

# A Pesquisa nos Diferentes Campos da Medicina Veterinária

---

Alécio Matos Pereira  
Lauro César Soares Feitosa  
Sara Silva Reis  
(Organizadores)



**Atena**  
Editora

Ano 2020

# A Pesquisa nos Diferentes Campos da Medicina Veterinária

---

Alécio Matos Pereira  
Lauro César Soares Feitosa  
Sara Silva Reis  
(Organizadores)



**Atena**  
Editora

Ano 2020

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação:** Karine de Lima

**Edição de Arte:** Lorena Prestes

**Revisão:** Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice

Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará

Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste

Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador

Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília  
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília  
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira  
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Fernando José Guedes da Silva Júnior – Universidade Federal do Piauí  
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco  
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas  
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá  
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza  
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andrezza Miguel da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia  
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais  
Prof<sup>a</sup> Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar  
Prof<sup>a</sup> Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos  
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas  
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Prof<sup>a</sup> Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília  
Prof<sup>a</sup> Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás  
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil  
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases  
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí  
Prof<sup>a</sup> Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora  
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé  
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo  
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária  
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina  
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro  
Prof<sup>a</sup> Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College  
Prof<sup>a</sup> Ma. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará  
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay  
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco

Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA  
 Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis  
 Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR  
 Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
 Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
 Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
 Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe  
 Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
 Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná  
 Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos  
 Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior  
 Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo  
 Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
 Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco  
 Prof. Me. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados  
 Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
 Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
 Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana  
 Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
P474	<p>A pesquisa nos diferentes campos da medicina veterinária [recurso eletrônico] / Organizadores Alécio Matos Pereira, Lauro César Soares Feitosa, Sara Silva Reis. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.</p> <p>Formato: PDF            Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.            Modo de acesso: World Wide Web.            Inclui bibliografia            ISBN 978-65-5706-054-4            DOI 10.22533/at.ed.544202205</p> <p>1. Medicina veterinária – Pesquisa – Brasil. I. Pereira, Alécio Matos. II. Feitosa, Lauro César Soares. III. Reis, Sara Silva.            CDD 636.089</p>
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
 Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
 contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

A necessidade de ser um profissional cada dia mais capacitado passa pelo compromisso do estudo constante e pela oportunidade de acesso a um material atualizado e de qualidade, é com esse propósito que vem o lançamento desse e-book “A Pesquisa nos Diferentes Campos da Medicina Veterinária”, com texto escrito de forma clara e direta, trazendo muitos assuntos atuais no campo da medicina veterinária, proporcionando ao leitor uma viagem científica e agradável, pelo cuidado que os autores dos capítulos tiveram em convidar especialistas com longa experiência em cada área a ser abordada.

Os assuntos são diversos para facilitar atualização dos leitores, que precisam saber de temas como: homeopatia e imunidade em gado leiteiro, bem-estar dos equídeos, vísceras de bovinos na alimentação, óleo de neem para *Chrysomya megacephala*, babesiose em cães, mormo, pesquisa do vírus zika e alfavírus, leishmaniose visceral, habronemose cutânea, topografia vertebromedular de cateto e sertolioma benigno em cão. A abordagem de cada tema traz uma pesquisa minuciosa pelos principais artigos da área, propiciando uma fácil revisão sobre os temas, tornando essa obra uma fonte científica nas mais diversas áreas da ciência animal.

Os estudantes e profissionais da área hoje sofrem em busca de uma fonte revisada e científica, pois, a internet nem sempre entrega um material revisado por pesquisadores da área de estudo. O que deixa esse livro ainda mais interessante, por ser uma obra baseada em pesquisa, e referências confiáveis no mundo científico da medicina veterinária. Sendo o e-book esclarecedor para todos que desejam estudar os assuntos aqui expostos.

Alécio Matos Pereira

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
AVALIAÇÃO DO USO DA HOMEOPATIA NA REDUÇÃO DO ÍNDICE DE MASTITE SUBCLÍNICA E NO AUMENTO DA IMUNIDADE EM GADO LEITEIRO	
Verônica Rodrigues Fozza Leonardo Maggio de Castro Fábio André Ferreira Custódio Ana Carolina Rusca Correa Porto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5442022051</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>12</b>
AVALIAÇÃO CLÍNICA E DE BEM-ESTAR DOS EQUÍDEOS DE TRACÇÃO DA ZONA URBANA DE PIRES DO RIO – GOIÁS	
Daniel Barbosa da Silva Carla Cristina Braz Louly Carla Faria Orlandini Iaciara Luana de Xavier Albernaz Naílla Crystine de Carvalho Dias Yoshihara Cristina de Sousa Suyan Brethel dos Santos Campos Ana Karolina Camargo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5442022052</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>19</b>
AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE HIDROLISADOS PROTEICOS OBTIDOS A PARTIR DE VÍSCERAS DE BOVINOS	
Thailan Arlindo da Silva Keila Aparecida Moreira Wellington Leal dos Santos Edson Flávio Teixeira da Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5442022053</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>35</b>
EFEITOS DO ÓLEO DE NEEM ( <i>AZADIRACHTA INDICA</i> A. JUSS.) NO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE <i>CHRYSOMYA MEGACEPHALA</i> (FABRICIUS, 1794) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)	
Daniele da Silva Luz Ana Elisa Moraes de Oliveira Ronaldo Roberto Tait Callefe Helio Conte	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5442022054</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>47</b>
BABESIOSE EM CÃES: ARTIGO DE REVISÃO COM ÊNFASE SOBRE SEU DIAGNÓSTICO	
Vanessa Feliciano de Souza Rafael Molina Figueiredo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5442022055</b>	
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>53</b>
ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DO MORMO NO MUNICÍPIO DE TERESINA, PIAUÍ	
Yara Maria Feitosa Borges Andrezza Caroline Aragão da Silva Tairine Melo Costa	

Mônica Arrivabene  
Roselma de Carvalho Moura  
Carolina Carvalho dos Santos Lira  
Luciana Ferreira de Sousa Luz  
Muriel Magda Lustosa Pimentel  
Camila Arrivabene Neves  
Tábatta Arrivabene Neves  
Tania Vasconcelos Cavalcante  
Isabella de Oliveira Barros  
Tatiana Figueiredo  
Luan Luthzemberg Ferreira de Andrade  
Laís Alves Mendonça  
Artur Bibiano de Vasconcelos

**DOI 10.22533/at.ed.5442022056**

**CAPÍTULO 7 ..... 69**

ESTUDO RETROSPECTIVO PARA PESQUISA DO VÍRUS ZIKA E ALFAVÍRUS EM AMOSTRAS DE PRIMATAS NÃO HUMANOS, EM 2015, NO BRASIL

Sélyly Socorro dos Praseres Lira  
Emylly Barrozo Caldas  
Daniela Sueli Guerreiro Rodrigues  
Ana Cecília Ribeiro Cruz

**DOI 10.22533/at.ed.5442022057**

**CAPÍTULO 8 ..... 82**

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

Andrei Kelliton Fabretti  
Raquel Carolina Simões Siqueira  
Rafael Oliveira Chaves  
Patrícia Mendes Pereira

**DOI 10.22533/at.ed.5442022058**

**CAPÍTULO 9 ..... 88**

HABRONEMOSE CUTÂNEA EM UM EQUINO DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR: RELATO DE CASO

Hiury Alberto Moraes da Costa Cruz  
Bianca Suruagy dos Santos  
Larissa de Souza Cavalcante  
Erivan Luiz Pereira de Andrade  
Gilsan Aparecida de Oliveira  
Muriel Magda Lustosa Pimentel  
Valesca Barreto Luz  
Isabelle Vanderlei Martins Bastos  
Raíssa Karolliny Salgueiro Cruz

**DOI 10.22533/at.ed.5442022059**

**CAPÍTULO 10 ..... 95**

TOPOGRAFIA VERTEBROMEDULAR DE CATETO (*PECARI TAJACU LINNAEUS*, 1758)

Marta Adami  
Rafael da Silva Carma Neto  
Ana Elisa Fernandes de Souza Almeida  
Marcia Maria Magalhães Dantas de Faria  
Ricardo Diniz Guerra e Silva  
Maria das Graças Farias Pinto

**DOI 10.22533/at.ed.54420220510**

**CAPÍTULO 11 ..... 103**

SERTOLIOMA BENIGNO EM CÃO SEM PADRÃO RACIAL DEFINIDO E NÃO CRIPTORQUIDA:  
RELATO DE CASO

Dawys Elisio de Oliveira Peroba  
Eliane Macedo Bernieri  
Karen Noronha Sarmiento  
Ana Gabriela Almeida Luna Vieira  
Mariah Tenório de Carvalho Souza  
Gilsan Aparecida de Oliveira  
Rodrigo Antônio Torres Matos  
Raíssa Karolliny Salgueiro Cruz  
Valesca Barreto Luz

**DOI 10.22533/at.ed.54420220511**

**SOBRE OS ORGANIZADORES..... 110**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 111**

## AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE HIDROLISADOS PROTEICOS OBTIDOS A PARTIR DE VÍSCERAS DE BOVINOS

*Data de aceite: 15/05/2020*

### **Thailan Arlindo da Silva**

Universidade Federal do Agreste de Pernambuco  
Garanhuns - Pernambuco  
<http://lattes.cnpq.br/5371447938003091>

### **Keila Aparecida Moreira**

Universidade Federal do Agreste de Pernambuco  
Garanhuns - Pernambuco  
<http://lattes.cnpq.br/6589137488914452>

### **Wellington Leal dos Santos**

Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal  
Recife - Pernambuco  
<http://lattes.cnpq.br/6417801338031111>

### **Edson Flávio Teixeira da Silva**

Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal  
Recife - Pernambuco  
<http://lattes.cnpq.br/6788630196847634>

**RESUMO:** A conversão de subprodutos de abatedouros em componentes com propriedades funcionais empregando enzimas, soluciona problemas econômicos e de saúde devido ao descarte inadequado destes resíduos. Os componentes com propriedades funcionais, principalmente peptídeos bioativos, desempenham função biológica, fisiológica e bioquímica no organismo. Diante do exposto,

a realização do presente trabalho visou a investigação das características e aplicações biotecnológicas dos peptídeos obtidos pela hidrólise enzimática de vísceras bovinas por meio da ação de duas enzimas comerciais, a tripsina e a pepsina, empregando-se um planejamento composto central rotacionado com oito ensaios e duas repetições no ponto central. O software utilizado para realizar a análise estatística foi o SISVAR, versão 5.6, DEX-UFLA. A média de hidrólise para a pepsina foi de 18,43%, já para a tripsina a hidrólise se mostrou mais eficaz alcançando uma média de grau de hidrólise de 63,96%. Quanto a atividade de quelação de íons de cobre e ferro, os hidrolisados da pepsina apresentaram médias de quelação de 51,03% e 51,74%, respectivamente. Enquanto os hidrolisados da tripsina apresentaram média de quelação de 17,77% para o cobre e de 77,44% para o ferro. Frente as atividades de eliminação de radicais livres (ABTS, DPPH, hidroxila e superóxido), os hidrolisados de ambas as enzimas se mostraram eficientes, demonstrando taxas de quelação acima de 65,43% para todas as atividades, atingindo níveis máximos de quelação do radical hidroxila pelos hidrolisados da pepsina. Com os resultados da pesquisa é possível constatar o potencial biotecnológico dos hidrolisados das vísceras bovinas (coração, fígado e pulmão), sendo uma fonte de peptídeos bioativos com

atividade antioxidante de quelação de íons metálicos (ferro e cobre) e de eliminação de radicais livres (hidroxila, superóxido, DPPH e ABTS) *in vitro*, com potencial de se tornarem agentes antioxidantes de uso comercial passíveis de serem utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica e química.

**PALAVRAS-CHAVE:** Peptídeos, hidrólise, vísceras, bioprodutos, bovinos.

## EVALUATION OF FUNCTIONAL PROPERTIES OF PROTEIN HYDROLYSIS OBTAINED FROM OF CATTLE VINCERS

**ABSTRACT:** The conversion of slaughterhouse by-products into components with functional properties using enzymes, solves economic and health problems due to the inappropriate disposal of these residues. The components with functional properties, mainly bioactive peptides, perform biological, physiological and biochemical functions in the body. In view of the above, this study aimed at investigating the biotechnological characteristics and applications of peptides obtained by enzymatic hydrolysis of bovine viscera through the action of two commercial enzymes, trypsin and pepsin, using a central compound rotated with eight trials and two repetitions at the central point. The software used to perform the statistical analysis was SISVAR, version 5.6, DEX-UFLA. The average hydrolysis rate for pepsin was 18.43%, whereas for trypsin hydrolysis was more effective, reaching an average hydrolysis degree of 63.96%. Regarding the chelation activity of copper and iron ions, pepsin hydrolysates showed chelation averages of 51.03% and 51.74%, respectively. While trypsin hydrolysates showed an average chelation of 17.77% for copper and 77.44% for iron. In view of the free radical scavenging activities (ABTS, DPPH, hydroxyl and superoxide), the hydrolysates of both enzymes proved to be efficient, showing chelation rates above 65.43% for all activities, reaching maximum levels of radical chelation. hydroxyl by pepsin hydrolysates. With the results of the research, it is possible to verify the biotechnological potential of the bovine viscera hydrolysates (heart, liver and lung), being a source of bioactive peptides with antioxidant activity of metal ion chelation (iron and copper) and free radical scavenging (hydroxyl, superoxide, DPPH and ABTS) *in vitro*, with the potential to become antioxidants for commercial use that can be used in the food, pharmaceutical and chemical industry.

**KEYWORDS:** Peptides, hydrolysis, viscera, bioproducts, cattle.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os peptídeos bioativos, podem ser definidos como componentes proteicos contendo de 2 a 20 aminoácidos que, além do seu valor nutricional, exercem um efeito regulatórios no organismo animal por meio da interação com receptores específicos localizados nas células de órgãos específicos, ou pela indução de respostas fisiológicas (RYAN *et al.*, 2011; RAIKOS e DASSIOS, 2014). Dentre funções modulatórias, pode-se citar ação anti-hipertensiva, antioxidante, agonista opioide, imunomoduladora,

antimicrobiana, prebiótica, antitrombótica e hipocolesterolêmica (CHABANCE *et al.*, 1998; RYAN *et al.*, 2011; COSTA *et al.*, 2014; MOHANTY *et al.*, 2016; LORENZO *et al.*, 2018), além da suas ações terapêuticas, como por exemplo no tratamento de equinos atletas com osteoartrite a partir de suplementação alimentar com peptídeos bioativos de colágeno (DOBENECKER *et al.*, 2018).

De acordo com Morales-Medina *et al.* (2016), a conversão de subprodutos de matadouros, em particular as vísceras, alguns órgãos, sangue e resíduos da indústria cárnea que são descartados ou ineficientemente aproveitados em componentes com propriedades funcionais a partir da hidrólise enzimática, pode solucionar problemas econômicos e de saúde pública devido ao descarte inadequado destes resíduos. A utilização de enzimas proteolíticas para obtenção destes bioprodutos oriundos de subprodutos do abate de animais, aumenta o valor agregado e a lucratividade destas empresas, beneficiando também a população em termos de saúde pública e geração de uma nova fonte de renda.

A atividade antioxidante desempenhada por peptídeos bioativos baseia-se na diminuição dos processos oxidativos e da formação de moléculas conhecidas como espécies reativas de oxigênio (ROS, *reactive oxygen species*) (GU *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2015; MARQUES *et al.*, 2015), que podem atacar lipídios de membranas plasmáticas, proteínas e DNA (ácido desoxirribonucleico), causando, desta forma, muitas doenças, tais como doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e doença de Alzheimer, que afetam tanto animais quanto humanos (RYAN *et al.*, 2011).

Por sua vez, a oxidação lipídica pode causar deterioração da qualidade dos alimentos e redução na vida útil do produto, além do consumo de alimentos contendo produtos de oxidação lipídica estar associado a inúmeras doenças (ESTERBAUER, 1993; GIMÉNEZ, 2009; RYAN *et al.*, 2011).

Os peptídeos bioativos antioxidantes apresentam grande vantagem, do ponto de vista comercial, em relação aos antioxidantes sintéticos, já que estes estão sobre legislação específica o que restringe seu uso. Desta forma, os antioxidantes naturais, tais como os peptídeos bioativos, merecem destaque, além de apresentarem alta eficiência e segurança (GU *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2015; MARQUES *et al.*, 2015). Diante do exposto, o presente trabalho visa investigar as características e aplicações biotecnológicas dos peptídeos obtidos pela hidrólise enzimática destes subprodutos do abate.

## 2 | METODOLOGIA

As vísceras bovinas, coração, fígado e pulmão, foram obtidas de fornecedores locais, situados em mercados públicos de municípios do agreste pernambucano. As vísceras foram coletadas logo após o abate, acondicionadas e transportadas sob refrigeração (4 °C), lavadas, pesadas, trituradas, homogeneizadas e armazenadas sob

congelamento (-18 °C) até a realização das análises e/ou utilização para obtenção dos hidrolisados proteicos, apresentando período de armazenamento inferior a 60 dias na proporção 1:3 (m/v). Posteriormente empregou-se um planejamento composto central rotacionado com oito ensaios e duas repetições no ponto central. Variando o tempo de hidrólise e a relação enzima: substrato (Tabela 1).

Hidrolisado	Tempo de hidrólise <sup>a</sup>	[E]:[S] <sup>b</sup>
1	60	1:90
2	60	1:30
3	180	1:90
4	180	1:30
5	35	1:60
6	205	1:60
7	120	1:112
8	120	1:25
9	120	1:60
10	120	1:60

<sup>a</sup>Minutos. <sup>b</sup>Relação Enzima/substrato (p/p).

Tabela 1. Planejamento composto central rotacionado para hidrólise enzimática de vísceras bovinas empregando pepsina e tripsina.

Para hidrólise das vísceras foram empregadas duas enzimas de origem animal, a pepsina (pH 2,0 e 37 °C) e a tripsina (pH 8,0 e 37 °C), respeitando suas condições ótimas de atividade.

O teor de aminoácidos liberados pela hidrólise das vísceras (grau de hidrólise) foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Benjakul e Morrissey (1997) com algumas modificações. Foram empregados 31,25 µL do hidrolisado, 0,5 mL de tampão fosfato de sódio (pH 8,2; 0,2 M), em seguida adicionou-se 250 µL de solução de TNBS (ácido 2,4,6-trinitrobenzenossulfônico) a 0,01%. A mistura reacional foi incubada em banho maria a 50 °C por 30 minutos. A reação foi interrompida com a adição de 0,5 mL de sulfito de sódio (0,1 M). A mistura foi mantida ao abrigo da luz por 15 minutos a temperatura ambiente (25 °C). A absorbância foi lida a 420 nm em espectrofotômetro (Biochrom LibraS22, Reino Unido) e os aminoácidos expressos em relação a L-leucina. O grau de hidrólise (GH) foi calculado de acordo com a equação:  $\left[ \frac{A_t - A_0}{A_{\max} - A_0} \right] \times 100$ . Onde  $A_t$  é a quantidade de ligações peptídicas clivadas no tempo t.  $A_0$  é a quantidade de aminoácido presente no substrato original.  $A_{\max}$  é a quantidade de aminoácidos presentes na amostra original obtidos após hidrólise ácida (HCl 6 M a 100 °C durante 24 horas).

A atividade quelante de ferro foi realizada de acordo com a metodologia descrita em Sánchez-Vioque *et al.* (2012) com modificações, empregando 125 µL dos hidrolisados, misturados a 0,5 mL de tampão acetato de sódio (0,1 M e pH 4,9) e a 12,5 µL de solução Fe<sup>2+</sup> (2 mM). Após 30 minutos de incubação, foi adicionado 50 µL de

solução ferrozina (5mM), e decorrido mais 30 minutos foi realizada leitura em 562 nm (CARTER, 1971), em espectrofotômetro. A atividade quelante de cobre foi realizada de acordo com a metodologia descrita Saiga *et al.* (2003) com modificações, em que 0,5 mL de tampão acetato de sódio (pH 6,0, 50 mM) misturado a 12,5  $\mu$ L de solução de  $\text{CuSO}_4$  (5mM) e 125  $\mu$ L do hidrolisado. Essa mistura foi incubada por 30 minutos e em seguida adicionado 12,5  $\mu$ L da solução de violeta de pirocatecol (4mM), após mais 30 minutos de incubação, a mistura foi lida a 632 nm em espectrofotômetro. Para ambas as atividades o controle negativo foi realizado com água ao invés da amostra, o controle positivo foi realizado com solução de EDTA a 0,045%, a porcentagem de inibição foi determinada de acordo com a equação:

$$\text{Atividade quelante (\%)} = \left[ \frac{(A_{\text{Controle}} - A_{\text{Amostra}})}{A_{\text{Controle}}} \right] * 100$$

O ensaio de eliminação do radical hidroxila foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Li *et al.* (2008) com modificações propostas por Pownall *et al.* (2010). Foram homogeneizados 50 $\mu$ L da amostra contendo os diferentes hidrolisados, 50  $\mu$ L de 1,10-fenantrolina (3 mM) dissolvido em tampão fosfato de sódio (0,1 M, pH 7,4), 50  $\mu$ L de  $\text{FeSO}_4$  (3 mM) e 30  $\mu$ L de tampão fosfato de sódio (0,2 M, pH 7,4) em microplacas de 96 poços de poliestireno (Corning®, Tewksbury, MA). Após 5 minutos, 50  $\mu$ L de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (0,01%) foi adicionado para iniciar a reação de eliminação. A mistura reacional foi incubada por 1 h a 37 °C, a absorbância foi mensurada a 536 nm empregando leitor de microplaca. A atividade de eliminação do radical hidroxila foi calculado de acordo com a equação:

$$\text{Atividade quelante do radical } OH^{\cdot} (\%) = \left( \frac{A_{\text{Amostra}} - A_{\text{Degradada}}}{A_{\text{não degradada}} - A_{\text{Degradada}}} \right) * 100$$

Onde, os grupos degradados contêm todos dos reagentes envolvidos na reação, exceto pelo uso de água substituída pela amostra. O grupo não-degradado possui as soluções da amostra do grupo degradado exceto pelo uso de água substituindo o  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

A atividade de eliminação do radical superóxido foi determinada de acordo com o método descrito por Pownall *et al.* (2010), com modificações, no qual foram empregados 80  $\mu$ L das amostras hidrolisadas e misturadas a 80  $\mu$ L de tampão Tris-HCl-EDTA 50 mM (pH 8,3 contendo 1 mM de EDTA). A mistura reacional foi incubada a 25 °C por 10 minutos. Posteriormente, adicionou-se 40  $\mu$ L de solução de pirogallol 1,5 mM, empregou-se tampão Tris-HCl-EDTA como controle. A absorbância foi determinada a 420 nm por 4 minutos. A capacidade de eliminação do radical superóxido

foi quantificada de acordo com a equação:

$$\begin{aligned} & \textit{Atividade de elimina\c{c}\~{a}\~{o} do \^{\text{a}}nion super\^{\text{o}}xido (\%)} \\ & = \frac{\Delta A_{\text{Controle}}/\text{min} - \Delta A_{\text{Amostra}}/\text{min}}{\Delta A_{\text{Controle}}/\text{min}} * 100 \end{aligned}$$

Na qual,  $A_{\text{controle}}/\text{min}$  representa a absorb\~{a}ncia por minuto da solu\c{c}\~{a}\~{o} controle contendo pirogalol e tamp\~{a}\~{o}, e  $A_{\text{amostra}}/\text{min}$  representa a absorb\~{a}ncia por minuto da amostra.

O efeito de elimina\c{c}\~{a}\~{o} das amostras frente ao radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrasil) foi determinado de acordo com a metodologia previamente descrita por Yen e Chen (1995), modificada por Li *et al.* (2008). A mistura reacional consistiu em 100  $\mu\text{L}$  da amostra contendo os hidrolisados e 100  $\mu\text{L}$  de solu\c{c}\~{a}\~{o} etan\^{\text{o}}lica de DPPH 0,16 mM. A rea\c{c}\~{a}\~{o} foi incubada por 30 min no escuro, e a absorb\~{a}ncia mensurada a 517 nm. A habilidade de elimina\c{c}\~{a}\~{o} do radical DPPH foi calculado usando a equa\c{c}\~{a}\~{o}:

$$\textit{Elimina\c{c}\~{a}\~{o} do radical DPPH (\%)} = \left[ 1 - \left( \frac{A_{\text{amostra}} - A_{\text{amostra branco}}}{A_{\text{Controle}}} \right) \right] * 100$$

Onde, o  $A_{\text{amostra}}$  \^{\text{e}} a absorb\~{a}ncia das amostras,  $A_{\text{amostra branca}}$  \^{\text{e}} a absorb\~{a}ncia da amostra sem o DPPH e  $A_{\text{controle}}$  \^{\text{e}} a absorb\~{a}ncia do controle (solu\c{c}\~{a}\~{o} de DPPH sem amostra).

O ensaio de atividade antioxidante envolveu a elimina\c{c}\~{a}\~{o} do radical c\~{a}t\^{\text{i}}on ABTS<sup>+</sup>, gerado a partir da oxida\c{c}\~{a}\~{o} de 2,2' - azinobis - 3 - etilbenzotiazolina - 6 - \^{\text{a}}cido sulf\^{\text{o}}nico (ABTS) 7 mM com persulfato de pot\~{a}sio 2,45 mM pr\^{\text{e}}-incubados ao abrigo da luz por 12-16 horas antes da utiliza\c{c}\~{a}\~{o}. A solu\c{c}\~{a}\~{o} ABTS<sup>+</sup> foi ajustada para absorb\~{a}ncia de 0,70 $\pm$ 0,02 a 734 nm em espectrof\^{\text{o}}t\^{\text{o}}metro, por dilui\c{c}\~{a}\~{o} em tamp\~{a}\~{o} fosfato 5 mM, sendo realizado de acordo com metodologia descrita por Re *et al.* (1999), modificada por Chang *et al.* (2013). Uma al\^{\text{i}}quota de 50  $\mu\text{L}$  da amostra foi misturada a 950  $\mu\text{L}$  da solu\c{c}\~{a}\~{o} dilu\^{\text{i}}da de ABTS<sup>+</sup>, a mistura reacional foi incubada por 10 minutos a abrigo da luz a temperatura ambiente (24  $^{\circ}\text{C}$ ). A absorb\~{a}ncia da rea\c{c}\~{a}\~{o} foi mensurada a 734 nm e a atividade de elimina\c{c}\~{a}\~{o} do radical ABTS foi calculada de acordo com a equa\c{c}\~{a}\~{o}:

$$\textit{Efeito de elimina\c{c}\~{a}\~{o} do radical ABTS (\%)} = \left[ \left( \frac{A_{\text{Controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{Controle}}} \right) \right] * 100$$

Onde, o  $A_{\text{amostra}}$  \^{\text{e}} a absorb\~{a}ncia das amostras, e  $A_{\text{controle}}$  \^{\text{e}} a absorb\~{a}ncia do controle negativo empregando \^{\text{a}}gua destilada.

Por fim, para realiza\c{c}\~{a}\~{o} da an\~{a}lise estat\^{\text{i}}stica, os par\~{a}metros foram analisados

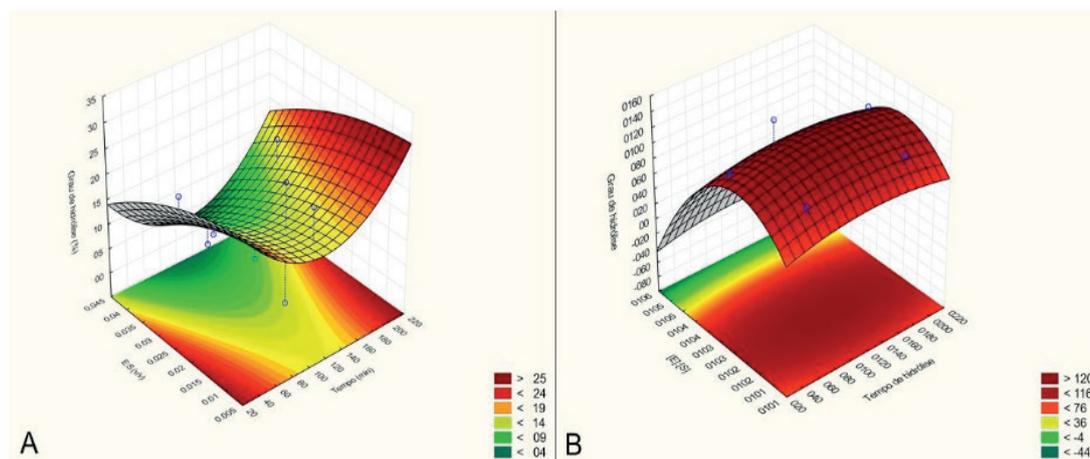
em triplicata e os dados expressos em média. Diferenças significativas entre as vísceras submetidas a diferentes tratamentos enzimáticos e tempo de hidrólise foram obtidas através da avaliação de diferenças entre as médias empregando-se o teste de comparação múltiplas de Tukey utilizando o software SISVAR, versão 5.6, DEX-UFLA (FERREIRA, 2014).

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a análise dos resultados do grau de hidrólise das vísceras bovinas coração, fígado e pulmão, submetidas à ação de duas enzimas pepsina e tripsina, é possível constatar que a média de hidrólise para a pepsina foi de 18,43%, já para a tripsina a hidrólise se mostrou mais eficaz alcançando uma média de grau de hidrólise de 63,96%. Os tratamentos que alcançaram maior hidrólise pelo emprego da pepsina foram 1 (28,17%), 2 (41,32%), 4 (25,11) e 5 (22,70%) não diferindo estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ). Por sua vez, os hidrolisados gerados pela ação da tripsina sobre as vísceras que apresentaram maiores valores de grau de hidrólise foram os ensaios 3 (72,66%), 5 (74,47%), 8 e 10 (ambos com 100%) não sendo verificada diferença estatisticamente relevante entre eles ( $p < 0,05$ ).

Os resultados obtidos com a hidrólise de vísceras bovinas nesta pesquisa se mostram semelhantes aos dados encontrados por Ramírez *et al.* (2016), nos quais obtiveram os valores máximos de grau de hidrólise de 5,25%, 22,22% e 23,83% a partir da hidrólise enzimática de vísceras de peixe empregando pepsina, pancreatina e a associação das duas, respectivamente, durante 390 minutos.

Na figura de superfície de resposta para a hidrólise das vísceras pela pepsina (Figura 1A), é possível constatar que os tratamentos que apresentam a melhor combinação de tempo de hidrólise e proporção enzima:substrato para potencializar o grau de hidrólise são aqueles que possuem um tempo de hidrólise entre 180 a 220 minutos, e proporção enzima:substrato (volume/volume) de 0,005 a 0,025. Demonstra uma baixa eficiência enzimática na hidrólise destes bioprodutos. Por outro lado, o gráfico de superfície resposta para os hidrolisados da tripsina (Figura 1B), apresenta uma configuração diferente, na qual a capacidade hidrolítica das enzimas não é afetada pelo tempo de exposição destas ao substrato.



(A) hidrolisados da pepsina e (B) hidrolisados da tripsina.

Figura 1. Superfície de resposta da relação entre o tempo de hidrólise e proporção enzima:substrato (E:S) para obtenção do grau de hidrólise das vísceras submetidas à hidrólise enzimática de acordo com o planejamento composto central rotacionado 2<sup>2</sup>.

A atividade de quelação de cobre pelos hidrolisados está representada na tabela 2. A ação da pepsina sobre as vísceras bovinas resultou na obtenção de hidrolisados com considerável atividade de quelação deste íon, com média de quelação de 51,03%. Os tratamentos que resultaram em hidrolisados com maior capacidade quelante foram 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9 e 10, não sendo verificada diferença estatisticamente significativa entre eles ( $p < 0,05$ ). No entanto, os hidrolisados obtidos pela atividade da tripsina não apresentaram quelação de cobre significativa, quando comparados com os hidrolisados gerados pela ação da pepsina. Os produtos da hidrólise da tripsina apresentaram uma média de quelação de cobre de 17,77%, sendo o tratamento 7 (120 minutos de hidrólise e relação enzima:substrato de 1:112) o que alcançou a maior porcentagem de quelação. No entanto, os tratamentos de 1 a 9 não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ).

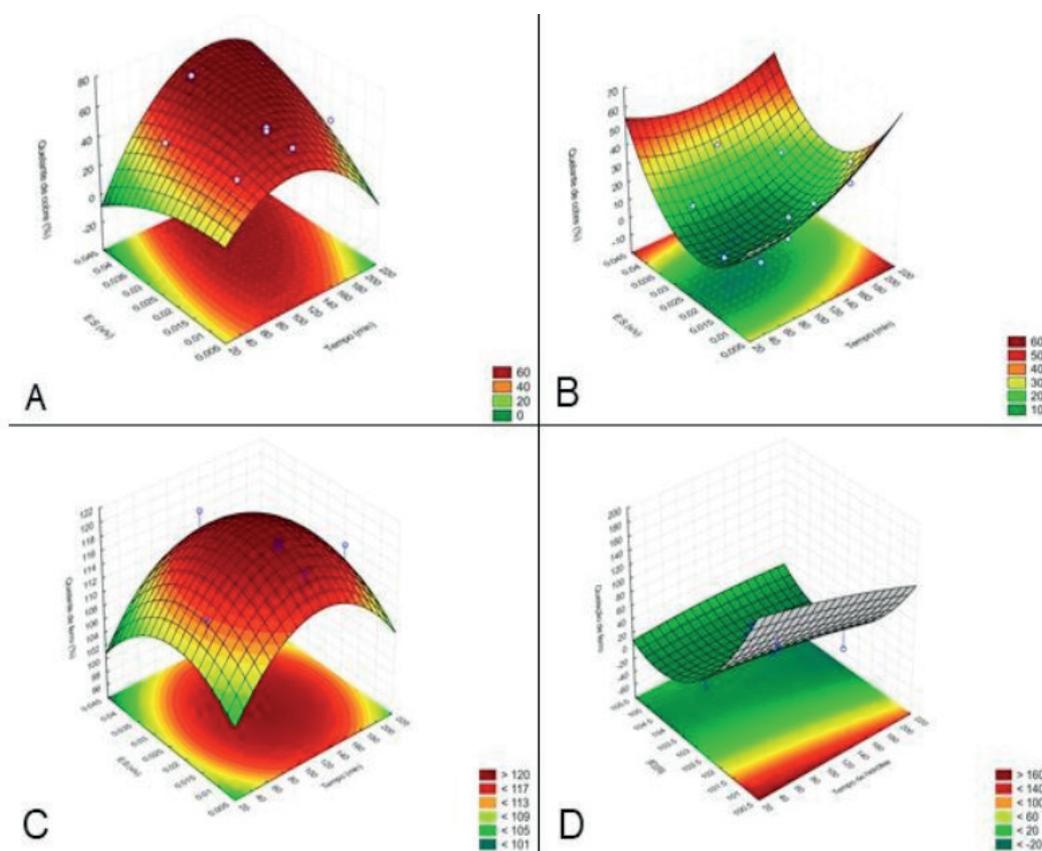
Tratamento	Quelação de íons de cobre (%)		Quelação de íons de ferro (%)	
	Tripsina	Pepsina	Tripsina	Pepsina
1	7,51 ± 5,27 <sup>ab</sup>	50,83 ± 4,70 <sup>ab</sup>	71,70 ± 6,02 <sup>ab</sup>	62,74 ± 8,70 <sup>a</sup>
2	12,26 ± 5,27 <sup>ab</sup>	43,04 ± 4,70 <sup>ab</sup>	83,38 ± 6,02 <sup>ab</sup>	60,17 ± 8,70 <sup>a</sup>
3	27,28 ± 5,27 <sup>ab</sup>	28,73 ± 4,70 <sup>a</sup>	61,30 ± 6,02 <sup>a</sup>	65,73 ± 8,70 <sup>a</sup>
4	19,95 ± 5,27 <sup>ab</sup>	63,02 ± 4,70 <sup>b</sup>	82,84 ± 6,02 <sup>ab</sup>	51,60 ± 8,70 <sup>a</sup>
5	8,38 ± 5,27 <sup>ab</sup>	28,48 ± 4,70 <sup>a</sup>	73,20 ± 6,02 <sup>ab</sup>	38,93 ± 8,70 <sup>a</sup>
6	28,63 ± 5,27 <sup>b</sup>	47,83 ± 4,70 <sup>ab</sup>	94,38 ± 6,02 <sup>b</sup>	43,17 ± 8,70 <sup>a</sup>
7	30,18 ± 5,27 <sup>b</sup>	60,17 ± 4,70 <sup>b</sup>	81,81 ± 6,02 <sup>ab</sup>	47,70 ± 8,70 <sup>a</sup>
8	27,96 ± 5,27 <sup>ab</sup>	65,52 ± 4,70 <sup>b</sup>	82,95 ± 6,02 <sup>ab</sup>	45,46 ± 8,70 <sup>a</sup>
9	13,90 ± 5,27 <sup>ab</sup>	62,67 ± 4,70 <sup>b</sup>	71,00 ± 6,02 <sup>ab</sup>	48,34 ± 8,70 <sup>a</sup>
10	1,70 ± 5,27 <sup>a</sup>	60,02 ± 4,70 <sup>b</sup>	71,84 ± 6,02 <sup>ab</sup>	53,59 ± 8,70 <sup>a</sup>
Média	17,77 ± 5,27	51,03 ± 4,70	77,44 ± 6,02	51,74 ± 8,70
CV 1 (%)	15,96	51,34	29,13	13,46
CV 2 (%)	33,15	68,61	14,12	3,38

Os resultados representam a média das triplicatas e seu respectivo desvio padrão. Médias indicadas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de significância de 5%. CV 1: coeficiente de variação dos ensaios. CV 2: coeficiente de variação das enzimas.

Tabela 2. Atividade quelante de íons de cobre e ferro dos hidrolisados das vísceras bovinas obtidos por hidrólise enzimática.

De acordo com Saiga et al. (2003) a capacidade de se ligar à íons metálicos ( $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$ ) dos peptídeos, assim como das proteínas, baseia-se na presença de aminoácidos de caráter ácido (grupamento carboxila em sua cadeia ramificada) e básico (grupamento amino em sua cadeia ramificada) na sua estrutura. Os resultados sobre a atividade de quelação de  $\text{Cu}^{2+}$  pelos hidrolisados de vísceras bovinas corroboram os de Liu *et al.* (2010) que identificaram uma expressiva capacidade quelante de  $\text{Cu}^{2+}$  pelos hidrolisados de proteínas do plasma suíno obtidos pela hidrólise da alcalase, onde a atividade quelante aumenta de acordo com o grau de hidrólise, oscilando de 24,23% de quelação com 6,2% de hidrólise para 44,45% com 17,6% de hidrólise, justificado pela maior liberação de peptídeos com aminoácidos básicos e ácidos.

Na figura 2A é possível observar a superfície resposta para quelação de cobre pela associação do tempo de hidrólise da pepsina sobre as vísceras e a relação enzima:substrato, que demonstra a alta eficiência desta enzima na obtenção de hidrolisados com capacidade quelante de cobre. Por conseguinte, a figura 2B possui a relação entre o tempo de hidrólise da tripsina e a proporção enzima:substrato na obtenção de hidrolisados com capacidade de quelar íons de cobre, revelando um menor potencial biotecnológico desta enzima para a geração de hidrolisados queladores deste íon a partir de vísceras bovinas.



A. Quelação de cobre pelos hidrolisados da pepsina; B. quelação de cobre pelos hidrolisados da tripsina; C. quelação de ferro pelos hidrolisados da pepsina; D. quelação de ferro pelos hidrolisados da tripsina.

Figura 2. Superfície de resposta da relação entre o tempo de hidrólise e proporção enzima:substrato (E:S) para a quelação de íons metálicos pelos hidrolisados oriundos da ação da enzimática de acordo com o planejamento composto central rotacionado 2<sup>2</sup>.

Quanto a atividade de quelação de íons de ferro, os hidrolisados obtidos pela ação das duas enzimas gastrointestinais (pepsina e tripsina) sobre as vísceras bovinas demonstraram apreciáveis porcentagens de quelação desse íon (Tabela 3). A média de quelação de ferro pelos hidrolisados da tripsina foi de 77,44%, sendo observada diferença significativa apenas entre o tratamento 3 (180 minutos de hidrólise e relação de enzima:substrato de 1:90), com a menor capacidade quelante de 61,30% , e o tratamento 6 (205 minutos de hidrólise e relação de enzima:substrato de 1:60), que apresentou maior atividade quelante de ferro de 94,38%. Por sua vez, os hidrolisados da pepsina apresentaram média de 51,74% de quelação de íons ferrosos, não sendo verificada diferença estatisticamente relevante entre os tratamentos. Desta forma, como os hidrolisados da pepsina não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos para a atividade de quelação de ferro, o tratamento que apresenta melhor custo benefício é o 2 (60 minutos de hidrólise e relação enzima:substrato de 1:30) já que possui uma pequena relação enzima:substrato associado a um menor tempo de hidrólise.

Esses dados corroboram a pesquisa de Yi et al. (2017) no qual a partir da hidrólise enzimática da pele de carpa-do-limo (*Ctenopharyngodon idella*) encontraram uma capacidade que quelação de ferro de 40% e 60% para os hidrolisados obtidos pela ação associada de colagenase e tripsina por 20,4 horas e 21,9 horas, respectivamente, e de 95% para os hidrolisados gerados pela alcalase® por 1,6 horas. De forma menos expressiva quanto a quelação de ferro, WU et al. (2017) através da hidrólise enzimática da gelatina de bacalhau do Pacífico, identificaram uma capacidade de quelação deste íon de 12%, 6% e 9% para os hidrolisados obtidos da proteólise da tripsina, alcalase e flavoenzima, respectivamente, por 120 minutos em condições ótimas para cada enzima. Outros autores como Jamdar et al. (2010) e Thiansilakul et al. (2007) identificaram alta capacidade de quelação de Fe<sup>2+</sup> em hidrolisados de proteínas do amendoim obtidos pela atividade da alcalase e hidrolisados de proteínas musculares de peixes (*Decapterus m. urussii*), respectivamente.

A figura 2C contém a superfície resposta para a quelação de ferro pela associação do tempo de hidrólise da pepsina sobre as vísceras bovinas com a proporção enzima:substrato de acordo com o planejamento composto central rotacionado 2<sup>2</sup>, onde é possível visualizar que os hidrolisados com maior capacidade quelante para esse íon são aqueles obtidos por uma combinação de relação [E]:[S] entre 0,015 a 0,035 com tempo de hidrólise entre 80 a 160 minutos. Já em relação aos hidrolisados da tripsina (Figura 2D), é possível observar que a maior capacidade quelante de ferro ocorre por hidrolisado obtidos por uma junção de baixa relação [E]:[S] (100.5 a 101.5) e tempos de hidrólise reduzidos (20 a 80 minutos), o que revela um baixo custo-

benefício para obtenção de bioprodutos com ação antioxidante de quelação de ferro pelo emprego da tripsina sobre as vísceras bovinas.

Analisando a capacidade dos hidrolisados em eliminar os radicais hidroxila e superóxido *in vitro* (Tabela 4), foi constatado que esses bioprodutos obtidos da hidrólise enzimática de vísceras bovinas empregando diferentes relações enzima:substrato e tempos de exposição às enzimas apresentam alta capacidade de eliminação do radical hidroxila, em todas as condições aplicadas (exceto no tratamento 5 da tripsina no qual foi empregado 35 minutos de hidrólise e uma relação enzima:substrato de 1:60), obtendo uma média de eliminação de 100% para os hidrolisados da tripsina e de 95,95% para os hidrolisados da pepsina, não apresentando diferença estatisticamente relevante ( $p < 0,05$ ) entre as enzimas. Apesar de uma menor taxa de eliminação do radical superóxido quando comparados ao radical hidroxila, os hidrolisados se mostraram eficientes na eliminação desse radical livre, sendo observado uma média de eliminação de 81,02% para os hidrolisados da tripsina e de 65,43% para os bioprodutos gerados pela ação da pepsina.

Tratamento	Eliminação do radical hidroxila (%)		Eliminação do radical superóxido (%)	
	Tripsina	Pepsina	Tripsina	Pepsina
1	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	84,9 ± 4,04	61,73 ± 14,92
2	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	78,92 ± 1,61	65,51 ± 6,77
3	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	78,18 ± 2,63	62,63 ± 2,70
4	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	76,98 ± 1,37	43,64 ± 10,29
5	59,5 ± 10,15	100,0 ± 0,00	72,94 ± 2,02	78,62 ± 11,64
6	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	79,67 ± 3,76	70,25 ± 11,35
7	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	84,15 ± 2,02	49,48 ± 27,06
8	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	81,76 ± 1,12	76,83 ± 22,99
9	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	87,59 ± 2,07	75,93 ± 15,98
10	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00	85,05 ± 0,52	65,62 ± 16,07
Média	95,95 ± 12,80	100,0 ± 0,00	81,02 ± 4,48	65,43 ± 11,57

Os resultados representam a média das triplicatas e seu respectivo desvio padrão.

Tabela 3. Atividade de eliminação de radicais livres *in vitro* pelos hidrolisados das vísceras bovinas obtidos por hidrólise enzimática.

A figura 3A contém o gráfico de superfície resposta para a eliminação do radical superóxido pelos hidrolisados da tripsina, onde é possível visualizar que os hidrolisados com maior capacidade de eliminação para esse radical são aqueles obtidos pelos ensaios com alta relação enzima:substrato, não sendo relevante o tempo de hidrólise.

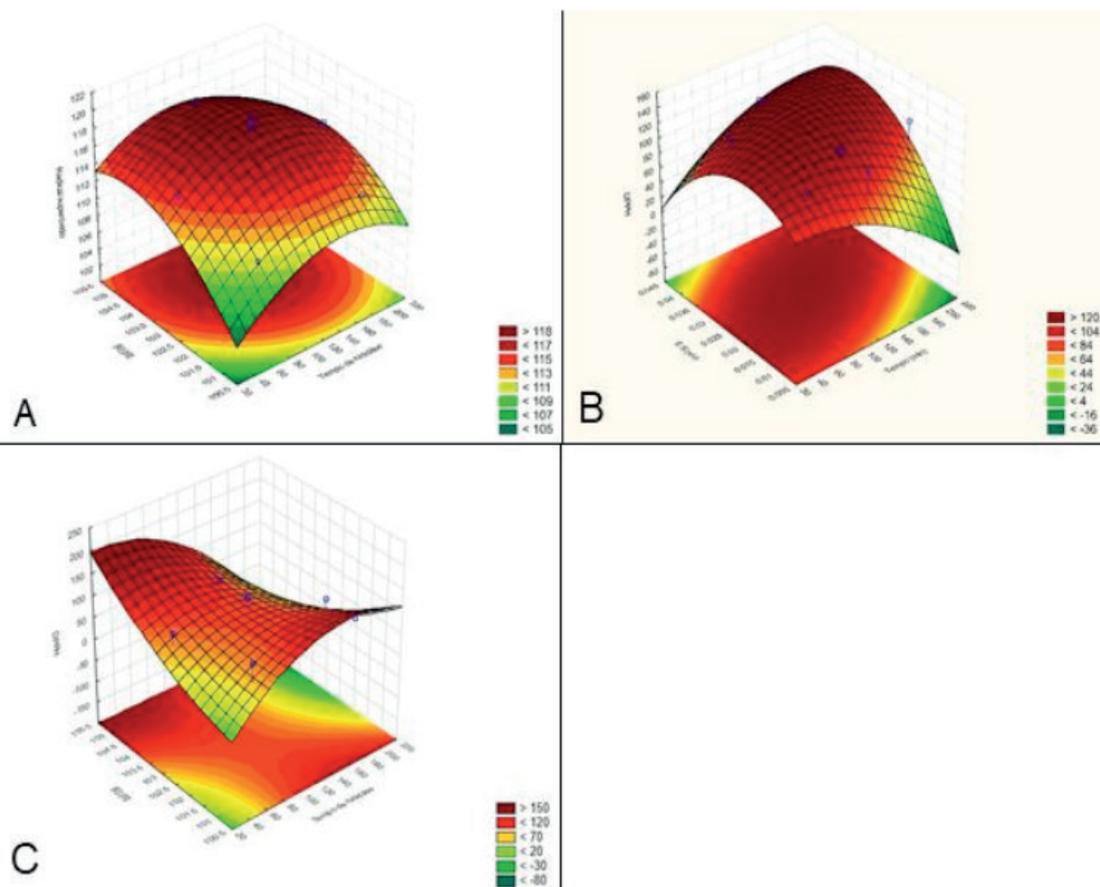


Figura 3. Superfície de resposta da relação entre o tempo de hidrólise e proporção enzima:substrato (E:S) para a atividade de eliminação dos radicais livres pelos hidrolisados oriundos da ação da enzimática de acordo com o planejamento composto central rotacionado  $2^2$ .

A. eliminação do radical superóxido pelos hidrolisados oriundos da ação tripsina; B. eliminação do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) pelos hidrolisados oriundos da ação da pepsina; C. eliminação do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) pelos hidrolisados oriundos da ação da tripsina.

Outrossim, os dados das taxas de eliminação dos radicais DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) e ABTS+• (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) estão listados na tabela 5. Foi constatado que os hidrolisados da pepsina possuem maior capacidade de eliminação do radical DPPH em comparação com os da tripsina, sendo uma média de eliminação de 78,68% e 68,74%, respectivamente. Apenas os tratamentos 2 (60 minutos de hidrólise e relação [E]:[S] de 1:30) e 6 (205 minutos de hidrólise e relação [E]:[S] de 1:60) da tripsina e o tratamento 3 (180 minutos de hidrólise e relação [E]:[S] de 1:80) da pepsina não apresentaram poder de eliminação para esse radical. Por outro lado, os bioprodutos gerados pela ação da tripsina demonstraram maior eficiência de eliminação do radical ABTS (97,88% de eliminação) em comparação aos hidrolisados da pepsina (94,51% de eliminação). Sendo que os tratamentos 3, 7, 8, 9 e 10 da tripsina apresentaram máximo poder de eliminação do radical ABTS *in vitro*.

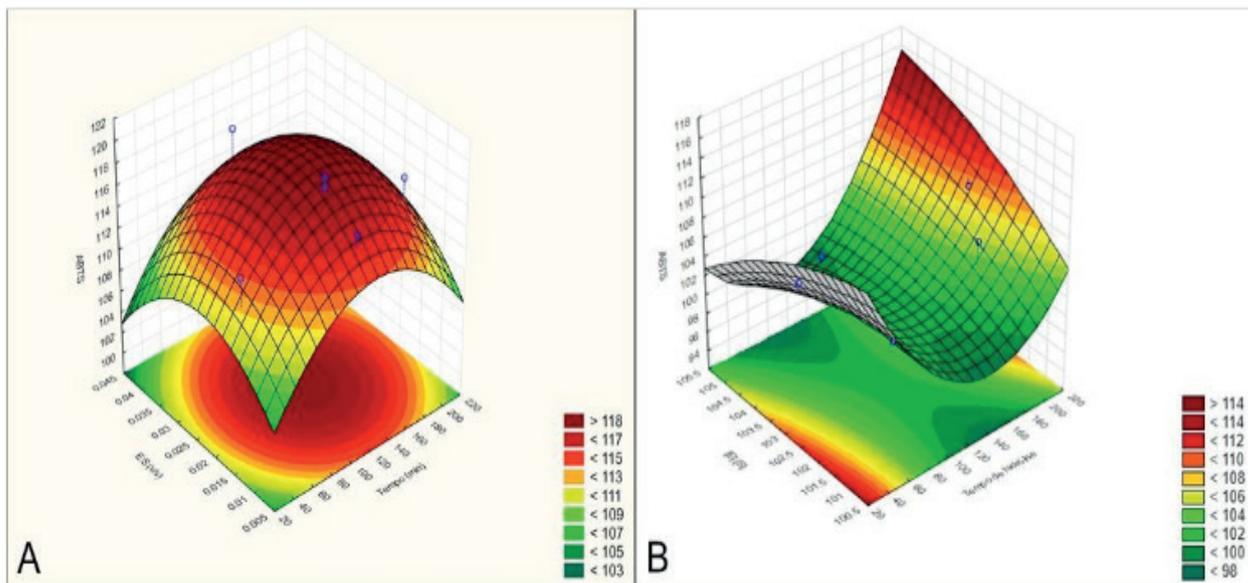
Tratamento	Eliminação do radical DPPH (%)		Eliminação do radical ABTS (%)	
	Tripsina	Pepsina	Tripsina	Pepsina
1	38,51 ± 7,83	78,98 ± 33,49	96,75 ± 0,77	95,65 ± 0,24
2	0,00 ± 0,00	22,83 ± 9,37	96,75 ± 0,97	93,63 ± 2,81
3	100,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	90,52 ± 0,26
4	100,00 ± 0,00	56,25 ± 6,55	99,32 ± 0,06	92,30 ± 0,10
5	84,07 ± 7,63	80,12 ± 7,82	87,06 ± 4,17	98,39 ± 0,30
6	0,00 ± 0,00	76,49 ± 9,04	98,97 ± 0,18	93,36 ± 0,06
7	96,11 ± 27,69	76,60 ± 7,30	100,00 ± 0,00	97,60 ± 0,26
8	89,05 ± 12,72	73,27 ± 5,98	100,00 ± 0,00	92,37 ± 0,76
9	94,55 ± 27,10	68,71 ± 6,98	100,00 ± 0,00	95,38 ± 0,62
10	85,11 ± 32,78	70,26 ± 6,47	100,00 ± 0,00	95,86 ± 0,93
Média	68,74 ± 40,34	78,98 ± 33,43	97,88 ± 4,02	94,51 ± 2,50

Os resultados representam a média das triplicatas e seu respectivo desvio padrão.

Tabela 4. Atividade de eliminação de radicais livres pelos hidrolisados das vísceras bovinas obtidos por hidrólise enzimática.

Os gráfico de superfície resposta para a eliminação do radical DPPH pelos hidrolisados da pepsina e tripsina de acordo com o planejamento composto central rotacionado 2<sup>2</sup> (Figuras 3B e 3C, respectivamente), demonstram que os hidrolisados da pepsina que associam elevada relação [E]:[S] com prolongado tempo de hidrólise e baixa relação [E]:[S] com tempo de hidrólise reduzido, apresentam menor capacidade de eliminação desse radical. Em contrapartida, os hidrolisado da tripsina que apresentam associações de menor relação [E]:[S] com tempo de hidrólise reduzido e elevada relação [E]:[S] com tempo de hidrólise aumentado são os que demonstraram menor eficiência como agentes antioxidantes para a eliminação do radical DPPH.

As figuras 4A e 4B contêm a superfície resposta da ação antioxidante de eliminação do radical ABTS dos hidrolisados da pepsina e tripsina, por essa ordem. É possível atestar que os hidrolisados da pepsina que apresentam maior capacidade antioxidante para esse radical são aqueles obtidos pelos ensaios do planejamento composto central rotacionado 2<sup>2</sup> que associam relações enzima:substrato medianas (0,015 a 0,030) com tempos de hidrólise entre 80 e 160 minutos. Já para os hidrolisados da tripsina, aqueles gerados pela associação de altas relações enzima:substrato com duradouros tempos de hidrólise (180 a 220 minutos) apresentam maior poder de eliminação do radical ABTS.



A. hidrolisados da pepsina; B. Hidrolisados da tripsina.

Figura 4. Superfície de resposta da relação entre o tempo de hidrólise e proporção enzima:substrato (E:S) para a atividade de eliminação do radical ABTS pelos hidrolisados oriundos da ação enzimática de acordo com o planejamento composto central rotacionado  $2^2$ .

#### 4 | CONCLUSÕES

Com os resultados da pesquisa é possível constatar o potencial biotecnológico dos hidrolisados das vísceras bovinas (coração, fígado e pulmão), sendo uma fonte de peptídeos bioativos com atividade antioxidante de quelação de íons metálicos (ferro e cobre) e de eliminação de radicais livres (hidroxila, superóxido, DPPH e ABTS) *in vitro*. A utilização das enzimas comerciais pepsina e tripsina se mostra eficaz na obtenção de peptídeos com capacidade antioxidante a partir de materiais de descarte em abatedouros (vísceras bovinas) e as relações enzima:substrato utilizadas no planejamento composto central rotacionado  $2^2$  se mostram igualmente efetivas na liberação por hidrólise destes bioprodutos, apresentando uma favorável relação custo-benefício. Os hidrolisados da pepsina, apesar de apresentarem um menor grau de hidrólise se comparados aos da tripsina, apresentam maior atividade antioxidante de quelação de cobre e eliminação do radical DPPH. Por sua vez, os hidrolisados obtidos da ação proteolítica da tripsina, que se mostra a enzima mais eficaz na hidrólise das vísceras, revelam um maior poder de quelação de íons de ferro e eliminação dos radicais superóxido e ABTS. No que concerne a eliminação do radical hidroxila, os hidrolisados de ambas as enzimas apresentam boa eficiência antioxidante para essa atividade. Desta forma, o hidrolisados de vísceras bovinas demonstram potencial biotecnológico de se tornarem agentes antioxidantes de uso comercial passíveis de serem utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica e química.

## REFERÊNCIAS

- BENJAKUL, S.; MORRISSEY, M.T. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, n.9, p.3423-3430, 1997.
- CARTER, P. Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). **Analytical biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 450-458, 1971.
- CHABANCE, B.; MARTEAU, P.; RAMBAUD, J. C.; MIGLIORE-SAMOUR, D.; BOYNARD, M.; PERROTIN, P.; FIAT, A. M. Casein peptide release and passage to the blood in humans during digestion of milk or yogurt. **Biochimie**, v.80, n.2, p.155-165, 1998.
- CHANG, O. K.; SEOL, K. H.; JEONG, S. G.; OH, M. H.; PARK, B. Y.; PERRIN, C.; HAM, J. S. Casein hydrolysis by *Bifidobacterium longum* KACC91563 and antioxidant activities of peptides derived therefrom. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 9, p. 5544-5555, 2013.
- COSTA, W. K. A.; DE SOUZA, E. L.; BELTRAO-FILHO, E. M.; VASCONCELOS, G. K. V.; SANTI-GADELHA, T.; GADELHA, C. A.; MAGNANI, M. Comparative protein composition analysis of goat milk produced by the Alpine and Saanen breeds in northeastern Brazil and related antibacterial activities. **PloS One**, v.9, n.3, p.e93361-e93361, 2014.
- DOBENECKER, B.; REESE, S.; JAHN, W.; SCHUNCK, M.; HUGENBERG, J.; LOULTON, H.; OESSER, S. Specific bioactive collagen peptides (PETAGILE®) as supplement for horses with osteoarthritis: A two-centred study. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.102, p.16-23, 2018.
- ESTERBAUER, H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.57, n.5, p.779S-786S, 1993.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia [online]**, v.38, n.2, p.109-112, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>.
- GIMÉNEZ, B.; ALEMÁN, A.; MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. Antioxidant and functional properties of gelatin hydrolysates obtained from skin of sole and squid. **Food Chemistry**, v.114, n.3, p.976-983, 2009.
- GU, M.; CHEN, H.; ZHAO, M.; WANG, X.; YANG, B.; REN, Y.; SU, G. Identification of antioxidant peptides released from defatted walnut (*Juglans sigillata* Dode) meal proteins with pancreatin. **LWT - Food Science and Technology**, v.60, n.1, p.213 -220, 2015.
- JAMDAR, S. N.; RAJALAKSHMI, V.; PEDNEKAR, M. D.; JUAN, F.; YARDI, V.; SHARMA, A. Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. **Food Chemistry**, v.121, n.1, p.178-184, 2010.
- LI, Y.; JIANG, B.; ZHANG, T.; MU, W.; LIU, J. Antioxidant and free radical-scavenging activities of chickpea protein hydrolysate (CPH). **Food Chemistry**, v. 106, n. 2, p. 444-450, 2008.
- LIU, J.; JIN, Y.; LIN, S.; JONES, G.S.; CHEN, F. Purification and identification of novel antioxidant peptides from egg white protein and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, v.175, p.258-266, 2015.
- LIU, Q.; KONG, B.; XIONG, Y. L.; XIA, X. Antioxidant activity and functional properties of porcine plasma protein hydrolysate as influenced by the degree of hydrolysis. **Food Chemistry**, v.118, n.2, p.403-410, 2010.
- LORENZO, J. M.; MUNEKATA, P. E.; GOMEZ, B.; BARBA, F. J.; MORA, L.; PÉREZ-SANTAESCOLÁSTICA, C.; TOLDRÁ, F. Bioactive peptides as natural antioxidants in food products - A

review. **Trends in Food Science & Technology**, v.79, p.136-147, 2018.

MARQUES, M.R.; FREITAS, R.A.M.S.; CARLOS, A.C.C.; SIGUEMOTO, E.S.; FANTNORI, G.G.; ARÊAS, J.A.G. Peptides from cowpea present antioxidant activity, inhibit cholesterol synthesis and its solubilisation into micelles. **Food Chemistry**, v.168, p.288-293, 2015.

MOHANTY, D.P.; MOHAPATRA, S.; MISRA, S.; SAHU, P.S. Milk derived bioactive peptides and their impact on human health - a review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.23, n.5, p.577-583, 2016.

MORALES-MEDINA, R.; TAMM, F.; GUADIX, A. M.; GUADIX, E. M.; DRUSCH, S. Functional and antioxidant properties of hydrolysates of sardine (*S. pilchardus*) and horse mackerel (*T. mediterraneus*) for the microencapsulation of fish oil by spray drying. **Food Chemistry**, v.194, p.1208-1216, 2016.

POWNALL, T. L.; UDENIGWE, C. C.; ALUKO, R. E. Amino acid composition and antioxidant properties of pea seed (*Pisum sativum L.*) enzymatic protein hydrolysate fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 4712-4718, 2010.

RAIKOS, V.; DASSIOS, T. Health-promoting properties of bioactive peptides derived from milk proteins in infant food: a review. **Dairy Science e Technology**, v.94, n.2, p.91-101, 2014.

RAMÍREZ, J. A.; MORA, M. G.; VÁQUIRO, H. A.; SOLANILLA, J. F. Hidrólisis enzimática de vísceras de pescado utilizando pepsina y pancreatina. **Agronomía Colombiana**. v.34, n.1, p.S1013-S1015, 2016.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

RYAN, J.T.; ROSS, R.P.; BOLTON, D.; FITZGERALD, G.F.; STANTON, C. Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish. **Nutrients**, v.3, n.9, p.765-791, 2011.

SAIGA, A. I.; TANABE, S.; NISHIMURA, T. Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.12, p.3661-3667, 2003.

SÁNCHEZ-VIOQUE, R.; RODRÍGUEZ-CONDE, M. F.; REINA-UREÑA, J. V.; ESCOLANO-TERCERO, M. A.; HERRAIZ-PENÁLVER, D.; SANTANA-MÉRIDAS, O. In vitro antioxidant and metal chelating properties of corm, tepal and leaf from saffron (*Crocus sativus L.*). **Industrial Crops and Products**, v.39, p.149-153, 2012.

THIANSILAKUL, Y.; BENJAKUL, S.; SHAHIDI, F. Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). **Food Chemistry**, v. 103, n. 4, p. 1385-1394, 2007.

WU, W.; LI, B.; HOU, H.; ZHANG, H.; ZHAO, X. Identification of iron-chelating peptides from Pacific cod skin gelatin and the possible binding mode. **Journal of Functional Foods**, v. 35, p. 418-427, 2017.

YEN, G. and CHEN, H. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their anti-mutagenicity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 1, p. 27-32, 1995.

YI, J.; DE GOBBA, C.; SKIBSTED, L. H.; OTTE, J. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activity of bioactive peptides produced by enzymatic hydrolysis of skin from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 5, p. 1129-1144, 2017.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Anatomia 95, 97, 101, 110  
Anemia hemolítica 47, 49  
Antropozoonose 82, 83  
Arboviroses 70, 71, 80  
Azadiractina 35, 37, 38, 42, 44

### B

*Babesia canis* 47, 49, 50, 51, 52  
Bem-estar animal 13, 18  
Bioinseticida 35, 43  
Bioprodutos 20, 21, 25, 29, 30, 32  
Bovinos 10, 19, 20

### C

Calazar 82, 83  
Canino 82, 83, 104, 105, 109  
Controle alternativo 35, 37

### D

Doença sistêmica 82

### E

Epidemiologia 58, 61, 62, 65, 70  
Equídeos 13, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 67, 68, 88, 90

### G

Gado de leite 1, 3

### H

Hidrólise 19, 20, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32  
Homeopatia 1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 11

### I

Insetos 35, 37, 38, 42, 43, 45, 82, 83

## M

Mastite bovina 1, 3, 10, 11

Medula espinal 95, 97, 98, 100

Modulação imune 1

Mormo 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 65, 66, 67, 68

## N

Neoplasia 104, 105, 108

## P

Peptídeos 19, 20, 21, 27, 32

Primatas 69, 70, 71

## R

Reprodução 37, 59, 103, 104, 109, 110

*Rhipicephalus sanguineus* 47

## S

Sertolioma 103, 104, 105, 108, 109

Sistema nervoso 85, 95

## T

Testículos 103, 104, 105, 106, 107, 108

## V

Vértebra 95, 98, 99, 100, 101

Vísceras 19, 20, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 29, 31, 32, 34, 72, 76

## Z

Zoonoses 44, 70, 71, 110

 **Atena**  
Editora

**2 0 2 0**