção de pescados alcançou 171 milhões de toneladas em 2016, no qual a aquicultura representou de 47 à 53% do total (FAO, 2018). Aquicultura consiste no cultivo de organismos aquáticos, que provavelmente nasceu na China a aproximadamente 4 mil anos atrás, através da domesticação de macroalgas e posteriormente de carpas (ARANA, 1995) e atualmente é o setor alimentício que mais cresce no mundo, com taxa de crescimento anual de 5,8% entre 2001 e 2016 (FAO, 2018). A produção mundial pela aquicultura em 2016 atingiu 110,2 milhões de toneladas, levando em consideração que a África, Américas e Europa representaram 17 a 18% de produção e Oceania 12,8% (Dados excluem o valor da China, por ser o maior produtor mundial) (FAO, 2018).

Ainda segundo os dados estatísticos da FAO (2018), a aquicultura produziu maior quantidade de peixes continentais, seguido de plantas aquáticas, moluscos em toda aquicultura, crustáceos marinhos e peixes marinhos (Figura 1).

Figura 1 - Produção mundial da aquicultura de 1990 a 2016.



Fonte: FAO, 2018.

No Brasil, os maiores representantes da aquicultura são os peixes, seguido do camarão e da ostra, onde na piscicultura as maiores produções são

de tilápias e tambaqui. A carcinicultura é representada pelo camarão branco do pacífico e as ostras (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2018).

3.2. Tilapicultura

A espécie de tilápia mais produzida no Brasil é a *Oreochromis niloticus* (Figura 2), mais conhecida com tilápia do Nilo, pertencente à família dos ciclídeos e original do rio Nilo ao leste da África (DIAS, 2019). Devido a sua alta capacidade adaptativa a diferentes temperaturas, salinidade, rusticidade, aceitação de ração e fácil aceitação do consumidor por poucas espinhas intramuscular, carne branca, boa qualidade, rendimento do filé e pacote tecnológico de produção estabelecido, a tilápia foi introduzida no Brasil (VICENTE; ELIAS; FONSECA-ALVES, 2014).

Figura 2 - Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).



Fonte: Peixe BR (2018).

A chegada da tilápia do Nilo ao Brasil se deu nos anos 70, com finalidade de povoar açudes da regiões Nordeste e em 1990 expandiu-se para as regiões Sul e Suldeste ganhando destaque na pecuária nacional (DIAS, 2019).

O cultivo de tilápia do Nilo pode ser encontrado em 87 países e foi a quarta espécie de peixe mais produzida no mundo em 2016. Segundo os dados do

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2018), a tilápia foi o peixe mais produzido no Brasil neste ano, com 311,5 mil toneladas despescadas, representando 60% da piscicultura nacional, no qual a região Sul foi a maior produtora de tilápia, representando 48,5% do total da produção, além disto, a Associação Brasileira de Piscicultura (PEIXEBR, 2019) relata que o Brasil é o quarto maior produtor de tilápia do mundo desde 2017, ficando atrás da China, Indonésia e Egito.

3.3. Ingredientes e subprodutos na aquicultura

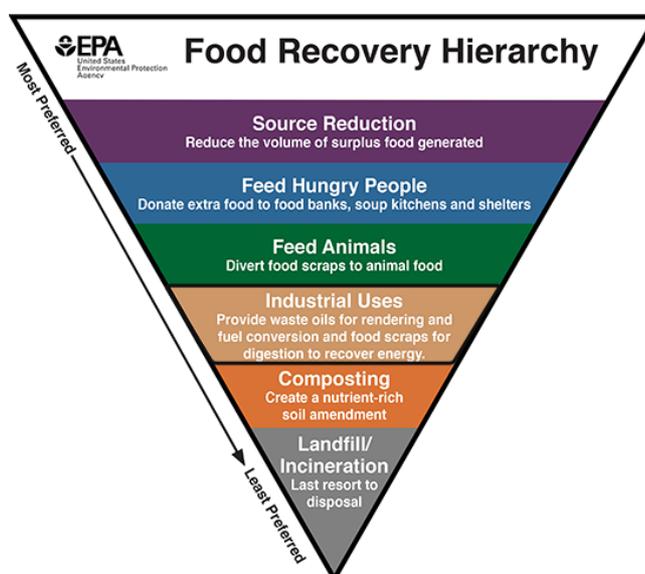
Ração na aquicultura é o insumo mais oneroso, podendo chegar a 70% da produção total, dependendo da espécie (SIDONIO et al., 2012). No passado, o ingrediente proteico mais utilizado nas rações de organismos aquáticos era a farinha de peixe, devido ao seu alto valor nutritivo, porém o aumento da aquicultura mundial, a diminuição dos estoques pesqueiros e a utilização deste insumo nas rações de outros segmentos como pets e aves, fizeram com que a oferta da farinha de peixe diminuísse no mercado e conseqüentemente os preços alavancaram, tornando seu uso insustentável (KUBITZA, 1997; EL-SAYED, 1999; HARDY, 2010; FAO, 2018).

Diversos estudos se voltaram em busca de alternativas mais viáveis para aquicultura, principalmente por fontes proteicas de origem vegetal, no entanto, nos últimos dez anos os esforços se voltaram a estudar e melhorar o farelo de soja, que por sua vez começou a apresentar restrições tanto econômicas, como ambientais (DIÓGENES et al., 2019).

Na produção animal, o segmento que mais se desenvolveu nas últimas décadas, foi a formulação de alimentos para aquicultura, com crescimento de aproximadamente 12% ao ano (ZANI, 2013). A procura por ingredientes tradicionais e a inconstância do mercado mundial causaram um crescimento expressivo no preço destes ingredientes, tornando imprescindível a busca por alternativas mais viáveis do ponto de vista ecológico e econômico, que possam suprir as necessidades nutricionais das espécies a serem cultivadas, garantindo resultados satisfatórios na produtividade (EL - SAIDY e GABER, 2003; BOSCOLO et al., 2004 e ABIMORAD et al., 2014).

No mundo todo, pesquisadores e organizações buscam por estratégias que resultem no melhor aproveitamento dos alimentos (FAO,2018). A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), disponibilizou em sua plataforma digital a Hierarquia de Recuperação de Alimentos (Figura 3) que propõe o aproveitamento integral dos alimentos e conseqüentemente a redução do impacto ambiental e aumento da segurança alimentar e lucratividade do setor, através da destinação máxima dos subprodutos aos humanos e quando não mais possível, a destinação seguir ao uso para alimentação animal, industrial, compostagens e por fim, aterros ou incineração (EPA, 2017).

Figura 3 - Hierarquia de Recuperação de Alimentos.

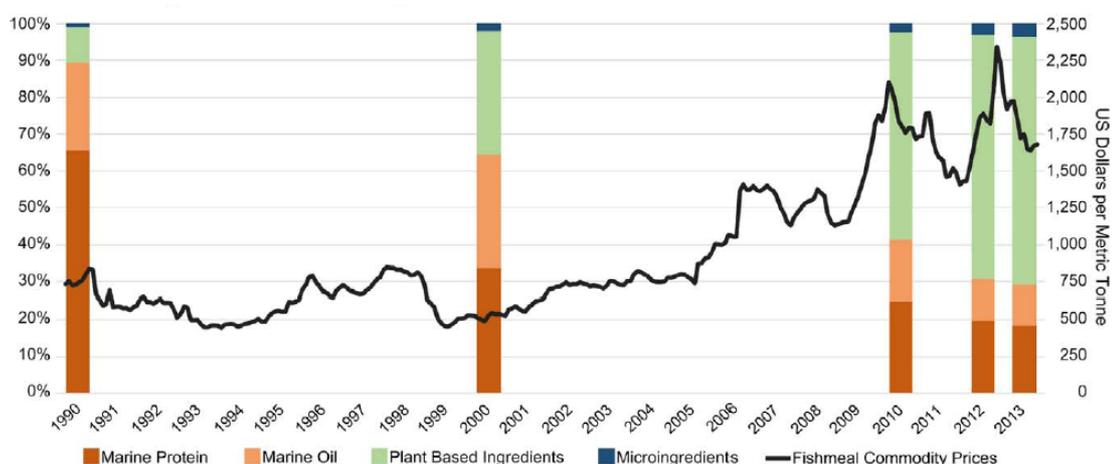


Fonte: EPA, 2017.

Stevens et al. (2018) mostraram em seus estudos que em 2015 a indústria do salmão da Escócia gerou cerca de 76 mil toneladas de subprodutos, dos quais 15% foram destinados a alimentação humana, 75% a rações de animais e 10% a produção de combustíveis e fertilizantes, ou seja, nenhum por cento foi destinado para aterros. Os autores também fazem uma relação ao longo do tempo com o uso de ingredientes marinhos (Proteína e óleo marinho) e ingredientes a base de plantas, em rações de salmões da Noruega, com os preços das comódites da farinha de peixe (Figura 4), onde segundo eles, em 1990 as rações continham aproximadamente 10% de ingredientes a base de plantas e cerca de 90% a base de ingredientes marinhos e em 2013 as rações

foram compostas por mais de 65% de ingredientes a base de plantas e menos de 30% por ingredientes marinhos, no qual conforme o uso de ingredientes a base de plantas foi aumentando nas rações, o preço das comódites da farinha de peixe também aumentou. Os autores também relacionaram o aumento do uso de ingredientes a base de plantas com a diminuição da qualidade do salmão produzido na Noruega e no Chile, onde tais animais possuem taxas cada vez menores de ômega 3, principalmente dos ácidos graxos eicosapentaenoico e docosahexaenoico.

Figura 4 - Composição da ração do salmão norueguês e preço da farinha de peixe ao longo do tempo.



Fonte: STEVENS et al., 2018.

Estudos que avaliam a composição dos subprodutos oriundos de pescados, os apontam como ricas fontes de proteínas, lipídeos, vitaminas, minerais e compostos antioxidantes e destacam a importância da utilização deste recursos primeiramente na alimentação humana e posteriormente na alimentação de organismos aquáticos (RUSTAD, 2007; AL KHAWLI et al., 2020).

Os fatos indicam a possibilidade da utilização dos resíduos da aquicultura, como subprodutos, para formulação de ingredientes de organismos aquáticos e demonstram a importância do total aproveitamento dos resíduos da indústria alimentícia.

3.4. Camarão branco do pacífico (*Litopenaeus vannamei*): resíduos e processamento

O camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) (Figura 5) foi o crustáceo mais produzido no mundo em 2016, representando 53% da carcinicultura mundial (FAO, 2018), já no Brasil esta espécie predomina na carcinicultura, onde alcançou aproximadamente 45,8 mil toneladas em 2018, no qual houve um aumento de 11,4% em relação ao ano anterior (IBGE, 2018). A região Nordeste é responsável por quase toda a produção deste animal, aproximadamente 99%, sendo os estados do Rio Grande do Norte e Ceará os principais produtores com 43,2 e 28,5% da produção nacional, respectivamente (IBGE, 2018).

Figura 5 - Camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*).



Fonte: Gia.org.br

Segundo Heu et al. (2003), os subprodutos do camarão correspondem a aproximadamente 50% de seu peso total, que são compostos por cabeça, exoesqueleto e cauda. Considerando a produção do camarão branco do Pacífico já citado, aproximadamente 22,9 mil toneladas de resíduos de camarão podem ter sido descartadas no país, tornando importante o seu aproveitamento nas vertentes da sustentabilidade.

O resíduo do camarão foi considerado uma fonte potencial de proteína para alimentação animal e estes resíduos podem ser melhor aproveitados como

proteína hidrolisada, em substituição da farinha proteica tradicional (OETTERER, 2002).

Hidrólise enzimática é uma técnica que objetiva a retomada das proteínas de subprodutos, ou resíduos que seriam desperdiçados, preservando a qualidade nutricional do substrato original (OGAWA & MAIA, 1999. p. 360 e 364). As enzimas são catalisadores das reações dos sistemas biológicos, ou seja, aceleram as reações químicas; elas dispõem de especificidade de alto grau para os seus devidos substratos, e atuam em solução aquosa sob condições brandas de temperatura e pH (NELSON & COX, 2018. p. 187). A hidrólise enzimática pode ser realizada com enzimas endógenas ou exógenas, sendo esta mais onerosa. Pesquisadores descobriram que enzimas de pescados tendem a possuir boa atividade enzimática, com poucos esforços (BEZERRA et al., 2001, 2005; ALENCAR et al., 2003; CANDIOTTO, 2013), possibilitando o desenvolvimento de novas técnicas de hidrólise através de enzimas endógenas, viáveis para aquicultura (SILVA et al., 2014).

Cahú et al. (2012) desenvolveu um processo de aproveitamento de cabeças de camarão para obtenção de diversos produtos, dentre eles, hidrolisado proteico de camarão que Da Silva et al. (2017) reproduziu e avaliou e ao que tudo indica, tal hidrolisado pode ser uma fonte proteína para dietas de tilápias do Nilo, por possuir altos valores de proteína e lipídeos de alta qualidade.

Tendo em vista que a qualidade nutricional da proteína hidrolisada pode estar relacionada com a elevada concentração de pequenos peptídeos e aminoácidos essenciais, como também de compostos que estimulam a resposta imune, promovendo assim crescimento e resistência a doenças (GILDBERG e STENBERG, 2001). Vale salientar que o simples uso da farinha de cabeça de camarão na formulação de alimentos para organismos aquáticos não é recomendado, devido a sua alta concentração de fibras e cinzas, o que resulta na formação de péletes com uma baixa estabilidade em água e menor digestibilidade (CAVALHEIRO et al., 2007; FRACALLOSSI; CYRINO, 2016).

3.5. Resíduos do cacau (*Theobroma cacao*) e processamento

O cacauéiro é pertencente a ordem Malvales, da família *Malvaceae* e ao gênero *Theobroma* (VALLE, 2012). A palavra "*Theobroma*" significa fruto dos

deuses na linguagem dos antigos pré-colombianos e foi designada à espécie em 1737 por Linneu, que em 1753 à redesignou como *Theobroma cacao* (SILVA NETO, 2001). Pesquisas realizadas por Motamayor et al. (2002) indicam que o cacau se originou na América do Sul, onde humanos o introduziram na América Central e que os Maias foram os primeiros povos a cultivá-lo. Powis et al. (2011) comprovaram que em cerca de 4 mil anos atrás, produtos derivados do cacau eram produzidos e consumidos em rituais religiosos pelos pré-colombianos na América Central e Mesoamérica.

Figura 6 - Fruto do cacaeiro (*Theobroma cacao*).



Fonte: Google imagens.

Silva Neto (2001) descreve que as primeiras explorações econômicas do cacaeiro, no Brasil, começaram na Região Amazônica no período colonial de forma extrativista, com objetivo de solucionar deficiências econômicas do Brasil Colonial para a Coroa Portuguesa. Tal modo de exploração declinou os estoques de cacaeiros selvagens na região, refletindo no desempenho de exportação. Posteriormente a exploração do cacaeiro foi substituída pela exploração da borracha, através dos seringais.

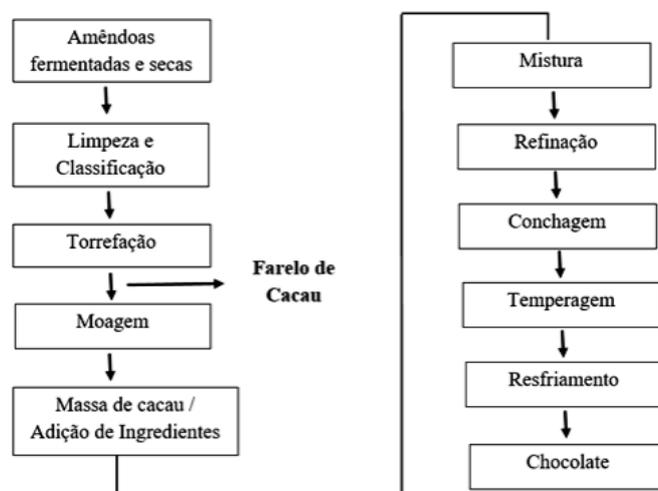
Antes da chegada dos colonizadores europeus à América, os Astecas e Maias já dominavam as técnicas de cultivo do cacaeiro (MOTAMAYOR et al., 2002). No Brasil o cultivo começou oficialmente em 1679 no estado do Pará, porém a prática não se estabeleceu por diversos fatores, dentre eles a pobreza

do solo da região, levando ao declínio da espécie. Mais tarde, em 1746, houve o primeiro cultivo no estado da Bahia onde a espécie se adaptou bem ao clima e solo (CEPLAC). Só a partir de 1976, após ações governamentais, como a criação da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira – CEPLAC e o Programa de Expansão da Cacaucultura – PROCACAU, que a produção de cacau começou a se tornar economicamente viável, através de desenvolvimento de melhores técnicas de cultivo, de novas tecnologias e de melhoramentos genéticos (SILVA NETO, 2001).

Em 1986 o Brasil foi o maior produtor de cacau mundial, atingindo 458,7 mil toneladas e posteriormente a produção caiu em mais da metade devido à estiagem, queda do preço e ataque de doenças como “vassoura-de-bruxa” (BRASIL, 2019). Atualmente o país se encontra como sétimo maior produtor do mundo, onde em 2019 alcançou a produção de 247.730 mil toneladas, sendo o estado da Bahia o maior produtor, seguido do Pará (IBGE, 2019b).

Durante o processamento do cacau para a produção de chocolate, resíduos de cacau (farelo de cacau) são gerados após a torra (AMORIM 2016). A torrefação torna os grãos duros e quebradiços, além de se desprenderem das cascas, gerando assim o Farelo de Cacau que representa cerca de 10% de produção das amêndoas (ROCHA NETO et al., 2010). Desta maneira, no ano de 2019 a indústria do cacau gerou aproximadamente 25 mil toneladas de resíduos, tornando-se contaminante no meio ambiente (DA SILVA et al., 2017).

Figura 7 - Fluxograma do Processamento do Cacau.



Fonte: AMORIM, 2016.

O farelo de cacau possui altos níveis de alcaloides como teobromina e cafeína. Pezzato et al. (1996) suplementaram dietas de Tilápias do Nilo em níveis crescentes de farelo de cacau no Brasil, onde os peixes alimentados com dietas que continham farelo de cacau apresentaram alterações comportamentais caracterizadas como alta excitabilidade que constituíam confrontos agonísticos e alteração na movimentação, além de ter causado efeitos deletéricos no fígado dos peixes. Porém a fermentação do farelo de cacau, pode torná-lo apto ao consumo dos peixes. Segundo Amorim et al. (2017), o processo de fermentação no estado sólido com o fungo *Aspergillus awamori* durante 48h sob o farelo de cacau, reduz 60% do teor de teobromina e 55% do teor de cafeína e provoca um leve aumento da proteína bruta no produto.

3.6. Resíduos da mamona (*Ricinus communis L.*) e processamento

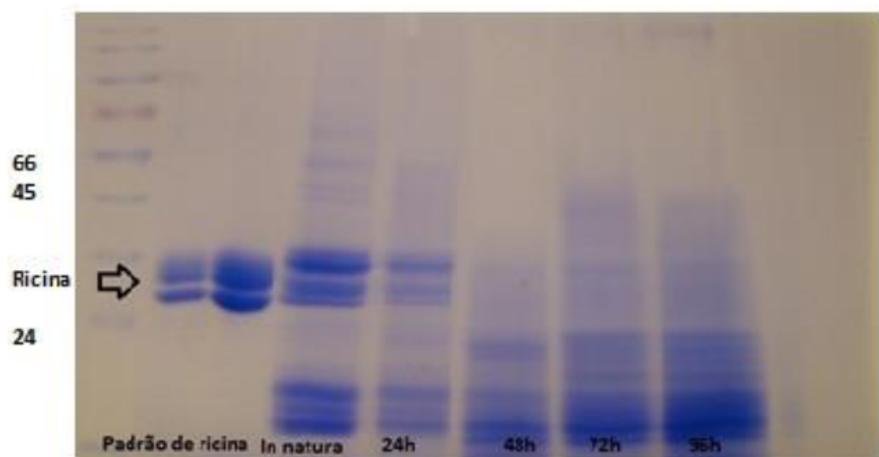
Comum do semiárido, a mamoneira (*Ricinus communis L.*) é uma oleaginosa importante por resistir a seca, tornando-se importante economicamente e socialmente para regiões do semiárido brasileiro (GONELI et al., 2011). O óleo extraído (óleo de rícino), é o principal produto derivado da mamona que possui versatilidade na utilização, podendo ser comparado ao petróleo (BARRETO, 2016). Tal óleo corresponde a aproximadamente 50% do peso do fruto, sendo o ácido ricinoleico o principal componente contendo variáveis aplicações na indústria, gerando subprodutos da casca ou farelo e a torta de mamona, com rendimento de 50% de óleo e 50% de subproduto (BOMFIM; SILVA; SANTOS, 2009; BARRETO, 2016).

Figura 8 - Mamona (*Ricinus communis* L.).

Fonte: Globo.com

O principal resíduo da produção da mamona é a torta de mamona, que possui altos teores de proteína e costumeiramente é utilizada como adubo orgânico, pois seu uso como ingrediente em dietas animais é inviável devido a altos teores de ricina, proteína tóxica da mamona (GOMES et al., 2017). Porém, Godoy et al. (2012) demonstraram que através da fermentação em estado sólido com o fungo *Penicillium simplicissimum*, é possível a retirada de níveis de ricina da torta de mamona. Barreto (2016) averiguou, com o método de SDS-PAGE, a presença de bandas correspondentes à ricina no farelo fermentado e não a detectou a partir de 72h de fermentação, como mostra a Figura 9, comparando com o marcador padrão, em diferentes concentrações.

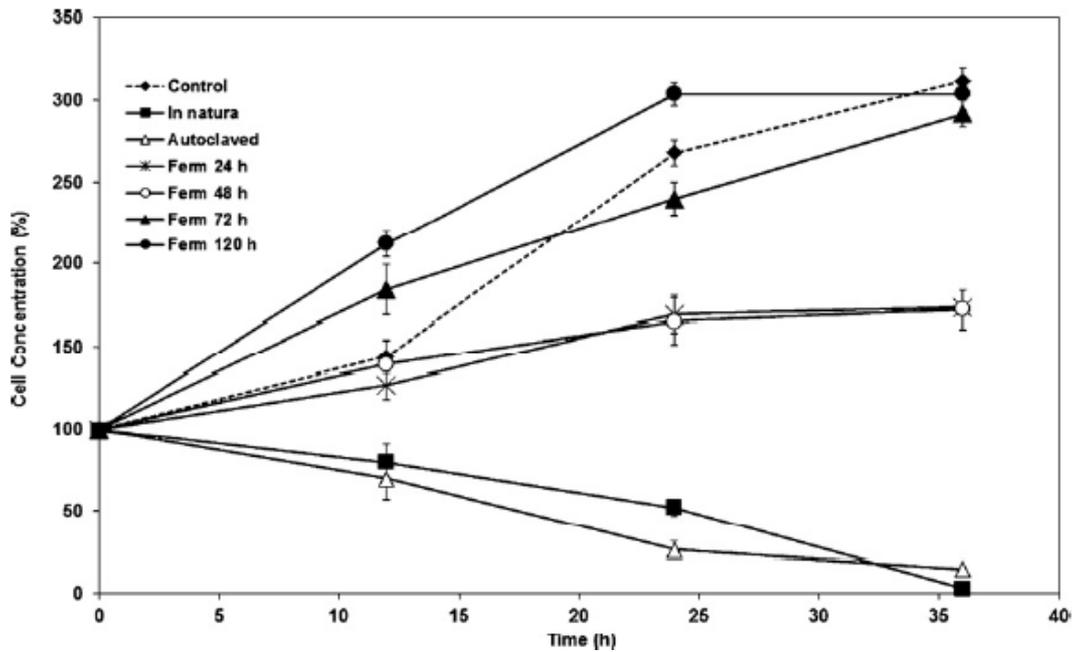
Figura 9 - Gel de poliacrilamida realizado com duas colunas de padrões de ricina em diferentes concentrações e tortas de *mamona in natura* e fermentada nos tempos 24, 48, 72 e 96h. Nas duas primeiras colunas se encontram padrões de ricina em diferentes diluições e nas demais, tortas de mamona *in natura* e fermentadas durante 24, 48, 72 e 96h.



Fonte: BARRETO, 2016.

Godoy et al. (2012) ao cultivarem Vero células na presença de diferentes tempos de fermentação e *in natura* (Figura 10), percebem que a proliferação das células no tempo de 72h de fermentação, se iguala ao controle negativo (cultivo na presença de PBS) durante 36h de cultivo, enquanto que as células na presença da torta *in natura* e *in natura* autoclavada, tendem a morte. Isto ocorre porque a ricina possui capacidade de entrar na célula e alcançar o complexo de Golgi, de onde é transportada para o retículo endoplasmático e em seguida para o citoplasma, tornando possível seu contato com os ribossomos onde atuará paralisando a síntese de proteínas, levando a morte celular (GODOY et al., 2012; MUSSHOF; MADEA, 2009; AUDI et al., 2005). Tais estudos indicam que após 72h de fermentação, os farelos de mamona podem ser consumidos por tilápias do Nilo sem lesá-las.

Figura 10 - Crescimento de Vero células cultivadas na presença de diferentes tempos de fermentação da mamona e *in natura*. Concentrações de Vero células durante 36h de cultivo, onde células foram cultivadas na presença de tortas de mamona *in natura*, *in natura* autoclavada e fermentada em diferentes tempos (24, 48, 72 e 120h). Tendo como controle negativo da toxicidade, as células cultivadas em PBS.



Fonte: GODOY et al., 2012.

4. RESULTADOS

Os resultados dessa dissertação estão apresentados na forma de artigo científico.

4.1 ARTIGO 1

Novos insumos proteicos para ração de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) a partir de resíduos agroindustriais processados

Ramires Eloise Queiroz Rafael^a, Maysa Silva Barreto^b, João Lucas Rocha^c, Denise Maria Guimarães Freire^b, Janilson Felix da Silva^{a,d}, Thiago Barbosa Cahú^a, Dario Rocha Falcon^e, Juliana Ferreira dos Santos^f, Ranilson de Souza Bezerra^a

^aLaboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil. eloise.ramires@gmail.com

^bLaboratório de Biotecnologia Microbiana, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

^cLaboratório de Camarões Marinhos, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

^dLaboratório de Sanidade e Nutrição de Organismos Aquáticos, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.

^eLaboratório de Experimentação com Organismos Aquáticos, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, Pernambuco, Brasil.

^fLaboratório de Sistemas de Produção Aquícola, Departamento de Pesca e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.

*Autores correspondentes

Ranilson de Souza Bezerra, Endereço LABENZ, Telefone, E-mail

Juliana Ferreira dos Santos, Endereço LAPAQ, Telefone, E-mail

Resumo

A formulação de alimentos foi o seguimento que mais se desenvolveu na aquicultura durante as últimas décadas. A procura por ingredientes tradicionais e a inconstância do mercado mundial causaram um crescimento expressivo nos preços, tornando imprescindível a busca por alternativas mais viáveis. Considerando a produção e os nutrientes dos resíduos agroindustriais, objetivou-se desenvolver e avaliar dois novos ingredientes proteicos, oriundos de resíduos de camarão, cacau (C30) e mamona (M30), para dietas de tilápias do Nilo e compará-los ao farelo de soja. M30 obteve 54,5%±0,77 de PB; 11,2%±0,30 de EE; 9,99% de lisina; 3,7% de metionina e 6,9% de treonina. O C30 resultou em 45,6%±0,54 de PB; 20,9%±0,62 de EE; 11% de lisina; 3,7% de metionina; 7,6% treonina. E o farelo de soja obteve 46,7%±0,58 de PB; 2,2%±0,95 de EE; 2,6% de lisina; 0,6% de metionina e 1,5% de treonina. A taxa hemolítica foi de 0,9d para o M30; 19,8c para o C30 e 5,6cd para farelo de soja. A inibição enzimática foi de 13,28a para M30, 3,67b para C30 e 13,96^a para farelo de soja. Todos as rações com C30 e o nível 100% de M30 obtiveram resultados menores inibição enzimática do que o controle (100% soja), que obteve resultados iguais ao demais níveis de M30. Todos os resultados demonstram que os novos ingredientes podem substituir o farelo de soja em dietas de tilápia do Nilo.

Palavras-chaves: Hidrolisado; *Litopenaeus vannamei*; Ingredientes; Nutrição

Destaques

- C30 e M30 possuem qualidade composicional superior ao farelo de soja
- Os resultados de hemólise e inibição enzimática do C30 e M30 são melhores ou iguais aos do farelo de soja
- Os resultados demonstram que C30 e M30 podem substituir o farelo de soja em dietas para tilápia do Nilo.

Abreviações: Farinha de Peixe, FP; Farelo de Soja; FS.

1. Introdução

Aquicultura consiste na criação de organismos aquáticos e é o setor alimentício que mais cresce no mundo (FAO, 2018). O cultivo de tilápia do Nilo pode ser encontrado em 87 países e desde 2017 o Brasil é o quarto maior produtor da espécie, sendo esta a principal representante da piscicultura nacional (FAO, 2018; IBGE, 2018; PEIXEBR, 2019).

O camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) foi o crustáceo mais produzido no mundo em 2016, representando 53% da carcinicultura mundial (FAO, 2018) e durante décadas vem sendo a principal espécie da carcinicultura brasileira, na qual a produção alcançou aproximadamente 45,8 mil toneladas em 2018 (IBGE, 2018).

A formulação de alimentos foi o seguimento que mais se desenvolveu na aquicultura durante as últimas décadas, com crescimento próximo a 12% ao ano (ZANI, 2013). A procura por ingredientes tradicionais e a inconstância do mercado mundial causaram um crescimento expressivo nos preços, tornando imprescindível a busca por alternativas mais viáveis do ponto de vista ecológico e econômico, que possam suprir as necessidades nutricionais das espécies (EL - SAIDY e GABER, 2003; BOSCOLO et al., 2004 e ABIMORAD et al., 2014).

Segundo Heu et al. (2003), os subprodutos do camarão correspondem a aproximadamente 50% de seu peso total. Considerando a produção do camarão branco do Pacífico, já citada, cerca de 23 mil toneladas de resíduos de camarão podem ter sido descartadas no Brasil, tornando importante o seu aproveitamento nas vertentes da sustentabilidade.

Devido à crescente demanda do camarão na pesca e aquicultura, seu resíduo foi considerado uma fonte potencial de proteína para alimentação animal, sendo melhor aproveitado como proteína hidrolisada (OETTERER, 2002).

Como outras fontes de proteína, resíduos de cacau (*Theobroma cacao*) e mamona (*Ricinus communis*), podem constituir alternativas economicamente viáveis e sustentáveis. Estima-se que a produção de cacau no Brasil chegou a 232.134 toneladas em 2018 (IBGE, 2018), desta maneira, a produção do farelo de cacau pode ter chegado a 23 mil toneladas (NETO et al., 2008). O IBGE (2018) também estimou que a produção da mamona em 2018 para 24.690 toneladas. A torta da mamona é o subproduto mais importante para formação de óleo de rícino. O resíduo desta torta, após a fermentação, possui grande

quantidade de proteínas, que podem ser utilizadas para alimentação animal (ASLANI, 2007). O cacau e a mamona possuem fatores antinutricionais e tóxicos, porém com o processo de Fermentação em Estado Sólido (FES), tais fatores podem ser reduzidos, tornando os resíduos propícios para o consumo animal (AMORIM, 2012; GODOY, 2012).

Este trabalho consiste no desenvolvimento e investigação da possibilidade da utilização de dois novos ingredientes proteicos, oriundos de resíduos das indústrias do camarão, cacau e mamona, para dietas de tilápias do Nilo.

2. Material e métodos

2.1. Desenvolvimento dos novos ingredientes

2.1.1. Obtenção das matérias-primas e processamentos

Os resíduos do cacau (*Cacau in natura*) foram adquiridos em agroindústrias do sul da Bahia e levados ao Laboratório de Biotecnologia Microbiana, situado no Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio de Janeiro, onde foram fermentados (*Cacau fermentado*) com o fungo filamentosso *Aspergillus niger* (pertencente ao Laboratório de Reaproveitamento de Resíduos Agroindustriais da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, do campus de Itapetinga) segundo a metodologia de Amorim et al (2017).

Os resíduos de mamona (*Mamona in natura*), são oriundos da produção de biodiesel (MADEIRA et al, 2012) que foram utilizados como meio de cultura de fermentação em estado sólido (*Mamona fermentada*) pelo Laboratório de Biotecnologia Microbiana da Universidade Federal do Rio de Janeiro segundo a metodologia descrita por Godoy et al (2012) utilizando o fungo *Penicillium simplicissimum*.

Resíduos *in natura* e fermentados do cacau e da mamona foram enviados para o Laboratório de Enzimologia, no Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco.

Cabeças de camarão foram fornecidas pelas empresas beneficiadoras de pescado Noronha Pescados LTDA e Carapitanga Indústria de Pescados LTDA, que foram levadas para o Laboratório de Enzimologia da Universidade Federal de Pernambuco, onde foram hidrolisadas de acordo com a metodologia de Cahú et al, (2012) durante 30min, no qual o tempo de hidrólise foi escolhido através

da eletroforese publicada por Santos et al (2013) e deste modo foi obtido Hidrolisado Proteico de Cabeças de Camarão por 30 minutos (HPC 30).

2.1.2. Desenvolvimento dos novos ingredientes

Foram formulados dois novos ingredientes através da junção dos três resíduos processados, onde foi empregado a proporção de 1/3 de farelo de resíduo fermentado para 2/3 de hidrolisado proteico de cabeças de camarão (HPC30), de acordo com a massa seca, consolidando nos seguintes ingredientes:

C30: 33% de farelo de cacau fermentado (CF) + 67% de HPC30

M30: 33% de farelo de mamona fermentado (MF) + 67% de HPC30

Para a formação dos ingredientes, separadamente para cada produto, os resíduos processados foram misturados e a temperatura elevada para 100°C afim de atingir o ponto de ebulição da água do HPC. Este processo foi encerrado no momento em que a mistura atingiu 19 Brix no refratômetro sob temperatura ambiente e logo após, a mistura foi levada a estufa com recirculação de ar, a 60°C, até a mistura atingir peso constante e por fim, a mistura foi triturada em moinho de facas, para obtenção de pó homogêneo.

2.2. Composição dos novos ingredientes

2.2.1. Composição centesimal

As análises da composição centesimal dos ingredientes foram realizadas no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos Nonete Barbosa Guerra (LEAAL) da UFPE, onde a umidade foi obtida pela perda por dessecação, a proteína pelo método de Kjeldahl clássico, o extrato etéreo pelo método de Soxhlet, as cinzas por resíduo da incineração e o carboidrato pela fórmula: $(100 - \Sigma \text{ dos demais constituintes})$. Todos os procedimentos foram realizados em triplicata e seguiram as metodologias descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

2.2.2. Composição de aminoácidos

O perfil de aminoácidos foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Microbiana (LABIM), da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), como descrito por Henrikson & Meredith (1984). Resíduos de asparagina foram quantificados como ácido aspártico e da glutamina como ácido glutâmico.

2.2.3. Composição dos ácidos graxos

O teor de ácidos graxos também foi realizado no LABIM da UFRJ. As amostras foram submetidas a extração de extrato etéreo em aparelho de Soxhlet com éter etílico, seguido de evaporação do éter etílico empregado, de acordo com método do Instituto Adolfo Lutz (2008). Em seguida, foi aplicado o método AOCS Ce 2-66 (2009).

A quantificação foi realizada por normalização das áreas dos picos, e a identificação dos picos por comparação dos tempos de retenção das amostras com os de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (IAL, 2008).

2.3. Formulação das rações

As rações foram formuladas de acordo com o conceito de proteína ideal (FURUYA, 2010) para tilápias do Nilo entre os tamanhos de 2 à 100g. Foram produzidas rações isoenergéticas e isonitrogenadas, contendo cerca de 29% de proteína bruta, onde a ração controle continha farelo de soja, que era substituído em níveis crescentes por proteína dos novos ingredientes, separadamente (FRACALOSSO e CYRINO, 2016). A ração C25% continha 25% de substituição do teor de proteína do farelo de soja pelo ingrediente C30, a ração C50% continha 50% de substituição e assim por diante até atingir 100% de substituição. O mesmo aconteceu com o ingrediente M30, como demonstrado na Tabela 1.

2.4. Avaliação *in vitro* dos novos ingredientes

2.4.1. Hemólise

A análise de hemolítica foi realizada no Laboratório de Enzimologia da Universidade Federal de Pernambuco e a colheita de sangue foi realizada em um peixe cultivado no laboratório.

Foram autoclavados a solução PBS 1x e todo o material utilizados, com exceção dos ingredientes e do conservante de células. Os ingredientes foram diluídos em PBS 1x com agitador magnético na proporção 1:10 (p/v) durante 2 horas sob temperatura ambiente. Depois a solução foi centrifugada a 10.000XG durante 20 min e o sobrenadante coletado. Para a solução dos ingredientes (HSI), 700µL do sobrenadante foi adicionado em 400µL de PBS 1x.

Em seringa de 1mL, lavada com conservante de células CPD (SECCHI; GONZALEZ 2010), foi coletado 1mL de sangue de tilápia do Nilo adulta. Logo após, o sangue foi armazenado em eppendorf contendo 14µL de CPD, onde foi mantido sob 4°C até o momento do uso (2H). O sangue foi três vezes lavado com PBS 1x e centrifugado a 1.500 XG, durante 5min sob 18°C, descartou-se o plasma e foi adicionado 10mL de PBS 1x e desta maneira foi produzida a solução de glóbulos vermelhos (SGV).

A atividade hemolítica foi realizada de acordo com Liang et al (2018) adaptado, onde foram incubados em eppendorfs 400µL de PBS 1x, 200 µL de HSI e 400 µL de SGV, durante 2H. Após o tempo de incubação, o material foi centrifugado a 1.500XG por 5min sob 18°C. 200 µL de sobrenado foi coletado e posto em microplaca de 96 poços para leitura de absorbância 590nm em leitor de Elisa. Foram realizados brancos dos ingredientes (800 µL de PBS 1x + 200 µL de HSI), controle negativo (600 µL de PBS 1x + 400 µL de SGV) e controle positivo (controle negativo aquecido a 40°C e passado pelo vortex durante 2 min).

Toda a análise foi realizada com nove repetições e o resultado foi dado em porcentagem, considerando a absorbância do controle positivo como 100% de hemólise.

2.4.2. Inibição enzimática

A inibição enzimática foi realizada no Laboratório de Enzimologia da Universidade Federal de Pernambuco, com extratos de tilápias cultivadas pelo laboratório. 1) Os ingredientes: soja, CN, CF, C30, MN, MF, M30 e 2) As rações:

C25%, C50%, C75%, C100%, M25%, M50%, M75%, M100% e controle (Soja 100%); foram diluídos em solução tampão de Tris HCl a 0,1mM pH 8,00 com NaCl 0.9% na proporção de 1mg para 1mL sobre agitação magnética, durante 1h. Depois foi centrifugado a 10.000 XG por 5min e para o preparo da solução dos insumos (ESI), 100µL do sobrenadante foi diluído em 900µL de tampão Tris HCl a 0,1mM pH 8,00 com NaCl 0.9%.

Para obtenção dos extratos brutos (SANTOS et al., 2013; BEZERRA et al., 2001), intestinos de tilápias do Nilo recém sacrificadas foram homogeneizados com tampão de Tris HCl a 0,1mM pH 8,00 com NaCl 0.9% na fração de 1:5 (p/v) e logo após centrifugado a 10.000XG durante 15min sob 4°C, onde foi utilizado apenas o sobrenadante. Um pool de extratos brutos (EB) foi formado, misturando 5mL de 4 extratos diferentes.

As quantificações de proteína total do EB e dos ESI foram realizadas através de Bradford (1976) e a atividade enzimática e inibição segundo (BEZERRA et al., 2005) adaptado.

Para os ensaios foram incubados 30µL de ESI com 30µL de EB e após 90 min foi adicionado 50µL de azocaseína 1% pH 8,0, onde o branco da reação foi constituído de tampão Tris HCl a 0,1mM pH 8,00 com NaCl 0.9% (60µL) + azocaseína 1% (diluída neste mesmo tampão) (50µL). A atividade enzimática foi executada de acordo com o protocolo de atividade utilizando azocaseína 1% como substrato (BEZERRA et al., 2005). A inibição foi calculada em termos de percentual da atividade enzimática e demonstrada como atividade residual.

2.5. Estatísticas

As análises estatísticas seguiram os métodos descritos por Zar (2013), em que todas as variáveis analisadas foram submetidas ao teste de Shapiro-Wilk e Levene para verificar a normalidade e homocedasticidade, respectivamente. As variáveis que cumpriram estes requisitos, foram comparadas através de ANOVA e teste Tukey ($p \leq 0,05$).

3. Resultados e discussão

3.1. Composição dos novos ingredientes

3.1.1. Composição centesimal

Os resultados da composição centesimal (Tabela 2) foram pautados com relação a matéria seca (MS) afim de possibilitar a comparação dentre os demais constituintes dos ingredientes (SERAFIM et al., 2017).

Tabela 2 - Composição centesimal dos ingredientes.

CONSTITUÍNTES	INGREDIENTES (%)						
	MN ¹	MF ²	CN ³	CF ⁴	M30 ⁵	C30 ⁶	F. SOJA ⁷
MS⁸	91.5	94.4	94.3	93.2	93.9 ± 0.22b	97.1 ± 0.17c	10.5 ± 0.48a
PB⁹	44.5	41	19.1	22.3	54.5 ± 0.77a	45.6 ± 0.54c	46.7 ± 0.58b
EE¹⁰	8.16	0.99	10.4	5.8	11.2 ± 0.30b	20.9 ± 0.62a	2.2 ± 0.95c
CZ¹¹	15.7	15.2	6.8	7.2	16.5 ± 0.73a	10.1 ± 0.07b	5.9 ± 0.29c
CB¹²	31.64	42.81	63.7	65.2	17.7 ± 1.0c	23.4 ± 0.93b	34.6 ± 0.65a
Energia (Cal/g)	-	-	-	-	4549	5236	4197
Teobromina*	-	-	1.3	0.52	-	0.17	-
Cafeína*	-	-	0.3	0.14	-	0.04	-

Médias das amostras acompanhadas por letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

¹MN= Mamona in natura; ²MF= Mamona Fermentada; ³CN= Cacau in natura; ⁴CF= Cacau fermentado; ⁵M30= Novo ingrediente de mamona com hidrolisado de camarão; ⁶C30= Novo ingrediente de cacau com hidrolisado de camarão; ⁷F.Soja= Farelo de soja.

⁸MS= Matéria seca; ⁹PB= Proteína bruta; ¹⁰EE= Extrato Etéreo; ¹¹CZ= Cinzas; ¹²CB= Carboidratos.

*Valores citados por Amorim et al. (2017) e calculados para o C30, com base na proporção de CF utilizada.

O processo de fermentação na mamona com o fungo *Penicillium simplicissimum*, diminuiu os níveis de proteínas bruta (MN= 44,5% e MF= 41%) e de extrato etéreo (MN= 8,16% e MF= 0,99%) (Tabela 2). Tendo em vista que o objetivo da fermentação é a extinção da proteína tóxica ricina, os resultados de diminuição do teor de proteína corroboram com o objetivo da fermentação. A diminuição do teor de lipídeos após a fermentação, provavelmente tenha acontecido por ação da lipases produzida pelo fungo (Godoy et al., 2012).

Contrário ao processamento da mamona, a fermentação do cacau com o fungo *Aspergillus awamori* acrescentou proteína à composição (CN= 19,1% e CF= 22,3%), provavelmente devido ao aumento da biomassa celular fúngica e sua produção de enzimas (Amorim et al., 2017).

Ao constituir os novos ingredientes M30 e C30, incorporando o HPC aos farelos fermentados, nota-se melhoras nas composições (Tabela 2) com relação as necessidades nutricionais da tilápia (Fracalossi and Cyrino, 2016). Os teores de proteína bruta, extrato etéreo e cinzas aumentaram devido a composição do HPC e conseqüentemente, reduziu os níveis de carboidrato bruto e das substâncias tóxicas restantes.

Significativamente ($p < 0,05$), o M30 possui o maior teor de proteína bruta ($54,5\% \pm 0,77$), seguido do ingrediente controle F. de Soja ($46,7\% \pm 0,58$) e por último o C30 com $45,6\% \pm 0,54$. Abarra et al. (2017) produziram uma farinha de peixe faca inteiro com $62,36\% \pm 0,95$ de proteína bruta, na qual obtiveram bons resultados ao utilizá-la na dieta de juvenis de tilápias do Nilo. Choi et al. (2020), obtiveram dois produtos: 1) fermentado do farelo de soja contendo 50,52% de PB e 2) farelo de soja fermentado com adição de peptídeos e ácidos com 50,26 de PB; onde observaram que até 40% de substituição da farinha de peixe pelos produtos não altera o desempenho de crescimento de trutas. O valor de proteína bruta encontrado no F. de Soja e nos produtos criados pelos autores citados anteriormente, indicam que os novos ingredientes se encontram na faixa média de proteína bruta dos ingredientes proteicos para aquicultura. De acordo com Furuya (2010), tilápias do Nilo necessitam de 41,30% de proteína bruta até a fase de reversão sexual; 29,73% após a reversão até atingir 100g e 26,80% para maiores de 100g.

Os valores de extrato estéreo dos novos ingredientes foram significativamente maiores, comparados aos valores do farelo de soja (F. soja= $2,2\% \pm 0,95$), onde o M30 foi cinco vezes maior (M30= $11,2\% \pm 0,30$) e o C30 dez vezes (C30= $20,9\% \pm 0,62$). Diversos autores relatam que a tilápia do Nilo utiliza os lipídeos e os ácidos graxos com eficiência como primeira fonte de energia (Fracalossi and Cyrino, 2016; Furuya, 2010; Sargent et al., 2002), porém espécies herbívoras e onívoras, como carpa e tilápia do Nilo, também podem utilizar polissacarídeos complexos devido a flora especializada contida em seus intestinos (SMITH, 1989 *apud* FRACALLOSSI; CYRINO, 2016). A exigência de lipídeos para peixes, bem como para qualquer outro animal, mesmo contendo inúmeras literaturas, é menos conhecida do que as exigências dos demais grupos nutricionais, isto ocorre devido à grande complexidade do metabolismo dos lipídeos e a variedade nos enfoques dos pesquisadores (Sargent et al., 2002). Além disto, o nível ótimo de lipídeos na dieta varia dependendo da

quantidade de proteínas e carboidratos por causa das interações entre os metabolismos dos constituintes (Fracalossi and Cyrino, 2016). Xie et al. (2017) alimentaram juvenis de tilápia do Nilo com dietas isonitrogenadas e isoenergéticas, que continham proporções (CHO:L) diferentes entre carboidratos (dextrina) e lipídeos (óleo de soja), no qual as proporções CHO:L variavam de 0,52 : 1 à 20,09 : 1. Desta maneira avaliaram as frações 0,52; 1,14; 1,95; 3,41; 6,40 e 20,09 na dieta e puderam concluir que a melhor fração CHO:L para saúde e crescimento da tilápia do Nilo é de 1,95 e que taxas maiores aceleram a deposição lipídica hepática, o que significa que os carboidratos possuem efeito mais forte na acumulação lipídica hepática do que os lipídeos alimentares, por causa do aumento da lipogênese. Por estes motivos, os valores altos dos lipídeos nos novos ingredientes, principalmente no C30, não prejudicam a viabilidade e qualidade de seus usos em dietas de peixes.

O incremento de HPC aos ingredientes, aumenta os níveis de cinzas (Tabela 2) na composição, constituindo o teor de 16,5% de cinzas ao M30 e 10,1% ao C30. Fracalossi and Cyrino (2016) comparando os níveis de cinzas entre farinhas de peixes pelágicos inteiros e farinhas de resíduos de peixes, consideraram ideais os níveis das farinhas de peixes inteiros (entre 10 e 20% da composição) e muito altos os níveis das farinhas de resíduos de peixes (acima de 20%). Shearer et al. (1992) incrementaram os níveis de 0, 4, 8, 12 e 16% de ossos de peixes com teor de 44,6% de cinzas, em dietas de juvenis de salmão do Atlântico e concluíram que altos níveis de cinzas reduzem a eficiência alimentar dos peixes e aumentam a produção fecal, causando eutrofização nos sistemas de criação. Fracalossi e Cyrino (2016) alegam que altos níveis de cinzas implicam na digestibilidade de proteínas e aminoácidos. As cinzas podem ser ricas fontes de fósforo, selênio, magnésio, zinco e ferro (Cruz-Paredes et al., 2017), aos quais segundo Furuya (2010) a tilápia do Nilo possui exigências específicas, o que sugere análise da composição das cinzas dos novos ingredientes para trabalhos posteriores.

Os resultados da composição centesimal dos novos ingredientes comparados ao do farelo de soja, sugerem que os novos ingredientes podem ser substituídos pelo farelo de soja nas dietas das tilápias do Nilo.

3.1.2. Composição dos aminoácidos

Avanços nas pesquisas de nutrição de peixes possibilitaram amplitude na avaliação de dietas. O fornecimento de rações formuladas com base apenas nos

estudos de proteína bruta, pode gerar crescimento insatisfatório, devido a limitação de aminoácidos essenciais aos peixes e ao mesmo tempo aumentar a excreção de produtos gerados pelo metabolismo da proteína e desta maneira, poluindo a água do cultivo (Fracalossi and Cyrino, 2016). O conceito da proteína bruta é o método mais comum e fácil de se avaliar em dietas para animais, entretanto não deve ser utilizado exclusivamente, pois os peixes não possuem exigência verdadeira de proteínas e sim de equilíbrios entre os aminoácidos (Furuya et al., 2012). No passado, a farinha de peixe era basicamente o único ingrediente proteico nas rações da aquicultura, devido ao seu elevado teor de proteína bruta e aminoácidos essenciais balanceados (Deutsch et al., 2007; Naylor et al., 2002; Olsen and Hasan, 2012). Com o domínio do conceito da proteína ideal (balanceamento dentre os aminoácidos exigidos pelos animais), tornou possível a substituição da tradicional farinha de peixe por outros insumos, como o farelo de soja, que precisa ser suplementado com aminoácidos industriais, para manter-se eficiente como maior concentração de fonte proteica (Furuya et al., 2012). Isto quer dizer, que além da concentração de proteína bruta dos ingredientes, também é necessário analisar os aminoácidos e seus teores.

O processo de fermentação na mamona não causa grandes efeitos no teor de aminoácidos, enquanto que a adição de HPC ao farelo fermentado (M30), aumenta todos os níveis de aminoácidos.

Tabela 3 - Composição de aminoácidos dos ingredientes.

AMINOÁCIDOS	INGREDIENTES (%)						
	MN ¹	MF ²	M30 ³	CN ⁴	CF ⁵	C30 ⁶	F. SOJA ⁷
Alanina	4.6	5.2	7.2	10.5	5.1	7.1	1.76
Arginina	11.0	9.9	14.0	4.3	3.3	9.6	3.8
Ácido aspartico	11.4	11.4	17.0	10.8	12.7	17.8	4.64
Tirosina	3.6	3.9	10.0	5.8	4.7	10.5	1.08
Metionina	1.2	1.3	3.7	1.3	1.3	3.7	0.6
Ácido glutâmico	24.3	23.5	28.4	14.8	20.4	26.3	7.86
Histidina	4.5	4.6	5.4	5.9	3.2	4.5	1.1

Glicina	3.0	3.2	8.4	4.3	4.0	8.9	1.7
Isoleucina	2.5	2.3	6.2	2.7	2.3	6.2	1.9
Leucina	6.5	6.4	11.8	6.5	6.5	12.0	3.4
Lisina	4.4	3.8	9.9	8.9	5.5	11.0	2.6
Serina	7.0	6.7	8.9	4.4	7.1	9.2	1.86
Fenilalanina	5.0	6.6	9.7	5.6	10.1	12.0	1.9
Prolina	4.3	4.6	9.7	7.1	6.5	10.9	2.43
Treonina	3.4	3.3	6.9	2.7	4.4	7.6	1.5
Valina	3.4	3.4	7.1	4.5	2.8	6.8	2.0

¹MN= Mamona in natura; ²MF= Mamona Fermentada; ³CN= Cacau in natura; ⁴CF= Cacau fermentado; ⁵M30= Novo ingrediente de mamona com hidrolisado de camarão; ⁶C30= Novo ingrediente de cacau com hidrolisado de camarão; ⁷F.Soja= Farelo de soja.

Diferente da fermentação da mamona, o processo de fermentação do cacau diminui os níveis de alguns aminoácidos, sendo eles: alalina, arginina, tirosina, histidina, lisina, prolina e valina. Outros aminoácidos aumentaram devido ao processo de fermentação: ácido aspártico, ácido glutâmico, serina, fenilalanina e treonina. Ao gerar o C30, incrementando HPC ao cacau fermentado (CF), nota-se aumento em todos os aminoácidos.

O processo de fermentação pode aumentar ou diminuir os níveis de proteína ou de aminoácidos. A redução dos aminoácidos pode ser por causa da necessidade nutricional dos fungos e o aumento, pelo crescimento da biomassa do mesmo, durante a fermentação (Amorim et al., 2012).

O aumento do teor de aminoácidos ao gerar os novos ingredientes, (M30 e C30) através da junção dos farelos fermentados com o HPC, aconteceu devido a composição de aminoácidos do HPC que representa maior porcentagem (67%) dos novos ingredientes (Da Silva et al., 2017), ressaltando que o método de confecção dos ingredientes não causa percas nutricionais prejudiciais à composição.

Percebe-se que os novos ingredientes M30 e C30 são ricos em aminoácidos, se comparados ao farelo de soja. Isto ocorre porque as fontes proteicas de origem vegetal, dentre elas a soja, geralmente possuem déficit de aminoácidos, sendo necessária sua suplementação com aminoácidos sintéticos (Furuya, 2010) e que o hidrolisado de camarão é rico em aminoácidos, incluindo os essenciais (Mohanty et al., 2019; Sartori and Amancio, 2012).

Xie et al. (2016) conseguiram substituir 25% da farinha de peixe, na dieta de *Litopenaeus vannamei*, por concentrado proteico de farelo de soja suplementado com aminoácidos. Upadhaya e Kim (2015) obtiveram melhores resultados no crescimento de suínos desmamados após fermentarem o farelo de soja com dois bacilos diferentes, no qual tal processo foi aplicado afim de incrementar aminoácidos, reduzir a inibição da tripsina e conseqüentemente aumentar a digestibilidade da dieta.

Os peixes necessitam de todos os aminoácidos essenciais (Arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina) (NCR, 1993) e os aminoácidos mais limitantes nas dietas de peixes são lisina, metionina, treonina e triptofano (não analisado nos novos ingredientes)(Fracalossi and Cyrino, 2016; Furuya, 2010; Furuya et al., 2012).

Dentre estes, o mais limitante é a lisina que deve representar 5,8% da proteína da ração (Furuya, 2010; Furuya et al., 2001). Foi observado no presente trabalho que o farelo de soja contém 2,6% de lisina em sua composição, enquanto que o M30 contém 9,9% e o C30 11%. El-Saidy e Gaber (2002) demonstraram a importância do teor de lisina nas rações de peixes ao analisarem que tilápias do Nilo alimentadas com 55% de farelo de soja, 0,5% de lisina e 0% de farinha de peixe, cresceram significativamente mais do que tilápias alimentadas com 30% de farelo de soja e 20% de farinha de peixe. Hua et al. (2019) avaliaram o crescimento de tilápias do Nilo alimentadas com níveis de inclusão de lisina (0,90; 1,12 e 1,26% da ração) nas dietas e verificaram que a demanda por lisina é maior em peixes menores (até 100g) e diminui ao longo do crescimento.

As exigências de aminoácidos para os peixes podem alterar de acordo com as fases de vida, demais constituintes da ração, temperatura e outros fatores, entretanto, o conceito de proteína ideal utiliza de um aminoácido selecionado como referência, onde os demais são associados a ele em termos de porcentagem, pois mesmo que as exigências alterem, as proporções entre os aminoácidos permanecem (Furuya, 2010). Diante do conceito de proteína ideal, a lisina é o aminoácido referência para tilápias devido a sua alta limitação e facilidade de detecção (Fracalossi and Cyrino, 2016; Furuya et al., 2012, 2004; Hua et al., 2019; NCR, 1993).

O teor de metionina no farelo de soja foi de 0,6%, enquanto que no M30 e C30 foi de 3,7%. O mínimo de metionina exigido é 0,54% com relação a dieta (Fracalossi and Cyrino, 2016) e quando somado a cistina, seu valor deve corresponder a 60% da

lisina (Furuya et al., 2008). Bomfim et al. (2008) ao alimentarem peixes com dietas isoenergéticas e isoproteicas, diferenciando os níveis da relação metionina+cistina:lisina, observaram que o tratamento que continha a relação total de 57,2% e de aminoácidos digestíveis de 59,5%, obteve melhor conversão alimentar, maior retenção de nitrogênio e maior ganho de peso, devido a retenção da proteína. Mohanty et al. (2019) avaliaram que 0,49% da dieta e 1,75% da proteína são os níveis ideais de metionina e que 0,45% na dieta e 1,61% na proteína são os níveis ideais de cistina. O presente estudo não pode avaliar a cistina.

O presente estudo obteve do farelo de soja 1,5% de treonina, enquanto que o M30 3,3 e C30 7,6%, onde mais uma vez, os novos ingredientes se sobressaem ao F. de Soja. Estudos indicam que o valor ideal de treonina deve ser em torno de 70% do valor da lisina (Fracalossi and Cyrino, 2016) e que devido aos baixos níveis deste aminoácido no farelo de soja, sua suplementação é imprescindível (Furuya et al., 2012). Bomfim et al. (2008b) alimentaram alevinos de tilápias do Nilo (aproximadamente 1,6g), de linhagem tailandesa, com diferentes níveis de suplementação de treonina e constataram que 0,99 e 1,11% de treonina, com relação a dieta, promovem significativamente melhores desempenhos zootécnicos e que os níveis de 1,28 e 1,43% aumentam a deposição de proteína corporal nos peixes. Já Michelato et al. (2016), alimentaram tilápias adultas (Aproximadamente 563g) com níveis crescentes de treonina e observaram que com 1,05% (10,5g / kg) de treonina, com relação a dieta, os animais aumentavam significativamente seus ganhos de peso diário e rendimentos dos filés, porém os melhores resultados foram com 1,15 (11,5g / kg) e 1,21% (12,1g / kg), no qual os peixes obtiveram biomassa e deposição de proteína maiores do que os demais tratamento, indicando que para tilápias adultas o teor mínimo ideal de treonina nas dietas é de 1,15%.

Os resultados da composição dos aminoácidos dos novos ingredientes, indicam ser viável a substituição dos novos ingredientes pelo farelo de soja devido aos seus elevados valores de todos os aminoácidos constituintes. Porém, é importante aludir que o sucesso da aplicação do conceito de proteína ideal está diretamente relacionado ao conceito de digestibilidade que é a porção biodisponível dos constituintes dos alimentos a ser metabolizada pelos animais (Fracalossi and Cyrino, 2016).

Em tese, os pescados possuem altos coeficientes de digestibilidade, o que indicaria que o M30 e o C30 continuariam se sobressaindo ao farelo de soja, que possui o valor médio de 42,24% de proteína digestível para tilápias do Nilo, enquanto que a farinha de peixe nacional possui 46,37% (Pezzato et al., 2002), mesmo contendo altos teores de cinzas, que atrapalham a digestibilidade (Fracalossi and Cyrino, 2016). Hernández et al. (2015) avaliaram o coeficiente de digestibilidade aparente de ingredientes da aquicultura em juvenis (90g) de pargos *Lutjanus guttatus* e detectaram que o percentual de proteína digestível da farinha de peixe foi de 84,3%, da farinha de subprodutos (carcaças) do atum foi de 82,5% e do farelo de soja de 80,9%, todos significativamente diferentes.

Che et al. (2017) avaliaram o coeficiente de digestibilidade para juvenis (7,8g) de *Pseudogagrus ussuriensis* de ingredientes da aquicultura, dentre eles a farinha de peixe peruana, farinha de peixes nativos e farelo de soja, onde obtiveram os seguintes resultados: Proteína Bruta Digestível (farinha de peixe peruana=93,41%a; farinha de peixes nativos=90,54%b e farelo de soja 89,37%c); Lisina (farinha de peixe peruana =93,57%b; farinha de peixes nativos=95,04%a; farelo de soja=91,58%c); Treonina (farinha de peixe peruana=93,05%a; farinha de peixes nativos=93,05%b; farelo de soja=85,12%c) e Triptofano (farinha de peixe peruana=93,37%a; farinha de peixes nativos=90,02%b; farelo de soja=90,71%b), no qual as letras minúsculas após o símbolo de porcentagem representam a diferença estatística. Tendo em vista que a farinha de peixe peruana é produzida com peixes pelágicos inteiros e que a referida farinha de peixes nativos é produzida com carcaças de peixes, os trabalhos de Hernández et al. (2015) e de Che et al. (2017) demonstram que geralmente as farinhas de peixes inteiros são mais digestíveis do que as farinhas de subprodutos e que os pescados possuem maior digestibilidade, com relação aos ingredientes vegetais.

Fracalossi e Cyrino (2016) dizem que mesmo que trabalhos se detenham a determinar as exigências nutricionais dos peixes, ainda são poucos os produzidos considerando o coeficiente de digestibilidade dos aminoácidos. Glencross et al. (2007) consideram que ao avaliar novos ingredientes para alimentação na aquicultura, após a caracterização, deve-se avaliar a digestibilidade de seus constituintes e devido a isto, sugere-se que nos seguintes trabalhos seja feita a averiguação dos coeficientes de digestibilidade do M30 e C30. Somente o conhecimento dos valores digestíveis permitirão formular rações eficientemente balanceadas, de acordo com as

exigências nutricionais, sem causar danos à fisiologia do animal ou ao ambiente (Fracalossi and Cyrino, 2016).

3.1.3. Composição dos ácidos graxos

A caracterização dos ácidos graxos dos novos ingredientes está apresentada na Tabela 4, onde pode-se perceber que os maiores níveis são de ácido palmítico, oleico e linoleico. O ácido palmítico está presente em plantas e animais terrestres e aquáticos e por isto, é considerado comum, sendo o principal ácido graxo do óleo de dendê (30 – 50 %), banha e sebo (20 – 30 %), gordura do cacau (25 %) e gordura do leite (25 – 40 %) (VIANNI e BRAZ- FILHO, 1996). O ácido oleico é um ômega 9, logo insaturado, importante para o metabolismo por participar da síntese de hormônios, na gordura do cacau é encontrado a 38% (VIANNI e BRAZ- FILHO, 1996). O poliinsaturado ácido linoleico é um ômega 6 essencial por ser precursor do ácido araquidônico, onde este está relacionado a produção de uma série de mediadores lipídicos e na nutrição de peixe é essencialmente necessário o seu incremento (VIANNI e BRAZ- FILHO, 1996).

Tabela 4 - Composição de ácidos graxos dos novos ingredientes.

Ácidos Graxos (Nome comum)	(%)	
	M30 ¹	C30 ²
Ácido Caprílico	3.02	4.66
Ácido Cáprico	0.00	1.64
Ácido Láurico	0.54	0.80
Ácido Mirístico	1.01	0.77
Ácido Palmítico	29.70	25.76
Ácido Palmitoléico	1.71	1.12
Ácido Esteárico	6.93	21.06
Ácido Oléico	29.43	30.83
Ácido Linoléico	19.67	10.01
Ácido Y-linolênico	0.00	0.00
Ácido Linolênico	0.91	0.58
Ácido araquídico	0.37	0.69
Ácido Eicosenóico	0.79	0.22
Ácido eicosadienoico	0.67	0.00

Ácido homo-g-linolênico	0.00	0.32
Ácido Eicosapentaenóico	2.66	0.00
Ácido beênico	0.51	0.40
Ácido erúcico	0.00	0.00
Ácido Docosahexaenóico	2.06	1.13

¹M30= Novo ingrediente derivado de mamona fermentada com hidrolisado proteico de camarão.

²C30= Novo ingrediente derivado de cacau fermentado com hidrolisado proteico de camarão.

A utilização de lipídeos em rações está relacionada ao valor energético do nutriente, porém a qualidade dos ácidos graxos influenciam na composição corporal dos peixes, no padrão de lipoproteínas da membrana plasmática e na função imunológica (Sargent et al., 2002). Geralmente os peixes de água doce não necessitam de ácidos graxos altamente insaturados e de cadeia longa (Craig et al., 2017). Segundo Furuya (2010), o incremento de ácido linoleico conjugado em rações de tilápias melhora o desempenho produtivo, aumentando o teor de proteínas no filé, além de provocar melhoras ao metabolismo dos animais. Os novos ingredientes demonstraram altos teores de, onde o M30 foi detectado 19,67% e o C30 10,01%. Este ácido graxo não pode ser produzido pelos peixes de água doce e devem ser introduzidos nas dietas (Fracalossi and Cyrino, 2016).

Os ácidos eicosapentaenoico e docosahexaenóico são outros dois ácidos graxos essenciais aos peixes, que são necessários para o funcionamento do metabolismo e componentes da membrana celular (Craig et al., 2017). O ácido eicosapentaenoico foi encontrado apenas no M30 a 2,66% e o ácido docosahexaenóico a 2,06% no M30 e 1,13% no C30. A não detecção do ácido eicosapentaenoico no C30, não impossibilita sua utilização pois possui alto nível de ácido linoleico, no qual a tilápia do Nilo através da prolongação de cadeia e dessaturação, utilizando sistemas enzimáticos, consegue convertê-lo em ácido linoleico, de acordo com sua necessidade (Craig et al., 2017).

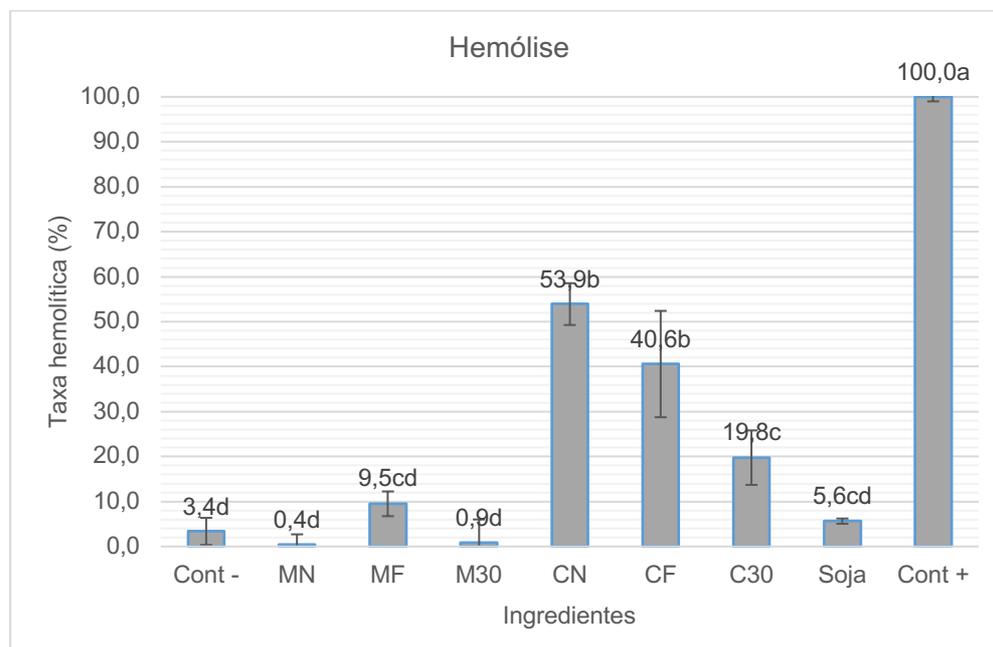
A análise de ácidos graxos dos novos ingredientes indica que o M30 e C30 podem ser utilizados em dietas de tilápias do Nilo satisfazendo suas necessidades energéticas e metabólicas.

3.2. Avaliação *in vitro* dos novos ingredientes

3.2.1. Hemólise

Os resultados da hemólise (Figura 1) demonstram que os derivados da mamona não rompem a membrana celular dos peixes, onde os resultados se igualaram estatisticamente ao controle negativo (ausência de ruptura da membrana), inclusive o MN que possui a proteína letal ricina. No entanto os resultados sob os derivados do cacau, alegam que o farelo de cacau em *in natura* (CN) é significativamente mais hemolítico do que os demais ingredientes por possuir taxa hemolítica de 53,9% e que o processo de fermentação (CF) com taxa hemolítica de 40,6% não interfere estatisticamente na ruptura da membrana celular, porém a adição do HPC ao farelo fermentado (C30) diminui a taxa hemolítica para 19,8%, igualando-o estatisticamente ao resultado do farelo de soja (Soja), que por sua vez obteve taxa hemolítica de 5,6% e se igualou estatisticamente ao controle negativo da hemólise e consequentemente, aos derivados da mamona.

Figura 1 - Hemólise dos processamentos dos ingredientes e da soja.



Cont.-= Controle negativo; MN= Mamona in natura; MF= Mamona Fermentada; CN= Cacau in natura; CF= Cacau fermentado; M30= Novo ingrediente de mamona com hidrolisado de camarão; C30= Novo ingrediente de cacau com hidrolisado de camarão; Soja= Farelo de soja; Cont.+ = Controle positivo.

Os resultados com os derivados de mamona demonstram que a hemólise não é um teste eficiente para detectar a toxicidade da ricina. A ricina atua paralisando a

síntese de proteína, levando a morte celular (GODOY et al., 2012; MUSSHOF; MADEA, 2009; AUDI et al., 2005), porém os eritrócitos não possuem grande capacidade de síntese proteica, já que sua principal função é transporte de gases pelo corpo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). A causa da ruptura da membrana plasmática nas células dos peixes, pode estar relacionada a presença de saponinas nos ingredientes derivados de cacau, no qual as saponinas agem como detergente, rompendo a membrana (WANG et al., 2007). Azizah et al. (2014) detectaram a presença de saponinas em cascas do fruto do cacau, indicando que os farelos de resíduos do cacau podem ser fontes das saponinas.

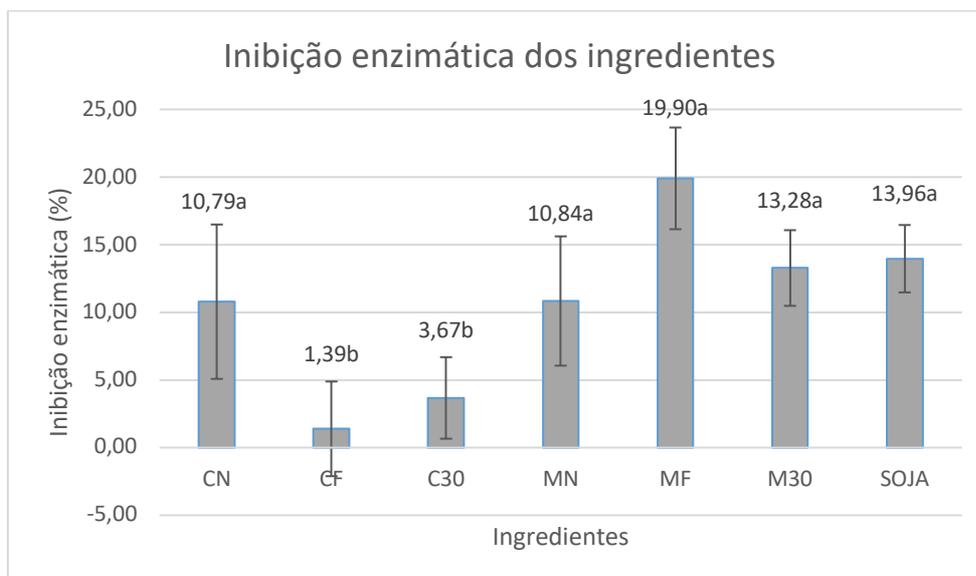
Oliveira et al. (2009) testaram atividade hemolítica em 71 plantas da Amazônia e constataram hemólise em apenas três, entretanto não foram identificadas as substâncias que provocaram a hemólise e os autores atribuem a causa à presença de surfactantes, metais pesados e fenóis nas plantas.

O fato do resultado da taxa hemolítica do M30 ser igual estatisticamente ao controle negativo e do C30 ser igual ao do farelo de soja, indica que os novos ingredientes podem ser ofertados as tilápias sem danos à saúde dos animais.

3.2.2. Inibição enzimática

As apurações das inibições enzimáticas foram postas em atividade residual. Os resultados dos ingredientes (Figura 2) derivados de cacau mostram que a fermentação (CF) reduz significativamente a inibição de proteases totais e que a adição do HPC (C30) não interfere nos resultados estatísticos. Os processamentos no farelo de mamona não alteram significativamente a inibição enzimática, tornando todos resultados dos derivados de mamona (MN, MF e M30) iguais aos do cacau *in natura* (CN) e do farelo de soja (SOJA).

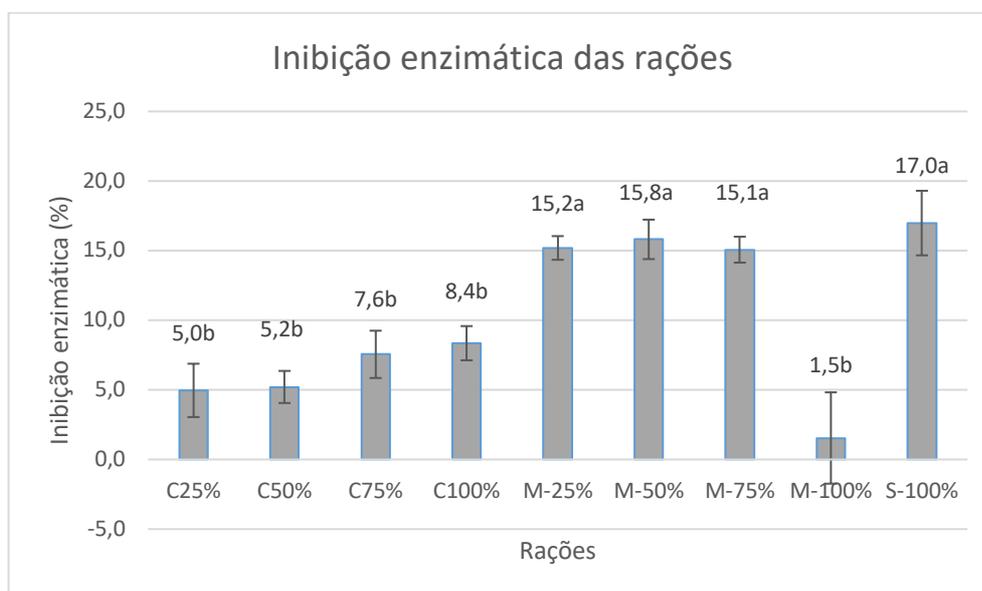
Figura 9 - Inibição enzimática dos ingredientes.



Os resultados demonstram que o processo de fermentação (CF) no farelo de cacau (CN) diminuem a inibição enzimática significativamente e que a adição de HPC ao farelo fermentado (C30) não modifica a inibição. Diferentemente, os processamentos (fermentação e adição de HPC) no farelo de mamona (MN), não alteram a inibição de proteases totais, tornando todos os resultados dos derivados de mamona (MN, MF e M30) iguais ao do farelo de soja (Soja).

Os resultados das inibições enzimáticas das rações (Figura 3) demonstram que as rações que continham C30 (C25%, C50%, C75% e C100%) na composição, inibem menos proteases totais do que os demais tratamentos, independentemente do nível de substituição pelo farelo de soja. As rações que continham M30 e farelo de soja na composição (M25%, M50% e M75%), obtiveram resultados de inibição de proteases totais iguais a da ração que continha apenas farelo de soja (S100%) e a ração que continha apenas M30 (M100%) resultou em inibição de proteases totais iguais aos dos tratamentos que continham C30.

Figura 3 - Inibição enzimática das rações.



Sánchez-Muros et al. (2016) ao avaliarem atividade proteolítica de intestinos de tilápias do Nilo, com diferentes ingredientes, notaram que o tratamento que continha farinha de peixe e farelo de soja, obteve menor atividade enzimática quando comparado ao tratamento que substituíra o farelo de soja pela farinha de larvas de moscas, indicando que a ação dos inibidores do farelo de soja; por outro lado, ao inserirem a farinha de larvas de moscas ao primeiro tratamento (farinha de peixe e farelo de soja), obtiveram maior atividade do que o segundo tratamento (farinha de peixe com farinha de larvas de moscas).

O farelo de soja contém inibidores de tripsina e a igualdade nos resultados de inibição das rações sugerem que o farelo de cacau pode conter algum ativador de proteases ou inibidor de inibidores de proteases ou que a presença da farinha de peixe, contida nas rações, ative as proteases ou iniba os inibidores de proteases.

De todas as maneiras, os resultados de inibição dos novos ingredientes e de suas rações, possuíram inibição de proteases menores ou iguais aos do farelo de soja, constatando que seu uso em dietas para tilápias do Nilo não danificarão a fisiologia dos animais, todavia o presente trabalho sugere futuros trabalhos com estudo de desempenho zootécnico utilizando os novos ingredientes como fonte proteica e com nova avaliação de inibição de proteases dos novos ingredientes com e sem farinha de peixe.

Conclusão

Os novos ingredientes C30 e M30 demonstraram ser ótimos ingredientes proteicos para dietas de tilápias do Nilo, com resultados de qualidades iguais ou superiores ao do farelo de soja, no qual os resultados da composição centesimal, dos aminoácidos e dos ácidos graxos satisfazem as exigências nutricionais e necessidades metabólicas e energéticas das tilápias. O resultado da hemólise demonstrou que o M30 não hemolisa os eritrócitos e que os valores do C30 correspondem aos mesmos valores do farelo de soja. A inibição enzimática de proteases totais do ingrediente C30 foi menor do que do M30, que foi igual ao do farelo de soja. Já a inibição enzimática das rações que continham níveis de C30 e da que ração com de nível 100% de M30, obtiveram valores menores de inibição com relação a ração controle (100% farelo de soja) e os demais níveis de M30. Desta forma, os novos ingredientes C30 e M30 podem ser substituídos pelo farelo de soja em rações para tilápias do Nilo. Estudos de digestibilidade e desempenho de crescimento são necessários para assegurar o uso dos novos ingredientes em dietas na aquicultura.

Financiamento

O presente trabalho foi financiado por projeto da Rede de Carcinicultores Nacional (RECARCINA) e pelo Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e com bolsa de mestrado da Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE).

Agradecimentos

Agradecemos a Fundação de a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco, pela concessão de bolsa, a Universidade Federal de Pernambuco, onde o trabalho foi realizado, ao Laboratório de Biotecnologia Microbiana da (UFRJ) pela parceria e aos demais os órgãos de fomento que viabilizaram este estudo.

Conflitos de interesse

Declaramos não haver conflito de interesse.

4. Referências

- Abarra, S.T., Velasquez, S.F., Guzman, K.D.D.C., Felipe, J.L.F., Tayamen, M.M., Ragaza, J.A., 2017. Replacement of fishmeal with processed meal from knife fish *Chitala ornata* in diets of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquac. Reports* 5, 76–83. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.01.001>
- Abimorad, Eduardo Gianini et al. Substituição parcial do farelo de soja pela farinha de carne e ossos em dietas para juvenis de tilápia-do-nilo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 49, n. 11, p. 836-843, 2014.
- Amorim, G. M., Carvalho dos Santos, T., Soares Viana Pacheco, C., Monteiro Andrade Barreto, I., Guimarães Freire, D.M., Franco, M., 2012. Fermentação de farelo de cacau por *Aspergillus niger* para obtenção de lipase. *Estud. Tecnológicos em Eng.* 8, 24–27. <https://doi.org/10.4013/ete.2012.81.04>
- Amorim, G.M., Oliveira, A.C., Gutarra, M.L.E., Godoy, M.G., Freire, D.M.G., 2017. Solid-state fermentation as a tool for methylxanthine reduction and simultaneous xylanase production in cocoa meal. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 11, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.05.009>
- Aslani, M. R., Maleki, M. O. H. S. E. N., Mohri, M., Sharifi, K., Najjar-Nezhad, V., & Afshari, E. Castor bean (*Ricinus communis*) toxicosis in a sheep flock. *Toxicon*, 49(3), 400-406. 2007.
- Association Of Official Agricultural Chemists; Horwitz, William. **Official methods of analysis**. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1975.
- Bezerra, Ranilson S. et al. Partial purification and characterization of a thermostable trypsin from pyloric caeca of tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Journal of Food Biochemistry*, v. 25, n. 3, p. 199-210, 2001.
- Audi, J. et al. Ricin Poisoning. *Jama*, v. 294, n. 18, p. 2342, 2005.
- Bezerra, Ranilson S. et al. Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Process Biochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1829-1834, 2005.
- Bomfim, M.A.D., Lanna, E.A.T., Donzele, J.L., Ferreira, A.S., Ribeiro, F.B., Takishita, S.S., 2008a. Exigência de metionina mais cistina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. *Rev. Bras. Zootec.* 37, 783–790. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008000500001>
- Bomfim, M.A.D., Lanna, E.A.T., Donzele, J.L., Quadros, M., Ribeiro, F.B., Araújo, W.A.G. de, 2008b. Exigência de treonina, com base no conceito de proteína ideal,

- de alevinos de tilápia-do-nilo. *Rev. Bras. Zootec.* 37, 2077–2084.
<https://doi.org/10.1590/S1516-35982008001200001>
- Boscolo, W.R.; Hayashi, C.; Meurer, F.; Feiden, A.; Bombardelli, R.A. Digestibilidade aparente da energia e proteína das farinhas de resíduo da filetagem da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e da corvina (*Plagioscion squamosissimus*) e farinha integral do camarão canela (*Macrobrachium amazonicum*) para a tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.8-13, 2004.
- Bradford, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- Cahú, T. B. et al. Recovery of protein, chitin, carotenoids and glycosaminoglycans from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 4, p. 570–577, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2011.12.012>>.
- Che, J., Su, B., Tang, B., Bu, X., Li, J., Lin, Y., Yang, Y., Ge, X., 2017. Apparent digestibility coefficients of animal and plant feed ingredients for juvenile *Pseudobagrus ussuriensis*. *Aquac. Nutr.* 23, 1128–1135.
<https://doi.org/10.1111/anu.12481>
- Choi, D.G., He, M., Fang, H., Wang, X.L., Li, X.Q., Leng, X.J., 2019. Replacement of fish meal with two fermented soybean meals in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Nutr.* 26, 37–46.
<https://doi.org/10.1111/anu.12965>
- Craig, S., Helfrich, L., Kuhn, D.D., Schwarz, M.H., 2017. *Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding*. Virginia Coop. Ext.
- Cruz-Paredes, C., López-García, Á., Rubæk, G.H., Hovmand, M.F., Sørensen, P., Kjøller, R., 2017. Risk assessment of replacing conventional P fertilizers with biomass ash: Residual effects on plant yield, nutrition, cadmium accumulation and mycorrhizal status. *Sci. Total Environ.* 575, 1168–1176.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.194>
- da Silva, C.P., Bezerra, R.S., Santos, A.C.O. dos, Messias, J.B., de Castro, C.R.O.B., Carvalho Junior, L.B., 2017. Biological value of shrimp protein hydrolysate by-product produced by autolysis. *LWT - Food Sci. Technol.* 80, 456–461.

- <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.008>
- Deutsch, L., Gräslund, S., Folke, C., Troell, M., Huitric, M., Kautsky, N., Lebel, L., 2007. Feeding aquaculture growth through globalization: Exploitation of marine ecosystems for fishmeal. *Glob. Environ. Chang.* 17, 238–249. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2006.08.004>
- El-Saidy, D.M.S.D., Gaber, M.M.A., 2002. Complete replacement of fish meal by soybean meal with dietary L-lysine supplementation for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *J. World Aquac. Soc.* 33, 297–306. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2002.tb00506.x>
- FAO, F. and A. O. of the U. N. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2018.** [s.l: s.n.]
- Fracalossi, D.M., Cyrino, J.E.P., 2016. Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira, 1ª Edição. ed. Aquabio, Florianópolis.
- Furuya, W.M., 2010. Tabelas brasileiras para nutrição de tilápias, 1ª edição. ed. GFM, Toledo.
- Furuya, W.M., Botaro, D., Neves, P.R., Silva, L.C.R., Hayashi, C., 2004. Exigência de lisina pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), na fase de terminação. *Ciência Rural* 34, 1571–1577. <https://doi.org/10.1590/s0103-84782004000500038>
- Furuya, W.M., Furuya, V.R.B., Nagee, M.Y., Graciano, T.S., Michelato, M., Xavier, T.O., Vidal, L.V., 2012. Nutrição de Tilápias no Brasil. *Sci. Agrar. Parana.* 11, 19–34. <https://doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v11n1p19-34>
- Furuya, W.M., Hayashi, C., Furuya, V.R.B., Botaro, D., Silva, L.C. da, Neves, P.R., 2008. Exigências de metionina + cistina total e digestível para alevinos revertidos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), baseadas no conceito de proteína ideal. *Acta Sci. Anim. Sci.* 23, 885. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v23i0.2641>
- Furuya, W.M., Pezzato, L.E., Pezzato, A.C., Barros, M.M., De Miranda, E.C., 2001. Coeficientes de Digestibilidade e Valores de Aminoácidos Digestíveis de Alguns Ingredientes para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zootec.* 30, 1143–1149. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982001000500002>
- Glencross, B.D., Booth, M., Allan, G.L., 2007. A feed is only as good as its ingredients - A review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. *Aquac. Nutr.* 13, 17–34. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00450.x>

- Godoy, M.G., Fernandes, K. V., Gutarra, M.L.E., Melo, E.J.T., Castro, A.M., MacHado, O.L.T., Freire, D.M.G., 2012. Use of Vero cell line to verify the biodegradation efficiency of castor bean waste. *Process Biochem.* 47, 578–584. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.12.011>
- Henrikson, R.; Meredith, S. Amino acid analysis by reverse-phase high performance liquid chromatography in differentiating mouse astrocytes in primary culture. **Dev. Neurosci**, v. 1, p. 226-267, 1984.
- Hernández, C., Hardy, R.W., Márquez-Martínez, D.G., Domínguez-Jimenez, P. V., González-Rodríguez, B., 2015. Evaluation of apparent digestibility coefficients of individual feed ingredients in spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Aquac. Nutr.* 21, 835–842. <https://doi.org/10.1111/anu.12214>
- Heu, M.S.; Kim, J.S.; Shahidi, F. Components and nutritional quality of Shrimp processing by-products. *Food Chemistry*, v. 82, pp. 235-242, 2003.
- Hua, K., Suwendi, E., Bureau, D.P., 2019. Effect of body weight on lysine utilization efficiency in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 505, 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.030>
- Instituto Adolfo Lutz, I. A. L. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. IV Edição, 1ª Edição digital, 2008.
- Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística, I. Produção da Pecuária Municipal 2018, IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, p. 1–8, 2018. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html>>.
- Junqueira, L. C. U. e Carneiro, J. *Biologia celular e molecular*. McGraw-Hill Interamericana, 2013.
- Michelato, M., Vidal, L.V.O., Xavier, T.O., Graciano, T.S., De Moura, L.B., Furuya, V.R.B., Furuya, W.M., 2016. Dietary threonine requirement to optimize protein retention and fillet production of fast-growing Nile tilapia. *Aquac. Nutr.* 22, 759–766. <https://doi.org/10.1111/anu.12293>
- Mohanty, B.P., Mahanty, A., Ganguly, S., Mitra, T., Karunakaran, D., Anandan, R., 2019. Nutritional composition of food fishes and their importance in providing food and nutritional security. *Food Chem.* 293, 561–570. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.039>

- Musshoff, F.; Madea, B. Ricin poisoning and forensic toxicology. *Drug Testing and Analysis*, v. 1, n. 4, p. 184–191, 2009.
- Naylor, R.L., Goldberg, R.J., Clay, J., Troell, M., Mooney, H., Primavera, J.H., Folke, C., Beveridge, M.C.M., Kautsky, N., Lubchenco, J., 2002. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405, 1017–1024.
- NCR, 1993. *Nutrient Requirements of Fish*. National Academies Press, Washington, D.C. <https://doi.org/10.17226/2115>
- Neto, A. R.; Veloso, C. M.; Silva, F. F.; Menezes, D. R.; Oliveira, H. C.; Azevedo, S. T.; Pinheiro, A. A.; Junior, H. A. S.; Almeida, P. J. P.; Pereira, M. M.; Dias, D. L. S. Farelo de cacau na dieta de novilhas leiteiras: viabilidade econômica. ABZ (Associação Brasileira de Zootecnistas). João Pessoa, PB – UFPB/ABZ. 2008.
- Oetterer, M. *Industrialização do pescado cultivado*. Guaíba: Agropecuária, 2002.
- Ogawa, Masayoshi; MAIA, Everardo Lima. *Manual de pesca*. Livraria Varela, 1999.
- Olsen, R.L., Hasan, M.R., 2012. A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends Food Sci. Technol.* 27, 120–128. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.06.003>
- PEIXEBR. Anunário PeixeBr da Piscicultura. Associação Brasileira de Piscicultura, p. 138, 2019.
- Pezzato, L.E., Miranda, E.C. de, Barros, M.M., Pinto, L.G.Q., Furuya, W.M., Pezzato, A.C., 2002. Digestibilidade Aparente de Ingredientes pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zootec.* 31, 1595–1604. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982002000700001>
- Sánchez-Muros, M^aJ et al. Nutritional evaluation of Tenebrio molitor meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. *Aquaculture Nutrition*, v. 22, n. 5, p. 943-955, 2016.
- Santos, J. F.; Castro, P. F.; Leal, A. L. G.; Freitas Júnior, A. C. V.; Lemos, D.; Carvalho Jr., L. B., Bezerra, R. S. Digestive enzyme activity in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L) submitted to different dietary levels of shrimp protein hydrolysate. *Aquaculture International*, v. 21, p. 563-577, 2012.
- Sargent, J.R., Tocher, D.R., Bell, J.G., 2002. The Lipids, in: *Fish Nutrition*. Elsevier, pp. 181–257. <https://doi.org/10.1016/B978-012319652-1/50005-7>
- Sartori, A.G. de O., Amancio, R.D., 2012. *Pescado: importância nutricional e consumo*

- no Brasil. *Segurança Aliment. e Nutr.* 19, 83–93. <https://doi.org/10.20396/san.v19i2.8634613>
- Secchi e Gonzalez. *Bioquímica Dos Conservantes Sanguíneos*. 2010.
- Serafim, R.S., Antonelli, A., Santos, M.A.T., 2017. Determinação Da Matéria Seca E Proteína Bruta Pelo Método Convencional E Microondas. *FAZU em Rev.* 39-43–4.
- Shearer, K.D., Maage, A., Opstvedt, J., Mundheim, H., 1992. Effects of high-ash diets on growth, feed efficiency, and zinc status of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 106, 345–355. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90266-N](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90266-N)
- Upadhaya, S.D., Kim, I.H., 2015. Ileal digestibility of nutrients and amino acids in unfermented, fermented soybean meal and canola meal for weaning pigs. *Anim. Sci. J.* 86, 408–414. <https://doi.org/10.1111/asj.12305>
- Xie, D., Yang, L., Yu, R., Chen, F., Lu, R., Qin, C., Nie, G., 2017. Effects of dietary carbohydrate and lipid levels on growth and hepatic lipid deposition of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 479, 696–703. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.013>
- Xie, S. wei, Liu, Y. jian, Zeng, S., Niu, J., Tian, L. xia, 2016. Partial replacement of fish-meal by soy protein concentrate and soybean meal based protein blend for juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 464, 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.002>
- Zani, A. Alimentação animal não recupera perdas acumuladas no ano passado. Cerqueira César: Sindirações, 2013. 6p. (Boletim Informativo do Setor de Alimentação Animal. Dezembro/2013). Disponível em: <http://sindiracoes.org.br/wp-content/uploads/2013/12/sindiracoes-boletim_dezembro_05122013_site.pdf>. Acesso em: 9 de Setembro de 2018.
- Zar, Jerrold H. *Biostatistical analysis: Pearson new international edition*. Pearson Higher Ed, 2013.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados demonstram que os resíduos agroindustriais podem ser substituídos pelo ingrediente tradicional, farelo de soja, mediante processamentos. Mais estudos devem ser realizados afim de avaliar a digestibilidade e desempenho de crescimento dos novos ingredientes.

REFERÊNCIAS

- ABIMORAD, Eduardo Gianini et al. Substituição parcial do farelo de soja pela farinha de carne e ossos em dietas para juvenis de tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 11, p. 836-843, 2014.
- AL KHAWLI, F. et al. Aquaculture and its by-products as a source of nutrients and bioactive compounds. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 92, p. 1–33, 2020.
- ALENCAR, R. B. et al. Alkaline Proteases from the Digestive Tract of Four Tropical Fishes Proteases Alcalinas do Trato Digestório de Quatro Espécies Tropicais Marinhas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 279–284, 2003.
- AMORIM, G. M., Carvalho dos Santos, T., Soares Viana Pacheco, C., Monteiro Andrade Barreto, I., Guimarães Freire, D.M., Franco, M., 2012. Fermentação de farelo de cacau por *Aspergillus niger* para obtenção de lipase. *Estud. Tecnológicos em Eng.* 8, 24–27. <https://doi.org/10.4013/ete.2012.81.04>
- AMORIM, Graziella Marques. FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO DO FARELO DE CACAU (*Theobroma cacao*): REDUÇÃO DE METILXANTINAS E PRODUÇÃO DE XILANASE VISANDO APLICAÇÃO NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. 2016.
- AMORIM, G. M. et al. Solid-state fermentation as a tool for methylxanthine reduction and simultaneous xylanase production in cocoa meal. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 11, p. 34–41, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2017.05.009>>.
- ARANA, L. A. V. **Aquicultura: Evolução histórica**. 1995. Disponível em: <<https://panoramadaaquicultura.com.br/aquicultura-evolucao-historica/>>. Acesso em: 24 fev. 2020.
- ASLANI, M. R., MALEKI, M. O. H. S. E. N., MOHRI, M., SHARIFI, K., NAJJAR-NEZHAD, V., & AFSHARI, E. Castor bean (*Ricinus communis*) toxicosis in a sheep flock. *Toxicon*, 49(3), 400-406. 2007.
- AUDI, J. et al. Ricin Poisoning. **Jama**, v. 294, n. 18, p. 2342, 2005.
- BARRETO, M. S. FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO DA TORTA MAMONA (*Ricinus communis*) UTILIZANDO O FUNGO FILAMENTOSO (*Penicillium simplicissimum*) PARA OBTENÇÃO DE BIOMASSA PARA RAÇÃO ANIMAL. 2016. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2016.
- BEZERRA, R. S. et al. Partial purification and characterization of a thermostable trypsin from pyloric caeca of tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Journal of Food Biochemistry**, v. 25, n. 3, p. 199–210, 2001.
- BEZERRA, R. S. et al. Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Process Biochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1829–1834, 2005.

BOMFIM, M. A. D. et al. Exigência de metionina mais cistina, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 5, p. 783–790, 2008a.

BOMFIM, M. A. D. et al. Exigência de treonina, com base no conceito de proteína ideal, de alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 12, p. 2077–2084, 2008b.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F.; FEIDEN, A.; BOMBARDELLI, R.A. Digestibilidade aparente da energia e proteína das farinhas de resíduo da filetagem da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e da corvina (*Plagioscion squamosissimus*) e farinha integral do camarão canela (*Macrobrachium amazonicum*) para a tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.8-13, 2004.

CAHÚ, T. B. et al. Recovery of protein, chitin, carotenoids and glycosaminoglycans from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 4, p. 570–577, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2011.12.012>>.

CANDIOTTO, F. B. CARACTERIZAÇÃO DE ENZIMAS DIGESTÓRIAS DO LINGUADO (*Paralichthys orbignyanus*). 2013.

CAVALHEIRO, J. M. O.; SOUZA, E. O.; BORA, P. S. Utilization of shrimp industry waste in the formulation of tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus) feed. *Bioresource Technology*, v. 98 (3), pp. 602-606, 2007.

DA SILVA, C. P. et al. Biological value of shrimp protein hydrolysate by-product produced by autolysis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 80, p. 456–461, 2017.

DIAS, M. T. Nota Técnica: A introdução da tilápia em ambientes diversos de sua origem e as consequências negativas. **Embrapa**, p. 1–4, mar. 2019. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/197073/1/CPAF-AP-2019-NT-003-Introducao-tilapias.pdf>>.

DIÓGENES, A. F. et al. Soybean meal replacement by corn distillers dried grains with solubles (DDGS) and exogenous non-starch polysaccharidases supplementation in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. **Aquaculture**, v. 500, p. 435–442, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.035>>.

EL-SAIDY, D. M. S. D.; GABER, M. M. A. Complete replacement of fish meal by soybean meal with dietary L-lysine supplementation for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 33, n. 3, p. 297–306, 2002.

FAO, F. and A. O. of the U. N. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2018**. [s.l: s.n.].

FRACALLOSSI, D. M.; CYRINO, J. E. P. **Nutriaqua: Nutrição e alimentação de**

espécies de interesse para aquicultura brasileira. 2ª Edição ed. Florianópolis: Aquabio, 2016.

GILDBERG, A.; STENBERG, E. (2001). A new process for advanced utilization of shrimp waste. **Process Biochemistry**, v. 36, pp. 809-812.

GODOY, M. G. et al. Adding value to a toxic residue from the biodiesel industry: Production of two distinct pool of lipases from *Penicillium simplicissimum* in castor bean waste. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 8, p. 945–953, 2011.

GODOY, M. G. et al. Use of Vero cell line to verify the biodetoxification efficiency of castor bean waste. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 4, p. 578–584, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2011.12.011>>.

GOMES, F. H. T. et al. Consumo, comportamento e desempenho em ovinos alimentados com dietas contendo torta de mamona. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 48, n. 1, p. 182–190, 2017.

GONELI, A. L. D. et al. Contração volumétrica e forma dos frutos de mamona durante a secagem. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 33, n. 1, p. 1–8, 2011.

HARDY, R. W. Utilization of plant proteins in fish diets: Effects of global demand and supplies of fishmeal. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 5, p. 770–776, 2010.

HEU, M.S.; KIM, J.S.; SHAHIDI, F. Components and nutritional quality of. Shrimp processing by-products. *Food Chemistry* , v. 82, pp. 235-242, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, I. Produção da Pecuária Municipal 2018, IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, p. 1–8, 2018. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html>>.

KUBITZA, F. Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial. 1 ed. Jundiaí [S.n], 2000.

MUSSHOFF, F.; MADEA, B. Ricin poisoning and forensic toxicology. **Drug Testing and Analysis**, v. 1, n. 4, p. 184–191, 2009.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger-7**. Artmed Editora, 2018.

NETO, A. R.; VELOSO, C. M.; SILVA, F. F.; MENEZES, D. R.; OLIVEIRA, H. C.; AZEVEDO, S. T.; PINHEIRO, A. A.; JUNIOR, H. A. S.; ALMEIDA, P. J. P.; PEREIRA, M. M.; DIAS, D. L. S. Farelo de cacau na dieta de novilhas leiteiras: viabilidade econômica. ABZ (Associação Brasileira de Zootecnistas). João Pessoa, PB – UFPB/ABZ. 2008.

OETTERER, M. Industrialização do pescado cultivado. Guaíba: Agropecuária, 2002.

OGAWA, Masayoshi; MAIA, Everardo Lima. **Manual de pesca**. Livraria Varela, 1999.

PEIXEBR. Anunário PeixeBr da Piscicultura. **Associação Brasileira de Piscicultura**, p. 138, 2019.

PEZZATO, L. E. et al. Digestibilidade Aparente de Ingredientes pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 4, p. 1595–1604, jul. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982002000700001&lng=pt&tlng=pt>.

RUSTAD, T. **Physical and chemical properties of protein seafood by-products**. [s.l.] Woodhead Publishing Limited, 2007.

SIDONIO, L. et al. Biblioteca Digital Panorama da aquicultura no Brasil : desafios e oportunidades Panorama da aquicultura no Brasil : desafios e oportunidades Luiza Sidonio. **Agroindústria**, 2012.

SILVA, J. F. X. et al. Utilization of tilapia processing waste for the production of fish protein hydrolysate. **Animal Feed Science and Technology**, v. 196, p. 96–106, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.06.010>>.

STEVENS, J. R. et al. The rise of aquaculture by-products: Increasing food production, value, and sustainability through strategic utilisation. **Marine Policy**, v. 90, n. November 2017, p. 115–124, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.marpol.2017.12.027>>.

VICENTE, I.; ELIAS, F.; FONSECA-ALVES. Perspectivas da produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil Prospects of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) production in Brazil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 392–398, 2014.

ZANI, A. **Alimentação animal não recupera perdas acumuladas no ano passado**. Cerqueira César: Sindirações, 2013. 6p. (Boletim Informativo do Setor de Alimentação Animal. Dezembro/2013). Disponível em: <http://sindiracoes.org.br/wp-content/uploads/2013/12/sindiracoes-boletim_dezembro_05122013_site.pdf>. Acesso em: 9 de Setembro de 2018.