

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO ORAL DE ESFERAS DE ALGINATO COM
EXTRATO DE FOLHAS DE *Moringa oleifera* NAS REPOSTAS BIOQUÍMICAS
E DE DESEMPENHO DE JUVENIS DE CARPA COLORIDA (*Cyprinus carpio*)**

ALINE DOS ANJOS SANTOS

**SALVADOR - BA
AGOSTO - 2022**



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO ORAL DE ESFERAS DE ALGINATO COM
EXTRATO DE FOLHAS DE *Moringa oleifera* NAS REPOSTAS BIOQUÍMICAS
E DE DESEMPENHO DE JUVENIS DE CARPA COLORIDA (*Cyprinus carpio*)**

ALINE DOS ANJOS SANTOS

Engenheira de Pesca

SALVADOR - BA
AGOSTO - 2022

ALINE DOS ANJOS SANTOS

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO ORAL DE ESFERAS DE
ALGINATO COM EXTRATO DE FOLHAS DE *Moringa oleifera* NAS
REPOSTAS BIOQUÍMICAS E DE DESEMPENHO DE JUVENIS DE
CARPA COLORIDA (*Cyprinus carpio*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Fortes da Silva

Coorientadora: Dr^a. Ednilce de Fátima Ferreira Martins

**SALVADOR - BA
AGOSTO - 2022**

Sistema de Bibliotecas da UFBA

Santos, Aline dos Anjos.

Efeitos da administração oral de esferas de alginato com extrato de folhas de *Moringa oleifera* nas respostas bioquímicas e de desempenho de juvenis de carpa colorida (*Cyprinus carpio*) / Aline dos Anjos Santos. - 2022.

64 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Fortes da Silva.

Coorientador: Prof. Dr. Ednilce de Fátima Ferreira Martins.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2022.

1. Zootecnia. 2. Peixes ornamentais. 3. Plantas medicinais. 4. Carpa (Peixe) - Alimentação e rações. 5. Carpa (Peixe) - Nutrição. I. Silva, Rodrigo Fortes da. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

CDD - 597
CDU - 597

“EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO ORAL DE ESFERAS DE ALGINATO COM EXTRATO DE FOLHAS DE *Moringa oleífera* NAS RESPOSTAS BIOQUÍMICAS E DE DESEMPENHO DE JUVENIS DE CARPA COLORIDA (*Cyprinus carpio*)”

Aline dos Anjos Santos

Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia

Salvador, 04 de agosto de 2022

Comissão examinadora:

**Dr. Rodrigo Fortes da Silva
UFV
Orientador / Presidente**



**Dr. Carlos Eduardo Copatti
UFBA**



**Dr. Leandro Santos Costa
UFV**

*Crescer é como trair
De repente amanhecer
Já na hora de partir pra vida
Viver é mais que crescer
É querer achar o fim
Do saber, da lei, da vida
Do nada
De tudo, de si*

Djavan

AGRADECIMENTO

A Universidade Federal da Bahia (UFBA) e ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia da UFBA, pela formação.

Ao Laboratório de Pescados e Cromatografia Aplicada (LAPESCA) da UFBA, ao Laboratório de Comportamento Alimentar e Nutrição de Peixes (Aqua/UFRB), e a Universidade Federal de Viçosa (UFV), pelo suporte no período experimental e análises.

A Fundação de Amparo à Pesquisa da Bahia (FAPESB), pela concessão de bolsa de estudo.

Ao meu orientador Rodrigo Fortes da Silva, pela contribuição e ensinamentos acadêmicos.

A minha coorientadora Ednilce de Fátima Ferreira Martins, por ser uma grande mentora e por ter colaborado na minha vida acadêmica e profissional.

A Thamires por toda a doação e dedicação ao experimento.

A toda equipe do Aqua/UFRB, Marília, Letícia, Cássia, Rafael, Thay, Victor, John, José Antônio, Monalisa e Lucas, falarei sempre como muito orgulho e carinho de todos vocês que contribuíram de diferentes formas para a realização desse trabalho.

Ao meu querido parceiro Tarcísio Vila Verde, meu incentivador e companheiro de vida.

Aos meus pais Antônio Armando e Rosalina dos Anjos e a todos os meus familiares, por sempre estarem ao meu lado e por sempre terem sido luz em minha vida.

Agradeço a Deus, pela graça da vida.

LISTA DE TABELAS

Efeitos da administração oral de esferas de alginato com extrato de folhas de *Moringa oleifera* nas repostas bioquímicas e de desempenho de juvenis de carpa colorida (*Cyprinus carpio*)

	Página
Tabela 1 - Composição química percentual e valores nutricionais das dietas purificadas.	14
Tabela 2 - Composição química das folhas de <i>Moringa oleifera</i> liofilizadas; teores percentuais de proteína bruta, extrato etéreo, cinzas e matéria seca.....	20
Tabela 3 - Teor de Fenólicos Totais (mg GAE/g) e Flavonoides totais (mg QE/g) do extrato de folhas de <i>Moringa oleifera</i>	21
Tabela 4 - Parâmetros de desempenho da carpa (<i>Cyprinus carpio</i>) após 60 dias de alimentação com diferentes dietas contendo esferas de alginato e extrato de <i>Moringa oleifera</i>	29
Tabela 5 - Composição da carcaça do peixe carpa colorida <i>Cyprinus carpio</i> após 60 dias experimentais com diferentes dietas contendo esferas de alginato e extrato de <i>Moringa oleifera</i> ; em percentuais de Proteína Bruta, Extrato Etéreo, Cinzas e Matéria Seca.....	24
Tabela 6 - Parâmetros bioquímicos séricos de juvenis de carpa colorida (<i>Cyprinus carpio</i>) alimentados com diferentes dietas esferas de alginato e extrato de folha de <i>Moringa oleifera</i> pós estresse de exposição ao ar.....	30

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO	3
REVISÃO DE LITERATURA	5
Espécie Carpa Colorida (<i>Cyprinus carpio</i>)	5
Aditivos na Alimentação de Carpas	6
Planta Medicinal <i>Moringa oleifera</i>	7
Técnica de Esferificação	10
Estresse em Peixes	10
MATERIAL E MÉTODOS	14
Localização, Animais e Condições Experimentais	14
Dietas Experimentais	14
Coleta e Preparação do Material Vegetal	16
Obtenção do Extrato Hidrometanolico	16
Esferificação	16
Análise Extrato de Folhas de <i>M. oleifera</i>	17
Determinação de Flavonoide Total	18
Determinação do Conteúdo Fenólico Total	18
Composição Centesimal das Dietas, Folhas de <i>M. oleifera</i> Liofilizadas e Carcaça de Peixes	19
Parâmetros de Desempenho	20
Parâmetros Bioquímicos	20
Desafio de Exposição ao Ar	19
Análise Estatística	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
Composição da Moringa	20
Parâmetros de Desempenho e Composição Centesimal da Carcaça	21
Parâmetros Bioquímicos	23
Desafio de Exposição ao Ar	24
CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	33

RESUMO

Efeitos da administração oral de esferas de alginato com extrato de folhas de *Moringa oleifera* nas respostas bioquímicas e de desempenho de juvenis de carpa colorida (*Cyprinus carpio*)

O estudo objetivou avaliar o efeito do extrato de folha de *Moringa oleifera* (EMO) contido em esferas na alimentação da carpa colorida (*Cyprinus carpio*). As esferas foram obtidas a partir da técnica de encapsulamento, que consiste em adicionar o EMO no alginato de sódio, onde a solução foi adicionada em gotas ao cloreto de cálcio, formando as esferas com EMO. Foram utilizados 96 juvenis de carpa colorida, com 25,87 ($\pm 4,97$) g. Os juvenis foram distribuídos aleatoriamente em 16 aquários em sistemas de recirculação de água. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente causalizado com quatro tratamentos e quatro repetições. As diferentes dietas durante o período experimental foram: dieta Basal (T1); dieta com inclusão de 20 mL de EMO (T2); dieta basal e esferas com 20 mL de EMO (T3); dieta basal e esferas com 0 mL de EMO (T4), com duração de 60 dias. No último dia, foi realizada a pesagem e coleta sanguínea para os índices de desempenho e parâmetros bioquímicos nos animais antes e após o desafio de estresse, que foi de exposição ao ar e teve duração de 300 s. A suplementação com EMO não afetou os índices de desempenho e composição corporal dos peixes. O grupo T3 apresentou aumento significativo ($p \leq 0,05$) no nível de albumina plasmática no período anterior ao estresse. O EMO influenciou significativamente ($p \leq 0,05$) no aumento do colesterol total e da enzima aminotransferase (AST) após o estresse de exposição ao ar no grupo T3, em relação à T1 e T4. Os demais parâmetros, enzima alanina aminotransferase (ALT), glicose, proteína total, albumina, triglicerídeos, HDL e LDL, não apresentaram diferença significativa em nenhuma das etapas. Em conclusão, o uso do extrato de folha de moringa não afetou o desempenho e a composição centesimal da carcaça e apresentou efeitos adversos nos parâmetros bioquímicos das carpas.

Palavras-chave: Esferificação, estresse, planta medicinal, peixe ornamental

ABSTRACT

Effects of oral administration of alginate spheres with *Moringa oleifera* leaf extract on the biochemical and performance responses of juvenile colored carp (*Cyprinus carpio*)

The research aimed to evaluate the effect of *Moringa oleifera* leaf extract (MLE) in the feeding of colored carp (*Cyprinus carpio*), in the form of spheres and included in the diet. The spheres are obtained from the encapsulation technique that consists of adding the MLE to the sodium alginate, this solution is added in drops to the calcium chloride, after this series, the MLE spheres are formed. 96 juveniles of colored carp were used, with 25.87 (± 4.97) g. Juveniles were equally distributed in 16 aquariums in recirculation systems. The experiment was carried out in a completely randomized design with four treatments and four repetitions. The different diets during the experimental period were: basal diet (T1); diet with inclusion of 20 mL of MLE (T2); basal diet and spheres with 20 mL of MLE (T3); basal diet and spheres with MLE 0 mL of MLE (T4), lasting 60 days. On the last day, biometry and blood samples were obtained for performance indices and hematological and biochemical parameters in the animals before and after the stress challenge, which was exposure to air and lasted 300 seconds. The supplementation with MLE did not affect the consumption of diets, whether with or without alginate spheres, not affecting the performance indices and body composition of the fish. The T3 group showed a significant increase ($p \leq 0.05$) in the plasma albumin level in the period before the stress. The MLE had a significant influence ($p \leq 0.05$) in the increase in total cholesterol and aminotransferase enzyme (AST) after the stress of exposure to air in the T3 group, in relation to T1 and T4, the other parameters, alanine aminotransferase enzyme (ALT), glucose, total protein, albumin, triglycerides, HDL and LDL showed no significant difference in any of the steps. In conclusion, the use of moringa leaf extract did not affect the performance and proximate composition of the carcass and had adverse effects on the biochemical parameters of carp.

Keywords: Colored carp, alginate sphere, stress, moringa

INTRODUÇÃO

O encapsulamento ou a esferificação visam aumentar a estabilidade nutricional de um produto que será administrado oralmente. É uma técnica acessível e tem como função a proteção dos compostos da exposição ao ar e das interações com outros nutrientes presentes em uma dieta (KUROZAWA e HUBINGER, 2017; ZHANG et al., 2021). A técnica esferificação consiste em criar uma película protetora, com a utilização do alginato e cloreto de cálcio (TSALI et al., 2017; BASTOS et al., 2020a).

A interação entre a estrutura química de um alimento pode ser alterada durante o processamento pela neutralização da biodisponibilidade de compostos e redução do seu potencial biológico, como, por exemplo, compostos fenólicos, que representam o maior grupo de antioxidantes presente nos vegetais (RIBAS-AGUSTÍ et al., 2018). Muitas plantas medicinais vêm sendo adicionadas à dieta dos peixes. No entanto, é comum que os nutrientes presentes nessas plantas sejam perdidos ou reduzidos nos alimentos durante o processamento e armazenamento, pois a composição química das plantas é fortemente suscetível a fatores ambientais, como umidade, exposição ao ar e a luz (DADI et al., 2020; NURHADI et al., 2020).

Neste contexto, estudos prévios verificaram a eficiência de encapsulamento na prevenção da deterioração de aditivos alimentares com alginato de sódio, como o extrato da estévia (*Stevia rebaudiana*), (ARRIOLA et al., 2016), extrato de folha e caule de beterraba (*Beta vulgaris*) (CALVO et al., 2018), extrato de própolis (KESKIN et al., 2019), extrato de casca da fruta pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) (FATHORDOOBADY et al., 2020), óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) (BENAVIDES et al., 2016), óleo de peixe (*Brevoortia tyrannus*) (BANNIKOVA et al., 2018), óleo essencial de cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*) (FAIDI et al., 2019), óleo essencial de pimenta-preta (*Piper nigrum* L.) (BASTOS et al., 2020b), ácido fólico (CAMACHO et al., 2019) e probiótico (*Lactobacillus rhamnosus*) (HUGUES-AYALA et al., 2020).

Originária da Índia, a *Moringa oleifera* tem distribuição geográfica em países de clima tropical e subtropical. Utilizada na indústria alimentar e química, apresenta elevado valor nutricional (GRANELLA et al., 2021), fonte de antioxidantes naturais como os flavonoides, fenólicos, terpenoides, vitamina A e C, cálcio, ferro e potássio, esses componentes podem contribuir para o bem-estar animal (KOU et al., 2018; EL-KASSAS

et al., 2020; SULTANA, 2020). Utilizadas nas dietas como aditivos naturais por apresentarem aumento do crescimento e melhora da saúde de peixes, diversas partes da planta podem ser utilizadas, como as folhas e sementes, na dieta da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (IBRAHIM et al., 2019; SOROR et al., 2021).

A utilização do EMO conferiu melhora da imunidade e maior resistência ao estresse e a microrganismos patógenos em espécies de carpa comum (*Cyprinus carpio*) (KHALIL e KORNI, 2017; KORNI et al., 2020), e como imunoestimulante e aumento da capacidade antioxidante da carpa cruciana (*Carassius auratus gibelio*) (ZHOU et al., 2022).

A carpa colorida (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) é uma espécie extensivamente estudada e de grande importância econômica na piscicultura ornamental, além disso, representa um modelo biológico para estudos de inclusão de fitoquímicos (BAO, 2019). Entretanto, poucos são os estudos que verificaram administração oral das esferas de alginato na aquicultura, como vacinas de ácidos nucléicos em linguado japonês (*Paralichthys olivaceus*) (TIAN et al., 2008) e extrato de enzimas do processamento de camarão em tilápia Nilo (*Oreochromis niloticus*) (RODRIGUEZ et al., 2018).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da esferificação do EMO sobre os índices de desempenho zootécnico e bioquímicas dos juvenis de carpa colorida antes e após o desafio de exposição ao ar.

REVISÃO DE LITERATURA

Espécie Carpa Colorida (*Cyprinus carpio*)

A carpa comum, pertencente à família Cyprinidae da ordem Cypriniformes, foi a primeira espécie de peixe domesticada para consumo, seu cultivo foi disseminado na Europa, América, Austrália e África (BALON, 2004; PENNE e PIERCE, 2008). A carpa é uma das espécies mais cultivadas mundialmente, com produção anual de 4,2 milhões de toneladas (RAHMAN, 2015; FAO, 2022).

Na produção de espécies ornamentais, a carpa tem se destacado devido às suas variadas e intensas cores (HULATA, 1995). A carpa colorida é um peixe ornamental importante na indústria pet, pois possui alto valor de mercado, utilizada principalmente na ornamentação de lagos (ZHANG et al., 2020b). As variantes do *C. carpio* foram criadas na Ásia, com intencionalidade seletiva de qualidades físicas específicas, como cor, padrão de tamanho e longevidade (LEWBART, 2002; YADAV et al., 2020). Apresentam crescimento superior quando comparado à carpa comum, vivem mais de 30 anos e chegam a atingir 90 cm de comprimento (TEMPERO et al., 2006; KHANI et al., 2017; USANDI et al., 2019).

Devido a ampla tolerância de fatores climáticos é uma espécie com potencial de cultivo em qualquer parte do mundo (YANAR et al., 2019), peixe euritérmico com tolerância térmica que varia entre as temperaturas de 15 a 30 °C, porém, demonstra melhor crescimento em torno 24 a 28 °C (DESAI e SINGH, 2009; OYUGI et al., 2012) e pH na faixa de 7,5 a 8,0 (HEYDARNEJAD, 2012).

A carpa habita diversos ambientes, preferencialmente em águas lênticas, profundas e com vasta vegetação, com hábito alimentar amplo, apresenta alimentação onívora, de macroinvertebrados, plantas e matéria orgânica (GARCÍA-BERTHOU, 2001; RAHMAN, 2015; DADEBO et al., 2015; KHAN et al., 2016), também possui característica reprodutiva ovípara, chega à maturidade sexual em 3 a 4 anos, as fêmeas são mais robustas e maiores que os machos de mesmo ciclo de vida (LEWBART, 2002).

Vários trabalhos foram realizados para testar plantas naturais e seus subprodutos, para esta espécie de peixe, *C. carpio*, que representa, assim, um modelo de estudo para

pesquisas relacionadas a diferentes fórmulas dietéticas e seus efeitos antioxidantes (BAO, 2019).

Aditivos na Alimentação de Carpas

As plantas medicinais podem ser utilizadas com finalidade imunoprofilática e apresentam diversas características positivas, devido às variedades de compostos encontrados em suas estruturas, por sua diversidade e abundância e por seu baixo custo (VAN HAI, 2015). Suas propriedades fitoquímicas favorecem a saúde (AWAD e AWAAD, 2017), melhoram aspectos físicos, como intensidade de cor e brilho (KUMAR et al., 2017), diminuem o estresse causado pelo manejo, como a redução do nível de água dos aquários (YOUSEFI et al., 2020) e tem efeito sedativo durante o transporte de peixes ornamentais (BALAMURUGAN et al., 2016; DA SILVA et al., 2017)

Exemplos de estudos conduzidos com a carpa comum, utilizados como aditivos na dieta a folha de alecrim (YOUSEFI et al., 2019), o agrião (BILEN et al., 2018), a dedaleira chinesa (WANG et al., 2015), o extrato da folha de ginkgo (BAO, 2019) e o extrato folha de oliveira (ZEMHERI-NAVRUZ et al., 2019), apresentaram melhora nos parâmetros de crescimento, atividades imunológicas e aumento das enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, glutationa peroxidase e catalase). O gengibre e a folha de alecrim mostraram eficiência na diminuição do estresse oxidativo em alta densidade de estocagem e como consequência a redução da glicose e o cortisol (YOUSEFI et al., 2019; FAZELAN et al., 2020). Extrato da fruta *Ziziphus jujuba*, melhorou os parâmetros de desempenho (HOSEINIFAR et al., 2019) e o extrato de fruta de dendê e a curcumina um composto ativo extraído do açafrão, favoreceu o crescimento e a imunidade da mucosa da pele (HOSEINIFAR et al., 2015; GIRI et al., 2019). Um estudo com polifenóis demonstrou efeito sobre o crescimento, melhoria dos níveis séricos e aumento da atividade antioxidante (JAHAZI et al., 2020).

Já com a carpa colorida, foram testados os polifenóis, que teve efeito anti-inflamatórios (ZHANG et al., 2020b), as sanguinarinas, um alcaloide da raiz *Sanguinaria canadenses*, que também apresentou efeito anti-inflamatório, além de antioxidante e antimicrobiano (ZHANG et al., 2019) e o óleo essencial de orégano, que aumentou a atividade das enzimas digestivas, capacidade antioxidante e imunológicas (ZHANG et

al., 2020a). Dessa forma, é crescente o interesse dos piscicultores em trabalharem uma nutrição de forma preventiva de doenças ou em melhorar a saúde (YOUSEFI et al., 2020).

Planta Medicinal *Moringa oleifera*

A moringa é uma espécie de planta perene, pertencente à família Moringaceae, apresenta grande plasticidade ecológica, pode ser cultivada em regiões de clima tropical e subtropical (GOPALAKRISHNAN et al., 2016; FALOWO et al., 2018). Considerada um arbusto, a moringa atinge cerca de 30 cm de altura entre 3 a 6 semanas após o plantio, que são mais favoráveis em solo arenoso e pH 5,0 a 9,0, com variação de precipitação anual de 300 a 1500 mm (OJIAKO et al., 2011; SHARMA et al., 2011; VALDES et al., 2017; GRANELLA et al., 2021).

Originária na Índia, a moringa é muito comum nos continentes asiático e africano, em alguns países da África, como Senegal e Benin, a moringa é fornecida em unidades de saúde para tratar crianças com carência alimentar e lactantes, devido ao seu alto valor nutricional (KASOLO et al., 2010; GOPALAKRISHNAN et al., 2016; VALDES et al., 2017), pode ser introduzida como ingrediente funcional enriquecedor de alimentos como sopa, pão, biscoito, bolo e iogurte (OGUNSINA et al., 2011; KOLAWOLE et al., 2013; ALAM et al., 2014; BABAYEJU et al., 2014; HEKMAT et al., 2015; OYEYINKA e OYEYINKA, 2018). A moringa tem sido muito utilizada como suplemento alimentar, planta medicinal de ação farmacológica e para variadas finalidades industriais (GUPTA et al., 2018; LIU et al., 2018).

Hadju et al. (2021) avaliou a composição química das folhas de moringa na Indonésia, que apresentou teores de proteínas totais 24,24 a 29,83%, gordura 8,43 a 9,56% e Cinzas de 10,10 a 11,65%. Outro trabalho que analisou a composição química das folhas de moringa colhidas em Minas Gerais, Brasil, apresentou teores médios de proteína 28,7%; gordura 7,1%, cinzas 10,9%, e carboidrato 44,4% (TEIXEIRA et al., 2014). De forma geral a folha de moringa são fonte de proteínas, vitaminas, minerais e carotenoides, polifenóis, flavonoides, saponinas, taninos entre outros (LEONE et al., 2015; GIUBERTI et al., 2021), que vem sendo utilizada de diversas formas aplicadas a alimentação, com propriedade fitoquímicas e farmacológicas.

Diversas partes da planta podem ser utilizadas, as sementes têm potencial de biorremediação, são utilizadas como coagulante natural no tratamento de efluente, rica em ácido oleico, tocoferóis e esteróis, extraídos de seu óleo (IJAROTIMI et al., 2013; SHAN et al., 2017; VILLASENOR-BASULTO et al., 2018), a raiz é usada como condimento (GOPALAKRISHNAN et al., 2016), das flores são feitas infusões, usada no tratamento de inflamações e são importantes fontes de carotenoides (ARYA et al., 2014; SAINI et al., 2014) e a folha, parte da planta mais utilizada e estudada, onde há uma concentração maior de compostos bioativos (VERGARA-JIMENEZ et al., 2017).

As características antioxidantes e propriedades nutracêuticas derivam da sintetização de fitomóleculas, através das vias metabólicas primárias e secundárias das plantas que dão origem aos compostos, principalmente os bioativos (BRILHANTE et al., 2017; GUPTA et al., 2018; VALDIVIÉ-NAVARRO, 2019). Água, metanol e etanol, são os melhores solventes e mais utilizados para extração de compostos antioxidantes (SIDDHURAJU e BECKER, 2003; PRABAKARAN et al., 2018), sendo o metanol o que apresenta resultados mais satisfatórios em termos de quantificação (SIDDHURAJU e BECKER, 2003), dessa forma as plantas podem ser incluídas na alimentação, frescas ou secas, pós, chá e também como alternativa na forma de extrato que conta com benefício de apresentar uma maior concentração de ingredientes ativos (AWAD e AWAAD, 2017; ZHU, 2020).

Os fenólicos representam um grande grupo de compostos antioxidantes, a característica molecular dos compostos fenólicos é a presença de anéis aromáticos com pelo menos um grupo hidroxila, são desde moléculas simples como os ácidos fenólicos como estruturas complexas como os flavonoides, que representa um dos principais grupos de fenólicos que possuem dois anéis aromáticos ligados por um heterociclo (RIBAS-AGUSTÍ et al., 2018). As folhas apresentam alta concentração de fenólicos, como taninos e flavonoides (Quercetina, kaempfenol e apigenina) (SINGH et al., 2009; SALEEM et al., 2020), ácido fólico, piridoxina, ácido nicotínico e Vitaminas C, D e E (QI et al., 2016; VÁZQUEZ-LEÓN et al., 2017) minerais como, magnésio, zinco, manganês, potássio, cálcio, fosforo, ferro e cobre (FALOWO et al., 2018; ALI et al., 2019).

Além dos fatores climáticos e geográficos os teores de flavonoides e fenólicos são influenciados qualitativamente e quantitativamente pelos métodos de processamento e armazenamento, pela polaridade do solvente, método de obtenção e tempo de extração

(DONGMEZA et al., 2006; RODRÍGUEZ-PÉREZ et al., 2015). Como apresentado por Bennour et al. (2020), que comparou diferentes métodos de extração de folhas de moringa cultivadas no Sul da Tunísia, utilizando metanol a 70% com o rotaevaporador a 40 °C e obteve o teor de $44,20 \pm 0,08$ (mg QE/g), valor superior ao encontrado nesse trabalho que foi de $20,62 \pm 4,44$ a temperatura de 45 °C (mg QE/g) e superior ao encontrado por (DJEMOUI et al., 2019) que foi de $17,74 \pm 0,04$ de (mg QE/g), também utilizando o metanol 70% que obteve de teor para fenólicos $117,86 \pm 0,22$ (mg GAE/g) superior ao encontrado nesse trabalho que foi de $10,15 \pm 4,85$ (mg GAE/g).

Polifenóis e flavonoides podem sofrer degradação por exposição a luz e a altas temperaturas e suas concentrações são também influenciadas pela técnica de extração utilizada (BENNOUR et al., 2020) outras diferenças nos teores desses compostos podem ser explicados pelos fatores climáticos e grau de maturação da planta que podem alterar as suas características físicas e químicas (DJEMOUI et al., 2019).

Devido a essa grande variedade de compostos bioativos, várias pesquisas têm sido feitas de modo a elucidar melhor as formas de ação da moringa na alimentação animal, que possui ação farmacológica com propriedades hipocolesterolêmica, antidiabética, anti-inflamatórias e antioxidante, anti-hipertensiva, antibacteriana, antifúngica e fortalece o sistema imunológico (AEKTHAMMARAT et al., 2020; EL-GAWAD, 2020; EZZAT et al., 2020; LUETRAGOON et al., 2020; MAGAJI et al., 2020; SALEEM et al., 2020).

A farinha de folhas de moringa a 1,5% foi adicionada a dieta da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), manteve os índices de crescimento, e melhorou significativamente as enzimas antioxidantes, ALT e AST, concentração de glicose e cortisol, após o estresse com privação alimentar de uma semana (ELABD et al., 2019). Estudos utilizaram EMO na alimentação de organismos aquáticos são limitados. O extrato de moringa a 0,5% apresentou efeito antiviral no camarão de água doce (*Macrobrachium rosenbergii*) que também apresentou melhora no desempenho zootécnico (KALEO et al., 2019), e o EMO foi eficiente antibacteriano em estudo com *Cyprinus carpio* (KORNI et al., 2020), se apresentando como um composto rico em antioxidantes e uma alternativa como imunoestimulante.

Técnica de Esferificação

O encapsulamento é uma alternativa como complemento alimentar, por evitar a deterioração dos compostos que podem trazer benefícios à saúde (KUROZAWA e HUBINGER, 2017). Ele consiste em reter um material, que se deseja preservar, contra condições ambientais adversas, de forma que a liberação do composto seja de forma controlada. Apresenta também benefícios por camuflar características organolépticas indesejáveis, conserva as características específicas por não reagir com outras substâncias e aumenta o tempo de prateleira do encapsulado (DESAI e PARK, 2005; KHOR et al., 2017; BASTOS et al., 2020b).

A esferificação é uma técnica de encapsulamento oriunda da gastronomia molecular, de baixo custo, que dispensa o uso de equipamentos especializados (BRENNER e SÖRENSEN, 2015; KUROZAWA e HUBINGER, 2017), onde é possível o encapsulamento de um líquido, ingrediente ativo não gelificado, protegido por uma fina membrana externa gelatinosa (LEE e ROGERS, 2012; BENAVIDES et al., 2016).

A técnica básica de esferificação é um processo onde o primeiro passo é adicionar um líquido, ou material que será encapsulado ao alginato de sódio, essa solução é retirada com uma seringa ou uma pipeta e através da extrusão gota a gota é submersa em uma solução de cálcio, essa interação produz uma membrana fina em torno do líquido. O cálcio mais utilizado é na forma de cloreto de cálcio, pela rapidez de ação com o alginato em interagir com os catiões divalentes (LEE e ROGERS, 2012; TSAI et al., 2017), a extrusão é uma técnica complementar que permite o controle do tamanho das esferas, utilizando energia elétrica ou mecânica (DHAMECHA et al., 2019).

O alginato é um polissacarídeo natural, composto por (1,4) β -D-manuronato (M) e α -Lguluronato (G) é biodegradável, não tóxico, de baixo custo e evita que durante o encapsulamento seja preciso o uso de alta temperatura (TSAI et al., 2017; NIIZAWA et al., 2019; ALMURISI et al., 2020), é um aniónico natural extraído de espécies de algas marrons (*Phaeophyceae*) e de bactérias (*Azobacter vinelandii*) (ARRIOLA et al., 2016). Alginato de sódio é constituído após o processo de reação e purificação, do alginato tratado com solução alcalina (PAWAR e EDGAR, 2012), são moléculas solúveis em água que aumentam a viscosidade e são frequentemente usados como texturizadores, com propriedades gelificantes, estabilizantes e de natureza inerte (DRAGET, 2009; FERNANDO et al., 2019).

A administração controlada de medicamentos é estudada para aumentar a eficácia terapêutica, pesquisas sugerem que o uso de encapsulamento é eficiente, quando o objetivo é manter a estabilidade dos compostos bioativos de fatores externos, como oxigênio, luz, pH e alta temperatura (MAQSoudLOU et al., 2020). O apresamento em géis de alginato é uma estratégia simples de sistema de liberação controlado, fornecendo melhor proteção seja de um ingrediente alimentício, compostos bioativos e fármacos (RAMDHAN et al., 2020).

Sobre a estabilidade dos compostos, como, por exemplo, os polifenóis, que são altamente sensíveis à luz e ao calor, Arriola et al. (2016), demonstraram que o conteúdo de polifenóis totais do extrato de estévia foram mantidos, preservando as propriedades antioxidantes. A beterraba rica em betacianina e polifenóis quando encapsulado com alginato de sódio manteve 70% da atividade antioxidante preservada (CALVO et al., 2018) e também os terpenos, do óleo essencial de pimenta-preta, foram mais conservados quando comparados ao grupo não encapsulado (BASTOS et al., 2020b).

Encapsulamento de betacianina extraída da casca da fruta pitaya vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) durante o armazenamento por 60 dias, exibiu atividade antioxidante e total de betacianina maiores e menor taxa de degradação a altas temperaturas (60, 80 e 100 °C) quando comparado com a betacianina não encapsulada (FATHORDOOBADY et al., 2020). Outros exemplos encapsulados com o alginato de sódio e que apresentaram estabilidade dos compostos foram, o óleo de peixe (BANNIKOVA et al., 2018), óleo essencial de tomilho (BENAVIDES et al., 2016), óleo essencial de cravo (FAIDI et al., 2019) probiótico *Lactobacillus rhamnosus* (HUGUES-AYALA et al., 2020), ácido fólico (CAMACHO et al., 2019) e extrato etanólico da própolis (KESKIN et al., 2019).

Estresse em Peixes

Na aquicultura vários são os fatores que predispõe os peixes a condições aversivas que favorecem ao estresse, que podem ser físicos, como manejos diários, transporte e ruídos, também pode estar relacionado com alterações da qualidade de água (temperatura, oxigênio dissolvido, compostos nitrogenados, salinidade, pH, produtos químicos), assim como a presença de patógenos, além dos estressores sociais, como relações de domínio, agressividade e aglomeração (PORTZ et al., 2006; TORT, 2011; BARBAS et al., 2019;

WU et al., 2020). Ambientes aquáticos passam por variações de níveis de oxigênio dissolvido ao longo do dia e também mudanças influenciadas pelos ciclos sazonais (LUSHCHAK e BAGNYUKOVA, 2007; SUN et al., 2020), o declínio do oxigênio dissolvido pode ter relação com o aumento da temperatura e concentração iônica, aumento da densidade de estocagem, e proliferação de algas e bactérias (MAKRINOS e BOWDEN, 2016; HE et al., 2019).

O estresse pela exposição ao ar é um estresse agudo comum na aquicultura, que pode ocorrer durante a captura e soltura do peixe, é causado pela adesão dos filamentos branquiais e consequentemente pela inibição de trocas gasosas (FERGUSON; TUFTS, 1992). A resposta ao estresse envolve vários sistemas, como os neurais, endócrinos e imunes, o estresse pode ser agudo, quando de curto prazo e alta intensidade, e estresse crônico, de longo prazo e baixa intensidade, onde a possibilidade de infecções no estresse crônico se tornam ainda maiores (PORTZ et al., 2006; TORT, 2011).

A exposição a condições aversivas pode levar a alterações fisiológicas e desequilíbrios do sistema antioxidant. Substâncias que retardam ou previnem a oxidação de um substrato são chamadas de antioxidantes (HALLIWELL, 1995), podem ser usadas para reduzir ou prevenir o estresse oxidativo (TOGHUEO e BOYOM, 2019). Antioxidantes são doadores de prótons, inibe o processo inicial desencadeado pelos radicais livres, bloqueia a produção de radicais metálicos, podem agir no aumento da atividade do sistema de defesa de antioxidantes endógeno, reparar moléculas danificadas e impede várias doenças (HALLIWELL et al., 1995; KALCHER, 2009). Os antioxidantes produzidos pelo organismo agem enzimaticamente, a exemplo da glutationa peroxidase (GPx), catalase (CAT), e superóxido dismutase (SOD), ou não enzimaticamente, como a glutationa (SINHA et al., 2014; ZENGİN et al., 2016). Além dos antioxidantes produzidos endogenamente, o organismo utiliza aqueles provenientes da dieta, como o α -tocoferol, carotenoides, ácido ascórbico e flavonoides (KRISHNAIAH et al., 2011).

Os efeitos de extrato de plantas vegetais podem contribuir com a diminuição das alterações fisiológicas. O extrato de folhas de amoreira (*Morus alba* L.) melhorou a atividade antioxidant e inibiu o estresse por hipóxia nas carpas crucianas (LI et al., 2020). Extrato de folhas de carvalho (*Quercus castaneifolia*) e extrato de lavanda (*Lavandula angustifolia*) reduziram significativamente os níveis de glicose e cortisol nos grupos com a suplementação após o estresse de aglomeração da carpa comum (PARAY et al., 2020;

YOUSEFI et al., 2020). Extrato de bambu (*Melocanna baccifera*) reduziu as respostas ao estresse de baixo pH de carpas rohu (*Labeo rohita*) (KHAN; SAHA; SAHA, 2018). Com o aumento da produção de peixes, são necessárias novas técnicas para tratamentos terapêuticos e fármacos, como forma de aumentar as respostas de resistência ao estresse e das alterações ambientais (NARDOCCI et al., 2014).

MATERIAL E MÉTODOS

Localização, Animais e Condições Experimentais

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso dos Animais (CEUA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, sobre o n.º 23007.008020/2017-11.

Os animais foram fornecidos pela piscicultura Sítio Santo Antônio, da cidade de Dom Mamede Costa, Ba, Brasil. A pesquisa foi realizada no Laboratório de Nutrição e Comportamento de Peixes (Aqua/UFRB) do Núcleo de Pesquisa em Pesca e Aquicultura (NEPA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, Ba, Brasil. Antes dos experimentos, os animais foram aclimatados ao sistema de recirculação de água por um período de 10 dias.

Foram utilizados 96 juvenis de *Cyprinus carpio*, com peso médio 25,87 ($\pm 4,97$) g e comprimento total de 12,75 ($\pm 0,66$) cm, alojados em grupos de 6 peixes/aquário em 16 aquários de 60 L, em um sistema de recirculação de água com filtros mecânicos e biológicos com bomba d'água (3000 L/h), e aeração constante.

O experimento ocorreu em uma câmara de isolamento térmico, adaptada para estudos de comportamento e nutrição de peixe, com controlador digital de temperatura e fotoperíodo de 12 h luz e 12 h escuro, conduzido em delineamento inteiramente causalizado com 4 tratamentos e 4 repetições.

A temperatura da água ($28,81 \pm 0,91$ °C) e pH ($7,43 \pm 0,38$) foram monitoradas diariamente, com medidor multiparâmetro HANNA HI 9828, amônia semanalmente com teste colorimétrico (Labcon Test, Camboriú-SC, Brasil).

Dietas Experimentais

Todas as dietas atenderam às necessidades nutricionais para a espécie, segundo NRC (2011). Dessa forma, foram formuladas duas rações purificadas, isoprotéicas e isoenergéticas. Para a produção das rações experimentais todos os ingredientes foram pesados, misturados, umedecidos com 20% de água a temperatura de 60 °C e em seguida peletizados com matriz de 2,5 mm e, posteriormente desidratadas em estufa de ventilação

forçada a 55 °C por 24 horas e armazenadas em frascos pretos e mantidas refrigeradas durante todo o período experimental. Amostras de cada ração foram reservadas para realização das análises bromatológicas (Tabela 1) segundo a metodologia da AOAC (2005).

A fabricação das rações e as análises de composição centesimal das mesmas foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Comportamento Alimentar de peixes (AQUA-UFRB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). A inclusão de 20 mL/kg EMO na dieta e na esferificação foram baseadas em estudos prévios (KHALIL e KORNI, 2017; KALEO et al., 2019). Os tratamentos foram compostos por: dieta basal (T1); dieta basal com inclusão de 20 mL/kg de EMO (T2); dieta basal e esferas com 20 mL/kg EMO (T3); dieta basal e esferas sem EMO (T4).

O arraçoamento, a 1,5% de biomassa, ocorreu duas vezes ao dia, às 9:00 horas e 16:00 horas. As esferas (T3 e T4) foram ofertadas 30 minutos antes da dieta basal. O período experimental ocorreu durante 60 dias.

Os aquários foram sifonados diariamente uma hora após a alimentação para a aferição das sobras de ração, esfera e retirada de excretas.

Tabela 1 - Composição química percentual e valores nutricionais das dietas purificadas

Ingredientes (g kg ⁻¹)	T1	T2
Caseina ^a +albumina ^b (50%) 90% de pureza)	320	320
Gelatina ^c	60	60
Óleo de soja	50	50
Óleo de peixe ^d	50	50
Dextrina ^e	100	100
Amido (7% CP)	200	200
Fosfato bicálcio	10	10
Premix vitamínico mineral ^f	40	40
Celulose (CMC)	20	20
α-celulose	150	150
Total	1000	1000
EMO (mL)	-	20
BHT	0,2	0,2
Matéria seca (%)	92,20	91,07
Proteína bruta (%)	37,77	34,06
Extrato etéreo (%)	3,86	4,98

Cinzas (%)	7,78	7,39
^a Caseína PURA – Labsynth; ^b Albumina: clara de ovo pasteurizada desidratada, valor calórico (3.428,57 kcal = 14.392,86 KJ/kg; carboidrato 71,43 g/kg; proteína 785,71 g/kg; sódio 15,25 g/kg; ^c Gelatina: pó granulado, sólido, inodoro; ^d Maltodextrina natural, valor calórico (3.840 Kcal = 16.120 KJ)/kg ; carboidrato 960 g/kg; amido 960 mg/kg; sódio 460 mg/kg; ^e Premix vitamínico/mineral: Ácido Folico 1200,00 mg/kg; Ácido Nicotínico 20,00 g/kg; Ácido Pantoténico (10.000,00 mg/kg; BHT 5.000,00 mg/kg; Biotina 200,00 mg/kg; Cobalto 80,00 mg/kg; Cobre 3.500,00 mg/kg; Colina 100,00 g/kg; Ferro 20,00 g/kg; Iodo 160,00 mg/kg; Inositol 25,00 g/kg; Manganês 10.000,00 mg/kg; Selênio 100,00 mg/kg; Zinco 24,00 mg/kg. Vitamina A 2.400.000,00 UI/kg; Vitamina B1 4.000,00 mg/kg; Vitamina B2 4.000,00 mg/kg; Vitamina B12 8.000,00 mcg/kg; Vitamina C 60,00 g/kg; Vitamina B2 4.000,00 mg/kg; Vitamina B6 3.500,00 mg/kg; Vitamina D3 600.000,00 UI/kg;		

Coleta e Preparação do Material Vegetal

As folhas de moringa foram coletadas na zona rural do município de Teodoro Sampaio, Bahia, Brasil. Todo o material foi armazenado em sacos plásticos escuros e transportado até o Laboratório de Pescados e Cromatografia Aplicada (LAPESCA), da Universidade Federal da Bahia (UFBA). As folhas foram selecionadas, onde folhas secas e com manchas foram retiradas, depois as folhas passaram pelo processo de higienização em água corrente, posteriormente em água destilada. As amostras foram desidratadas através do processo de liofilização, em temperatura -32 °C, em seguida as folhas foram maceradas e armazenadas em refrigerador -6 °C em embalagens escuras protegidas da luz até o momento da obtenção do extrato e das análises.

Obtenção do Extrato Hidrometanólico

As folhas de moringa liofilizadas foram pesadas e adicionadas a solução utilizando 70% metanol e 30% de água destilada 1:40 (g/mL), a extração ocorreu durante o período de 72 horas (DADI et al., 2018), em um agitador e refrigerador (Tecnal) a 28 °C, após esse processo o extrato passou por filtros de papel para remover qualquer partícula sólida e concentrados no rotaevaporador (40 a 45 °C). A solução-estoque foi armazenada em frascos de vidro âmbar e refrigerada até o uso nas condições experimentais.

Esferificação

As micropartículas de alginato de sódio foram produzidas usando técnica de gotejamento de solução de alginato e material núcleo sobre solução de cloreto de cálcio, sendo esta a base para a formação das partículas. Foram elaborados dois tipos de esferas, um contendo EMO e outro com água destilada (tratamento T4). A metodologia a seguir é uma adaptação da técnica descrita por Tsai et al. (2017). As esferas contendo EMO e água destilada foram preparadas pela técnica de extrusão, usando alginato. Foram preparadas duas soluções: solução 1, foi preparada em meio aquoso com concentração de 1% de cloreto de cálcio (CaCl_2) à temperatura ambiente e agitação manual. Solução 2 foi feita dissolvendo o alginato de sódio a uma concentração de 1% em água destilada sob constante agitação manual, até sua completa dissolução. Na solução 2 de alginato de sódio, foram adicionados 20 mL de EMO por kg/ração. Em seguida, a solução 2 foi extrusada lentamente e gota a gota, por uma pipeta de 3 mL, na solução contendo cloreto de cálcio para a formação de esferas. As esferas foram mantidas na solução de cloreto de cálcio por 20 segundos e, em seguida, com o auxílio de uma peneira de 53μ , as esferas eram removidas da solução e lavadas em água destilada para retirada do resíduo de cloreto de cálcio (Figura 1). O mesmo processo foi realizado para produzir esferas com água destilada do tratamento T4.

Figura 1 – Esferas de alginato de sódio



Fonte: Acervo do autor

Análise Extrato de Folhas de *M. oleifera*

Determinação de Flavonoide Total

Determinação do Conteúdo Fenólico Total

O fenólico total do EMO foi determinado espectrofotometricamente de acordo com o método de *Folin-Ciocalteu* descrito por Singleton et al. (1999). Uma alíquota de 20 μ L de EMO, 2,5 mL reagente Folin 10% e 2 mL de carbonato de sódio 7,5%, foram misturados em tubos de ensaio e repousados em abrigo sem luz por 2 horas. A leitura em absorbância 725 nm foi medida em espectrofotômetro UV em cubeta de vidro.

As análises foram realizadas em triplicatas e o teor de fenólico total foi determinado a partir da curva de calibração preparada com ácido gálico $R^2 = 0,9876$ na faixa de concentração de 50 a 300 μ g L⁻¹ (SINGLETON e ROSSI, 1965).

Tabela 2 - Composição química das folhas de *Moringa oleifera* liofilizadas; teores percentuais de proteína bruta, extrato etéreo, cinzas e matéria seca

Composição (%)	Folhas de <i>Moringa oleifera</i> liofilizadas
Proteína Bruta	23,99 \pm 0,025
Extrato Etéreo	10,45 \pm 2,48
Cinzas	10,38 \pm 1,08

Matéria Seca	89,74 ± 1,85
--------------	--------------

Fonte: Construída a partir de dados originais das folhas de moringa que foram utilizadas para a obtenção do extrato usado no experimento.

Tabela 3 - Teor de Fenólicos Totais (mg GAE/g) e Flavonoides totais (mg QE/g) do extrato de folhas de *Moringa oleifera*

Composição	Extrato de folhas de <i>Moringa oleifera</i>
Fenólicos (mg GAE/g)	10,15 ± 4,85
Flavonoides (mg QE/g)	20,62 ± 4,44

Fonte: Construída a partir de dados originais das folhas de moringa que foram utilizadas para a obtenção do extrato usado no experimento. Teor de Fenólico Total e Flavonoide Total em EMO, expressa em Fenólico total: mg GAE (equivalente de ácido gálico)/g de EMO; Flavonoide total: mg QE (equivalente de queracetina)/g EMO; os valores são média e DP.

Composição Centesimal das Dietas, Folhas de *M. oleifera* Liofilizadas e Carcaça de Peixes

As dietas, folhas de moringa e as carcaças de peixes dos diferentes tratamentos foram avaliadas em triplicatas em relação à composição bromatológica: proteína bruta, extrato etéreo, cinzas e fibras foram determinadas conforme descritas pela Associação de Químicos Analíticos Oficiais (AOAC, 2005).

A matéria seca e umidade foram determinadas por secagem de amostras a 105 °C até peso constante. Cinza por incineração em mufla a 600 °C por 4 h; extrato etéreo. A determinação foi realizada pela técnica de Soxhlet usando éter de petróleo como material. Proteína bruta, o teor de nitrogênio total foi determinado pelo método semi-micro Kjeldhal, utilizando-se o fator 6,25 para a obtenção do teor de proteína total.

Desafio de Exposição ao Ar

Após 60 dias experimentais, 48 peixes (n=3) foram submetidos ao teste de exposição ao ar por 300 s. Os animais foram expostos ao ar individualmente, em um ambiente forrado com uma flanela úmida para evitar injúrias.

Foi realizada de forma subsequente: a coleta de sangue, a pesagem e biometria e eutanásia por secção medular para posterior coleta de órgãos e carcaça, em todos os animais, incluindo os peixes que não passaram pelo desafio.

Parâmetros de Desempenho Zootécnico

Ao final do período experimental e após um jejum de 24 horas, todos os animais foram pesados (balança semi-analítica digital de 0,01g) e medidos (paquímetro com precisão de 0,1 cm).

Foram calculados os seguintes índices de desempenho zootécnicos:

- Peso Inicial – PI (g):

$$PI = [\text{peso total da amostra (g)} \div \text{número de peixe da amostra}]$$

- Peso Final – PF (g):

$$PF = [\text{peso total da amostra (g)} \div \text{número de peixes da amostra}]$$

- Ganho de Peso – GP (g):

$$GP = PF - PI$$

- Ganho de Peso Diário – GPD (g/dia):

$$GPD = (PF - PI) \div \text{período experimental}$$

- Consumo Total – CT (g):

$$CT = \text{Total de ração consumida} \div \text{número de peixes por repetição}$$

- Consumo Diário – CD (g):

$$CD = \text{Consumo total} \div \text{período experimental} \times 100$$

- Sobrevivência – S (%):

$$S = (\text{número final de peixes}) \div (\text{número inicial de peixes}) \times 100$$

- Taxa de Eficiência Proteica - TEP (%):

$$TEP = \text{Ganho de peso (g)} \div \text{proteína na dieta (g)}.$$

Parâmetros Bioquímicos

A coleta de sangue ocorreu pela técnica de venopunção do vaso caudal do peixe (WEINERT et al., 2015), com auxílio de seringa (3 mL) por meio de agulha hipodérmica estéril 21G, sem heparina. Os parâmetros bioquímicos analisados foram: proteína total (g/dL⁻¹); albumina (mg/dL⁻¹); glicose (mg/dL⁻¹); triglicerídeos (mg/dL⁻¹); lipoproteínas

séricas (HDL (mg/dL⁻¹); LDL (mg/dL-1); VLDL (mg/dL-1); Colesterol Total (mg/dL1). Análises foram medidas por Kits comerciais (Bioclin[®], Belo Horizonte–MG, Brasil) e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro óptico conforme a absorbância específica para cada análise.

Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Statistical Analysis System versão 9.4 (SAS). Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Cramér-von Mises e ao teste de homocedasticidade de Levene. Posteriormente, foram submetidos ao teste de ANOVA e, havendo diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parâmetros de Desempenho Zootécnico e Composição Centesimal da Carcaça

Durante os 60 dias de experimento, não ocorreu mortalidade e os animais apresentaram consumo voluntário. Os parâmetros de desempenho são apresentados na Tabela 4.

Não houve diferença significativa ($p>0,05$) para os parâmetros consumo total, consumo médio, consumo diário, peso inicial, peso final, ganho de peso, ganho de peso diário, comprimento padrão inicial, comprimento padrão final, comprimento total inicial, comprimento total final, eficiência proteica, taxa de eficiência proteica.

O efeito das dietas experimentais na composição corporal foi apresentado na Tabela 5, as diferentes dietas e a inclusão das esferas com e sem o extrato de moringa não alteraram significativamente ($p>0,05$) os teores de proteína bruta, extrato etéreo, cinzas e matéria seca.

Tabela 4 - Parâmetros de desempenho da carpa (*Cyprinus carpio*) após 60 dias de alimentação com diferentes dietas contendo esferas de alginato e extrato de *Moringa oleifera*

Parâmetros	Dietas				P value
	T1	T2	T3	T4	
PI (g) ¹	25,22 ± 2,72	26,01 ± 1,17	26,39 ± 0,47	25,51 ± 1,15	0,74
PF (g) ²	27,28 ± 0,91	28,14 ± 2,03	29,38 ± 0,42	27,62 ± 0,30	0,10
CPI (cm) ³	10,44 ± 0,14	10,46 ± 0,13	10,54 ± 0,13	10,36 ± 0,23	0,53
CPF (cm) ⁴	9,78 ± 0,15	9,90 ± 0,16	9,84 ± 0,10	9,73 ± 0,26	0,61
CTI (cm) ⁵	12,73 ± 0,26	12,75 ± 0,24	12,92 ± 0,11	12,67 ± 0,22	0,41
CTF (cm) ⁶	12,51 ± 0,12	12,45 ± 0,20	12,55 ± 0,22	12,54 ± 0,20	0,89
GP (g) ⁷	2,05 ± 1,86	2,13 ± 1,37	2,99 ± 0,47	2,11 ± 0,86	0,69
GPD (g/dia) ⁸	0,03 ± 0,03	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,69
CT (g/100g) ⁹	74,10 ± 1,53	70,12 ± 2,95	69,41 ± 2,44	70,39 ± 2,91	0,86
TEP (%) ¹⁰	0,06 ± 0,06	0,07 ± 0,04	0,09 ± 0,01	0,07 ± 0,03	0,69
S (%) ¹¹	100	100	100	100	-

T1: Dieta Basal; T2: Dieta com 20 ml/ kg de Extrato de Folha de *M. oleifera*; T3: Dieta Basal mais esferas com 20 ml/kg de Extrato de folha de *M. oleifera* e T4: Dieta Basal mais esferas com 0 ml/kg de Extrato de folha de *M. oleifera*. Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p<0,05$). ¹PI (g): Peso Inicial; ²PF (g): Peso Final; ³CPI (cm): Comprimento Padrão Inicial; ⁴CPF (cm): Comprimento Padrão Final; ⁵CTI (cm): Comprimento Total Inicial; ⁶CTF (cm): Comprimento Total Final; ⁷GP (g): Ganho de Peso; ⁸GPD (g/dia): Ganho de Peso Diário; ⁹CT (g): Consumo Total; ¹⁰TEP (%): Taxa de Eficiência Proteica; ¹¹S (%): Sobrevivência.

Tabela 5 - Composição da carcaça do peixe carpa colorida *Cyprinus carpio* após 60 dias experimentais com diferentes dietas contendo esferas de alginato e extrato de *Moringa oleifera*; em percentuais de Proteína Bruta, Extrato Etéreo, Cinzas e Matéria Seca

Parâmetros	Dietas				P value
	T1	T2	T3	T4	
Proteína Bruta (%)	40,99 ± 2,19	41,58 ± 0,96	41,52 ± 1,04	41,81 ± 2,91	0,96
Extrato Etéreo (%)	33,83 ± 2,33	34,42 ± 2,83	35,70 ± 3,03	34,53 ± 0,94	0,81
Cinzas (%)	10,65 ± 0,42	10,55 ± 0,46	10,38 ± 0,16	10,48 ± 0,69	0,91
Matéria Seca (%)	96,31 ± 0,89	96,50 ± 0,28	95,95 ± 0,12	95,92 ± 0,49	0,51

T1: Dieta Basal; T2: Dieta com 20 ml/ kg de Extrato de Folha de *M. oleifera*; T3: Dieta Basal mais esferas com 20 ml/kg de Extrato de folha de *M. oleifera* e T4: Dieta Basal mais esferas com 0 ml/kg de Extrato de folha de *M. oleifera*. Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p<0,05$)

Não foram observadas, no presente estudo, diferenças significativas nos dados de desempenho e composição do peixe inteiro. O consumo não foi influenciado pela adição das esferas na alimentação de carpas coloridas, o que demonstra que as esferas com ou sem o EMO não alteram a saciedade e não promovem o ganho de peso e podem ser utilizados de forma simultânea ao arraçoamento, como estratégia de administração oral de compostos, apesar do EMO não ter apresentado efeito, seja adicionado a dieta ou na forma de esferificação. Foi demonstrado em estudos prévios que a esferificação preserva compostos antioxidantes de alterações físico-químicas durante o processamento e mantém estabilidade melhorando assim a biodisponibilidade do produto esferificado durante a digestão, mesmo com a variação do pH gástrico (ARRIOLA et al., 2016; GORBUNOVA et al., 2018; DADI et al., 2020). As esferas de alginato contendo pDNA foram resistentes a degradação e apresentou eficácia significativa de imunização após administração oral em linguado japonês (*Paralichthys olivaceus*) (TIAN et al., 2008) e esferas de alginato de sódio e bentonita contendo extrato de enzimas obtidas do processamento de camarão, melhoraram 27% a atividade enzimática do intestino dos peixes tilápia Nilo (*Oreochromis niloticus*) comparado com os outros grupos em jejum e alimentados apenas com a dieta, porém não foi verificado ganho de peso, conversão alimentar e taxa de sobrevivência (RODRIGUEZ et al., 2018).

Estudos demonstraram que as plantas utilizadas nas suas diversas formas em pó ou extrato, fontes de polifenóis, vitamina C, carotenoides e quercetina, produziram efeitos positivos no desempenho da carpa (*C. carpio*) (WANG et al., 2015; BILEN et al., 2018; BAO, 2019; HOSEINIFAR, et al., 2019; YOUSEFI et al., 2019; ZEMHERI-NAVRUZ et al., 2019; ABDEL-LATIF et al., 2022). Porém, no presente trabalho, não foi possível observar o efeito do EMO nas variáveis de desempenho, o mesmo teor de EMO foi avaliado no estudo de KHALIL e KORNI (2017) que utilizou a quantidade de 20 mL EMO/kg de dieta na alimentação de alevinos de *C. carpio* e foi observada a promoção do ganho de peso e taxa de crescimento específico quando comparado com o grupo controle (KHALIL e KORNI, 2017), assim como também, a inclusão da farinha moringa a 1,5% na ração de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) (ELABD et al., 2019) e EMO a 0,5% influenciou para um melhor desempenho zootécnico do camarão de água doce, o *M. rosenbergii*

(KALEO et al., 2019). A composição e teor dos compostos bioativos presentes nas folhas de moringa podem ter sido influenciados pela técnica de extração utilizada.

Porém, mesmo teores mais elevados de moringa na dieta de peixes, podem não promover o desempenho zootécnico, como foi demonstrado pelos estudos em que a inclusão da folha de moringa em pó adicionadas as dietas da tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*) a 3% 6% 9% e 12% e não foi observada diferença estatística nos parâmetros de desempenho (MBOKANE e MOYO, 2018) e dietas suplementadas com folhas moringas em pó, 5%, 10% e 15% em peixes guppy (*Poecilia reticulata*) não afetou significativamente no ganho de peso, taxa de crescimento específico e taxa de sobrevivência (BISHT et al., 2020). As diferenças encontradas entre os estudos com teores mais baixos e mais elevados de moringa, podem ser pelas variadas técnicas utilizadas de inclusão da moringa na dieta ou ainda pela técnica de extração utilizada e tipo de solvente, que por consequência irá influenciar na quantidade dos compostos bioativos da moringa (HOSSAIN et al., 2020).

Parâmetros Bioquímicos

Os valores dos parâmetros bioquímicos são apresentados na tabela 6. No período que antecedeu o desafio de exposição ao ar, apenas o teor de albumina do tratamento T3 apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação aos outros tratamentos. Os demais parâmetros, glicose, ALT, AST, proteína total, triglicerídeos, HDL, LDL, não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$).

As variáveis colesterol total e AST apresentaram maiores teores nos pós estresse ($p \leq 0,05$) no tratamento T3 em relação aos grupos T1 e T4, ou seja, os tratamentos sem a inclusão do EMO e foram similares ao tratamento T2. Os demais parâmetros, glicose, ALT, proteína total, albumina, triglicerídeos, HDL e LDL, não apresentaram diferença nos pós estresse de exposição ao ar ($p > 0,05$).

No presente estudo, peixes alimentados com esferas de extrato de folha de moringa demonstraram um aumento da albumina antes do estresse, nos pós estresse essa variação não foi encontrada e não ocorreu diferença no nível da proteína plasmática em nenhuma das etapas. No entanto, estudos comprovam que o uso de plantas medicinais pode aumentar simultaneamente os índices de proteína total e albumina de carpas *Cyprinus carpio* (YOUSEFI et al., 2019; ABDEL-LATIF et al., 2020; MOHAMMADI

et al., 2020). A Proteína Total sérica é um indicador imunológico, mudanças na concentração de proteína são resultados da diferença do volume plasmático, devido ao desequilíbrio osmótico entre o meio extracelular e intracelular, alterações dos níveis plasmáticos de proteína total são indicadores de estresse (MC DONALD e MILLIGAN, 1992). A exposição da tilápia do Nilo ao herbicida pendimentalina, mostrou que diminuição dos níveis séricos de proteína total e albumina, já os grupos expostos ao herbicida e tratados com extrato de folhas moringa (20mL/30L de água), apresentaram aumento de proteína total e albumina a níveis semelhantes ao do grupo controle (animais não expostos a pendimentalina), dessa forma o extrato de folhas de moringa apresentou função hepatoprotetora pela regulação positiva dos níveis séricos em comparação ao grupo tratado apenas com pendimentalina (HAMED e EL-SAYED, 2019). Fato semelhante ocorreu com o aumento dos níveis de proteína total, com a administração dietética de extrato de folhas de artemisia (*Artemisia annua*) após a exposição à amônia *Cyprinus carpio* (MIRGHAED et al., 2020).

Triglicerídeos e colesterol são importantes indicadores de saúde para os peixes. Suas funções biológicas principais são o armazenamento de energia, a formação de estruturas celulares e sinalização. Alterações do colesterol total podem indicar disfunção hepática e distúrbios do metabolismo e lipoproteínas (ZHAI et al., 2014; BRUM et al., 2018). Nesse estudo, ocorreu alteração nos níveis de colesterol no tratamento T3, com a utilização do EMO esferificado, após o desafio de exposição ao ar. Carpa comum tiveram *Aeromonas hydophila* injetadas e tratadas com 1g/L de extrato aquoso de folha de *Azadirachta indica*, os grupos tratados com o extrato aumentaram os teores de glicose, colesterol séricas em relação ao controle, o que provavelmente ocorreu pelo estresse causado durante o manejo de tratamento dos grupos infectados (HARIKRISHNAN et al., 2003). Mistura de extrato de ervas adicionados à dieta da carpa, onde o tratamento a 0,5% aumentou significativamente o teor de colesterol total em relação ao grupo controle, enquanto o grupo a 1% não diferiu do controle (YUAN et al., 2007).

A incorporação das plantas medicinais na dieta dos peixes pode favorecer para ocorrer um menor aumento das enzimas ALT e AST após uma condição de estresse, o que sugere que ocorre proteção da integridade da membrana das células do fígado (MONIR et al., 2020), mecanismos hepatoprotetores que podem ser atribuídos ao uso de antioxidantes, a capacidade de eliminar espécies reativas de oxigênio (CAO et al., 2016).

Testes bioquímicos são parâmetros importantes para avaliar o estado da saúde dos peixes, auxiliando no diagnóstico de doenças (MOGHANLOU et al., 2018; MIAO et al., 2020). No presente estudo, a enzima AST plasmática apresentou maior valor no tratamento com a utilização do EMO esferificado. Em uma possível lesão hepática os níveis de ALT e AST podem extravasar para a circulação, pois são enzimas que se concentram nos hepatócitos (MIRGHAED et al., 2020), ou ainda pode ter ocorrido hemólise durante o processamento da amostra, vazamento das enzimas dos eritrócitos no plasma, o que pode levar a uma interpretação controversa (MIRGHAED et al., 2017). Foi observado com a utilização do extrato de folhas de moringa a 0,15 e 0,25% /kg suplementados na dieta tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), a melhora nos parâmetros plasmáticos com a diminuição do ALT e AST, do colesterol e triglicerídeos nos grupos suplementados e não obteve diferença significativa nos níveis da proteína total sérica (MONIR et al., 2020).

São exemplos de condições de estresse em ambientes aquáticos o aumento de temperatura, alta densidade de estocagem e manuseio, transporte e triagem de animais. Os animais foram expostos ao ar antes da coleta para análises bioquímicas. Quando em situação de estresse, pode ocorrer aumento na secreção de catecolaminas, corticosteroides pelo eixo hipotálamo-pituitário-interrenal (HPI) (BARTON, 2002). Indicadores como a glicose são utilizadas para monitorar fatores que afetam o equilíbrio homeostático (MAKARAS et al., 2020), a glicose é a principal fonte de energia que sustenta as funções vitais e em níveis elevados podem levar a desequilíbrios nas funções imunológicas e diminuição do crescimento dos peixes (HUANG et al., 2018).

Os níveis de glicose sérica mensurados nos peixes alimentados não foram influenciados com EMO na ração e nas esferas. Entretanto, fatores estressantes para os peixes são comuns na aquicultura e as plantas medicinais são alternativas para atenuar os danos causados. A exemplo de estudos, a utilização do extrato de folha de carvalho (*Quercus castaneifolia*), suplementada 1 e 2 g/kg na dieta da carpa comum diminuiu significativamente os níveis de glicose e cortisol nos grupos com a suplementação após o estresse de aglomeração com a redução 80% do nível de água do meio (PARAY et al., 2020), diminuição que também ocorreu nos níveis séricos de alevinos de carpa com a inclusão do alecrim em pó na dieta, em estresse de aglomeração em rede por 3h (YOUSEFI et al., 2019).

A inclusão de altas concentrações de moringa (40 e 50%) na alimentação de tilápia do Nilo, afetaram negativamente os índices hematológicos e bioquímicos dos peixes, como foi demonstrado pela diminuição da proteína total séricas e globulina, e aumento das enzimas hepáticas AST e ALT, indicando efeito adverso no estado imunológico dos peixes, nesse mesmo estudo demonstrado que folhas de moringa até o nível de 15% não produz efeitos negativos na saúde da tilápia do Nilo (AHMED et al., 2014).

Tabela 6 - Parâmetros bioquímicos séricos de juvenis de carpa colorida (*Cyprinus carpio*) alimentados com diferentes dietas esferas de alginato e extrato de folha de *Moringa oleifera* pós estresse de exposição ao ar

Antes estresse		Dietas				P value
Parâmetros		T1	T2	T3	T4	
Glicose (mg/dL ⁻¹)		93,21 ± 13,70	80,57 ± 6,75	82,44 ± 2,04	83,04 ± 12,79	0,62
ALT (U/L)		16,0 ± 5,96	18,0 ± 3,0	16,0 ± 4,91	9,5 ± 4,69	0,29
AST (U/L)		198,00 ± 26,78	142,00 ± 68,08	184,00 ± 27,25	170,00 ± 83,00	0,79
Proteína Total (g/dL ⁻¹)		1,73 ± 1,64	3,10 ± 0,14	3,99 ± 0,08	2,59 ± 0,34	0,12
Albumina (mg/dL ⁻¹)		1,27 ± 0,00 ^b	1,34 ± 0,11 ^b	1,82 ± 0,08 ^a	1,06 ± 0,16 ^b	0,003
Colesterol Total (mg/dL ⁻¹)		123,23 ± 17,78	121,72 ± 8,50	154,41 ± 5,65	110,91 ± 38,71	0,32
Triglicerídeos (mg/dL ⁻¹)		219,10 ± 87,49	217,88 ± 22,49	234,76 ± 19,78	139,70 ± 31,30	0,33
HDL (mg/dL ⁻¹)		39,09 ± 6,02	42,94 ± 3,11	54,42 ± 10,35	42,21 ± 13,32	0,41
LDL (mg/dL ⁻¹)		13,47 ± 4,04	10,61 ± 2,38	15,94 ± 0,64	9,15 ± 5,51	0,22
Pós estresse		Dietas				
Parâmetros		T1	T2	T3	T4	P value
Glicose (mg/dL ⁻¹)		83,52 ± 37,71	84,10 ± 26,57	76,35 ± 12,76	99,14 ± 36,97	0,54
ALT (U/L)		16,00 ± 4,59	15,00 ± 1,28	18,00 ± 3,28	16,00 ± 2,98	0,32
AST (U/L)		205,03 ± 12,23 ^b	187,00 ± 25,79 ^{bc}	215,68 ± 21,16 ^a	182,00 ± 28,58 ^c	0,001

Proteína Total (g/dL ⁻¹)	3,21 ± 0,21	3,47 ± 0,52	3,19 ± 0,21	3,02 ± 0,21	0,20
Albumina (mg/dL ⁻¹)	1,34 ± 0,18	1,29 ± 0,16	1,35 ± 0,13	1,33 ± 0,15	0,92
Colesterol Total (mg/dL ⁻¹)	120,29 ± 2,70 ^{bc}	132,48 ± 14,21 ^{ab}	138,68 ± 6,11 ^a	116,5 ± 2,83 ^c	0,001
Triglicerídeos (mg/dL ⁻¹)	224,09 ± 54,14	236,68 ± 29,45	231,07 ± 29,92	238,10 ± 59,90	0,85
HDL (mg/dL ⁻¹)	44,25 ± 5,12	42,31 ± 5,79	43,97 ± 4,19	44,41 ± 2,51	0,79
LDL (mg/dL ⁻¹)	12,45 ± 3,10	16,19 ± 5,04	12,12 ± 4,81	13,17 ± 4,39	0,24

T1: Dieta Basal; T2: Dieta com 20 ml/ kg de Extrato de Folha de *M. oleifera*; T3: Dieta Basal mais esferas com 20 ml/kg de Extrato de folha de *M. oleifera*; T4: Dieta Basal mais esferas com 0 ml/kg de Extrato de folha de *M. oleifera*; ALT: Alanina aminotransferase; AST: Aspartato aminotransferase; HDL: Lipoproteína de alta densidade e LDL: Lipoproteína de baixa densidade. Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste Tukey (p<0,05).

CONCLUSÃO

A suplementação com EMO na dieta ou na forma de esferas, na concentração de 20 mL kg⁻¹, não influenciou significativamente desempenho zootécnico, composição centesimal e sobrevivência das carpas e apresentou efeitos adversos nos parâmetros bioquímicos. Novas pesquisas são necessárias com a espécie *C. carpio* para ser elucidado o efeito da *M. oleifera* na saúde dessa espécie.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-LATIF, H. MR et al. Benefits and applications of *Moringa oleifera* as a plant protein source in Aquafeed: A review. **Aquaculture**, v. 547, p. 737369, 2022.
- ABDEL-LATIF, H. MR et al. Dietary oregano essential oil improved the growth performance via enhancing the intestinal morphometry and hepato-renal functions of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. **Aquaculture**, v. 526, p. 735432, 2020.
- AEKTHAMMARAT, D.; PANNANGPETCH, P.; TANGSUCHARIT, P. *Moringa oleifera* leaf extract induces vasorelaxation via endothelium-dependent hyperpolarization and calcium channel blockade in mesenteric arterial beds isolated from L-NAME hypertensive rats. **Clinical and Experimental Hypertension**, p. 1-12, 2020.
- AHMED, H. S.; ADEL, M.; ADEL, E. Incorporation of *Moringa oleifera* leaf in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet and its effect on growth performance and immune status. **Journal of Veterinary Science**, v. 1, n. 1, p. 8.6-8.14, 2014.
- ALAM, M. et al. Development of fiber enriched herbal biscuits: a preliminary study on sensory evaluation and chemical composition. **Int J Nutr Food Sci**, v. 3, p. 246-50, 2014.
- ALI, A. M. et al. Phytochemical Screening, Proximate and Mineral Analysis of *Moringa oleifera* Leaf in Kano, Northern Nigeria. **J Allied Pharm Sci**, p. 55-60, 2019.
- ALMURISI, S. H. et al. Taste masking of paracetamol encapsulated in chitosan-coated alginate beads. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 56, p. 101520, 2020.
- AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. Gaithersburg, Maryland, Estados Unidos. 18 edition. 2005.
- ARRIOLA, N. D. A. et al. Encapsulation of aqueous leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni with sodium alginate and its impact on phenolic content. **Food bioscience**, v. 13, p. 32-40, 2016.

- ARYA, V.; KUMAR, D.; GAUTAM, M. Phytopharmacological review on flowers: Source of inspiration for drug discovery. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 4, n. 1, p. 45-51, 2014.
- AWAD, E.; AWAAD, A. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. **Fish & shellfish immunology**, v. 67, p. 40-54, 2017.
- BABAYEJU, A. A. et al. Comparison of Organoleptic properties of egusi and efo riro soup blends produced with moringa and spinach leaves. **Food Science and Quality Management**. v. 28, p. 15-18, 2014.
- BALAMURUGAN, J. et al. Clove extract: A potential source for stress free transport of fish. **Aquaculture**, v. 454, p. 171-175, 2016.
- BALON, E. K. About the oldest domesticates among fishes. **Journal of fish Biology**, v. 65, p. 1-27, 2004.
- BANNIKOVA, A. et al. Microencapsulation of fish oil with alginate: In-vitro evaluation and controlled release. **LWT**, v. 90, p. 310-315, 2018.
- BAO, L. et al. Dietary *Ginkgo biloba* leaf extract alters immune-related gene expression and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp *Cyprinus carpio*. **Fish & shellfish immunology**, v. 94, p. 810-818, 2019.
- BARBAS, L. A. L. et al. A. Stress relieving potential of two plant-based sedatives in the transport of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, p. 734681, 2019.
- BARTON, B. A. Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, n. 3, p. 517-525, 2002.
- BASTOS, L. P. H. et al. Encapsulation of black pepper (*Piper nigrum L.*) essential oil with gelatin and sodium alginate by complex coacervation. **Food Hydrocolloids**, v. 102, p. 105605, 2020b.

- BASTOS, L. P. H. et al. Encapsulation of the black pepper (*Piper nigrum L.*) essential oil by lactoferrin-sodium alginate complex coacervates: Structural characterization and simulated gastrointestinal conditions. **Food chemistry**, v. 316, p. 126345, 2020a.
- BENAVIDES, S. et al. Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. **Food chemistry**, v. 204, p. 77-83, 2016.
- BENNOUR, N. et al. Effect of solvent evaporation method on phenolic compounds and the antioxidant activity of *Moringa oleifera* cultivated in Southern Tunisia. **South African Journal of Botany**, v. 129, p. 181-190, 2020.
- BILEN, S. et al. Effect of dill (*Anethum graveolens*) and garden cress (*Lepidium sativum*) dietary supplementation on growth performance, digestive enzyme activities and immune responses of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture**, v. 495, p. 611-616, 2018.
- BILEN, S. et al. Modulatory effects of laurel-leaf cistus (*Cistus laurifolius*) ethanolic extract on innate immune responses and disease resistance in common carp (*Cyprinus carpio*). **Fish & shellfish immunology**, v. 116, p. 98-106, 2021.
- BISHT, M.; KUMAR, A.; SHAH, T. Effect of *Moringa oleifera* leaf powder on skin mucosal immune responses and growth performance of guppy, *Poecilia reticulata* (Peter, 1860). **Aquaculture Research**, v. 51, n. 12, p. 4984-4990, 2020.
- BRENNER, M. I. P.; SÖRENSEN, P. M. Biophysics of molecular gastronomy. **Cell**, v. 161, n. 1, p. 5-8, 2015.
- BRILHANTE, R. S. N. et al. Research advances on the multiple uses of *Moringa oleifera*: A sustainable alternative for socially neglected population. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 10, n. 7, p. 621-630, 2017.
- BRUM, A. et al. Blood biochemical parameters and melanomacrophage centers in Nile tilapia fed essential oils of clove basil and ginger. **Fish & shellfish immunology**, v. 74, p. 444-449, 2018.
- CALVO, T. R. A.; PERULLINI, M.; SANTAGAPITA, P. R. Encapsulation of betacyanins and polyphenols extracted from leaves and stems of beetroot in Ca (II)-alginate beads: A structural study. **Journal of food engineering**, v. 235, p. 32-40, 2018.

CAMACHO, D. H. et al. Encapsulation of folic acid in copper-alginate hydrogels and it's slow in vitro release in physiological pH condition. **Food research international**, v.119, p.15-22, 2019.

CAO, L. et al. Hepatoprotective and antioxidant effects of dietary *Angelica sinensis* extract against carbon tetrachloride-induced hepatic injury in Jian Carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture Research**, v. 47, n. 6, p. 1852-1863, 2016.

CHRIST, B.; MÜLLER, K. H. Zur serienmäßigen Bestimmung des Gehaltes an Flavonol-Derivaten in Drogen. **Archiv der Pharmazie**, v. 293, n. 12, p. 1033-1042, 1960.

DA SILVA, T. V. N. et al. Lipid peroxidation and antioxidant capacity in *Peckoltia oligospila* (Günther, 1864) submitted to transport under different concentration of dissolved oxygen. **Aquaculture**, v. 481, p. 72-78, 2017.

DADEBO, E. et al. Food and feeding habits of the common carp (*Cyprinus carpio* L. 1758) (Pisces: Cyprinidae) in Lake Koka, Ethiopia. **Momona Ethiopian Journal of Science**, v. 7, n. 1, p. 16-31, 2015.

DADI, D. W. et al. Influences of different drying methods and extraction solvents on total phenolic and flavonoids, and antioxidant capacity of *Moringa stenopetala* leaves. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 1, p. 962-967, 2018.

DADI, D. W. et al. Physical and Functional Properties, Digestibility, and Storage Stability of Spray-and Freeze-Dried Microencapsulated Bioactive Products from *Moringa stenopetala* Leaves Extract. **Industrial Crops and Products**, v. 156, p. 112891, 2020.

DESAI, A. S.; SINGH, R. K. The effects of water temperature and ration size on growth and body composition of fry of common carp, *Cyprinus carpio*. **Journal of Thermal Biology**, v. 34, n. 6, p. 276-280, 2009.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying technology**, v. 23, n.7, p. 1361-1394, 2005.

- DHAMECHA, D. et al. Applications of alginate microspheres in therapeutics delivery and cell culture: Past, present and future. **International journal of pharmaceutics**, p. 118627, 2019.
- DJEMOUI, D. et al. Influence of phenolic compounds on antioxidant capacity of leaves extracts of *Moringa oleifera* from tamanrasset region. **Journal of Fundamental and Applied Sciences**, v. 11, n. 1, p. 280-293, 2019.
- DONGMEZA, E. et al. Effects of dehydrated methanol extracts of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves and three of its fractions on growth performance and feed nutrient assimilation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* (L.)). **Aquaculture**, v. 261, n. 1, p. 407-422, 2006.
- DRAGET, K. I. Alginates. In: **Handbook of hydrocolloids**, p. 807-828, 2009.
- ELABD, H. et al. Dietary supplementation of Moringa leaf meal for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: Effect on growth and stress indices. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 45, n. 3, p. 265-271, 2019.
- EL-GAWAD, E. A. A. et al. Effect of dietary *Moringa oleifera* leaf on the immune response and control of *Aeromonas hydrophila* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. **Aquaculture International**, v. 28, n. 1, p. 389-402, 2020.
- EL-KASSAS, S. et al. Growth performance, serum lipid profile, intestinal morphometry, and growth and lipid indicator gene expression analysis of mono-sex Nile tilapia fed *Moringa oleifera* leaf powder. **Aquaculture Reports**, v. 18, p. 100422, 2020.
- EZZAT, S. M. et al. Upregulation of MC4R and PPAR- α expression mediates the anti-obesity activity of *Moringa oleifera* Lam. in high-fat diet-induced obesity in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, p. 112541, 2020.
- FAIDI, A. et al. Application of sodium alginate extracted from a Tunisian brown algae *Padina pavonica* for essential oil encapsulation: Microspheres preparation, characterization and in vitro release study. **International journal of biological macromolecules**, v.136, p. 386-394, 2019.

- FALOWO, A. B. et al. Multi-functional application of *Moringa oleifera* Lam. in nutrition and animal food products: A review. **Food research international**, v. 106, p. 317-334, 2018.
- FAO. 2022. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. Hacia la transformación azul*. Roma, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461es>
- FATHORDOOBADY, F. et al. Encapsulation of betacyanins from the peel of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus* L.) in alginate microbeads. **Food Hydrocolloids**, v. 113, p. 106535, 2020.
- FAZELAN, Z. et al. Effects of dietary ginger (*Zingiber officinale*) administration on growth performance and stress, immunological, and antioxidant responses of common carp (*Cyprinus carpio*) reared under high stocking density. **Aquaculture**, v. 518, p. 734833, 2020.
- FERGUSON, R. A.; TUFTS, B. L. Physiological effects of brief air exposure in exhaustively exercised rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): implications for "catch and release" fisheries. **Canadian journal of fisheries and aquatic sciences**, v. 49, n. 6, p. 1157-1162, 1992.
- FERNANDO, I.P. S. et al. Alginate-based nanomaterials: fabrication techniques, properties, and applications. **Chemical Engineering Journal**, p. 123823, 2019.
- GARCÍA-BERTHOU, E. Size-and depth-dependent variation in habitat and diet of the common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquatic Sciences**, v. 63, n. 4, p. 466-476, 2001.
- GIRI, S. S.; SUKUMARAN, V.; PARK, S. C. Effects of bioactive substance from turmeric on growth, skin mucosal immunity and antioxidant factors in common carp, *Cyprinus carpio*. **Fish & shellfish immunology**, v. 92, p. 612-620, 2019.
- GIUBERTI, G. et al. The potential of *Moringa oleifera* in food formulation: A promising source of functional compounds with health-promoting properties. **Current Opinion in Food Science**, v. 42, p. 257-269, 2021.

GOPALAKRISHNAN, L.; DORIYA, K.; KUMAR, D. S. *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. **Food Science and Human Wellness**, v. 5, n. 2, p. 49-56, 2016.

GORBUNOVA, N. et al. Alginate-based encapsulation of extracts from beta Vulgaris cv. beet greens: Stability and controlled release under simulated gastrointestinal conditions. **LWT**, v. 93, p. 442-449, 2018.

GRANELLA, S. J. et al. An approach to recent applications of *Moringa oleifera* in the agricultural and biofuel industries. **South African Journal of Botany**, v. 137, p. 110-116, 2021.

GUPTA, S. et al. Nutritional and medicinal applications of *Moringa oleifera* Lam.—Review of current status and future possibilities. **Journal of Herbal Medicine**, v. 11, p. 1-11, 2018.

HADJU, V. et al. Chemical composition of *Moringa oleifera* and Honey from three different Areas in South Sulawesi, Indonesia. **Gaceta Sanitaria**, v. 35, p. S396-S399, 2021.

HALLIWELL, B. Antioxidant characterization: methodology and mechanism. **Biochemical pharmacology**, v. 49, n. 10, p. 1341-1348, 1995.

HALLIWELL, B. et al. The characterization of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 7, p. 601-617, 1995.

HAMED, H. S.; EL-SAYED, Y. S. Antioxidant activities of *Moringa oleifera* leaf extract against pendimethalin-induced oxidative stress and genotoxicity in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Fish physiology and biochemistry**, v. 45, n. 1, p. 71-82, 2019.

HARIKRISHNAN, R.; RANI, M. N.; BALASUNDARAM, C. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. **Aquaculture**, v. 221, n. 1-4, p. 41-50, 2003.

HASSAAN, M. S. et al. Nutritional mitigation of winter thermal stress in Nile tilapia by propolis-extract: Associated indicators of nutritional status, physiological responses and

transcriptional response of delta-9-desaturase gene. **Aquaculture**, v. 511, p. 734256, 2019.

HE, J. et al. Identification and functional analysis of the Mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) hypoxia-inducible factor-1 α involved in the immune response. **Fish & shellfish immunology**, v. 92, p. 141-150, 2019.

HEKMAT, S. et al. Sensory evaluation of locally-grown fruit purees and inulin fibre on probiotic yogurt in mwanza, Tanzania and the microbial analysis of probiotic yogurt fortified with *Moringa oleifera*. **Journal of health, population, and nutrition**, v. 33, n. 1, p. 60, 2015.

HEYDARNEJAD, M. S. Survival and growth of common carp (*Cyprinus carpio* L.) exposed to different water pH levels. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 36, n. 3, p. 245-249, 2012.

HOSEINIFAR, S. H. et al. Can dietary jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruit extract alter cutaneous mucosal immunity, immune related genes expression in skin and growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*)?. **Fish & shellfish immunology**, v. 94, p. 705-710, 2019.

HOSEINIFAR, S. H. et al. Effects of date palm fruit extracts on skin mucosal immunity, immune related genes expression and growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. **Fish & shellfish immunology**, v. 47, n. 2, p. 706-711, 2015.

HOSSAIN, M. A. et al. Determination of antioxidant activity and total tannin from drumstick (*Moringa oleifera* lam.) leaves using different solvent extraction methods. **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, v. 8, n. 12, p. 2749-2755, 2020.

HUANG, X. et al. High glucose affected respiratory burst activity of peripheral leukocyte via G6PD and NOX inhibition in *Megalobrama amblycephala*. **Fish & shellfish immunology**, v. 83, p. 243-248, 2018.

HUGUES-AYALA, A. M. et al. Airbrush encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* GG in dry microbeads of alginate coated with regular buttermilk proteins. **LWT**, v. 117, p. 108639, 2020.

- HULATA, G. A review of genetic improvement of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) and other cyprinids by crossbreeding, hybridization and selection. **Aquaculture**, v. 129, n. 1-4, p. 143-155, 1995.
- IBRAHIM, R. E. et al. Ameliorative effects of *Moringa oleifera* seeds and leaves on chlorpyrifos-induced growth retardation, immune suppression, oxidative stress, and DNA damage in *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 505, p. 225-234, 2019.
- IJAROTIMI, OI. S.; ADEOTI, O. A.; ARIYO, O. Comparative study on nutrient composition, phytochemical, and functional characteristics of raw, germinated, and fermented *Moringa oleifera* seed flour. **Food science & nutrition**, v. 1, n. 6, p. 452-463, 2013.
- JAHAZI, M. A. et al. Dietary supplementation of polyphenols positively affects the innate immune response, oxidative status, and growth performance of common carp, *Cyprinus carpio* L. **Aquaculture**, v. 517, p. 734709, 2020.
- KALCHER, K. et al. Electrochemical sensors and biosensors based on heterogeneous carbon materials. **Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly**, v. 140, n. 8, p. 861-889, 2009.
- KALEO, I. V. et al. Effects of *Moringa oleifera* leaf extract on growth performance, physiological and immune response, and related immune gene expression of *Macrobrachium rosenbergii* with *Vibrio anguillarum* and ammonia stress. **Fish & shellfish immunology**, v. 89, p. 603-613, 2019.
- KASOLO, J. N. et al. Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in Ugandan rural communities. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 9, 2010.
- KESKIN, M.; KESKIN, S; KOLAYLI, S. Preparation of alcohol free propolis-alginate microcapsules, characterization and release property. **LWT**, v.108, p. 89-96, 2019.
- KHALIL, F.; KORNI, F. MM. Evaluation of *Moringa oleifera* leaves and their aqueous extract in improving growth, immunity and mitigating effect of stress on common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. **Aquatic Sciences and Engineering**, v. 32, n. 3, p. 170-177, 2017.

KHAN, M. I. R.; SAHA, R. K.; SAHA, H. Muli bamboo (*Melocanna baccifera*) leaves ethanolic extract a non-toxic phyto-prophylactic against low pH stress and *saprolegniasis* in *Labeo rohita* fingerlings. **Fish & shellfish immunology**, v. 74, p. 609-619, 2018.

KHAN, M. N. et al. A review of introduction of common carp *Cyprinus carpio* in Pakistan: origin, purpose, impact and management. **Croatian Journal of Fisheries**, v. 74, n. 2, p. 71-80, 2016.

KHANI, M. et al. The effects of *Chlorella vulgaris* supplementation on growth performance, blood characteristics, and digestive enzymes in Koi (*Cyprinus carpio*). **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v. 16, n. 2, p. 832-843, 2017.

KHOR, C. M. et al. Hot-melt extrusion microencapsulation of quercetin for taste-masking. **Journal of microencapsulation**, v. 34.1: p. 29-37, 2017.

KOLAWOLE, F. L. et al. An evaluation of nutritional and sensory qualities of wheat-moringa cake. **Agrosearch**, v. 13, n. 1, p. 87-94, 2013.

KORNI, F. M. M. et al. Role of *Moringa oleifera* leaves and aqueous extract in prevention of Motile *Aeromonas Septicemia* in common carp, *Cyprinus carpio* fingerlings with a reference to histopathological alterations. **Aquaculture International**, v. 28, n. 1, p. 153-168, 2020.

KOU, X. et al. Nutraceutical or pharmacological potential of *Moringa oleifera* Lam. **Nutrients**, v. 10, n. 3, p. 343, 2018.

KRISHNAIAH, D.; SARBATLY, R.; NITHYANANDAM, R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. **Food and bioproducts processing**, v. 89, n. 3, p. 217-233, 2011.

KUMAR, P. A. et al. Evaluation of colour enhance potential of three natural plant pigment sources (African tulip tree flower, red paprika, pomegranate peel) in goldfish (*Carassius auratus*). **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 5, n. 6, p. 47-51, 2017.

KUROZAWA, L. E.; HUBINGER, M. D. Hydrophilic food compounds encapsulation by ionic gelation. **Current Opinion in Food Science**, v. 15, p. 50-55, 2017.

- LEE, P.; ROGERS, M. A. Effect of calcium source and exposure-time on basic caviar spherification using sodium alginate. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 1, n. 2, p. 96-100, 2012.
- LEONE, A. et al. Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: An overview. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 6, p. 12791-12835, 2015.
- LEWBART, G. A. Reproductive medicine in koi (*Cyprinus carpio*). **The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice**, v. 5, n. 3, p. 637-48, vii, 2002.
- LI, H. et al. The effects of dietary extract of mulberry leaf on growth performance, hypoxia-reoxygenation stress and biochemical parameters in various organs of fish. **Aquaculture Reports**, v. 18, p. 100494, 2020.
- LIU, Y. et al. Values, properties and utility of different parts of *Moringa oleifera*: an overview. **Chinese Herbal Medicines**, 2018.
- LUETRAGOON, T. et al. Bioactive Compounds in *Moringa oleifera* Lam. Leaves Inhibit the Pro-Inflammatory Mediators in Lipopolysaccharide-Induced Human Monocyte-Derived Macrophages. **Molecules**, v. 25, n. 1, p. 191, 2020.
- LUSHCHAK, V. I.; BAGNYUKOVA, T. V. Hypoxia induces oxidative stress in tissues of a goby, the rotan *Percottus glenii*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 148, n. 4, p. 390-397, 2007.
- MAGAJI, U. F.; SACAN, O.; YANARDAG, R. Alpha amylase, alpha glucosidase and glycation inhibitory activity of *Moringa oleifera* extracts. **South African Journal of Botany**, v. 128, p. 225-230, 2020.
- MAKARAS, T. et al. A new approach of stress evaluation in fish using β -d-Glucose measurement in fish holding-water. **Ecological Indicators**, v. 109, p. 105829, 2020.
- MAKRINOS, D. L.; BOWDEN, T. J. Natural environmental impacts on teleost immune function. **Fish & shellfish immunology**, v. 53, p. 50-57, 2016.

- MAQSUDLOU, A. et al. Improving the efficiency of natural antioxidant compounds via different nanocarriers. **Advances in Colloid and Interface Science**, p. 102122, 2020.
- MBOKANE, E. M.; MOYO, N. AG. Alterations of haemato-biochemical parameters pre and post-challenge with *Aeromonas hydrophila* and survival of *Oreochromis mossambicus* fed *Moringa oleifera*-based diets. **Fish & shellfish immunology**, v. 83, p. 213-222, 2018.
- MC DONALD, D. G.; MILLIGAN, C. L. 2 Chemical properties of the blood. In: **Fish physiology**. Academic Press, 1992. p. 55-133.
- MIAO, L. et al. Interactive effects of mulberry leaf meal and bamboo charcoal additive on growth performance, anti-oxidant capacity, and disease resistance of genetically improved farmed tilapia (GIFT) juvenile (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Reports**, v. 18, p. 100483, 2020.
- MIRGHAED, A. T. et al. Hemolysis interference in measuring fish plasma biochemical indicators. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 43, n. 4, p. 1143-1151, 2017.
- MIRGHAED, A. T.; PAKNEJAD, H.; MIRZARGAR, S. S. Hepatoprotective effects of dietary *Artemisia (Artemisia annua)* leaf extract on common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to ambient ammonia. **Aquaculture**, p. 735443, 2020.
- MOGHANLOU, K. S. et al. Effects of dietary supplementation with *Stachys lavandulifolia* Vahl extract on growth performance, hemato-biochemical and innate immunity parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Animal Feed Science and Technology**, v. 237, p. 98-105, 2018.
- MOHAMMADI, G. et al. Ginger (*Zingiber officinale*) extract affects growth performance, body composition, haematology, serum and mucosal immune parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 99, p. 267-273, 2020.
- MONIR, W. et al. Pomegranate peel and moringa-based diets enhanced biochemical and immune parameters of Nile tilapia against bacterial infection by *Aeromonas hydrophila*. **Microbial pathogenesis**, v. 145, p. 104202, 2020.

- NARDOCCI, G. et al. Neuroendocrine mechanisms for immune system regulation during stress in fish. **Fish & shellfish immunology**, v. 40, n. 2, p. 531-538, 2014.
- NIIZAWA, I. et al. A. Natural astaxanthin encapsulation: use of response surface methodology for the design of alginate beads. **International journal of biological macromolecules**, v. 121, p. 601-608, 2019.
- NRC. Nutrient requirements of Fish and Shrimp. **National Research Council**. National academies press, Washington, D.C., Estados Unidos. 2011.
- NURHADI, B. et al. The role of encapsulant materials on the stability of bioactive compounds of red ginger (*Zingiber officinale Roscoe*. var. *Rubrum*) extract powder during storage. **Food Chemistry**, v. 333, p. 127490, 2020.
- OGUNSINA, B. S.; RADHA, C.; INDRANI, D. Quality characteristics of bread and cookies enriched with debittered *Moringa oleifera* seed flour. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 62, n. 2, p. 185-194, 2011.
- OJIAKO, F. O.; ADIKURU, N. C.; EMENYONU, C. A. Critical issues in Investment, Production and Marketing of *Moringa oleifera* as an Industrial Agricultural raw material in Nigeria. **Journal of agricultural research and development**, v. 10, p. 39-56, 2011.
- OYEYINKA, A. T.; OYEYINKA, S. A. *Moringa oleifera* as a food fortificant: Recent trends and prospects. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 17, n. 2, p. 127-136, 2018.
- OYUGI, D. O. et al. Effects of temperature on the foraging and growth rate of juvenile common carp, *Cyprinus carpio*. **Journal of Thermal Biology**, v. 37, n. 1, p. 89-94, 2012.
- PARAY, B. A. et al. Effects of dietary oak (*Quercus castaneifolia*) leaf extract on growth, antioxidant, and immune characteristics and responses to crowding stress in common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture**, p. 735276, 2020.
- PAWAR, S. N.; EDGAR, K. J. Alginate derivatization: a review of chemistry, properties and applications. **Biomaterials**, v. 33, n.11, p. 3279-3305, 2012.

- PENNE, C. R.; PIERCE, C. L. Seasonal distribution, aggregation, and habitat selection of common carp in Clear Lake, Iowa. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 137, n. 4, p. 1050-1062, 2008.
- PORTZ, D. E.; WOODLEY, C. M.; CECH, J. J. Stress-associated impacts of short-term holding on fishes. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 16, n. 2, p. 125-170, 2006.
- PRABAKARAN, M. et al. Polyphenol composition and antimicrobial activity of various solvent extracts from different plant parts of *Moringa oleifera*. **Food bioscience**, v. 26, p. 23-29, 2018.
- QI, N. et al. Simultaneous analysis of eight vitamin E isomers in *Moringa oleifera* Lam. leaves by ultra performance convergence chromatography. **Food chemistry**, v. 207, p. 157-161, 2016.
- RAHMAN, M. M. Role of common carp (*Cyprinus carpio*) in aquaculture production systems. **Frontiers in Life Science**, v. 8, n. 4, p. 399-410, 2015.
- RAMDHAN, T. et al. Physical and mechanical properties of alginate based composite gels. **Trends in Food Science & Technology**, 2020.
- RIBAS-AGUSTÍ, A. et al. Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 58, n. 15, p. 2531-2548, 2018.
- RODRIGUEZ, Y. E. et al. Exogenous enzymes in aquaculture: Alginate and alginate-bentonite microcapsules for the intestinal delivery of shrimp proteases to Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 490, p. 35-43, 2018.
- RODRÍGUEZ-PÉREZ, C. et al. Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 66, p. 246-254, 2015.
- SAINI, R. K.; SHETTY, N. P.; GIRIDHAR, P. Carotenoid content in vegetative and reproductive parts of commercially grown *Moringa oleifera* Lam. cultivars from India by LC-APCI-MS. **European Food Research and Technology**, v. 238, n. 6, p. 971-978, 2014.

- SALEEM, A; SALEEM, M.; AKHTAR, M. F. Antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic potential of *Moringa oleifera* Lam: An ethnomedicinal plant of Moringaceae family. **South African Journal of Botany**, v. 128, p. 246-256, 2020.
- SHAN, T. C. et al. The use of *Moringa oleifera* seed as a natural coagulant for wastewater treatment and heavy metals removal. **Applied Water Science**, v. 7, n. 3, p. 1369-1376, 2017.
- SHARMA, V. et al. Phytochemical analysis and evaluation of antioxidant activities of hydro-ethanolic extracts of *Moringa oleifera* Lam. pods. **J Pharm Res**, v. 4, n. 2, p. 554-7, 2011.
- SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2144-2155, 2003.
- SINGH, B. N. et al. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 6, p. 1109-1116, 2009.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.
- SINHA, A. K. et al. Anti-oxidative defences are modulated differentially in three freshwater teleosts in response to ammonia-induced oxidative stress. **PLoS One**, v. 9, n. 4, 2014.
- SOROR, E. I. et al. Recuperative effects of honey bee pollen, ginger (*Zingiber officinale*), and *Moringa oleifera* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) after sub-lethal exposure to dimethoate. **Aquaculture**, v. 530, p. 735886, 2021.

- SULTANA, S. Nutritional and functional properties of *Moringa oleifera*. **Metabolism Open**, v. 8, p. 100061, 2020.
- SUN, J. L. et al. Interactive effect of thermal and hypoxia on largemouth bass (*Micropterus salmoides*) gill and liver: Aggravation of oxidative stress, inhibition of immunity and promotion of cell apoptosis. **Fish & shellfish immunology**, v. 98, p. 923-936, 2020.
- TEIXEIRA, E. M. B. et al. Chemical characteristics and fractionation of proteins from *Moringa oleifera* Lam. leaves. **Food chemistry**, v. 147, p. 51-54, 2014.
- TEMPERO, G. W. et al. Age composition, growth, and reproduction of koi carp (*Cyprinus carpio*) in the lower Waikato region, New Zealand. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 40, n. 4, p. 571-583, 2006.
- TIAN, J.; SUN, X.; CHEN, X. Formation and oral administration of alginate microspheres loaded with pDNA coding for lymphocystis disease virus (LCDV) to Japanese flounder. **Fish & shellfish immunology**, v. 24, n. 5, p. 592-599, 2008.
- TOGHUEO, R. M. K.; BOYOM, F. F. Endophytes from ethno-pharmacological plants: Sources of novel antioxidants-A systematic review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, p. 101430, 2019.
- TORT, L. Stress and immune modulation in fish. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 35, n. 12, p. 1366-1375, 2011.
- TSALI, F. H. et al. Producing liquid-core hydrogel beads by reverse spherification: Effect of secondary gelation on physical properties and release characteristics. **Food Hydrocolloids**, v. 62, p. 140-148, 2017.
- USANDI, B. et al. Effect of larval rearing density on growth and survival of koi carp, *Cyprinus carpio*. **Journal of entomology and zoology studies**. 7. 548-553, 2019.
- VALDES, L. L. S.; BORROTO, O. G.; PEREZ, G. F. Mulberry, moringa and tithonia in animal feed, and other uses. Results in Latin America and the Caribbean. **Food and Agriculture Organization of the United Nations Instituto de Ciencia Animal, Cuba**, 2017.

VALDIVIÉ-NAVARRO, M. et al. Review of *Moringa oleifera* as forage meal (leaves plus stems) intended for the feeding of non-ruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, p. 114338, 2019.

VAN HAI, N. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: a review. **Aquaculture**, v. 446, p. 88-96, 2015.

VÁZQUEZ-LEÓN, L. A. et al. Variation in bioactive compounds and antiradical activity of *Moringa oleifera* leaves: influence of climatic factors, tree age, and soil parameters. **European Food Research and Technology**, v. 243, n. 9, p. 1593-1608, 2017.

VERGARA-JIMENEZ, M.; ALMATRAFI, M. M.; FERNANDEZ, M. L. Bioactive components in *Moringa oleifera* leaves protect against chronic disease. **Antioxidants**, v. 6, n. 4, p. 91, 2017.

VILLASENOR-BASULTO, D. L. et al. Wastewater treatment using *Moringa oleifera* Lam seeds: A review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 23, p. 151-164, 2018.

WANG, J. L. et al. Effects of *Rehmannia glutinosa* on growth performance, immunological parameters and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Aquaculture**, v. 435, p. 293-300, 2015.

WEINERT, N. C. et al. Hematology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) subjected to anesthesia and anticoagulation protocols. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 6Supl2, p. 4237-4250, 2015.

WU, S. M. et al. Mitigation of stress and water deterioration with a root extract of *Glycine tomentella* during simulated transport of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). **Aquaculture**, v. 514, p. 734485, 2020.

YADAV, G. et al. Effective valorization of microalgal biomass for the production of nutritional fish-feed supplements. **Journal of Cleaner Production**, v. 243, p. 118697, 2020.

YANAR, M.; ERDOĞAN, E.; KUMLU, M. Thermal tolerance of thirteen popular ornamental fish Species. **Aquaculture**, v. 501, p. 382-386, 2019.

YOUSEFI, M. et al. Effects of lavender (*Lavandula angustifolia*) extract inclusion in diet on growth performance, innate immunity, immune-related gene expression, and stress response of common carp, *Cyprinus carpio*. **Aquaculture**, v. 515, p. 734588, 2020.

YOUSEFI, M. et al. Rosemary leaf powder improved growth performance, immune and antioxidant parameters, and crowding stress responses in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. **Aquaculture**, v. 505, p. 473-480, 2019.

YUAN, C. et al. Administration of a herbal immunoregulation mixture enhances some immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 33, n. 2, p. 93-101, 2007.

ZEMHERI-NAVRUZ, F.; ACAR, Ü.; YILMAZ, S. Dietary supplementation of olive leaf extract increases haematological, serum biochemical parameters and immune related genes expression level in common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. **Fish & shellfish immunology**, v. 89, p. 672-676, 2019.

ZENGIN, H. et al. Antioxidant enzyme activities and some biochemical changes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792) Yolk-Sac Larvae. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 16, n. 4, p. 961-971, 2016.

ZHAI, S. W.; LU, J. J.; CHEN, X. H. Effects of dietary grape seed proanthocyanidins on growth performance, some serum biochemical parameters and body composition of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. **Italian Journal of Animal Science**, v. 13, n. 3, p. 3357, 2014.

ZHANG, R. et al. Dietary oregano essential oil improved the immune response, activity of digestive enzymes, and intestinal microbiota of the koi carp, *Cyprinus carpio*. **Aquaculture**, v. 518, p. 734781, 2020a.

ZHANG, R. et al. Dietary sanguinarine affected immune response, digestive enzyme activity and intestinal microbiota of Koi carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture**, v. 502, p. 72-79, 2019.

ZHANG, R. et al. Dietary tea polyphenols induce changes in immune response and intestinal microbiota in Koi carp, *cyprinus carpio*. **Aquaculture**, v. 516, p. 734636, 2020b.

ZHANG, Z. et al. Encapsulation of Bifidobacterium in alginate microgels improves viability and targeted gut release. **Food Hydrocolloids**, p. 106634, 2021.

ZHOU, X. et al. Effects of *M. oleifera* leaf extract on the growth, physiological response and related immune gene expression of crucian carp fingerlings under *Aeromonas hydrophila* infection. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 131, p. 358-367, 2022.

ZHU, F. A review on the application of herbal medicines in the disease control of aquatic animals. **Aquaculture**, p. 735422, 2020.