

**SINH TRƯỞNG, HIỆU QUẢ SỬ DỤNG THỨC ĂN VÀ
THÀNH PHẦN SINH HÓA CỦA CÁ CHIM (*Trachinotus blochii*)
CHO ĂN THỨC ĂN CÓ BỔ SUNG PROTEIN THỦY PHÂN CÁ NGỪ**

**GROWTH PERFORMANCE, FEED EFFICIENCY AND PROXIMATE COMPOSITION OF
SNUBNOSE POMPANO (*Trachinotus blochii*) FED DIETS WITH TUNA HYDROLYSATE
SUPPLEMENTATION**

Phạm Đức Hùng, Vũ Tuyết Nhung, Ngô Văn Mạnh

Viện Nuôi trồng Thủy sản, Đại học Nha Trang

Tác giả liên hệ: Phạm Đức Hùng (Email: hungpd@ntu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 18/08/2020; Ngày phản biện thông qua: 01/09/2020; Ngày duyệt đăng: 15/09/2020

TÓM TẮT

Thí nghiệm được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng protein thủy phân cá ngừ (VTH) bổ sung trong thức ăn lên sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và thành phần sinh hóa của chim giai đoạn giống. Thức ăn thí nghiệm được triển khai với 5 loại thức ăn (protein thô: 46,5%, lipid: 10%) tương ứng bổ sung 0; 3; 6; 9 và 12% nội tạng cá ngừ thủy phân. Cá chim (5,48 g/con) được bố trí ngẫu nhiên vào trong 15 bể composit và cho ăn tới khi thỏa mãn trong 8 tuần. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tốc độ tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim đạt cao nhất khi cho ăn thức ăn có 6% dịch thủy phân cá ngừ. Không có sai khác về tỷ lệ sống của cá chim ở các nghiệm thức khác nhau. Tăng mức bổ sung VTH từ 0 lên 12% không làm ảnh hưởng đến hàm lượng protein thô, lipid thô và tro của cá chim. Không có sự sai khác ý nghĩa về các chỉ số huyết học trong máu cá chim ở các nghiệm thức khác nhau, ngoại trừ hàm lượng protein trong máu cá chim cho ăn thức ăn có 9% VTH thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng. Tóm lại, bổ sung VTH ở mức 6% trong thức ăn là tối ưu cho sinh trưởng của cá chim giai đoạn giống.

Từ khóa: cá chim, protein thủy phân, bột cá

ABSTRACT

A feeding trial was conducted to evaluate the effects of dietary viscera tuna hydrolysate (VTH) inclusion in diets on growth performance, feed efficiency and proximate composition of juvenile snubnose pompano. Five isonitrogenous (crude protein 46.5 %, lipid 10 %) diets were formulated in which VTH were added at levels of 0 (control), 3, 6, 9 and 12 %. Juvenile pompano (mean weight 5.48g/fish) was randomly distributed into 15 fiberglass tanks and fed to satiation in eight weeks. The results showed that the final body weight and specific growth rate were highest in fish fed diets containing 6% of tuna hydrolysate. There was no significant difference in survival rate among treatments. Increasing the supplemental levels of VTH from 0 to 12% did not significantly affect on crude protein, crude lipid and ash contents in the whole-body of pompano. There were no significant differences on haematological and biochemical parameters of juvenile pompano among treatment, except total protein showed significantly lower in fish fed diet containing 9% VTH compared to that in the control group. In conclusion, the optimum VTH in diet for juvenile pompano was 6% for maximum growth performances.

Keywords: snubnose pompano, fish protein hydrolysate, fishmeal

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá chim được nuôi rộng rãi ở nhiều nước châu Á và Việt Nam vì chúng có tốc độ tăng trưởng nhanh, giá trị kinh tế cao và khả năng thích nghi tốt với cả nuôi lồng và nuôi ao trong

các vùng nước lợ, mặn. Tuy nhiên, sự phụ thuộc vào bột cá như là nguồn cung cấp protein chính trong thức ăn thủy sản là một trong những thách thức lớn cho sự phát triển nuôi trồng thủy sản bền vững cá chim và các loài cá biển khác

[1]. Mặc dù, bột cá có hàm lượng protein cao, cân bằng về thành phần các amino acid thiết yếu, độ tiêu hóa cao để đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng cho cá [2, 3]. Nguồn cung thiếu ổn định, giá bán cao và tác động xấu đến môi trường khi sử dụng bột cá đang đặt ra những áp lực cho ngành sản xuất thức ăn thủy sản, đòi hỏi phải giảm việc sử dụng bột cá trong thức ăn [3, 4]. Bên cạnh đó, việc mở rộng các mô hình nuôi thâm canh cá chim với mật độ cao có thể gây ra sự bùng phát dịch bệnh, đặc biệt là các bệnh do vi khuẩn, như đã được ghi nhận ở cá chim nuôi lồng tại Khánh Hòa, Vũng Tàu, Kiên Giang. Do đó, tìm kiếm các nguồn protein có chất lượng cao để vừa thay thế bột cá, đồng thời tăng cường hệ miễn dịch không đặc hiệu của cá qua đó cải thiện sức khỏe vật nuôi là cần thiết để phát triển bền vững nghề nuôi cá chim.

Ngành công nghiệp chế biến thủy sản tạo ra khoảng 60% phụ phẩm bao gồm da, vây, đầu, nội tạng và xương, những phần này có thể gây ra nhiều vấn đề về ô nhiễm và xử lý chất thải ở cả những nước phát triển và đang phát triển. Những phụ phẩm này chứa hàm lượng tương đối cao protein và các chất dinh dưỡng cần thiết và có thể sử dụng để chế biến thức ăn, bột cá hay phân bón [5]. Nhiều kỹ thuật sinh học đã được phát triển để thu hồi các chất dinh dưỡng cần thiết và các chất với hoạt tính sinh học cao trong các sản phẩm phụ từ chế biến để sản xuất protein thủy phân chất lượng cao [6]. Quá trình thủy phân enzyme giúp chuyển các protein trong các phần phụ của cá thành các peptide nhỏ với 2-20 amino acid, có khối lượng phân tử nhỏ và thích hợp cho sự tiêu hóa trong ruột [7].

Việc sử dụng protein thủy phân như là nguồn protein thay thế cho bột cá đã được nghiên cứu trên một số loài cá biển. Siddik, Howieson (8) chỉ ra rằng, thay thế 10% bột cá bằng cá ngừ thủy phân (VTH) trong thức ăn cho cá chêm (*Lates calcarifer*) giúp cải thiện tăng trưởng, đáp ứng miễn dịch, cấu trúc ruột và khả năng chống lại vi khuẩn *Streptococcus iniae*. Sự hiệu quả của việc bổ sung protein thủy phân từ cá cũng được ghi nhận trên cá bơn (*Scophthalmus maximus*), cá đù vàng (*Larimichthys polyactis*) và cá hồi Đại Tây Dương (*Salmon salar*) [9, 10]. Những kết quả từ các nghiên cứu này cho thấy sinh trưởng, tiêu hóa và chức năng miễn dịch ở cá có thể được cải thiện thông qua việc bổ sung một lượng VTH thích hợp trong thức ăn. Trên cơ sở đó, có thể cho rằng sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn và đáp ứng sinh lý ở cá chim có thể được tăng cường bằng cách bổ sung lượng VTH hợp lý trong thức ăn.

II. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Thức ăn thí nghiệm

Một thức ăn chuẩn (protein thô 46,5%; lipid thô 11%) được thiết lập. Dịch thủy phân từ nội tạng cá ngừ (VTH) được bổ sung vào thức ăn chuẩn ở mức 0 (đối chứng); 3 % (VTH03); 6 % (VTH06); 9% (VTH09) và 12 % (VTH12). Các nguyên liệu được xay mịn sau đó trộn đều trước khi được ép viên qua máy ép. Thức ăn được sấy đến độ ẩm khoảng 90 g/kg, sau đó được đóng gói và bảo quản ở -15°C cho đến khi sử dụng. Thành phần nguyên liệu và sinh hóa của thức ăn được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Thành phần nguyên liệu và sinh hóa của thức ăn thí nghiệm

Nguyên liệu (g/kg)	Thức ăn thí nghiệm				
	Đối chứng	VTH03	VTH06	VTH09	VTH12
Bột cá	630	598.5	567	535.5	504
VTH	0	30	60	90	120
Bã đậu nành	90	90	90	90	90
Gluten bột mì	50	50	50	50	50
Dầu cá	50	51	52	53	54
Cellulose	2	2.5	3	3.5	4
Vitamin tổng hợp	2	2	2	2	2

Nguyên liệu (g/kg)	Thức ăn thí nghiệm				
	Đối chứng	VTH03	VTH06	VTH09	VTH12
CaCO ₃	2	2	2	2	2
Dicalcium phosphate	3	3	3	3	3
NaCl	5	5	5	5	5
<i>Proximate compositions</i>					
Vật chất khô	911.08	913.40	897.10	882.90	904.40
Protein thô	465.60	466.40	468.50	462.40	467.10
Lipid thô	114.20	119.40	113.50	110.70	109.70
Tro	81.00	70.90	64.60	57.20	45.30

2. Cá thí nghiệm

Cá chim giống (trung bình 5,48 g/con) được bố trí ngẫu nhiên vào 15 bể composite (500 L/bể) với mật độ thả 20 con/bể. Mỗi nghiệm thức thức ăn được phân bố ngẫu nhiên vào 3 bể. Tất cả các bể được kết nối với hệ thống cấp nước mặn để duy trì dòng chảy liên tục ở mức 5 L/phút. Cá được cho ăn bằng tay, 2 lần/ngày vào lúc 8h00 và 16h00 cho đến khi thỏa mãn. Thức ăn thừa được siphon sau khi cho ăn 30 phút và bảo quản trong tủ đông để tính toán hiệu quả sử dụng thức ăn. Thời gian thí nghiệm sinh trưởng kéo dài 8 tuần.

3. Thu và phân tích mẫu

Sau 8 tuần thí nghiệm, tất cả cá được cân và đo riêng từng con. Số cá thể (3 con) từ mỗi bể được thu để phân tích thành phần sinh hóa. Mẫu máu từ 03 cá thể trong mỗi bể được hút từ tĩnh mạch đuôi bằng kim tiêm và chuyển vào trong các tuýp đựng mẫu có chứa chất chống đông để phân tích công thức máu.

Thành phần sinh hóa như protein, lipid, tro, độ ẩm của thức ăn, mẫu cá được phân tích theo phương pháp mô tả bởi AOAC (1990). Protein thô theo phương pháp Kjeldahl, lipid thô theo phương pháp Blind & Dyer, tro được xác định bằng sáy mẫu ở 105°C đến khối lượng không đổi, tro được xác định bằng nung mẫu ở 550°C đến khối lượng không đổi. Công thức máu được phân tích tự động bằng máy phân tích huyết học (Sysmex XT-162 1800i, Kobe, Japan).

4. Phương pháp xử lý số liệu

$$\text{Tỷ lệ sống: } S\% = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Trong đó: N_t: là số cá tại thời điểm t; N₀: Số cá thả ban đầu

Tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR%/ngày)

$$SGR = \frac{Ln(W_2) - Ln(W_1)}{t} \times 100\%$$

Trong đó:

W₁, W₂ là khối lượng cá lúc bắt đầu và kết thúc thí nghiệm

t: là thời gian thí nghiệm (ngày)

Hệ số chuyển hoá thức ăn (FCR)

$$FCR = \frac{W_{tasd}}{WG}$$

Trong đó:

W_{tasd}: là khối lượng thức ăn sử dụng (g, theo khối lượng khô)

WG: là khối lượng cá tăng thêm (g, theo khối lượng tươi)

Chỉ số gan (HSI) = 100 × khối lượng gan/ khối lượng cá

Chỉ số nội tạng (VSI) = 100 × khối lượng nội tạng/khối lượng cá

Số liệu trình bày ở dạng trung bình ± sai số chuẩn (SE). Số liệu được phân tích bằng phương pháp phân tích phương sai một nhân tố One-way ANOVA. Sự sai khác (nếu có) giữa các nghiệm thức được xác định bằng phép thử Turkey's HSD multiple comparison post hoc tests (SPSS version 22, IBM, USA). Tương quan hồi quy sẽ được sử dụng để biểu thị mối liên hệ giữa hàm lượng protein thủy phân trong

thức ăn lên sinh trưởng của cá chim giống. Sự sai khác được xem xét ở mức ý nghĩa $P < 0,05$.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn

Sinh trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim cho ăn thức ăn có bổ sung VTH được

trình bày trong Bảng 2. Tất cả cá thí nghiệm đều thích nghi nhanh với thức ăn thí nghiệm. Tỷ lệ sống của cá chim dao động từ 93,33 đến 96,67% và không có sự sai khác ý nghĩa ở các nghiệm thức khác nhau ($P > 0,05$).

Sau 8 tuần thí nghiệm, khối lượng cuối và SGR của cá chim đạt cao nhất ở nghiệm thức cho ăn thức ăn có bổ sung 6% VTH và có sai

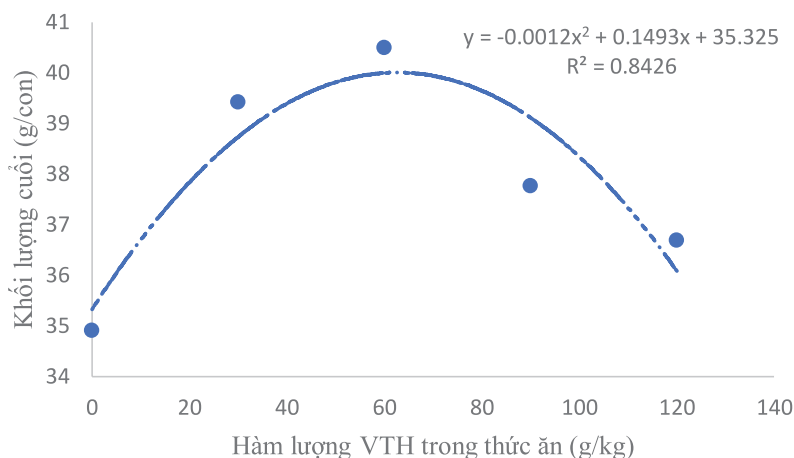
Bảng 2. Sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chim thí nghiệm

Chi tiêu	Thức ăn thí nghiệm				
	Đối chứng	VTH03	VTH06	VTH09	VTH12
Khối lượng cuối (g)	34,90 ± 0,27 ^a	29,42 ± 0,42 ^{ab}	40,49 ± 1,87 ^b	37,76 ± 0,30 ^{ab}	36,68 ± 0,61 ^{ab}
SGR (%/day)	3,31 ± 0,02 ^a	3,52 ± 0,06 ^{ab}	3057 ± 0,08 ^b	3,45 ± 0,01 ^{ab}	3,39 ± 0,03 ^{ab}
FCR	1,22 ± 0,02	1,17 ± 0,05	1,16 ± 0,07	1,13 ± 0,07	1,15 ± 0,02
HSI (%)	1,09 ± 0,08	0,98 ± 0,05	1,12 ± 0,03	1,03 ± 0,08	1,00 ± 0,04
VSI (%)	8,14 ± 0,26	8,24 ± 0,40	7,92 ± 0,28	8,05 ± 0,18	7,64 ± 0,43
Tỷ lệ sống	93,33 ± 1,67	93,33 ± 1,67	96,67 ± 3,33	96,67 ± 3,33	93,33 ± 3,33

Số liệu trình bày trung bình ± sai số chuẩn. Các ký tự khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức $P < 0,05$.

khác ý nghĩa với khối lượng cuối của cá chim ở nghiệm thức đối chứng ($P < 0,05$). Không có sai khác về khối lượng cuối và SGR của cá chim ở nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức VTH03, VTH09 và VTH12 ($P > 0,05$). Tăng

mức bổ sung VTH trong thức ăn từ 0 lên 12% không làm ảnh hưởng đến hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR), chỉ số gan (HSI) và chỉ số nội tạng (VSI) của cá chim giai đoạn giống ($P > 0,05$).



Hình 1. Hồi quy tương quan giữa hàm lượng VTH trong thức ăn với khối lượng cuối của cá chim.

Dựa trên kết quả phân tích hồi quy tương quan bậc hai giữa hàm lượng VTH bổ sung trong thức ăn và khối lượng cuối của cá chim (Hình 1) cho thấy mức tối ưu VTH trong thức ăn là 6% để đạt tối đa tốc độ sinh trưởng của cá chim giai đoạn giống. Siddik, Howieson (8) chỉ ra rằng, thay thế 10% bột cá bằng cá ngừ thủy

phân trong thức ăn cho cá chẽm giúp cải thiện tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá chẽm giống. Sự cải thiện khả năng tiêu hóa và tăng trưởng cũng đã được ghi nhận trên cá hồi Đại Tây Dương [11], cá tráp đỏ (*Pagrus major*), cá bơn Nhật Bản (*Paralichthys olivaceus*) [9, 12] cho ăn thức ăn có bổ sung protein thủy

phân từ cá biển. Điều này có thể là do sự thích hợp của các amino acid tự do và các peptide được tạo ra trong quá trình thủy phân enzyme [8]. Các peptide nhỏ này dễ tiêu hóa và hấp thụ qua gờ bàn chải của tế bào ruột hơn các protein chưa thủy phân, qua đó cải thiện tiêu hóa ở cá. Những kết quả từ các nghiên cứu này cho thấy sinh trưởng, tiêu hóa, chức năng miễn dịch và khả năng chống lại các tác nhân gây bệnh ở cá có thể được cải thiện thông qua việc bổ sung một lượng FPH thích hợp trong thức ăn.

2. Thành phần sinh hóa

Thành phần sinh hóa của cá chim được trình bày trong Bảng 3. Hàm lượng protein thô, lipid thô và tro của cá chim không bị ảnh hưởng bởi việc bổ sung VTH trong thức ăn ($P > 0,05$).

Tuy nhiên độ ẩm của cá chim cho ăn thức ăn đối chứng thấp hơn có ý nghĩa so với độ ẩm của cá chim cho ăn thức ăn có bổ sung VTH ($P < 0,05$). Theo Bui, Khosravi [13], bổ sung các nguồn protein thủy phân từ tôm biển, cá rô phi ở mức 42g/kg thức ăn không làm ảnh hưởng đến thành phần sinh hóa của cá tráp đỏ. Những kết quả tương tự cũng được ghi nhận trên cá chêm, cá bon khi cho ăn thức ăn có bổ sung lượng nhỏ protein thủy phân từ cá biển [14]. Dịch thủy phân cá biển thường có hàm lượng protein tương đương với bột cá và chỉ được sử dụng một lượng nhỏ trong thức ăn để kích thích bắt mồi, tăng sức đề kháng của đối tượng nuôi, do đó ít có tác động lên thành phần sinh hóa của đối tượng nuôi.

Bảng 3. Thành phần sinh hóa của cá chim thí nghiệm

Chi tiêu	Thức ăn thí nghiệm				
	Đối chứng	VTH03	VTH06	VTH09	VTH12
Độ ẩm	66,20 ± 0,43 ^a	68,05 ± 0,28 ^b	66,95 ± 0,80 ^b	68,42 ± 0,17 ^b	66,90 ± 0,34 ^b
Protein thô	17,35 ± 0,13	17,16 ± 0,18	17,81 ± 0,40	16,87 ± 0,18	16,91 ± 0,33
Lipid thô	11,22 ± 0,05	10,62 ± 0,32	10,50 ± 0,38	9,86 ± 0,723	11,12 ± 0,18
Tro	4,30 ± 0,08	4,20 ± 0,09	4,29 ± 0,12	4,29 ± 0,03	4,27 ± 0,24

Số liệu trình bày trung bình ± sai số chuẩn. Các ký tự khác nhau trong cùng hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức $P < 0,05$.

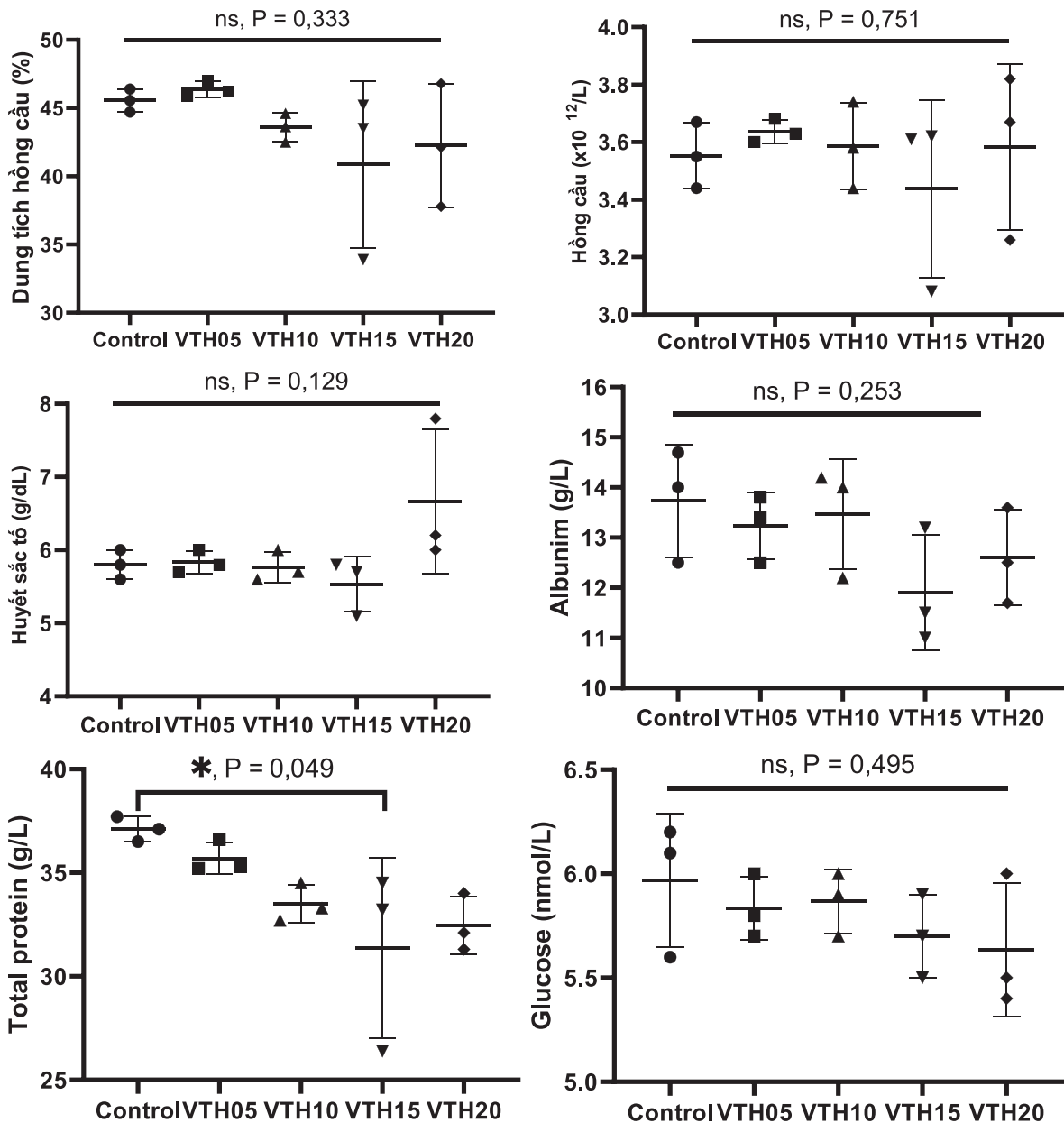
3. Công thức mầu

Thức ăn có bổ sung VTH không làm ảnh hưởng đến công thức mầu bao gồm: dung tích hồng cầu, huyết sắc tố, hồng cầu của cá chim giai đoạn giống ($P > 0,05$). Tương tự, hàm lượng glucose huyết tương và albumin của cá chim cũng không có sự sai khác giữa các nghiệm thức thí nghiệm ($P > 0,05$). Tuy nhiên, hàm lượng protein huyết tương giảm có ý nghĩa ở cá chim cho ăn thức ăn VTH09 so với cá chim ở nghiệm thức đối chứng ($P < 0,05$).

Theo Siddik, Howieson (15), cá chêm giống cho ăn thức ăn có bổ sung 12,2% VTH không có sự khác biệt về các chỉ tiêu huyết học và một số chỉ tiêu sinh hóa mầu như (protein tổng số, albumin, globulin, glucose huyết tương). Vai trò quan trọng của các peptide có hoạt tính miễn dịch trong protein thủy phân từ cá (FPH) trong việc tăng cường hệ miễn dịch tự nhiên đã được ghi nhận ở một số loài. Những ảnh hưởng tích cực của FPH lên hệ miễn dịch có

thể giúp cải thiện cơ chế phòng vệ chống lại các tác nhân gây hại, thúc đẩy hoạt tính của lysosomal enzyme, tăng hoạt hóa bổ thể qua con đường nhánh và cải thiện hoạt tính của các chất chống oxy hóa [8, 16].

Mặc dù những ảnh hưởng tích cực lên sinh trưởng và chức năng miễn dịch đã được ghi nhận ở cá cho ăn thức ăn có bổ sung FPH, tuy nhiên một vài nghiên cứu cũng chỉ ra rằng sử dụng hàm lượng FPH cao trong thức ăn có thể gây ra những ảnh hưởng tiêu cực đến động vật thủy sản. Kim, Jung (17) cho biết sự giảm tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn ở cá bon giống khi cho ăn thức ăn có trên 30% VTH. Thức ăn có hàm lượng VTH cao cũng làm giảm tăng trưởng, sử dụng thức ăn, tiêu hóa, tăng sự tích lũy lipid và hoại tử mô gan ở cá chêm giống [14]. Các VTH thường chứa nhiều các peptide mạch ngắn và các amino acid tự do, dẫn đến có thể gây ra sự bão hòa trong cơ chế vận chuyển peptide, đồng thời làm mất cân



Hình 2. Ảnh hưởng của VTH bổ sung trong thức ăn lên chỉ tiêu huyết học của cá chim giống.

bằng sự hấp thụ amino acid và các chất dinh dưỡng khác, từ đó làm bão hòa hệ thống vận chuyển peptide ở cá, làm giảm tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn [18]. Trong khi đó, khả năng tiêu hóa thấp ở cá cho ăn nhiều VTH có thể do sự ngăn cản quá trình tiêu hóa và hấp thụ bình thường các chất dinh dưỡng [14]. Bởi vì sự thay đổi ảnh hưởng của FPH ở mức thấp hay cao, cùng với sự khác biệt về đáp ứng sinh lý và miễn dịch giữa các loài, do đó hàm lượng

tối ưu VTH trong thức ăn có thể cần phải được đánh giá ở riêng cho từng loài, qua đó tăng hiệu quả sử dụng VTH trong thức ăn thủy sản.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết quả nghiên cứu cho thấy bổ sung tới 12% VTH trong thức ăn không làm ảnh hưởng đến sinh trưởng, tỷ lệ sống và thành phần sinh hóa của cá chim giai đoạn giống. Mức thay thế tối ưu được xác định ở mức 6% dựa trên tương

quan hồi quy bậc hai giữa SGR và mức VTH trong thức ăn. Các nghiên cứu tiếp theo cần xác định ảnh hưởng của việc bổ sung protein thủy phân lên miễn dịch và khả năng kháng bệnh của cá chim.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106.05-2019.46

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vo B, V, Bui DP, Nguyen HQ, Fotedar R. Optimized fermented lupin (*Lupinus angustifolius*) inclusion in juvenile barramundi (*Lates calcarifer*) diets. *Aquaculture*. 2015;444:62-9.
2. Gatlin DM, Barrows FT, Brown P, Dabrowski K, Gaylord TG, Hardy RW, et al. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research*. 2007;38(6):551-79.
3. Olsen RL, Hasan MR. A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends in Food Science & Technology*. 2012;27(2):120-8.
4. Hardy RW. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research*. 2010;41(5):770-6.
5. Hsu K-C. Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product. *Food Chemistry*. 2010;122(1):42-8.
6. Chalamaiah M, Dinesh kumar B, Hemalatha R, Jyothirmayi T. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*. 2012;135(4):3020-38.
7. Neklyudov AD, Ivankin AN, Berdutina AV. Properties and uses of protein hydrolysates (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2000;36(5):452-9.
8. Siddik MA, Howieson J, Partridge GJ, Fotedar R, Gholipourkanani H. Dietary tuna hydrolysate modulates growth performance, immune response, intestinal morphology and resistance to *Streptococcus iniae* in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. *Scientific Reports*. 2018;8(1):15942.
9. Khosravi S, Bui HTD, Herault M, Fournier V, Kim K-D, Lee B-J, et al. Supplementation of Protein Hydrolysates to a Low-fishmeal Diet Improves Growth and Health Status of Juvenile Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 2018;49(5):897-911.
10. Tang H-g, Wu T-x, Zhao Z-y, Pan X-d. Effects of fish protein hydrolysate on growth performance and humoral immune response in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.). *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*. 2008;9(9):684-90.
11. HEVRØY EM, ESPE M, WAAGBØ R, SANDNES K, RUUD M, HEMRE G-I. Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. *Aquaculture Nutrition*. 2005;11(4):301-13.
12. Khosravi S, Bui HTD, Rahimnejad S, Herault M, Fournier V, Kim S-S, et al. Dietary supplementation of marine protein hydrolysates in fish-meal based diets for red sea bream (*Pagrus major*) and olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*. 2015;435:371-6.

13. Bui HTD, Khosravi S, Fournier V, Herault M, Lee K-J. Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. *Aquaculture*. 2014;418-419:11-6.
14. Siddik MAB, Howieson J, Ilham I, Fotedar R. Growth, biochemical response and liver health of juvenile barramundi (*Lates calcarifer*) fed fermented and non-fermented tuna hydrolysate as fishmeal protein replacement ingredients. *PeerJ*. 2018;6:e4870.
15. Siddik MAB, Howieson J, Partridge GJ, Fotedar R, Gholipourkanani H. Dietary tuna hydrolysate modulates growth performance, immune response, intestinal morphology and resistance to *Streptococcus iniae* in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. *Scientific Reports*. 2018;8(1):15942.
16. Murray AL, Pascho RJ, Alcorn SW, Fairgrieve WT, Shearer KD, Roley D. Effects of various feed supplements containing fish protein hydrolysate or fish processing by-products on the innate immune functions of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*. 2003;220(1):643-53.
17. Kim HS, Jung W-G, Myung SH, Cho SH, Kim DS. Substitution effects of fishmeal with tuna byproduct meal in the diet on growth, body composition, plasma chemistry and amino acid profiles of juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*. 2014;431:92-8.
18. Carvalho AP, 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*. 2004;234(1):319-33.