



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR - LABOMAR
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

CAROLINA CAVALCANTI FERNANDES VIEIRA

**COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE DA PROTEÍNA E DE
AMINOÁCIDOS DE INGREDIENTES DE ORIGEM ANIMAL E VEGETAL
UTILIZADOS EM DIETAS PARA O CAMARÃO *Litopenaeus vannamei***

FORTALEZA

2015

CAROLINA CAVALCANTI FERNANDES VIEIRA

**COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE DA PROTEÍNA E DE
AMINOÁCIDOS DE INGREDIENTES DE ORIGEM ANIMAL E VEGETAL
UTILIZADOS EM DIETAS PARA O CAMARÃO *Litopenaeus vannamei***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes.

FORTALEZA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

V714c Vieira, Carolina Cavalcanti Fernandes.

Coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e de aminoácidos de ingredientes de origem animal e vegetal utilizados em dietas para o camarão *Litopenaeus vannamei*. / Carolina Cavalcanti Fernandes Vieira. – 2015.

54 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2015.

Orientação: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes.

1. Digestibilidade. 2. Proteína. 3. Aminoácidos Essenciais. 4. Camarão Marinho. I. Título.

CDD 551.46

CAROLINA CAVALCANTI FERNANDES VIEIRA

**COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE APARENTE DA PROTEÍNA E DE
AMINOÁCIDOS DE INGREDIENTES DE ORIGEM ANIMAL E VEGETAL
UTILIZADOS EM DIETAS PARA O CAMARÃO *Litopenaeus vannamei***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes (Orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Rodrigo Antonio Ponce de Leon Ferreira de Carvalho

Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Dr. Hassan Sabry Neto

Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

A meu marido Allison.

A meus pais, Paulo e Lílian.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

A meu orientador, Professor Alberto Nunes.

A meu marido Allison Paulino, que sempre me apoiou, e foi meu grande incentivador nesta jornada. Love you!

A meus pais Paulo e Lílian, meu alicerce, porto seguro e exemplo de vida.

Aos meus irmãos Felipe e Rafael, meu sobrinho Pedro e minhas cunhadas Aline e Ana Luísa, por me proporcionarem sempre momentos muito felizes em família.

Aos amigos do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos - LANOA: Sandra, Junior, Hélio, Cristiane, Leandro, Felipe, Ricardo, Hassan, Michael e Rafael pela amizade, apoio, incentivo e lanches deliciosos!

Ao Laboratório de Biogeoquímica Costeira – Labomar/UFC, pela disponibilidade de seus equipamentos para liofilização das amostras.

A Evonik Degussa do Brasil Ltda. e Evonik Industries AG pelo apoio e realização das análises químicas dos ingredientes, excretas de camarões e das dietas utilizadas neste experimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de pesquisa concedida (Processo No. 138566/2013-5).

“Se não puder voar, corra.
Se não puder correr, ande.
Se não puder andar, rasteje.
Mas continue em frente, de qualquer jeito.”
(Marthin Luther King)

RESUMO

A determinação da digestibilidade é essencial para conhecer as exigências nutricionais da espécie cultivada, formular dietas de custo mínimo e assim minimizar a excreção de nutrientes na água. O presente estudo teve como objetivo avaliar a digestibilidade aparente da proteína e dos aminoácidos essenciais (EAA) de 12 matérias primas utilizadas na composição de rações comerciais para juvenis do camarão *Litopenaeus vannamei*. Foram estudados subprodutos de origem vegetal e oriundos do processamento de resíduos de animais terrestres e aquáticos: concentrado protéico de soja (SPC), glúten de milho (CGM), farelo de soja (SBM), farinha de trigo (WHF), farinha de vísceras e penas de aves (PBM), farinha de carne e ossos (MBM), farinha de penas (FEA), farinha de sangue (BLD), farinha de resíduos de tilápia (TLM), farinha de resíduos de peixes marinhos (FBM), farinha de resíduos do processamento de salmão (SLM) e farinha de krill (KLM). O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos ingredientes foi estimada mediante o método indireto, utilizando o marcador inerte óxido de cromo III (Cr_2O_3) a 10 g/kg (da dieta, base natural) em uma mistura referência (REF). Cada ingrediente teste foi incorporado a REF na proporção de 30-70. O estudo foi realizado em três etapas experimentais, com duração de 29-30 dias cada. A coleta de fezes ocorreu por sifonamento. Foram empregados camarões entre 6 e 8 g, estocados em 44 tanques de 61 L cada. Um total de 10 tanques foi designado para cada ingrediente teste, sendo quatro para uma dieta REF. Na despesca, a sobrevivência final dos camarões excedeu 96%. O peso corporal final exibiu uma correlação linear significativa com a PB e alguns EAA das dietas. No caso da PB, lisina e metionina, valores mais elevados desses nutrientes na dieta resultaram em pesos corporais mais elevados nos camarões. O CDA variou de 66,7% para a dieta contendo BLD para 84,2% para a dieta REF. Valores mais elevados de CDA foram observados para as proteínas aquáticas, comparado as vegetais e de animais terrestres. Com exceção do SPC (CDA = 79,3%), os demais ingredientes vegetais, SBM, CGM e WHF, tiveram um baixo CDA da proteína, entre 32,0 a 47,7%. Entre os ingredientes de animais terrestres, o CDA da proteína foi mais elevado na MBM, PBM, BLD e FEA (71,2, 62,8, 48,6 e 45,9%, respectivamente). Com exceção do KLM (61,6%), todas as demais proteínas aquáticas avaliadas alcançaram CDA da proteína superior a 80%. Conclui-se que as proteínas da TLM, FBM, SLM, são as que proporcionam maior aproveitamento da proteína e dos EAA no *L. vannamei*, enquanto a KLM é a que resulta em maior desempenho zootécnico.

Palavras-chave: digestibilidade, proteína, aminoácidos essenciais, camarão marinho.

ABSTRACT

The determination of digestibility is essential to meet the nutrient requirements of farmed animals, formulate on a least-cost basis and minimize excretion of nutrients in water. This study aimed at determining the apparent digestibility coefficients (ADC) for crude protein (CP) and essential amino acids (EAA) of 12 ingredients commonly used in the composition of shrimp feeds for the rearing of juvenile *Litopenaeus vannamei*. The following plant-derived feedstuffs, in addition to rendered animal by-products of terrestrial and aquatic origin were evaluated: soy protein concentrate (SPC), corn gluten meal (CGM), soybean meal (SBM), wheat flour (WHF), poultry and feather by-product meal (PBM), meat and bone meal (MBM), feather meal (FEA), blood meal (BLD), tilapia waste meal (TLM), Brazilian marine fish processing waste meal (FBM), salmon by-product meal (SLM) and krill meal (KLM). The ADC was estimated by the indirect method using an inert marker, chromium III oxide (Cr₂O₃), at 10 g/kg (as is basis) in a reference (REF) mixture. Each raw material was incorporated into the REF mixture at a 30-70 ratio. The study was conducted over three experimental stages, lasting 29-30 days each. Sampling of shrimp feces took place by syphoning. Shrimp of 6 and 8 g were stocked in 44 tanks of 61 L each. A total of 11 tanks were assigned to each test ingredient, four for the REF diet. At harvest, final shrimp survival exceeded 96%. Final shrimp body weight exhibited a significant linear correlation with dietary CP and EAA. In the case of CP, lysine and methionine, higher dietary levels of these nutrients resulted in increased shrimp body weights. ADC ranged from 66.7% for a diet containing BLD to 84.2% for the REF diet. Higher ADC were observed for aquatic proteins compared to plant and land animal proteins. Aside from SPC (ADC = 79.3%), other plant ingredients, SBM, CGM and WHF, showed a low ADC of protein, between 32.0 to 47.7%. Among land-animal by-products, ADC of protein was higher in MBM, PBM, BLD, and FEA (71.2, 62.8, 48.6 and 45.9%, respectively). With the exception of KLM (61.6%), ADCs of protein for all other aquatic ingredients exceeded 80%. It can be concluded that TLM, FBM, and SLM, resulted in a better utilization of protein and EAA by *L. vannamei*, while KLM promoted the highest growth performance.

Keywords: digestibility, protein, essential amino acids, marine shrimp.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Sala com tanques de cultivo para avaliação da digestibilidade aparente de nutrientes presentes em rações para alimentação de camarões marinhos.....	5
Figura 2. Procedimentos usados no processo de coleta de fezes dos camarões no sistema de digestibilidade <i>in vivo</i> . 1 , oferta de ração; 2 , imersão da bandeja contendo a dieta no tanque de cultivo; 3 , sifonamento de fezes; 4 , fezes úmidas coletadas.....	14
Figura 3. Peso corporal final de juvenis do camarão <i>L. vannamei</i> após 30 dias de cultivo em um sistema com recirculação e filtração contínua da água. Os camarões foram estocados na densidade de 5, 10, 15 e 20 camarões/tanque. Letras iguais indicam diferença estatística não significativa segundo o teste de Tukey HSD ao nível de $\alpha = 0,05$. Peso corporal inicial de $5,31 \pm 0,81$ g ($n = 390$).....	18
Figura 4. Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) e ajustado (CDA Aju.) da proteína bruta da dieta referência (REF) e das dietas contendo 30% dos ingredientes teste.....	25

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Composição (g/kg da dieta, matéria natural) da dieta e mistura referência (REF) usada na avaliação da digestibilidade aparente com juvenis do camarão <i>L. vannamei</i>	7
Tabela 2. Fornecedores e fabricantes dos ingredientes avaliados no presente estudo.....	9
Tabela 3. Conteúdo proteico e perfil aminoacídico (g AA/kg de dieta, base seca) dos ingredientes avaliados no estudo. Células com “-“ indica não detectável.....	10
Tabela 4. Cronograma de atividades de limpeza, alimentação e coleta de fezes de camarões no sistema de digestibilidade, adotado no presente estudo	13
Tabela 5. Desempenho zootécnico de juvenis do camarão <i>L. vannamei</i> em três etapas de cultivo. Os animais foram alimentados com uma dieta referência (REF) e com dietas testes (70% da dieta referência com 30% de ingredientes teste). As etapas 1, 2 e 3 duraram 30, 30 e 29 dias de cultivo. Os resultados são apresentados como média (\pm desvio padrão) de 10 tanques de cultivo (exceto dieta REF com quatro tanques em cada fase). Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ao nível de $\alpha = 0,05$ segundo o teste de Tukey HSD.....	20
Tabela 6. Conteúdo proteico e perfil aminoacídico (g AA/kg de dieta, base seca) da dieta referência (REF) e das dietas teste (30% do ingrediente teste com 70% mistura REF) avaliadas no estudo.....	22
Tabela 7. Correlação entre peso corporal final dos camarões e conteúdo proteico e aminoacídico das dietas avaliadas. Cada nutriente foi correlacionando com 1.282 observações de peso corporal final.....	24
Tabela 8. Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) de aminoácidos essenciais (EAA) da dieta referência (REF) e das dietas contendo 30% dos ingredientes teste.....	26

	Página
Tabela 9. Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da proteína bruta e de aminoácidos essenciais (EAA) em ingredientes utilizados na alimentação de juvenis do camarão <i>L. vannamei</i>	28
Tabela 10. Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) ajustado da proteína bruta e de aminoácidos essenciais (EAA) em ingredientes utilizados na alimentação de juvenis do camarão <i>L. vannamei</i>	29

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1. Métodos utilizados na determinação da digestibilidade aparente	2
2.1.1. Os marcadores inertes.....	3
3. MATERIAIS E MÉTODOS	4
3.1. Local do estudo e desenho experimental	4
3.2. Montagem e operação do sistema de digestibilidade <i>in vivo</i>.....	4
3.3. Validação do sistema de digestibilidade	6
3.4. Formulação da mistura referência e preparação das dietas.....	6
3.5. Ingredientes avaliados.....	8
3.6. Origem e cultivo de pós-larvas	12
3.7. Cultivo, alimentação e coleta de fezes dos camarões.....	12
3.8. Cálculo dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA)	15
3.9. Análises químicas.....	17
3.10. Análises estatísticas	17
4. RESULTADOS	17
4.1 Desempenho zootécnico na validação do sistema de digestibilidade	17
4.2 Desempenho zootécnico nos ensaios de digestibilidade.....	19
4.3. Conteúdo proteico e aminoacídico das dietas e a relação com o peso corporal final dos camarões	21
4.4. Coeficientes de digestibilidade das dietas.....	26
4.5. Coeficientes de digestibilidade dos ingredientes	28
5. DISCUSSÃO	31
6. CONCLUSÕES.....	35
REFERÊNCIAS	36

1. INTRODUÇÃO

A produção mundial de camarão marinho em cativeiro duplicou em 10 anos, passando de 1,8 milhões de ton. em 2003 para 3,8 milhões de ton. em 2013 (FAO, 2014). Mais de 2/3 de toda produção global é realizada com o camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei*. Entretanto, a despeito de sua relevância econômica, ainda se desconhece suas exigências quanto aos nutrientes dietéticos essenciais. Esta condição é exacerbada por não haver ainda informações precisas relativas à digestibilidade aparente da proteína bruta e dos aminoácidos essenciais presentes em matérias primas comumente empregadas em rações comerciais para a engorda da espécie (DAVIS *et al.*, 2002).

No passado, os estudos sobre a nutrição de organismos aquáticos tinham como objetivo compreender aspectos relacionados ao desempenho zootécnico e os efeitos sobre a composição corporal dos animais. Entretanto, novas imposições ambientais e econômicas relacionadas ao lançamento de efluentes gerados pela carcinicultura e a escassez e alto custo da proteína da farinha de peixe, levaram a busca por rações mais eficientes, com nutrientes biologicamente disponíveis (LEE & LAWRENCE, 1997). Esta condição tem levado a um número crescente de estudos sobre a digestibilidade de ingredientes utilizados na composição de rações balanceadas para camarões (CRUZ-SUÁREZ *et al.*, 2009; LEMOS *et al.*, 2009; TERRAZAS-FIERRO *et al.*, 2010; CARVALHO, 2011; OUIFARD *et al.*, 2015; CARVALHO *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2013).

A importância da digestibilidade resulta da necessidade de conhecer a disponibilidade biológica dos nutrientes dietéticos para uma determinada espécie presentes em matérias primas utilizadas na alimentação animal. Uma ração pode ser balanceada para atender todas as exigências nutricionais da espécie. Porém, os nutrientes brutos presentes no alimento podem não proporcionar um bom desempenho ao organismo, por estes não serem digestíveis ou apresentarem características que deterioram seu valor biológico. Portanto, a qualidade de uma ração depende, em grande parte, de sua digestibilidade ou valor biológico (GLENCROSS *et al.*, 2007). Os fabricantes de ração precisam ter acesso a uma ampla variedade de matérias primas a fim de desenvolver formulações nutricionais e econômicas que levem em conta o conteúdo de nutrientes e sua disponibilidade. Conseqüentemente, a identificação de ingredientes mais adequados, do ponto de vista nutricional, requer uma avaliação detalhada do seu valor biológico.

O termo digestibilidade refere-se à quantidade ou proporção de nutrientes ou de categorias de nutrientes, como a proteína bruta, que “desaparece” através do sistema digestivo

e é excretado pelas fezes (NRC, 2011). A determinação da digestibilidade é essencial tanto para formular dietas de custo mínimo, como também para conhecer as exigências nutricionais da espécie cultivada e minimizar a excreção de nutrientes na água de cultivo. Portanto, o desenvolvimento de rações mais eficientes e menos impactantes do ponto de vista ambiental requer a realização de estudos de digestibilidade *in vivo* a fim de que estas sejam formuladas na base digestível e não na base bruta (CRUZ-SUÁREZ *et al.*, 2002; GLENCROSS *et al.*, 2007; NUNES *et al.*, 2014).

O objetivo do presente estudo foi determinar a digestibilidade aparente da proteína e dos aminoácidos essenciais para juvenis do camarão *L. vannamei* de 12 matérias primas obtidas do processamento de resíduos de animais terrestres e aquáticos e de subprodutos de origem vegetal.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Métodos utilizados na determinação da digestibilidade aparente

Em estudos de nutrição, a determinação da digestibilidade é fundamental para que se possa conhecer e avaliar a qualidade nutricional de uma dieta, quantificando a proporção de nutrientes ou energia absorvida do alimento que não é excretada nas fezes (NRC, 2011).

A determinação da digestibilidade aparente é um método bastante utilizado para mensurar a disponibilidade de um nutriente, quanto o este é absorvido pelo animal (LEE & LAWRENCE, 1997) e direcionado para crescimento e metabolismo. Utiliza-se o termo “aparente” por supor que o material fecal venha contaminado por fragmentos de alimento não consumido, células da mucosa estomacal, bactérias, enzimas digestivas (CÓRDOVA-MURUETA *et al.*, 2003), além de excretas provenientes da urina e das guelras (NRC, 2011).

A digestibilidade aparente pode ser determinada através de três métodos: (1) método *in vivo* direto; (2) método *in vivo* indireto; e, método *in vitro*. Os métodos de coleta *in vivo* diretos e indiretos necessitam da coleta de material fecal. Estes são utilizados para determinar a digestibilidade aparente, tanto do nutriente isoladamente ou de uma dieta utilizada para alimentar um determinado organismo aquático (NRC, 2011).

O método *in vivo* direto ou gravimétrico ou de coleta total, consiste na quantificação de nutrientes ingeridos e excretados, através da coleta total de ração não ingerida e fezes dos organismos cultivados (LEE & LAWRENCE, 1997). O grande desafio é separar o material fecal do restante de excrementos (*i.e.*, ração não consumida, excretas urinárias, etc.) que são gerados após a alimentação do animal. A maior vantagem deste método é a redução nas

perdas ocasionadas pela lixiviação dos nutrientes da dieta e das fezes. Em contrapartida, sua maior desvantagem está em forçar o animal a ingerir toda a alimentação que foi ofertada, podendo ocasionar estresse ao animal, interferir na digestibilidade e no seu processo metabólico (NRC, 2011). Este é o método mais preciso para a determinação da digestibilidade aparente (LEE & LAWRENCE, 1997), porém seu uso se tornou limitado por demandar bastante tempo e mão de obra (SMITH & TABRETT, 2004).

O método *in vivo* indireto baseia-se na coleta de uma amostra de fezes e utiliza um marcador inerte adicionado à ração. A digestibilidade dos nutrientes é determinada comparando-se a concentração do marcador encontrado nas fezes em relação a concentração incorporada nas dietas (NRC, 2011). Conseqüentemente, a validade deste método depende de uma medição precisa do marcador, tanto no alimento como nas fezes. Em seguida, é feita a coleta e análise de sua concentração e do nutriente na dieta ingerida e nas fezes do animal, possibilitando assim o cálculo da digestibilidade aparente pela proporção entre os compostos antes (dieta) e após a ingestão (fezes).

O método *in vitro* é utilizado em diferentes espécies animais para a avaliação da digestibilidade da proteína em dietas completas e matéria primas. A avaliação da capacidade digestiva dos camarões é simulada de forma espécie-específica com enzimas do próprio sistema digestivo (hepatopâncreas) dos camarões (LEMOS & NUNES, 2008; LEMOS *et al.*, 2009). O desenvolvimento deste método para avaliar a qualidade dos ingredientes ou dietas para camarões é uma demanda mundial, entretanto, antes de ser aplicado, deve ser validado comparando-o com os coeficientes de digestibilidade aparente obtidos por métodos *in vivo* (LEE & LAWRENCE, 1997).

2.1.1. Os marcadores inertes

Os marcadores inertes são substâncias utilizadas para determinar a digestibilidade *in vivo* indireta. O marcador precisa ser fisiologicamente inerte, não pode ser absorvido no trato digestivo do animal, devendo percorrer o trato digestivo ao mesmo ritmo que o alimento ingerido (SMITH & TABRETT, 2004). Atualmente, o método *in vivo* emprega marcadores inertes (óxido crômico, acetato de itérbio, dióxido de titânio), que são incluídos em dietas experimentais (SMITH & TABRETT, 2004; SMITH *et al.*, 2007).

O óxido de crômio (Cr_2O_3) é o marcador mais comumente utilizado em ensaios de digestibilidade *in vivo* em espécies aquáticas (JONES & DE SILVA, 1997). Este marcador de cor verde não altera as características organolépticas das dietas, é praticamente insolúvel em água, não é tóxico e pode ser facilmente quantificado nas fezes (HERNÁNDEZ *et al.*, 2008).

Fenucci *et al.* (1982) comprovaram que o óxido de cromo é um excelente marcador para organismos aquáticos ao determinar que não houve lixiviação ou degradação bacteriana de proteína, carboidratos e óxido de cromo dos alimentos e das fezes até 6 h de imersão em água.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Local do estudo e desenho experimental

Os estudos de digestibilidade foram realizados no Centro de Estudos em Aquicultura Costeira (CEAC) do Instituto de Ciências do Mar (Labomar) da Universidade Federal do Ceará, localizado no município do Eusébio, Estado do Ceará. Foram analisados 12 ingredientes usados na composição de rações comerciais para camarões marinhos, sendo quatro subprodutos de origem vegetal (SPC, concentrado proteico de soja; CGM, glúten de milho; SBM, farelo de soja; WHF, farinha de trigo), quatro oriundos de resíduos do abate de animais terrestres (PBM, farinha de vísceras e penas de aves; MBM, farinha de carne e ossos; FEA, farinha de penas; BLD, farinha de sangue) e quatro de animais aquáticos (TLM, farinha de resíduos de tilápia; FBM, farinha de resíduos de peixes marinhos; SLM, farinha de resíduos de salmão; KLM, farinha de krill).

Para o estudo, camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* foram cultivados em laboratório da fase de pós-larva 10 (PL₁₀) até um peso corporal entre 6 a 8 g, quando foram estocados em 44 tanques com 61 L cada. Foram designados 10 tanques para cada ingrediente teste, sendo quatro para uma dieta referência utilizada em cada uma das etapas experimentais.

A digestibilidade aparente dos ingredientes foi estimada mediante o método indireto, utilizando o marcador inerte óxido de cromo III (Cr₂O₃) a 10 g/kg (da dieta, base natural) de inclusão em uma mistura referência. Cada ingrediente teste foi incorporado a mistura referência na proporção de 300 g/kg. O estudo foi realizado em três etapas experimentais de forma consecutiva, com duração de 29 a 30 dias cada. A coleta de fezes ocorreu por sifonamento.

3.2. Montagem e operação do sistema de digestibilidade *in vivo*

Um sistema para estudos de digestibilidade *in vivo* em camarões foi montado e validado para determinação da digestibilidade aparente de ingredientes utilizados em rações para juvenis do camarão *L. vannamei*. O sistema foi composto por 44 caixas de

cor azul (Marfinite Produtos Sintéticos Ltda., Itaquaquecetuba, SP) com capacidade individual de 61 L e dimensões internas de 31,0 x 35,5 x 55,5 cm (altura x largura x comprimento). As caixas foram posicionadas em dupla sob uma bancada de madeira com 55 x 75 x 95 cm (Figura 1).



Figura 1. Sala com tanques de cultivo para avaliação da digestibilidade aparente de nutrientes presentes em rações para alimentação de camarões marinhos.

Cada tanque foi equipado com um sistema individual de abastecimento e drenagem de água salgada filtrada e aeração constante provinda de uma casa de sopradores equipada com três compressores radiais de ar, trifásicos, com 2 cv de potência (Ibram Indústria Brasileira de Máquinas e Equipamentos, São Paulo, SP). A qualidade da água dos tanques de cultivo foi mantida por uma linha de filtragem que compreendeu um filtro mecânico de areia de alta vazão (Dancor S.A. Indústria Mecânica, Rio de Janeiro, RJ) e dois reservatórios com 5 m³ de capacidade cada. A água de cultivo foi mantida em regime constante de recirculação e filtragem durante o cultivo dos camarões, não havendo, portanto, a necessidade de troca de água ao longo dos estudos. Havendo somente a reposição, quando necessário.

O fluxo de entrada e saída de água de cada tanque de cultivo foi ajustado com a finalidade de agilizar o processo de coleta de resíduos, inclusive as fezes dos camarões. A

entrada de água ocorreu através de um cano perfurado direcionado para o fundo do tanque em posição longitudinal, ao lado contrário ao ponto de coleta de resíduos e fezes. Isto permitiu o carreamento e a concentração de todos os resíduos para um único lado do tanque. A drenagem de água ocorreu superficialmente por um cano que controlava o nível máximo de água. O fluxo de água de cada tanque obedecia a uma vazão entre 15,65 e 21,81 L/h (entre 26,1% e 36,4% por tanque por hora).

3.3. Validação do sistema de digestibilidade

Uma validação do sistema de digestibilidade foi realizada para garantir que o mesmo apresentava condições adequadas para o crescimento de juvenis do camarão *L. vannamei*. Esta avaliação também teve como objetivo determinar o número mais adequado de camarões a serem estocados por tanque em função do desempenho zootécnico (crescimento e sobrevivência final) e quantidade de fezes excretada. A validação consistiu na estocagem de camarões juvenis com um peso corporal médio de $5,31 \pm 0,81$ g ($n = 390$) em 44 tanques de cultivo. Os animais foram estocados nas densidades de 5, 10, 15 e 20 camarões/tanque, o equivalente a 82, 164, 246 e 327 camarões/m³. Foram designadas 11 repetições (*i.e.*, 11 tanques) para cada densidade de estocagem avaliada. Os camarões foram alimentados duas vezes ao dia em bandejas de alimentação com uma ração comercial para engorda de camarões. A despesca ocorreu após 30 dias de cultivo.

3.4. Formulação da mistura referência e preparação das dietas

A fórmula de uma mistura referência (REF) utilizada nas avaliações de digestibilidade aparente dos ingredientes animais e vegetais foi desenvolvida utilizando o software de formulação linear Feedsoft® Enterprise 2010 (Feedsoft Corporation, Richardson, Texas, EUA). A mistura REF foi formulada com ingredientes práticos para satisfazer plenamente as exigências nutricionais reportados na literatura para o *L. vannamei* (NRC, 2011; Tabela 1). Para avaliação da digestibilidade, 70% da mistura REF foi adicionada a 30% do ingrediente teste, previamente moído (NRC, 2011). Portanto, a mistura REF serviu como veículo para permitir aos camarões o consumo dos ingredientes avaliados.

Foram utilizados equipamentos laboratoriais para preparação das dietas experimentais. O processo de preparação iniciou-se com a moagem (moinho industrial da marca Vieira, modelo 280 com potência de 5 cv) dos ingredientes vegetais em malha com 300 µm.

Subsequentemente, as farinhas animais foram individualmente peneiradas manualmente em malha de 600 µm. O óxido de cromo, o colesterol, o premix vitamínico-mineral e a farinha e o glúten de trigo não foram submetidos à moagem ou ao peneiramento, pois já apresentavam uma fina granulometria.

Tabela 1. Composição (g/kg da dieta, matéria natural) da dieta e mistura referência (REF) usada na avaliação da digestibilidade aparente com juvenis do camarão *L. vannamei*.

Ingredientes	Inclusão (g/kg, base natural)
Farelo de soja ¹	349,6
Farinha de trigo ²	250,0
Farinha de salmão ³	150,0
Concentrado proteico de soja ⁴	80,0
Farinha de vísceras de aves ⁵	60,0
Lecitina de soja	25,0
Farinha de glúten de trigo	20,0
Farinha de krill ⁶	20,0
Óleo de salmão	20,0
Premix mineral-vitamínico ⁷	15,0
Óxido de cromo III	10,0
Colesterol ⁸	0,40

¹Indústria e Comercio de Rações Dourado Ltda. (Eusébio, CE). 476 g/kg proteína bruta (PB), 32 g/kg extrato etéreo (EE), 61 g/kg cinzas, 42 g/kg fibra bruta (FB), 103 g/kg umidade, 3.859 kcal/kg energia bruta (EB), 14 g/kg metionina (Met), 35 g/kg lisina (Lis);

²Moinhos Cruzeiro do Sul S/A (Olinda, PE). 134 g/kg (PB), 22 g/kg EE, 12 g/kg cinzas, 8 g/kg FB, 110 g/kg umidade, 4.043 kcal/kg EB, 2 g/kg Met, 3 g/kg Lis;

³Pesqueira Pacific Star (Puerto Montt, Chile). Farinha de resíduos do processamento de salmão cultivado. 628 g/kg (PB), 107 g/kg EE, 160 g/kg cinzas, 1 g/kg FB, 99 g/kg umidade, 4.559 kcal/kg EB, 17g/kg Met, 46 g/kg Lis. Cortesia da InVivo Nutrição e Saúde Animal Ltda.;

⁴Sementes Selecta S.A. (Goiânia, GO). 626 g/kg PB, 8 g/kg EE, 42 g/kg cinzas, 43 g/kg FB, 82 g/kg umidade, 4.017 kcal/kg EB, 13 g/kg Met, 59 g/kg Lis;

⁵Kabsa S.A. (Porto Alegre, Brazil). Farinha de vísceras *pet grade* (grau animais de companhia). 667 g/kg PB, 171 g/kg EE, 97 g/kg cinzas, 24 g/kg umidade, 5.127 kcal/kg EB, 13 g/kg Met, 32 g/kg Lis;

⁶QRILL™ meal, Aker Biomarine ASA (Oslo, Noruega). 590 g/kg PB, 180 g/kg EE, 130 g/kg cinzas; 60 g/kg FB, 71 g/kg umidade, 4.610 kcal/kg EB, 19 g/kg Met, 38 g/kg Lis;

⁷Rovimix Camarões. DSM Produtos Nutricionais Brasil Ltda. (São Paulo, SP). Níveis de garantia por kg de produto: vitamina A, 1.000.000 UI; vitamina D3, 300.000 UI; vitamina E, 15.000 UI; vitamina K3, 300 mg; vitamina B1, 3.000 mg; vitamina B2, 2.500 mg; vitamina B6, 3.500 mg; vitamina B12, 6,0 mg; ácido nicotínico, 10,000 mg; ácido pantotênico, 5.000 mg; biotina, 100 mg; ácido fólico, 800 mg; vitamina C, 25.000 mg; colina, 40.000 mg; inositol, 20.000 mg; ferro 2.000 mg; cobre, 3.500 mg; cobre quelado, 1.500 mg; zinco, 10.500 mg; zinco quelado, 4.500 mg; manganês, 4.000 mg; selênio, 15 mg; selênio quelado, 15 mg; iodo, 150 mg; cobalto, 30 mg; cromo 80 mg; veículo, 1,000.0 g.

⁸Cholesterol XG, Dishman Netherlands B.V. (Veenendaa, Holanda). 91 g/kg de colesterol ativo segundo o fabricante.

Após a moagem, todos os ingredientes sólidos foram pesados em balança eletrônica de precisão (Ohaus Adventurer, Toledo do Brasil, São Paulo, SP) e misturados em um homogeneizador em Y durante 10 min. a 30 RPM. Em seguida, os ingredientes líquidos foram incorporados a esta mistura em uma bateadeira planetária industrial para massas (G. Paniz, modelo BP-12 Super, Caxias do Sul, RS) durante 10 min. Após este período, água doce a uma temperatura 92°C, foi adicionada à mistura de ingredientes na proporção de 350 mL para cada 1 kg de ingrediente, sendo misturado por um tempo adicional de 10 min. Esta mistura foi então submetida à extrusão em uma extrusora de expansão a seco para laboratório (Micro extrusora para laboratório com capacidade para 15 kg/h, EXTEEC Máquinas, Ribeirão Preto, SP), equipada com uma matriz de 1,8 mm e faca para corte dos *pellets*.

Durante a extrusão os *pellets* úmidos foram distribuídos em bandejas de aço inox para secagem a 65°C em uma estufa com circulação e renovação de ar durante cerca de 2 h. A massa foi revirada a cada 10 min. de secagem, ocasião em que se coletou alíquotas para a determinação do teor de umidade em um analisador rápido de umidade com lâmpada halôgena (MB35 Moisture Analyzer, Ohaus Corporation. New Jersey, EUA) a fim de se alcançar uma umidade homogênea em todas as dietas. Findo o processo de secagem, as dietas foram resfriadas à temperatura ambiente, embaladas em sacos plásticos, identificadas e armazenadas em câmara fria sob temperatura de -22°C.

3.5. Ingredientes avaliados

Foram analisados 12 ingredientes comerciais comumente empregados na composição de rações para camarões marinhos, sendo quatro subprodutos de origem vegetal (SPC, concentrado proteico de soja; CGM, glúten de milho; SBM, farelo de soja; WHF, farinha de trigo), quatro oriundos de resíduos do abate de animais terrestres (PBM, farinha de vísceras e

penas de aves; MBM, farinha de carne e ossos; FEA, farinha de penas; BLD, farinha de sangue) e quatro de animais aquáticos (TLM, farinha de resíduos de tilápia; FBM, farinha de resíduos de peixes marinhos; SLM, farinha de resíduos de salmão; KLM, farinha de Krill). Todos os ingredientes foram obtidos de fabricantes, usuários finais ou adquiridos no mercado local (Tabela 2).

Tabela 2. Fornecedores e fabricantes dos ingredientes avaliados no presente estudo.

Ingrediente	Fornecedor/Fabricante
SPC	Concentrado proteico de soja. Sementes Selecta S.A. (Goiânia, GO)
CGM	Protenose®. Ingredion Brasil (São Paulo, SP)
SBM	Farelo de Soja 46. Bunge Alimentos S.A. (Luis Eduardo Magalhães, BA)
WHF	Dona Benta Tipo 1, J. Macedo S.A. (Fortaleza, CE)
PBM	Farinha de penas e vísceras de aves. Cortesia da Guaraves Guarabira Aves Ltda. (Guarabira, PB)
MBM	Farinha de carne e ossos 40. Nordal Nordeste Derivados de Animais Ltda. (Maracanaú, CE)
FEA	Farinha hidrolisada de penas. Nordal Nordeste Derivados de Animais Ltda. (Maracanaú, CE)
BLD	Farinha de sangue seca por pulverização (spray-dried). Cortesia da InVivo Nutrição e Saúde Animal Ltda. (São Lourenço da Mata, PE).
TLM	Farinha de resíduos da filetagem de tilápia cultivada. Cortesia da InVivo Nutrição e Saúde Animal Ltda. (São Lourenço da Mata, PE)
FBM	Farinha de resíduos da filetagem de peixes marinhos da pesca extrativista. Cortesia da InVivo Nutrição e Saúde Animal Ltda. (São Lourenço da Mata, PE)
SLM	Farinha de resíduos do processamento de salmão cultivado. Pesqueira Pacific Star (Puerto Montt, Chile)
KLM	QRILL™ meal, Aker Biomarine ASA (Oslo, Noruega)

Tabela 3. Conteúdo proteico e perfil aminoacídico (g AA/kg de dieta, base seca) dos ingredientes avaliados no estudo. Células com “-“ indica não detectável.

Perfil Nutricional	Ingredientes ¹ /Perfil de Aminoácidos (g de AA/kg do ingrediente, base seca)											
	SPC ²	CGM ²	SBM ²	WHF ²	PBM ²	MBM ³	FEA ²	BLD ²	TLM ²	FBM ³	SLM ²	KLM ³
Matéria seca	943,3	933,4	901,3	867,0	936,2	921,2	916,7	891,5	928,9	922,0	914,1	915,5
Proteína bruta	618,9	573,8	483,3	119,9	628,7	397,4	749,9	863,6	579,6	617,7	657,9	649,5
Aminoácidos essenciais												
Arginina	44,0	19,3	34,5	5,3	41,2	29,2	50,3	38,2	37,5	40,1	37,9	39,7
Histidina	16,0	12,7	12,9	2,7	10,0	5,0	7,8	53,7	14,5	9,1	15,7	15,2
Isoleucina	27,8	22,9	22,0	4,0	25,3	8,6	36,1	12,6	16,4	25,4	24,0	31,6
Leucina	47,0	92,2	36,4	8,0	44,6	17,9	62,3	109,9	31,1	45,5	42,9	49,7
Lisina	36,2	10,1	28,9	3,0	26,5	17,0	18,9	73,8	32,4	25,0	43,4	46,3
Metionina	8,2	15,1	6,4	1,8	9,3	4,5	5,6	8,8	12,9	8,6	16,6	17,9
Met + Cis ⁴	16,3	25,7	13,6	4,4	27,3	6,5	43,5	16,6	16,9	27,0	21,6	22,5
Fenilalanina	30,9	35,0	24,5	5,5	25,5	10,9	37,3	58,6	18,4	27,1	23,6	37,1
Treonina	24,0	19,4	18,8	3,2	25,2	10,0	34,7	35,9	21,2	26,2	25,5	27,5
Triptófano	7,9	3,3	6,5	1,4	5,0	-	5,5	12,8	3,6	-	5,8	8,3
Valina	29,1	26,8	23,1	4,9	33,2	12,8	55,0	73,9	21,3	36,7	29,5	32,3

Cont. **Tabela 3.**

Perfil Nutricional	Ingredientes ¹ /Perfil de Aminoácidos (g de AA/kg do ingrediente, base seca)											
	SPC ²	CGM ²	SBM ²	WHF ²	PBM ²	MBM ³	FEA ²	BLD ²	TLM ²	FBM ³	SLM ²	KLM ³
Aminoácidos não essenciais												
Alanina	-	-	-	-	-	32,1	-	-	-	35,3	-	35,2
Cisteína	8,1	10,5	7,2	2,5	17,7	2,1	38,1	7,8	4,1	18,5	5,0	4,5
Glicina	-	-	-	-	-	69,5	-	-	-	55,5	-	30,4
Serina	-	-	-	-	-	14,0	-	-	-	47,2	-	25,8
Prolina	-	-	-	-	-	41,9	-	-	-	52,0	-	23,3
Aspartato	-	-	-	-	-	26,2	-	-	-	45,5	-	67,7
Glutamina	-	-	-	-	-	43,9	-	-	-	69,9	-	83,9

¹SPC, concentrado proteico de soja; CGM, glúten de milho; SBM, farelo de soja; WHF, farinha de trigo; PBM, farinha de vísceras e penas de aves; MBM, farinha de carne e ossos; FEA, farinha de penas; BLD, farinha de sangue; TLM, farinha de resíduo de tilápia; FBM, farinha de resíduo de peixes marinhos; SLM, farinha de resíduo de salmão; KLM, farinha de Krill.

²Analizado por NIRS (Espectrometria de infravermelho próximo). Fonte: Evonik Degussa do Brasil Ltda. (São Paulo, SP).

³Analizado por HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Precisão). Fonte: Evonik Industries AG (Hanau, Alemanha).

⁴TSAA, aminoácido total sulfurado.

Os ingredientes apresentaram um conteúdo proteico variando entre 397,4 g/kg (MBM) a um máximo de 863,6 g/kg (BLD). O perfil de aminoácidos apresentou ampla variação em função da origem do ingrediente, vegetal ou animal, terrestre ou aquática (Tabela 3).

3.6. Origem e cultivo de pós-larvas

Os camarões utilizados na pesquisa foram adquiridos na larvicultura comercial Aquatec Aquacultura Ltda. (Canguaretama, RN), na fase de pós-larva 10 (PL10). Após a chegada no laboratório, os animais foram cultivados em tanques berçários circulares com 23 m³ com aeração contínua até atingirem o peso corporal de 1 g. Subsequentemente, foi feita uma seleção, sendo os animais com 1 g ou mais de peso corporal transferidos para tanques com 0,5 m³ em sistema de recirculação em água clara. Durante esse período, foi ofertada ração comercial para camarões marinhos. Ao alcançarem o peso médio de 7 g, foi realizada uma seleção através de pesagem individual, e então, transferidos para o sistema de digestibilidade.

3.7. Cultivo, alimentação e coleta de fezes dos camarões

O estudo foi realizado em três etapas consecutivas (etapa 1, 2 e 3) utilizando camarões juvenis com peso corporal médio (\pm desvio padrão) de 6,95 \pm 0,36 g ($n = 440$; $P = 0,263$, ANOVA), 7,33 \pm 0,60 g ($n = 440$; $P = 0,602$, ANOVA) e 7,31 \pm 0,42 g ($n = 440$; $P = 0,585$, ANOVA), respectivamente. Para início dos trabalhos, os animais foram aclimatados ao sistema de digestibilidade por três dias sendo alimentados em excesso unicamente com a dieta REF às 0800, 1300 e 1600 h (Tabela 4).

A partir do 4º dia após a estocagem dos camarões foi iniciada a coleta de fezes, realizada sempre após a total retirada de resíduos de ração da alimentação anterior. A partir do 4º dia, foi iniciada a alimentação dos animais com suas respectivas dietas. Para cada dieta foi designado um total de 10 tanques, exceto a dieta REF utilizada em todas as etapas experimentais em quatro tanques. Os camarões foram alimentados sempre em excesso, utilizando bandejas de alimentação. O ajuste das refeições foi realizado estimando o consumo alimentar de forma visual, tendo como base a quantidade de sobras de ração encontrada na bandeja de cada tanque.

Tabela 4. Cronograma de atividades de limpeza, alimentação e coleta de fezes de camarões no sistema de digestibilidade, adotado no presente estudo.

Horário	Atividade
0720 h	Limpeza do sistema
0800 h	1ª alimentação
0900 h	Retirada de sobras de ração
0925 h	1ª coleta de fezes
1015 h	2ª coleta de fezes
1300 h	2ª alimentação
1400 h	Retirada de sobras de ração
1425 h	3ª coleta de fezes
1515 h	4ª coleta de fezes
1600 h	3ª alimentação

A metodologia para remoção de fezes dos tanques de cultivo foi baseada no sifonamento, técnica mais comumente empregada em trabalhos de digestibilidade *in vivo* com camarões (CRUZ-SUÁREZ *et al.*, 2008). Através de uma mangueira imersa na água que percorria manualmente todo o fundo do tanque de cultivo, tanto os resíduos de ração não consumida, oriunda de alimentações anteriores, como as fezes dos camarões, foram recuperadas para descarte ou armazenamento (Figura 2). A mangueira foi guiada para depositar estes materiais em uma bandeja feita de PVC soldável com 50 mm de diâmetro por 10 cm de altura, tendo fixada no fundo, uma malha de 83 μ m.

De forma a evitar a contaminação das fezes com resíduos de ração de uma alimentação anterior, o que poderia comprometer as interpretações de digestibilidade, horários preestabelecidos de coleta foram adotados (Tabela 2). Os resíduos de ração não consumida foram coletados 1 h após cada alimentação. Este procedimento foi seguido de duas coletas consecutivas de fezes, a 1ª e a 2ª realizadas 1,25 e 2,15 h, respectivamente, após a oferta das dietas nos tanques de cultivo. Este período é suficiente para permitir a evacuação gástrica de mais da metade do alimento consumido pelos camarões (NUNES & PARSONS, 2000). A coleta de fezes não foi realizada nos tanques onde se observava muda ou camarão morto, pois frequentemente, havia a ingestão de sua carapaça recém mudada e também dos animais mortos que se depositavam no fundo do tanque.

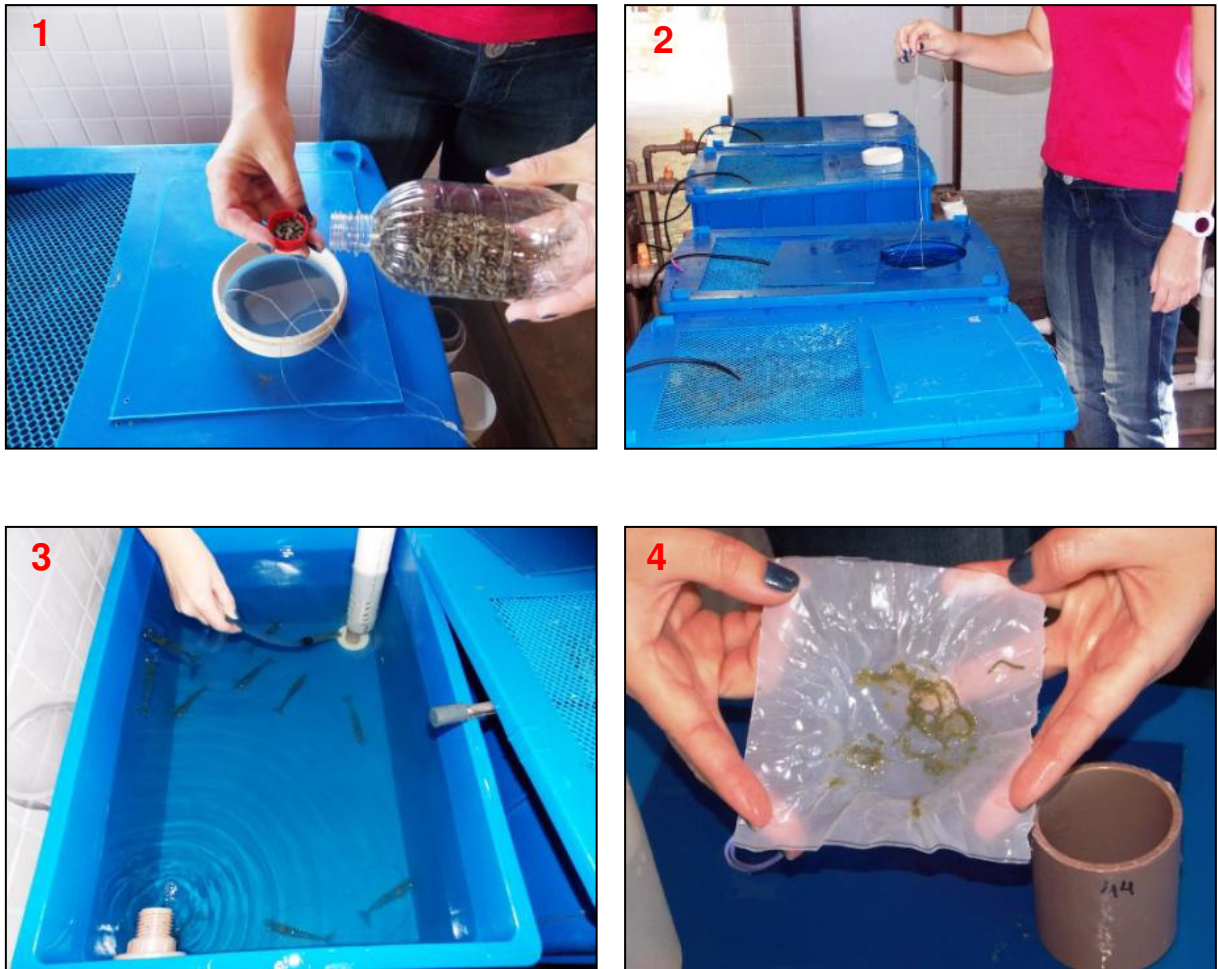


Figura 2. Procedimentos usados no processo de coleta de fezes dos camarões no sistema de digestibilidade *in vivo*. **1**, oferta de ração; **2**, imersão da bandeja contendo a dieta no tanque de cultivo; **3**, sifonamento de fezes; **4**, fezes úmidas coletadas.

Imediatamente após o sifonamento, as fezes foram retiradas das malhas com o auxílio de uma pinça, lavadas em água destilada, armazenadas em potes devidamente identificados com o número do tanque e acondicionadas em *freezer* sob temperatura de -23°C até o final do experimento. Ao término das três etapas experimentais, as amostras de fezes foram liofilizadas (liofilizador Litop, modelo L101, Liobras Comércio e Serviço de Liofilizadores, São Carlos, SP) e armazenadas em câmara fria a -13°C .

O cultivo dos camarões durou entre 29 e 30 dias quando se obteve um mínimo de 10 g de fezes seca por tratamento dietético. Ao término do cultivo, os camarões foram contados e pesados individualmente em balança de precisão e a quantidade de dieta ofertada e fezes

coletada por tratamento contabilizadas. Findo o período de cultivo, os camarões remanescentes foram pesados, contados e descartados. Com estes dados foi possível calcular a sobrevivência final (%) dos camarões, o peso corporal final (%), o crescimento semanal (g), a biomassa final (g) e o consumo alimentar aparente (g de ração por camarão estocado).

Durante as diferentes etapas experimentais, a temperatura, oxigênio dissolvido, pH e salinidade da água mantiveram-se uniformes e em níveis adequados para o cultivo de camarões marinhos.

3.8. Cálculo dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA)

Os coeficientes de digestibilidade aparente foram estimados mediante o método indireto ou com uma mistura referência contendo o marcador inerte óxido de crômio III (Cr_2O_3) a 10 g/kg. Através deste método, a digestibilidade do nutriente de interesse é estimada baseando-se no enriquecimento das fezes do animal com o indicador da digestão comparado ao nível presente na dieta (NRC, 2011).

Inicialmente a quantidade de Cr_2O_3 nas dietas experimentais e nas fezes dos camarões foi usada para determinar o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da proteína bruta e dos aminoácidos presentes na dieta referência (REF) e nas dietas contendo os ingredientes teste de acordo com a fórmula:

$$\text{CDA} = 100 - \left[100 \left(\frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 f}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 d} \right) \times \left(\frac{\% \text{N} f}{\% \text{N} d} \right) \right] \quad \text{onde,} \quad (1)$$

CDA = coeficiente de digestibilidade aparente do nutriente (proteína bruta e aminoácido) na dieta;

$\text{Cr}_2\text{O}_3 d$ = % de óxido de crômio na dieta;

$\text{Cr}_2\text{O}_3 f$ = % de óxido de crômio presente nas fezes dos camarões;

$\text{N} d$ = conteúdo do nutriente (proteína bruta e aminoácido, base seca) na dieta;

$\text{N} f$ = conteúdo do nutriente (proteína bruta e aminoácido, base seca) presente nas fezes dos camarões.

Em seguida, determinaram-se os coeficientes de digestibilidade da proteína bruta e dos aminoácidos (CHO & SLINGER, 1979; BUREAU *et al.*, 1999; BUREAU & HUA, 2006) dos ingredientes testes submetidos a avaliação, aplicando-se a seguinte fórmula:

$$CDA_{\text{ing. teste}} = CDA_{\text{dieta teste}} + \left[(CDA_{\text{dieta teste}} - CDA_{\text{dieta ref.}}) \times \left(\frac{0,7 \times D_{\text{ref}}}{0,3 \times D_{\text{ing.}}} \right) \right]$$

onde, (2)

$CDA_{\text{ing. teste}}$ = coeficiente de digestibilidade aparente (proteína bruta e aminoácido) do ingrediente teste;

$CDA_{\text{dieta teste}}$ = coeficiente de digestibilidade aparente (proteína bruta e aminoácido) da dieta teste;

$CDA_{\text{dieta ref.}}$ = coeficiente de digestibilidade aparente (proteína bruta e aminoácido) da dieta referência;

D_{ref} = percentual do nutriente (proteína bruta e aminoácido, base natural) na dieta referência;

$D_{\text{ing.}}$ = percentual do nutriente (proteína bruta e aminoácido, base natural) no ingrediente avaliado.

Para ajustar os coeficientes de digestibilidade aparente as perdas por lixiviação dos nutrientes quando imersos em água foi empregada a equação apresentada por Cruz-Suárez *et al.* (2007, 2009):

$$\% \text{ NL} = \frac{[N_{\text{dieta}} \times 100 - N_{\text{diw}} (100 - \% \text{DML})]}{N_{\text{dieta}}} \quad \text{onde,} \quad (3)$$

$\% \text{ NL}$ = % de lixiviação do nutriente em água salgada antes da ingestão alimentar;

N_{dieta} = concentração do nutriente (proteína bruta e aminoácido, base seca) na dieta após fabricação;

N_{diw} = concentração do nutriente (proteína bruta e aminoácido, base seca) após a imersão em água salgada (35 g/L, 28°C) durante 1 h;

$\% \text{DML}$ = % de matéria seca da dieta lixiviada em água salgada (35 g/L, 28°C) durante 1 h.

3.9. Análises químicas

O conteúdo proteico e aminoacídico das dietas preparadas e lixiviadas em água salgada e das fezes dos camarões foram analisadas mediante Cromatografia Líquida de Alta Precisão (HPLC, Evonik Industries AG, Hanau, Alemanha). O conteúdo proteico e aminoacídico dos ingredientes foram analisados por HPLC ou através de Espectrometria de Infravermelho Próximo (NIRS, Evonik Degussa do Brasil Ltda., São Paulo, SP). O óxido de crômio (III) presente nas dietas preparadas e nas fezes dos camarões foi determinado por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (NEVES, 2008) foi realizada no Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências (Botucatu, SP).

3.10. Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas com o programa Statistical Package for Social Sciences, versão Windows 15 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, EUA). A Análise de Variância Univariada (ANOVA) foi aplicada para determinar as diferenças estatísticas no desempenho zootécnico dos camarões entre as dietas. O teste *a posteriori* de Tukey HSD foi utilizado para examinar as diferenças estatísticas individuais entre dietas, quando observadas diferenças estatísticas ao nível de significância de 0,05. Para análise de correlação entre as variáveis de desempenho zootécnico dos camarões e o perfil nutricional das dietas, empregou-se o coeficiente de correlação de Pearson.

4. RESULTADOS

4.1 Desempenho zootécnico na validação do sistema de digestibilidade

Os camarões cultivados no sistema de digestibilidade em regime de recirculação e filtragem contínua da água apresentaram crescimento e sobrevivência adequados (Figura 3). Ao término do cultivo, foi alcançada uma sobrevivência média de 97,2%. Houve uma leve tendência de decréscimo na sobrevivência final dos camarões com um aumento da densidade de estocagem. Para as densidades de 5, 10, 15 e 20 camarões/tanque foi alcançada uma sobrevivência final de 100,0, 99,1, 94,5 e 95,0%, respectivamente. No entanto, em todos os casos, a sobrevivência apresentou-se adequada e compatível com o sistema de cultivo, manejo e interferência imposta durante o cultivo pela coleta diária de fezes em cada tanque de cultivo.

Na despesca, o peso corporal dos camarões decresceu de forma significativa na densidade de 20 camarões/tanque ($7,19 \pm 0,15$ g; $P < 0,05$, Tukey HSD, Figura 3) em relação às demais densidades. Isto indicou que a densidade de 20 camarões/tanque pode ter ocasionado um detrimento no ganho de peso dos animais. Nas demais densidades de estocagem, os camarões alcançaram um peso médio de $8,21 \pm 0,08$ ($n = 320$, $P > 0,05$). Estes resultados indicam que entre 5 a 15 camarões/tanque não ocorreu efeito deletério no ganho de peso dos animais, enquanto sob 20 animais/tanque, o ganho de peso ficou comprometido.

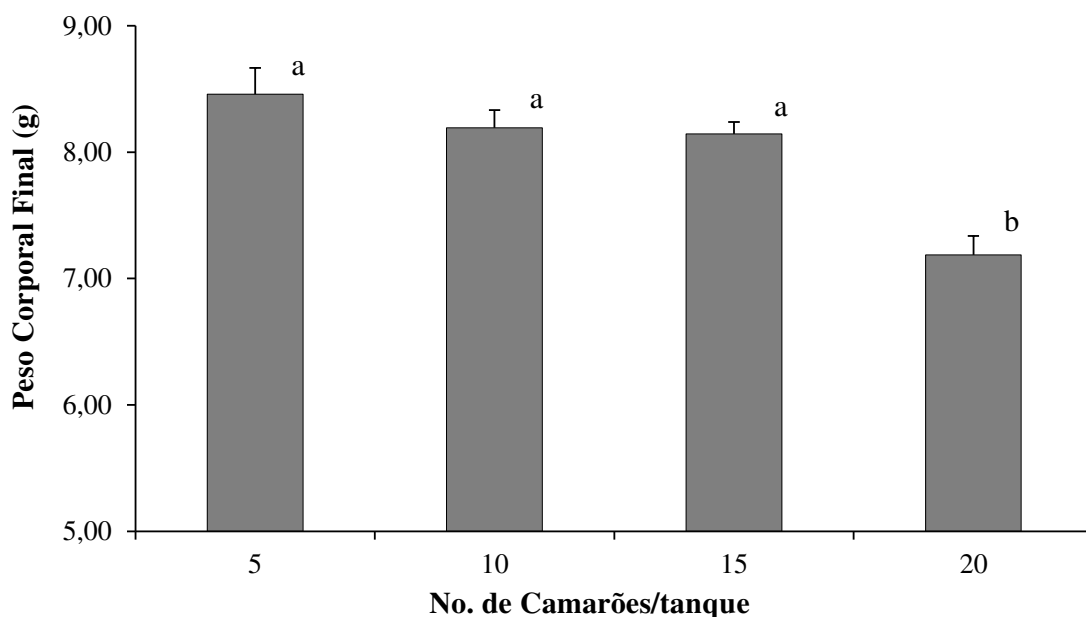


Figura 3. Peso corporal final de juvenis do camarão *L. vannamei* após 30 dias de cultivo em um sistema com recirculação e filtragem contínua da água. Os camarões foram estocados na densidade de 5, 10, 15 e 20 camarões/tanque. Letras iguais indicam diferença estatística não significativa segundo o teste de Tukey HSD ao nível de $\alpha = 0,05$. Peso corporal inicial de $5,31 \pm 0,81$ g ($n = 390$).

A quantidade diária de fezes coletada por animal decresceu progressivamente com um aumento na densidade de estocagem. Nas densidades de 5, 10, 15 e 20 camarões/tanque foi coletado 0,10, 0,06, 0,05 e 0,04 g/camarão (peso na base natural), respectivamente. Ao longo de um período de nove dias, a densidade de 15 e 20 camarões/tanque (6,7 e 7,0 g/tanque, respectivamente) proporcionaram uma maior quantidade de fezes em relação aos tratamentos com 5 e 10 camarões/tanque (4,3 e 5,5 g/tanque, respectivamente). Portanto, em densidades mais elevadas é possível acumular mais rapidamente a quantidade necessária de fezes para

realização de análises químicas de nutrientes associados aos ensaios de digestibilidade *in vivo*. Conclui-se que a densidade que proporcionou um melhor equilíbrio entre o desempenho zootécnico dos camarões e a quantidade de fezes produzida no sistema foi a de 10 camarões/tanque.

4.2 Desempenho zootécnico nos ensaios de digestibilidade

Na maioria das etapas e tratamentos experimentais, a sobrevivência final dos camarões excedeu 96% (Tabela 5). Exceção foi observada para os tratamentos dietéticos que continham 30% de SBM ($88,0 \pm 12,3\%$) e WHF ($95,0 \pm 12,7\%$). Os demais parâmetros de desempenho zootécnico dos camarões variaram estatisticamente em resposta a dieta empregada ($P < 0,05$).

Na 1ª etapa experimental, o peso corporal final dos camarões foi mais baixo com as dietas contendo CGM e PBM comparado com as dietas REF e aquelas com SPC e TLP ($P < 0,05$, Tukey HSD). Uma resposta semelhante foi observada para o crescimento semanal. Os camarões alimentados com REF, SPC ou TLP alcançaram um crescimento semanal entre $0,75 \pm 0,06$ e $0,81 \pm 0,09$ g, enquanto aqueles alimentados com as dietas CGM e PBM exibiram crescimento entre $0,62 \pm 0,06$ e $0,66 \pm 0,06$ g ($P < 0,05$, Tukey HSD). O menor consumo de ração foi observado para a dieta PBM ($13,0 \pm 0,5$ g), seguido da CGM ($13,6 \pm 0,2$ g), TLP ($13,7 \pm 0,3$ g), REF ($14,6 \pm 0,1$ g) e SPC ($15,0 \pm 0,1$ g). A biomassa final de camarões foi menor para aqueles alimentados com as dietas contendo CGM e PBM em comparação aos cultivados com as dietas SPC, REF e TLP ($P < 0,05$, Tukey HSD).

Na 2ª etapa experimental, o peso corporal final dos camarões não diferenciou-se entre aqueles alimentados com REF ($10,30 \pm 1,32$ g) e SLM ($10,60 \pm 1,22$ g). Porém, os camarões alimentados com SBM ($9,74 \pm 1,40$ g), MBM ($9,80 \pm 1,07$ g) e FBM ($10,05 \pm 1,10$ g) apresentaram peso corporal estatisticamente inferior em relação as dietas REF e SLM ($P < 0,05$, Tukey HSD). O maior crescimento semanal foi alcançado com a dieta contendo SLM ($0,76 \pm 0,07$ g), seguido da dieta REF ($0,66 \pm 0,07$ g) e FBM ($0,64 \pm 0,10$ g). A biomassa final dos camarões também foi mais elevada quando estas dietas foram empregadas no cultivo dos camarões. Por sua vez, o consumo de ração não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos dietéticos ($P > 0,05$, ANOVA).

Tabela 5. Desempenho zootécnico de juvenis do camarão *L. vannamei* em três etapas de cultivo. Os animais foram alimentados com uma dieta referência (REF) e com dietas testes (70% da dieta referência com 30% de ingredientes teste). As etapas 1, 2 e 3 duraram 30, 30 e 29 dias de cultivo. Os resultados são apresentados como média (\pm desvio padrão) de 10 tanques de cultivo (exceto dieta REF com quatro tanques em cada fase). Letras iguais indicam diferença estatística não significativa ao nível de $\alpha = 0,05$ segundo o teste de Tukey HSD.

Etapa/ Dieta ¹	Sobrevivência Final (%)	Peso Final (%)	Biomassa Final (g)	Crescimento Semanal (g)	Consumo (g/camarão)
1					
REF	100,0 \pm < 0,1	10,38 \pm 1,01a	103,8 \pm 1,7a	0,80 \pm 0,03a	14,6 \pm 0,1a
SPC	99,0 \pm 3,16	10,24 \pm 1,01a	101,4 \pm 4,8ab	0,75 \pm 0,06a	15,0 \pm < 0,1a
CGM	100,0 \pm < 0,1	9,55 \pm 0,76b	95,5 \pm 2,6c	0,62 \pm 0,06b	13,6 \pm 0,2b
PBM	99,0 \pm 3,16	9,79 \pm 0,88b	96,9 \pm 3,2bc	0,66 \pm 0,06b	13,0 \pm 0,5c
TLP	99,0 \pm 3,16	10,42 \pm 0,90 ^a	103,1 \pm 5,5a	0,81 \pm 0,09a	13,7 \pm 0,3b
2					
REF	100,0 \pm < 0,1a	10,30 \pm 1,32a	97,9 \pm 9,7ab	0,66 \pm 0,07ab	14,7 \pm 0,2
SBM	88,0 \pm 12,3b	9,74 \pm 1,40b	84,8 \pm 14,9a	0,57 \pm 0,18a	13,9 \pm 0,3
MBM	98,0 \pm 4,2a	9,80 \pm 1,07b	96,0 \pm 5,9ab	0,58 \pm 0,13a	13,8 \pm 0,3
FBM	98,0 \pm 4,2a	10,05 \pm 1,10b	98,5 \pm 7,1b	0,64 \pm 0,10ab	13,4 \pm 0,3
SLM	97,0 \pm 4,8a	10,60 \pm 1,22a	102,8 \pm 4,7b	0,76 \pm 0,07b	14,1 \pm 0,3
3					
REF	100,0 \pm < 0,1	10,6 \pm 1,11ab	105,6 \pm 6,7a	0,81 \pm 0,16ab	14,5 \pm < 0,1a
WHF	95,0 \pm 12,7	11,1 \pm 1,01a	105,4 \pm 14,2a	0,92 \pm 0,09a	14,3 \pm < 0,1ab
FEA	96,0 \pm 7,0	10,2 \pm 1,12bc	98,1 \pm 7,6a	0,70 \pm 0,10b	15,0 \pm < 0,1bc
BLD	98,0 \pm 4,2	10,0 \pm 0,93c	97,7 \pm 4,2a	0,64 \pm 0,05b	14,2 \pm < 0,1d
KLM	98,0 \pm 4,2	12,4 \pm 1,27d	121,6 \pm 9,6b	1,22 \pm 0,13c	15,0 \pm < 0,1c

¹REF, dieta referência; SPC, concentrado proteico de soja; CGM, glúten de milho; SBM, farelo de soja; WHF, farinha de trigo; PBM, farinha de vísceras e penas de aves; MBM, farinha de carne e ossos; FEA, farinha de penas; BLD, farinha de sangue; TLM, farinha de resíduo de tilápia; FBM, farinha de resíduo de peixes marinhos; SLM, farinha de resíduo de salmão; KLM, farinha de Krill.

Na 3ª e última etapa experimental, os camarões alimentados com a dieta contendo KLM foram os que apresentaram o maior peso corporal final ($12,4 \pm 1,27$ g), biomassa final ($121,6 \pm 9,6$ g), crescimento semanal ($1,22 \pm 0,13$ g) e consumo alimentar ($15,0 \pm < 0,1$ g) entre todos os tratamentos experimentais ($P < 0,05$, Tukey HSD), inclusive comparado a dieta REF. Nesta etapa experimental, o peso corporal final dos camarões alimentados com a dieta REF ($10,6 \pm 1,11$ g) se equiparou com todas as demais dietas, exceto quando comparada com a dieta que continha BLD ($10,0 \pm 0,93$ g; $P < 0,05$, Tukey HSD). O crescimento semanal dos camarões alimentados com a dieta BLD também foi mais baixo ($0,64 \pm 0,05$ g) entre todos os tratamentos, contudo similar aqueles alimentados com a dieta contendo FEA ($0,70 \pm 0,10$ g; $P < 0,05$, Tukey HSD). O consumo alimentar dos camarões também foi deteriorado pela dieta que continha BLD, já que a mesma foi a que apresentou o menor valor ($14,2 \pm < 0,1$ g; $P < 0,05$, Tukey HSD) entre todos os tratamentos dietéticos.

4.3. Conteúdo protéico e aminoacídico das dietas e a relação com o peso corporal final dos camarões

As dietas experimentais apresentaram diferentes níveis de proteína bruta (PB) e aminoácidos (Tabela 6), reflexo da inclusão dos ingredientes sob análise com variados perfis nutricionais. Como consequência, extremos nos valores de PB e no somatório de aminoácidos essenciais (EAA) e não essenciais (NEAA) foram observados para as dietas que continham WHF e BLD. A PB das dietas variou de um mínimo de 345,9 g/kg (base seca, dieta WHF) a um máximo de 593,2 g/kg (dieta BLD). O somatório dos EAA variou de 139,8 g/kg a 284,7 g/kg, para as dietas WHF e BLD, respectivamente; e o somatório dos NEAA variou de 173,4 g/kg a 287,0 g/kg, para as dietas WHF e FEA, respectivamente.

O conteúdo dos aminoácidos sulfurados (TSAA, aminoácido total sulfurado) foi mais elevado nas dietas que continham CGM (16,7 g/kg), PBM (17,7 g/kg), FEA (23,9 g/kg), FBM (18,3 g/kg), SLM (16,7 g/kg) e KLM (16,7 g/kg). Por outro lado, os valores de lisina foram maiores com dietas contendo SPC (30,8 g/kg), BLD (42,2 g/kg), SLM (31,9 g/kg) e KLM (31,4 g/kg). Alguns aminoácidos apresentaram níveis excessivamente altos de EAA, como a leucina no CGM (52,4 g/kg), FEA (42,2 g/kg) e BLD (58,0 g/kg), enquanto que outros muito baixos, como a metionina na dieta WHF (6,0 g/kg).

O peso corporal final dos camarões exibiu uma correlação linear estatisticamente significativa com a proteína bruta (PB) e alguns EAA ($P < 0,05$; coeficiente de Pearson;

Tabela 6. Conteúdo proteico e perfil aminoacídico (g AA/kg de dieta, base seca) da dieta referência (REF) e das dietas teste (30% do ingrediente teste com 70% mistura REF) avaliadas no estudo.

Perfil Nutricional	Dietas ¹ /Perfil de Aminoácidos ² (g de AA/kg de dieta, base seca)												
	REF	SPC	CGM	SBM	WHF	PBM	MBM	FEA	BLD	TLM	FBM	SLM	KLM
Proteína bruta	437,5	509,8	492,3	460,9	345,9	513,4	430,5	553,4	593,2	512,9	505,0	526,9	494,1
Aminoácidos essenciais (EAA)													
Arginina	29,1	35,8	26,0	31,8	21,7	34,8	29,6	37,4	32,6	34,1	33,4	33,2	31,8
Histidina	9,8	12,2	10,6	10,8	7,5	10,0	8,3	9,1	24,0	10,4	9,6	11,0	11,4
Isoleucina	18,3	22,2	19,8	19,7	14,0	20,9	15,3	24,7	16,0	18,8	21,0	20,3	22,7
Leucina	31,5	37,9	52,4	33,6	24,3	36,9	27,4	42,2	58,0	33,0	36,6	35,3	36,7
Lisina	25,0	30,8	20,0	27,2	18,4	27,2	23,0	24,3	42,2	29,0	25,8	31,9	31,4
Metionina	7,7	8,1	9,5	7,5	6,0	8,5	6,7	7,5	8,4	9,6	8,1	11,0	11,0
Met + Cis ³	13,7	15,0	16,7	13,9	11,0	17,7	11,4	23,9	14,5	14,8	18,3	16,7	16,7
Fenilalanina	20,5	25,0	25,7	22,3	16,0	23,0	17,5	26,4	34,0	20,7	23,4	22,1	25,6
Treonina	16,6	19,6	17,6	17,4	12,5	20,0	14,6	23,1	23,4	18,7	20,0	19,8	19,9
Triptofano	5,0	6,3	4,5	5,7	3,9	5,2	3,8	5,3	7,8	4,7	5,0	5,5	5,9
Valina	20,3	23,8	22,4	21,4	15,5	25,3	18,1	31,9	38,3	21,7	25,9	23,3	24,2
Σ EAA	183,8	221,7	208,5	197,4	139,8	211,8	164,3	231,9	284,7	200,7	208,8	213,4	220,6

Cont. **Tabela 6.**

Perfil Nutricional	Diets ¹ /Perfil de Aminoácidos ² (g de AA/kg de dieta, base seca)												
	REF	SPC	CGM	SBM	WHF	PBM	MBM	FEA	BLD	TLM	FBM	SLM	KLM
Aminoácidos não essenciais (NEAA)													
Alanina	21,0	23,2	30,7	21,1	15,7	26,5	24,6	26,0	36,6	29,7	25,8	27,6	24,4
Cisteína	6,0	6,9	7,2	6,4	5,0	9,2	4,7	16,5	6,1	5,2	10,2	5,6	5,7
Glicina	24,7	25,5	22,0	23,6	18,5	35,3	39,5	36,0	29,6	43,4	34,8	35,2	25,8
Serina	20,9	25,0	24,1	22,2	16,4	27,9	18,9	40,9	27,9	21,8	30,1	23,0	21,9
Prolina	25,5	28,7	35,6	26,0	22,1	34,4	31,2	41,6	29,3	34,4	34,7	29,4	25,5
Aspartato	42,9	53,6	40,3	47,3	31,2	45,7	37,7	46,9	60,9	45,5	44,3	48,0	49,8
Glutamina	75,1	89,5	91,9	80,2	64,5	77,4	65,5	79,1	77,8	75,9	74,2	77,8	76,2
Σ NEAA	216,1	252,4	251,8	226,8	173,4	256,4	222,1	287,0	268,2	255,9	254,1	246,6	229,3

¹REF, dieta referência; SPC, concentrado proteico de soja; CGM, glúten de milho; SBM, farelo de soja; WHF, farinha de trigo; PBM, farinha de vísceras e penas de aves; MBM, farinha de carne e ossos; FEA, farinha de penas; BLD, farinha de sangue; TLM, farinha de resíduo de tilápia; FBM, farinha de resíduo de peixes marinhos; SLM, farinha de resíduo de salmão; KLM, farinha de Krill.

²Analisado por HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Precisão). Fonte: Evonik Industries AG (Hanau, Alemanha).

³TSAA, aminoácido total sulfurado.

Tabela 7). Porém, tanto a PB como EAA exibiram graus de significância e correlação distintos. Embora uma baixa correlação entre o peso corporal final dos camarões e o conteúdo de EAA nas dietas tenha sido detectada, as diferenças reportadas no peso corporal final podem ser parcialmente explicadas pelo perfil nutricional das dietas. Em muitos casos, foi detectada uma correlação negativa entre o peso corporal final dos camarões e o aminoácido na dieta (*e.g.*, arginina, histidina, leucina, valina e somatório dos EAA). No caso da PB, isoleucina, lisina e metionina, valores mais elevados desses nutrientes resultaram em pesos corporais finais mais elevados nos camarões.

Tabela 7. Correlação entre peso corporal final dos camarões e conteúdo proteico e aminoacídico das dietas avaliadas. Cada nutriente foi correlacionado com 1.282 observações de peso corporal final.

Perfil Nutricional	Peso Corporal Final
Proteína bruta	0,110**
Arginina	- 0,069*
Histidina	- 0,057*
Isoleucina	0,077**
Leucina	- 0,167**
Lisina	0,065*
Metionina	0,208**
Met + Cis ³	ns ¹
Fenilalanina	Ns
Treonina	Ns
Triptófano	Ns
Valina	- 0,086**
Σ EAA	-0,056*

¹correlação não é estatisticamente significativa segundo coeficiente de Pearson.

*a correlação é significativa ao nível de $\alpha = 0,05$ segundo o coeficiente de Pearson.

**a correlação é significativa ao nível de $\alpha = 0,01$ segundo o coeficiente de Pearson.

4.4. Coeficientes de digestibilidade das dietas

O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) variou de um mínimo de 66,7% para a dieta contendo BLD para um máximo de 84,2% para a dieta REF (Figura 4). De maneira geral, valores mais elevados de CDA foram observados para as proteínas de origem aquática, comparado as proteínas vegetais e de animais terrestres. Dentre as proteínas aquáticas com maiores valores de CDA foram identificadas a TLM (83,8%), FBM (84,1%) e SLM (82,05%). A dieta contendo o KLM apresentou CDA de apenas 74,7%.

Adicionalmente, foram encontrados valores excepcionalmente elevados de CDA para as dietas com SPC (82,2%) e MBM (80,0%). Por outro lado, CDAs relativamente baixos foram detectados para as dietas contendo CGM (69,7%), SBM (70,3%), FEA (66,8%) e BLD (66,7%).

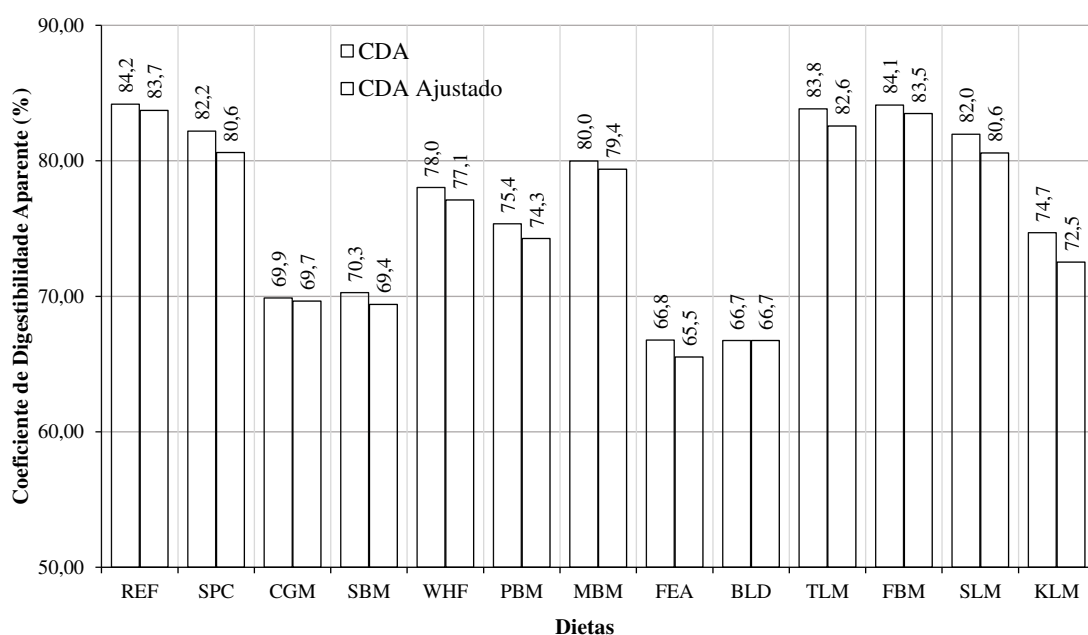


Figura 4. Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) e ajustado (CDA Aju.) da proteína bruta da dieta referência (REF) e das dietas contendo 30% dos ingredientes teste.

Na maioria das proteínas avaliadas, o valor do CDA ajustado mostrou-se mais baixo (Tabela 8), refletindo as perdas por lixiviação de cada dieta avaliada. Entretanto, as diferenças em relação ao CDA não ajustado e o ajustado não ultrapassou o patamar de três unidades percentuais. O CDA médio dos aminoácidos essenciais (EAA) das dietas exibiu um padrão similar ao CDA da proteína. CDAs dos EAA superiores a 80% foram encontrados para as

Tabela 8. Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) de aminoácidos essenciais (EAA) da dieta referência (REF) e das dietas contendo 30% dos ingredientes teste.

Nutrientes	Coeficiente de Digestibilidade Aparente de Dietas (%)												
	REF	SPC	CGM	SBM	WHF	PBM	MBM	FEA	BLD	TLM	FBM	SLM	KLM
Arginina	87,8	88,5	83,4	74,4	81,7	78,6	81,2	68,2	73,8	89,0	87,9	85,9	80,7
Histidina	84,8	83,1	75,0	81,3	77,0	81,4	84,7	78,3	56,4	84,4	81,1	80,2	74,8
Isoleucina	82,4	79,6	67,4	67,4	74,2	72,3	82,7	64,0	77,4	82,1	83,0	78,1	71,6
Leucina	82,7	80,0	56,3	66,8	75,2	72,8	82,3	63,2	60,0	83,0	83,2	79,6	73,1
Lisina	87,5	86,9	86,8	84,3	80,1	84,4	84,8	80,1	64,8	88,5	85,8	84,9	79,9
Metionina	86,1	84,8	72,3	83,1	79,7	83,7	85,3	80,7	75,6	85,9	85,8	83,3	75,7
Met + Cis ¹	79,3	77,6	69,3	48,6	72,1	66,4	80,1	55,3	70,9	79,5	82,7	76,7	69,8
Fenilalanina	81,2	79,3	63,4	68,0	73,9	72,7	81,6	64,1	61,9	80,8	81,2	77,4	70,1
Treonina	80,3	78,5	69,3	62,7	71,8	71,2	80,5	61,4	64,1	80,6	81,3	77,6	70,6
Triptófano	81,0	78,3	78,4	74,8	73,3	73,3	84,4	67,0	60,5	79,1	78,3	74,9	68,2
Valina	80,3	78,0	68,2	56,9	71,9	68,0	80,2	59,0	59,7	80,9	82,7	76,9	70,9
Média EAA	83,0	81,3	71,8	69,8	75,6	75,0	82,5	64,1	65,9	83,1	83,0	79,6	73,2
(± desvio padrão)	3,0	3,9	8,8	11,2	3,6	6,1	2,0	8,7	7,3	3,5	2,7	3,6	4,1

¹TSAA, aminoácido total sulfurado.

dietas REF ou contendo 30% do SPC, MBM, TLM e FMB. As dietas contendo as proteínas do WHF, PBM e SLM apresentaram CDA dos EAA entre 75 e 79%. CDAs no intervalo entre 70 e 74% foram encontrados para as dietas com CGM e KLM. Valores de CDAs inferiores a 70% foram identificados para as dietas com SBM, FEA e BLD.

Entretanto, individualmente, cada EAA apresentou um comportamento diferenciado em relação ao CDA. Por exemplo, a lisina na dieta contendo o CGM mostrou um CDA de 86,8%, mas o CDA da metionina neste ingrediente foi reduzido para 72,3%. Com exceção do CGM, BLD e KLM as demais dietas apresentaram um CDA da metionina próximos ou superiores a 80%. O CDA da arginina mostrou-se elevado (*i.e.*, acima de 80%) para praticamente todas as dietas, com exceção daquelas que continham SBM, PBM, FEA e BLD. O CDA da isoleucina nas dietas contendo o CGM, SBM, e FEA foram inferiores a 70%. Igualmente o CDA dos TSAA (Met + Cis) mostrou-se excessivamente baixos (< 70%) nas dietas contendo CGM, SBM, PBM e FEA.

4.4. Coeficientes de digestibilidade dos ingredientes

O CDA da proteína dos ingredientes avaliados teve uma ampla variação, não tendo sido identificado padrões claros de digestibilidade associado a fonte da matéria prima (*i.e.*, vegetal, animal terrestre e aquática), tornando necessário uma avaliação individual. O SPC, por exemplo, exibiu um CDA da proteína elevado, próximo a 80% (Tabelas 9 e 10). Porém, os demais ingredientes de origem vegetal, SBM, CGM e WHF, tiveram um baixo CDA da proteína, entre 32,0 a 47,7%. Entre os ingredientes de animais terrestres, o CDA da proteína foi mais elevado por ordem decrescente na MBM, PBM, BLD e FEA (71,2, 62,8, 48,6 e 45,9%, respectivamente). Comparado aos ingredientes de origem aquática, tanto as proteínas de origem vegetal como as de origem animal, apresentaram menores valores de CDA. Com exceção do KLM (61,6%), todas as demais proteínas aquáticas avaliadas alcançaram CDA da proteína superior a 80%.

O CDA médio dos EAA exibiu uma tendência similar ao CDA da proteína (Tabelas 9 e 10). Valores mais baixos de CDA dos EAA totais foram encontrados para as matérias primas como o CGM (56,5%), SBM (45,7%), FEA (48,3%) e BLD (50,7%). Portanto, em geral, quanto maior o CDA da proteína maior foi o CDA médio dos EAA.

Dentre as matérias primas que merecem destaque em relação ao CDA dos EAA estão o MBM (80,5%), TLM (82,9%) e FBM (83,2%). Em menor grau destacaram-se o SLM e SPC

Tabela 9. Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da proteína bruta e de aminoácidos essenciais (EAA) em ingredientes utilizados na alimentação de juvenis do camarão *L. vannamei*.

Nutrientes	Coeficiente de Digestibilidade Aparente de Ingredientes (%)											
	SPC	CGM	SBM	WHF	PBM	MBM	FEA	BLD	TLM	FBM	SLM	KLM
Proteína bruta	79,3	47,5	44,5	32,0	62,8	71,2	45,9	48,6	83,3	84,0	78,9	61,6
Arginina	89,4	69,6	51,2	12,0	65,3	68,6	44,9	51,9	91,0	88,1	82,8	69,9
Histidina	80,8	59,5	75,7	19,2	74,5	84,4	61,5	45,8	83,7	73,0	74,3	61,6
Isoleucina	75,9	42,7	41,7	-	57,3	84,2	44,8	62,7	81,4	83,8	71,3	58,7
Leucina	76,3	37,7	38,6	15,0	58,5	80,9	43,0	46,7	83,6	83,8	75,1	60,6
Lisina	85,9	83,3	78,5	-	78,3	77,1	59,9	48,9	90,1	82,3	81,7	71,5
Metionina	82,4	57,9	75,7	23,1	79,5	82,6	65,4	56,6	85,5	85,4	80,5	66,5
Met + Cis ¹	74,6	58,3	-	25,7	53,1	83,3	39,7	56,6	79,8	86,2	73,2	58,0
Fenilalanina	76,6	41,9	45,3	18,2	58,5	83,0	44,7	47,9	79,8	81,1	70,5	57,5
Treonina	76,0	50,0	30,6	-	58,9	80,9	42,9	48,6	80,9	82,6	74,0	58,4
Triptófano	74,8	70,7	65,1	15,7	57,4	-	41,0	44,0	73,6	-	64,2	52,3
Valina	74,8	49,4	14,6	-	52,7	80,1	42,9	48,1	82,1	85,5	72,1	58,7
Média EAA	78,9	56,5	45,7	-	63,1	80,5	48,3	50,7	82,9	83,2	74,5	61,3
(± desvio padrão)	4,8	13,3	27,3	-	9,4	4,5	8,8	5,4	4,7	3,9	5,2	5,5

¹TSAA, aminoácido total sulfurado.

Tabela 10. Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) ajustado da proteína bruta e de aminoácidos essenciais (EAA) em ingredientes utilizados na alimentação de juvenis do camarão *L. vannamei*.

Nutrientes	Coeficiente de Digestibilidade Aparente Ajustado de Ingredientes (%)											
	SPC	CGM	SBM	WHF	PBM	MBM	FEA	BLD	TLM	FBM	SLM	KLM
Proteína bruta	75,1	47,8	41,1	-	59,6	69,7	42,5	49,6	80,4	83,1	75,5	54,1
Arginina	87,6	65,8	54,5	-	66,5	68,3	48,4	53,3	88,9	87,7	82,2	66,3
Histidina	80,5	61,7	76,6	-	72,1	89,9	58,4	45,7	82,6	73,9	77,6	57,6
Isoleucina	76,2	48,6	45,6	-	61,0	88,8	49,5	49,7	81,7	83,9	73,6	59,9
Leucina	76,4	45,9	44,6	-	61,5	82,4	48,1	46,7	84,0	84,1	76,6	62,0
Lisina	84,5	-	78,8	-	77,9	74,8	51,0	49,4	89,1	81,5	82,0	70,6
Metionina	70,3	58,0	69,6	-	77,8	80,4	50,5	42,7	82,9	83,9	79,6	63,7
Met + Cis ¹	67,9	60,6	-	-	54,1	92,4	44,9	53,1	78,5	85,7	73,8	55,1
Fenilalanina	76,4	48,7	49,7	-	59,8	86,6	48,8	48,0	79,9	81,7	71,5	60,5
Treonina	75,3	54,1	37,8	-	61,0	83,8	48,2	48,5	81,4	82,9	75,7	60,2
Triptófano	72,9	68,7	62,5	-	60,5	-	36,8	45,0	75,2	-	66,9	51,3
Valina	74,9	54,4	19,7	-	56,8	80,7	47,4	48,0	81,8	84,9	73,6	58,9
Média EAA	76,6	56,6	53,9	-	64,4	82,8	48,4	48,2	82,3	83,0	75,7	60,6
(± desvio padrão)	5,8	7,7	18,4	-	8,1	7,3	5,1	3,2	4,1	3,7	4,6	5,2

¹TSAA, aminoácido total sulfurado.

que apresentaram um CDA de 74,5 e 78,9%, respectivamente. Por outro lado, as proteínas vegetais SBM e CGM exibiram CDA da média dos EAA muito baixo, de 44,5 e 45,7%, respectivamente. Não foi possível obter resultados conclusivos para o CDA da média dos EAA da WHF. Comparativamente, as proteínas animais PBM, MBM, FEA e BLD alcançaram valores de CDA dos EAA entre 48,3 e 80,5%. Entre estas proteínas, o MBM foi a que apresentou um maior CDA.

Uma análise individual do CDA dos EAA, demonstrou que a metionina apresentou um maior CDA para o SPC (82,4%), MBM (82,6%), TLM (85,5%), FBM (85,4%) e SLM (80,5%). CDAs da metionina próximo a 65% foram detectados para o FEA e KLM. Muito embora o SBM tenha apresentado um baixo CDA da proteína, a metionina alcançou um CDA %. Por outro lado, o CDA da metionina para o CGM, WHF e FEA mostraram-se muito baixos. A lisina exibiu CDAs muito similares a metionina, com algumas exceções, como no caso do CGM (83,3%).

Ao se considerar os valores ajustados do CDA para os EAA, observou-se, em alguns casos, uma queda muito expressiva na digestibilidade (Tabela 10). Em outros casos, não houve uma redução no CDA ajustado, mesmo considerando possíveis perdas por lixiviação na água.

5. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram claramente um maior aproveitamento por parte de juvenis do camarão *Litopenaeus vannamei* de proteínas e aminoácidos advindos de matérias primas de origem aquática na dieta. Muito embora uma variedade de estudos tenha demonstrado o uso efetivo de proteínas vegetais (farinha de ervilha, CRUZ-SUÁREZ *et al.*, 2001; DAVIS *et al.*, 2002; BAUTISTA-TERUEL *et al.*, 2003; SOOKYING & DAVIS, 2011; farelo de canola, CRUZ-SUÁREZ *et al.* 2001, 2009; BULBUL *et al.*, 2013; farelo e concentrado proteico de soja, ROY *et al.*, 2009; FOX *et al.*, 2011; MORRIS *et al.*, 2011, SÁ *et al.*, 2013) e de animais terrestres (farinha de sangue, DOMINY & AKO, 1988; farinha de penas, MEDONZA *et al.*, 2001; farinha de carne e ossos, FOSTER *et al.*, 2003; farinha de vísceras de aves, CRUZ-SUÁREZ *et al.*, 2007; LUO *et al.*, 2012) na dieta desta espécie, os

resultados de digestibilidade com as matérias primas utilizadas no presente trabalho, na sua maioria, não foram comparáveis às de origem aquática.

Liu *et al.* (2013) avaliaram a digestibilidade *in vivo* de 12 ingredientes de origem vegetal, animal e aquático para o camarão *L. vannamei* com $4,45 \pm 0,21$ g. Os autores reportaram CDAs para os EAA de 86,8% (farinha de peixe), 58,5% (farinha de sangue), 47,0% (farinha de carne e ossos), 55,0% (farinha de vísceras de aves), 60,8% (farelo de soja) e 15,7% (farinha de glúten de milho). De uma forma geral, os resultados de Liu *et al.* (2013) foram coerentes aos obtidos presente estudo indicando que proteínas de origem aquática possuem uma maior digestibilidade aparente comparado as de origem vegetal e de animais terrestres. No trabalho de Liu *et al.* (2013) as proteínas de origem de animal terrestre e vegetais, apresentaram CDAs de EAA inferiores a 63%. Comparativamente, as proteínas aquáticas, exibiram maiores valores de digestibilidade, com exceção da farinha de vísceras de lula.

Vale ressaltar que alguns resultados observados no presente estudo não estão de acordo com outros trabalhos já publicados na área. Por exemplo, Cruz-Suárez *et al.* (2009) investigou a digestibilidade *in vivo* para *L. vannamei* com 6 g de peso corporal utilizando quatro ingredientes derivados da proteína da soja: farelo de soja integral (FFSBM, 38% de PB na matéria seca), farelo de soja desengordurado (SBM, 52% PB), concentrado de proteína de soja (SPC, 71% PB) e proteína isolada de soja (SPI, 89% CP). Enquanto no presente estudo o SBM e o SPC apresentaram um CDA da proteína de 44,5 e 79,3%, respectivamente, Cruz-Suárez *et al.* (2009) reportaram valores de 96,9 e 93,0%, respectivamente. Aspectos metodológicos, como a composição da mistura referência, origem das matérias primas, sistema de cultivo e peso corporal dos camarões, podem ter interferido na obtenção dos diferentes resultados. Enquanto a mistura referência desenhada por Cruz-Suárez *et al.* (2009) continha 340 g/kg de farinha de sardinha, optou-se por utilizar 150 g/kg de farinha de salmão. Entretanto, o CDA da proteína da dieta referência entre os estudos foram similares, 81,7% para o trabalho de Cruz-Suárez *et al.* (2009) e 84,2% para o presente estudo. Outros trabalhos sugerem uma boa digestibilidade da proteína do farelo de soja. Lemos *et al.* (2009) encontraram uma digestibilidade *in vivo* do SBM de 92,9%, enquanto Liu *et al.* (2013) reportaram um CDA de 92,3%.

Entretanto, baixos valores de digestibilidade aparente observados para o CGM (farinha de glúten de milho) corresponderam a outros estudos realizados com esta proteína. Molina-Poveda *et al.* (2015) reportaram uma digestibilidade proteica entre 52,0 e 80,5% para dietas

do *L. vannamei* contendo entre 86,4 e 345,6 g/kg de inclusão de CGM. Este menor valor observado por Molina-Poveda *et al.* (2015) corresponde ao CDA da proteína de 69,7% obtido no presente estudo quando se incorporou 300 g/kg de CGM a uma dieta referência. Molina-Poveda *et al.* (2015) esclareceram que um abaixo desempenho zootécnico alcançado com o *L. vannamei* ao ser alimentado com dietas contendo o CGM deveu-se ao baixo CDA da dieta observado para a lisina e metionina. Igualmente, no presente estudo, o CDA da metionina presente no CGM foi baixa, 57,9%, muito embora tenha se observado uma valor de 83,3% para lisina. Estes resultados são também substanciados por outros trabalhos.

Carvalho (2011) trabalhou na digestibilidade aparente de uma farinha de glúten de milho (CGM) para *L. vannamei* contendo 660,9 g/kg de proteína bruta e 31,7 g/kg de metionina (Met). O autor encontrou uma digestibilidade aparente da proteína e metionina de 46,6 a 59,9%, e de 61,9 a 71,0%, respectivamente, o menor entre cinco outros ingredientes avaliados (farinha de anchova, concentrado proteico de soja, farinha de vísceras de aves, farinha de carne e ossos, farinha de penas hidrolisada). Da mesma forma, Lemos *et al.* (2009) relataram uma digestibilidade aparente da proteína bruta para o glúten de milho de $59,1 \pm 1,9\%$. Liu *et al.* (2013) reportaram um CDA dos aminoácidos essenciais (EAA) para o CGM de apenas 15.7%.

Muito embora a farinha de trigo (WHF) seja utilizada em rações de camarões para promover uma maior estabilidade em água em função de seu conteúdo de amido, sua proteína é considerada altamente digestível para os camarões peneídeos (LEMOS *et al.*, 2004; Brunson *et al.*, 1997). Davis & Arnold (1995) reportaram valores de digestibilidade proteica para este ingrediente entre 67 a 87% e concluíram que o processamento de extrusão não promove uma maior digestibilidade para juvenis do *L. vannamei*. Davis & Arnold (1993) haviam reportado valores de digestibilidade proteica mais baixos para farinha de trigo, da ordem de 67,7%, porém mais elevado comparado a 32,0% obtido no presente estudo. Uma baixa ingestão alimentar das dietas contendo o WHF, observado no presente estudo, pode ter afetado negativamente os coeficientes de digestibilidade desse ingrediente.

O concentrado proteico de soja (SPC) apresentou bons valores de digestibilidade para o *L. vannamei*, em particular para metionina e lisina, considerados limitantes em proteínas vegetais. Crus-Suárez *et al.* (2009) também encontraram uma digestibilidade aparente da proteína e dos aminoácidos essenciais para o SPC, porém ao redor dos 90%, bem superiores ao presente estudo. Estas diferenças podem ser atribuídas a inúmeros aspectos, sendo os mais importantes o processamento dado ao SPC e sua textura (granulometria).

Semelhante as proteínas vegetais, alguns subprodutos obtidos do processamento de animais terrestres, apresentaram uma baixa digestibilidade da proteína e dos aminoácidos essenciais. Destacam-se a farinha de penas (FEA) e a farinha de sangue (BLD) que exibiram uma digestibilidade da proteína e dos aminoácidos essenciais (EAA) entre 46 a 51%. Pelo fato das proteínas de animais terrestres sofrerem muita alteração, seja em função de sua composição (tipos e proporções de resíduos utilizados), processamento e (ou) armazenagem, comparações com outros estudos tem pouca aplicabilidade. Porém, estes resultados são substanciados pelo estudo realizado por Carvalho (2011) que também utilizou proteínas de origem animal obtidas no mercado doméstico. Ao nível de 30% de inclusão em uma mistura referência, o autor reportou um CDA da proteína para FEA de 39,8% próximo ao valor de 45,9% obtido no presente estudo. Entretanto, houveram resultados distintos entre o presente estudo e o trabalho de Carvalho (2011). Para a farinha de carne e ossos (MBM) e farinha de vísceras de aves (PBM), Carvalho (2011) encontrou CDAs da proteína de 57,0 e 27,7% comparado a 71,2 e 62,8%, respectivamente, obtidos no presente estudo. Ressalta-se que estas proteínas sofrem grandes alterações e comparações são pouco aplicáveis.

Entre as proteínas aquáticas, todas, com exceção da farinha de krill (KLM), apresentaram uma digestibilidade aparente da proteína e dos aminoácidos elevada. Lemos *et al.* (2009) reportaram uma digestibilidade proteica para o KLM de 80,5% comparado a 61,6% alcançado no presente estudo. Porém, a baixa digestibilidade do KLM comparada a outras proteínas aquáticas não depreciou o desempenho zootécnico dos camarões, o que é coerente com estudos que demonstram um efeito positivo na ingestão alimentar e no crescimento de juvenis do *L. vannamei* ao ser utilizado em baixas inclusões dietéticas (NUNES *et al.*, 2011; SÁ *et al.*, 2013; SABRY-NETO *et al.*, no prelo). Muito embora não existam dados disponíveis que permitam comparar os dados de digestibilidade alcançados no presente estudo para as farinhas de peixe nacional (FBM), farinha de tilapia (TLM) e a farinha de salmão (SML), estas tiveram um comportamento nos resultados de digestibilidade anômalo ao seu valor monetário de mercado. As FBM e TLM, por exemplo, apresentou valores mais elevados de digestibilidade proteica e aminoacídica (EAA) comparado a SLM, muito embora esta última tenha apresentado um desempenho zootécnico para o *L. vannamei* superior as demais.

Na sua grande maioria, os menores valores de digestibilidade da proteína e dos aminoácidos essenciais das matérias primas avaliadas no presente estudo resultaram em um menor desempenho zootécnico para o *L. vannamei*. Muito embora o desempenho zootécnico dos camarões também respondeu ao perfil proteico e aminoacídico das dietas, e

consequentemente dos ingredientes avaliados, não foi possível estabelecer uma correlação entre estas duas variáveis que permitisse prever com confiabilidade o desempenho zootécnico dos camarões. Algumas proteínas avaliadas com um alto conteúdo proteico e aminoacídico (e.g., CGM, PBM e FEA, BLD) proporcionaram um baixo desempenho zootécnico para o *L. vannamei*. Porém outras como o KLM, com níveis de digestibilidade aquém do desejável, promoveram um alto desempenho zootécnico aos camarões.

6. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo evidenciaram que o perfil proteico e aminoacídico da matéria prima, como também a digestibilidade aparente desses nutrientes, não devem ser tomados como os únicos parâmetros indicativos de sua qualidade e desempenho zootécnico nos camarões. As proteínas aquáticas, como a farinha de tilapia, farinha de peixe nacional, farinha de salmão, são as que proporcionam maior aproveitamento da proteína e dos aminoácidos essenciais no *L. vannamei*, enquanto a farinha de krill é a que proporciona maior desempenho zootécnico. As proteínas de origem animal, apresentaram menor digestibilidade desses nutrientes comparado as proteínas aquáticas, porém superiores as de origem vegetal. Entre as proteínas vegetais de melhor digestibilidade e desempenho zootécnico, destaca-se o concentrado proteico de soja, Porém, a farinha de glúten de trigo, o farelo de soja e a farinha de trigo, mostraram-se pouco aproveitáveis pelos camarões, resultando em baixo desempenho zootécnico.

REFERÊNCIAS

- BAUTISTA-TERUEL, M. N.; EUSEBIO, P. S.; WELSH, T. P. Utilization of feed pea, *Pisum sativum*, meal as a protein source in practical diets for juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*. **Aquaculture**, v. 225, p. 121–131, 2003.
- BULBUL, M.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; YOKOYAMA, S.; KADER, M. A. Performance of kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus* fed diets replacing fishmeal with a combination of plant protein meals. **Aquaculture**, v. 372-375, p. 45–51, 2013.
- BUREAU, D. P.; HARRIS, A. M.; CHO, C. Y. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 180, p. 345-358, 1999.
- BUREAU, D. P.; HUA, K. Letter to the editor of Aquaculture. **Aquaculture**, v. 252, p. 103-105, 2006.
- CARVALHO, R. A. P. L. F. **Desenvolvimento de um sistema de recirculação para estudos sobre digestibilidade em condições de alto desempenho para camarões marinhos: avaliação de ingredientes proteicos alternativos à farinha de peixe em diferentes níveis de inclusão em dietas para juvenis de *Litopenaeus vannamei***. 2011. 238 f. Tese (Doutorado em Ciências). Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, São Paulo, 2011.
- CARVALHO, R. A. P. L. F.; LEMOS, D. E. L.; TACON, A. G. J. Performance of single-drain and dual-drain tanks in terms of water velocity profile and solids flushing for in vivo digestibility studies in juvenile shrimp. **Aquacultural Engineering**, v. 57, p. 9-17, 2013.
- CHO, C. Y.; SLINGER, S. J. 1979. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. In: HALVER, J.; TIEWS, K., (Eds.). **Proceedings of the World Symposium on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology**. Hamburg, Alemanha, 1979, p. 239–247.
- CÓRDOVA-MURUETA, J. H.; GARCÍA-CARREÑO, F. L.; NAVARRETE-DEL-TORO, M. DE LOS A. Digestive enzymes present in crustacean feces as a tool for biochemical, physiological, and ecological studies. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 297, p. 43-56, 2003.

CRUZ-SUÁREZ, L. E.; NIETO-LÓPEZ, M.; GUAJARDO-BARBOSA, C.; TAPIA-SALAZAR, M.; SCHOLZ, U., RICQUE-MARIE, D. Replacement of fish meal with poultry by-product meal in practical diets for *Litopenaeus vannamei*, and digestibility of the tested ingredients and diets. **Aquaculture**, v. 272, p. 466-476, 2007.

CRUZ-SUÁREZ, L. E.; RICQUE-MARIE, D. M.; TAPIA-SALAZAR, M.; MCCALLUM, I.M.; HICKLING, D. Assessment of differently processed feed pea (*Pisum sativum*) meals and canola meal (*Brassica* sp.) in diets for blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*). **Aquaculture**, v. 196, p. 87–104, 2001.

CRUZ-SUÁREZ, L. E.; RICQUE-MARIE, D. M.; TAPIA-SALAZAR, M.; MARÍN, L.; GUAJARDO-BARBOSA, C.; NIETO-LÓPEZ, M.; SALINAS-MILLER, A. Historia y estatus actual de la digestibilidad y de algunas características físicas químicas de los alimentos comerciales para camarón usados en México. *In*: CRUZ-SUÁREZ, L. E., RICQUE-MARIE, D.; TAPIA-SALAZAR, M.; GAXIOLA-CORTÉS, G.; SIMOES, N. (Eds.), **Avances en Nutrición Acuícola**, VI - Memorias del VI Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 3-6 de setiembre, Cancún, México. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, 2002, p. 1-22.

CRUZ-SUÁREZ, E.; VILLARREAL-COLMENARES, H.; TAPIA-SALAZAR, M.; LÓPEZ-NIETO, M.G.; VILLARREAL-CAVAZOS, D.A.; RICQUE-MARIE, D. **Manual de metodologías de digestibilidad *in vivo* para ingredientes y dietas para camarón**. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N.L., México. 2008. 238 p.

CRUZ-SUÁREZ, L. E.; TAPIA-SALAZAR, M.; VILLARREAL-CAVAZOS, D.; BELTRAN-ROCHA, J.; NIETO-LÓPEZ, M.G.; LEMME, A.; RICQUE-MARIE, D. Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. **Aquaculture**, v. 292, p. 87–94, 2009.

DAVIS, D. A.; ARNOLD, C. R. Evaluation of five carbohydrate sources for *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 114, p. 285-292, 1993.

DAVIS, D. A.; ARNOLD, C. R. Effects of two extrusion processing conditions on the digestibility of four cereal grains for *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 133, p. 287-294, 1995.

- DAVIS, D. A.; ARNOLD, C. R.; MCCALLUM, I. Nutritional value of feed peas (*Pisum sativum*) in practical diet formulations for *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, v. 8, p. 87–94, 2002.
- DOMINY, W. G.; AKO, H. The utilization of blood meal as a protein ingredient in the diet of the marine shrimp *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 70, p. 289–299, 1988.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2014. **The state of the world fisheries and aquaculture 2014. Opportunities and challenges**. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014. 243 p.
- FENUCCI, J. L.; CASAL DE FENUCCI, A. B.; FENUCCI, J. L. The assimilation of protein and carbohydrate from prepared diets by the shrimp *Penaeus stylirostris*. **Journal of the World Mariculture Society**, v. 13, 134-145, 1982.
- FORSTER, I. P.; DOMINY, W.; OBALDO, L.; TACON, A. G. J. 2003. Rendered meat and bone meals as ingredients of diets for shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Aquaculture**, v. 219, p. 655-670, 2003.
- FOX, J. M.; HUMES, M.; DAVIS, D. A.; LAWRENCE, A. L. Evaluation of methionine supplements and their use in grain-based feeds for *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 42, p. 676–686, 2011.
- GLENCROSS, B. D.; BOOTH, M.; ALLAN, G. L. A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. **Aquaculture**, v. 13, p. 17-34, 2007.
- SABRY-NETO, H.; LEMOS, D.; RAGGI, T.; NUNES, A. J. P. Effects of soy protein ratio, lipid content and minimum level of krill meal in plant-based diets in the growth and digestibility of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, no prelo.
- HERNÁNDEZ, C.; OLVERA-NOVOA, M. A.; AGUILAR-VEJAR, K.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, B.; PARRA, I. A. Partial replacement of fish meal by porcine meat meal in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**, v. 277, p. 244–250, 2008.
- JONES, P. L.; DE SILVA, S. S. Influence of differential movement of the marker chromic oxide digestibility estimations in the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor*. **Aquaculture**, v. 154, p. 323-336, 1997.

- LEE, P. G.; LAWRENCE, A. L. Digestibility. *In: D'ÁBRAMO, L.; CONKLIN, D. E.; AKIYAMA, D. M. Crustacean Nutrition*. Advances in World Aquaculture, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, EUA. v. 6, p. 194-260, 1997.
- LEMOS, D.; NUNES, A. J. P. Prediction of culture performance of juvenile *Litopenaeus vannamei* by *in vitro* (pH-stat) degree of feed protein hydrolysis with species specific enzymes. **Aquaculture Nutrition**, v. 14, p. 181–191, 2008.
- LEMOS, D.; LAWRENCE, A. L.; SICCARDI III, A. J. Prediction of apparent protein digestibility of ingredients and diets by *in vitro* pH-stat degree of protein hydrolysis with species-specific enzymes for juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 295, p. 89–98, 2009.
- LIU, X. H.; YE, J. D.; KONG, J. H.; WANG, K.; WANG, A. L. Apparent digestibility of 12 protein-origin ingredients for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **North American Journal of Aquaculture**, v. 75, p. 90-98, 2013.
- LUO, L.; WANG, J.; PAN, Q.; XUE, M.; WANG, Y.; WU, X.; LI, P. Apparent digestibility coefficient of poultry by-product meal (PBM) in diets of *Penaeus monodon* (Fabricius) and *Litopenaeus vannamei* (Boone), and replacement of fishmeal with PBM in diets of *P. monodon*. **Aquaculture Research**, v. 43, p. 1223–1231, 2012.
- MENDOZA, R.; DIOS, A.; VAZQUEZ, C.; CRUZ, E., RICQUE, D., AGUILERA, C., MONTEMAYOR, J. Fishmeal replacement with feather-enzymatic hydrolyzates co-extruded with soya-bean meal in practical diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture Nutrition**, v. 7, p.143-151, 2001.
- MOLINA-POVEDA, C.; LUCAS, M.; JOVER, M. Utilization of corn gluten meal as a protein source in the diet of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, v. 21, p. 824–834, 2015.
- MORRIS, T. C.; SAMOCHA, T. M.; DAVIS, D. A.; FOX, J. M. Cholesterol supplements for *Litopenaeus vannamei* reared on plant based diets in the presence of natural productivity. **Aquaculture**, v. 314, p. 140–144, 2011.
- NEVES, R. C. F. **Desenvolvimento de metodologias analíticas para avaliar a digestibilidade de nutrientes metálicos utilizados na nutrição de peixes**. Dissertação

(Mestrado em Zootecnia). Departamento de Química, Universidade do Estado de São Paulo (UNESP), Botucatu, São Paulo, 2008, 87 f.

NRC. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. 3. ed. Washington: The National Academies Press, 2011. 376 p.

NUNES, A. J. P.; PARSONS, G. J. Size-related feeding and gastric evacuation measurements for the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis*. **Aquaculture**, v. 187, p. 133–151, 2000.

NUNES, A. J. P.; SÁ, M. V. C.; SABRY-NETO, H. Growth performance of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed on practical diets with increasing levels of the Antarctic krill meal, *Euphausia superba*, reared in clear- versus green-water culture tanks. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, p. e511–e520, 2011.

NUNES, A. J. P.; SÁ, M. V. C.; BROWDY, C. L.; VÁZQUEZ-AÑÓN, M. Practical supplementation of shrimp and fish feeds with crystalline amino acids. **Aquaculture**, v. 431, p. 20–27, 2014.

NUNES, A. J. P.; SÁ, M. V. C., CARVALHO, E. A.; SABRY-NETO, H. Growth performance of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared under time- and rate-restriction feeding regimes in a controlled culture system. **Aquaculture**, v. 253, p. 646–652, 2006.

OUIJIFARD, A.; SEYFABADI, J.; ABEDIAN-KENARI, A.; REZAEI, M. Growth response and tail-muscle fatty acid quality of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed with diets containing different levels of rice protein concentrate. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v. 14, p. 188–200, 2015.

ROY, L. A.; BORDINHON, A.; SOOKYING, D.; DAVIS, D. A.; BROWN, T. W.; WHITIS, G.N. Demonstration of alternative feeds for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters of west Alabama. **Aquaculture Research**, v. 40, p. 496–503, 2009.

SÁ, M. V. C.; SABRY-NETO, H.; CORDEIRO-JÚNIOR, E.; NUNES, A. J. P. Dietary concentration of marine oil affects replacement of fish meal by soy protein concentrate in practical diets for the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, v. 19, p. 199–210, 2013.

SMITH, D. M.; TABRETT, S. J.; GLENCROSS, B. D.; IRVIN, S. J.; BARCLAY, M. C. Digestibility of lupin kernel meals in feeds for the black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. **Aquaculture**, v. 264, p. 353-362, 2007.

SMITH, D. M.; TABRETT, S. J. Accurate measurement of *in vivo* digestibility of shrimp feeds. **Aquaculture**, v. 232, p. 564–580, 2004.

SOOKYING, D.; DAVIS, A. Pond production of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed high levels of soybean meal in various combinations. **Aquaculture**, v. 319, p. 141–149, 2011.

TERRAZAS-FIERRO, M.; CIVERA-CERECEDO, R.; IBARRA-MARTINEZ, L.; GOYTORTUA-BORES, E.; HERRERA-ANDRADE, M.; REYES-BECERRA, A. Apparent digestibility of dry matter, protein, and essential amino acid in marine feedstuffs for juvenile whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 308, p. 166-173, 2010.