

## Frações solúveis e insolúveis do hidrolisado proteico de resíduo de sardinha na alimentação do jundiá: consumo de ração e excreção de amônia

[Soluble and insoluble fractions of the sardine waste protein hydrolysate in silver catfish feeding: feed intake and excretion of ammonia]

T.E.H.P. Fabregat<sup>1</sup>, B. Wosniak<sup>1</sup>, A.F.N. Gonçalves<sup>1</sup>, N. Ha<sup>1</sup>, E. Skoronski<sup>1</sup>,  
M.L. Pessatti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Estado de Santa Catarina - Lages, SC

<sup>2</sup>Universidade do Vale do Itajaí - Itajaí, SC

### RESUMO

O hidrolisado proteico de pescado é produzido por meio da hidrólise enzimática de resíduos da indústria de pescado, resultando em um ingrediente de excelente qualidade para ser utilizado na alimentação de peixes. O objetivo deste estudo foi determinar o efeito das frações do hidrolisado proteico de resíduo de sardinha sobre o consumo de ração e excreção de amônia de juvenis de jundiá. Foram testadas as frações solúveis e insolúveis do hidrolisado de músculo de sardinha, avaliadas individualmente e combinadas entre si. Juvenis de jundiás (9,76±0,55g) foram divididos em 12 aquários de 20L, na densidade de quatro peixes por aquário, resultando em uma biomassa média de 1,90±0,17g/L. O hidrolisado proteico foi produzido com carcaças limpas de sardinhas mediante o uso da enzima protease bacteriana Protamex<sup>®</sup> (Novozymes A/S) e dele derivaram as frações solúveis e insolúveis. As dietas foram isoproteicas (39% PB) e isoenergéticas (4450kcal EB/kg), e as frações do hidrolisado foram incluídas de forma a fornecerem 50% da proteína das rações. A fração solúvel apresentou grau de hidrólise mais elevado (20,1%) em relação à fração insolúvel (9,97%). As duas dietas contendo a fração solúvel do hidrolisado foram as mais consumidas. Com cinco horas de avaliação, a dieta contendo a fração solúvel do hidrolisado aumentou a excreção de amônia em relação à dieta contendo a fração insolúvel. Após 25 horas, a fração solúvel também aumentou a excreção de amônia, mas, desta vez, em relação à dieta contendo a combinação das duas frações. Conclui-se que a inclusão da fração solúvel do hidrolisado de músculo de sardinha estimula o consumo de ração, todavia, quando a inclusão é elevada, pode haver aumento da excreção de amônia de juvenis de jundiá.

Palavras-chave: hidrólise enzimática, nutrição de peixes, resíduo industrial, *Rhamdia quelen*, *Sardinella* sp.

### ABSTRACT

The fish protein hydrolysate is produced by the enzymatic hydrolysis of seafood industry wastes, resulting in a high quality ingredient to be used in fish feed. The aim of this study was to determine the effect of the fractions of the sardine protein waste hydrolysate fractions on feed intake and ammonia excretion of silver catfish. The soluble and insoluble fractions of the sardine muscle hydrolysate, evaluated individually and in combination were tested. Juvenile silver catfish (9.76±0.55g) were divided into twelve 20L aquaria, in the density of four fish per tank, resulting in an average biomass of 1.90±0.17g/L. The protein hydrolysate was produced with fresh sardine carcasses using the enzyme Protamex<sup>®</sup> bacterial protease (Novozymes A/S) and soluble and insoluble fractions were derived. The diets were isonitrogenous (39% CP) and isocaloric (4450kcal EB/kg) and the hydrolysate fractions were included in order to provide 50% of the protein of the diet. The soluble fraction has higher degree of hydrolysis (20.1%) compared to the insoluble fraction (9.97%). The two diets containing the hydrolysate soluble fraction were the most consumed. With 5 hours of evaluation, the diet containing the hydrolysate soluble fraction increased the excretion of ammonia in relation to diet containing the insoluble fraction. After 25 hours, the soluble fraction also increases the excretion of ammonia but this time in relation to the diet containing a combination of two fractions. It was concluded that the inclusion of the sardine protein hydrolysate soluble fraction in the diet stimulates the silver catfish feed intake, but when inclusion is high it can increase ammonia excretion of juvenile silvercatfish.

Keywords: enzymatic hydrolysis, fish nutrition, industrial waste, *Rhamdia quelen*; *Sardinella* sp.

Recebido em 12 de junho de 2016

Aceito em 27 de junho de 2016

E-mail: thiagofabregat@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

O hidrolisado proteico de pescado é produzido por meio da hidrólise enzimática de resíduos da indústria de pescado, resultando em ingrediente de excelente qualidade para ser utilizado na alimentação de peixes. Nesse sentido, o resíduo da sardinha, uma espécie com grande destaque na pesca extrativa brasileira, representa grande potencial ainda a ser explorado. A produção nacional de sardinha foi de 75.122,5 toneladas em 2011 (Boletim, 2011), resultando em mais de 25.000 toneladas de resíduos (Aproveitamento, 2001) que normalmente são descartados no ambiente sem nenhum tratamento, ou utilizados para a produção de farinha de peixe de baixa qualidade.

Os efeitos dos hidrolisados proteicos de pescado na nutrição de peixes são bastante amplos. Já foram encontrados resultados positivos sobre o crescimento (Zheng *et al.*, 2013; Bui *et al.*, 2014; Khosravi *et al.*, 2015), consumo de ração (Refstie *et al.*, 2004; Zheng *et al.*, 2013), sistema imune (Bui *et al.*, 2014; Khosravi *et al.*, 2015), entre outros. Entretanto, ainda faltam informações mais detalhadas sobre como as diferentes frações dos hidrolisados afetam a fisiologia e o metabolismo dos peixes. Nesse sentido, a avaliação da excreção de amônia pode ser usada como um indicador válido da eficiência metabólica das dietas (Chakraborty e Chakraborty, 1998; Cheng *et al.*, 2003).

Após o processo de hidrólise enzimática, o hidrolisado proteico pode ser dividido, por peneira de 1mm, em duas frações distintas, permeado (solúvel) e retido (como escamas e espinhas). Após o processo de filtração do permeado, o filtrado é considerado a fração solúvel, e o material retido a fração insolúvel. Tradicionalmente, a fração solúvel é considerada mais nobre, por ser composta por peptídeos de menor peso molecular, e a fração insolúvel consiste do material menos ou não hidrolisado, ou seja, peptídeos de maior peso molecular (Liaset e Espe, 2008). Entretanto, o efeito dessas frações, combinadas ou isoladas, ainda não foi devidamente estudado na alimentação de peixes. De maneira geral, a maioria dos trabalhos avalia somente a fração solúvel filtrada dos hidrolisados (Aksnes *et al.*, 2006; Skalli *et al.*, 2014; Costa-Bonfim *et al.*, 2016).

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um peixe com destaque na piscicultura no sul do Brasil. Trata-se de um bagre onívoro bem adaptado às baixas temperaturas e com uma carne bastante apreciada (Baldisseroto e Radünz, 2004). Estudos sobre a nutrição e o manejo alimentar dessa espécie são fundamentais para consolidar seu cultivo em cativeiro. O objetivo deste estudo foi determinar o efeito das frações solúvel e insolúvel do hidrolisado proteico de resíduo de sardinha sobre o consumo de ração e excreção de amônia de juvenis de jundiá.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Piscicultura do CAV/UEDESC, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade do Estado de Santa Catarina (Protocolo 1.14.13). Foram testadas as frações solúveis e insolúveis do hidrolisado de músculo de sardinha, avaliadas individualmente e combinadas entre si. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com três tratamentos e quatro repetições. Juvenis de jundiás ( $9,76 \pm 0,55$ g) foram divididos em 12 aquários de 20L, na densidade de quatro peixes por aquário, resultando em uma biomassa média de  $1,90 \pm 0,17$ g/L. Os animais foram aclimatados às condições laboratoriais e alimentados diariamente com as dietas experimentais por 20 dias.

O hidrolisado proteico muscular foi produzido com carcaças limpas (desprovidas de cabeça, cauda e vísceras) de sardinhas (*Sardinella* sp.) e dele derivaram as frações solúveis e as insolúveis. Alíquotas de 300g de amostra foram homogeneizadas em liquidificador com três volumes de água e incubadas com a enzima protease bacteriana Protamex<sup>®</sup> (Novozymes A/S) (1:500 enzima:peixe) a 50°C durante 90 minutos. Em seguida houve a inativação da enzima a 75-90°C durante 15 minutos. Após separação da fração permeada e retida (peneira de 1mm), a suspensão foi submetida à filtração em funil de Büchner com papel de 80g Unifil<sup>®</sup> e aplicação de vácuo em kitassato. O material retido foi considerado como a fração insolúvel (FIM), e o filtrado como a fração solúvel (FSM). Ambas as frações foram secas a 60°C, em estufa com circulação de ar.

As análises químicas dos hidrolisados (Tab. 1) foram efetuadas de acordo com os métodos da

*Frações solúveis e insolúveis...*

Official... (1994). Para a determinação do grau de hidrólise (GH), utilizou-se uma adaptação do método de Nielsen *et al.* (2001), explorando-se a reatividade do *o*-phthaldialdehyde (OPA) com amino-grupos. Os ensaios foram realizados em microplacas de fundo transparente, pela adição de 40µL de amostra e 260µL do reagente OPA. As leituras de absorbância foram realizadas em 340nm em leitora de microplacas modelo Genius, marca Tecan, e o resultado expresso como GH (%), por meio da equação:

$$GH (\%) = [(Serina-NH_2 - \beta) / \alpha \text{ meqv} / g \text{ proteína}] / htot * 100.$$

Tabela 1. Composição bromatológica dos hidrolisados

	Umidade (%)	PB (%)	EB (%)	EE (%)	MM (%)
Fração solúvel músculo (FSM)	93,28	85,5	5108,8	2,00	8,0
Fração insolúvel músculo (FIM)	35,08	77,0	6097,7	20,3	3,3

PB - proteína bruta, EB - energia bruta, EE - extrato etéreo, MM - matéria mineral, ENN - extrato não nitrogenado, GH - grau de hidrólise.

Foram avaliadas três dietas isoproteicas (39% de proteína bruta) e isoenergéticas (cerca de 4450kcal de energia bruta/kg). As frações do hidrolisado foram incluídas de forma a fornecerem 50% da proteína das rações (Tab. 2). Além do hidrolisado, as dietas foram formuladas utilizando-se farinha de carne e farelo de soja como fontes proteicas e o amido de milho e o óleo de peixe como fontes energéticas. Os

Os valores de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $htot$  utilizados foram os determinados previamente por Adler-Nissen (1986) para pescado: 1,00; 0,40 e 8,6, respectivamente. As análises de aminoácidos foram realizadas pelo laboratório CBO – Análises Laboratoriais®, o qual utilizou a metodologia de análise por cromatografia em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), onde inicialmente se realizou a individualização dos monômeros por meio da hidrólise por HCl 6N a 110°C por 24 horas. Após, empregou-se a CLAE, a qual possui uma precisão superior a  $\pm$  0,5%, com detecção espectrofotométrica.

ingredientes foram previamente analisados (Official..., 1994) para garantir maior precisão da formulação. Depois de misturados, os ingredientes foram finamente triturados em moinho de faca com peneira de 2mm de diâmetro de malha. As dietas foram peletizadas (5mm), separadas em tamanho pela granulometria e armazenadas em *freezer* até o momento da utilização.

Tabela 2. Composição das dietas experimentais

Ingredientes (%)	FSM	FIM	FSM+FIM
Farelo de soja	20,00	20,00	20,00
Milho	27,90	31,90	29,90
F. solúvel músculo	24,00	0,00	12,00
F. insolúvel músculo	0,00	26,00	13,00
Farinha de carne	20,00	20,00	20,00
Óleo de peixe	7,00	1,00	4,00
Premix*	1,10	1,10	1,10
Total	100,0	100,0	100,0
Composição calculada (%)			
Matéria seca	92,85	92,38	92,62
Proteína bruta	41,21	41,05	41,13
Energia bruta (kcal/kg)	4482,2	4458,5	4448,22
Extrato etéreo	11,14	10,18	10,66
Fibra bruta	2,46	2,55	2,51
Matéria mineral	7,60	6,59	7,10

FSM: fração solúvel do hidrolisado de músculo; FIM: fração insolúvel do hidrolisado de músculo. \*Ácido fólico – 2.400mg, ácido nicotínico – 48g, ácido pantotênico – 24g, biotina – 96mg, vit. A – 2.400.000UI, vit. D3 – 400.000UI, vit. E – 24.000UI, vit. B1 – 9.600mg, vit. B2 – 9.600mg, vit. B6 – 9.600mg, vit. B12 – 9.600mg, vit K3 – 4.800mg, vit. C – 96g, ferro – 100g, manganês – 40g, zinco – 6.000mg, cobalto – 20mg, iodo – 200mg, selênio – 200mg, antioxidante – 19,6g.

No dia das coletas, os peixes foram alimentados às oito horas, os aquários foram limpos e o filtro biológico retirado, sendo mantido o sistema de aeração. Os restos de ração foram coletados para posterior quantificação das sobras e avaliação do consumo de ração. As coletas de água foram realizadas em intervalos de cinco horas durante 25 horas. As análises de água foram realizadas no Laboratório de Tratamento de Águas e Resíduos do Departamento de Engenharia Ambiental, UDESC/Lages. As análises de pH, oxigênio dissolvido (OD) e potencial de redução do oxigênio (ORP) foram executadas com a utilização de uma sonda multiparâmetro (YSI United States). A determinação de amônia total foi realizada segundo o método colorimétrico baseado na reação do azul de indofenol (Método 4500 NH<sub>3</sub> F). Este composto é formado pela reação da amônia com íons hipoclorito para formação de cloraminas. Estas reagem com fenol, na presença de nitroprussiato de sódio como catalisador, gerando o corante anteriormente citado. A determinação das absorbâncias foi realizada em um espectrofotômetro Pharo 300 da Merck em 620nm. Para a realização da análise, a amostra inicialmente foi filtrada em membrana de acetato de celulose (0,42mm) para eliminar o efeito da turbidez da amostra na leitura (Standard, 2012).

Os resultados foram submetidos aos testes de normalidade e homocedasticidade. As médias de consumo e da relação amônia/biomassa (excreção de amônia (mg/L)/ biomassa do aquário (g)) foram analisadas pelo teste ANOVA (P<0,05) e comparadas entre os tratamentos pelo teste de Duncan. A variação dos parâmetros de qualidade da água ao longo do tempo foi analisada pelo teste ANOVA de medidas repetidas (P< 0,05) e comparadas pelo teste de Tukey.

## RESULTADOS

Os resultados de grau de hidrólise estão apresentados na Tab. 3. Como era esperado, a

fração solúvel apresentou um grau de hidrólise mais elevado em relação à fração insolúvel.

Tabela 3. Grau de hidrólise dos hidrolisados

	Grau de hidrólise (%)
Fração solúvel músculo	20,1
Fração insolúvel músculo	9,97

Os resultados da composição de aminoácidos das frações dos hidrolisados estão apresentados na Tab. 4.

Tabela 4. Composição de aminoácido (% matéria seca) de hidrolisados

Aminoácidos	FSM	FIM
Ácido aspártico	4,02	7,29
Ácido glutâmico	8,04	9,06
Serina	1,79	2,83
Glicina	4,76	3,56
Histidina	4,61	2,08
Taurina	1,49	0,02
Arginina	2,83	4,05
Treonina	1,64	3,07
Alanina	3,72	3,85
Prolina	2,53	2,80
Tirosina	0,74	2,71
Valina	1,79	3,65
Metionina	1,19	2,37
Cistina	0,45	1,43
Isoleucina	1,19	3,57
Leucina	3,42	5,62
Fenilalanina	1,19	3,20
Lisina	4,61	5,87
Triptofano	0,15	0,42

FSM: fração solúvel do hidrolisado de músculo; FIM: fração insolúvel do hidrolisado de músculo.

A partir dos dados obtidos sobre o teor de aminoácidos contidos nos hidrolisados e da composição de aminoácidos das demais fontes proteicas utilizadas nas dietas, obtidas na literatura, foi possível estimar a composição de aminoácidos nas dietas formuladas (Tab. 5).

Tabela 5. Composição calculada de aminoácidos (% da PB da dieta) das dietas experimentais

	FSM	FIM	FSM+FIM	Exigências Jundiá*
Lisina	4,98	6,04	5,51	5,80
Metionina	1,31	2,13	1,72	2,13
Met + Cis	2,10	3,59	2,85	3,11
Treonina	2,48	3,51	3,00	3,00
Triptofano	0,49	0,68	0,59	0,27
Arginina	4,87	5,83	5,35	3,72
Valina	7,82	9,15	8,49	2,65
Isoleucina	2,26	3,86	3,06	2,54
Leucina	9,95	11,63	10,79	5,03
Histidina	3,65	2,31	2,98	1,31
Fenilalanina	2,57	3,94	3,26	2,69
Fen + Tir	4,20	6,88	5,54	4,79

FSM: fração solúvel do hidrolisado de músculo; FIM: fração insolúvel do hidrolisado de músculo.

\* Meyer e Fracalossi (2005).

Na avaliação do consumo de ração, as duas dietas contendo a fração solúvel do hidrolisado de músculo de sardinha foram as mais consumidas ( $P<0,05$ ) pelos peixes (Tab. 6).

Tabela 6. Consumo de ração de juvenis de jundiá (média±desvio-padrão)

	Consumo (g)
Solúvel	0,71±0,24a
Solúvel+insolúvel	0,58±0,13a
Insolúvel	0,52±0,12b
CV%	16,63

Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Duncan ( $P<0,05$ ).

A variação dos parâmetros de qualidade da água foi acompanhada ao longo das coletas (Tab. 7). Como não foram observadas diferenças entre os tratamentos ( $P>0,05$ ), foram apresentadas somente as médias gerais por período. Foram observados dois picos de excreção de amônia, sendo os maiores valores ( $P<0,05$ ) de amônia total obtidos nos intervalos 5-10 e 20-25 horas. A variação nos valores de pH e ORP também aconteceu de forma semelhante. O menor ( $P<0,05$ ) valor de pH foi observado após cinco horas, seguido pelos valores observados nos períodos de 10 e 25 horas. Em relação ao ORP, as maiores ( $P<0,05$ ) médias foram observadas após cinco e 10 horas, mas também houve um pico menor após 25 horas.

Tabela 7. Variação dos parâmetros de qualidade da água ao longo do experimento (média±desvio-padrão)

	0h	5h	10h	15h	20h	25h	CV (%)
T°C	25,2±0,4	25,9±0,6	26,2±0,7	26,3±0,6	26,2±0,6	26,3±0,6	2,5
pH	6,3±0,1a	4,7±0,1e	4,9±0,1d	5,2±0,1b	5,1±0,1c	4,8±0,1d	10,3
OD (mg /L)	4,78±0,35	4,40±0,51	4,70±0,68	4,68±0,77	5,01±0,55	5,05±0,56	12,9
ORP	-159,3±3,7a	-306,1±6,2e	-303,7±22,7e	-223,6±14,6c	-174,8±4,8b	-262,1±14,6d	24,8
Amônia (mg/ L)	0,90±0,58b	1,14±0,49ab	1,59±0,67a	1,00±0,38b	1,38±0,55ab	1,69±0,66a	48,5

OD - oxigênio dissolvido; ORP - potencial de redução do oxigênio. Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ). Ausência de letras indica que não existe diferença ( $P>0,05$ ).

Foi avaliada a relação entre a excreção de amônia e a biomassa de peixes dos aquários (Tab. 8). Após cinco e 25 horas, foram constatadas diferenças significativas ( $P<0,05$ ) entre os tratamentos. Com cinco horas de avaliação, a dieta contendo a fração solúvel do

hidrolisado aumentou ( $P<0,05$ ) a excreção de amônia em relação à dieta contendo a fração insolúvel. Da mesma forma, após 25 horas, a fração solúvel também aumentou ( $P<0,05$ ) a excreção de amônia, mas, desta vez, em relação à dieta contendo a combinação das duas frações.

Tabela 8. Relação amônia/biomassa de juvenis de jundiá (média±desvio-padrão)

	0h	5h	10h	15h	20h	25h
Solúvel	0,28±0,24	0,90±0,17a	0,94±0,33	0,66±0,16	0,88±0,29	1,06±0,25a
Sol.+Insol.	0,55±0,13	0,57±0,31ab	0,89±0,29	0,39±0,14	0,71±0,25	0,65±0,12b
Insolúvel	0,52±0,12	0,41±0,29b	0,66±0,25	0,44±0,12	0,59±0,20	0,92±0,21ab
CV%	58,23	33,12	35,94	35,24	38,11	23,26

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ). Ausência de letras indica que não existe diferença ( $P > 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

As duas dietas que continham a fração solúvel dos hidrolisados foram as mais consumidas pelos peixes. Este resultado já era esperado, uma vez que a fração solúvel possui um grau de hidrólise mais elevado e é mais rica em peptídeos de baixo peso molecular. O jundiá, assim como outras espécies de bagre, possui o sistema gustatório bastante desenvolvido, capaz de detectar estes compostos. Os corpúsculos gustativos, que estão distribuídos pelos barbilhões e por toda a superfície do corpo (Atema, 1971), são capazes de detectar pequenas quantidades de aminoácidos e outros compostos de baixo peso molecular (Caprio, 1975), estimulando o comportamento alimentar. Broggi (2014) demonstrou que, quando o grau de hidrólise do hidrolisado de sardinha é mais elevado, a resposta alimentar do jundiá é mais evidente. Da mesma forma, Wosniak (2015) também observou que dietas contendo as frações solúveis do hidrolisado de sardinha foram mais consumidas por juvenis de jundiá em relação àquela que continha somente a fração insolúvel. Outros autores também já demonstraram anteriormente para outras espécies que a inclusão de hidrolisados nas dietas pode estimular o consumo de ração (Refstie *et al.*, 2004; Zheng *et al.*, 2013).

A excreção nitrogenada dos peixes acontece principalmente sobre a forma de amônia, um composto solúvel que se difunde facilmente das brânquias para a água (Evans *et al.*, 2013). Após a alimentação, normalmente ocorre um pico de excreção de amônia após cerca de seis horas (Chakraborty e Chakraborty, 1998; Engin e Carter, 2001), mas, assim como ocorreu no presente estudo, para algumas espécies pode ocorrer um segundo pico de excreção (Ismiño-Orbe *et al.*, 2003). Segundo Ming (1985), o comportamento temporal associado à excreção

de amônia pode estar ligado ao ciclo do apetite, a uma imediata oxidação dos aminoácidos ingeridos ou ainda ao ritmo hormonal diário do peixe.

A liberação da amônia na água pode interferir em outros parâmetros de qualidade da água, conforme observado neste trabalho. O aumento nos níveis de amônia foi acompanhado de uma diminuição do pH e do aumento do potencial redox (ORP). No sangue dos peixes, a amônia está sob a forma de  $\text{NH}_3$ , nas brânquias ela se liga a íons  $\text{H}^+$  formando  $\text{NH}_4^+$ , que não atravessa a membrana celular e impede que o nitrogênio seja reabsorvido (Yp e Chew, 2010). Dessa forma, durante a excreção de amônia, observa-se uma diminuição no pH, uma vez que na água ocorre nova conversão do  $\text{NH}_4^+$  para  $\text{NH}_3$ , liberando  $\text{H}^+$  (Wright e Wood, 2009). Além disso, este aumento na concentração de íons  $\text{H}^+$  explica a diminuição no potencial redox, devido à maior disponibilidade de prótons para a redução de oxigênio, diminuindo, assim, o potencial de oxidação na água.

As frações do hidrolisado de sardinha não afetaram os valores de amônia total observados no presente estudo. Entretanto, houve diferença quando a excreção de amônia foi relacionada com a biomassa dos peixes nos aquários. Após cinco horas de observação, a relação amônia/biomassa foi significativamente maior nos peixes alimentados com a ração contendo a fração solúvel de hidrolisado em comparação com a fração insolúvel. Tal resultado poderia ser atribuído às diferenças no consumo entre as dietas. Existe uma relação direta entre o consumo de ração e a excreção de amônia, quanto maior o consumo maior a excreção (Brunty *et al.*, 1997), e uma vez que a dieta contendo a fração solúvel foi mais consumida, esta poderia ter sido a causa da maior relação amônia biomassa. Entretanto, deve ser levado em conta que a dieta contendo a

combinação das duas frações também foi mais consumida, porém sem aumentar a excreção de amônia.

Na separação das frações dos hidrolisados, ocorre também uma separação do perfil de aminoácidos (Liaset *et al.*, 2003; Liaset e Espe, 2008). Durante a hidrólise enzimática, as regiões hidrofóbicas das proteínas tendem a ser menos hidrolisadas por (endo)hidrolases, como a Protamex™ (Liaset *et al.*, 2003), mesmo que, com algum nível de hidrólise, por sua natureza mais hidrofóbica, os peptídeos dessas regiões tendam a permanecer na fração insolúvel (Chotia, 1975). Tal separação enriquece esta fração em aminoácidos hidrofóbicos, alguns dos quais essenciais, em detrimento da fração solúvel. Ao contrário, a fração solúvel concentra virtualmente toda a taurina contida na matéria-prima. Essas características descritas foram verificadas por Liaset e Espe (2008) para hidrolisados de salmão (*Salmo salar*, L.), de bacalhau (*Gadus morhua*, L.) e de escamudo (*Pollachius virens*, L.), este último da família do bacalhau (Gadidae). Exatamente o mesmo perfil foi repetido neste trabalho, para os hidrolisados de sardinha (*Sardinella* sp.).

Outro aspecto a ser considerado diz respeito ao nível de inclusão dos hidrolisados neste estudo (20%), maior do que os tradicionalmente testados, de 5 a 15% (Aksnes *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2013; Skalli *et al.*, 2014). Isso levou a um desbalanceamento do perfil de aminoácidos da dieta contendo somente a fração solúvel e gerou deficiência em alguns aminoácidos essenciais (lisina, metionina e treonina) na dieta contendo apenas a fração solúvel (Liaset e Espe, 2008). Assim, a deficiência desses aminoácidos reduziu a eficiência metabólica da dieta contendo apenas a fração solúvel e contribuiu para aumentar a excreção de amônia nos peixes alimentados com essa dieta.

## CONCLUSÃO

A inclusão da fração solúvel do hidrolisado de músculo de sardinha estimula o consumo de ração, mas, quando a inclusão é elevada, pode haver aumento na excreção de amônia de juvenis de jundiá. A combinação das frações solúvel e insolúvel resulta na forma mais eficiente de uso do hidrolisado como ingrediente nutricional para jundiá.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro ao projeto.

## REFERÊNCIAS

- ADLER-NISSEN, J. (Ed.). *Enzymic hydrolysis of food proteins*. New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1986. 427p.
- AKSNES, A.; HOPE, B.; JÖNSSON, E. *et al.* Size-fractionated fish hydrolysate as feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed high plant protein diets. I. Growth, growth regulation and feed utilization. *Aquaculture*, v.261, p.305-317, 2006.
- APROVEITAMENTO dos subprodutos do pescado: meta 11. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí / MAPA, 2001. 32p. (Relatório final de ações prioritárias ao desenvolvimento da pesca e aquicultura no Sul do Brasil).
- ATEMA, J. Structures and functions of the sense of taste in the catfish (*Ictalurus natalis*). *Brain Behav. Evol.*, v.4, p.273-294, 1971.
- BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ, J.N. *Criação de jundiá*. Santa Maria: UFSM, 2004. 232p.
- BOLETIM estatístico da pesca e aquicultura. [s.l.]: MPA, 2011. Disponível em: <[http://www.mpa.gov.br/files/docs/Boletim\\_MPA\\_2011\\_pub.pdf](http://www.mpa.gov.br/files/docs/Boletim_MPA_2011_pub.pdf)> Acessado em: 10 fev. 2016.
- BROGGI, J.A. *Hidrolisado proteico de sardinha (Clupeidae) como atrativo alimentar para o jundiá (Rhamdia quelen)*. 2014. 49f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC.
- BRUNTY, J.L.; BUCKLIN, R.A.; DAVIS, J. *et al.* The influence of feed protein intake on tilapia ammonia production. *Aquacult. Eng.*, v.16, p.161-166, 1997.
- BUI, H.T.D.; KHOSRAVI, S.; FOURNIER, V. *et al.* Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red sea bream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. *Aquaculture*, v.418-419, p.11-16, 2014.
- CAPRIO, J. High sensitive of catfish taste receptors to amino acids. *Comp. Biochem. Physiol.*, v.52, p.247-251, 1975.
- CHAKRABORTY, S.C.; CHAKRABORTY, S. Effects of dietary protein level on excretion of ammonia in Indian major carp, *Labeo rohita*, fingerlings. *Aquacult. Nutr.*, v.4, p.47-51, 1998.

- CHENG, Z.J.; HARDY, R.W.; USRY, J.L. Plant protein ingredients with lysine supplementation reduce dietary protein level in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets, and reduce ammonia nitrogen and soluble phosphorus excretion. *Aquaculture*, v.218, p.553-565, 2003.
- CHOTHIA, C. Structural invariants in protein folding. *Nature*, v.254, p.304-308, 1975.
- COSTA-BONFIM, C.N.; SILVA, V.A.; BEZERRA, R.S. et al. Growth, feed efficiency and body composition of juvenile cobia (*Rachycentron cadadum* Linnaeus, 1766) fed increasing dietary levels of shrimp protein hydrolysate. *Aquacult. Res.*, 2016. (In press).
- ENGIN, K.; CARTER, C.G. Ammonia and urea excretion rates of juvenile Australian short-finned eel (*Anguilla australis australis*) as influenced by dietary protein level. *Aquaculture*, v.194, p.123-136, 2001.
- EVANS, D.H.; CLAIBORNE, J.B.; CURRIE, S. *The physiology of fishes*. 4.ed. Boca Raton: CRC Press, 2013. 491p.
- ISMIÑO-ORBE, R.A.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; GOMES, L.C. Ammonia excretion by tambaqui (*Colossoma macropomum*) related to water temperature and fish mass. *Pesqui. Agropecu. Bras.*, v.38, p.1243-1247, 2003.
- KHOSRAVI, S.; BUI, H.T.D.; RAHIMNEJAD, S. et al. Dietary supplementation of marine protein hydrolysates in fish-meal based diets for red sea bream (*Pagrus major*) and olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, v.435, p.371-376, 2015.
- LIASET, B.; ESPE, M. Nutritional composition of soluble and insoluble fractions obtained by enzymatic hydrolysis of fish-raw materials. *Process Biochem.*, v.43, p.42-48, 2008.
- LIASET, B.; JULSHAMN, K.; ESPE, M. Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fractions from enzymic hydrolysis of salmon frames with Protamex. *Process Biochem.*, v.38, p.1747-1759, 2003.
- MEYER, G.; FRACALOSSO, D.M. Estimation of jundiá (*Rhamdia quelen*) dietary amino acid requirements based on muscle amino acid composition. *Scientia Agricola*, v.62, p.401-405, 2005.
- MING, F.W. Ammonia excretion rates an index for comparing efficiency of dietary protein utilization among rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, v.46, p.27-35, 1985.
- NILSEN, P.M.; PERTERSEN, D.; DAMBMANN, C. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Food Chem. Toxicol.*, v.66, p.642-646, 2001.
- OFFICIAL methods of analysis. Arlington: AOAC, 1994. 1298p.
- REFSTIE, S.; OLLI, J.J.; STANDAL, H. Feed intake, growth, and protein utilization by post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. *Aquaculture*, v.239, p.331-349, 2004.
- SKALLI, A.; ZAMBONINO-INFANTE, J.L.; KOTZAMANIS, Y. et al. Peptide molecular weight distribution of soluble protein fraction affects growth performance and quality in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquacult. Nutr.*, v.20, p.118-131, 2014.
- STANDARD methods for the Examination of Water and Wastewater. New York: APHA-AWWA-WPCF, 2012. 1496p.
- WOSNIAK, B. *Efeito de diferentes tipos de hidrolisado de sardinha (Clupeidae), sobre o desempenho de juvenis de jundiá (Rhamdia quelen)*. 2015. 43f. (Mestrado em Ciência Animal) - Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC.
- WRIGHT, P.A.; WOOD, C.M. A new paradigm for ammonia excretion in aquatic animals: role of Rhesus (Rh) glycoproteins. *J. Exp. Biol.*, v.212, p.2303-2312, 2009.
- YP, Y.K.; CHEW, S.F. Ammonia production, excretion, toxicity, and defense in fish: a review. *Front. Physiol.*, v.1, p.1-20, 2010.
- ZHENG, K.; XU, T.; QIAN, C. et al. Effect of low molecular weight fish protein hydrolysate on growth performance and IGF-I expression in Japanese flounders (*Paralichthys olivaceus*) fed high plant protein diets. *Aquacult. Nutr.*, v.20, p.372-380, 2013.