

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
ENGENHARIA DE PESCA

ANTONIO CARLOS DO AMARAL FARIAS

Digestibilidade aparente do hidrolisado proteico de resíduos de filetagem de tilápia e sua inclusão em rações para pós larvas de tilápia do Nilo

Toledo

2019

ANTONIO CARLOS DO AMARAL FARIAS

Digestibilidade aparente do hidrolisado proteico de resíduos de filetagem de tilápia e sua inclusão em rações para pós larvas de tilápia do Nilo

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado e Doutorado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo

Toledo

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Biblioteca da Unioeste

Farias, Antonio Carlos Amaral

Digestibilidade aparente do hidrolisado proteico de
resíduos de filetagem de tilápia e sua inclusão em rações
para pós larvas de tilápia do Nilo / Antonio Carlos Amaral
Farias; orientador(a), Wilson Rogério Boscolo, 2019.
19 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste
do Paraná, Campus de Toledo, Centro de Engenharias e
Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Recursos
Pesqueiros e Engenharia de Pesca, 2019.

1. Aquicultura. 2. Hidrolisado. 3. Tilápia. 4. Nutrição.
I. Boscolo, Wilson Rogério. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

ANTONIO CARLOS DO AMARAL FARIAS

Digestibilidade aparente do hidrolisado proteico de resíduos de filetagem de tilápia e sua inclusão em rações para pós larvas de tilápia do Nilo

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado e Doutorado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

ANTONIO CARLOS DO AMARAL

Digestibilidade aparente do hidrolisado proteico de resíduos de filetagem de tilápia e sua inclusão em rações para pós larvas de tilápia do Nilo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, área de concentração Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, linha de pesquisa Aquicultura, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:



Orientador(a) – Altevir Signor

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - *Campus* de Toledo (UNIOESTE)



Aldi Feiden

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - *Campus* de Toledo (UNIOESTE)



Silvia Romão

Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS)



Fabiana Dieterich
FALBOM Agroindustrial

Toledo, 07 de março de 2019.

Aprovada em: 07 de março de 2019

Local de defesa: GEMAg, Unioeste/*Campus* de Toledo.

SUMÁRIO

RESUMO	6
<i>ABSTRACT</i>	7
INTRODUÇÃO	8
MATERIAL E MÉTODOS.....	8
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
CONCLUSÃO.....	21
AGRADECIMENTOS.....	21
REFERÊNCIAS.....	21

Digestibilidade aparente do hidrolisado proteico de resíduos de filetagem de tilápia e sua inclusão em rações para pós larvas de tilápia do Nilo

RESUMO

O trabalho teve como objetivo determinar os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) do hidrolisado proteico de resíduos da filetagem (HPRT) pela tilápia do Nilo e avaliar o desempenho zootécnico e respostas de estresse ao manejo de pós larvas desta espécie alimentadas com dietas contendo HPRT. Para a condução do ensaio de digestibilidade, 144 juvenis de tilápia com peso médio de 150 g, foram distribuídos aleatoriamente em 12 tanques cônico-cilíndricos, apropriados para a coleta de fezes. O experimento foi constituído por dois tratamentos e seis repetições. Foram elaboradas duas dietas experimentais, uma referência e outra dieta-teste, contendo 80% da dieta referência e 20% do alimento em estudo. Para o experimento de desempenho com pós larvas, foram utilizados 1250 animais com peso médio de 0,01g distribuídos em 25 caixas de polietileno com volume útil de 70 litros. Foram formuladas dietas com níveis de inclusão de 0;2,5; 5,0; 7,5 e 10% do HPRT, totalizando cinco tratamentos e cinco repetições. Os peixes foram alimentados as 8h, 10:30h, 13:30h, 15:30h e 17:30h durante 30 dias. Após o período experimental os peixes foram pesados e medidos para avaliação dos parâmetros zootécnicos e devolvidos para suas unidades experimentais, onde permaneceram por mais três dias recebendo as mesmas dietas e, em seguida, foram submetidos ao estresse por simulação de manejo por sete minutos. Durante 24 horas foi contabilizada a mortalidade. Os dados foram submetidos a análise de variância, em caso de efeito significativo ($P < 0,05$) foi realizado o teste de comparação múltiplas de Tukey, a 5% de significância. Os valores obtidos para o CDA da energia e proteína bruta foi de 84,59 e 91,89%, respectivamente, sendo a energia digestível de 4444,36 kcal/kg e proteína digestível de 60,26%. O maior peso médio (gramas) e comprimento (centímetros), entre os níveis de inclusão do HPRT foram observado nos animais que receberam a ração com a inclusão de 5%, com $4,95 \pm 0,26$ g e $5,5 \pm 0,26$ cm, porém não diferiu estatisticamente dos peixes que receberam a dieta com 0% ($P > 0,05$) que apresentaram peso de $4,74 \pm 0,21$ g e comprimento de $5,29 \pm 0,12$ cm. No teste de resistência ao estresse ao ar, o tratamento controle, sem a inclusão de hidrolisado, apresentou maior mortalidade ($P < 0,05$) (8,40%). Conclui-se que a inclusão de 5% de HPRT em rações para pós larvas de tilápia, substituindo a farinha de peixe, melhora o desempenho e que a inclusão deste ingrediente melhorou a resistência dos peixes ao estresse por exposição ao ar.

Palavras-chave: estresse, hidrólise enzimática, nutrição, *Oreochromis niloticus*

Apparent digestibility of protein hydrolyzate from tilapia filletting residues and their inclusion in rations for post-larvae of Nile tilapia

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the apparent digestibility coefficients (CDA) of filletting protein hydrolyzate (HPRT) by Nile tilapia and to evaluate zootechnical performance and stress responses to the management of post - larvae of this species fed diets containing HPRT. For the conduction of the digestibility test, 120 juveniles of tilapia with a mean weight of 150 g were randomly distributed in 12 conical cylindrical tanks, suitable for fecal collection. The experiment consisted of two treatments and six replicates. Two experimental diets, one reference and another test diet, containing 80% of the reference diet and 20% of the food under study were elaborated. For the performance experiment with post larvae, 1250 animals with a mean weight of 0.01g were distributed in 25 boxes of polyethylene with a useful volume of 70 liters. Diets with inclusion levels of 0, 2.5; 5.0; 7.5 and 10% of HPRT, totaling five treatments and five replicates. The fish were fed at 8h, 10: 30h, 13: 30h, 15: 30h and 17: 30h for 30 days. After the experimental period the fish were weighed and measured to evaluate the zootechnical parameters and returned to their experimental units, where they remained for three more days receiving the same diets and then were submitted to stress by management simulation for seven minutes. Mortality was recorded for 24 hours. The data were submitted to analysis of variance, in case of a significant effect ($P < 0.05$) the Tukey multiple comparison test was performed, at 5% of significance. The values obtained for the CDA of energy and crude protein were 84.59 and 91.89%, respectively, with digestible energy of 4444.36 kcal / kg and digestible protein of 60.26%. The highest mean weight (grams) and length (centimeters) between HPRT inclusion levels were observed in animals receiving the feed with inclusion of 5%, with 4.95 ± 0.26 g and $5.5 \pm 0, 26$ cm, but did not differ statistically from the fish that received the diet with 0% ($P > 0.05$) that presented weight of 4.74 ± 0.21 g and length of 5.29 ± 0.12 cm. In the test of resistance to air stress, the control treatment, without the inclusion of hydrolyzate, presented higher mortality ($P < 0.05$) (8.40%). It was concluded that the inclusion of 5% of HPRT in rations for post-larvae of tilapia, replacing fish meal, improves performance and that the inclusion of this ingredient improved fish resistance to stress from exposure to air.

Key words: stress, enzymatic hydrolysis, nutrition, *Oreochromis niloticus*

INTRODUÇÃO

A farinha de peixe ainda é muito utilizada nas formulações de rações por apresentar adequado perfil de aminoácidos e ser considerada excelente fonte de ácidos graxos, vitaminas e minerais (BOSCOLO et al., 2001; DAVIS; ARNOLD, 2000; EL-SAYED, 1999). Contudo, a busca por ingredientes capazes de suprir o potencial proteico da farinha de peixe é cada vez maior e está associada à baixa disponibilidade e elevado custo que esta matéria-prima tem apresentado ao longo das últimas décadas (FARIA et al., 2001; NAYLOR et al., 2009). O excessivo esforço de pesca tem acarretado problemas com relação a oferta da farinha de peixe, o que tem limitado seu uso pelas indústrias de rações (FARIA et al., 2001; NAYLOR et al., 2009).

Assim, uma das alternativas para a substituição parcial desse ingrediente é o hidrolisado proteico de pescado, um produto resultante da solubilização das proteínas, geralmente obtido através do processo de catalisação enzimática, que consiste na quebra de cadeias longas de moléculas proteicas em unidades peptídicas de vários tamanhos (FERREIRA, 2013; KRISTINSSON, 2006; PASUPULETI et al., 2010). O processo de hidrólise ao alterar a estrutura da proteína pode disponibilizar uma variedade de grupos funcionais, conferindo ao produto propriedades nutracêuticas que viabilizam sua utilização tanto na dieta animal quanto humana (FURLAN; OETTERER, 2002; ZAVAREZA et al., 2009). Em estudos com peixes, a utilização do hidrolisado proteico de pescado como suplemento alimentar proteico, tem proporcionado resultados satisfatórios em relação ao crescimento em peso. No entanto, elevados níveis de inclusão afetam negativamente o desempenho e a utilização dos nutrientes (CAHU et al., 1999; HEVROY et al., 2005). Os resultados contraditórios demonstram a necessidade de novas pesquisas que avaliem os efeitos da inclusão do hidrolisado proteico de pescado em dietas para peixes sobre o desempenho e eficiência de utilização dos nutrientes.

No processo de industrialização da tilápia são gerados em torno de 60% de resíduos (CHALAMAIAH et al., 2012) como cabeça, pele e carcaças, resíduos esses que apresentam um

alto valor proteico e que após ser processado podem ser usados para alimentação animal e humana (DE PARIS et al., 2016).

Neste contexto, este estudo teve como objetivo avaliar a digestibilidade do hidrolisado proteico de resíduos da filetagem de tilápia (HPRT) para a tilápia do Nilo e os efeitos da inclusão do produto em dietas para pós larvas desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo do Hidrolisado Proteico de Resíduos de Filetagem de Tilápia (HPRT)

O hidrolisado proteico de pescado foi produzido em parceria com a empresa FALBOM Agroindustrial, localizada no município de Toledo-PR.

Foram utilizados resíduos da filetagem da tilápia (cabeças, carcaças, nadadeiras, coluna vertebral e tecido aderido) para elaboração do produto.

O material foi triturado em moedor elétrico de alimentos (5 mm), em seguida, foi direcionado a um reator industrial de aço inox encamisado com sistema de controle de rotação e aquecimento elétrico com capacidade total de 5000L. Foi adicionado ao resíduo triturado um volume de água igual a 20% do peso da massa. Foi adicionado antioxidante (0,02% de BHA) e a mistura foi agitada e ajustada à temperatura para o ótimo da atividade enzimática (55°C). A enzima Alcalase® foi acrescida em 0,5% e continuamente a mistura foi agitada durante 60 minutos para o tempo da reação enzimática no substrato. Após este período, a atividade enzimática foi cessada termicamente pelo aumento da temperatura para 85°C, por 30 minutos e adicionado um conservante alimentício (0,3% de sorbato de potássio).

No final do processo, o hidrolisado líquido foi filtrado para retirada da matéria não hidrolisada (resíduos ósseos, escamas, pele, entre outros) conforme SILVA (2014) e o produto final foi seco pelo processo de atomização (spray dryer – RM).

Procedimento experimental

O trabalho foi constituído de dois experimentos, conduzidos em etapas distintas nos Laboratórios do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura (GEMAQ) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Campus de Toledo.

No Experimento I foram determinados os coeficientes de digestibilidade aparente da energia e proteína do HPRT; no Experimento II foi avaliado o desempenho zootécnico e resistência ao estresse a exposição ao ar de pós larvas de tilápia alimentadas com dietas contendo níveis de inclusão do HPRT.

Ambos foram aprovados para execução e estiveram de acordo com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNIOESTE.

Experimento I - Ensaio de Digestibilidade do Hidrolisado Proteico de Resíduos de Filetagem (HPRT)

Os coeficientes de digestibilidade aparente da energia e proteína do HPRT foram determinados empregando-se o método indireto, utilizando-se como marcador inerte 0,1% de óxido de cromo (BREMER NETO et al., 2003). Foram elaboradas duas dietas experimentais, uma referência e outra dieta-teste, contendo 80% da dieta referência e 20% do alimento em estudo (Tabela 1). A dieta referência foi formulada de modo à atender as exigências nutricionais da espécie, tendo como base os dados apresentados por FURUYA et al. (2010). Para confecção das rações, os macro-ingredientes foram pesados, homogeneizados e moídos em partículas menores que 0,6 mm. Após moagem, foram acrescentados à mistura o hidrolisado, os micro-ingredientes, o suplemento mineral e vitamínico e o óxido de cromo, seguida de homogeneização manual. Posteriormente, as rações foram umedecidas com a adição de 23% de

água, e submetidas ao processo de extrusão, em equipamento de rosca simples (EX MICRO), obtendo-se péletes com aproximadamente 4 mm de diâmetro.

Tabela 1: Composição percentual (%) das rações experimentais para determinação dos coeficientes de digestibilidade.

Ingredientes (kg/100kg)	Dietas	
	Referência	Teste
Farelo de soja	21,22	16,98
Farinha de peixe	17,83	14,26
Farelo de trigo	24,96	19,97
Arroz quirera	5,00	4,00
Milho	29,77	23,82
Premix(mineral + vitamínico)	0,50	0,50
Cloreto de colina	0,10	0,10
Vitamina C	0,10	0,10
Antifúngico	0,10	0,10
Antioxidante	0,02	0,02
Sal comum	0,30	0,30
Hidrolisado proteico	0,00	19,76
Óxido de cromo	0,10	0,10
TOTAL	100	100

Baseado nos valores propostos por FURUYA (2010).¹Níveis de garantia (mínimo): Vitamina A = 1.000.000 UI/kg; Vitamina D3 = 500.000 UI/kg; Vitamina E = 20.000 UI/kg; Vitamina K3 = 500 mg/kg; Vitamina B1 = 1.900 mg/kg; Vitamina B2 = 2.000 mg/kg; Vitamina B6 = 2.400 mg/kg; Vitamina B12 = 3.500 mcg/kg; Vitamina C = 25 g/kg; Niacina = 5.000 mg/kg; Ácido Pantotênico = 4.800 mg/kg; Ácido fólico = 200 mg/kg; Biotina = 40 mg/kg; Manganês = 7.500 mg/kg; Zinco = 25,0 g/kg; Ferro 12,50 g/kg; Cobre = 2.000 mg/kg; Iodo = 200 mg/kg; Selênio = 70 mg/kg; BHT = 300 mg/kg.

Tabela 2: Aminograma do hidrolisado proteico de resíduos de tilápia (HPRT)

Aminoácidos	%
Ácido aspártico	6,74
Ácido glutâmico	9,22
Serina	2,82
Glicina	5,73
Histidina	1,51
Taurina	0,61
Arginina	3,98
Treonina	2,95
Alanina	4,55
Prolina	3,99
Tirosina	1,27
Valina	3,18
Metionina	1,57
Cistina	0,49
Isoleucina	2,69
Leucina	4,68
Fenilalanina	2,80
Lisina	5,21
Triptofano	0,59
Soma dos aminoácidos	64,58

As rações foram secas em estufa com ventilação de ar forçada a 55°C por 12 horas e armazenadas em câmara fria (4°C) até sua utilização. Para condução do ensaio de digestibilidade, 144 juvenis de tilápia com cerca de 80 g foram distribuídos aleatoriamente em 12 tanques cônico-cilíndricos (capacidade para 400 L), apropriados para a coleta de fezes, e foram alimentados com as dietas experimentais. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído por dois tratamentos e seis repetições. Os animais receberam as dietas à vontade quatro vezes ao dia (8h; 11h; 14h e 17h) e, após período adaptativo de sete dias às condições e dietas experimentais, foram coletadas amostras de fezes. Para tal, a alimentação foi intensificada no período vespertino (14h às 18h) e na manhã subsequente foi realizada a coleta do material fecal por meio de tubos coletores acoplados no fundo dos tanques. Em seguida, foi iniciado novo ciclo de coleta. O procedimento foi realizado durante período necessário para obtenção de volume representativo de amostra. O material fecal foi desidratado em estufa (55°C por 48 h), moído e mantido congelado (-20°C) para posterior análise. Diariamente foi realizada a limpeza dos tanques, por sifonagem.

Foram determinados a matéria seca, proteína bruta, energia bruta e o teor de óxido cromo III (Cr_2O_3) das rações e fezes segundo metodologias descritas na AOAC (2000) e por BREMER NETO et al. (2005). A energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica (C200, IKA, Staufen, Alemanha). A determinação do perfil de aminoácidos do HPRT (Tabela 2) foi realizado no laboratório CBO análises laboratoriais (Valinhos, SP) de acordo com o preconizado por HAGEN et al. (1989) e BERNARDO e SOTELO (1980).

Os coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e energia bruta e seus respectivos valores digestíveis foram determinados de acordo com o NRC (2011) e MUKHOPADHYAY e RAY (1997).

Experimento II - Ensaio de Desempenho zootécnico de pós larvas de tilápia

Para avaliar o desempenho produtivo e resistência ao manejo de pós larvas de tilápia frente ao fornecimento de rações suplementadas com HPRT em diferentes níveis de inclusão, foi conduzido um experimento no Laboratório de Aquicultura e Nutrição de Peixes do GEMaQ, durante período de 30 dias. Para tal, foram adquiridas 2000 larvas de tilápia, após início da alimentação exógena com peso inicial médio de 0,01 gramas, as quais foram alojadas em uma caixa com capacidade para 180 L, dotado por sistema de aeração constante e temperatura controlada, para adaptação e posterior seleção e distribuição nas caixas experimentais. Após período adaptativo, 1250 larvas de peso corporal semelhante foram selecionadas e distribuídas aleatoriamente em 25 caixas (50 larvas por aquário) com volume útil de 70 L, dotados por sistema de aeração constante e fotoperíodo natural.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos e cinco repetições, sendo a repetição considerada o grupo de 50 larvas alocadas em cada caixa. As rações foram elaboradas de forma a conter o HPRT em níveis de inclusão de 0 (controle); 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0% (Tabela 3), sendo as mesmas isoproteicas e isoenergéticas, formuladas de acordo com as exigências estabelecidas para fase de criação da espécie (FURUYA et al., 2010) e valores digestíveis determinados no Experimento I.

Tabela 3: Composição percentual (%) das rações experimentais contendo hidrolisado proteico de resíduos de filetagem (HPRT)

Ingredientes (kg/100kg)	Níveis de inclusão (%)				
	0,0	2,5	5,0	7,5	10,0
Antifúngico	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Arroz quirera	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Calcário	0,46	0,67	0,87	1,08	1,28
Cloreto de colina	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
DL- metionina	0,003	0,002	0,002	0,008	0,00
Fosfato bicalcico	1,69	2,03	2,37	2,70	3,04
HPRT *	0,00	2,50	5,00	7,50	10,00
L - Lisina	0,04	0,03	0,02	0,01	0,00
Levedura de alcool	2,00	2,00	2,00	2,00	0,00
Milho glúten 60%	16,79	17,11	17,43	17,76	18,08
Óleo de soja	3,30	3,23	3,17	3,10	3,03
Farinha tilápia 58%	10,00	7,50	5,00	2,50	0,00
Farinha de penas	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Farinha de sangue	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Soja conc,proteico	21,99	21,29	20,58	19,88	19,18
Vitamina C	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Fubá de milho	17,14	17,06	16,98	16,90	16,81
Premix peixes	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
TOTAL	100	100	100	100	100
Nutrientes (%)					
Amido	20,84	20,84	20,84	20,84	20,84
Cálcio	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Energia Digestível(kcal/kg	3533,63	3533,90	3534,16	3534,43	3534,70
Fósforo total	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Gordura	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Lisina total	2,20	2,21	2,21	2,22	2,23
Metionina total	0,75	0,75	0,76	0,76	0,76
Proteína bruta	44,70	44,65	44,59	44,53	44,48
Proteína digestível	38,60	38,60	38,60	38,60	38,60
Treonina total	1,88	1,88	1,89	1,89	1,89
Triptofano total	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43

HPRT*hidrolisado proteico de resíduos de filetagem de tilápia

Baseado nos valores propostos por FURUYA (2010).¹Níveis de garantia (mínimo): Vitamina A = 1.000.000 UI/kg; Vitamina D3 = 500.000 UI/kg; Vitamina E = 20.000 UI/kg; Vitamina K3 = 500 mg/kg; Vitamina B1 = 1.900 mg/kg; Vitamina B2 = 2.000 mg/kg; Vitamina B6 = 2.400 mg/kg; Vitamina B12 = 3.500 mcg/kg; Vitamina C = 25 g/kg; Niacina = 5.000 mg/kg; Ácido Pantotênico = 4.800 mg/kg; Ácido fólico = 200 mg/kg; Biotina = 40 mg/kg; Manganês = 7.500 mg/kg; Zinco = 25,0 g/kg; Ferro 12,50 g/kg; Cobre = 2.000 mg/kg; Iodo = 200 mg/kg; Selênio = 70 mg/kg; BHT = 300 mg/kg.

As rações foram confeccionadas empregando-se os mesmos procedimentos descritos para o ensaio de digestibilidade, excetuando-se a inclusão do ingrediente teste e sendo processadas na forma farelada (tamanho de partícula 0,6 mm). O alimento foi ofertado aos animais a vontade cinco vezes ao dia (8h; 10h:30min; 13h:30min; 15h:30min e 17h:30min) de forma a não haver sobras nas caixas. Diariamente, antes da primeira e última alimentação, a

água das caixas foi renovada com troca de aproximadamente 30% do volume, sendo nesse momento realizada a sifonagem para retirada do acúmulo de excretas.

Ao final do experimento, após 12 horas de jejum, as pós larvas foram retiradas das caixas e alocadas em recipientes apropriados, contendo água do próprio sistema de criação, para determinação do peso da biomassa e posterior cálculo dos índices zootécnicos. Foram avaliados o ganho em peso, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica, retenção de nitrogênio e sobrevivência. Depois de realizada a pesagem, 12 peixes por caixa foram sacrificados e congelados para posterior análise da composição centesimal da carcaça.

Os animais que restaram (média 38 animais) retornaram às suas respectivas unidades experimentais e, após recuperação do estresse de manejo, continuaram a receber as mesmas dietas experimentais por mais três dias subsequentes. Posteriormente foi realizado o teste de resistência ao estresse por exposição ao ar conforme método descrito por LUZ et al. (2012). Doze horas após a última alimentação, o volume de água das caixas foi reduzido em aproximadamente 50% e o conteúdo restante, contendo as pós larvas, foi despejado sob uma peneira (0,5 mm) submergida em água para se evitar injúrias. Em seguida a peneira foi removida da água e colocada sob um papel absorvente para remover o excesso de umidade. A partir deste momento foi contabilizado o período de exposição ao ar de sete minutos. Transcorrido este tempo, as larvas foram novamente distribuídas nas caixas e, após 24 horas, a taxa de resistência ao estresse foi determinada com base na porcentagem de sobrevivência.

Os dados foram submetidos a análise de variância, em caso de efeito significativo ($P < 0,05$) foi realizado o teste de comparação múltiplas de Tukey a 5% de significância. As análises foram efetuadas por meio do programa computacional Statistic 7.1 (2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição dos aminoácidos do HPRT é superior a encontrada na farinha de peixe (FURUYA, 2010) o que explica os resultados positivos encontrados por diversos autores e no presente estudo, fazendo com que esse produto tenha um potencial para substituir a farinha de peixe na formulação de dietas para peixes. Os resultados encontrados neste estudo para o CDA da proteína bruta do HPRT de 91,89% e energia bruta de 84,59% (Tabela 4), diferem dos encontrados por PARIS et al. (2016) que em seus estudos também avaliaram a digestibilidade de hidrolisados proteicos de resíduo de filetagem (carcaça, cabeça e pele) para juvenis de tilápia. Estes autores encontraram coeficientes de digestibilidade para proteína bruta de 89,61% e de 98,31% para energia bruta, enquanto que nos resultados de ABDUL HAMID et al. (2002), que, ao avaliarem hidrolisados de carne de tilápia in vitro, os valores encontrados variaram de 88,4 a 92,0% para digestibilidade da proteína.

Essa diferença encontrada nos resultados dos coeficientes de digestibilidade por diferentes autores ocorre devido as características da composição química do hidrolisado proteico de pescado, que varia muito, principalmente atribuída pela origem e composição da matéria-prima ou processo aplicado para obter o produto final (ABDUL HAMID, BAKAR, & BEE, 2002).

Tabela 4. Composição química, coeficiente de digestibilidade aparente e nutrientes digestíveis do hidrolisado proteico de resíduos de filetagem de tilápia.

Parâmetros	%
Proteína bruta	65,58
Energia bruta (kcal/kg)	5254
Cálcio	1,55
Fosforo	0,45
Extrato etéreo	12,71
CDA _{PB} ¹	91,89
CDA _{EB} ²	84,59
Energia digestível (kcal/kg)	4444,36
Proteína digestível	60,26

¹ coeficiente de digestibilidade da proteína bruta

² coeficiente de digestibilidade da energia bruta

Em relação as características produtivas observou-se que os níveis inclusão do hidrolisado determinaram diferença significativa entre si, mostrando que tem influência no desempenho das pós larvas (Tabela 5).

Tabela 5 - Desempenho produtivo de pós larvas de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo diferentes concentrações do hidrolisado proteico.

Variáveis	Níveis de inclusão (%)					P
	0,0	2,5	5,0	7,5	10,0	
PF (g)	4,74 ^a ± 0,04	3,98 ^b ± 0,25	4,95 ^a ± 0,26	4,14 ^b ± 0,17	4,18 ^b ± 0,36	0,001
CT (cm)	5,29 ^{ab} ± 0,12	4,54 ^c ± 0,08	5,50 ^a ± 0,26	4,92 ^b ± 0,26	5,01 ^b ± 0,21	0,0003
SOB (%)	94,40 ± 4,48	88,00 ± 2,40	89,60 ± 5,28	94,40 ± 2,24	88,00 ± 5,76	N/S
GP (g)	4,52 ^a ± 0,21	3,97 ^b ± 0,25	4,94 ^a ± 0,26	4,13 ^b ± 0,17	4,18 ^b ± 0,37	0,001
MEA (%)	8,4 ^a	1,8 ^b	0,57 ^b	0,53 ^b	0,59 ^b	0,0004

Peso final (PF), comprimento total (CT), sobrevivência (SOB), ganho em peso (GP), mortalidade por estresse ao ar (MEA). Valores são apresentados como média ± desvio padrão. NS = não significativo (P>0,05).

Vários estudos avaliando hidrolisados proteicos na alimentação de organismos aquáticos vêm demonstrando melhoras nos aspectos produtivos desses animais (HEVROY et al., 2005; ZHENG et al., 2012). Dentre estes trabalhos que avaliaram o hidrolisado proteico, SILVA et al. (2017) observaram para pós-larvas de tilápia do Nilo alimentadas com hidrolisado proteico de pescado (2,0; 4,0; 6,0 e 8,0%) que o melhor o nível que favoreceu um melhor desempenho foi o de 4,75% de inclusão do produto, sendo esse resultado semelhante ao encontrado nesse estudo, em que o nível de inclusão com 5% do HPRT foi o que apresentou um melhor desempenho produtivo dos animais. Do mesmo modo resultados semelhantes foram encontrados por PARIS et al. (2016) testando os níveis de inclusão de hidrolisado de pescado no crescimento em pós larvas de tilápia com níveis de inclusão 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0%, e concluíram que o melhor nível de inclusão para desempenho produtivo é de 4%.

Em estudos com outras espécies de peixes com hidrolisados proteico DE CARLI (2013) observou que a inclusão de hidrolisado líquido de peixes melhorou o ganho em peso e a conversão alimentar aparente do jundiá *Rhamdia voulezi*.

A melhoria no desempenho dos peixes pode ser explicado devido ao ótimo perfil de nutrientes dos hidrolisados, altos coeficientes de digestibilidade e presença de peptídeos de

baixo peso molecular (CHALAMAIAH et al., 2012), o que facilita sua absorção pelos animais, resultando em uma alta digestibilidade (ABDUL HAMID et al., 2002).

No entanto, em níveis superiores a 5% de inclusão do HPRT observou-se que as respostas de desempenho foram semelhantes às aquelas obtidas para peixes que receberam as dietas com baixos níveis (2,5%), sugerindo que a suplementação superior a 5% não promove efeitos positivos ao crescimento. KOTZAMANIS et al. (2016) ao avaliarem dois tipos de hidrolisados (resíduos de sardinha, principalmente cabeça e um produto comercial) em níveis de inclusão de 10 e 19%, substituindo a farinha de peixe, em dietas para larvas de robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), observaram que altos níveis de inclusão tendem a prejudicar o crescimento. Resultado semelhante foi também observado por SRICHANUN et al. (2014) ao testarem hidrolisados de músculo de peixe, manto de lula e farelo de soja em substituição a proteína da farinha de peixe em 25 e 50% na dieta de larvas de robalo asiático (*Lates calcarifer*).

Além dos efeitos sobre o crescimento, os hidrolisados proteicos podem exibir ainda ação imunomodulatória, aumentando a resistência dos peixes cultivados ao estresse e à doenças (ARNOLD, 2000; EL-SAYED, 1999). No presente estudo, observou-se que a mortalidade das pós larvas foi significativamente reduzida quando o hidrolisado proteico foi incorporado à dieta dos peixes independentemente da quantidade. Provavelmente, a presença de peptídeos e o aporte de aminoácidos podem ter contribuído para fornecer componentes essenciais envolvidos nas respostas de estresse, resultando em maior sobrevivência após estresse por manejo. Resultados esses que foram confirmados por KOTZAMANIS et al. (2016), que após as larvas de robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) serem submetidas a um desafio de resistência ao *Vibrio anguillarum*, observaram que a alimentação com silagem ácida experimental aumentou significativamente a resistência das larvas desafiadas.

No estudo de LUZ et al. (2012), avaliando os efeitos de níveis de proteína (32, 40 e 55%) sobre a resistência ao estresse por exposição ao ar de larvas e juvenis de tilápia, verificaram que dietas contendo níveis de proteína recomendado pela literatura para a espécie

promovem maior desempenho e sobrevivência após aplicação do estressor, o que provavelmente pode estar relacionado ao maior aporte de aminoácidos, servindo como substrato energético ou utilizado para síntese de proteínas relacionadas às repostas de estresse, conferindo maiores chances de sobrevivência.

Estas respostas caracterizam o HPRT como potencial ingrediente para uso em formulações, principalmente nessa fase de vida, em que os animais são bem mais susceptíveis ao estresse por manejo. Considerando ser os índices de sobrevivência um dos fatores de grande contribuição à remuneração do produtor de pós larvas e juvenis, as respostas obtidas neste estudo permitem qualificar o hidrolisado como sendo de extrema importância ao desenvolvimento de rações para as fases iniciais da tilápia.

A composição química corporal dos peixes pode ser afetada por alguns fatores, incluindo espécies, condições ambientais, tamanho do peixe, nível de proteína da dieta e taxa de alimentação (OGATA & SHEARER, 2000).

No presente trabalho o conteúdo de umidade e cinzas apresentou valores variando de 75,23 a 75,61% e 2,56 a 2,93%, respectivamente, os quais são semelhantes ao reportado na literatura para as tilápias (SIGNOR et al., 2010; ROCHA, 2014), por mais que os resultados encontrados se encontrasse dentro da faixa que os autores observaram, no qual não encontraram diferença significativa, no presente estudo apresentou diferença significativa para lipídios e cinzas (Tabela 6).

Tabela 6: Composição centesimal da carcaça da tilápia do Nilo alimentadas com hidrolisado proteico de resíduos da filetagem de tilápia

Composição centesimal(%)	Níveis de inclusão (%)					P
	0,0	2,5	5,0	7,5	10,0	
Umidade	75,34 ± 0,18	75,61 ± 0,34	75,41 ± 0,42	75,23 ± 0,23	75,49 ± 0,48	NS
Proteína bruta	12,16 ± 0,62	12,30 ± 0,67	12,07 ± 1,25	12,63 ± 1,25	12,13 ± 1,11	NS
Lipídeos	7,28 ^a ± 1,12	6,44 ^b ± 0,54	7,02 ^{ab} ± 0,97	7,28 ^a ± 0,84	7,14 ^{ab} ± 1,70	0,03
Cinzas	2,77 ^{ab} ± 0,31	2,93 ^a ± 0,23	2,86 ^{ab} ± 0,78	2,66 ^b ± 0,38	2,56 ^b ± 0,33	0,004

Valores são apresentados como média ± desvio padrão. NS = não significativo (P>0,05).

Quanto à matéria mineral da carcaça dos peixes, esta apresentou um comportamento inversamente proporcional, na medida que os níveis do hidrolisado proteico foram aumentando a quantidade de matéria mineral foi diminuindo.

Essa diminuição da matéria mineral pode estar relacionada com a diminuição da farinha de peixe, já que na formulação das dietas, conforme aumentava o nível de inclusão do hidrolisado proteico de resíduo, diminuía a inclusão da farinha de peixe, hipótese essa que corroboram com resultados encontrados por PONTES et al. (2010) em que os valores de matéria mineral da carcaça dos peixes, subiram linearmente com o aumento dos níveis de inclusão de farinha de peixe.

Outro fator que pode ter contribuído para a redução da matéria mineral conforme o aumento do nível de inclusão do HPRT, é o fato que durante as etapas finais do processo de fabricação do produto efetua-se a filtração do material líquido resultante para retirada de ossos e escamas, os quais são fontes de cálcio e fósforo.

Para a composição de gordura corporal das pós larvas, o nível que apresentou menor quantidade de lipídios corporal foi o nível de inclusão de 2,5% (Tabela 6).

Resultados estes que apresentaram um mesmo comportamento com os encontrados por SANTOS et al. (2012) que em seu trabalho as porcentagens de lipídeos da carcaça foram encontradas nos peixes com maior tamanho, assim partindo da mesma premissa, no atual trabalho a menor quantidade de lipídeos foi encontrada nos peixes que apresentaram um menor desempenho.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a inclusão de 5% de hidrolisado substituindo a farinha de peixe, foi o que apresentou um melhor resultado comparando os demais níveis de inclusão e melhorou a resistência das pós larvas ao estresse por exposição ao ar na simulação de manejo.

A inclusão do hidrolisado pode servir como uma forma de preparar os animais para o inverno gerando assim animais mais resistentes a manejo. Na industrias de processamento evita o tombamento dos animas assim diminuindo a porcentagem de file mole. Para a industrias de rações, surgem novas desafios para criar novas fórmulas para diferentes situações adversas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Grupo de Estudo de Manejo na Aquicultura – GEMAQ e à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, UNIOESTE – Toledo, pelas estruturas e laboratórios, a FALBOM Agroindustrial pela fabricação do hidrolisado de resíduo de filetagem e á Cooperativa Agroindustrial Consolata COPACOL, pela doação dos animais para a realização do experimento.

REFERÊNCIAS

- ABDUL-HAMID, A., BAKAR, J., & BEE, G. H. Nutritional quality of spray dried protein hydrolysate from Black Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). **Food Chemistry**, 78(1), 69-74, 2002
- ACERETE, L.; BALASCH, J.C.; ESPINOSA, E.; JOSA, A.; TORT, L. et al. Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 237, n. 1-4, p.167-178, 2004.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists**. 17. ed. Arlington: Inc, 2000.
- BERNARDO, L.; SOTELO, A. 1980. Effect of alkalies, temperature and hydrolysis times on tryptophan determination of purê proteins and food. **Analytical Biochemistry**, 109: 192-197.
- BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M.; FURUYA, W.M.; MEURER, F. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 5, p. 1391-1396, 2001.

BRANDÃO, F.R.; GOMES, L.C.; CHAGAS, E.C. Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 36, 3, p.349-356, 2006.

BREMER NETO, H.; GRANER, C. A. F.; PEZZATO, L.E.; PADOVANI, C. R.; CANTELMO, O.A. Diminuição do teor de óxido de crômio (III) usado como marcador externo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 1, p.249-255, 2003.

BREMER NETO, H.; GRANER, C. A. F.; PEZZATO, L.E.; PADOVANI, C. R.; DETERMINAÇÃO DE ROTINA DO CRÔMIO EM FEZES, COMO MARCADOR BIOLÓGICO, PELO MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO AJUSTADO DA 1,5 DIFENILCARBAZIDA. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p.691-697, 2005.

CAHU, C.L.; ZAMBONINO-INFANTE, J.L.; QUAZUGUEL, P. Protein hydrolysate vs. Fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. **Aquaculture**, 171:109-119. 1999.

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

CHALAMAIAH, M., KUMAR, B. D., HEMALATHA, R., & JYOTHIRMAYI, T. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. **Food Chemistry**, 135(4), 3020-3038, 2012.

DA SILVA, T.C.; ROCHA, J.D.M.; MOREIRA, P.; SIGNOR, A.; BOSCOLO, W.R. Fish protein hydrolysate in diets for Nile tilapia post-larvae. **Pesq. agropec. bras.** Brasília, v.52, n.7, p.485-492, jul. 2017.

DAVIS, D.A.; ARNOLD, C.R. Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific White shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 235, p. 291-298, 2000.

FARIA, A.C.E.A.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M. Substituição parcial e total da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para alevinos de piavuçu, *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski, 1988). **Acta Scientiarum**, Maringá, 23(4): 835-840. 2001.

DE CARLI, J.A. **Utilização de diferentes hidrolisados protéicos na alimentação do jundiá (*Rhamdia voulezi*) em tanques rede**. Marechal Cândido Rondon, 2013. 30p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia – PPZ, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2013.

FERREIRA, D.; GIL BARCELLOS, L.J. Enfoque combinado entre as boas práticas de manejo e as medidas mitigadoras de estresse na piscicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 34, n. 3, p.601-611, 2008.

FURUYA, W.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M. M.; BOSCOLO, W.R.; CYRINO, J.E.P.; FURUYA, V.R.B.; FEIDEN, A. **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo: GFM, 2010, 100p.

HAGEN, Sr.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. 1989. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid-chromatography of amino-acid in food. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, 72: 912-916.

HEVROY, E. M.; ESPE, M.; WAAGB,O R.; SANDNES, K.; RUUD, M.; HEMRE, G. Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. **Aquaculture Nutrition**, v.11, p.301–313, 2005.

HOOLEY,C.G; BARROWS, F.T; PATERSON, J; SEALEY, W.M. Examination of the Effects of Dietary Protein and Lipid Levels on Growth and Stress Tolerance of Juvenile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**. Vol. 45, No. 2 2014.

KOTZAMANIS, Y.P., GISBERT, E., GATESOUBE, F.J., ZAMBONINO INFANTE, J.L., CAHU, C. Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) laevae. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.147, p.205-214, 2007.

KUBITZA, F. Manejo na produção de peixes – Boas práticas nas despescas, manuseio e classificação dos peixes. **Panorama da Aquicultura**, v. 19, n. 113, 2009.

LEAL, A.L.G.; DE CASTRO, P. F.; LIMA, J.P.V.; BEZERRA, R.S. Use of shrimp protein hydrolysate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*,L.) feed. **Aquaculture**, v.18, p.635-646, 2010.

LIMA, L.C.; RIBEIRO, L.P; LEITE, R.C; MELO, D,C. Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, n. 3/4, p. 113-117, 2006.

MUKHOPADHYAY, N.; RAY, A.K. The apparent total and nutrient digestibility of sal seed (*Shorea robusta*) meal in rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerlings. **Aquaculture Research**, v. 28, p.683-689, 1997.

OBA, E.T.; MARIANO, W.S.; SANTOS, L.R.B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. In: TAVARES-DIAS, M. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009.

OGATA, H. Y.; SHEARER, K. D. Influence of dietary fat and adiposity on feed intake of juvenile red sea bream *Pargus major*. **Aquaculture**, Amsterdam v. 189, p. 237-249, 2000.

PONTES, E.C., OLIVEIRA, M.M., ROSA, P.V., FREITAS, R.T.F., PIMENTA, M.E.S.G., RODRIGUES, P.B. Níveis de farinha de peixe em rações para juvenis de tilápia, **R. Bras. Zootec.**, v.39, n.8, p.1626-1632, 2010.

PONTES, E.C., OLIVEIRA, M.M., ROSA, P.V., FREITAS, R.T.F., PIMENTA, M.E.S.G., RODRIGUES, P.B. Níveis de farinha de peixe em rações para juvenis de tilápia, **R. Bras. Zootec.**, v.39, n.8, p.1626-1632, 2010.

ROCHA, J. D. M. **Hidrolisado proteico de pescado em dietas para alevinos de tilápia do Nilo**. 2014.40 p. Dissertação. (Mestrado em Engenharia de pesca e Recursos Pesqueiros). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo PR.

SANTOS, E.L.; LUDKE, M.C.M.; BARBOSA, J.M. et al. Digestibilidade aparente do farelo de coco e resíduos de goiaba pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Caatinga**, v. 22, n. 2, p.175-180, 2009.

SIGNOR, A.; PEZZATO, L.E.; FALCON, D.R. Parâmetros hematológicos da tilápia-doNilo: efeito da dieta suplementada com levedura e zinco e do estímulo pelo frio. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n. 3, p.509-519, 2010.

SRICHANUN, M.; TANTIKITTI, C.; KROGDAHL, A; CHOTIKACHINDA, R. Effects of different protein hydrolysate products and levels on growth, survival rate and digestive capacity in Asian seabass (*Lates calcarifer Bloch*) larvae. **Aquaculture**, 428–429 195–202, 2014

SUMPTER, J.P.; IWAMA, G.K. **Fish stress and health in aquaculture**. Cambridge, UK: Cambridge University, 1997. p.95-118.

TURRA, E.M.; OLIVEIRA, D.A.A.; TEIXEIRA, E.A.; LUZ, R.K .; PRADO, S.A.; MELO, D.C.; FARIA, P.M.C.; SOUSA, A.B. Controle reprodutivo em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio de manipulações sexuais e cromossômicas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, n. 1, p.21-28, 2010.

URBINATI, E.C.; CARNEIRO, P.C.F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P. et al. **Tópicos especiais de piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: Tecart, 2004. p.171-194.

WEDEMEYER, G.A. **Physiology of fish in intensive culture systems**. Chapman & Hall, NovaYork. 1996. 232p.

ZHENG, K., LIANG, M., YAO, H., WANG, J., CHANG, Q. Effect of dietary fish protein hydrolysate on growth, feed utilization and IGF-I levels of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture Nutrition**. 18, 297–303. 2012.