

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

THAÍS PEREIRA DA CRUZ

**DESEMPENHO PRODUTIVO, PERFIL DE AMINOÁCIDOS  
PLASMÁTICOS EM TILÁPIAS DO NILO ALIMENTADAS COM DIETAS  
COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AMINOÁCIDOS  
CRISTALINOS**

PONTA GROSSA

2020

THAÍS PEREIRA DA CRUZ

**Desempenho produtivo, perfil de aminoácidos plasmáticos em tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes concentrações de aminoácidos cristalinos**

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Ponta Grossa - Área de concentração: Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

Co-orientadores: Prof. Dr. Aires Oliva-Teles

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Helena Peres

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Viviane Nogaroto Vicari

PONTA GROSSA

2020

C957 Cruz, Thaís Pereira da  
Desempenho produtivo, perfil de aminoácidos plasmáticos em tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes concentrações de aminoácidos cristalinos / Thaís Pereira da Cruz. Ponta Grossa, 2020.  
60 f.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia - Área de Concentração: Produção Animal), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya.

Coorientadora: Profa. Dra. Helena Peres.

Coorientador: Prof. Dr. Aires Oliva-teles.

1. Aminoácidos cristalinos. 2. Aminoácidos plasmáticos. 3. Absorção pós-pandrial. I. Furuya, Wilson Massamitu. II. Peres, Helena. III. Oliva-teles, Aires. IV. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Produção Animal. V.T.

CDD: 639.3



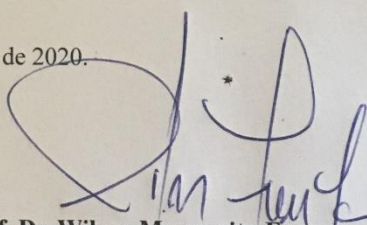
## TERMO DE APROVAÇÃO

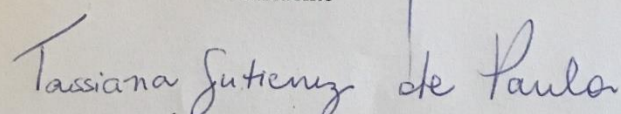
Thaís Perejra Cruz

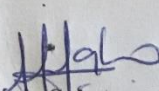
**“Desempenho Produtivo, Perfil de aminoácidos plasmáticos em tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes concentrações de aminoácidos cristalinos”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Zootecnia – Mestrado em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias e Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, no dia 10 de fevereiro de 2020, pela seguinte banca examinadora:

Ponta Grossa, 10 de fevereiro de 2020.

  
**Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya – UEPG**  
Presidente

  
**Profa. Dra. Tassiana Gutierrez de Paula – UNESP**  
Membro Externo

  
**Profa. Dra. Ana Lúcia Salaro – UFV/MG**  
Membro Externo

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida;

À minha família, que sempre me apoiou em todos os momentos, e não mediu esforços para que o mestrado fosse realizado;

À minha mãe e minha avó, que são meus maiores exemplos de força, determinação, garra e amor;

Ao meu noivo, que sempre me apoiou e cuidou durante a graduação e mestrado. Sempre me incentivando a ser uma pessoa melhor, estando comigo em todos os momentos, bons ou ruins. Por ser meu alicerce e meu amor;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya, por ser um exemplo de dedicação ao trabalho, ensinamentos passados a todos seus orientados, incentivos e amizade. Muito obrigada pela honra da orientação;

À Universidade Estadual de Ponta Grossa- UEPG e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia;

Agradeço aos membros do grupo de pesquisa GPA- *Fish Nutrition*, pela amizade, companheirismo e aprendizagens mútuas. Por toda a ajuda no período experimental e análises realizadas;

À Dr<sup>a</sup> Helena Peres, e Dr. Aires Oliva-Teles e Viviane Nogaroto Vicari pela coorientação;

À Dr<sup>a</sup> Mariana Michelato, por ser meu maior exemplo na vida acadêmica, por todo o apoio, cuidado, preocupação, ensinamentos, e acima de tudo, irmandade.

À Dr<sup>a</sup> Maeli Dal-Pai e Dr<sup>a</sup> Tassiana Gutierrez de Paula (UNESP, Botucatu, SP), pela ajuda com as análises genéticas;

À CAPES, pelo auxílio financeiro da bolsa de mestrado;

À Ajinomoto, pelo auxílio com as análises de aminoácidos plasmáticos;

À todos que de alguma forma contribuíram para que tudo se tornasse realidade.

OBRIGADA

*“Lutem e lutem mais, até cordeiros virarem leões”*

**Robin Hood**

## RESUMO

O interesse na suplementação de dietas com aminoácidos cristalinos vem aumentando com a utilização de dietas com ingredientes proteicos de origem vegetal vegetais para tilápias, visando melhorar o valor nutritivo da dieta, otimizando a eficiência proteica, conseqüentemente melhorando o crescimento dos peixes. O presente estudo objetivou avaliar o desempenho produtivo e perfil de aminoácidos plasmáticos de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes concentrações de aminoácidos cristalinos. Três dietas com 423 g kg<sup>-1</sup> de proteína bruta e 3600 kcal kg<sup>-1</sup> de energia digestível foram elaboradas para atender às exigências de juvenis de tilápia do Nilo, à base de proteína da farinha de peixe sem suplementação de aminoácidos cristalinos (ALP), 12% de proteína bruta (PB) de aminoácidos cristalinos (AC12) e 24% da PB de aminoácidos cristalinos (AC24). Foi adicionado bicarbonato de sódio nas dietas AC12 e AC24 para ajuste do pH a 7,0. Foram distribuídos 360 (peso inicial 4,3 ± 0,1g) juvenis de tilápia do Nilo, em sistema de recirculação, com 24 aquários de 70 L, com 15 peixes cada. Os peixes foram alimentados manualmente, seis vezes ao dia, por oito semanas. Em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e oito repetições. Para o perfil de aminoácidos plasmáticos, os dados foram analisados usando delineamento em esquema fatorial 3 x 6, com três dietas (ALP, AC12 e AC24) e seis tempos (0; 60; 120; 240; 480 e 960 min pós-alimentação) de coleta. Os peixes alimentados com a dieta ALP e AC12 apresentaram maior peso final, ganho de peso, taxa de crescimento, taxa de eficiência proteica e conversão alimentar, em relação aos peixes que consumiram a dieta AC24. Houve interação entre dieta e tempo para o nível plasmático de metionina e treonina. Peixes alimentados com dieta AC24 apresentaram pico plasmático de metionina com 240 min pós-alimentação, enquanto o pico de metionina em peixes alimentados com as dietas ALP e AC12 ocorreu posteriormente, com 480 min. Peixes que receberam a dieta AC24 apresentaram pico de treonina 120 min após alimentação, enquanto o pico de treonina no plasma ocorreu com 240 min em peixes alimentados com as dietas ALP e AC12. O nível de lisina foi maior nos peixes alimentados com a dieta AC24, em comparação com o nível plasmático nos peixes alimentados com as dietas ALP e AC12. Ao usar o tempo pós-alimentação como critério de resposta, a análise de regressão quadrática estimou os picos de arginina e lisina plasmática em 532 e 527,5 min, respectivamente. Concluiu-se que a suplementação de aminoácidos cristalinos em até 12% da PB se equivale em desempenho produtivo, e retenção de aminoácidos ao desempenho de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com a dieta sem adição de aminoácidos cristalinos. A dieta com 24% de proteína derivada de aminoácidos cristalinos resulta em assincronia na utilização de aminoácidos, prejudicando a retenção de aminoácidos e, conseqüentemente, o desempenho produtivo dos peixes.

**PALAVRA-CHAVE:** Aminoácidos cristalinos, Aminoácidos plasmáticos, Absorção pós-prandial.

## ABSTRACT

Crystalline amino acids have been emerging in plant-based diets for tilapias to improve the nutritive value and consequently optimize feed efficiency and growth of fish. The present study aimed to evaluate the productive performance and plasma amino acid profile of Nile tilapia juveniles fed different concentrations of crystalline amino acids. Three diets with 423 g kg<sup>-1</sup> of crude protein and 3600 kcal kg<sup>-1</sup> of digestible energy were designed to meet the requirements of juvenile Nile tilapia, based on fishmeal protein without crystalline amino acid (ALP) supplementation, 12% crude protein (CP) of crystalline amino acids (AC12) and 24% of CP of crystalline amino acids (AC24). Sodium bicarbonate was added to the AC12 and AC24 diets to adjust the pH to 7.0. 360 (initial weight 4.3 ± 0.1g) juveniles of Nile tilapia were distributed in a recirculation system, with 24 aquariums of 70 L, with 15 fish each. The fish were fed manually, six times a day, for eight weeks. In a completely randomized design, with three treatments and eight repetitions. For the plasma amino acid profile, data were analyzed using a 3 x 6 factorial design, with three diets (ALP, AC12 and AC24) and six times (0; 60; 120; 240; 480 and 960 min post-feeding) collection. Fish fed the ALP and AC12 diet had higher final weight, weight gain, growth rate, protein efficiency rate and feed conversion, compared to fish that consumed the AC24 diet. There was an interaction between diet and time for the plasma level of methionine and threonine. Fish fed the AC24 diet showed plasma methionine peak at 240 min post-feed, while the methionine peak in fish fed the ALP and AC12 diets occurred later at 480 min. Fish that received the AC24 diet showed a threonine peak 120 min after feeding, while the plasma threonine peak occurred at 240 min in fish fed the ALP and AC12 diets. The level of lysine was higher in fish fed the AC24 diet, compared to the plasma level in fish fed the ALP and AC12 diets. Using post-feeding time as a response criterion, the quadratic regression analysis estimated the peaks of plasma arginine and lysine at 532 and 527.5 min, respectively. It was concluded that supplementation of crystalline amino acids in up to 12% of CP is equivalent to productive performance, and retention of amino acids to the performance of Nile tilapia juveniles fed the diet without the addition of crystalline amino acids. The diet with 24% protein derived from crystalline amino acids results in asynchrony in the use of amino acids, impairing the retention of amino acids and, consequently, the productive performance of the fish.

**KEY WORDS:** Crystalline amino acids, Plasmatic amino acids, Post-prandial absorption.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Estrutura geral de um aminoácido. O grupo R, ou cadeia lateral (roxo), ligado ao carbono  $\alpha$  (cinza) é diferente em cada aminoácido.....15
- Figura 2** – Classificação dos aminoácidos.....17
- Figura 3** – Taxa instantânea de crescimento (TIC) e retenção de nitrogênio (RN) de juvenis de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com aminoácidos ligados à proteína (ALP), 12% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos (AC12) e 24% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos (AC24). Barras representam erro padrão médio de oito aquário com 15 peixes cada. Letras diferentes representam diferenças pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ) .....50
- Figura 4** – Concentração plasmática de arginina e lisina após alimentação de juvenis de tilápias do Nilo alimentados com dietas com aminoácidos ligados à proteína dos alimentos (ALP), dieta com 12% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos (AC12) e dieta com 24% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos (AC24). Barras representam erro padrão médio de oito aquário com 15 peixes cada. Foram utilizados polinômios ortogonais avaliar respostas linear e quadrática aos níveis de aminoácidos plasmáticos em diferentes tempos e alimentados com as dietas com diferentes concentrações de aminoácidos cristalino.....57

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Formulação e composição das dietas experimentais (g kg <sup>-1</sup> ).....	44-45
<b>Tabela 2</b> –Formulação e composição dos aminoácidos (g kg <sup>-1</sup> ) das dietas experimentais.....	46
<b>Tabela 3</b> - Desempenho de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos <sup>a</sup> .....	49
<b>Tabela 4-</b> Composição corporal (g 100 g <sup>-1</sup> ) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos <sup>a</sup> .....	51
<b>Tabela 5</b> – Composição corporal de aminoácidos (g kg <sup>-1</sup> ) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos <sup>a</sup> .....	52
<b>Tabela 6-</b> Retenção de aminoácidos (%) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos <sup>a</sup> .....	53
<b>Tabela 7-</b> Aminoácidos plasmáticos (nmol mL <sup>-1</sup> ) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos <sup>a</sup> .....	55-56

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>10</b>
1. INTRODUÇÃO.....	10
1.1. TILÁPIA DO NILO.....	11
1.2. INGREDIENTES DE ORIGEM VEGETAL E ANIMAL.....	11
1.3. PROTEÍNAS E AMINOÁCIDOS.....	13
1.4. DIGESTÃO E METABOLISMO DE PROTEÍNAS E AMINOÁCIDOS.....	17
1.5. AMINOÁCIDOS CRISTALINOS.....	21
REFERÊNCIAS.....	24
<b>CAPÍTULO 2 – DESEMPENHO PRODUTIVO E PERFIL DE AMINOÁCIDOS PLASMÁTICOS EM TILÁPIAS DO NILO ALIMENTADAS COM DIETAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE AMINOÁCIDOS CRISTALINOS.....</b>	<b>31</b>
RESUMO.....	32
ABSTRACT.....	33
2.1.INTRODUÇÃO.....	34
2.2.MATERIAL E MÉTODOS.....	35
2.2.1.Peixes e Condições Experimentais.....	35
2.2.2.Dietas.....	35
2.2.3.Coleta de amostras.....	39
2.2.4. Desempenho.....	39
2.2.5. Análises Químicas.....	40
2.2.6.Análises Estatística.....	40
2.3. RESULTADOS.....	41
2.3.1.Desempenho produtivo.....	41
2.3.2.Composição corporal e perfil de aminoácidos.....	43
2.3.3.Aminoácidos plasmáticos.....	46
2.4.DISSCUSSÃO.....	50
2.5.CONCLUSÕES.....	54
REFERENCIAS.....	55
<b>CAPÍTULO 3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>60</b>

## CAPÍTULO 1

### REVISÃO DE LITERATURA

#### 1. INTRODUÇÃO

A aquicultura alcança avanços no cenário global, em sistemas de produção que visam a qualidade e eficiência de manejo, produtividade, além da produção de peixes de qualidade e com menor custo (PEIXEBR, 2019). Com relação a produção de pescado no ano de 2019, 80 milhões de toneladas referem-se a peixes advindos da aquicultura, com crescimento de 60% de 2007 a 2017, enquanto 92 milhões de toneladas referem – se a peixes de captura. Estima-se que em 2020, a criação de peixes ultrapassará os peixes capturados mundialmente (FAO, 2018).

Várias espécies de peixes são exploradas economicamente na aquicultura mundial. No ranking mundial das espécies de água doce mais criadas, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) está em segundo lugar. O Brasil é o quarto produtor global de tilápias, sendo o grupo de peixes mais utilizado na piscicultura (PEIXEBR, 2019). Na alimentação de tilápias, destaca-se o farelo de soja e derivados, como principal fonte proteica de origem vegetal (GONÇALVES *et al.*, 2008).

Ingredientes de diferentes origens, animal e vegetal, têm sido empregados na alimentação de tilápias. Fontes proteicas de origem animal têm sido substituídas por fontes proteicas de origem vegetal, pois são mais econômicas e menos poluentes, devido a menor excreção de nitrogênio no ambiente (GATLIN *et al.*, 2007). Entretanto, ingredientes de origem vegetal apresentam limitações de alguns aminoácidos essenciais, como lisina, metionina e treonina (CARVALHO *et al.*, 2008). Pesquisas recentes evidenciam a importância da utilização de aminoácidos cristalinos, em dietas com base em alimentos de origem vegetal (GATLIN *et al.*, 2007). A limitação de alguns aminoácidos nas fontes proteicas vegetais pode ser suprida com a adição de aminoácidos cristalinos (AMBARDEKAR; REIGH; WILLIAMS, 2009).

Estudos sugerem que a adição aminoácidos cristalinos, pode interferir no pico de absorção de aminoácidos plasmáticos, eficiência proteica, retenção de aminoácidos e composição corporal dos peixes (MURAI *et al.*, 2011; AMBARDEKAR; REIGH; WILLIAMS, 2009). Sendo assim, é necessário que sejam feitos mais estudos avaliando a adição de aminoácidos cristalinos, para compreender sua absorção, e consequências no desempenhos.

## 1.1. TILÁPIA DO NILO

A aquicultura alcança avanços no cenário global, em sistemas de produção que visam a qualidade e eficiência de manejo, produtividade, além da produção de peixes de qualidade e com menor custo (PEIXEBR, 2019). Com relação a produção de pescado no ano de 2019, 80 milhões de toneladas referem-se a peixes advindos da aquicultura, com crescimento de 60% de 2007 a 2017, enquanto 92 milhões de toneladas referem – se a peixes de captura. Estima-se que em 2020, a criação de peixes ultrapassará os peixes capturados mundialmente (FAO, 2018).

As tilápias são o segundo grupo de peixes de água doce mais criada mundialmente, ficando atrás apenas das carpas, principalmente carpa-capim (*Ctenopharyngodon idellus*); carpa-prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) e carpa comum (*Cyprinus carpio*) (FAO, 2018). O Brasil ocupa a 4ª posição na tilapicultura mundial. A produção brasileira de tilápias atingiu 400.280 toneladas em 2018, um aumento de 11,9% em relação a 2017 com 357.639 toneladas. O estado do Paraná foi o maior produtor de tilápias, com uma produção de 123.000 toneladas em 2018 (PEIXEBR, 2019).

Originárias da África, Jordão e Israel, com cerca de 70 espécies identificadas, as tilápias fazem parte da família Cichlidae (MCANDREW, 2000). A primeira espécie a ser introduzida no Brasil foi a tilápia do Congo (*Tilapia rendalli*). Posteriormente, a tilápia de Zanzibar (*Oreochromis urolepis hornorum*), e a tilápia do Nilo, em 1971 (ZIMMERMANN; FITZSIMMONS, 2004).

Há linhagens geneticamente adaptadas as condições de criação no Brasil. A tilápia Tailandesa, no Brasil desde 1996, registrada como Supreme Tilápia Aquabel (SCORVO-FILHO *et al.*, 2010). A tilápia do Nilo, de hábito alimentar onívoro, consome ração desde a fase larval, tem rápido crescimento, maturação sexual tardia, carne magra, sem espinho em “Y” e apresenta ótima capacidade de utilização de ingredientes de origem animal e vegetal (VANNUCCINI, 1999; PEZZATO *et al.*, 2002). A capacidade de utilização e aproveitamento dos ingredientes de origem vegetal, deve-se a adaptações morfofisiológicas, como dentes faríngeos, pH estomacal ácido e intestino longo (PEZZATO *et al.*, 2002).

## 1.2. INGREDIENTES DE ORIGEM VEGETAL E ANIMAL

Proteína é o principal constituinte corporal dos peixes (PEZZATO *et al.*, 2002). As proteínas são exigidas com dois objetivos principais para o organismo, como manutenção e crescimento (ROUBACH *et al.*, 2002). Para atender a elevada exigência dietética de proteína,

as fontes proteicas como farinha de peixe, farinha de carne e ossos, farinha de sangue, farinha de penas, glúten de trigo, farinha de cevada, concentrados proteico e farelo de soja são os ingredientes proteicos mais utilizados na alimentação de peixes (KOCH *et al.*, 2016).

A farinha de peixe é um coproduto obtido da produção e captura de peixes (TACON; METIAN, 2008). Possui alto teor proteico, bom perfil de aminoácidos, alta digestibilidade, palatabilidade e ausência de fatores antinutricionais (MILES; CHAPMAN, 2018). Nos últimos quarenta anos, a utilização da farinha de peixe tem sofrido algumas mudanças. No ano de 1998, 80% da produção mundial de farinha de peixe foi destinada a alimentação de aves e suínos, e 10% para a aquicultura. Após 10 anos, 39,2% foi destinado a aves e suínos, e 60,8% destinado a aquicultura (RAHIMNEJAD *et al.*, 2019).

Dentre as fontes proteicas de origem vegetal, a opção com maior disponibilidade, é a soja (GATLIN *et al.*, 2007). O grão de soja possui cerca de 24% de proteína bruta, bom balanço de aminoácidos e alto teor lipídico. Porém, o grão de soja *in natura*, apresenta fatores antinutricionais para peixes, como a tripsina, saponinas, lectinas e fitatos (PEZZATO *et al.*, 2002). Estudos comprovam que dietas com soja *in natura* como principal fonte proteica, apresentam redução no consumo e digestibilidade, o que se deve a fatores antinutricionais (SANTOS *et al.*, 2010).

Visando maximizar utilização da soja como fonte proteica nas dietas, tem-se realizado vários processamentos para aproveitamento de coprodutos livres ou valores reduzidos de fatores antinutricionais, com alto teor proteico e baixo custo. Destacam-se o farelo de soja e o concentrado proteico (GATLIN *et al.*, 2007). O farelo de soja, é o resíduo da extração de óleo do grão de soja. Possui cerca de 45% de proteína bruta, bom perfil de aminoácidos e baixo custo, o que favorece sua utilização nas dietas. Porém, sua utilização é limitada devido a presença de fatores antinutricionais resistentes ao tratamento térmico durante a obtenção do farelo de soja, além da limitação de aminoácidos essenciais, como a metionina (SANTOS *et al.*, 2010).

O concentrado proteico pode ser obtido de três formas: lixiviação com água, desnaturação e lixiviação com álcool. A presença de fatores antinutricionais, se deve ao tipo de processamento utilizado, como por exemplo, as saponinas são ausentes no concentrado proteico obtido por meio de lixiviação alcoólica (DENG *et al.*, 2006).

Outras alternativas de ingredientes proteicos de origem vegetal para peixes são o glúten de milho e glúten de trigo (TUSCHE *et al.*, 2012; KHALIFA *et al.*, 2018). Possuem 60 a 70% de proteína bruta, respectivamente, ausência de fatores antinutricionais, porém, possuem quantidades limitantes de lisina, para peixes (FURUYA *et al.*, 2005; GATLIN *et al.*, 2007).

A substituição da farinha de peixe em dietas para peixes, é viável e desejável dos pontos de vista ambiental e socioeconômico (KOCH *et al.*, 2016). Porém, ainda há limitações na utilização de ingredientes como, farelo de soja e concentrados proteicos, devido a limitação de aminoácidos como metionina e lisina (GATLIN *et al.*, 2007). A correta associação de fontes proteicas de origem animal e vegetal formam um alimento completo nutricionalmente, devido a complementação de aminoácidos. Ainda assim, os ingredientes utilizados na formulação de dietas para peixes, apresentam diferentes níveis de proteína e aminoácidos, podendo ocorrer deficiências de aminoácidos. Sendo assim, os aminoácidos cristalinos auxiliam para um bom desempenho dos peixes (NRC, 2011).

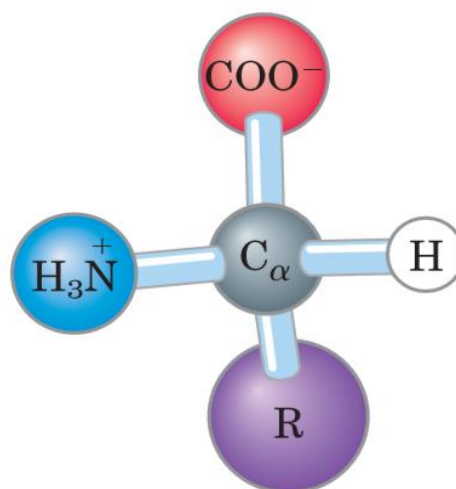
### 1.3. PROTEÍNAS E AMINOÁCIDOS

Proteínas são macromoléculas, formadas por sequências de 20 aminoácidos, e possuem várias funções no metabolismo animal (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000). Entre elas, a formação do DNA, elementos estruturais como colágeno, elastina, queratina, contração muscular, fonte de aminoácidos, transporte de gorduras, vitaminas e minerais, enzimas, hormônios, sistema imune, além de poder ser utilizada como fonte alternativa de fornecimento de energia, através da oxidação de aminoácidos (SILVA; COSTA; LIMA, 2014).

Quatro níveis estruturais da proteína são comumente definidos. A estrutura primária, inclui todas as ligações peptídicas e dissulfeto, formando uma cadeia polipeptídica (WU *et al.*, 2004). A estrutura secundária, é definida por arranjos estáveis de resíduos de aminoácidos, que formam padrões estruturais recorrentes. A estrutura terciária, é formada pelo enovelamento tridimensional polipeptídico. A estrutura quaternária, é formada quando uma proteína tem duas ou mais subunidades polipeptídicas (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000).

As unidades fundamentais das proteínas são os aminoácidos, definidos como substâncias que contêm um grupo amino e um grupo carboxil. Diferem-se em duas cadeias laterais (grupo R), que variam em tamanho, estrutura e carga. O grupo R pode ser apolar (alanina, valina, leucina, isoleucina, glicina, metionina e prolina); polar (serina, treonina, cisteína, asparagina e glutamina); aromático (fenilalanina, tirosina e triptofano); carregado positivamente (lisina, arginina e histidina) e carregado negativamente (aspartato e glutamato) (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000).

**Figura 1** - Estrutura geral de um aminoácido. O grupo R, ou cadeia lateral (roxo), ligado ao carbono  $\alpha$  (cinza) é diferente em cada aminoácido.



Fonte: (LEHNINGER, NELSON, COX, 2000).

Existem cerca de 700 aminoácidos na natureza, porém, apenas 20 aminoácidos participam da formação de proteínas (WU, 2013). Quando duas moléculas de aminoácidos ligam-se de modo covalente, são denominadas ligações peptídicas. Os termos “polipeptídeo” e “proteína” são utilizados com o mesmo intuito, porém, os polipeptídeos possuem menor massa molecular, enquanto que as proteínas possuem massas moleculares mais elevadas. Todos os 20 aminoácidos, são  $\alpha$ -aminoácidos pois possuem um grupo carboxila e um grupo amina ligados ao carbono  $\alpha$ . Além de que, todos os aminoácidos possuem nomes comuns, ou derivados da fonte que foram primeiramente isolados. Por exemplo, asparagina-asparago; glutamato-glúten (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000).

O primeiro aminoácido de cadeia ramificada a ser descoberto por J. L. Proust, em 1819, foi o ácido  $\alpha$ -aminoisocapróico, a partir do queijo, conhecido como L-leucina. Ácido  $\alpha$ -aminoisovalerico, L- valina, foi isolado de extratos de tecidos animais como fígado, pulmão, pâncreas e foi o segundo aminoácido de cadeia ramificada a ser descoberto, por E. von Gorup-Besanez, em 1856. Após ser reconhecido como um dos aminoácidos que compõe as proteínas, o ácido  $\alpha$ -aminopropionico, L-alanina, foi o primeiro a ser isolado através da síntese química por A. Strecker, em 1850. Sua estrutura e configuração, foram estabelecidos em 1901 a partir de sua conversão em ácido láctico (WU, 2013).

Descoberto por J. H. Mueller em 1922, o ácido- $\alpha$ -amino- $\gamma$ -metilbutirico, L-metionina, um aminoácido sulfurado, foi obtido a partir do hidrolisado ácido de caseína. O ácido pirrolidina-2-carboxílico, L-prolina, foi o segundo aminoácido a ser obtido a partir da síntese



química, por R. Willsätter em 1900. Posteriormente, foi descoberto que a L-prolina é encontrada em proteínas extracelulares e colágeno. O ácido aminoacético, L-glicina, foi primeiramente isolado a partir da hidrólise ácida de gelatina, pelo francês H. Braconnot, em 1820. Sua estrutura foi estabelecida por A. Cahours em 1857, e após um ano, sintetizada quimicamente a partir de amônia e ácido monocloroacético (WU, 2013).

Obtido primeiramente da preparação de caseína pura, o ácido  $\alpha$ -amino- $\beta$ -(p-hidroxifinil), L-tirosina, foi descoberto por J. von Liebig, em 1846. Sua estrutura foi bem estabelecida por E. Enlenmeyer e A. Lipp em 1883, e foi o primeiro aminoácido aromático a ser descoberto. O ácido  $\alpha$ -amino- $\beta$ -3-indolepropionico, L-triptofano foi descoberto por F. G. Hopkins e S. W. Cole, em 1901, a partir da digesta pancreática da caseína. Cinquenta anos após sua descoberta, alguns de seus metabolitos foram encontrados em animais, pelo químico alemão J. von Liebig em 1853. O ácido  $\alpha$ -amino- $\beta$ -fenilpropionico, L-fenilalanina, foi obtida de brotos de tremoço, e teve sua estrutura estabelecida por E. Schulze e J. Barbieri, em 1879 (WU, 2013).

A L-lisina, ácido  $\alpha$ -amino- $\epsilon$ -diaminocaproico, foi descoberto como sendo uma substância alcalina no hidrolisado de caseína. A lisina cristalina foi preparada pela primeira vez por dois químicos americanos, H. B. Vickery e C. S. Leavenworth, em 1928. A L-arginina, ácido 2-amino-5-guanidinovalérico, foi extraído de sementes de tremoço, por E. Schulze e E. Steiger, em 1886. O ciclo da ureia (ciclo da ornitina) descrito por H. A. Krebs e K. Henseleit em 1932, mostra o importante papel da arginina nessa via metabólica. A L-histidina, ácido  $\alpha$ -amino- $\beta$ -imidazolpropionico, foi descoberto por A. Kossel, em 1896. Sua estrutura contém um anel imidazol, o qual foi descoberto por H. Pauly em 1904 e confirmado através de sínteses químicas por F. L. Pyman, em 1911 (WU, 2013).

Composto sulfurado da redução da cistina, o ácido  $\alpha$ -amino- $\beta$ -mercaptopropionico, a L-cisteína foi descoberta por W. H. Wollaston e E. Baumann. O ácido  $\alpha$ -amino-glutaramico, L-glutamina, descoberto por E. Schulze e E. Bosshard, em 1883, como um aminoácido livre no suco de beterraba. Neptune descobriu que amostras ileais de vários animais (porco, hamster, macaco, coelho e rato) apresentam alto teor de oxidação de glutamina. Graças a tal descoberta, uma nova era na nutrição e pesquisas com glutamina em animais e humanos começou. O ácido  $\alpha$ -amino- $\beta$ -hidroxipropionico, L-serina, foi descoberto por E. Cramer, em 1865, a partir do hidrolisado da proteína de seda, chamado serina. O mesmo pesquisador determinou a composição da serina e descobriu ser similar a L-alanina. Em 1931, F. S. Daft e R. D. Coghill, descobriram que a L-serina era altamente instável em soluções alcalinas, abrindo caminho para a otimização de análises de aminoácidos na proteína (WU, 2013).

O último aminoácido que compõe as proteínas a ser descoberto, a L-treonina, foi descoberto por S. B. Schryver e H. W. Buston, em 1925, pela extração da proteína de trigo. Rose e colaboradores identificaram a L-treonina como sendo um componente da hidrólise ácida da caseína. O que tornou possível a preparação de dietas contendo aminoácidos purificados ou semipurificados para utilização em pesquisas de nutrição (WU, 2013).

**Figura 2** – Classificação dos aminoácidos.



Fonte: (WU, 2009).

Quanto a sua classificação e exigência dietética, os aminoácidos são classificados como nutricionalmente essenciais, não essenciais e condicionalmente essenciais. Aminoácidos essenciais são aqueles que não são sintetizados, ou são sintetizados em quantidades insuficientes em relação a exigência do animal. Aminoácidos condicionalmente essenciais, são sintetizados em quantidades suficientes em situações normais, porém, em condições de doenças ou reprodução, por exemplo, devem ser fornecidos na dieta, uma vez que a taxa de utilização é maior que a taxa de síntese. Os aminoácidos não-essenciais, são sintetizados adequadamente para atender as exigências dietéticas (WU, 2009).

Peixes possuem exigências de aminoácidos e peptídeos, ao invés de proteínas. Todas as células exigem constante fornecimento de aminoácidos a fim de, atender suas demandas metabólicas. Dessa forma, há necessidade de compreender qual é a capacidade absorptiva de cada aminoácido, para que as dietas atendam às exigências de aminoácidos (AMBARDEKAR;

REIGH; WILLIAMS, 2009). O balanço entre o perfil de aminoácidos essenciais, e os exigidos para o crescimento e manutenção dos animais determina a eficiência proteica e o crescimento (PERES; OLIVA-TELES, 2006). Dietas elaboradas somente com aminoácidos essenciais, são utilizadas menos eficientemente que dietas com aminoácidos essenciais e aminoácidos não essenciais em frangos, suínos e peixes (FURUYA *et al.*, 2005).

#### 1.4. DIGESTÃO E METABOLISMO DE PROTEÍNAS E AMINOÁCIDOS

A digestão é definida como a desintegração química dos alimentos no trato digestivo em moléculas menores para melhor absorção. O termo “digestibilidade de aminoácidos”, refere-se a hidrólise de proteína em peptídeos e aminoácidos livres, na região luminal do intestino delgado (BRODERICK; WALLACE; ØRSKOV, 1991). A absorção, é a movimentação dos produtos advindos do lúmen, que são absorvidos na mucosa intestinal. Alguns produtos da digestão proteica são metabolizados na mucosa, e outros são absorvidos pelo sistema vascular (WU, 2013).

A vantagem do aumento das microvilosidades, é o aumento da área de absorção. A absorção de nutrientes pode ocorrer de três maneiras. Primeiramente, os nutrientes entram no enterócito através de transportadores, na membrana apical e saem pela membrana basolateral, para a circulação portal. A segunda maneira, os nutrientes movem-se através das junções finas, e saem pelos espaços laterais dos enterócitos. O terceiro modo, as macromoléculas intactas, podem ser absorvidas pelas células epiteliais do intestino delgado, e saem pela membrana basolateral (WU, 2013).

A digestão proteica tem início no estômago. Quando o alimento chega ao estômago, ocorrem estímulos químicos e mecanorreceptores que enviam sinais, via nervo vago, que estimulam as células G, presentes na mucosa estomacal, a secretar gastrina. A gastrina atua nas células principais e nos enterocromafins-like (ECL), que estimulam a secreção de ácido clorídrico (HCl) e histamina, respectivamente, potencializando a produção de HCl pelas células principais. Simultaneamente, a gastrina estimula a secreção de uma endopeptidase, produzida na glândula pilórica, a pepsina (WU, 2013).

Com o estímulo da gastrina, as células principais presentes na mucosa estomacal, secretam pepsinogênio, que necessita ser ativado pelo HCl, à pepsina. A ativação ocorre por meio da quebra das ligações peptídicas de 42 resíduos aminoacídicos, presentes na extremidade NH<sup>2</sup>, a qual bloqueia o centro ativo enzimático. Posteriormente, a pepsina se auto ativa em um processo chamado autocatálise, enquanto o pH se mantém entre 2 a 3,5; pois a mesma torna-se

inativa em pH superior a 6,0. Até que se inicie o processo de esvaziamento gástrico, tais estímulos e a secreção de HCl permanecem (SILVA; COSTA; LIMA, 2014).

Quando o quimo deixa o estomago, inicia-se a secreção de enterogastrona pela mucosa intestinal, a qual inibe a secreção de HCl, no estomago. Paralelamente, o nível elevado de HCl provoca um feedback negativo nas células D da mucosa estomacal, que sofrem estímulos para produzir somatostatina. A somatostatina age sobre as células G, inibindo a secreção de gastrina. Tais estímulos desencadeados para a secreção das enzimas digestivas denotam o caráter de urgência da digestão proteica, afirmando a importância da proteína no organismo animal, não podendo ser substituída por outros nutrientes (SILVA; COSTA; LIMA, 2014).

A pepsina, uma endopeptidase com ampla especificidade, apresenta maior afinidade por ligações peptídicas envolvendo um grupo carboxila de aminoácidos aromáticos (L-fenilalanina, L-triptofano e L-tirosina), e menor afinidade por ligações peptídicas envolvendo L-leucina e resíduos ácidos. Dessa forma, se reconhece que a pepsina contribui com 10 a 15% da digestão proteica total. Sendo assim, a digestão estomacal tem como principal função a quebra de cadeias proteicas em polipeptídeos, e pode gerar oligopeptídeos e aminoácidos livres (D'MELLO, 2003).

Durante a fase intestinal da digestão, os zimógenos das proteases tripsina, quimotripsina e procarboxipeptidases A e B são sintetizados. As endopeptidases atuam na clivagem do interior da cadeia, o que produz vários oligopeptídeos. A tripsina cliva ligações entre L-lisina e L-arginina. A quimotripsina, hidrolisa ligações de aminoácidos aromáticos, o L-triptofano, L-fenilalanina e L-tirosina. A elastase cliva ligações entre aminoácidos alifáticos como a L-valina, L-leucina e L-iso-leucina. As exopeptidases clivam a proteína pelas ligações das extremidades carboxi-terminal. A carboxipeptidase A, cliva ligações de aminoácidos aromáticos como L-alanina, L-iso-leucina, L-leucina, DL-metionina, L-fenilalanina, L-prolina, L-triptofano e L-valina. A carboxipeptidase B, cliva ligações de aminoácidos básicos, L-arginina e L-lisina (D'MELLO, 2003).

Na fase luminal da digestão intestinal, o quimo que chega do estomago está ácido e estimula a secreção de secretina, que estimulam a secreção de bicarbonato, o qual neutraliza o pH da digesta ácida, tornando o ambiente favorável para ativação e ação das enzimas pancreáticas, estimuladas pela colecistoquinina. Os fluídos pancreáticos, contêm os zimógenos tripsinogênio, quimotripsinogênio, proelastase e procarboxipeptidase A e B. Para que ocorra a ativação dos zimógenos, a mucosa intestinal secreta endopeptidases, que ativam o tripsinogênio à tripsina. A tripsina se auto ativa, além de ativar outros zimógenos, como a quimotripsina, elastase e carboxipeptidase A e B (GUYTON; HALL, 2011).

As carboxipeptidases rompem ligações peptídicas próximas ao terminal carboxila, enquanto que, as aminopeptidases clivam ligações peptídicas próximas ao terminal amino. Os produtos resultantes das clivagens das ligações peptídicas realizadas pelas carboxipeptidases e aminopeptidases, são polipeptídeos, oligopeptídeos ou aminoácidos livres. Quando a quimotripsina e elastase hidrolisam aminoácidos aromáticos e apolares com ligações carboxil-terminal, são clivados pela carboxipeptidase A. Quando a tripsina expõe aminoácidos básicos com ligações carboxila-terminal, são clivados pela carboxipeptidase B (GUYTON; HALL, 2011).

Não é necessário que a proteína seja completamente digerida, pois os produtos de sua digestão são absorvidos na forma de di-, tri- ou tetrapeptídeos. O transporte de peptídeos ocorre independentemente da ação de enzimas e transportadores. Pequenos peptídeos são absorvidos mais fácil e rapidamente que aminoácidos ligados a proteína. Isso se deve ao tempo da digestão proteica, e ao fato de não existir transportadores específicos para peptídeos, enquanto que, há transportadores muito específicos para aminoácidos livres (GILBERT; WONG; WEEB, 2008). No jejuno, a absorção de aminoácidos livres ocorre de 15-30%, através de transportadores da membrana do enterócito, e 70 a 85% da absorção ocorre na forma de peptídeos. A absorção no íleo ocorre apenas na forma de aminoácidos livres (FRENHANI; BURINI, 1999).

A segunda fase da digestão proteica envolve a digestão extracelular, que consiste na quebra dos di- e tripeptídeos que foram absorvidos. As peptidases citoplasmáticas são responsáveis em 40% pela clivagem de tripeptídeos, e 90% pela clivagem de oligopeptídeos. Cerca de 85% dos aminoácidos absorvidos estão presentes na circulação portal na forma de aminoácidos livres. O restante pode alcançar a corrente sanguínea na forma de di- e tripeptídeos, que ao alcançarem o citoplasma da célula de outros tecidos, podem ser clivados em aminoácidos livres, pois as peptidases citoplasmáticas não estão presentes somente nos enterócitos (SILVA; COSTA; LIMA, 2014).

Os sistemas de transporte, são proteínas responsáveis por reconhecer e transferir substratos específicos através da membrana do enterócito e permitem que as células selecionem substratos específicos a partir de um *pool* de aminoácidos. Podem atuar sozinhas ou em conjunto. Eventualmente, o transporte de alguns aminoácidos requer gasto energético, e acoplamento de íons sódio e potássio, com quebra de ATP (adenosina trifosfato). Estes são considerados transportadores da membrana apical do enterócito  $\text{Na}^+$  dependente, ou seja, ativo (FRENHANI; BURINI, 1999; MATTHEWS, 2000).

O sistema B ou NBB, está presente na membrana apical da borda da célula do intestino, e é específico para a maioria dos aminoácidos neutros, hidrofóbicos e hidrofílicos. O sistema

PHE, transporta L-fenilalanina e DL-metionina. O sistema  $Y^+$ , transporta aminoácidos básicos e L-cisteína, é dependente de sódio. Possui também um sistema de transporte  $Y^+$  independente de sódio, que transporta aminoácidos carregados positivamente, como L-arginina, L-histidina, L-lisina e são insensíveis ao pH. O sistema b dependente de sódio, transporta L-alanina, principalmente no íleo. Enquanto que o sistema b independente de sódio, transporta L-alanina principalmente no jejuno (MATTHEWS, 2000).

A glicina, tem um sistema de transportadores específicos, conhecido como gly. Porém, nos hepatócitos, o transporte de glicina não se restringe apenas a esse tipo de transportador. O sistema X-G, A; transporta o ácido glutâmico e ácido aspártico. O sistema de transportadores da membrana apical do enterócito sódio dependentes, incluem o sistema  $y^+$ ,  $bo^+$ , ativo em várias células, que transporta aminoácidos catiônicos, neutros e o sistema L. O sistema L é mais responsivo a aminoácidos aromáticos e de cadeia ramificada, o L-triptofano, L-fenilalanina, L-tirosina, L-alanina, L-leucina, L-isoleucina, L-valina e DL-metionina (WOODWARD *et al.*, 2012).

Na membrana basolateral, há transportadores que apresentam diferenças quanto ao gasto energético. O transporte basolateral, promove a passagem de aminoácidos dietéticos para a corrente sanguínea, porém, em jejum, há transferência no sentido oposto, para suprir o requerimento de aminoácidos nos enterócitos. O sistema ativo, é composto pelo sistema A, específico para aminoácidos polares, de cadeia curta, como L-alanina. O sistema ASC, transporta aminoácidos neutros, como L-alanina, L-serina e L-cisteína. O sistema N, transporta o ácido glutâmico, ácido aspártico e L-histidina. Os sistemas de transporte basolateral independente de sódio é composto pelo sistema  $y^+$ , asc e L, os quais equivalem aos sistemas  $Y^+$ , ASC e L da membrana apical e basolateral, porem estão presentes na membrana basolateral e são independente de sódio (WOODWARD *et al.*, 2012).

Além do intestino delgado, outros tecidos contêm transportadores de di- e tripeptídeos, sendo assim, os peptídeos plasmáticos podem ser rapidamente utilizados em todo o corpo. Mais especificamente, o PepT1 (*peptide transporter 1*, gene específico para o transporte de dipeptídeos e tripeptídeos) é encontrado nos rins, e o PepT2 (*peptide transporter 2*), é encontrado em tecidos extra intestinais (GILBERT; WONG; WEEB, 2008).

O transporte de oligopeptídeos, oferece várias vantagens em comparação com o transporte de aminoácidos livres. Primeiramente, porque alguns aminoácidos não são muito estáveis, ou tem baixa solubilidade, como a L-glutamina, L-cisteína ou L-tirosina e L-triptofano, respectivamente. Quando há concentrações molares iguais, a utilização de di- e tripeptídeos pode reduzir a osmolaridade dos aminoácidos livres. Além de que, di- e tripeptídeos não são

absorvidos mais rapidamente e mais eficientemente pelos enterócitos, do que os aminoácidos livres (WU, 2013).

A absorção de aminoácidos livres, apresenta particularidades, como o sistema de transporte, pois dependem de transportadores, e, portanto, são saturáveis. Uma vez que, cada aminoácido possui um tempo de absorção, devido a afinidade com seu transportador. Os sistemas de transporte de aminoácidos livres, são classificados como dependente de sódio (ativo) ou independente de sódio (facilitado). Alguns transportadores apresentam afinidade por mais de um aminoácido. Ou seja, aminoácidos semelhantes estruturalmente competem pelo mesmo transportador, o que pode causar inibição da absorção do aminoácido que está em menor concentração – antagonismo. Os principais exemplos de antagonismo são entre a L-lisina e L-arginina, e entre a L-leucina, L-valina e L-isoleucina (FURUYA *et al.*, 2004).

Quando há desequilíbrio na absorção, deficiência ou excesso de algum aminoácido, pode ocorrer redução do crescimento e até morte. A eficiência dos processos digestivos, absorção e utilização dos aminoácidos dependem da modulação hormonal, ausência de fatores antinutricionais, saúde intestinal e do equilíbrio dos aminoácidos presentes na dieta (SILVA; COSTA; LIMA, 2014).

## 1.5. AMINOÁCIDOS CRISTALINOS

Com o aumento da demanda da aquicultura, e criação de tilápias, questões como qualidade e práticas alimentares se tornam mais críticas (NGUYEN; DAVIS, 2016). Atender as exigências dietéticas de aminoácidos, é uma consideração importante na formulação de dietas (KOCH *et al.*, 2016). O uso de proteínas vegetais para substituir a farinha de peixe em alimentos comerciais, também exigiu maior atenção ao atendimento das exigências de aminoácidos na dieta (GATLIN *et al.*, 2007).

Os aminoácidos podem ser fornecidos na forma de proteína intacta nos ingredientes da dieta, ou na forma cristalina e purificada (NUNES *et al.*, 2014). O aumento do uso de proteínas vegetais em dietas de tilápias nos últimos anos, levou ao aumento do uso de aminoácidos purificados para evitar deficiências causadas por altos níveis de produtos vegetais, que apresentam limitações de aminoácidos essenciais, em relação a exigência dietética do animal (CAO *et al.*, 2012; MICHELATO *et al.*, 2016).

O fornecimento de aminoácidos cristalinos não essenciais na dieta, ajuda a promover o crescimento, economiza energia corporal, reduzindo a necessidade de sua síntese (PEREIRA; ROSA; GATLIN, 2017). O valor nutritivo da proteína da dieta, depende do seu conteúdo de

aminoácidos e da extensão da absorção de seus aminoácidos. As taxas de liberação e absorção de aminoácidos da proteína durante a digestão, influenciam a utilização da proteína de uma dieta (NGUYEN *et al.*, 2020).

Vários estudos com aminoácidos cristalinos (SCHUHMACHER; WAX; GROPP, 1997; PERES; OLIVA-TELES, 2005; AMBARDEKAR; REIGH, 2007; AMBARDEKAR; REIGH; WILLIAMS, 2009), sugerem que os aminoácidos na proteína intacta são utilizados com mais eficiência, do que aqueles na forma cristalina. Possivelmente, porque os aminoácidos cristalinos são absorvidos e catabolizados mais rapidamente, do que os aminoácidos das proteínas intactas (AMBARDEKAR; REIGH; WILLIAMS, 2009).

Alguns pesquisadores, fizeram observações semelhantes ao medir o aumento da radioatividade no sangue da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), que consumia pellets contendo aminoácidos marcados com  $^{14}\text{C}$ , ou proteínas marcadas com  $^{14}\text{C}$  (YAMADA *et al.*, 1981). As taxas de crescimento inferiores e as taxas de conversão alimentar piores de truta arco-íris alimentadas com aminoácidos cristalinos têm sido atribuídas à rápida absorção de aminoácidos do intestino para o sangue periférico, levando à desaminação do excesso de aminoácidos e a altas taxas de excreção de nitrogênio (YAMADA *et al.*, 1981, COWEY; WALTON, 1988, BODIN *et al.*, 2012). Diferenças no tempo de absorção de diferentes aminoácidos, podem reduzir a eficiência da síntese proteica, se os aminoácidos cristalinos da dieta forem absorvidos e catabolizados, antes que os aminoácidos ligados às proteínas sejam absorvidos (NUNES *et al.*, 2014).

Diminuir a perda por lixiviação, com maior número de refeições, permite que haja um melhor *pool* de aminoácidos, que permite a absorção e utilização de aminoácidos cristalinos com maior eficiência (LÓPEZ-ALVARADO, 1994; YÚFERA *et al.*, 2002; SHOMORIM *et al.*, 2019). Os benefícios da maior frequência de alimentação, sobre a eficiência de utilização dos aminoácidos cristalinos já foi demonstrada em estudos realizados com peixes (GATLIN *et al.*, 2007; FURUYA *et al.*, 2005; NUNES *et al.*, 2014).

A suplementação de aminoácidos cristalinos, faz parte de novas estratégias para desenvolver dietas com aminoácidos balanceados, que reduzam os impactos ambientais, melhoram o desempenho, e a lucratividade da aquicultura (NUNES *et al.*, 2014). Conseqüentemente, a adição de aminoácidos cristalinos à dieta de animais aquáticos, é uma prática cada vez mais comum, considerando o crescente uso de fontes de origem vegetal em dietas para peixes (LI *et al.*, 2009). Porém, há necessidade de melhor compreensão sobre os efeitos da adição de aminoácidos cristalinos, absorção e utilização dos aminoácidos, em tilápias do Nilo.



O adequado balanceamento de aminoácidos melhora eficiência de utilização da proteína, que consequentemente promove melhora no desempenho produtivo (AKIYAMA; OOHARA; YAMAMOTO, 2007). Além disso, contribui para uma menor excreção de nitrogênio pelos peixes, reduzindo a poluição ambiental (WU, 2013). Muitos estudos tem demonstrado que a concentração de aminoácidos plasmáticos, aumenta mais rapidamente e alcança mais cedo os picos de absorção, após a suplementação com aminoácidos cristalinos do que quando alimentados com aminoácidos ligados a proteína (YAMADA *et al.*, 1981; MURAI *et al.*, 2011; SCHUHMACHER *et al.*, 1997; AMBARDEKAR; REIGH; WILLIAMS, 2009; AMBARDEKAR; REIGH, 2007; PÉREZ-JIMENEZ *et al.*, 2014). No entanto, fatores relacionados ao nível de aminoácidos cristalinos e espécie, entre outros fatores, podem afetar a resposta dos animais. Com a crescente demanda para inclusão de aminoácidos cristalinos em dietas para tilápias, um estudo mais aprofundado envolvendo as respostas de desempenho associadas com a retenção corporal de aminoácidos, estudo do perfil plasmático de aminoácidos ao longo do tempo pós-alimentação, é importante para elaborar dietas balanceadas para na moderna criação de tilápias. Atualmente, além do desempenho produtivo, é importante que as dietas maximizem a retenção da fração nitrogenada da proteína, permitindo máximo crescimento e menor impacto ambiental com a excreção de nitrogênio dietético não utilizado pelos peixes.

## REFERÊNCIAS

- AKIYAMA, T., OOHARA, I., YAMAMOTO, T. Comparison of essential amino acid requirements with A/E ratio among fish species. **Fish Science**. v. 63, p. 963–970, 2007.
- AMBARDEKAR, A. A., REIGH, R. C. Sources and Utilization of Amino Acids in Channel Catfish Diets: A Review. **North American Journal of Aquaculture**. v. 69, n. 2, p. 174–179, 2007.
- AMBARDEKAR, A. A., REIGH, R. C., WILLIAMS, M. B. Absorption of amino acids from intact dietary proteins and purified amino acid supplements follows different time-courses in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**. v. 291, p. 179–187, 2009.
- BALDISSEROTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: UFSM, 2002.
- BODIN, N., DELFOSSE, G., THU, T. T. N., BOULENGÉ, E. L., ABBOUDI, T., LARONDELLE, Y., ROLLIN, X. Effects of fish size and diet adaptation on growth performances and nitrogen utilization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) juveniles given diets based on free and/or protein-bound amino acids. **Aquaculture**. v. 356, p. 105-115, 2012.
- BOONANUNTANASARNB, S., KUMKHONGB, S., YOOHATB, K., PLAGNES-JUANA, E., BURELA, C., MARANDELA, L., PANSERATA, S. Molecular responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to different levels of dietary carbohydrates. **Aquaculture**. v. 482, p. 117-123, 2018.
- BRODERICK, G., WALLACE, R., ØRSKOV, E. R. Control of rate and extent of protein degradation. In: TSUDA, T., SASAKI, Y., KAWASHIMA, R. (Ed.). **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. New York: Academic Press. p. 542–592, 1991.
- CAO, J.M., CHEN, Y., ZHU, X., HUANG, Y.H., ZHAO, H.X., LI, G.L., LAN, H.B., CHEN, B., PAN, Q. A study on dietary L-lysine requirement of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. **Aquaculture Nutrition**. v.18, p.35-45, 2012.
- CARVALHO, A., D'ÁVILA, ZANELLA, I., LEHNEN, C.R., ANDRETTA, I., LANFERDINI, E., HAUSCHILD, L., LOVATTO, P. A. Digestibilidade aparente de dietas e metabolismo em frangos de corte alimentados com dietas contendo soja integral processada. **Ciência Rural**. v. 38, p. 477–483, 2008.
- CHEN, J., ZHANG, D., TAN, Q., ZHOU, H., YAO, J. Growth performance, intestinal morphology, hepatopancreatic antioxidant capacity and growth-related gene mRNA expressions of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) as affected by graded levels of dietary arginine. **Aquaculture Research**. v. 1, p. 1-11, 2019.
- COWEY, C.B., WALTON, M. J. Studies on the uptake of <sup>14</sup>C amino acids derived from both dietary <sup>14</sup>C protein and dietary <sup>14</sup>C amino acids by rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. **Journal of Fish Biology**. v. 33, p. 293–306, 1988.
- D'MELLO, J. P. F. **Amino acid in farm animals**. Wallingford: CABI Publishing International, 2003.

DAL-PAI, V., DAL PAI-SILVA, M., CARVALHO, E. D., FUJIHARA, C. Y., GREGÓRIO, E. A. Dietary 14C protein and dietary 14C - amino acids by rainbow trout. **Journal Fish Biology**. v. 33, p. 123–134, 2000.

DENG, H., ZHENG, A., LIU, G., CHANG, W., ZHANG, S., CAI, H. Activation of mammalian target of rapamycin signaling in skeletal muscle of neonatal chicks: Effects of dietary leucine and age. **Poultry Science**. v. 93, p. 114-121, 2014.

DENG, J., MAI, K., QINGHUI, A., ZHANG, W., WANG, X., XU, W., LIUFU, Z. Effects of replacing fishmeal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**. v. 258, p. 503–513, 2006.

EFEYAN, A., ZONCU, R., SABATINI, D. M. Amino acids and mTORC1: From lysosomes to disease. **Trends in Molecular Medicine**. v.18, p.524-533, 2012.

Escalante-Rojas, M., PEÑA, E., HERNANDEZ, C., LLERA-HERRERA, R., GARCIA-GASCA, A. De novo transcriptome assembly for the rose spotted snapper *Lutjanus guttatus* and expression analysis of growth/atrophy-related genes. **Aquaculture Research**. v. 1, p. 1-14, 2018.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/state-of-fisheries-aquaculture>>.

FAUZI, I. A., HAGA, Y., KONDO, H., HIRONO, I., SATOH, S. Effects of arginine supplementation on growth performance and plasma arginine, ornithine and citrulline dynamics of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture Research**. v. 50, p. 1277-1290, 2019.

FRENHANI, P.B., BURINI, R. Mecanismo de absorção de aminoácidos e oligopeptídeos: controle e implicações na dietoterapia humana. **Arquivos de Gastroenterologia**. v. 36, n. 4, p. 227–237, 1999.

FURLANETO, F.P.B., AYROZA, D., AYROZA, L. Análise econômica da produção de tilápia em tanques-rede, ciclo de verão, região do médio Paranapanema, Estado de São Paulo. **Informações Econômicas**. v. 40, n.4, p. 5-11, 2010.

FURUYA, W. M., PEZZATO, L. E., BARROS, M. M., PEZZATO, A. C., FURUYA, V. R. B., MIRANDA, E. C. Use of ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture Research**. v. 35, p. 1110–1116, 2004.

FURUYA, W.M., BOTARO, D., MACEDO, R.M.G., SANTOS, V.G., SILVA, L.C.R., SILVA, T.C., FURUYA, V.R.B., SALES, P.J.P. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.34, n.5, p.1433-1441, 2005.

GATLIN, D. M., BARROWS, F.T., BROWN, P., DABROWSKI, K., GAYLORD, T.G., HARDY, R.W., HERMAN, E., HU, G., KROGDAHL, A., NELSON, R., OVERTUF, K., RUST, M., SKONBERG, D., SOUZA, E.J., STONE, D., WILSON, R., WURTELE, E. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. **Aquaculture Research**. v. 38, n. 6, p. 551–579, 2007.

- GILBERT, E. R., WONG, E. A., WEEB, J. R. K. E. Peptide absorption and utilization: Implications for animal nutrition and health. **Journal of Animal Science**. v. 86, p. 2135–2155, 2008.
- GONÇALVES, G. S., FURUYA, W. M., RIBEIRO, R. P., FURUYA, V. R. B., SOARES, C. M. Farelo de canola na alimentação do piavuçu, *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski), na fase inicial. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. v. 24, p. 921-925, 2008.
- GUYTON, A., HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 12° ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.
- HABTE-TSION, H., GE, X., LIU, B., XIE, J., REN, M., ZHOU, Q., MIAO, L., PAN, L., CHEN, R. A deficiency or an excess of dietary threonine level affects weight gain, enzyme activity, immune response and immune-related gene expression in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). **Fish & Shellfish Immunology**. v. 42, p. 439-446, 2015.
- KHALIFA, N. S. A., BELAL, I. E. H., EL-TARABILY, K. A., TARIQ, S., KASSAB, A. A. Evaluation of replacing fishmeal with corn protein concentrate in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings commercial diet. **Aquaculture Nutrition**. v. 24, p. 143–152, 2018.
- KOCH, J. F., RAWLES, S.D., WEBSTER, C.D., CUMMINS, V., KOBAYASHI, Y., THOMPSON, K.R., GANNAM, A.N., TWIBELL, R.G., HYDE, N.M. Optimizing fish meal-free commercial diets for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**. v. 452, p. 357-366, 2016.
- LEHNINGER, A.L., NELSON, D.L., COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Elsevier, 2000.
- LI, P., MAI, K. S., TRUSHENSKI, J., WU, G. Y. New development in fish amino acid nutrition towards functional and environmental oriented aquafeeds. **Amino Acids**. v.37, p.43-53, 2009.
- LI, R., LIU, H., XIAOHUI DONG, X., SHUYAN CHI, S., QIHUI YANG, Q., SHUANG ZHANG, S., TAN, B. Molecular characterization and expression analysis of glucose transporter 1 and hepatic glycolytic enzymes activities from herbivorous fish *Ctenopharyngodon idellus* in respond to a glucose load after the adaptation to dietary carbohydrate levels. **Aquaculture**. v. 492, p. 290-299, 2018.
- LI, X., WU, X., DONG, Y., GAO, Y., YAO, W., ZHOU, Z. Effects of dietary lysine levels on growth, feed utilization and related gene expression of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂). **Aquaculture**. v. 502, p. 153-161, 2019.
- LIANG, H., REN, M., HABTE-TSION, H., GE, X., XIE, J., MI, H., XI, B., MIAO, L., ZHOU, Q., FANG, W. Dietary arginine affects growth performance, plasma amino acid contents and gene expression of the TOR signaling pathway in juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*. **Aquaculture**. v. 461, p. 1-8, 2016.
- LÓPEZ-ALVARADO, J., LANGDON, C. J., TESHIMA, S. I., KANAZAWA, A. Effects of coating and encapsulation of crystalline amino acids on leaching in larval feeds. **Aquaculture**. v. 122, p. 335-346, 1994.

- MANOR, M. L., WEBER, G. M., CLEVELAND, B. M., YAO, J., KENNEY, P. B. Expression of genes associated with fatty acid metabolism during maturation in diploid and triploid female rainbow trout. **Aquaculture**. v. 435, p. 178-186, 2015.
- MATTHEWS, J. C. Amino acid and peptide transport systems. *In: Farm Animal*. Wallingford: CABI Publishing. p. 3–23, 2000.
- MCANDREW, B. J. Evolution, phylogenetic relationship and biography. *In: Tilapias: Biology and exploitation*. Netherlands: Kluwer Academic Publisher, p.1-28, 2000.
- MICHELATO, M., VIDAL, L.V.O., XAVIER, T.O., MOURA, L.B., ALMEIDA, F.L.S., PEDROSA, V.B., FURUYA, V.R.B., FURUYA, W.M. Dietary lysine requirement to enhance muscle development and fillet yield of finishing Nile tilapia. **Aquaculture**. v. 457, p. 124-130. 2016.
- MILES, R. D., CHAPMAN, F. A. The Benefits of Fishmeal in Aquaculture Diets Protein Quality of Fishmeal Benefits of Fishmeal Incorporated into Fish Diets. **IFAS Extension University of Florida**, p. 1–7, 2018.
- MURAI, T., OGATA, H., HIRASAWA, Y., AKIYAMA, T., NOSE, T. Portal absorption and hepatic uptake of amino acids in rainbow trout force-fed complete diets containing casein or crystalline amino acids. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 53, n. 10, p. 1847–1859, 2011.
- NGUYEN, L., DAVIS, A. D. Comparison of crystalline lysine and intact lysine used as a supplement in practical diets of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**. v. 464, p. 331-339, 2016.
- NGUYEN, L., SALEM, S. M. R., SALZE, G. P., DINH, H., DAVIS, A. D. Optimizing amino acid balance in diets for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**. v. 515, 2020.
- NRC (National Research Council). **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. National Academy Press, Washington, DC, USA. 2011.
- NUNES, A. J. P., SÁ, M. V. C., BROWDLY, C. L., VAZQUEZ-ANON, M. Practical supplementation of shrimp and Fish feeds with crystalline amino acids. **Aquaculture**. v. 431, p. 20-27, 2014.
- PEIXEBR. **Anuário da Associação Brasileira de Piscicultura**. Ed. São Paulo: Associação Brasileira da Piscicultura, 2019.
- PEREIRA, R. T., ROSA, P. V, GATLIN III, D. M. Glutamine and arginine in diets for Nile tilapia: Effects on growth, innate immune responses, plasma amino acid profiles and whole-body composition. **Aquaculture**, v. 473, p. 135–144, 2017.
- PERES, H., OLIVA-TELES, A. Effect of the dietary essential to non-essential amino acid ratio on growth, feed utilization and nitrogen metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**. v. 256, p. 395- 402, 2006.
- PERES, H., OLIVA-TELES, A. The effect of dietary protein replacement by crystalline amino acid on growth and nitrogen utilization of turbot *Scophthalmus maximus* juveniles. **Aquaculture**. v. 250, p. 755-764, 2005.

- PÉREZ-JIMÉNEZ, A., PERES, H., OLIVA-TELES, A. Effective replacement of protein-bound amino acids by crystalline amino acids in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, v. 20, p. 60–68, 2014.
- PEZZATO, L. E., MIRANDA, E. C., BARROS, M. M., PINTO, L. G. Q., FURUYA, W. M., PEZZATO, A. C. Digestibilidade Aparente de Ingredientes pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 4, p. 1595–1604, 2002.
- RAHIMNEJAD, K. S., LU, L., WANG, K., SONG, K., MAI, D. A., DAVIS, C. Replacement of fishmeal with *Bacillus pumillus* SE5 and *Pseudozyma aphidis* ZR1 fermented soybean meal in diets for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). **Fish Shellfish Immunology**, v. 84, p. 987-997, 2019.
- RESCAN, P., JUTEL, I., RALLIÈRE, C. Two myostatin genes are differentially expressed in myotomal muscles of the trout (*Oncorhynchus mykiss*). **The Journal of Experimental biology**, v. 204, p. 3523–3529, 2001.
- ROLLAND, M., FEEKINGS, J. P., DALSGAARD, J., HOLM, J., SKOV, P. V. Modeling the effects of dietary methionine level and form on postprandial plasma essential amino acid profiles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v. 1, p. 1-17, 2015.
- ROQUES, S., DEVOVRDE, C., RICHARD, N., SKIBA-CASSY, S., MOING, A., FAUCONNEAU, B. Metabolomics and fish nutrition: a review in the context of sustainable feed development. **Reviews in Aquaculture Research**, v. 1, p. 1-22, 2018.
- ROQUES, S., DEVOVRDE, C., RICHARD, N., SKIBA-CASSY, S., MOING, A., FAUCONNEAU, B. Metabolomics and fish nutrition: a review in the context of sustainable feed development. **Reviews in Aquaculture Research**, v. 1, p. 1-22, 2018.
- ROUBACH, R., GOMES, L. C., CHAGAS, E. C., LOURENÇO, J. **Nutrição e manejo alimentar na piscicultura**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2002.
- SANTOS, V. G., JUNIOR, A. C. F., KOCH, J. F. A., BARROS, M. M., GUIMARÃES, I. G., PEZZATO, L. E. Composição química e digestibilidade do farelo de nabo forrageiro para tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 11, n.2, p. 537-546, 2010.
- SCHUHMACHER, A., WAX, C., GROPP, J. M. Plasma amino acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed intact protein or a crystalline amino acid diet. **Aquaculture**, v. 151, p. 15-28, 1997.
- SCORVO-FILHO, J. D., FRASCA-SCORVO, C. M. D., ALVES, J. M. C., SOUZA, F. R. A. A tilapicultura e seus insumos, relações econômicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 112–118, 2010.
- SHOMORIN, G. O., STOREBAKKEN, T., KRAUGERUD, O. F., ØVERLAND, M., HANSEN, B. R., HANSEN, J. Ø. Evaluation of wedge wire screen as a new tool for feces collection in digestibility assessment in fish: The impact of nutrient leaching on apparent digestibility of nitrogen, carbon and sulphur from fishmeal, soybean meal and rapeseed meal-based diets in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 504, p. 81-87, 2019.
- SILVA, G. F., MACIEL, L. M., DALMASS, M. V., GONÇALVES, M. T. **Tilápia do Nilo -**

**Criação e cultivo em viveiros no estado do Paraná Curitiba.** Curitiba: GIA, 2015.

SILVA, J. H. V., COSTA, F. G. P., LIMA, R. Digestão e Absorção das Proteínas. *In*: SAKOMURA, N. K., SILVA, J. H. V., COSTA, F. G. P., FERNANDES, J. B. K., HAUSCHILD, L. (Ed.). **Nutrição de não ruminantes.** Jaboticabal: Funep. p. 678, 2014.

SILVA, R. O. Descrição das diferenças anatômicas, externas e internas, observadas entre machos e fêmeas da tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte.** p. 19, 2019.

TACON, A. G. J., METIAN, M. Global overview on the use of fishmeal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. **Aquaculture.** v. 285, n. 1–4, p. 146–158, 2008.

TRANTAPHYLLOPOULOS, K. A., CARTAS, D., MILIOU, H. Factors influencing GH and IGF-I gene expression on growth in teleost fish: how can aquaculture industry benefit? **Reviews in Aquaculture.** v.1, p. 1-26, 2019.

TUSCHE, K., ARNING, S., WUERTZ, S., SUSENBETH, A., SCHULZ, C. Wheat gluten and potato protein concentrate promising protein sources for organic farming of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture.** v. 349, p. 120–125, 2012.

VANNUCCINI, S. El enfoque del nuevo mercado de tilapia; en el mundo Occidental. **Panorama Aquícola.** v. 4, n. 3, p. 22–25, 1999.

WOODWARD, A. Characterization of L-lysine transport across equine and porcine jejuna and colonic brush border membrane. **Journal of Animal Science.** v. 90, n. 3, p. 853–862, 2012.

WU, G. **Amino acids: Biochemistry and Nutrition.** New York: CRC Press, 2013.

WU, G. Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition. **Amino Acids,** v. 37, n. 1, p. 1–17, 2009.

WU, G., KNABE, D. A., KIM, S. W. Arginine nutrition in neonatal pigs. **Journal Nutrition.** v. 134, p. 2783–2790, 2004.

WU, P., SHI, J., YANG, C., ZHANG, F., LI, Y., CHEN, L., CHENG, J., ZHANG, J., CHU, W. Effects of short-term starvation on the rhythmic expression of microRNAs in skeletal muscle of goldfish (*Carassius auratus*). **Aquaculture Research.** v. 1, p. 1-12, 2017.

YAMADA, S., SIMPSON, K., TANAKA, Y., KATAYAMA, T. Plasma amino acid changes in rainbow trout forcefed casein and corresponding crystalline amino acid mixture. **Bulletin of Japanese Society for Scientific Fisheries.** v.47, p. 1035–1040, 1981.

YUAN, X., LIU, M., CHEN, H., HUANG, Y., DAI, Y., LIU, W., JIANG, G. Replacing fish meal with cottonseed meal protein hydrolysate affects amino acid metabolism via AMPK/SIRT1 and TOR signaling pathway of *Megalobrama amblycephala*. **Aquaculture.** v. 510, p. 225-233, 2019.

YÚFERA, M., KOLKOVSKI, S., FERNÁNDEZ-DÍAZ, C., DABROWSKI, K. Free amino acid leaching from a protein-walled microencapsulated diet for fish larvae. **Aquaculture.** v.

214, p. 273-287, 2002.

ZHANG, X., ZHANG, J., WANG, H., LIN, B., CHEN, L., LI, G., WANG, Q., DENG, J. Evaluation of soybean meal as alternative to fish meal in diet for juvenile Asian red-tailed catfish (*Hemibagrus wyckioides*). **Aquaculture Nutrition**. v. 1, p. 1-14, 2019.

ZIMMERMANN, S., FITZSIMMONS, K. Tilapicultura intensiva. *In: Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva*. São Paulo: TecArt, p. 239–266, 2004.

ZOU, T., CAO, S., XU, W., HAN, D., LIU, H., YANG, Y., JIN, J., ZHU, X., XIE, S. Effects of dietary leucine levels on growth, tissue protein content and relative expression of genes related to protein synthesis in juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III). **Aquaculture Research**. v. 1, p. 1-9, 2018.



## **CAPÍTULO 2**

**Desempenho produtivo e perfil de aminoácidos plasmáticos em tilápias do Nilo alimentadas com dietas com diferentes concentrações de aminoácidos cristalinos**

## RESUMO

O presente estudo objetivou avaliar o desempenho produtivo, retenção de aminoácidos e perfil de absorção de aminoácidos plasmáticos em juvenis de tilápias do Nilo, alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos. Três dietas com 423 g kg<sup>-1</sup> de proteína bruta e 3600 kcal kg<sup>-1</sup> de energia digestível, foram elaboradas para atender as exigências da tilápia do Nilo. Baseado na proteína de farinha de peixe, sem suplementação de aminoácidos cristalinos (ALP), 12% da proteína bruta de aminoácidos cristalinos (AC12) e 24% da proteína bruta de aminoácidos cristalinos (AC24). Foi adicionado bicarbonato de sódio para ajuste do pH da dieta a 7,0. Os peixes ( $n=360$ ; peso inicial=4,3±0,1g) foram distribuídos em 24-70L aquários, em sistema completamente casualizado, com três tratamentos e oito aquários de repetições, com 15 peixes cada. O perfil de aminoácidos plasmáticos pós-alimentação foi analisado usando delineamento em esquema fatorial 3 x 6, com três dietas (ALP, AC12 e AC24) e seis tempos (0; 60; 120; 240; 480 e 960 min após alimentação) de coleta. Os peixes foram alimentados manualmente, seis vezes ao dia, por oito semanas. Peixes que receberam a dieta ALP e AC12 apresentaram maior peso final, ganho de peso, taxa específica de crescimento, taxa eficiência proteica, utilização proteica e melhor conversão alimentar em comparação aos peixes alimentados com a dieta AC24. Peixes alimentados com a dieta AC12 apresentaram maior teor de proteína bruta e cinzas que os peixes alimentados com as dietas ALP e AC24. A composição corporal de lipídeos foi maior em peixes alimentados com a dieta ALP, comparados aos peixes alimentados com as dietas AC12 e AC24. Foi observada interação entre dieta e tempo, para o nível plasmático de metionina e treonina. Peixes alimentados com dieta AC24 apresentaram pico plasmático de metionina com 240 min pós-alimentação, enquanto o pico de metionina em peixes alimentados com as dietas ALP e AC12 ocorreu posteriormente, com 480 min. Peixes que receberam a dieta AC24 apresentaram pico de treonina 120 min após alimentação, enquanto o pico de treonina no plasma ocorreu com 240 min em peixes alimentados com as dietas ALP e AC12. Não foi observada interação entre dieta e tempo para os níveis plasmáticos de arginina e lisina. Avaliando o efeito isolado da dieta, não houve influência das dietas no nível de arginina plasmática, enquanto o nível de lisina foi maior nos peixes alimentados com a dieta AC24, em comparação com o nível plasmático nos peixes alimentados com as dietas ALP e AC12. Ao usar o tempo pós-alimentação como critério de resposta, a análise de regressão quadrática estimou os picos de arginina e lisina plasmática em 532 e 527,5 min, respectivamente. Concluiu-se que a suplementação de aminoácidos cristalinos em até 12% da PB se equivale em desempenho produtivo, e retenção de aminoácidos ao desempenho de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com a dieta sem adição de aminoácidos cristalinos. A dieta com 24% de proteína derivada de aminoácidos cristalinos resulta em assincronia na utilização de aminoácidos, prejudicando a retenção de aminoácidos e, conseqüentemente, o desempenho produtivo dos peixes.

Palavras chave: aminoácidos, aquicultura, nutrição de peixes, nutrigenômica, *Oreochromis niloticus*.

## ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the growth performance, amino acids retention and time-course plasma amino acids pattern in Nile tilapia fed diets with different concentrations of crystalline amino acids. Three diets with 423 g kg<sup>-1</sup> crude protein and 3600 kcal kg<sup>-1</sup> digestible energy were elaborated to meet the dietary requirements of Nile tilapia. Based on soybean meal-fishmeal protein, with no crystalline amino acids supplementation (ALP), 12% of dietary crude protein from crystalline amino acids (AC12) and 24% of dietary crude protein from crystalline amino acids (AC24) on growth performance, amino acids retention, plasmatic amino acids and blood biochemical responses. Sodium bicarbonate was supplemented to adjusted dietary pH at 7.0. Fish ( $n=360$ ; initial body weight of  $4.3\pm 0.1$ g) were distributed into 24-70L aquaria in a completely randomized design of three treatments and eight replicates aquaria of 15 fish each. Post-feeding plasma amino acid profile was analyzed using a 3 x 6 factorial design with three diets (ALP, AC12 and AC24) and six collection times (0, 60, 120, 240, 480 and 960 min post-feeding). Fish were hand fed, six times daily, for eight weeks. Fish fed AC12 diet showed higher final body weight, body weight gain, specific growth rate, protein efficiency ratio, net protein utilization and feed conversion ratio, than fish fed ALP and AC24 diets. Fish fed diet AC12 showed higher body crude protein and ash content, in comparison to those fed AC12 and AC24 diets. An interaction between diet and time for plasma methionine and threonine levels was observed. Fish fed AC24 diet showed methionine plasma peak at 240 min post-feeding, while methionine peak in fish fed diet ALP and AC12 occurred later at 480 min. Fish fed diet AC24 revealed a threonine peak at 120 min after feeding, while the plasmatic threonine peak occurred at 240 min in fish fed diets ALP and AC12. Evaluating the isolated effect of the diet, there was no influence of the diets on the plasma arginine level, while the lysine level was higher in fish fed the diet AC24, compared to the plasma level in fish fed the diets ALP and AC12. When using time post-feeding as response criterion, the quadratic regression analysis estimated plasma arginine and lysine peaks at 525 e 524.5 min, respectively. It was concluded that supplementation of crystalline amino acids in up to 12% of CP is equivalent to productive performance, and retention of amino acids to the performance of Nile tilapia juveniles fed the diet without the addition of crystalline amino acids. The diet with 24% protein derived from crystalline amino acids results in asynchrony in the use of amino acids, impairing the retention of amino acids and, consequently, the productive performance of the fish.

Key words: amino acid, aquaculture, fish nutrition, nutrigenomics, *Oreochromis niloticus*

## 2.1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a suplementação de aminoácidos cristalinos tem aumentado em dietas de organismos aquáticos elaborados com base de ingredientes vegetais (NGUYEN *et al.*, 2020). Porém, os alimentos de origem vegetal apresentam aminoácidos limitantes, principalmente lisina e metionina (RAHIMNEJAD *et al.*, 2019). A utilização de aminoácidos cristalinos uma alternativa para melhorar o balanceamento de aminoácidos, e otimizar a eficiência de utilização da proteína que conseqüentemente, promove melhora no desempenho produtivo dos peixes (NUNES *et al.*, 2014). Contribuindo para uma menor excreção de nitrogênio, aumentando a sustentabilidade da criação de peixes (AKIYAMA; OOHARA; YAMAMOTO, 2007).

Estudos sugerem que os aminoácidos cristalinos atingem picos de absorção anteriormente aos aminoácidos ligados à proteína (AMBARDEKAR; REIGH; WILLIAMS, 2009; MURAI *et al.*, 2011; PÉREZ-JIMENEZ *et al.*, 2014). Diferenças no tempo de absorção dos aminoácidos cristalinos e aminoácidos ligados a proteína, afeta o perfil de aminoácidos plasmáticos reduzindo a retenção de proteína da dieta e afeta o desenvolvimento muscular e crescimento dos peixes (MURAI *et al.*, 2011; AMBARDEKAR; REIGH; WILLIAMS, 2009).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a segunda espécie de água doce mais criada no mundo. É conhecida pelo rápido crescimento e alta eficiência alimentar (FAO, 2018). Possui adaptações morfofisiológicas, pH estomacal ácido e intestino longo, que otimiza a utilização alimentos de origem vegetal (PEZZATO *et al.*, 2002).

É importante conhecer o valor máximo de inclusão de aminoácidos cristalinos para maximizar o valor nutritivo e a resposta econômica da criação de tilápias. Além disso, os aminoácidos cristalinos podem ser utilizados como ferramenta nutricional para a criação mais sustentável, devido a menor excreção de nitrogênio pelos peixes no ambiente aquático. Assim, o presente estudo objetivou avaliar o desempenho, retenção de aminoácidos e padrão plasmático de absorção de aminoácidos em juvenis de tilápia do Nilo, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de aminoácidos cristalinos.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1. Peixes e Condições Experimentais

O presente experimento foi realizado no Laboratório de Fauna Silvestre e Aquicultura da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, Brasil, por 8 semanas. Trezentos e sessenta peixes (peso inicial  $4,3 \pm 0,1$  g), obtidos de uma piscicultura comercial (Aquabel, Rolândia, PR, Brasil), foram distribuídos 24 aquários (70L cada), em sistema de recirculação, com taxa de renovação de 250 mL/30s. Em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e oito repetições, com 15 peixes por aquário. Os peixes foram alimentados manualmente, seis vezes ao dia, as 08:00; 10:00; 12:00; 14:00; 16:00 e 18:00h, até saciedade aparente.

O sistema de recirculação possui sistema de aquecimento com termostato, biofiltro e filtro UV. Os parâmetros de qualidade de água: oxigênio dissolvido ( $6,0 \pm 0,06$  mg L<sup>-1</sup>), temperatura  $28 \pm 1,5^\circ\text{C}$  foram monitorados diariamente com uma sonda multi parâmetro (YSI® 550A, Florianópolis, SC, Brasil). Semanalmente, foram determinados o pH ( $7,02 \pm 0,46$ ) com pHmetro de bancada (TEC-2, Tecnal®, Piracicaba, SP, Brasil) e a amônia tóxica ( $0,001 \pm 0,000$  ppm), nitrito ( $0,001 \pm 0,000$  ppm) e nitrato ( $0,001 \pm 0,000$  ppm) foram analisados com kit (Alfakit®, Florianópolis, SC, Brasil).

### 2.2.2. Dietas

Três dietas isoproteicas e isoenergéticas (ALP, AC12 e AC24) foram formuladas com  $423$  g kg<sup>-1</sup> PB e  $3600$  kcal kg<sup>-1</sup> de energia digestível, para atender as exigências nutricionais de tilápias do Nilo (NRC, 2011). Com base na proteína do concentrado proteico de soja e farinha de peixe sem suplementação de aminoácidos cristalinos (ALP), com 12% da PB constituída de aminoácidos cristalinos (AC12) e 24% de aminoácido cristalino (AC24), em relação a proteína bruta da dieta. A farinha de peixe foi adicionada às dietas para participar com 36% de PB das dietas, como apresentado na Tabela 1.

**Tabela 1** – Formulação e composição das dietas experimentais (g kg<sup>-1</sup>).

Item	Dieta <sup>a</sup>		
	ALP	AC12	AC24
Concentrado proteico de soja	245	245	245
Milho	439,8	431,2	421
Farinha de peixe	240	168	84
Glúten de milho <sup>b</sup>	60	60	60
Óleo de peixe	0	11,2	24,2
Fosfato bicálcico	0	11,7	24,7
L-Arginina <sup>c</sup>	0	2,6	5,2
L-Histidina <sup>c</sup>	0	0,7	1,4
L-Isoleucina <sup>c</sup>	0	1,7	3,4
L-Leucina <sup>c</sup>	0	2,9	5,8
L-Lisina <sup>c</sup>	0	3,8	7,6
DL-Metionina <sup>c</sup>	0	1	2
L-Fenilalanina <sup>c</sup>	0	2,8	5,6
L-Treonina <sup>c</sup>	0	1,7	3,4
L-Triptofano <sup>c</sup>	0	0,4	0,8
L-Valina <sup>c</sup>	0	8,8	17,6
L-Alanina <sup>c</sup>	0	4	8
Ácido Aspártico <sup>c</sup>	0	5	10
Ácido Glutâmico <sup>c</sup>	0	21,1	42,2
L-Glicina <sup>c</sup>	0	1	2
L-Prolina <sup>c</sup>	0	1,5	3
L-Serina <sup>c</sup>	0	1,5	3
Premix mineral e vitamínico <sup>d</sup>	50	50	50
Sal	5	5	5
Bicarbonato de sódio	0	90	180
Calcário calcítico	4	10	19
Antioxidante <sup>e</sup>	0,2	0,2	0,2
Antifúngico <sup>f</sup>	1	1	1

Continua

**Tabela 1** – Formulação e composição das dietas experimentais (g kg<sup>-1</sup>).

Item	Dieta		
	ALP	AC12	AC24
Matéria seca	935,60	941,90	964,60
Energia digestível (kcal kg <sup>-1</sup> )	3600	3600	3600
Proteína bruta	423,41	423,41	423,41
Lipídeos totais	29,2	30,5	31,7
Fibra bruta	1,17	1,15	1,12
Cálcio	2,06	2,02	2,04
Fósforo disponível <sup>g</sup>	0,78	0,78	0,78

<sup>a</sup> ALP, dieta com aminoácidos ligados à proteína dos alimentos, AC12, dieta com 12% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos e AC24, dieta com 24% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos.

<sup>b</sup> De acordo com Guimarães *et al.* (2008), g kg<sup>-1</sup> matéria seca: glúten de milho (16,9 MJ kg<sup>-1</sup> energia bruta; 72 g kg<sup>-1</sup> proteína bruta; 42,4 g kg<sup>-1</sup> lipídios totais; 20 g kg<sup>-1</sup> fibra bruta; 12 g kg<sup>-1</sup> cinzas);

<sup>c</sup> Indústria e Comércio de Alimentos Ajinomoto Brasil, Divisão de Nutrição Animal, São Paulo, Brasil.

<sup>d</sup> Suplemento mineral e vitamínico: composição por kg de suplemento: vit. A 1,200,000 IU, vit. D<sub>3</sub> 200,000 IU, vit. E 12,000 mg, vit. K<sub>3</sub> 2400 mg, vit. B<sub>1</sub> 4800mg, vit. B<sub>2</sub> 4800 mg, vit. B<sub>6</sub> 4000 mg, vit. B<sub>12</sub> 4800 mg, ácido fólico 1200 mg, pantotenato 12,000 mg, vit. C 48,000 mg, biotina 48mg, colina 65,000 mg, niacina 24,000 mg, Fe 10,000 mg, Cu 600mg, Mg 4000 mg, Zn 6000 mg, I 20 mg, Co 2mg e Se 20 mg.

<sup>e</sup> Banox® Composição: Alltech Agroindustrial Ltda, São Paulo Brasil.

<sup>f</sup> Mold Zap Aquatica® Composição: dipropionato de amônia, ácido acético, ácido ascórbico e ácido benzoico (Alltech Agroindustrial Ltda, Brasil).

<sup>g</sup> De acordo com Furuya *et al.* (2001), Pezzato *et al.* (2002) e Guimarães *et al.* (2008).

Os aminoácidos cristalinos L-arginina, L-histidina, L-isoleucina, L-leucina, L-lisina, DL-metionina, L-fenilalanina, L-treonina, L-triptofano, L-valina, L-alanina, ácido aspártico, ácido glutâmico, L-glicina, L-serina e L-prolina, foram adicionados às dietas AC12 e AC24, para participar com 12 e 24% da proteína bruta da dieta, respectivamente, atendendo as exigências de aminoácidos de tilápias (NRC, 2011), como mostrado na Tabela 2.

**Tabela 2** – Formulação e composição dos aminoácidos (g kg<sup>-1</sup>) das dietas experimentais.

Item	Dieta <sup>a</sup>		
	ALP	AC12	AC24
<i>Aminoácido essencial</i>			
Arginina	21,85	23,99	23,93
Fenilalanina	20,17	20,72	22,03
Histidina	7,97	8,86	8,38
Isoleucina	16,73	17,09	16,99
Leucina	33,16	34,86	34,75
Lisina	18,02	18,91	18,85
Metionina	5,85	5,79	5,83
Treonina	14,22	15,39	14,96
Triptofano	4,15	3,95	4,52
Valina	16,48	17,11	15,31
<i>Aminoácido não essencial</i>			
Ácido aspártico	27,89	37,03	38,61
Ácido glutâmico	76,25	85,48	97,58
Alanina	20,98	24,67	25,36
Cisteína	3,91	3,77	3,56
Glicina	20,45	21,24	20,14
Serina	17,43	19,01	17,71
Tirosina	13,10	13,24	12,52

<sup>a</sup> ALP, dieta com aminoácidos ligados à proteína dos alimentos, AC12, dieta com 12% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos e AC24, dieta com 24% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos.

As dietas foram peletizadas em moedor de carne (CAF-22, Inox 1/25, CV 300 Kg/h, V17-M-220V, modelo 22STB, Ltda, Brasil), com matriz de 3 mm de diâmetro, e secas em estufa de ventilação por 12 horas a 55 °C. Os pellets foram moídos (BOTINI, Brasil) e peneirados (Indústria Metalúrgica BERTEL, SP, Brasil). Adicionou-se bicarbonato de sódio até atingir o pH 7,0 nas dietas CA12 e CA24.



### 2.2.3. Coleta de Amostras

Todos os procedimentos de manejo de peixes foram aprovados pelo Comitê de Ética e Uso de Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa, de acordo com o processo nº 042/2017. Foram realizadas coletas para análise de desempenho, composição corporal, perfil de aminoácidos corporais e perfil de aminoácidos plasmáticos.

Ao final do experimento, todos os peixes foram alimentados e coletados de forma escalonada aos 0, 60, 120, 240, 480 e 960 min após a alimentação. Todos os peixes foram sacrificados com metanosulfato de triclaína (MS-222) (Sigma-Aldrich, EUA), na concentração de 500mg L<sup>-1</sup> (Roubach *et al.*, 2000); e pesados em balança de precisão (0,01g) para análise de desempenho.

Noventa e seis peixes, trinta e dois peixes por tratamento foram amostrados, para coleta de plasma sanguíneo e análise de aminoácidos plasmáticos, usando uma seringa estéril de 1 mL e agulha 13x3,8, com ácido etilenodiaminotetracético, para evitar a coagulação do sangue. A coleta de sangue foi realizada de forma escalonada, em seis momentos diferentes, aos 0, 60, 120, 240, 480 e 960 minutos após a alimentação. O sangue coletado foi centrifugado em centrífuga (Eppendorf ILMD-SLM-POP 013) por 10 min a 4000 rpm, para obter o plasma sanguíneo. O plasma sanguíneo obtido, foi mantido em tubo criogênico em freezer a -20°C, até posterior análise.

No início do experimento, 50 peixes foram amostrados aleatoriamente e pesados em balança de precisão (0,01g), para análise de composição corporal e perfil de aminoácidos inicial. Os peixes coletados para análise de composição corporal, foram utilizados previamente para análise de índice hepatossomático e gordura visceral. Os peixes utilizados na coleta de plasma sanguíneo, foram destinados à análise de composição corporal e perfil de aminoácidos corporal final. Para a análise de índice hepatossomático e gordura visceral, os peixes foram pesados, mantidos em refrigeração a -5°C, e posteriormente, foi retirado o fígado e gordura visceral, e pesados balança de precisão (0,01 g).

### 2.2.4. Desempenho

Foram analisados dados de desempenho, consumo, conversão alimentar, utilização proteica, índice hepatossomático, índice viscerossomático, sobrevivência, composição corporal e retenção de aminoácidos corporais de juvenis de tilápia do Nilo, alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos, de acordo com as seguintes equações:

Ganho de peso diário (g) = peso final (g) – peso inicial (g) x dias experimentais<sup>-1</sup>; Taxa instantânea de crescimento (% dia<sup>-1</sup>) = 100 x (ln peso final – ln peso inicial/dias de experimento); Consumo alimentar (g) = consumo (g) x quantidade de peixes<sup>-1</sup>; Conversão alimentar = consumo alimentar (g) x ganho de peso (g)<sup>-1</sup>; Taxa de eficiência proteica = ganho de peso (g) x consumo proteico (%)<sup>-1</sup>; Retenção de aminoácidos = 100 x retenção de aminoácidos x consumo de aminoácidos (%)<sup>-1</sup>; Sobrevivência = 100 x (número de peixes ao final do experimento/número de peixes no início do experimento) e Índice hepatossomático = (peso do fígado (g) / peso corporal (g)) x 100.

### 2.2.5. Análises Químicas

A análise de umidade, proteína bruta, lipídeos totais e cinzas corporais foram realizadas de acordo com os métodos estabelecidos por AOAC (2002). A umidade corporal, foi determinada por secagem em estufa a 105°C, até peso constante. O lipídeo bruto, foi determinado por extração com éter de petróleo, usando extração Soxhlet (Tecnal, TE-044, Piracicaba, SP, Brasil), e a proteína bruta (Nx6,25) foi determinada pelo método de Kjeldahl (Tecnal, MA-036, Piracicaba, SP, Brasil), após hidrólise ácida. Para análise do teor de cinzas, as amostras foram colocadas em mufla (Tecnal, 2000, Belo Horizonte, MG, Brasil) a 550°C durante 12 horas. O perfil de aminoácidos corporal, aminoácidos plasmáticos e aminoácidos das dietas foram determinados por Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (HPCL) (Hitachi, Tóquio, Japão), no Laboratório da Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda, Divisão de Nutrição Animal (São Paulo, SP, Brasil) (RAYNER, 1985). O triptofano foi determinado após hidroxilação alcalina da amostra com hidróxido de lítio.

### 2.2.6. Análise Estatística

Os dados de desempenho de crescimento foram apresentados como médias ± erro padrão da média (EPM). A homogeneidade das variâncias foi testada usando teste de Levene e submetidos à análise de variância unidirecional (ANOVA) para testar os efeitos das dietas experimentais. Para dados de desempenho, composição corporal e retenção de aminoácidos, as diferenças entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey (P<0,05). Para análise do perfil de aminoácidos plasmáticos, os dados foram analisados em esquema fatorial 3x6 com três tratamentos, sendo três dietas (ALP, AC12, AC24) e seis tempos de coleta (0, 60, 120, 240, 480 e 960 min) após alimentação. A comparação dos efeitos principais da dieta foi realizada

por meio de teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Todos os dados foram analisados utilizando o software *Statistical Analysis System* (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA) (versão 9.1.3).

## 2.3.RESULTADOS

### 2.3.1. Desempenho produtivo

Os dados de desempenho produtivo de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de aminoácidos cristalinos, são descritos na Tabela 3.

**Tabela 3** – Desempenho de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos<sup>a</sup>.

Item	Dieta <sup>b</sup>			SEM	P
	ALP	AC12	AC24		
Peso inicial (g)	4,31	4,35	4,36	0,023	0,696
Peso final (g)	60,24 <sup>a</sup>	63,40 <sup>a</sup>	50,06 <sup>b</sup>	1,491	<0,001
Ganho de peso (g)	55,93 <sup>a</sup>	59,05 <sup>a</sup>	45,70 <sup>b</sup>	1,489	<0,002
Consumo (g)	48,93 <sup>ab</sup>	50,99 <sup>a</sup>	44,46 <sup>b</sup>	0,969	0,012
Conversão alimentar	0,874 <sup>b</sup>	0,807 <sup>b</sup>	0,976 <sup>a</sup>	0,019	<0,001
Índice hepatossomático (%)	1,91	1,83	1,91	0,066	0,850
Gordura visceral (%)	0,66	0,45	0,54	0,067	0,454
Taxa de eficiência proteica	2,88 <sup>a</sup>	2,90 <sup>a</sup>	2,49 <sup>b</sup>	0,060	0,003
Sobrevivência (%)	96,67	97,50	94,28	0,976	0,365

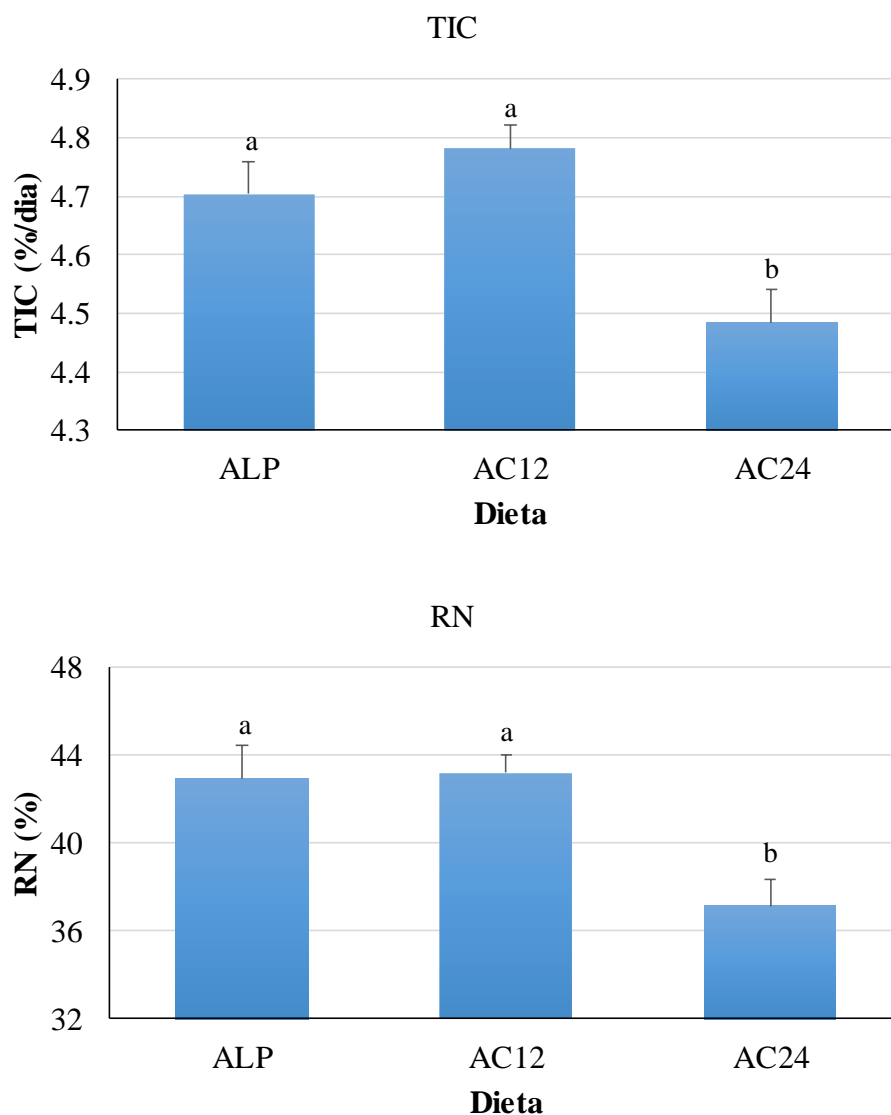
<sup>a</sup> Os valores foram expressos como média ( $\pm$  SEM) de oito aquários. Valores com diferentes letras sobrescritas, indicam diferenças pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

<sup>b</sup> ALP, dieta com aminoácidos ligados à proteína dos alimentos, AC12, dieta com 12% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos e AC24, dieta com 24% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos.

Foi observado maior peso corporal final ( $P < 0,001$ ), ganho de peso corporal ( $P < 0,002$ ), taxa de crescimento específico ( $P = 0,002$ ) e utilização proteica ( $P = 0,003$ ) nos peixes alimentados com as dietas ALP e AC12, em comparação com aqueles alimentados com a dieta AC24. O consumo foi maior ( $P = 0,012$ ) nos peixes alimentados com a dieta AC12, em relação ao obtido em peixes alimentados com a dieta AC24. A taxa de conversão alimentar ( $P < 0,001$ ) e a eficiência proteica ( $P = 0,003$ ) foram otimizadas em peixes que consumiram as dietas ALP e AC12, em comparação aos peixes alimentados com a dieta AC24. A taxa instantânea de

crescimento e retenção de nitrogênio foram maiores ( $P < 0,05$ ) em peixes alimentados com as dietas ALP e AC12, em relação aos peixes que consumiram a dieta AC24. Foi registrada baixa taxa de mortalidade ( $P < 0,05$ ) durante o experimento, não relacionada com as dietas utilizadas. Não houve efeito das dietas sobre índice hepatossomático ( $P = 0,850$ ) e gordura visceral ( $P = 0,454$ ) em peixes alimentados com dietas contendo diferentes níveis de aminoácidos cristalinos (Figura 3).

**Figura 3** – Taxa instantânea de crescimento (TIC) e retenção de nitrogênio (RN) de juvenis de tilápias do Nilo alimentados com dietas com aminoácidos ligados à proteína (ALP), 12% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos (AC12) e 24% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos (AC24). Barras representam erro padrão médio de oito aquários com 15 peixes cada. Letras diferentes representam diferenças pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).



### 2.3.2. Composição corporal e perfil de aminoácidos

A umidade corporal não foi afetada ( $P=0,825$ ) pelos níveis de aminoácidos cristalinos na dieta. Foi observado maior teor corporal de proteína bruta ( $P<0,001$ ) e cinzas ( $P<0,001$ ) nos peixes alimentados com dieta AC12, comparados aos peixes alimentados com as dietas ALP e AC24. A composição corporal de lipídeos foi maior ( $P<0,001$ ) nos peixes alimentados com dieta ALP, em comparação aos peixes alimentados com as dietas AC12 e AC24 (Tabela 4).

**Tabela 4** – Composição corporal ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos<sup>a</sup>.

Item	Dieta <sup>b</sup>			SEM	P
	ALP	AC12	AC24		
Umidade	70,11	70,03	69,99	0,1078	0,825
Proteína bruta	14,58 <sup>c</sup>	16,52 <sup>a</sup>	15,75 <sup>b</sup>	0,2068	<0,001
Lipídeos totais	9,98 <sup>a</sup>	7,35 <sup>c</sup>	8,51 <sup>b</sup>	0,2403	<0,001
Cinzas	4,58 <sup>c</sup>	5,49 <sup>a</sup>	5,06 <sup>b</sup>	0,1011	<0,001

<sup>a</sup> Os valores foram expressos como média ( $\pm$  SEM) de oito aquários. Valores com letras sobrescritas distintas indicam diferenças pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

<sup>b</sup> ALP, dieta com aminoácidos ligados à proteína dos alimentos, AC12, dieta com 12% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos e AC24, dieta com 24% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos.

Peixes alimentados com dietas ALP, AC12 e AC24 não apresentaram diferenças ( $P>0,05$ ) na composição corporal de aminoácidos essenciais e não essenciais (Tabela 5). Os dados de retenção de aminoácidos de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com aminoácidos ligados à proteína (ALP), 12% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos (AC12) e 24% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos (AC24), são apresentados na Tabela 6.

**Tabela 5** – Composição corporal de aminoácidos (g kg<sup>-1</sup>) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos<sup>a</sup>.

Item	Inicial	Dieta <sup>b</sup>			SEM	P
		ALP	AC12	AC24		
<i>Aminoácido essencial</i>						
Arginina	11,00	10,53	10,31	10,30	0,096	0,546
Fenilalanina	7,47	7,53	7,12	7,45	0,263	0,800
Histidina	4,10	4,09	4,01	4,10	0,027	0,279
Isoleucina	7,45	7,48	8,03	7,92	0,105	0,052
Leucina	12,09	12,66	13,37	13,73	0,232	0,142
Lisina	11,36	11,96	12,23	12,44	0,244	0,721
Metionina	3,45	3,78	3,88	3,79	0,028	0,310
Treonina	7,41	7,52	7,24	7,13	0,097	0,210
Triptofano	1,78	1,80	1,81	1,81	0,011	0,925
Valina	8,78	8,62	8,78	8,45	0,071	0,152
<i>Aminoácido não essencial</i>						
Ácido aspártico	14,87	15,76	15,03	15,62	0,195	0,265
Ácido glutâmico	22,11	23,21	22,30	23,13	0,241	0,221
Alanina	11,25	11,32	11,70	11,40	0,080	0,107
Cisteína	1,36	1,32	1,38	1,32	0,012	0,077
Glicina	14,15	14,14	13,87	14,14	0,135	0,624
Serina	7,62	7,64	7,32	7,36	0,106	0,397
Tirosina	5,86	5,84	5,65	5,73	0,206	0,927

<sup>a</sup> Os valores foram expressos como média ( $\pm$  SEM) de oito aquários.

<sup>b</sup> ALP, dieta com aminoácidos ligados à proteína dos alimentos, AC12, dieta com 12% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos e AC24, dieta com 24% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos.

A retenção de arginina, lisina, metionina, ácido aspártico, ácido glutâmico e cisteína, foram maiores ( $P < 0,05$ ) em peixes alimentados com as dietas ALP e AC12, em comparação a peixes alimentados com a dieta AC24. Foi observada maior ( $P < 0,05$ ) retenção corporal de fenilalanina, treonina, triptofano e glicina em peixes alimentados com a dieta AC12, em relação ao observado em peixes alimentados com as dietas ALP e AC24. A retenção corporal de histidina e isoleucina foi maior nos peixes alimentados com a dieta AC12 e AC24, em comparação com a retenção obtida em peixes alimentados com a dieta ALP (Tabela 6).

**Tabela 6** – Retenção de aminoácidos (%) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos<sup>a</sup>.

Item	Dieta <sup>b</sup>			SEM	P-value
	ALP	AC12	AC24		
<i>Aminoácido essencial</i>					
Arginina	33,9 <sup>a</sup>	37,94 <sup>a</sup>	40,57 <sup>b</sup>	0,87	0,004
Fenilalanina	37,46 <sup>ab</sup>	32,56 <sup>a</sup>	29,10 <sup>b</sup>	0,91	<0,001
Histidina	45,17 <sup>b</sup>	49,47 <sup>a</sup>	46,95 <sup>a</sup>	0,90	0,158
Isoleucina	42,85 <sup>b</sup>	48,20 <sup>a</sup>	45,75 <sup>a</sup>	0,91	0,056
Leucina	36,68	38,44	36,93	0,68	0,55
Lisina	63,73 <sup>a</sup>	66,30 <sup>a</sup>	56,27 <sup>b</sup>	1,41	0,007
Metionina	63,26 <sup>a</sup>	68,17 <sup>a</sup>	51,87 <sup>b</sup>	1,77	<0,001
Treonina	46,87 <sup>ab</sup>	49,90 <sup>a</sup>	43,80 <sup>b</sup>	0,98	0,038
Triptofano	43,91 <sup>ab</sup>	48,07 <sup>a</sup>	39,39 <sup>b</sup>	1,05	0,001
Valina	51,19	57,20	55,97	1,10	0,063
<i>Aminoácido não essencial</i>					
Ácido aspártico	65,83 <sup>a</sup>	67,24 <sup>a</sup>	37,98 <sup>b</sup>	2,92	<0,001
Ácido glutâmico	26,32 <sup>a</sup>	27,75 <sup>a</sup>	22,45 <sup>b</sup>	0,64	<0,001
Alanina	45,10	48,10	44,79	0,88	0,265
Cisteína	35,16 <sup>a</sup>	35,41 <sup>a</sup>	26,82 <sup>b</sup>	1,01	<0,01
Glicina	62,65 <sup>b</sup>	75,61 <sup>a</sup>	65,74 <sup>b</sup>	1,66	0,001

<sup>a</sup> Os valores foram expressos como média ( $\pm$  SEM) de oito aquários. Valores com letras sobrescritas distintas indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

<sup>b</sup> ALP, dieta com aminoácidos ligados à proteína dos alimentos, AC12, dieta com 12% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos e AC24, dieta com 24% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos.

Peixes alimentados com as dietas ALP e AC12 apresentaram maior retenção dos aminoácidos arginina, lisina, metionina, ácido aspártico, ácido glutâmico e cisteína, em comparação a peixes alimentados com a dieta AC24. Analisando as dietas com a suplementação de aminoácidos cristalinos, os aminoácidos fenilalanina, treonina e triptofano tiveram maior retenção em peixes alimentados com a dieta AC12 em comparação a dieta AC24. Peixes alimentados com as dietas AC12 e AC24, em comparação a dieta ALP, apresentaram maior retenção de histidina e isoleucina, enquanto que a retenção de glicina foi maior em peixes alimentados com a dieta AC12.

### 2.3.3. Aminoácidos plasmáticos

Houve interação ( $P=0,020$ ) entre dieta e tempo para o nível plasmático de metionina ( $P=0,020$ ) e treonina ( $P<0,001$ ). O pico do nível plasmático de metionina em peixes que receberam a dieta AC24 ocorreu após 240 min da alimentação. No entanto, o pico de metionina plasmática ocorreu com 480 min em peixes alimentados com as dietas ALP e AC12. Similarmente, foi observado interação entre dieta e tempo ( $P<0,001$ ), para o nível plasmático de treonina.

Peixes que receberam a dieta AC24 apresentaram pico de treonina 120 min após alimentação, enquanto o pico de treonina no plasma ocorreu com 240 min em peixes alimentados com as dietas ALP e AC12. Não foi observado efeito ( $P<0,05$ ) das dietas sobre os níveis plasmáticos de valina nos peixes, como observado na Tabela 7.



**Tabela 7** – Aminoácidos plasmáticos (nmol mL<sup>-1</sup>) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos<sup>a</sup>.

(continua)							
Tratamento	Dieta <sup>b</sup>	Tempo (min)	Arg	Lys	Met	Thr	Val
1	ALP	0	13,33	16,67	3,33 <sup>e</sup>	11,67 <sup>fg</sup>	10,00
2	AC12	0	11,67	16,67	10,00 <sup>cd</sup>	11,67 <sup>fg</sup>	10,00
3	AC24	0	13,33	16,67	10,00 <sup>cd</sup>	10,00 <sup>g</sup>	10,00
4	ALP	60	43,33	36,67	10,00 <sup>cd</sup>	13,33 <sup>efg</sup>	28,33
5	AC12	60	45,00	41,67	6,67 <sup>de</sup>	21,67 <sup>cdef</sup>	15,00
6	AC24	60	63,33	53,33	10,00 <sup>cd</sup>	21,67 <sup>cdef</sup>	21,67
7	ALP	120	41,67	36,67	10,00 <sup>cd</sup>	16,67 <sup>defg</sup>	33,33
8	AC12	120	35,00	40,00	10,00 <sup>cd</sup>	26,67 <sup>bcd</sup>	20,00
9	AC24	120	50,00	55,00	13,33 <sup>bc</sup>	33,33 <sup>b</sup>	30,00
10	ALP	240	36,67	30,00	13,33 <sup>bc</sup>	25,00 <sup>bcd</sup>	41,67
11	AC12	240	33,33	30,00	10,00 <sup>cd</sup>	30,00 <sup>bc</sup>	30,00
12	AC24	240	30,00	33,33	16,67 <sup>ab</sup>	33,33 <sup>b</sup>	193,33
13	ALP	480	30,00	26,67	16,67 <sup>ab</sup>	33,33 <sup>b</sup>	43,33
14	AC12	480	23,33	23,33	20,00 <sup>a</sup>	30,00 <sup>bc</sup>	50,00
15	AC24	480	23,33	23,33	10,00 <sup>cd</sup>	23,33 <sup>bcde</sup>	33,33
16	ALP	960	25,00	20,00	13,33 <sup>bc</sup>	60,00 <sup>a</sup>	30,00
17	AC12	960	10,00	16,67	13,33 <sup>bc</sup>	21,67 <sup>cdef</sup>	36,67
18	AC24	960	10,00	16,67	10,00 <sup>cd</sup>	21,67 <sup>cdef</sup>	36,67
EPM			2,262	1,802	0,669	1,746	8,996
Componentes principais							
Dieta	ALP		31,39	27,78 <sup>b</sup>	11,11	26,67	31,39
	AC12		26,39	28,06 <sup>b</sup>	11,67	23,61	26,94
	AC24		31,67	33,06 <sup>a</sup>	11,67	23,89	54,17
Tempo	0		12,78	16,67	7,78	11,11	10,00
	60		50,56	43,89	8,89	18,89	21,67
	120		42,22	43,89	11,11	25,56	27,78
	240		33,33	31,11	13,33	29,44	88,33
	480		25,56	24,44	15,56	28,89	42,22
	960		14,44	17,78	12,22	34,44	35,00

Continua

**Tabela 7** – Aminoácidos plasmáticos (nmol mL<sup>-1</sup>) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos<sup>a</sup>.

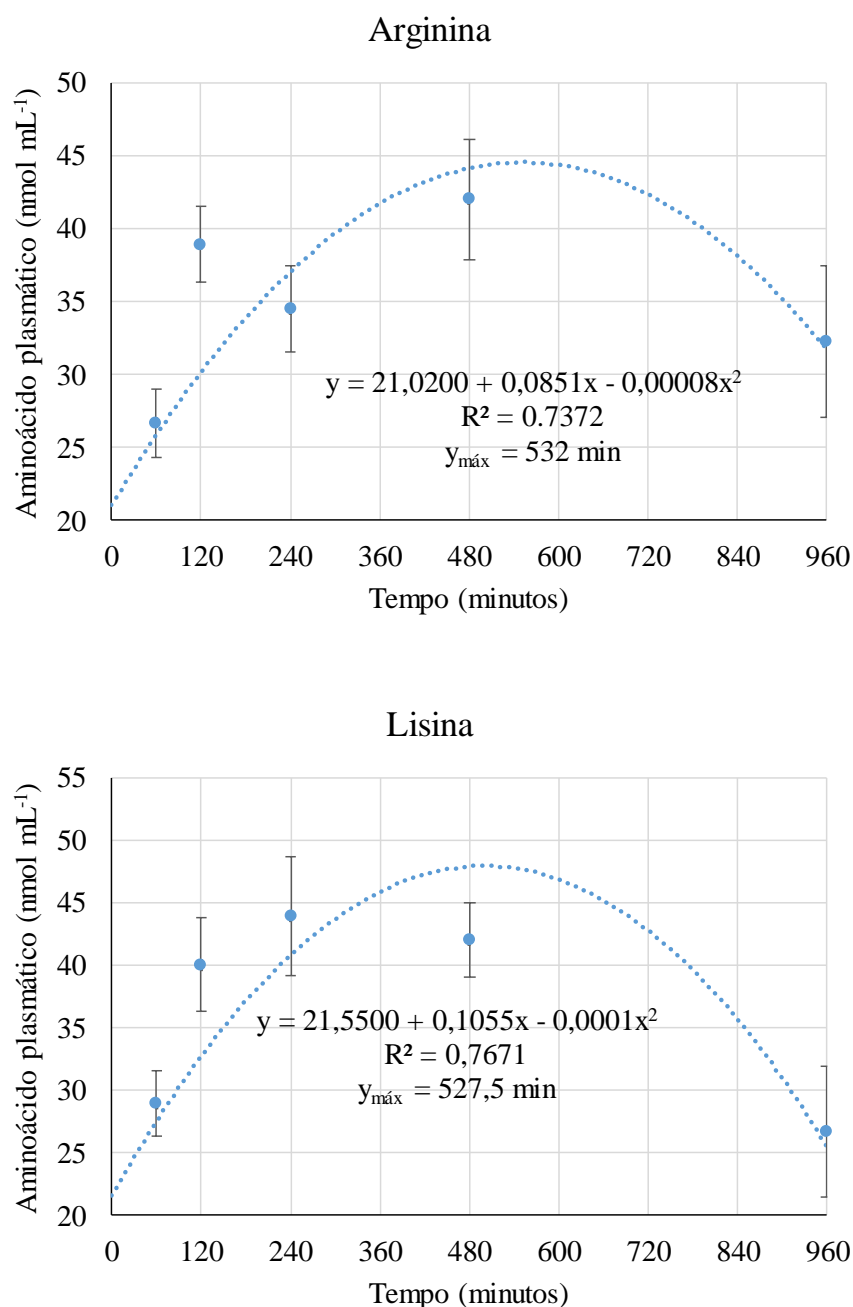
(conclusão)					
Valor de P					
Dieta	0,143	0,033	0,883	0,361	0,401
Tempo	<0,001	<0,001	0,001	<0,001	0,176
Dieta x tempo	0,131	0,095	0,020	<0,001	0,420

<sup>a</sup> Os valores foram expressos como média ( $\pm$  SEM) de oito aquários. Valores com letras sobrescritas distintas indicam diferenças pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

<sup>b</sup> ALP, dieta com aminoácidos ligados à proteína dos alimentos, AC12, dieta com 12% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos e AC24, dieta com 24% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos.

Avaliando o efeito isolado do tempo, foi observado efeito quadrático do tempo sobre os níveis plasmáticos de arginina e lisina, ocorrendo picos de absorção com 532 e 527,5 min, respectivamente, independente da fonte dos aminoácidos (Figura 4).

**Figura 4** – Concentração plasmática de arginina e lisina após alimentação de juvenis de tilápias do Nilo alimentados com dietas com aminoácidos ligados à proteína dos alimentos (ALP), dieta com 12% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos (AC12) e dieta com 24% da proteína dietética constituída por aminoácidos cristalinos (AC24). Barras representam erro padrão médio de oito aquário com 15 peixes cada. Foram utilizados polinômios ortogonais avaliar respostas linear e quadrática aos níveis de aminoácidos plasmáticos em diferentes tempos e alimentados com as dietas com diferentes concentrações de aminoácidos cristalino.



Fonte: Autor

Não foi observada interação ( $P < 0,05$ ) entre dieta e tempo para os níveis plasmáticos de arginina e lisina. Avaliando o efeito isolados, o nível plasmático de arginina não foi

influenciado pelas dietas. Por outro lado, foi observado maior nível plasmático de lisina em peixes que receberam a dieta AC24, não havendo diferenças nos níveis plasmáticos de lisina em peixes que consumiram as dietas ALP e AC12, ocorrendo somente efeito do tempo (Tabela 7).

#### 2.4. DISCUSSÃO

No presente estudo, peixes alimentados com dietas com 12% da proteína originada de aminoácidos cristalinos (AC12) apresentaram ganho de peso, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica semelhante aos peixes que receberam a dieta com proteína originada de aminoácidos ligados unicamente à proteína dos alimentos (ALP). Para participar com 12 e 24% da proteína dietética, os aminoácidos cristalinos foram suplementados nas dietas AC12 e AC24 na proporção de 59,3 g kg<sup>-1</sup> e 128,5 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente, na presente pesquisa. Por outro lado, a utilização de dietas com 24% da proteína originada de aminoácidos cristalinos, resultou em desempenho inferior ao obtido em peixes que consumiram as dietas ALP e AC12.

Tais dados, corroboram com estudos realizados para avaliar a utilização de concentrado proteico de milho, com suplementação de lisina, em dietas para alevinos de *Oreochromis niloticus*. Os autores concluíram que peixes que consumiram dietas suplementadas com 50 e 100 g kg<sup>-1</sup> de lisina apresentaram maior crescimento e conversão alimentar em relação aos que consumiram dieta com 190 g kg<sup>-1</sup> de lisina (KHALIFA *et al.*, 2018).

Semelhantemente, foi observado redução no crescimento de truta arco íris, alimentados com dietas com níveis de 500 g kg<sup>-1</sup> e 700 g kg<sup>-1</sup>, de concentrado proteico de soja, em substituição da proteína da farinha de peixe (TUSCHE *et al.*, 2012; ABDUL KADER e KOSHIO, 2012). As variações nos resultados podem estar relacionadas não somente ao nível de inclusão de aminoácidos cristalinos, mas ao intervalo de fornecimento da dieta reduzido (FURUYA *et al.*, 2005), ajuste do pH da dieta (WHITEMAN; GATLIN, 2005) e composição e valor nutritivo dos ingredientes utilizados (WU, 2009).

O balanço entre os aminoácidos essenciais dietéticos e os exigidos para o crescimento e manutenção, determina a eficiência proteica (PERES; OLIVA-TELES, 2006). Porém, a eficiência proteica é afetada não apenas pelo balanço entre aminoácidos essenciais, mas também pelos aminoácidos não essenciais (GREEN *et al.*, 2002). No presente estudo, os peixes alimentados com as dietas ALP e AC12, apresentaram maior eficiência proteica, comprovando assim, um adequado balanceamento de aminoácidos, e que disparidades na absorção de aminoácidos ligados a proteína e aminoácidos cristalinos, afetam a utilização da proteína.

Os menores valores de taxa de crescimento e conversão alimentar encontrados nos peixes alimentados com a dieta AC24 pode ser explicada pela rápida absorção dos aminoácidos na forma cristalina. Os aminoácidos na forma cristalina, chegam mais rapidamente na veia portal e subsequente degradação, comprometendo sua utilização e aproveitamento. A taxa de crescimento e conversão alimentar foram piores, em peixes alimentados com a dieta com maior teor de aminoácidos cristalinos, no presente estudo. Tais dados, estão de acordo com pesquisas realizadas, as quais encontraram que a taxa de crescimento e conversão alimentar foram piores em peixes alimentados com maiores níveis de aminoácidos cristalinos (MURAI *et al.*, 2011; AMBARDEKAR; REIGH; WILLIAMS, 2009; AMBARDEKAR; REIGH; 2007; PÉREZ-JIMENEZ *et al.*, 2014). Isso se deve a rápida absorção dos aminoácidos na forma cristalina, conseqüentemente, ao rápido aparecimento dos aminoácidos na veia portal, e subsequente degradação, comprometendo sua utilização e aproveitamento (AMBARDEKAR; REIGH; WILLIAMS, 2009).

A maior taxa de deposição lipídica em peixes alimentados com a dieta ALP e AC24, pode estar relacionada com a oxidação do esqueleto carbônico dos aminoácidos (WU, 2013). Além de, estar relacionada com diferenças na absorção de aminoácidos, como a L-lisina, o primeiro aminoácido limitante (FURUYA *et al.*, 2001). A suplementação de aminoácidos cristalinos na dieta da presente pesquisa, levou ao aumento da proteína bruta, cinzas e redução do teor de lipídeo corporal em peixes alimentados com dieta AC12. Esses resultados são consistentes com outras pesquisas, em tilápia do Nilo com suplementação de DL-metionina, L-lisina e L- treonina (FURUYA *et al.*, 2004), bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), com suplementação de níveis crescentes de L-lisina (AMBARDEKAR; REIGH; WILLIAMS, 2009).

Estudos avaliando dietas com deficiência em L-lisina com *black sea bream* (*Spondyliosoma cantharus*) (ZHOU *et al.*, 2010), salmão do atlântico (*Salmo salar*) (GRISDALE-HELLAND *et al.*, 2011) e perca (*Perca fluviatilis*) (YANG *et al.*, 2011), observaram redução no teor de lipídeos corporais. No presente estudo, a disparidade na absorção de aminoácidos cristalinos e ligados a proteína, resultou em diferenças na absorção e utilização de aminoácidos, como L-lisina, causando diferenças no teor de lipídeos corporais. A L-lisina participa do metabolismo da carnitina – participa do transporte de ácidos graxos de cadeia longa, do citoplasma para a mitocôndria, para realizar a  $\beta$ -oxidação (WALTON *et al.*, 1984; WU, 2013).

A retenção de nitrogênio, é um parâmetro validado para avaliar os efeitos da proteína dietética sobre o ganho de peso, uma vez que, o ganho de peso é resultado do acréscimo de

vários nutrientes, não apenas da proteína (TIDBALDI; TULLI, 1999). Neste estudo, a retenção de nitrogênio foi maior em peixes alimentados com a dieta ALP e AC12. Similarmente, outros autores relataram aumento na retenção corporal de nitrogênio em tilápias do Nilo alimentadas com dietas com níveis crescentes de L-treonina (SILVA *et al.*, 2006) e L-lisina (CAO *et al.*, 2012). A menor retenção corporal de nitrogênio observada nos peixes que consumiram a dieta com elevado nível de inclusão de aminoácidos cristalinos confirma a hipótese da imparidade na absorção de aminoácidos, em comparação aos aminoácidos ligados à proteína dos alimentos.

A absorção de aminoácidos e peptídeos, depende dos sistemas de transporte - proteínas responsáveis por reconhecer e transferir substratos específicos através da membrana do enterócito, e permitem que as células selecionem substratos específicos a partir de um *pool* de aminoácidos. Podem atuar sozinhas ou em conjunto. Eventualmente, o transporte de alguns aminoácidos requer gasto energético, e acoplamento de íons sódio e potássio, com quebra de ATP (adenosina trifosfato). Estes são considerados transportadores da membrana apical do enterócito Na<sup>+</sup> dependente, ou seja, ativo (FRENHANI; BURINI, 1999; MATTHEWS, 2000).

A atividade dos transportadores de aminoácidos e peptídeos no enterócito, é regulada pelos níveis de aminoácidos na borda em escova. Sendo que, variações que ocorrem na atividade absorptiva, dependem do custo da atividade de absorção dos transportadores, e da disponibilidade de nutrientes no lúmen, cuja presença, estimula a atividade dos transportadores (FRENHANI; BURINI, 1999). As diferenças significativas na retenção de aminoácidos, entre os peixes alimentados com diferentes níveis de aminoácidos cristalinos, pode ser devido a variações na disponibilidade e forma dos aminoácidos ou peptídeos presentes na borda em escova no momento da absorção. Sendo que, há transportadores específicos para certos aminoácidos, como glicina e cisteína (FRENHANI; BURINI, 1999).

A dinâmica de absorção de aminoácidos no plasma pode ser influenciada por vários fatores, como a forma dos aminoácidos nos ingredientes da dieta (PEREIRA; ROSA; GATLIN III, 2017); concentração de íons, afinidade de substratos, concentração de aminoácidos intracelulares, transportador de aminoácidos (FRENHANI; BURINI, 1999; MATTHEWS, 2000). Além disso, fatores como a frequência de alimentação (FURUYA *et al.*, 2005), atividade de enzimas (AMBARDEKAR; REIGH, 2007), baixa palatabilidade e síntese proteica reduzida (MURAI *et al.*, 2011), ingredientes da dieta (WU, 2009), qualidade da proteína e período de jejum podem afetar a absorção dos aminoácidos (SCHUHMACHER, 1993).

O pH da dieta, é um fator que pode afetar a dinâmica de absorção de aminoácidos (WHITEMAN; GATLIN, 2005; PARMA *et al.*, 2019). O pH gastrointestinal é responsável pela digestão adequada das proteínas dietéticas, pois prove um ambiente ótimo para ativação e ação

das enzimas digestivas (ILHAN *et al.*, 2017; PARMA *et al.*, 2019). Estudos avaliando o ajuste do pH da dieta, comprovaram que quando o pH da dieta foi ajustado, houve melhorias no desempenho de bagre do canal (WILSON *et al.*, 1997), carpa comum (NOSE *et al.*, 1974), *Sciaenops ocellatus* e *Morone chrysops* x *Morone saxatilis* (WHITEMAN; GATLIN, 2005). Portanto, neste estudo, o pH da dieta foi ajustado, para minimizar os efeitos do pH sobre a absorção dos aminoácidos. O pH do trato gastrointestinal, também está associado ao hábito alimentar, se onívoro ou carnívoro, e frequência alimentar (KROGDAHL *et al.*, 2015; YÚFERA *et al.*, 2012). Algumas espécies, como truta arco íris, e cobia (*Rachycentron canadum*), são caracterizados por uma secreção ácida contínua, e manutenção do pH gastrointestinal ácido, mesmo durante o período de jejum. Enquanto que, outras espécies apresentam pH gástrico neutro durante o jejum, seguido por liberação de ácido hidrolórico, após a ingestão de alimento (YÚFERA *et al.*, 2019; BUCKING *et al.*, 2009).

A frequência alimentar influencia vários fatores na digestão proteica, como a atividade enzimática e síntese proteica (FURUYA *et al.*, 2005). A atividade das enzimas digestivas é ativada principalmente pela presença do quimo no estômago, onde se inicia a digestão proteica (SILVA *et al.*, 2015). A frequência alimentar pode minimizar os efeitos negativos da rápida absorção dos aminoácidos na forma cristalina, provendo os aminoácidos necessários para a síntese proteica (FURUYA *et al.*, 2004). Uma vez que, diferenças no tempo de absorção de diferentes fontes de aminoácidos, pode reduzir a eficiência e síntese proteica, pois os aminoácidos cristalinos são absorvidos e catabolizados mais cedo que aminoácidos ligados a proteína (AMBARDEKAR; REIGH; WILLIAMS, 2009).

No presente estudo, o perfil corporal de aminoácidos de juvenis da tilápia do Nilo alimentados com as dietas experimentais sem e com aminoácidos cristalinos, não foi afetado pela dieta no presente estudo. De forma geral, há constância na composição corporal de aminoácidos de peixes teleósteos (MAMBRINI; KAUSHIK, 1995; AKIYAMA; OOHARA; YAMAMOTO, 2007), sendo a retenção dietética mais influenciada do que a composição corporal de aminoácidos, como observado em estudos realizados com tilápias do Nilo alimentadas com dietas com aminoácidos cristalinos (MICHELATO *et al.*, 2016).

O presente estudo comprova que a absorção de aminoácidos cristalinos ocorre mais rapidamente que aminoácidos ligados a proteína. Tais diferenças no perfil de absorção, comprometem o desempenho, composição corporal, retenção de aminoácidos com altos níveis de aminoácidos cristalinos na dieta. Portanto, é necessário levar em conta níveis de inclusão de aminoácidos cristalinos, pois possibilita a utilização de fontes proteicas de origem vegetal com

balanceamento de aminoácidos adequado, de forma sustentável ambiental e economicamente, na criação de tilápias.

## 2.5. CONCLUSÕES

Conclui-se que a suplementação de aminoácidos cristalinos até 12% da proteína bruta, equivale o desempenho produtivo, retenção de proteína, crescimento e conversão alimentar, de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas com aminoácidos ligados a proteína. Dietas com 24% da proteína originada de aminoácidos cristalinos reduz o desempenho produtivo por assincronia na absorção e utilização de aminoácidos.



## REFERÊNCIAS

- ABDUL KADER, M., D; KOSHIO, S. Effect of composite mixture of seafood by products and soybean proteins in replacement of fishmeal on the performance of red seabream *Pagrus major*. *Aquaculture*. v. 368-369, p. 95-102, 2012.
- AKIYAMA, T., OOHARA, I., YAMAMOTO, T. Comparison of essential amino acid requirements with A/E ratio among fish species. **Fish Science**. v. 63, p. 963–970, 2007.
- AMBARDEKAR, A. A., REIGH, R. C., WILLIAMS, M. B. Absorption of amino acids from intact dietary proteins and purified amino acid supplements follows different time-courses in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v. 291, p. 179–187, 2009.
- AMBARDEKAR, A. A.; REIGH, R. C. Sources and Utilization of Amino Acids in Channel Catfish Diets: A Review. **North American Journal of Aquaculture**, v. 69, n. 2, p. 174–179, 2007.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST, A. **AOAC Official Methods**. 17. ed. Arlington: Incorporated, 2002.
- BUCKING, C., WOOD, C.M. The effect of postprandial changes in pH along the gastrointestinal tract on the distribution of ions between the solid and fluid phases of chime in rainbow trout. *Aquaculture Nutrition*. v. 15, p. 282–296, 2009.
- CAMPION, D. R. The muscle satellite cells: a review. **International Review of Cytology**. v. 87, p. 225–251, 1984.
- CAO, J.M., CHEN, Y., ZHU, X., HUANG, Y.H., ZHAO, H.X., LI, G.L., LAN, H.B., CHEN, B., PAN, Q. A study on dietary L-lysine requirement of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. **Aquaculture Nutrition**. v.18, p.35-45, 2012.
- CHENG, Z., GATLIN, D. M., BUENTELLO, A. Dietary supplementation of arginine and/or glutamine influences growth performance, immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*). **Aquaculture**. v. 362-363, p. 39-43, 2012.
- FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals**. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/state-of-fisheries-aquaculture>>.
- FRENHANI, P.B; BURINI, R. Mecanismo de absorção de aminoácidos e oligopeptídeos: controle e implicações na dietoterapia humana. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 36, n. 4, p. 227–237, 1999.
- FURUYA, W. M., PEZZATO, L. E., PEZZATO, A. C., BARROS, M. M., MIRANDA, E. C. Coeficientes de Digestibilidade e Valores de Aminoácidos Digestíveis de Alguns Ingredientes para Tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 30, n.4, p. 1143-1149, 2001.
- FURUYA, W. M., PEZZATO, L.E., BARROS, M.M., PEZZATO, A.C., FURUYA, V.R.B.,

- MIRANDA, E.C. Use of ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in fishmeal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture Research**, v. 35, p. 1110–1116, 2004.
- FURUYA, W.M., BOTARO, D., MACEDO, R.M.G., SANTOS, V.G., SILVA, L.C.R., SILVA, T.C., FURUYA, V.R.B., SALES, P.J.P. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.34, n.5, p.1433-1441, 2005.
- GATLIN, D. M., BARROWS, F.T., BROWN, P., DABROWSKI, K., GAYLORD, T.G., HARDY, R.W., HERMAN, E., HU, G., KROGDAHL, A., NELSON, R., OVERTUF, K., RUST, M., SKONBERG, D., SOUZA, E.J., STONE, D., WILSON, R., WURTELE, E. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. **Aquaculture Research**, v. 38, n. 6, p. 551–579, 2007.
- GREEN, J. A., HARDY, R. W., BRANNON, E. L. The optimum dietary essential: nonessential amino acid ratio for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), which maximizes nitrogen retention and minimizes nitrogen excretion. **Fish Physiology Biochemistry**. v. 27, p. 109-115, 2002.
- GRISDALE-HELLAND, B., HATLEN, B., MUNDHEIM, H., HELLAND, S. J. Dietary lysine requirement and efficiency of lysine utilization for growth of Atlantic cod. **Aquaculture**. v. 315, p. 260-268, 2011.
- GUIMARÃES, I. G., PEZZATO, L. E., BARROS, M. M., TACHIBANA, L. Nutrient digestibility of cereal grain products and by-products in extruded diets for Nile tilapia. *Journal World Aquaculture Society*. v. 39, p. 781–789, 2008.
- ILHAN, Z.E., MARCUS, A.K., KANG, D.W., RITTMANN, B.E., KRAJ-MALNIK-BROWN, R. Ph mediated microbial and metabolic interactions in fecal enrichment cultures. **mSphere** 2, (e00047–0001), 2019.
- KHALIFA, N. S. A., BELAL, I. E. H., EL-TARABILY, K. A., TARIB, S., KASSABI, A. A. Evaluation of replacing fishmeal with corn protein concentrate in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fingerlings commercial diet. **Aquaculture Nutrition**, v. 24, p. 143–152, 2018.
- KROGDAHL, A., SUNDBY, A., HOLM, H. Characteristics of digestive processes in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Enzyme pH optima, chyme pH, and enzyme activities. **Aquaculture**. v. 449, 27–36, 2015.
- MAMBRINI, M., KAUSHIK, S. Indispensable amino acid requirements of fish: correspondence between quantitative data and amino acid profiles of tissue proteins. **Journal Applied Ichthyology**, v. 11, p. 240–247, 1995.
- MATTHEWS, J. C. Amino acid and peptide transport systems. *In: Farm Animal*. Wallingford: CABI Publishing, p. 3–23, 2000.
- MICHELATO, M., VIDAL, L.V.O., XAVIER, T.O., MOURA, L.B., ALMEIDA, F.L.S., PEDROSA, V.B., FURUYA, V.R.B., FURUYA, W.M. Dietary lysine requirement to enhance muscle development and fillet yield of finishing Nile tilapia. **Aquaculture**. v. 457, p. 124-130. 2016.

- MURAI, T., OGATA, H., HIRASAWA, Y., AKIYAMA, T., NOSE, T. Portal absorption and hepatic uptake of amino acids in rainbow trout diets containing casein or crystalline amino acids. **Nippon Suisan Gakkaishi**. v. 53, p. 1847–1859, 1987.
- MURAI, T., OGATA, H., HIRASAWA, Y., AKIYAMA, T., NOSE, T. Effects of dietary pH and electrolyte concentration of utilization of crystalline amino acids by fingerling carp. **Bulletin Japanese Society Science Fish**. v. 49, p. 1377–1380, 1983.
- MURAI, T., OGATA, H., HIRASAWA, Y., AKIYAMA, T., NOSE, T. Portal absorption and hepatic uptake of amino acids in rainbow trout force-fed complete diets containing casein or crystalline amino acids. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 53, n. 10, p. 1847–1859, 2011.
- NGUYEN, L., SALEM, S. M. R., SALZE, G. P., DINH, H., DAVIS, D. A. Optimizing amino acid balance in diets for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**. v. 515, 2020.
- NOSE, T., ARAI, S., LEE, D., HASHIMOTO, Y. A note on amino acids essential for growth of young carp. **Bulletin Japanese Society Science Fish**. v.40, p.903-908, 1974.
- NRC (National Research Council). **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. National Academy Press, Washington, DC, USA. 2011.
- NUNES, A. J. P., SÁ, M. V. C., BROWDLY, C. L., VAZQUEZ-ANON, M. Practical supplementation of shrimp and fish feeds with crystalline amino acids. **Aquaculture**. v. 431, p. 20-27, 2014.
- PARMA, L., YÚFERA, M., NAVARRO-GUILLÉN, C., MOYANO, F. J., SOVERINI, M., SOVERINI, M., D'AMICO, D., CANDELA, M., FONTANILLAS, R., GATTA, P. P., BONALDO, A. Effects of calcium carbonate inclusion in low fishmeal diets on growth, gastrointestinal pH, digestive enzyme activity and gut bacterial community of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles. **Aquaculture**. v. 510, p. 283-292, 2019.
- PEREIRA, R. T., ROSA, P. V, GATLIN III, D. M. Glutamine and arginine in diets for Nile tilapia: Effects on growth, innate immune responses, plasma amino acid profiles and whole-body composition. **Aquaculture**, v. 473, p. 135–144, 2017.
- PERES, H., OLIVA-TELES, A. Effect of the dietary essential to non-essential amino acid ratio on growth, feed utilization and nitrogen metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**. v. 256, p. 395-402, 2006.
- PERES, H., OLIVA-TELES, A. The effect of dietary protein in replacement by crystalline amino acid on growth and nitrogen utilization of turbot *Scophthalmus maximus* juveniles. **Aquaculture**. v. 250, p-755-764, 2005.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; PERES, H.; OLIVA-TELES, A. Effective replacement of protein-bound amino acids by crystalline amino acids in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**. v. 20, p. 60–68, 2014.
- PEZZATO, L. E., MIRANDA, E.C., BARROS, M.M., PINTO, L.G.Q., FURUYA, W.M., PEZZATO, A.C. Digestibilidade Aparente de Ingredientes pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 31, n. 4, p. 1595–1604, 2002.
- RAHIMNEJAD, K. S., LU, L., WANG, K., SONG, K., MAI, D. A., DAVIS, C. Replacement

of fishmeal with *Bacillus pumillus* SE5 and *Pseudozyma aphidis* ZR1 fermented soybean meal in diets for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). **Fish Shellfish Immunology**. v. 84, p. 987-997, 2019.

RAYNER, C. Protein hydrolysis of animal feeds for amino acid content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 33, p. 722-725. 1985.

ROBINSON, E. H. Improvement of cottonseed meal protein with supplemental lysine in feeds for channel catfish. **Journal of Applied Aquaculture**. v. 1, p. 1–14, 1991.

ROUBACH, R., GOMES, L. DE C., CHAGAS, E. C., LOURENÇO, P. **Nutrição e manejo alimentar na piscicultura**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2000.

SCHUHMACHER, A., GOLDBERG, M., SCHON, J., WAX, C., GROPP, J. M. Plasma amino acid levels in rainbow trout. **Journal of Applied Ichthyology**. v. 11, p. 309–316, 1993.

SCHUHMACHER, A., WAX, C., GROPP, J. M. Plasma amino acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed intact protein or a crystalline amino acid diet. *In: Aquaculture*. v.151, n.1, p.15-28, 1997.

SILVA, G. F., MACIEL, L. M., DALMASS, M. V., GONÇALVES, M. T. **Tilápia do Nilo - Criação e cultivo em viveiros no estado do Paraná Curitiba**. Curitiba: GIA, 2015.

SILVA, L.C., FURUYA, W.M., SANTOS, L.D., SANTOS, V.G., SILVA, T.S.C., PINSETTA, P.J. Níveis de treonina em rações para tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.35, n.4, p.1258-1264, 2006.

TANTIKITTI, C., MARCH, B. E. Dynamics of plasma free amino acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under variety of dietary conditions. *Fish Physiology Biochemistry*. v.14, p.179-194, 1995.

TIBALDI, E.; TULLI, F. Dietary threonine requirement of juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**. v.175, n.1-2, p.155-166, 1999.

TUSCHE, K., ARNING, S., WUERTZ, S., SUSENBETH, A., SCHULZ, C. Wheat gluten and potato protein concentrate- promising protein sources for organic farming of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**. v. 349, p. 120–125, 2012.

WALTON, M. J., COWEY, C. B., ANDRON, J. W. The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **British Journal of Nutrition**. v. 52, p. 115-122, 1984.

WHITEMAN, K., GATLIN III, D. M. Evaluation of crystalline amino acid test diets including pH adjustment with red drum (*Sciaenops ocellatus*) and hybrid striped bass (*Morone chrysops x Morone saxatilis*). **Aquaculture**. v. 248, p. 21–25, 2005.

WILSON, R.P., HARDING, D.E., GARLING Jr, D.L. Effect of dietary pH on amino acid utilization and lysine requirement of fingerling channel catfish. **Journal Nutrition**. v.107, p.166-170. 1977.

WU, G. **Amino acids: Biochemistry and Nutrition**. New York: CRC Press, 2013.

- WU, G. Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition. **Amino Acids**, v. 37, n. 1, p. 1–17, 2009.
- WU, P., SHI, J., YANG, C., ZHANG, F., LI, Y., CHEN, L., CHENG, J., ZHANG, J., CHU, W. Effects of short-term starvation on the rhythmic expression of microRNAs in skeletal muscle of goldfish (*Carassius auratus*). **Aquaculture Research**. v. 1, p. 1-12, 2017.
- WULLSCHLEGER, S., LOEWITH, R., HALL, M. TOR signaling in growth and metabolism. **Cell**, v. 124, n. 3, p. 471–484, 2006.
- YAMADA, S., SIMPSON, K., TANAKA, Y., KATAYAMA, T. Plasma amino acid changes in rainbow trout forced fed casein and corresponding crystalline amino acid mixture. **Bulletin of Japanese Society for Scientific Fisheries**. v.47, p. 1035–1040, 1981.
- YANG, F., AI, Q., MAI, K., XU, W., WANG, X. Dietary lysine requirement of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*, Richardson 1846) larvae. **Aquaculture Research**. v. 43, p. 917-928, 2011.
- YÚFERA, M., MOYANO, F. J., ASTOLA, A., POUSSÃO-FERREIRA, P., MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, G. Acidic digestion in a teleost: postprandial and circadian pattern of gastric pH, pepsin activity, and pepsinogen and proton pump mRNAs expression. **PLoS One** 7. V.3, e33687, 2012.
- YÚFERA, M., NGUYEN, M. V., NAVARRO-GUILLÉN M. C., MOYANO, F. J., JORDAL, A. E. O., ESPE, M., CONCEIÇÃO, L. E. E., ENGROLA, E., LE, M. H., RØNNESTAD, I. Effect of increased rearing temperature on digestive function in cobia early juvenile. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 230, p. 71-80, 2019.
- ZARATE, D. D., LOVELL, R. T. Free lysine (L-lysine /HCl) is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**. v. 159, p. 87–100, 1997.
- ZHOU, F., SHAO, J., XU, R., MA, J., XU, Z. Quantitative L-lysine requirement of juvenile black sea bream (*Spaurus macrocephalus*). **Aquaculture Nutrition**. v. 16, p. 194-204, 2010.

## CAPÍTULO 3

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de aminoácidos cristalinos é uma opção prática para adição em dietas para tilápia do Nilo para utilização de fontes proteicas de origem vegetal, de menor custo em relação aos alimentos de origem animal. É importante considerar o valor nutritivo e composição de aminoácidos dos alimentos, para evitar excessos ou deficiências de aminoácidos, que resultam em impactos negativos no crescimento dos peixes. Interferindo, conseqüentemente, nas respostas econômicas da produção, além do impacto ambiental, pela maior excreção de nitrogênio pelos peixes.

Considerando os dados da presente pesquisa, ainda que seja evidente que o pico plasmático de aminoácidos cristalinos ocorra anteriormente ao pico dos aminoácidos ligados à proteína dos alimentos. A elaboração de dietas com elevado valor nutritivo, a inclusão de aminoácidos cristalinos para compor até 12% da proteína bruta é recomendada para juvenis de tilápia do Nilo, sem afetar o desempenho produtivo de juvenis de tilápia do Nilo.

Com a evolução nos estudos sobre nutrição de tilápias, o melhor entendimento da expressão de genes relacionados ao metabolismo, particularmente proteico, é importante como ferramenta auxiliar para dar suporte aos resultados obtidos com as variáveis de desempenho produtivo rotineiramente avaliados.

A piscicultura contribui para o desenvolvimento social e econômico da aquicultura brasileira. Particularmente, a criação de tilápias, com modelos inovadores de criação e contínuo processo de melhoramento genético. Assim, há necessidade de constante atualização nos estudos sobre a nutrição, envolvendo também aspectos relacionados aos temas atuais sobre segurança alimentar, bem estar animal e dietas orientadas para reduzir o impacto ambiental originado da criação de peixes.