

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

LEONE DE SOUZA MEDINA

Efeitos da inclusão de hidrolisados proteicos na dieta de alevinos de
tilápia (*Oreochromis niloticus*)

Toledo, 2021

LEONE DE SOUZA MEDINA

Efeitos da inclusão de hidrolisados proteicos na dieta de alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado, 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. Fábio Bittencourt

Toledo, 2021

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

De DE SOUZA MEDINA, LEONE
Efeitos da inclusão de hidrolisados proteicos na dieta de alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) / LEONE DE SOUZA MEDINA; orientador Fábio Bittencourt. -- Toledo, 2021.
32 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Toledo) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, 2021.

1. Subprodutos proteicos. 2. Sinergia nutricional. 3. Aminotransferases. 4. Estresse oxidativo. I. Bittencourt, Fábio, orient. II. Título.

Dedicatória

Dedico meu trabalho ao meu pai José Medina, minha mãe Maria Olimpia de Souza, minha irmã Tatiane de Souza Medina e à minha sobrinha Isis Medina Barbosa por sempre me apoiarem nos estudos e apesar da distância se fazerem presentes em minha vida. Amo vocês!

Agradecimentos

Gostaria de agradecer inicialmente à Deus.

Durante o mestrado aprendi que muitas pessoas foram responsáveis pela minha formação, e sou muito grato a cada uma delas. Cada professor que tive ajudou a lapidar meus conhecimentos e tenho certeza de que de uma maneira ou de outra esses ensinamentos me ajudaram na elaboração desse trabalho. De modo especial agradeço ao professor Fábio Bittencourt, que sempre me incentivou a buscar o melhor de mim nos estudos e nas escolhas da vida.

Agradeço aos amigos do GEMaQ, por todo apoio nos estudos e nas realizações de experimentos, em especial ao Ricácio, Martinha e Juliana.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida.

Lista de tabelas

Tabela 1. Composição percentual das rações experimentais contendo proteína hidrolisada BRF Ingredientes, ofertadas a alevinos de tilápia	14
Tabela 2. Desempenho zootécnico de alevinos de tilápia alimentadas com dietas contendo diferentes formulações de hidrolisados proteicos.....	20
Tabela 3. Valores médios de alterações fisiológicas no músculo e fígado de alevinos de tilápia alimentadas com diferentes formulações de hidrolisados proteicos.....	21

Lista de figuras

Figura 1. Bioquímica hepática e muscular de *Oreochromis niloticus* alimentadas com diferentes formulações de hidrolisados proteicos.....23

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas da publicação científica Aquaculture. Disponível em: <https://www.elsevier.com/journals/aquaculture/0044-8486/guide-for-authors>

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
2.1 Ética.....	13
2.2 Delineamento experimental.....	13
2.3 Dietas experimentais.....	14
2.4 Cálculo e análise de desempenho.....	16
2.5 Análise histológica.....	17
2.6 Análise bioquímica.....	18
2.7 Análise estatística.....	18
3. RESULTADOS.....	18
3.1 Desempenho zootécnico.....	18
3.2 Histologia muscular e hepática.....	21
3.3 Bioquímica muscular e hepática.....	22
4. DISCUSSÃO.....	24
5. CONCLUSÕES.....	28
6. REFERÊNCIAS.....	28

Efeitos da inclusão de hidrolisados proteicos de suínos e aves na dieta de alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*)

Resumo

O presente estudo avaliou o uso de fontes proteicas da cadeia produtiva de suínos e aves como fonte proteica em dietas para alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Os ingredientes do teste foram: farinha de peixe, farinha de vísceras de aves, proteína hidrolisada de fígado de suíno e proteína hidrolisada de penas, com 5 composições dietéticas isoprotéicas e isoenergéticas diferentes. Verificou-se o desempenho zootécnico, histologia hepática e muscular, perfil bioquímico das enzimas alanina-aminotransferase e aspartato-aminotransferase, e os marcadores de estresse celular catalase e malondialdeído. As dietas formuladas com fontes hidrolisadas apresentaram maior hiperatividade hepática de aminotransferases que atuam na síntese proteica, sendo um forte indicativo dos benefícios nutricionais das fontes hidrolisadas se manifestaram sob o crescimento dos peixes. Considerando a utilização de hidrolisados proteicos recomenda-se a dieta com PHF + PHMS, em função de proporcionar melhor taxa de sobrevivência.

Palavras-chaves: subprodutos proteicos; sinergia nutricional; aminotransferases; estresse oxidativo.

Abstract

The present study sought to evaluate the usage of traditional protein sources and by-products from the pork and poultry production chain as raw materials in the manufacture of diets for tilapia post-larvae (*Oreochromis niloticus*). The test

ingredients were: fish flour, poultry gut flour, swine liver hydrolyzed protein and feather hydrolyzed protein, having 5 different isoproteic and isoenergetic dietetic compositions. The zootechnical performance, liver and muscle histology were verified, biochemical profile of alanine-aminotransferase and aspartate-aminotransferase enzymes, and cell stress markers catalase and malondialdehyde. Diets formulated with hydrolyzed sources showed greater hepatic hyperactivity of aminotransferases that act on protein synthesis, being a strong indication of the nutritional benefits of hydrolyzed sources manifested under fish growth. Considering the use of protein hydrolysates, a diet with PHF + PHMS is recommended, in order to provide a better survival rate.

Key words: proteics by-products; nutritional synergy; aminotranferase; oxidative stress

1. INTRODUÇÃO

A produção mundial de pescados alcançou 178,5 milhões de toneladas com alto crescimento ao longo dos últimos anos, impulsionada principalmente pela aquicultura, que atualmente corresponde a 46% do total (FAO, 2020). No Brasil a produção de pescado oriundos da piscicultura alcançou aproximadamente 530 mil toneladas em 2019, sendo destaque o cultivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*) (IBGE, 2019).

As principais características que tendenciam a atividade a continuar crescendo no Brasil são a alta disponibilidade hídrica, principalmente em reservatórios de hidrelétricas, clima tropical e otimização da produção por meio de tecnificação e profissionalização (Rodrigues et al., 2012; Brabo et al., 2014).

De modo geral, a nutrição de organismos aquáticos configura uma das principais vertentes dentro dos sistemas produtivos portanto melhorias na nutrição animal tem sido um dos grandes desafios para que índices zootécnicos

melhorem e conseqüentemente a margem de lucro dos produtores aumente (Lima et al., 2015)

Na nutrição de organismos aquáticos, a farinha de peixe é considerada a fonte proteica de origem animal mais utilizada (Liu et al., 2012; Kanashiro, 2015) principalmente por atender as exigências nutricionais das principais espécies cultivadas (NRC, 2011; Santos et al., 2013). Todavia, em função das flutuações na disponibilidade e preço da matéria prima, diversos estudos têm sido conduzidos em busca de ingredientes alternativos, destacando-se os resíduos de outras cadeias produtivas como suínos e aves (Henriques et al., 2018; Peron et al., 2020; Soares et al., 2020).

A utilização de resíduos de outras cadeias produtivas na nutrição de organismos aquáticos, faz com que, o que antes era considerado um problema ambiental se torne coprodutos proteicos de alta qualidade biológica e com valoração econômica, contribuindo com a sustentabilidade (Winnikes, 2020).

Um importante processo tecnológico capaz de otimizar a transformação de resíduos em coprodutos é a hidrólise. Esse processo de natureza química ou enzimática é caracterizado pela clivagem da proteína em meio aquoso, resultando em aminoácidos livres ou cadeias menores de aminoácidos, denominados de peptídeos (Bhaskar et al., 2007). Esse processo disponibiliza de forma mais eficiente os nutrientes presentes no alimento, fazendo com que a digestibilidade e absorção sejam maiores (Dieterich et al., 2014; Silva et al., 2017; Lorenz et al., 2018).

Os peptídeos podem apresentar bioatividades, conferindo funções benéficas à saúde (Idowu et al., 2020). Na nutrição animal, atuam conjuntamente com os aminoácidos na síntese de novas proteínas, resultando no crescimento muscular e na manutenção de higidez animal (How et al., 2017; Bernardo et al., 2019; Ha et al., 2019).

Em relação as fontes proteicas utilizadas como matéria prima na fabricação de dietas animais, essas devem apresentar alto valor biológico, constante disponibilidade e custos acessíveis (Cardinal et al., 2019). Portanto, o presente estudo objetivou avaliar o efeito de diferentes hidrolisados proteicas de origem

animal em dietas de alevinos de *Oreochromis niloticus* sobre índices zootécnicos, histológicos e bioquímicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Ética

O procedimento experimental foi conduzido de acordo com os regulamentos e procedimentos para o uso de animais vivo, estando de acordo e sendo aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Unioeste, sob o protocolo número 42-19 intitulado “Avaliação do desempenho produtivo de alevinos (1 g) de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)”.

2.2 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquicultura do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura – GEMAQ – da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste – *Campus* Toledo. As análises bioquímicas foram realizadas em parceria com a Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) - *Campus* Laranjeiras do Sul.

Foram distribuídas quinhentos e quarenta alevinos de tilápia ($0,67 \pm 0,05$ gramas) em 20 unidades experimentais na densidade $0,3$ peixe L^{-1} . Os alevinos utilizados neste projeto, passaram pelo processo de inversão sexual, sendo considerados machos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos e quatro repetições em sistema de recirculação de água dotado de filtro mecânico e biológico, controle de temperatura e aeração.

O manejo alimentar adotado foi de seis vezes ao dia (8h, 10h, 12h, 14h, 16h e 18h) até a saciedade aparente, durante todo o procedimento experimental com duração de 30 dias. As características físico-químicas da água foram mensuradas duas vezes ao dia (8h e 18h), como oxigênio dissolvido ($4,92 \pm 0,75$ mg L^{-1}), pH ($6,89 \pm 0,37$) e temperatura ($28,87 \pm 0,76$ °C), utilizando-se de sonda

YSI 556[®], estando dentro da faixa de conforto térmica indicada para a espécie (Boyd, 1996; Silva et al., 2017).

Ao final do período experimental, os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas até esvaziamento do trato gastrointestinal. Posteriormente foram insensibilizados em solução contendo eugenol e submetidos à análise biométrica para verificação dos aspectos do desempenho produtivo.

Para avaliação dos índices organossomáticos, histológicos e bioquímicos, foram utilizados 12 peixes de cada dieta teste, sendo estes alimentados uma hora antes da eutanasiado em solução contendo eugenol afim de verificar o pico de atividade enzimática.

2.3 Dietas experimentais

Os ingredientes testes utilizados nesse experimento foram cedidos pela empresa BRF Ingredients LTDA através de parceria institucional.

Foram formuladas cinco dietas, com os ingredientes (proteína hidrolisada de frango (PHF), proteína hidrolisada de fígado suíno (PHFS), proteína hidrolisada de penas (PHP) e proteína hidrolisada de mucosa suína (PHMS)), totalizando a inclusão de 2,5% de fonte proteica hidrolisada (Tabela 1) sendo que a proteína hidrolisada de frango foi fixada em 1,25%. As dietas controles A e B, combinaram a farinha de peixe e farinha de vísceras de aves, respectivamente. Todas as dietas foram isoproteicas (40% de proteína bruta) e isoenergéticas (3.400 kcal kg⁻¹).

Tabela 1. Composição percentual e nutricional das rações experimentais contendo proteína hidrolisada BRF Ingredients, ofertadas a alevinos de tilápia

Ingredientes (%) / Dietas	Controle A	Controle B	PHF + PHFS	PHF + PHP	PHF + PHMS
Farinha de vísceras de aves	20,00	30,27	26,00	26,00	26,00
Farinha de penas	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Farinha de sangue	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Farinha de peixe	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Proteína hidrolisada de fígado suíno	0,00	0,00	1,25	0,00	0,00
Proteína hidrolisada de penas	0,00	0,00	0,00	1,25	0,00

Proteína hidrolisada de mucosa suína	0,00	0,00	0,00	0,00	1,25
Proteína hidrolisada de frango	0,00	0,00	1,25	1,25	1,25
Farelo de soja (48%)	19,75	19,36	21,10	20,85	21,63
Fubá de milho	24,63	23,82	25,27	26,29	22,19
Quirera de arroz	10,00	10,00	7,43	6,58	10,00
Antifungico	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Calcario	0,00	0,79	0,91	0,91	0,96
Cloreto De Colina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
DL-metionina	0,11	0,13	0,13	0,14	0,13
Fosfato bicalcico	0,00	0,17	0,62	0,62	0,59
L-lisina	0,09	0,13	0,12	0,15	0,10
L-triptofano	0,04	0,03	0,02	0,03	0,02
Óleo de soja	2,12	2,04	2,63	2,65	2,62
NaCl	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Vitamina C	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
Premix mineral e vitamínico ^a	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Total (%)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis nutricionais					
Amido (%)	23,47	22,95	22,00	22,00	22,00
Arginina (%)	2,73	2,66	2,62	2,64	2,64
Cálcio (%)	1,76	1,76	1,76	1,76	1,76
Colina (mg kg ⁻¹)	1200,00	1200,00	1200,00	1200,00	1200,00
Energia digestível (kcal kg ⁻¹)	3400,00	3400,00	3400,00	3400,00	3400,00
Fenilalanina + Tirosina (%)	3,17	3,21	3,20	3,21	3,22
Fosforo total (%)	1,06	1,07	1,07	1,07	1,07
Gordura (%)	7,67	8,02	8,30	8,23	8,07
Histidina total (%)	0,87	0,86	0,88	0,86	0,87
Lisina total (%)	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13
Metionina total (%)	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
Proteína bruta (%)	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
Treonina total (%)	1,66	1,65	1,65	1,65	1,65
Triptofano total (%)	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Valina total (%)	2,16	2,18	2,18	0,23	2,19
Vitamina C (mg kg ⁻¹)	490,00	490,00	490,00	490,00	490,00

^a Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 3.333.333 IU; Vit. D3, 1.333.333 IU; Vit. E, 50.000 mg; Vit. K3, 33,333 g; Vit. B1, 8.333,333 mg; Vit. B2, 8.333,333; Ácido pantotênico 16,333 g; Vit. B6, 8.333,333 mg; Vit. B12, 10.000 µg; Ácido

nicotínico 33,333 g; Biotina 333,34 mg; Inositol 66,666 g; Ferro 33,333 g; Cobre 266,667 mg; Selênio 266,667 mg; Cobalto 66,667 mg; Zinco 46,666 g; Iodo 266,667 mg.

2.4 Cálculo e análise de desempenho zootécnico

Os dados de crescimento foram avaliados de acordo com as seguintes fórmulas:

$$(1) \text{ Sobrevivência (\%)} = \frac{\text{Número de peixes ao final do período experimental}}{\text{Número de peixes ao início do período experimental}}$$

$$(2) \text{ Peso final (g)}$$

$$(3) \text{ Ganho em peso (g)} = \text{Peso final} - \text{Peso inicial}$$

$$(4) \text{ Produtividade (Kg m}^3\text{)} = \text{Biomassa} * \frac{1000\text{L. m}^3}{\text{Volume da unidade experimental}}$$

$$(5) \text{ Homogeneidade do lote (\%)} = \left(\frac{\text{Desvio padrão do peso final}}{\text{Média do peso final}} \right) * 100$$

$$(6) \text{ Fator de condição K Fulton} = \left(\frac{\text{Peso final}}{\text{Comprimento padrão}^3} \right) * 100$$

$$(7) \text{ TEF (\%)} = \frac{\text{Ganho em peso}}{\text{Consumo de proteína bruta na matéria seca}}$$

$$(8) \text{ CAA} = \frac{\text{Consumo de ração}}{\text{Ganho em peso}}$$

$$(9) \text{ TCE (\% dia}^{-1}\text{)} = \left(\frac{\ln \text{ natural do peso final} - \ln \text{ natural do peso inicial}}{\text{período experimental}} \right) * 100$$

$$(10) \text{ Índice hepatossomático (\%)} = \frac{\text{Peso do fígado}}{\text{Peso corporal}} * 100$$

$$(11) \text{ Gordura visceral (\%)} = \frac{\text{Peso da gordural visceral}}{\text{Peso corporal}} * 100$$

$$(11) \text{ Rendimento de carcaça (\%)} = \frac{\text{Peso do peixe eviscerado}}{\text{Peso do peixe inteiro}} * 100$$

Sendo:

TEF = taxa de eficiência proteica;

CAA = conversão alimentar aparente; e

TCE = taxa de crescimento específico.

2.5 Análise histológica

Para a análise histológica, coletou-se o fígado e o músculo de doze exemplares de cada tratamento (local de coleta do tecido muscular padronizado ao lado direito). Os tecidos foram fixados em solução de alfac por 24 horas, lavados e conservados em álcool 70%. As amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool, diafanizadas em xilol e emblocadas em parafina. Em seguida foram realizados os cortes dos blocos de parafina por meio de um micrótomo (MICROM, International GmbH 69190, Walldorf, Alemanha) em seções seriadas de 6 μm de espessura, fixados em lâmina e em seguida submetidos à coloração HE (hematoxilina e eosina) conforme descrito Bancroft e Stevens (1982).

A avaliação dos tecidos foi realizada em microscópio (P1 Olympus BX 50 – Manila, Filipinas) acoplado a uma câmera (Olympus PMC 35 B – Berlim, Alemanha), através de uma objetiva de 40X, com um auxílio de um sistema de análise de imagem (Software Cell Sens Standard 1.15[®]). Para avaliação do crescimento das fibras musculares, foram tomadas as medidas de diâmetro de 200 dessas estruturas por animal e agrupadas em: i) menor que 20 μm (<20 μm); ii) entre 20 e 50 μm (>20 e <50 μm); e iii) maior que 50 μm (>50 μm).

A alteração do tecido hepático foi avaliada pelo número de hepatócitos (NH) em uma área de 20.000 μm^2 .

2.6 Análise bioquímica

Avaliou-se o perfil bioquímico do fígado e do músculo para a atividade de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), catalase (CAT) e malondialdeído (MDA).

Para a homogeneização dos tecidos, pesou-se 100 mg de tecido hepático e muscular e homogeneizados em mixer homogeneizador contendo 700 μL de solução Tampão Tris-HCL 50 mM pH 7,4. Posteriormente foram centrifugados a

11.000 RPM por 10 minutos sob temperatura de 4 °C. A partir do sobrenadante, foram separadas as alíquotas, com auxílio de micropipeta, e armazenadas em ultrafreezer - 80 °C.

As concentrações de proteínas de fígado, músculo e plasma foram determinadas por meio do método Bradford (1976). A atividade da alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase foram determinadas utilizando kit comercial da marca Gold Analisa por metodologia cinética-UV.

A atividade da Catalase foi determinada segundo o método descrito por Aebi (1984) que é baseado no decréscimo de absorbância a 240 nm devido a degradação do peróxido de hidrogênio em oxigênio e água. Para quantificação do TBARS – malonaldeído amostras do sobrenadante dos homogenatos foram mensurados utilizando-se espectrofotometria.

2.7 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de normalidade e homocedasticidade, atendendo a esses pressupostos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), quando apresentaram diferenças significativas foi realizado o teste de comparação de médias de Tukey, em nível de 5% de significância.

3. RESULTADOS

3.1 Índices zootécnicos

Todos as dietas testadas apresentaram taxa de sobrevivência superior a 95% (Tabela 2), entretanto, a dieta com PHF + PHMS apresentou taxa de sobrevivência significativamente maior quando comparado aos peixes alimentados com as dietas Controle B e PHF + PHFS.

Os peixes que não receberam a inclusão de hidrolisados proteicos foram os que apresentaram maiores índices para peso final e conseqüentemente o ganho em peso (Tabela 2), não diferindo-se entre si ($p < 0,05$). No entanto, os maiores índices de peso final e ganho em peso foi observado para os peixes

alimentados com a dieta controle B, diferindo ($P < 0,0$) daqueles alimentados com hidrolisados proteicos.

Do mesmo modo, os peixes (controle B) apresentaram taxa de crescimento diário mais elevada ($P < 0,05$) em $10,61 \pm 0,46 \% \text{ dia}^{-1}$ (Tabela 2). De modo geral, a conversão alimentar aparente apresentou resultados próximos à 1:1, não havendo diferença significativa ($p > 0,05$), entre as dietas testadas assim como para a taxa de eficiência proteica (Tabela 2).

Quanto à avaliação de órgãos, os peixes alimentados com PHF + PHP, diferiu significativamente ($P < 0,05$) de PHF + PHMS para o índice hepatossomático ($p < 0,05$) (Tabela 2). O índice de gordura visceral e rendimento de carcaça não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) (Tabela 2) entre as dietas testadas.

Tabela 2. Desempenho zootécnico de alevinos de tilápia alimentadas com dietas contendo diferentes formulações de hidrolisados proteicos

Parâmetros	Tratamentos					p-valor
	Controle A	Controle B	PHF + PHFS	PHF + PHP	PHF + PHMS	
Sobrevivência (%)	96,10 ± 2,41 ^{AB}	95,35 ± 3,69 ^B	95,67 ± 6,14 ^B	98,81 ± 2,15 ^{AB}	100,00 ± 0,00 ^A	0,004
Peso inicial (g)	0,69 ± 0,07	0,66 ± 0,05	0,67 ± 0,05	0,69 ± 0,01	0,63 ± 0,05	0,483
Peso final (g)	14,07 ± 1,11 ^{AB}	15,22 ± 1,12 ^A	13,69 ± 1,21 ^B	13,77 ± 1,31 ^B	13,77 ± 0,93 ^B	0,008
Ganho em peso (g)	13,39 ± 1,12 ^{AB}	14,59 ± 1,17 ^A	13,00 ± 1,18 ^B	13,11 ± 1,27 ^B	13,10 ± 0,93 ^B	0,006
Produtividade (kg.m ³)	4,10 ± 0,52	4,36 ± 0,41	3,94 ± 0,22	4,08 ± 0,36	4,13 ± 0,31	0,648
Homogeneidade do lote (%)	22,93 ± 3,60	16,73 ± 5,55	22,71 ± 4,65	17,07 ± 3,56	23,94 ± 9,55	0,271
Fator de condição K Fulton	4,00 ± 0,07	3,99 ± 0,05	4,06 ± 0,07	3,92 ± 0,06	4,00 ± 0,14	0,299
Taxa de eficiência proteica (%)	2,57 ± 0,43	2,68 ± 0,73	2,31 ± 0,39	2,77 ± 0,12	2,56 ± 0,35	0,150
Conversão alimentar aparente	0,99 ± 0,16	0,99 ± 0,24	1,11 ± 0,18	0,91 ± 0,04	1,00 ± 0,14	0,066
Taxa de crescimento específico (%.dia ⁻¹)	10,06 ± 0,29 ^B	10,61 ± 0,46 ^A	9,97 ± 0,29 ^B	10,11 ± 0,19 ^B	10,06 ± 0,30 ^B	0,000
Índice hepatossomático (%)	2,25 ± 0,56 ^{AB}	2,13 ± 0,44 ^{AB}	2,35 ± 0,55 ^{AB}	1,96 ± 0,57 ^B	2,76 ± 0,88 ^A	0,030
Índice de gordura visceral (%)	1,87 ± 0,82	1,56 ± 0,91	1,63 ± 0,81	1,34 ± 0,83	1,48 ± 1,13	0,683
Rendimento de carcaça (%)	82,71 ± 2,17	83,36 ± 1,82	82,19 ± 2,98	81,97 ± 6,30	83,50 ± 2,21	0,770

Nota: os resultados são média ± desvio padrão. Médias na mesma linha com sobrescritos diferentes são significativamente (p <0,05) diferentes

3.2 Histologia muscular e hepática

Não foi observada fibras musculares com diâmetro inferior a 20 μm nos peixes alimentados com PHF + PHP diferindo significativamente ($P < 0,05$) daqueles alimentados com PHF + PHMS o qual apresentou $2,39 \pm 2,56$ % da composição muscular de pequenas fibras ($< 20 \mu\text{m}$) (Tabela 3).

A classe de diâmetro predominante entre as dietas foi entre 20 - 50 μm , com média de 94,78% das fibras musculares nessa faixa de diâmetro. As fibras maiores que 50 μm representam 4,30% da composição de fibras musculares (Tabela 3).

A avaliação da histologia hepática não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$), sendo observada a média de 325,81 hepatócitos por área (20.000 μm^2).

Tabela 3. Valores médios de alterações fisiológicas no músculo e fígado de alevinos de tilápia alimentadas com diferentes formulações de hidrolisados proteicos

Variáveis	TRATAMENTOS					p-valor
	Controle A	Controle B	PHF + PHFS	PHF + PHP	PHF + PHMS	
Músculo¹						
<20	$0,67 \pm 1,30^{\text{AB}}$	$1,00 \pm 1,77^{\text{AB}}$	$0,50 \pm 1,15^{\text{AB}}$	$0,00 \pm 0,00^{\text{B}}$	$2,39 \pm 2,56^{\text{A}}$	0,034
20-50	$95,61 \pm 3,26$	$95,94 \pm 4,51$	$98,11 \pm 0,96$	$92,5 \pm 11,39$	$91,78 \pm 5,77$	0,198
>50	$3,72 \pm 3,77$	$3,06 \pm 4,57$	$1,39 \pm 0,70$	$7,5 \pm 6,43$	$5,83 \pm 5,68$	0,283
Fígado²						
NH	$330,10 \pm 52,00$	$346,20 \pm 65,08$	$322,33 \pm 45,44$	$331,58 \pm 66,65$	$298,83 \pm 63,70$	0,4327

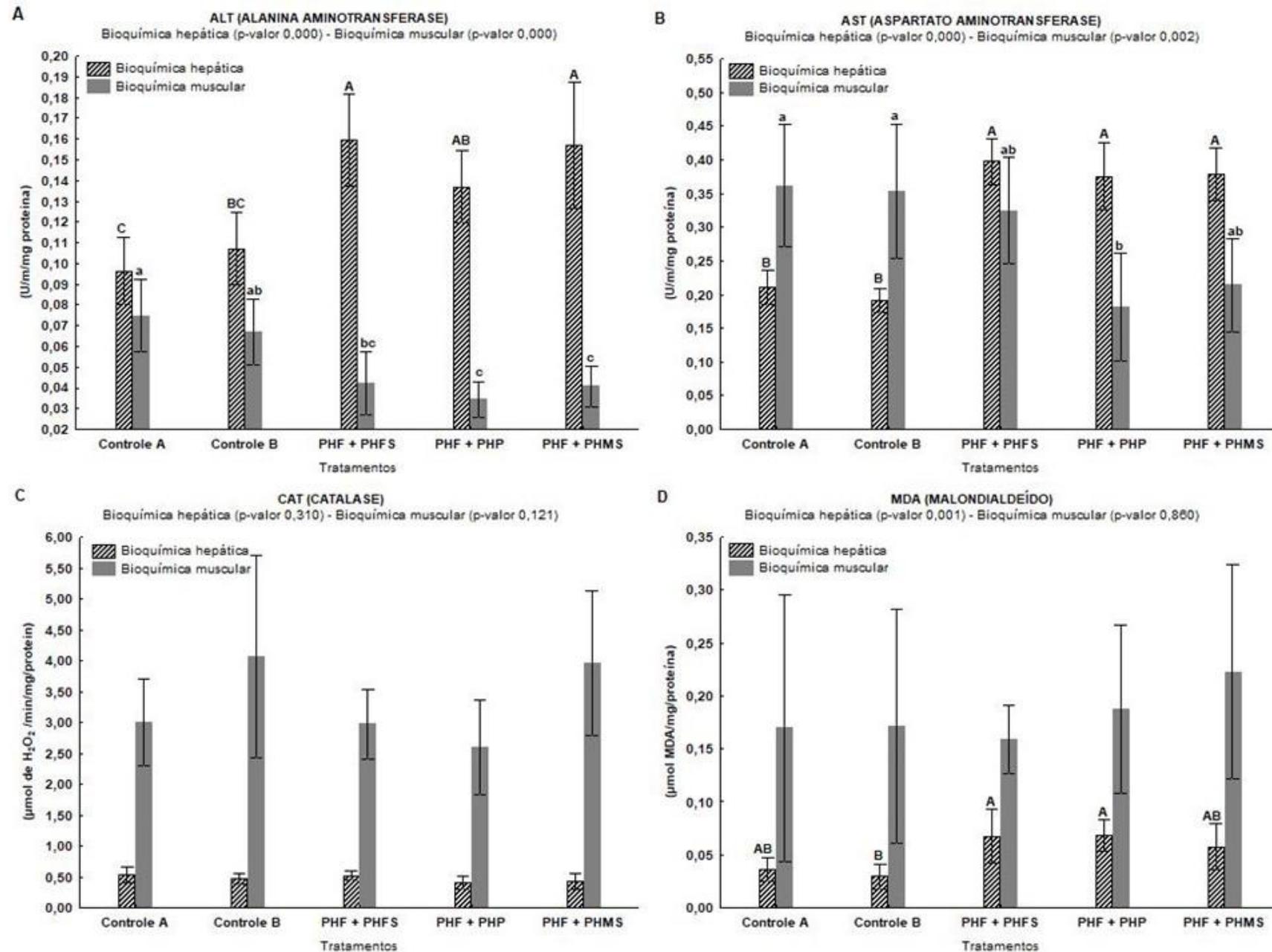
¹Valores expressos em: média da distribuição de frequência em porcentagem nas classes de tamanho i) menor que 20 μm , ii) de 20 a 50 μm e iii) maiores que 50 μm . ²Valores expressos em: média \pm desvio padrão no número total de hepatócitos (NH) em área de 20.000 μm^2 .

3.3 Bioquímica hepática e muscular

Para os parâmetros bioquímicos do fígado, observou-se que as concentrações das enzimas ALT e AST aumentaram ($p < 0,05$) naqueles que receberam a inclusão de hidrolisados na dieta (Figura 1A e 1B, respectivamente). As concentrações de CAT não diferiram entre as dietas (Figura 1C), enquanto para o MDA observou-se que os tratamentos PHF + PHFS e PHF + PHP apresentaram concentrações significativamente maiores ($p < 0,05$) quando comparado ao tratamento controle B (Figura 1D).

Em relação ao perfil bioquímico muscular, observou-se concentrações da enzima ALT em níveis mais elevados naqueles que não continham hidrolisado proteico na dieta (Figura 1A). Quanto ao AST observou-se que as dietas PHF + PHP proporcionou menor concentração ($p < 0,05$) quando comparado ao Controle A e B (Figura 1B). A CAT e MDA não apresentaram diferenças entre as dietas (Figura 1C e 1D, respectivamente).

Figura 1. Bioquímica hepática e muscular de *Oreochromis niloticus* alimentadas com diferentes formulações de hidrolisados proteicos



4 DISCUSSÃO

Do ponto de vista produtivo, todas as dietas alcançaram performances de crescimento e taxas de sobrevivência satisfatórias nas condições avaliadas, destacando-se os peixes que foram alimentados com a dieta Controle B para ganho em peso, peso final e taxa de crescimento específico.

O fator de condição (K Fulton) reflete o grau de bem-estar dos peixes, sendo considerado que os valores mais elevados representam maior grau de higidez (Lima et al., 2017; Ferreira et al., 2018). No presente estudo os fatores não diferiram entre os tratamentos com valores próximos ao descrito para espécie por Boscolo et al. (2006) e Liu et al. (2012), indicando que os peixes estavam em condições saudáveis.

Os peixes alimentados com a dieta controle B apresentou maior ganho em peso, peso final e taxa de crescimento específico comparado aqueles que foram alimentados com hidrolisados proteicos, possivelmente em função de ser constituído de maior teor de farinha de vísceras de aves sendo este um ingrediente com alta taxa de digestibilidade (Signor et al., 2012; Pinto et al., 2017).

A inclusão de 2,5% de PHF resulta em melhorias no ganho em peso, peso final e taxa de crescimento específico para pós-larvas de tilápia (Rocha, 2018). O oposto foi constatado no presente estudo podendo estar relacionados com o baixo nível de inclusão de PHF utilizado nas formulações (1,25%), não sendo suprido pela associação com as demais fontes hidrolisadas utilizadas.

Semelhantemente a este trabalho, Farias (2018) descreve que a inclusão de 2,5% de hidrolisado proteico de resíduos de filetagem de tilápia resulta em menores taxas de crescimento para *O. niloticus* quando comparado a dieta controle. Nota-se, portanto, que as fontes hidrolisadas podem atuar de maneiras distintas sobre o desenvolvimento animal e sugere-se que as dietas avaliadas no presente estudo sejam reavaliadas verificando-se diferentes níveis de inclusão e o processo biotecnológico utilizado para sua obtenção.

Sendo a taxa de sobrevivência um dos índices produtivos de maior importância, sendo fundamental nesta fase de cultivo, neste sentido destaca-se a dieta PHF + PHMS que proporcionou uma taxa de 100% de sobrevivência dos animais sendo significativamente superior ($p < 0,05$) ao Controle B e PHF + PHFS. Rocha, (2018) avaliando níveis de inclusão de PHF na dieta de pós-larvas de tilápia e Carvalho et al. (2020) avaliando níveis de inclusão de hidrolisados proteicos oriundos de subprodutos de aves e suínos na dieta de juvenis de tilápia descrevem que a sobrevivência aumentou numericamente naqueles que continham hidrolisados em relação a dieta controle.

O índice hepatossomático representa a relação entre o peso do fígado com o peso corporal, sendo uma forma de quantificar o estoque de energia (glicogênio) (Cyrino et al., 2000). Constatou-se que os peixes alimentados com PHF + PHMS apresentaram índice hepatossomático superior ao PHF + PHP. Infere-se que a mistura entre PHF com PHMS tenha promovido ação sinérgica sobre os índices zootécnicos visto a maior taxa de sobrevivência e índice hepatossomático.

A histologia, assim como os índices zootécnicos permite maior entendimento sobre o crescimento dos peixes. A avaliação da hipertrofia muscular (relacionado ao tamanho da fibra) revela que independentemente da dieta, a maior parte das fibras musculares se encontram entre 20 e 50 μm .

Rocha (2018) e Luczinski (2019) avaliando formas jovens de *O. niloticus* também descrevem que a composição majoritária de fibras musculares se encontra entre 20 e 50 μm na fase estudada. Dentre as classes de tamanhos avaliadas, notou-se reduzido perfil de fibras musculares acima de 50 μm , indicando que as fibras intermediárias (20 e 50 μm) podem aumentar de tamanho, conferindo crescimento aos peixes.

Em relação à histologia hepática, constatou-se que o número de hepatócitos (NH – Tabela 3), foi similar entre todas as dietas testadas. Os valores observados são superiores ao descrito por Luczinski (2019) avaliando formas jovens da mesma espécie. Conforme relatado por Rocha (2018) o grande número de hepatócitos denota que a nutrição não causou danos ao metabolismo

animal, devido os hepatócitos serem um dos primeiros afetados pela toxicidade dos alimentos.

Outro aspecto analisado no presente estudo foi o efeito do uso de proteínas hidrolisadas sobre as vias metabólicas, avaliadas pela bioquímica hepática e muscular.

A hidrólise é um processo que pode alterar as características nutricionais do alimento, gerando um produto que apresenta diferenças em sua composição quanto ao peso molecular e ao perfil de aminoácidos (Neves et al., 2004), e diferentemente do que ocorre com carboidratos e lipídios, o excesso de proteínas e aminoácidos livres não é armazenado no corpo (Tirapegui e Rogero, 2007).

Os principais processos envolvidos na metabolização de aminoácidos são a transaminação e a desaminação (Iglesias e Leite, 2005), sendo esses processos conduzidos principalmente pelas enzimas ALT e AST.

Segundo Nelson e Cox (2014), a ALT hepática e muscular realiza a transaminação entre o α -Cetoglutarato e glutamato. A atividade de ALT no fígado permite que o glutamato entre na mitocôndria para posterior formação de aspartato ou íon amônio, enquanto no músculo participa do ciclo da glicose-alanina liberando a amônia muscular de forma não tóxica através da alanina direcionada de volta ao fígado. Desta forma a atividade de ALT muscular pode estar relacionada à obtenção de energia ou como precursora em rotas de biossíntese.

As dietas Controle A e Controle B apresentaram maior atividade de ALT no músculo (Figura 1A), assim como maiores valores de crescimento no desempenho zootécnico (tabela 2), indicando uma relação enzimática voltada à biossíntese muscular. Entretanto, as dietas com fontes hidrolisadas apresentaram maiores concentrações de ALT no fígado, perfil inverso ao observado na musculatura, assim como maiores níveis de AST (Figura 1A). Sendo a ALT e AST aminotransferases diretamente relacionadas à síntese ou degradação de aminoácidos e conseqüentemente à biossíntese proteica, a

hiperatividade hepática pode desencadear efeitos sobre aspectos de crescimento, caso seja adotado a dieta durante um período alimentar maior.

Cai et al. (2015) descrevem que o uso de hidrolisado ultrafiltrado, caracterizado por conter aminoácidos com menor peso molecular de seus peptídeos, resultou em concentrações maiores das enzimas ALT e AST no corpo de larvas de corvina amarela grande (*Larimichthys crocea*) quando comparado à dieta composta por farinha de peixe, indicando melhor metabolismo de aminoácidos ao ser utilizado a proteína hidrolisada. Do mesmo modo, Sá et al. (2008) avaliando níveis crescentes de inclusão de proteína na dieta de *Diplodus sargus*, descrevem que a atividade de ALT e AST foi positivamente relacionada ao aumento do teor proteico na dieta, indicando capacidade adaptativa ao catabolismo proteico.

Para melhor aproveitamento nutricional e conseqüentemente maior crescimento dos peixes, é importante a manutenção da homeostase corporal. O estresse oxidativo ocorre em função do desequilíbrio entre a formação de radicais livres com a capacidade de neutralização pelo sistema de defesa antioxidante sendo a dieta considerada um fator de grande modulação do sistema de defesa (Barbosa et al., 2010).

A catalase é uma enzima que atua na conversão do radical livre peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio ($2H_2O + O_2$) diminuindo sua toxicidade (Barbosa et al., 2010). No presente estudo não foi observado efeito da dieta sobre os níveis da CAT tanto no tecido hepático quanto no tecido muscular ($p > 0,05$) (Figura 1).

Silva et al. (2020) avaliando a catalase como biomarcador em juvenis e adultos de *O. niloticus* descrevem que os níveis enzimáticos são diferentes de acordo com o tecido avaliado (fígado e brânquias) e entre diferentes idades. Comportamento semelhante é descrito no presente estudo, uma vez que se observa que os níveis de atividade da enzima CAT foram maiores no tecido muscular (acima de $2,50 \mu\text{mol } H_2O_2/\text{min}/\text{mg}$ proteína), enquanto no tecido hepático os valores ficaram próximos a $0,50 \mu\text{mol } H_2O_2/\text{min}/\text{mg}$ proteína.

Outra forma de analisar o estresse oxidativo em peixes é através do TBARS (*Thiobarbituric acid reactive substances*). As substâncias reativas ao TBARS são produtos mensuráveis, resultantes do estresse oxidativo, destacando-se o malondialdeído (MDA) (Lima e Abdalla, 2001; Grotto et al., 2008; Garcia, 2016).

Apesar dos hidrolisados proteicos apresentarem como bioatividade a ação antioxidante (Zamora-Sillero et al., 2018), verificou-se maiores concentrações de MDA nas dietas PHF + PHFS e PHF + PHP quando comparados ao Controle B, indicando maior estresse oxidativo nesses tratamentos.

Os dados do presente estudo corroboram com o observado por Yuan et al. (2019), onde os autores avaliaram níveis de inclusão de proteína hidrolisada de farelo de algodão na dieta de juvenis de sargos (*Megalobrama amblycephala*) e observaram que em certas condições os peixes apresentaram maior atividade de MDA com a inclusão do hidrolisado na dieta quando comparado ao tratamento controle. Em contrapartida, a única dieta contendo hidrolisados que não diferiu da dieta Controle A e Controle B foi PHF + PHMS ($p > 0,05$) indicando estabilidade na formação de espécies reativas de oxigênio.

5 CONCLUSÕES

Considerando a utilização de hidrolisados proteicos recomenda-se a dieta com PHF + PHMS, em função de proporcionar melhor taxa de sobrevivência. As avaliações histológicas indicam que o uso de hidrolisados não causam prejuízos sobre o desenvolvimento animal e a avaliação bioquímica demonstrou aumento da atividade hepática.

6 REFERÊNCIAS

Assis, T. S.; Ribas, J. L. C.; Vianna, A. C. C. 2018. Biomarcadores histológicos e bioquímicos de *Oreochromis niloticus* (Actinopterygii: Cichlidae) para avaliação da qualidade de água. **Brazilian Journal of Ecology**, v. 1, p. 35-45.

Bancroft, J. D. E.; Stevens, A. 1982. **Theory and Practice of Histochemical Techniques**. 2nd Ed. Churchill Livingstone.

Barbosa, Kiriague Barra Ferreira; Costa, N. M. B. ; Alfenas, R. C. G. ; Minin, V. P. R. ; Paula, S. O. ; Bressan, Josefina . 2010. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, p. 629-643.

Bernardo, B. S.; Callegaro, K. ; Ramos, R. F. ; Daroit, D.J. 2019. Co-production of proteases and bioactive protein hydrolysates from bioprocessing of feather meal. **Brazilian Archives of Biology And Technology**, v. 62, e19180621. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2019180621>

Bhaskar, N.; Modi, V. K.; Govindaraju, K. Radha, C.; Lalitha, R. G. 2007. Utilization of meat industry by products: Protein hydrolysate from sheep visceral mass. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 388-394.

Boyd, C.E. Water quality in ponds for aquaculture. Shrimp Mart, Songkhla, Thailand, 1996

Boscolo, W. R.; Feiden, A.; Signor, A.; Signor, A. A.; Bard, J. J.; Ishida, F. A. 2006. Energia digestível para alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35 (3), p. 629-633.

Brabo, M. F.; Veras, G. C.; Paiva, R. S.; Fujimoto, R. Y. 2014. Aproveitamento aquícola dos grandes reservatórios brasileiros. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 40(1): p. 121–134.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v. 7:(72), p. 248-54. <http://dx.doi.org/10.1006/abio.1976.9999>

Cai, Z., Li, W., Mai, K., Xu, W., Zhang, Y., & Ai, Q. 2015. Effects of dietary size-fractionated fish hydrolysates on growth, activities of digestive enzymes and aminotransferases and expression of some protein metabolism related genes in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) larvae. **Aquaculture**, v. 440, p. 40–47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.01.026>

Cardinal, K. M.; Costa, J. L. B.; Ribeiro, A. M. L. 2019. Princípios básicos na formulação de rações. **Pubvet**, v. 13, p. 1-7. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n9a410.1-7>

Cardoso, M. S.; Godoy, A. C.; Oxford, J. H.; Rodrigues, R.; Santos C. M.; Bittencout, F.; Signor, A.; Boscolo, W. R.; Feiden, A. 2021. Apparent digestibility of protein hydrolysates from chicken and swine slaughter residues for Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 530, 735720. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735720>

Carvalho, K. V.; Luczinski, T. G.; Boscolo, W. R.; Freitas, J. M. A.; Signor, A. 2020. Poultry byproducts and swine liver used in diets for Nile tilapia juveniles. *Latin*

American Journal of Aquatic Research, v. 48:(5), p. 895-900.
<https://doi.org/10.3856/vol48-issue5-fulltext-2524>

Cyrino, J. E. P.; Pórtz, L.; Martino, R. C. I. 2000. Retenção de proteína e energia em juvenis de "Black Bass" *Micropterus Salmoides*. *Scientia Agricola*, v.57, p.609-616.

Dieterich F.; Boscolo, W. R.; Bertoldo, M. T. P.; Silva, V. S. N.; Gonçalves, G. S.; Vidotti, R. M. 2014. Development and characterization of protein hydrolysates originated from animal agro industrial byproducts. **Dairy, Veterinary & Animal Research**. v. 1, p. 12-19. <http://dx.doi.org/10.15406/jdvar.2014.01.00012>

FAO. 2020. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020**. Sustainability in action. Rome <https://doi.org/10.4060/ca9229en>

Farias, A. C. A. 2019. Digestibilidade aparente do hidrolisado proteico de resíduos de filetagem de tilápia e sua inclusão em rações para pós larvas de tilápia do Nilo. 24 f. **Dissertação de mestrado**- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2019. <http://tede.unioeste.br/handle/tede/4375>

FERREIRA, C. F. C.; CARDOSO, R. L; MEDEIROS, J. C. C.; AZEVEDO, J. W. J.; CASTRO, A. C. I. 2018. Relação peso-comprimento e fator de condição do peixe prata, *Diapterus rhombeus* (Perciformes - Gerreidae), capturado no litoral ocidental do Maranhão, Brasil. **Anais Congresso Brasileiro De Gestão Ambiental**, v. 9, p. 1-6.

Garcia, D. P. 2008. Metabolismo do malondialdeído em peixes: implicações na avaliação da peroxidação lipídica como biomarcador de contaminação aquática. **Dissertação de mestrado** - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. 2016

Grotto, D.; Valentini, J. ; Boeira, S.; Paniz, C. ; Maria, L. S. ; Vicentini, J.; Moro, A. ; Charão, M.; Garcia, S. C.; Cardoso, S. G. 2008. Avaliação da estabilidade do marcador plasmático do estresse oxidativo: malondialdeído. **Química Nova**, v. 31, p. 275. <https://Doi.Org/10.1590/S0100-40422008000200016>

Ha, N.; Jesus, G. F. A.; Goncalves, A. F. N.; Oliveira, N. S.; Sugai, J. K.; Pessatti, M. L.; Mouriño, J. L. P.; Fabregat, T. E. H. P. 2019. Sardine (*Sardinella* spp.) protein hydrolysate as growth promoter in South American catfish (*Rhamdia quelen*) feeding: Productive performance, digestive enzymes activity, morphometry and intestinal microbiology. **Aquaculture**, v. 500, p. 99-106. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.004>

Henriques, J. K. S.; Rodrigues, R. B.; Lazzari, R. 2018. Caracterização e uso das farinhas de abatedouros de aves em dietas para peixes. **Revista Acta Tecnológica**, v. 12, p. 103-115.

How, Y.; Wu, Z.; Dai, Z.; Wang, G.; Wu, G. 2017. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance.

Journal of animal science and biotechnology, v. 8.
<https://doi.org/10.1186/s40104-017-0153-9>

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária municipal**, v. 47, p. 1-16, 2019.

Idowu, A. T.; Igiehon, O. O.; Idowu, S.; Olatunde, O. O.; Benjakul, S. 2020. Bioactivity Potentials and General Applications of Fish Protein Hydrolysates. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 27, p. 109–118. <https://doi.org/10.1007/s10989-020-10071-1>

Iglesias, S. B. O.; Leite, H. P. 2005. Metabolismo Protéico - Uso de Aminoácidos e Proteínas Especiais (Arginina, Glutamina, Aminoácidos de Cadeia Ramificada e Albumina). In: Mario Telles Junior; Heitor Pons Leite. (Org.). *Terapia nutricional no Paciente Pediátrico Grave*. 1ed.São Paulo/Rio de Janeiro: **Atheneu**, v. 1, p. 171-193.

Kanashiro, E. S. 2015. O desenvolvimento de rações cada vez mais elaboradas e sistemas de proteção ambiental fornecem maior sustentabilidade à produção de peixes. **Temas atuais em biologia**, v. 2.
<http://dx.doi.org/10.4322/temasbio.n2.022>

Lima, C. S.; Silveira, M. M.; Tuesta, G. M. R. Nutrição proteica para peixes. **Ciência Animal**, v. 25:(4), p. 27-34, 2015

LIMA, E. M. M.; SOUSA, K. N. S.; SANTOS, P. R. B.; FERREIRA, L. A. R.; RODRIGUES, A. F.; PANTOJA, A. S. Relação peso-comprimento e fator de condição da pescada branca (*Plagioscion squamosissimus*, Heckel 1840) comercializada no município de Santarém, Pará, Brasil. **Biota Amazônia**, v. 7, p. 44-48, 2017 <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v7n2p44-48>.

Lima, E. S.; Abdalla, D. S. P. 2001. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. RBCF. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, p. 293-302.

Liu, X.; Ye, J.; Wang, K.; Yang W.; Zhou, L. 2012. Partial replacement of fish meal with peanut meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, v. 43, p. 745–755.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02883.x>

Lorenz, E. K.; Barone, R. S. C.; Yamamoto, F. Y.; Cyrino, J. E. P. 2018. Dietary Protein Hydrolysates from Animal By-Products: Digestibility and Enzymatic Activity for Dourado *Salminus brasiliensis*. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 27, p. 1-11. <https://doi.org/10.1080/10498850.2018.1424745>

Luczinski, T. G. 2019. Proteína hidrolisada de frango em dietas para juvenis de tilápia-do-nilo. 2019. 28 p. **Dissertação de mestrado** - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo. <http://tede.unioeste.br/handle/tede/5018>

Lui, T. A.; Neu, D. H.; Boscolo, W. R.; Bittencourt, F.; Freitas, J. M. A.; Feiden, A. 2012. Uso de trigo orgânico na alimentação de juvenis de tilápia do Nilo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42 (4), p. 383-389.

National Research Council of the National Academy of Sciences of the United States [NRC]. 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. **National Academy Press**, Washington, DC, USA.

Nelson, D. L.; Cox, M. M. 2014. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**, 6ª edição.

Neves, R. A. M.; De Mira N. V. M.; Marquez, U. M. L. 2004. Caracterização de hidrolisados enzimáticos de pescado. *Ciênc. Technol. Aliment*, v. 24:(1), p. 101-108. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612004000100019>

Peron, F. P; Paula, B. B; Santos, A. J. F. 2020. Avaliação de proteína hidrolisada de aves e suínos aminEAU Tilápia® sobre o desempenho e resistência ao estresse da tilápia do Nilo na fase inicial. **Brazilian journal of development**, v. 6:(8), p.55058- 55064.<http://dx.doi.org/10.34117/bjdv6n8-066>

Pinto, L. G. Q.; Pezzato, L. E.; Gamboa, B. S. P. Araujo, D. M. *Inst. Pesca, São Paulo*, 43(1): 1 - 13, 2017. Digestibilidade de fontes proteicas e disponibilidade de fosfatos inorgânicos em três fases de desenvolvimento da tilápia-do-nilo **Boletim do instituto de pesca**, v. 43:(1) p. 1-13. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2017v43n1p1>.

Rocha, J. D. M. 2018. Proteína hidrolisada de frango para tilápia do Nilo: digestibilidade e desempenho produtivo. 2018. 68 f. **Tese de doutorado** - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo. <http://tede.unioeste.br/handle/tede/5018>

Rodrigues, L. S.; Cavalcanti, I. M.; Capanema, L. X. L.; Morch, R. B.; Magalhaes, G.; Lima, J. F.; Burns, V.; Alves Junior, A. J.; Mungiolli, R. P. 2012. **Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades**. Disponível em: https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/1524/1/A%20Set.35_Panorama%20da%20aquicultura%20no%20Brasil_P.pdf

Sá, R.; Pousão-Ferreira, P. & Oliva-Teles, A. 2008. Dietary protein requirement of white sea bream (*Diplodus sargus*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, v.14, p.309-317. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00532.x>

Santos, E. L.; Cavalcanti, M. C. A.; Fregadolli, F. L.; Menezes, D. R. M.; Temoteo, M. C.; Lira, J. E.; Fortes, C. R. 2013. Considerações sobre o manejo nutricional

e alimentar de peixes carnívoros. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 10, p. 2218-2255.

Signor, A. A.; Neu, D. H.; Feiden, A. ; Signor, A.; Potrich, F. R. ; Boscolo, W. R. 2012. Digestibilidade protéica da farinha de resíduos da filetagem de tilápias e farinha de vísceras de aves para o piavuçu (*Leporinus macrocephalus*). **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, p. 66-72. <https://doi.org/10.18188/sap.v11i4.5433>

Silva, D.; Serrano, L. Almeida, E. A. 2020. Biomarcadores bioquímicos em tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) de diferentes pesos expostas a contaminantes. **Revista De Biologia Neotropical / Journal of Neotropical Biology**, v. 17:(2), p. 145-156. <https://doi.org/10.5216/rbn.v17i2.63433>

Silva, T. C.; Rocha, J. D. M.; Moreira, P.; Signor, A.; Boscolo, W. R. 2017. Fish protein hydrolysate in diets for Nile tilapia post-larvae. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 52, p. 485-492.

Silva, F. N. L.; Medeiros, L. R.; Costa, M. S. M.; Macedo, A. R. G.; Brandão, L. V.; Souza, R. A. L. Qualidade da água proveniente de poço artesiano em viveiro de piscicultura. **Pubvet**, v. 11:(7) p. 652-657, 2017 <https://doi.org/10.22256/PUBVET.V11N7>

Soares, M.; Rezende, P. C.; Corrêa, N. M.; Rocha, J. S.; Martins, M. A.; Andrade, T. C.; Fracalossi, D. M.; Vieira, F. N. 2020. Protein hydrolysates from poultry by-product and swine liver as an alternative dietary protein source for the Pacific white shrimp. **Aquaculture Reports**, v. 17, p. 100344. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100344>

Tirapegui, J.; Rogero, M. M. 2007. Metabolismo de proteínas. In: DE ANGELIS, R.C.; TIRAPEGUI, J.. (Org.). **Fisiologia da nutrição humana: aspectos básicos, aplicados e funcionais**. 2ed. p. 69-109.

Winnikes, F. R. 2020. Análise de viabilidade econômica da utilização de proteína hidrolisada de frango (PHF) na alimentação da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). 53 f. **Dissertação de mestrado** - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo. <http://tede.unioeste.br/handle/tede/5046>

Yuan, X.; Jiang, G.; Cheng, H.; Cao, X.; Shi, H.; Liu, W. 2019. An evaluation of replacing fish meal with cottonseed meal protein hydrolysate in diet for juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*): Growth, antioxidant, innate immunity and disease resistance. **Aquaculture nutrition**, v. 25:(6), p. 1334-1344. <https://doi.org/10.1111/anu.12954>

Zamora-Sillero, J., Gharsallaoui, A.; Prentice, C. 2018. Peptides from Fish By-product Protein Hydrolysates and Its Functional Properties: an Overview. **Mar Biotechnol**, v. 20, p. 118–130. <https://doi.org/10.1007/s10126-018-9799-3>