

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIENCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Letícia Lopes da Costa

ADIÇÃO DE ÁCIDO FÍTICO NA DIETA DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

Santa Maria, RS
2018

Letícia Lopes da Costa

ADIÇÃO DE ÁCIDO FÍTICO NA DIETA DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Zootecnia.**

Orientadora: Prof^a Dr^a. Leila Picolli da Silva

Santa Maria, RS
2018

Costa, Leticia Lopes
ADIÇÃO DE ÁCIDO FÍTICO NA DIETA DE JUNDIÁ (Rhamdia
quelen) / Leticia Lopes Costa.- 2018.
60 p.; 30 cm

Orientadora: Leila Picolli da Silva
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Zootecnia, RS, 2018

1. Peixe 2. Ácido fítico 3. Aditivo 4. Antioxidante 5.
Rhamdia quelen I. Picolli da Silva, Leila II. Título.

Letícia Lopes da Costa

ADIÇÃO DE ÁCIDO FÍTICO NA DIETA DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Zootecnia.**

Aprovado em 10 de agosto de 2018:

Leila Picolli da Silva, Dr^a. (UFSM)
(Presidente/ Orientadora)

Vânia Lúcia Loro, Dr^a.(UFSM)

Cátia Aline Veiverberg, Dr^a. (UNIPAMPA)

Santa Maria, RS
2018

DEDICATÓRIA

À minha família, meu esposo Elisandro por ser meu companheiro em todas as situações e o meu filho Mathias que tem me mostrado que nunca vai ser um entrave para perseguir os meus sonhos, mas sim um motivo para nunca desistir.

AGRADECIMENTOS

Iniciar agradecendo a Deus parece clichê, mas não tem como ser diferente, pois ele tem sido meu refúgio e minha fortaleza. Esse trabalho está se concretizando graças ao auxílio de muitas pessoas, agradeço a cada uma que de uma maneira ou de outra contribuiu para a conclusão deste estudo.

Agradeço a minha orientadora Leila Picolli da Silva pela oportunidade e confiança em mim prestada, por ser mais que uma profissional, por ser humana e compreender os momentos difíceis que passei durante esse período. E também a professora Naglesi pelo apoio e amizade.

O meu esposo Elisandro que me ajudou, tanto psicologicamente, quanto cuidando do nosso filho para que eu pudesse estudar.

Ao meu filho Mathias que mesmo sendo muito pequeno já é o meu amor maior e minha vida.

À minha mãe Claudete, minha irmã Larissa e minha sogra Rita por ajudarem a cuidar do meu filho quando precisei, pela preocupação e apoio em todos os momentos.

Aos colegas de laboratório Joziane, Thais, Shelen, Ademir, Sharine, Thaise, Marina, Yuri, Saymon, Silvandro, Bruno, Taida, Patrícia, Dirleise, Vagner, Carol e Ana Betine que sem duvida foram essencias para a conclusão deste estudo.

À professora Vânia e todos os colegas do Laboratório de Bioquímica, principalmente a Jossiele e a Aline do Amaral pela ajuda nas análises e elaboração dos artigos.

À professora Cátia pela disponibilidade em ajudar, sempre muito atenciosa e prestativa.

À CAPES pela bolsa de estudo concedida.

À empresa Ingal alimentos de Santa Maria-RS pela doação do composto de ácido fítico proveniente do beneficiamento do arroz.

Enfim, a todos aqueles que me deram suporte para não desistir da caminhada em busca dos meus sonhos.

RESUMO

ADIÇÃO DE ÁCIDO FÍTICO NA DIETA DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

AUTORA: Leticia Lopes da Costa
ORIENTADORA: Leila Picolli da Silva

Este trabalho apresenta um estudo sobre a ação do ácido fítico no desempenho produtivo, metabolismo e atividade antioxidante de jundiá (*Rhamdia quelen*). Trezentos juvenis de jundiá com média de $7 \pm 2,30$ g foram distribuídos aleatoriamente em 20 tanques de polietileno de 70L (15 peixes por tanque) em sistema de recirculação de água, e foram alimentados durante 50 dias. Foram formuladas cinco dietas, sendo quatro com diferentes níveis de ácido fítico (0,5%AF, 1,0%AF, 1,5%AF ou 2,0%AF) e uma dieta controle, ou seja, sem adição de ácido fítico (0%AF). Para cada tratamento foram utilizadas quatro repetições. Os animais foram alimentados três vezes ao dia até a saciedade aparente. Ao final do período experimental foram avaliadas: variáveis de crescimento (ganho de peso final, ganho de peso relativo, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica e conversão alimentar aparente) e parâmetros de carcaça (rendimento de carcaça, quociente intestinal, índice digestivo-somático, hepato-somático e de gordura visceral). Além disso, foram determinados parâmetros metabólicos (albumina, aminoácidos, proteínas totais, triglicerídeos, colesterol, glicose) e hepáticos (proteína, glicogênio, glicose e amônia). Também foram aferidas as atividades das enzimas tripsina, quimiotripsina, lipase intestinal e protease ácida. No peixe inteiro foi analisada a composição centesimal (matéria seca, matéria mineral, proteína bruta e gordura). A ação do ácido fítico como pró-oxidante foi testada com as análises de proteína carbonil e glutatona redutase, além da atividade das enzimas superóxido dismutase, catalase, glutatona peroxidase e glutatona S-transferase. Os peixes que receberam 0,5%AF tiveram o índice de gordura visceral e glicogênio hepático diminuídos. A dieta com de 2,0% de AF resultou em menor atividade da enzima protease ácida. A adição de 1,5%AF aumentou os teores de proteína, e qualquer nível de ácido fítico na dieta diminuiu a concentração de gordura na composição do peixe inteiro. Os peixes que foram alimentados com 0,5% e 1,0% AF tiveram menor formação de proteína carbonil no fígado e nas brânquias. Os animais que receberam 0,5% de ácido fítico na dieta tiveram maiores níveis de GSH no fígado e nas brânquias, assim como maiores atividades das enzimas GST e GPX (no tecido hepático). As atividades de SOD e CAT no fígado foram maiores nos peixes que receberam 0,5% e 1,0% AF. Com este estudo foi possível concluir que a presença de baixas concentrações de ácido fítico na dieta do jundiá contribui para melhor a qualidade do pescado e como moderador oxidativo.

Palavras-chave: Peixe. Nutrição animal. Aditivo. Moderador oxidativo. mioinositol 6-fosfato

ABSTRACT

ADDITION OF PHYTIC ACID IN SILVER CATFISH (*Rhamdia quelen*) DIET

AUTHOR: Letícia Lopes da Costa

ADVISER: Leila Picolli da Silva

This work presents a study on the action of phytic acid in performance, metabolism and antioxidant activity of jundiá (*Rhamdia quelen*). Thirteen juveniles of jundiá averaging 7 ± 2.30 g were randomly distributed in 20 polyethylene tanks of 70L (15 fish per tank) in a water recirculation system, and were fed for 50 days. Five diets were formulated, four with different levels of phytic acid (0.5% PA, 1.0% PA, 1.5% PA or 2.0% PA) and a control diet, that is, without the addition of phytic acid (0% PA). Four replicates were used for each set. The animals were fed three times daily to an apparent satiation. At the end of the experimental period, growth variables (final weight gain, specific growth rate, protein ratio and redundant food production) and carcass parameters (carcass yield, intestinal quotient, digestive index) were evaluated. hepatic-somatic and visceral fat). In addition, metabolic parameters (albumin, amino acids, total proteins, triglycerides, cholesterol, glucose) and hepatic parameters (protein, glycogen, glucose and ammonia) were selected. Also tested as activities of the enzymes trypsin, chymotrypsin, intestinal lipase and acid protease. No whole fish was analyzed at a centesimal (dry matter, mineral matter, crude protein and fat). The action of phytic acid as a pro-oxidant was tested with carbonyl and glutathione reductase proteins, in addition to the activity of the enzymes superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase. Genes that received 0.5% AF had the visceral fat index and hepatic glycogen decreased. The 2.0% PA diet promotes the activity of the enzyme protease acid. The 1.5% of PA increased protein levels of any level of phytic acid in the diet, decreased fat concentration in whole fish composition. Fish that were fed 0.5% and 1.0% AF had lower carbonyl protein formation in both the liver and gills. Animals receiving 0.5% phytic acid in the diet had higher levels of GSH in the liver and gills, as well as greater activities of the GST and GPX enzymes (in the hepatic tissue). SOD and CAT activities in the liver were higher in fish receiving 0.5% and 1.0% PA. With this study it was possible to conclude that the presence of low concentrations of phytic acid in the diet of jundiá contributes to the improvement in fish quality and as an oxidative moderator.

Keywords: Fish. Animal nutrition. Additive. Oxidative Moderator. myoinositol 6 phosphate.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I

Tabela 1- Formulação das dietas com níveis crescentes de ácido fóico para alevinos de jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>).....	24
Tabela 2- Parâmetros Zootécnicos em jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>) alimentados com crescentes concentrações de ácido fóico.....	28
Tabela 3- Índices digestivos de jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>) alimentados com níveis crescentes de ácido fóico.....	29
Tabela 4- Parâmetros avaliados no plasma de jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>) alimentados com níveis crescentes de ácido fóico.....	30
Tabela 5- Intermediários metabólicos analisados no fígado de jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>) alimentados com concentrações crescentes de ácido fóico.....	31
Tabela 6- Efeito de níveis crescentes de ácido fóico nas enzimas digestivas de jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>).....	32
Tabela 7- Composição centesimal do peixe inteiro do jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>) alimentados com níveis crescentes de ácido fóico.....	33

ARTIGO II

Tabela 1- Formulação das dietas com níveis crescentes de ácido fóico para alevinos de jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>).....	43
Tabela 2- Efeito da exposição ao ácido fóico sobre o desempenho do jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>).....	46
Tabela 3. Determinação de Proteína Carbonil e GSH no fígado e nas brânquias de jundiás (<i>Rhamdia quelen</i>) expostos a níveis crescentes de ácido fóico na dieta.....	47
Tabela 4. Atividade das enzimas SOD, CAT, GST e GPX no fígado dos jundiás (<i>Rhamdia quelen</i>) alimentados com níveis crescentes de ácido fóico.....	48

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Estrutura química da molécula de ácido fítico.....	15
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF: Ácido fítico

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

CAA: Conversão alimentar aparente

CAT: Catalase

EROs: Espécies reativas do oxigênio

Gord: Gordura

GPR: Ganho de peso relativo

GPX: Glutathione peroxidase

GSH: Glutathione reductase

GST: Glutathione S-transferase

IDS: Índice digestivo-somático

IGV: Índice de gordura visceral

ISH: Índice hepato-somático

Lip. Est.: Lipase no estomago

Lip. Int.: Lipase no intestino

MM: Matéria mineral

MS: Matéria seca

PB: Proteína bruta

Prot.: Protease

QI: Quociente intestinal

Quim. Trip.: Quimiotripsina

SOD: Superóxido dismutases

TCE: Taxa de crescimento específico

TEP: Taxa de eficiência proteica

Trat: Tratamento

Var: Variável

PI: Peso inicial

PF: Peso final

Sob.: Sobrevivência

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	12
1.2	OBJETIVOS	13
1.2.1	Objetivo geral	13
1.2.2	Objetivos específicos	13
2	ESTUDO BIBLIOGRÁFICO	14
2.1	ÁCIDO FÍTICO	14
2.2	ANTIOXIDANTES	15
2.3	JUNDIÁ	17
3	ARTIGO I	19
3.1	INTRODUÇÃO	22
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	23
3.2.1	Formulação das dietas	23
3.2.2	Procedimento experimental	24
3.2.3	Qualidade da água	25
3.2.4	Desempenho e índices zootécnicos	25
3.2.5	Parâmetros sanguíneos	26
3.2.6	Parâmetros hepáticos	26
3.2.7	Atividade das enzimas digestivas	26
3.2.8	Composição centesimal	27
3.2.9	Análise estatística	27
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
3.3.1	Desempenho Zootécnico	27
3.3.2	Parâmetros sanguíneos	29
3.3.4	Parâmetros hepáticos	29
3.3.5	Enzimas digestivas	31
3.3.6	Composição centesimal	33
3.4	CONCLUSÃO	34
3.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
4	ARTIGO II	38
4.1	INTRODUÇÃO	41
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	42
4.2.1	Manejo experimental	42
4.2.2	Dietas experimentais	43
4.2.3	Determinação da composição centesimal	44
4.2.4	Determinação de Proteína Carbonil e GSH	44
4.2.5	Determinação da atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx e GST) ..	45
4.2.6	Análise estatística	46
4.3	RESULTADOS	46
4.3.1	Desempenho e crescimento	46
4.3.2	Indicadores de estresse oxidativo	47
4.4	DISCUSSÃO	48
4.5	CONCLUSÃO	49
4.6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
5	DISCUSSÃO GERAL	53
6	CONCLUSÃO GERAL	54
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil vem crescendo no cenário aquícola, passando de 19º (em 2010) para 14º lugar (em 2014) no *ranking* dos maiores produtores mundiais (FAO, 2016). O país tem potencial para se tornar o maior produtor mundial de produtos piscícolas, mas para alcançar essa posição é preciso superar obstáculos tecnológicos, o que será conseguido com a intensificação em pesquisas que abordem desde as exigências nutricionais de espécies nativas até o desenvolvimento de produtos inovadores para assegurar o bom desempenho e saúde dos animais (BRASIL, 2018; FURUYA, 2010). Neste cenário, os estudos de aditivos alimentares que protejam o metabolismo animal contra o estresse oxidativo são desejáveis com vistas a obter melhorias sobre o sistema imune e sobre o desempenho. É essencial que os novos produtos sejam ambientalmente seguros e economicamente viáveis para uso em grande escala, o que será alcançado se forem usadas matérias primas de baixo custo e processos racionais para sua industrialização.

Na região Sul do Brasil, há abundância de subprodutos e resíduos advindos da cadeia arrozeira, que são normalmente subutilizados quanto ao seu potencial como provedores de nutrientes e moléculas funcionais. Por isso, o aproveitamento do resíduo proveniente do beneficiamento desse grão, que seria descartado, traz ganhos para a indústria além da mitigação ambiental. O processo de polimento do arroz gera o farelo de onde é extraído o ácido fítico. Essa substância é bastante conhecida na nutrição de monogástricos por seu efeito antinutricional e desbalanceamento de minerais, quando presente em quantidade elevada, provoca desequilíbrios metabólicos e alteração no crescimento dos animais (ALI et al., 2010; GALDIOLI et al., 2001). Entretanto, a inclusão do ácido fítico, em pequenas doses, pode proporcionar efeitos positivos como o aumento da atividade antioxidante (CHELH et al., 2006; DOMÍNGUEZ; GÓMEZ; LEÓN, 2002), além de controlar as taxas glicêmicas e lipídicas no sangue (ALI et al., 2010; KUMAR et al., 2010).

Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da inclusão do ácido fítico na dieta sobre parâmetros zootécnicos, metabólicos e potencial antioxidante no jundiá (*Rhamdia quelen*).

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Este trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito de níveis crescentes de ácido fítico sobre parâmetros zootécnicos, metabólico e potencial antioxidante no jundiá (*Rhamdia quelen*).

1.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar os parâmetros zootécnicos e metabólicos dos peixes alimentados com dietas contendo níveis crescentes de ácido fítico;
- Determinar a composição corporal do jundiá alimentado com dietas com adição de ácido fítico.
- Investigar o efeito do ácido fítico adicionado em dieta de jundiás sobre a atividade de enzimas antioxidantes.
- Avaliar a oxidação proteica no fígado e nas brânquias dos jundiás, alimentados com níveis crescentes de ácido fítico.

2 ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

2.1 ÁCIDO FÍTICO

Fitato é a forma química como se apresenta o ácido fítico, componente natural nas sementes da maioria dos vegetais. Para Kumar et al. (2011), a forma utilizada pela planta para armazenamento de fósforo e é encontrado em suas diversas formas isoméricas, sendo o hexafosfato de mio-inositol o mais utilizado para sua representação estrutural na forma livre (Figura 1).

Existem nove isômeros possíveis de inositol, dos quais um é o mio-inositol6 fosfato, que é o mais importante na natureza. O hexafosfato de inositol, dependendo do complexo formado, pode gerar uma variedade de compostos. Os sais de ácido fítico são também denominados fitinas e o fitato representa do mono ao dodeca-ânion do ácido fítico. Entretanto, o ácido fítico e o fitato são usualmente denominados fitatos (MAGA, 1982).

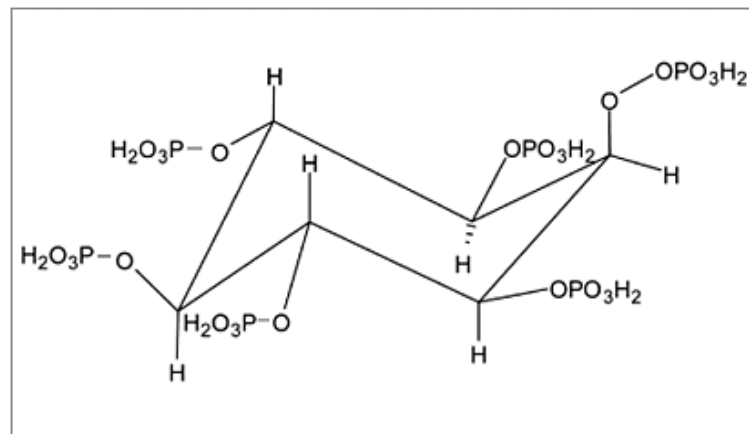
Nutricionalmente, a presença de ácido fítico pode ser desfavorável, pois ocasiona a formação de complexos insolúveis com minerais (cálcio, magnésio, zinco, cobre, ferro e potássio) e proteínas, reduzindo a biodisponibilidade desses nutrientes para animais (LELIS et al., 2010). Assim, quantidades excessivas de fitato na dieta resultam a um efeito negativo no balanço mineral e proteico (BENEVIDES et al., 2011; CÚNEO et al., 2000; FEBLES et al., 2001; KUMAR et al., 2011). Spinelli et al. (1983) concluíram que o crescimento reduzido de trutas arco-íris, alimentadas com dietas contendo fitato ocorreu pela redução na disponibilidade de proteína.

Embora o ácido fítico seja amplamente discutido por sua capacidade de sequestrar íons, diminuindo a absorção dos minerais, este composto também vem sendo estudado por apresentar benefícios, tanto na nutrição de humanos quanto em animais, prevenindo de doenças cardiovasculares, câncer, potencial de reduzir o colesterol e ainda, atuar como antioxidante (LEE et al 2007; GRAF; EATON, 1990; EMPSON e LABUZA, 1991; ALI et al., 2010; KUMAR et al., 2010).

Lee et al. (2005, 2006) e Kumar et al. (2011) afirmam que presença de fitato na dieta, tem efeito terapêutico por controlar os níveis de lipídios e de glicose no sangue, e também diminuir o triacilglicerol hepático, o colesterol total e a digestibilidade de lipídios em ratos. Segundo Sekita et al., (2016) a presença de ácido fítico na dieta modula a microflora intestinal em ratos alimentados com dieta com alta sacarose.

A capacidade antioxidante do ácido fítico ocorre por inibir a oxidação lipídica e proteica, através da auto-oxidação de íons ferrosos para íons férricos formando quelatos férricos (EMPSON e LABUZA, 1991; GRAF e EATON, 1990; KUMAR et al., 2010), que suprime a catálise de íons nas reações oxidativas (ALI et al., 2010; EMPSON e LABUZA, 1991; GRAF e EATON, 1990; KUMAR et al., 2010; MESSINA, 1991). No entanto, pouco se tem estudado, isoladamente, a atuação de baixas concentrações do ácido fítico sobre parâmetros metabólicos e seu papel antioxidante nos peixes. Para a realização desta pesquisa, o ácido fítico foi extraído do resíduo proveniente do processo do polimento grão de arroz.

Figura 1: Estrutura química da molécula de ácido fítico.



Fonte: CARLI et al. (2006)

2.2 ANTIOXIDANTES

Conforme Masella et al. (2005) as reações de oxidação fazem parte do metabolismo normal das células, pois para que ocorra o processo de produção de energia, a presença de oxigênio é necessária. Moléculas de oxigênio são reduzidas à água, entretanto quando ocorre redução incompleta de O₂, são formadas as espécies reativas do oxigênio (EROs), como o ânion superóxido (O⁻₂), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radical hidroxila (OH). Quando o nível de EROs excede a capacidade antioxidante do organismo torna-se prejudicial, por aumentar as peroxidações lipídicas e proteicas, além de diminuir a atividade de enzimas moderadoras do estresse oxidativo.

De acordo com Barbosa et al. (2010), o estresse oxidativo decorre de um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante. A

geração de radicais livres e/ou espécies reativas não radicalares é resultante do metabolismo de oxigênio.

Antioxidantes são substâncias naturais ou artificiais que em pequenas porções, são capazes de retardar as reações de oxidação e/ou a desnaturação proteica (BENZAQUEN, 2009). Estas moléculas antioxidantes são classificadas como: primárias, sinergistas, removedoras de oxigênio, biológicas, agentes quelantes e mistos. No caso dos agentes quelantes, complexam íons metálicos, principalmente cobre e ferro que catalisam a oxidação lipídica e proteica (BENZAQUEN, 2009; ALI et al., 2010).

Para Hamre et al. (2004) e Papas (1999) os antioxidantes naturais (vitaminas C, E e os carotenóides) e seus cofatores (cobre, manganês, zinco, selênio, ferro e a riboflavina), mantêm equilíbrio na produção e controle das EROs. O sistema de defesa antioxidante é dividido em não enzimático e enzimático, e é constituído por grande variedade de substâncias antioxidantes, que podem ter origem endógena ou da dieta (LIVINGSTONE, 2001; GUERRIERO et al., 2002).

Como sistema protetivo não enzimático podemos citar a vitamina C e a Glutathione (GSH). A GSH age protegendo os tecidos de peixes contra danos do estresse oxidativo, neutralizando radicais livres e outros tipos de ROS (LORO et al., 2012). A proteína carbonil, é considerada um marcador biológico em situação de toxicidade dos tecidos e oxidação da proteína. Além da dosagem de proteína carbonil a medida de peroxidação lipídica também pode indicar danos aos tecidos (PARVEZ e RAISUDDIN, 2005; CLASEN et al., 2018).

O sistema antioxidante enzimático inclui várias enzimas tais como superóxido dismutases (SOD), catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx) que catalisam a dismutação do radical superóxido ao peróxido de hidrogênio. A SOD catalisa a transformação de duas moléculas de ânion superóxido até peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular (O₂). A CAT e a GPx reduzem o peróxido de hidrogênio até água e oxigênio molecular (CLASEN et al., 2018).

A glutathione S-transferase (GST), possui a importante tarefa de detoxificar contra os agentes tóxicos, principalmente agindo contra pesticidas e metais. Ela protege contra os danos oxidativos, por associar produtos da oxidação de lipídios como aldeídos e hidroperóxidos à glutathione formando compostos que podem ser eliminados pelo organismo (DRINGEN; 2000; LUSHCHAK, 2011; PISOSCHI e POP, 2015; ATLI et al., 2016).

Os antioxidantes, além de impedir a formação de radicais livres principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre, também são capazes de reparar, *in vivo*, as lesões causadas pelos radicais. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da

molécula de DNA e a reconstituição das membranas danificadas das células (BIANCHI e ANTUNES, 1999). Entre os antioxidantes naturais mais utilizados na indústria alimentícia, podem ser citados os tocoferóis, ácidos fenólicos e extrato de plantas.

A escassez de estudos considerando o ácido fólico como um aditivo natural na dieta de peixes e seu benefício como promotor metabólico e ainda, moderador oxidativo, motivaram esta pesquisa.

2.3 JUNDIÁ

O jundiá é encontrado na extensão do sudeste do México ao centro da Argentina (BALDISSEROTTO E RADÜNZ NETO, 2004). No Brasil, sua criação está mais concentrada nos estados da Região Sul, nos últimos anos, Santa Catarina tem se destacado na criação e em pesquisas sobre esta espécie.

Segundo Graeff et al. (2012) no momento em que equipe de pesquisadores da Epagri definiram as técnicas específicas para a espécie, a sobrevivência aumentou e foi possível fornecer maior número de alevinos a preços competitivos com outras espécies, e com isso possibilitar aos produtores rurais mais uma opção para o aumento de sua renda, além de alavancar a produção do jundiá na região.

O jundiá adapta-se a diferentes ambientes, apresentando fácil manejo e boa aceitação comercial, sendo a espécie nativa local mais promissora para a criação intensiva (CAMARGO et al., 2005). É um peixe de couro, com o corpo alongado e crânio achatado, boca grande sem a presença de dentes e com três pares de barbilhões sensitivos. A coloração do corpo varia de marrom-avermelhado-claro a cinza-escuro. É encontrado habitando lagunas, poços e fundos de rios, com preferência a ambientes de águas calmas (BALDISSEROTTO e RADÜNZ NETO, 2004). É um bagre Pertencente à família *Heptapteridae*, de ordem Siliforme, que vem apresentando crescimento acelerado. Devido a esta característica, vem despertando grande interesse dos produtores e pesquisadores, pois mesmo em meses frios seu crescimento é satisfatório (FRACALOSSO et al., 2004).

Animal rústico que apresenta resistência ao manejo e boa reprodução em cativeiro, (CARNEIRO e MIKOS, 2005; FRACALOSSO et al., 2004; MELO et al., 2004). De hábito alimentar onívoro, aceita facilmente rações e alimentos de origem vegetal (BALDISSEROTTO e RADÜNZ NETO, 2004; FRACALOSSO et al., 2004) fato que tem sido motivo de muitas pesquisas (BERGAMIM et al., 2013; DALCIN et al., 2018; LOVATTO et al., 2012; TYSKA et al., 2013).

Sendo assim, a adição de um composto de origem vegetal na dieta pode ter um efeito positivo em relação ao desempenho destes animais, além de minimizar os custos de criação.

3 ARTIGO I

EFEITOS DO ÁCIDO FÍTICO SOBRE O DESEMPENHO E METABOLISMO DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

Letícia Lopes da Costa¹, Taida Juliana Adorian¹, Patricia Mombach¹, Dirleise Pianesso¹, Bruno Loureiro Bianch¹, Naglezi Lovatto¹, Fernanda Rodrigues Goulart¹, Saymon Capa¹, Yuri Telles¹, Leila Picolli da Silva¹

¹ Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Avenida Roraima, n°1.000, prédio 84, Laboratório de Piscicultura, Bairro Camobi, CEP 97105-900, Santa Maria, RS. E-mail: leticialopes.zoot@gmail.com

RESUMO

EFEITOS DO ÁCIDO FÍTICO SOBRE O DESEMPENHO E METABOLISMO DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

AUTORA: Letícia Lopes da Costa
ORIENTADORA: Leila Picolli da Silva

Este trabalho apresenta um estudo sobre a atuação do ácido fítico no desempenho produtivo e metabolismo do jundiá (*Rhamdia quelen*). Trezentos juvenis de jundiá com média de $7 \pm 2,30$ g foram distribuídos aleatoriamente em 20 caixas d'água de polietileno de 70L (15 peixes por caixa) em sistema de recirculação de água, por período de 50 dias de alimentação. Foram formuladas cinco dietas, sendo quatro com diferentes níveis de ácido fítico (0,5%AF, 1,0%AF, 1,5%AF ou 2,0%AF) e uma dieta controle, ou seja, sem adição de ácido fítico (0%AF). Para cada tratamento foram utilizadas quatro repetições. Os animais foram alimentados três vezes ao dia até a saciedade aparente. Ao final do período experimental foram avaliados: variáveis de crescimento (ganho de peso relativo, taxa de crescimento específico e taxa de eficiência proteica) e parâmetros de carcaça (rendimento de carcaça, índice digestivo-somático, de gordura visceral e quociente intestinal). Além disso, foram determinados: Parâmetros sanguíneos (albumina, aminoácidos, proteínas totais, triglicerídeos, colesterol e glicose), no tecido hepático foram analisados proteína, glicogênio, glicose e amônia. Também foram aferidas as atividades das enzimas tripsina, quimiotripsina, lipase intestinal e protease ácida. No peixe inteiro foi analisada a composição centesimal (matéria seca, matéria mineral, proteína bruta e gordura). Os peixes que receberam 0,5%AF tiveram o índice de gordura visceral e glicogênio hepático diminuídos. A dieta com de 2,0% de AF resultou em menor atividade da enzima protease ácida. A adição de 1,5%AF aumentou os teores de proteína e a presença em qualquer nível diminuiu a concentração de gordura na composição do peixe inteiro. Foi possível concluir com o presente estudo que, embora os dados de desempenho produtivo não tenham apresentado diferenças significativas entre os tratamentos, a adição do ácido fítico na dieta em baixas concentrações melhora a qualidade do pescado.

Palavras-chave: Peixe. Nutrição. Mioinositol 6-fosfato.

ABSTRAT**EFFECTS OF PHYTIC ACID EXTRACTED FROM RICE IN ZOOTECHNICAL PERFORMANCE, BLOOD AND HEPATIC PARAMETERS, DIGESTIVE ENZYMES ACTIVITY, AND BODY COMPOSITION OF SIVER CATFISH (*Rhamdia quelen*)****AUTHOR:** Letícia Lopes da Costa**ADVISOR:** Leila Picoll da Silva

This work presents a study on the action of phytic acid on productive performance and metabolism of silver catfish (*Rhamdia quelen*). Thirteen juveniles of silver catfish averaging $7 \pm 2.30\text{g}$ were randomly distributed in 20 polyethylene tanks of 70L (15 fish per tank) in a water recirculation system, and were fed for 50 days. Five diets were formulated, four with different levels of phytic acid (0.5% PA, 1.0% PA, 1.5% PA or 2.0% PA) and a control diet, that is, without the addition of phytic acid (0% PA). Four replicates were used for each set. The animals were fed three times daily to an apparent satiation. Experimental tests were performed: growth variables (relative growth rate, specific growth rate and protein protein ratio) and performance parameters (carcass yield, digestive-somatic index, visceral fat and intestinal quotient). In addition, blood parameters (albumin, amino acids, total proteins, triglycerides, cholesterol and glucose) were created, without hepatic hepatic protein, glycogen, glucose and ammonia. Also tested as activities of the enzymes trypsin, chymotrypsin, intestinal lipase and acid protease. No whole fish was analyzed at a centesimal (dry matter, mineral matter, crude protein and fat). Genes that received 0.5%PA had the visceral fat index and hepatic glycogen decreased. The 2.0%PA diet promotes the activity of the enzyme protease acid. An addition of 1.5%PA increased the protein levels and a water level decreased the fat concentration in the whole fish composition. The chance to conclude with the present study is, although the performance data are no longer attended to differences between treatments, the addition of phytic acid in low-calorie diet to fish quality.

Keywords: fish, nutrition, myoinositol 6-phosphate

3.1 INTRODUÇÃO

Em criações intensivas, o uso de aditivos alimentares se faz cada vez mais necessário para controle sanitário, melhoria na conservação de alimentos, no desempenho e na resposta imunológica dos animais. Mas o uso destas moléculas também deve atender as exigências mínimas de biossegurança, não deixando residuais no produto animal e não causando impactos nocivos ao meio ambiente. Neste cenário, surgem alguns produtos alternativos de base orgânica, continuamente presente nos alimentos, mas pouco explorados em seu máximo potencial tecnológico.

Entre os aditivos orgânicos de futuro para aplicação dirigida, destaca-se o ácido fítico, um componente natural presente em maior abundância no pericarpo de cereais, de elevada atividade antioxidante, atuando tanto a nível endógeno (ALI et al., 2010; EMPSON e LABUZA, 1991; GRAF e EATON, 1990; KUMAR et al., 2010; SAKAC et al. 2010) como a nível exógeno (LEE et al., 1998; STODOLAK et al., 2007). O potencial como moderador de estresse que o ácido fítico possui, pode interferir positivamente no desempenho zootécnico, por minimizar os efeitos do estresse no sistema de criação e assim, manter a estabilidade metabólica no organismo animal.

Na nutrição animal, tradicionalmente o ácido fítico é apontado como molécula de ação antinutricional, causando desequilíbrios metabólicos e alteração no crescimento dos animais (ALI et al., 2010; GALDIOLI et al., 2001). Porém, pesquisas direcionadas a saúde humana (usando ratos como modelo biológico), tem demonstrado que essa molécula apresenta efeitos terapêuticos, controlando os níveis de lipídios e de glicose no sangue, além de diminuir triacilgliceróis hepáticos, colesterol total e digestibilidade dos lipídios (LEE et al. 2006, 2007; SEKITA et al., 2016). Para organismos aquáticos, o uso do ácido fítico como aditivo alimentar é controverso. Cheng e Guillaume (1984) e McClain e Gatlin (1988) relataram maior crescimento de camarão (*Penaeus japonicus*) e tilápia azul (*Oreochromis aureus*), até as doses de 1% e 1,5%, respectivamente, já Usmani e Ahmad (2002) não encontraram resultados positivos ao testarem o efeito do ácido fítico sobre o desempenho da carpa *Cirrhinus mrigala*.

O jundiá, por ter o hábito alimentar onívoro, adapta-se com facilidade a dietas contendo aditivos de natureza vegetal (BALDISSEROTTO e RADÜNZ NETO, 2004; FRACALOSSO et al., 2004), podendo expressar de forma positiva a atuação do ácido fítico no metabolismo.

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de testar o efeito da inclusão de ácido fólico sobre os parâmetros metabólicos, zootécnicos e composição corporal de jundiás.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Formulação das dietas

Foram formuladas cinco dietas (Tabela 1), sendo quatro com diferentes níveis de ácido fólico (0.5%AF, 1.0%AF, 1.5%AF ou 2.0%AF) e uma dieta controle, ou seja, sem adição de ácido fólico (0%AF). Todos os tratamentos foram formulados a partir da mesma dieta base contendo 37% de proteína bruta, 3250 kcal/kg de energia digestível e 12% de lipídios (SALHI et al., 2004). O composto com 46% de ácido fólico foi fornecido pela Ingal Alimentos (Santa Maria-RS) obtido pelo processo de beneficiamento do farelo de arroz.

A composição centesimal das dietas foi determinada segundo a AOAC (1995) com os seguintes procedimentos: matéria seca após secagem a 105°C durante 24 h (metodologia 930.15), cinza por incineração a 600°C durante 10 h (metodologia 942.05), proteína (N × 6.25) pelo método de Kjeldahl (metodologia 954.01) após digestão ácida. O teor de gordura foi determinado pelo método de Bligh e Dyer (1959). A determinação de fibra em detergente neutro (FDN) segundo Van Soest; Robertson; Lewis, 1991. Fósforo foi determinado pelo método de Tedesco et al.,1995.

Tabela 1. Formulação das dietas com níveis crescentes de ácido fólico para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*)

INGREDIENTES (%)	Tratamentos ¹				
	0%AF	0,5%AF	1,0%AF	1,5 %AF	2,0%AF
Farinha de peixe ²	62,70	62,70	62,70	62,70	62,70
Amido	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Celulose	17,80	17,30	16,80	16,30	15,80
Sal (cloreto de sódio)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Óleo de soja	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
PVM ³	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Ácido fólico	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00

Composição centesimal ⁴					
Matéria seca	96,23	96,24	96,17	95,98	96,29
Proteína bruta	38,02	38,42	38,66	38,71	38,40
Gordura	12,35	12,63	12,11	12,24	12,10
Matéria mineral	26,84	27,00	27,33	27,63	28,35
FDN	5,66	5,86	5,93	5,75	5,56
Ca ⁵	3,45	3,47	3,48	3,50	3,50
P	1,67	1,68	1,69	1,70	1,72
ED ⁶	3258	3117	3040	3232	3212

¹Tratamentos: 0%AF: dieta controle(sem adição de ácido fólico); dieta 0,5%AF: 0,5 de adição de ácido fólico; dieta 1,0%AF: 1 % de adição de ácido fólico; dieta 1,5%AF: 1,5 % de adição de ácido fólico; dieta 2,0%AF: 2 % de adição de ácido fólico;

²Farinha de peixe oriunda de resíduo de filetagem de tilápia (Copisces Paraná/Brasil);

³PVM: Premix vitamínico e mineral: composição/kg de produto: Ác. Fólico: 299.88; Ác. Ascórbico: 15.000,12 mg; Ác. Pantotênico: 3.000,10 mg; Biotina: 0.06 mg; Niacina (B3): 9.000,32 mg; Colina (B4): 103.500,00 mg; Vitamina A: 1.000.000,00 UI; Vitamina B1: 1.500,38 mg; Vitamina B2: 1.500,00 mg; Vitamina B6: 1.500,38 mg; Vitamina D3: 240.000,00 UI; Vitamina E: 10.000,00 mg; Vitamina K3: 400,00 mg; Inositol: 9.999,92 mg; Ferro: 6.416.80 mg; Manganês: 8.000,40 mg; Cobre: 1.000,00 mg; Zinco: 13.999,50 mg; Iodo: 45.36 mg; Cobalto: 60.06 mg; Selênio: 60.30 mg; Magnésio: 5.10 mg; Cloro: 2.30%; Enxofre: 0.01%;

⁴Composição analisada na matéria natural (Laboratório de Piscicultura /UFMS).

⁵Ca: Cálcio(Estimado com base na análise dos ingredientes)

⁶Calculada: Energia digestível(Kcal/Kg)= ((PB*5,65*0,85)+(EE*9,4*0,9)+(CSDN*4,15*0,7)) (ajustada de acordo com Meyer et al., 2004).

3.2.2 Procedimento experimental

A pesquisa foi realizada nas instalações do Laboratório de Piscicultura da Universidade Federal de Santa Maria (Rio Grande do Sul, Brasil) (Latitude: 29° 41 03 S; Longitude: 53° 48 25 W), após ser aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animais desta Universidade (número do protocolo 8087140916).

Foram selecionados trezentos animais com média de $7 \pm 2,30$ g e distribuídos aleatoriamente em um sistema de recirculação de água, composto por um reservatório de água de 1000 litros, termorregulado a 24°C , um filtro biológico e 20 tanques de polietileno (70L). Os peixes foram alocados ao acaso em 20 unidades experimentais, sendo 15 animais por caixa, cada tratamento com quatro repetições, totalizando 60 animais por tratamento. Os animais foram aclimatados às condições de criação duas semanas antes do início do experimento, sendo alimentados manualmente três vezes ao dia com ração comercial, até a saciedade aparente.

3.2.3 Qualidade da água

Para remoção de fezes e possíveis sobras de ração, foram realizadas duas sifonagens diárias (10:30 e às 15:30 horas) nas unidades experimentais. Durante o período experimental, os parâmetros de qualidade da água foram monitorados usando kits colorimétricos e mantidos como segue: temperatura matinal de $23,19 \pm 1,16^{\circ}\text{C}$; temperatura da tarde de $23,50 \pm 1,09^{\circ}\text{C}$; pH: $6,46 \pm 0,08$; alcalinidade: $50,58 \pm 4,42\text{ mg CaCO}_3 / \text{L}$; dureza: $51,42 \pm 6,08\text{ mg CaCO}_3 / \text{L}$; amônia total: $0,1 \pm 0,04\text{ mg L}^{-1}$; nitrito: $0,12 \pm 0,07\text{ mg L}^{-1}$ e oxigênio: $6,95 \pm 1,03\text{ mg L}^{-1}$.

3.2.4 Desempenho e índices zootécnicos

Após transcorridos 50 dias de experimento, todos os peixes passaram por jejum de 18 horas, e então foram anestesiados com benzocaína (35 mg/L) para a realização da biometria, com medição e pesagem dos animais para o cálculo de ganho de peso relativo (GPR), taxa de crescimento específico (TCE), taxa de eficiência proteica (TEP) e rendimento de carcaça (RC). Posteriormente os peixes foram eutanasiados por overdose de benzocaína, 250mg/L (AVMA, 2013) para coleta de material para análises. Dois peixes por caixa foram utilizados para a coleta de trato digestório para cálculo de índice digestivo-somático, índice de gordura visceral e quociente intestinal.

3.2.5 Parâmetros sanguíneos

As amostras de sangue foram coletadas aleatoriamente (oito peixes / tratamento) por punção da veia da cauda usando seringas heparinizadas. As amostras foram colocadas em tubos de microcentrífuga para centrifugação (1000g, 10 min à temperatura ambiente). O plasma foi armazenado e refrigerado (8°C) para determinar as concentrações de glicose, albumina, proteínas circulantes totais, triglicerídeos, colesterol. Os testes foram realizados utilizando kits comerciais (Doles®,GO). Aminoácidos livres foram quantificados por colorimetria pelo método de SPIES (1957), o extrato foi obtido pela centrifugação (1000 x g por 10 minutos) das amostras (50mg) homogeneizadas com 1 mL de tampão fosfato (20 mM, pH 7,5).

3.2.6 Parâmetros hepáticos

Foram utilizados oito animais por tratamento para coleta dos tecidos hepáticos (50 mg) que foram aquecidos a 100 ° C com KOH para estimar a proteína de acordo com a técnica descrita por Bradford (1976). Em uma alíquota deste extrato, adicionou-se etanol para hidrolisar e precipitar o glicogênio, e após centrifugação (1000 g durante 10 min) determinou-se o teor de glicose (PARK e JOHNSON, 1949). Também no tecido hepático foram feitas análises de amônia (VERDOUW et al., 1978), utilizou-se o sobrenadante obtido pela homegeinização e centrifugação de 25mg de tecido/1 ml de ácido tricloroacético 10%.

3.2.7 Atividade das enzimas digestivas

Foram utilizados oito peixes por tratamento para as análises de enzimas digestivas. As enzimas analisadas foram: tripsina e quimiotripsina (Hummel, 1959), protease ácida, no estômago (método de hidrólise da caseína modificado por Hidalgo et al., 1999) e lipase (GAWLICKA et al., 2000).

3.2.8 Composição centesimal

Oito animais por tratamento foram utilizados para análise de composição do peixe inteiro. Para a análise de composição os animais foram moídos inteiros até formar uma massa homogênea de amostra. Foram realizadas análises dos teores de matéria seca (metodologia 930.15), cinzas (metodologia 942.05), proteína após digestão ácida ($N \times 6.25$) pelo método de Kjeldahl (metodologia 954.01), seguindo metodologia descrita pela AOAC (1995) e ainda gordura pelo método de Bligh e Dyer (1959).

3.2.9 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan. As diferenças foram consideradas significativas a um nível de probabilidade 5% ($P < 0,05$).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Desempenho Zootécnico

Os juvenis de jundiá aceitaram prontamente as dietas que continham níveis crescentes de ácido fólico e mantiveram comportamento normal desde o início do estudo. A adição de até 2% de ácido fólico não causou efeitos significativos sobre o ganho de peso relativo (GPR), taxa de crescimento específico (TCE), taxa de eficiência proteica (TEP) e rendimento de carcaça (RC) (Tabela 2). Esses resultados diferem dos encontrados por Cheng e Guillaume (1984) no estudo onde relataram um maior crescimento do camarão (*Penaeus japonicus*) que receberam 1% de ácido fólico na dieta.

Tabela 2. Parâmetros Zootécnicos em jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com crescentes concentrações de ácido fólico.

Variáveis ²	Tratamentos ¹				
	0,0%AF	0,5%AF	1,0%AF	1,5%AF	2,0%AF
GPR	311,89±27,40	245,96±45,98	328,37±69,48	270,34±36,27	303,04±78,29
TCE	2,82±0,13	2,47±0,28	2,89±0,30	2,61±0,20	2,76±0,37
TEP	0,62±0,06	0,48±0,09	0,66±0,13	0,55±0,08	0,60±0,14
RC	86,74±1,68	87,61±2,37	86,20±3,01	88,30±1,84	86,28±1,20

Valores expressos como média±desvio padrão; ¹Tratamentos: 0%AF: dieta controle(sem adição de ácido fólico); dieta 0,5%AF: 0,5 de adição de ácido fólico; dieta 1,0%AF: 1 % de adição de ácido fólico; dieta 1,5%AF: 1,5 % de adição de ácido fólico; dieta 2,0%AF: 2 % de adição de ácido fólico; ²Variáveis: G.P.R (%): ganho de peso relativo; TCE (%/dias): (peso final)–(peso inicial)/dias x 100; TEP (%): ganho em peso/proteína ingerida; RC (%): (peso eviscerado/peso peixe inteiro) x100. Médias com letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Duncan (P<0,05).

Embora os dados de desempenho zootécnico não tenham apresentado diferenças significativas entre os tratamentos, é possível observar que a adição do ácido fólico na dieta, nessas concentrações testadas, não altera o equilíbrio metabólico do jundiá. É importante ressaltar sobre os resultados de taxa de crescimento específico, que demonstram a capacidade que esta espécie possui para obter rápido crescimento.

Com a adição de 0,5%AF foi constatado efeito sobre o metabolismo de gordura, uma vez que de os peixes apresentaram menor índice de gordura visceral (IGV) do que o tratamento controle, no entanto, essa condição não interferiu sobre o índice digestivo somático ou o quociente intestinal (Tabela 3).

Tabela 3. Índices digestivos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com níveis crescentes de ácido fítico.

Variáveis	Tratamentos ¹				
	0,0%AF	0,5%AF	1,0%AF	1,5%AF	2,0%AF
IDS(%)	2,87±0,42	3,27±0,48	3,24±0,43	3,31±0,45	3,31±0,43
IGV(%)	2,18±1,00 ^a	1,19±0,81 ^b	1,66±0,40 ^{ab}	1,52±1,08 ^{ab}	1,71±0,66 ^{ab}
QI(%)	0,93±0,13	0,87±0,10	0,99±0,15	0,90±0,18	0,90±0,10

Valores expressos como média±desvio padrão; ¹Tratamentos: 0%AF: dieta controle(sem adição de ácido fítico); dieta 0,5%AF: 0,5 de adição de ácido fítico; dieta 1,0%AF: 1 % de adição de ácido fítico; dieta 1,5%AF: 1,5 % de adição de ácido fítico; dieta 2,0%AF: 2 % de adição de ácido fítico; ²Variáveis: IDS (%): índice digestivo somático (peso do trato digestório/peso do peixe) x 100; IGV (%): índice de gordura visceral(peso gordura/peso do peixe) x100; QI (%): quociente intestinal (comprimento do trato digestório/comprimento do peixe). Médias com letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Duncan (P<0,05).

Este resultado indica que apesar de não haver diferença significativa no ganho de peso dos peixes, a presença de ácido fítico na concentração de 0,5%AF possibilita uma melhor distribuição de lipídios corporal quando comparado com os animais que não consumiram ácido fítico na dieta.

3.3.2 Parâmetros sanguíneos

A adição de ácido fítico não influenciou (P<0,05) a concentração plasmática de albumina, aminoácidos, proteínas totais, triglicéridos, colesterol e glicose no plasma do jundiá (Tabelas 4).

Tabela 4. Parâmetros avaliados no plasma de jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com níveis crescentes de ácido fítico.

Variáveis	Tratamentos ¹				
	0,0%AF	0,5%AF	1,0%AF	1,5%AF	2,0%AF
Albumina	0,34±0,22	0,38±0,19	0,29±0,10	0,31±0,23	0,27±0,08
Aminoácidos	58,65±15,02	68,62±10,32	71,59±24,00	57,13±23,62	53,96±28,06
Proteínas Totais	3,84±0,79	3,75±0,55	3,59±0,55	3,96±0,98	3,21±0,30
Trig.	362,60±106,58	344,54±84,93	313,92±62,15	351,46±101,3 ₉	375,52±78,00
Col.	352,45±115,45	357,57±107,41	376,44±115,4 ₃	354,05±122,1 ₃	384,00±105,85
Glic.	71,50±12,63	80,15±12,93	68,07±5,90	79,27±20,09	85,34±22,11

Valores expressos como média±desvio padrão; ¹Tratamentos: 0%AF: dieta controle (sem adição de ácido fítico); dieta 0,5%AF: 0,5 de adição de ácido fítico; dieta 1,0%AF: 1 % de adição de ácido fítico; dieta 1,5%AF: 1,5% de adição de ácido fítico; dieta 2,0%AF: 2% de adição de ácido fítico; ²Variáveis: Albumina (mg/dL); Aminoácidos (mmol/dL); Proteínas totais (g/dL), Trig.: Triglicerídeos (mg/dL); Col.: Colesterol (mg/dL); Glic.: Glicose (mg/dL). Médias com letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Duncan (P<0,05).

3.3.4 Parâmetros hepáticos

O glicogênio hepático foi menor (p<0,05) nos peixes que receberam 0,5%AF na dieta diferindo do grupo que recebeu 2,0%AF. As medidas hepáticas de proteína, glicose e amônia não foram afetadas pela adição de ácido fítico na dieta (Tabela 5).

Tabela 5. Intermediários metabólicos analisados no fígado de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com concentrações crescentes de ácido fítico.

Variáveis	Tratamentos ¹				
	0,0%AF	0,5%AF	1,0%AF	1,5%AF	2,0%AF
Proteína	48,69±6,24	49,11±7,29	49,64±2,33	54,80±11,44	51,44±8,99
Glicogênio	1,73±0,07 ^{ab}	1,57±0,53 ^b	1,82±0,04 ^{ab}	1,84±0,30 ^{ab}	2,06±0,32 ^a
Glicose	94,53±33,11	105,00±45,22	80,40±38,08	91,55±51,33	95,75±6,07
Amônia	4,62±1,12	4,65±1,74	4,14±1,08	4,83±1,56	4,55±0,74

Valores expressos como média±desvio padrão; ¹Tratamentos: 0%AF: dieta controle(sem adição de ácido fítico); dieta 0,5%AF: 0,5 de adição de ácido fítico; dieta 1,0%AF: 1 % de adição de ácido fítico; dieta 1,5%AF: 1,5 % de adição de ácido fítico; dieta 2,0%AF: 2 % de adição de ácido fítico; ²Variáveis: Proteína (μmol/g); Glicogênio (μmol/g); Glicose (μmol/g); Amônia (μmol/g). Médias com letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Duncan (P<0,05).

Segundo Enes et al. (2009) a capacidade de utilização deste estoque de energia e a quantidade de glicogênio armazenada no fígado varia entre espécies.

Alguns peixes preservam as reservas de glicogênio metabolizando lipídios, enquanto outras conservam parcialmente os estoques de glicogênio, metabolizando proteínas, e ainda as que conservam as proteínas e lipídios, utilizando parcialmente as reservas de glicogênio. (HSIEH e SHIAU, 2000). No caso deste estudo, os animais que consumiram 0,5%AF utilizaram energia proveniente da gordura e do glicogênio hepático, para preservar a reserva de proteína corporal.

3.3.5 Enzimas digestivas

A atividade da protease ácida foi menor nos peixes que receberam 2,0%AF na dieta. As demais enzimas digestivas não tiveram a atividade alterada pela presença de AF (Tabela 6).

Tabela 6. Efeito de níveis crescentes de ácido fítico nas enzimas digestivas de jundiá (*Rhamdia quelen*).

Variáveis ²	Tratamentos ¹					P
	0,0%AF	0,5%AF	1,0%AF	1,5%AF	2,0%AF	
Trip.	13,12±8,48	12,02±5,09	15,44±6,02	12,57±6,69	12,30±7,74	NS
Quim.	6,18±0,81	6,31±2,24	5,86±2,23	5,16±1,88	5,86±0,17	NS
Lip.Int.	1,04±0,90	1,40±0,87	1,07±0,90	1,24±0,87	0,99±0,87	NS
Prot.ácida	79,87±28,48 ^a	62,53±16,21 ^{ab}	78,43±29,09 ^a	72,07±18,48 ^{ab}	50,32±22,85 ^b	*

Valores expressos como média±desvio padrão; ¹Tratamentos: 0%AF: dieta controle(sem adição de ácido fítico); dieta 0,5%AF: 0,5 de adição de ácido fítico; dieta 1,0%AF: 1 % de adição de ácido fítico; dieta 1,5%AF: 1,5 % de adição de ácido fítico; dieta 2,0%AF: 2 % de adição de ácido fítico; ²Variáveis: Tripsina (μmol TAME/min/mg de proteína; Quim.: Quimiotripsina (mmol BTEE/min/mg proteína); lip. Int.: lipase do intestino (μg substrato min/mg de proteína); Prot.ácida: Proteaseácida (μmol tirosina/min/mg de proteína). Médias com letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Duncan (P<0,05).

A atividade enzimática da proteaseácida no estômago foi semelhante para o grupo controle e nos grupos que receberam até 1,5%AF. Os jundiás que consumiram 2,0%AF tiveram menor produção (P<0,05) dessa enzima. Este comportamento, nos peixes que não receberam AF na dieta e nos grupos que consumiram níveis mais baixos de ácido fítico, é visto como natural desta enzima, ativada por autólise em pH abaixo de 5,0 (KOBLITZ, 2008), considerando o pH estomacal. O AF em meioácido pode promover fortes ligações eletrostáticas com enzimas e proteínas (GÓMES et al. 2017).

A diminuição da atividade enzimática na concentração de 2,0%AF ocorreu pela já conhecida “fama” de inibidor de protease da substância.

Segundo Adeola; Sands (2003) e Dendougui, Schwedt, (2004) Proteínas e aminoácidos diferem em sua capacidade de ligação com ácido fítico devido a diferenças no número total de grupos catiônicos disponíveis. Para Deshpande e Damodaran (1989) os efeitos adversos do ácido fítico pela a sua natureza química, deve-se tratar estritamente do ponto de biodisponibilidade de minerais.

3.3.6 Composição centesimal

Os peixes que receberam 1,5% de ácido fítico tiveram maior concentração de proteína bruta corporal. Qualquer nível de ácido fítico diminuiu o teor de gordura em relação ao tratamento controle (sem adição de ácido fítico), porém, não houve diferenças ($P < 0,05$) na matéria seca e matéria mineral na composição do peixe inteiro (Tabela 7).

Tabela 7. Composição centesimal de jundiás (*Rhamdia quelen*) inteiros, alimentados com níveis crescentes de ácido fítico.

Variáveis ²	Tratamentos ¹				
	0,0% AF	0,5% AF	1,0% AF	1,5% AF	2% AF
MS	23,36±2,09	23,43±1,30	23,39±1,70	22,30±3,01	23,26±1,66
MM	2,45±0,63	2,77±0,54	2,52±0,39	2,10±0,34	2,58±0,57
PB.	11,75±4,44 ^b	14,75±0,67 ^{ab}	13,67±0,50 _{ab}	15,72±3,29 ^a	13,22±3,22 ^{ab}
Gord.	10,00±4,23 ^a	7,15±10,06 ^b	7,49±1,63 ^b	6,17±1,15 ^b	5,59±0,78 ^b

Valores expressos como média±desvio padrão; ¹Tratamentos: 0% AF: dieta controle(sem adição de ácido fítico); dieta 0,5% AF: 0,5 de adição de ácido fítico; dieta 1,0% AF: 1 % de adição de ácido fítico; dieta 1,5% AF: 1,5 % de adição de ácido fítico; dieta 2,0% AF: 2 % de adição de ácido fítico; ²Variáveis: MS (%): Matéria Seca; MM (%): Matéria Mineral; PB (%): Proteína Bruta; Gord. (%): Gordura. Médias com letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Duncan ($P < 0,05$). NS=não significativo ($P > 0,05$); * $P < 0,05$.

Fonte: Elaboração dos autores.

A maior porcentagem de proteína na composição corporal dos peixes, que receberam 1,5%AF, e a menor concentração lipídica nos grupos que receberam qualquer nível de ácido fítico na dieta, demonstra que a presença dessa substância não é totalmente negativa para o metabolismo dos jundiás.

Neste estudo, foi comprovado o efeito benéfico do ácido fítico na qualidade do pescado, o que contribui na busca incessante da piscicultura por aumentar o teor proteico e diminuir a gordura corporal dos peixes, a partir de uma dieta equilibrada e com uso de aditivos de baixo custo.

Os resultados obtidos no presente estudo indicam que é de extrema relevância que hajam outras pesquisas sobre os benefícios que baixas concentrações de ácido fítico pode proporcionar a variadas espécies de peixes, antes de condena-lo como uma substância totalmente deletéria ao organismo animal.

3.4 CONCLUSÃO

Foi possível concluir com o presente estudo que os dados de desempenho zootécnico não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Os peixes que receberam 0,5%AF tiveram o índice de gordura visceral e glicogênio hepático diminuídos. Além disso, o ácido fítico demonstrou melhorar a qualidade do pescado, pois no nível 1,5%AF o teor de proteína bruta aumenta e qualquer concentração de AF diminui gordura corporal dos peixes.

Este é um fator positivo para a piscicultura, pois torna o pescado mais saboroso, o que é cada vez mais buscado pelo mercado consumidor. No entanto, a partir de 2,0%AF, diminui a atividade de protease ácida no estômago, o que influencia negativamente na digestibilidade de proteínas e conseqüentemente poderá trazer perdas na produção.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEOLA, O.; SANDS, J.S.; Does supplemental dietary microbial phytase improve amino acid utilization? A perspective that it does not. **Journal Animal Science** v. 81, n. 2, p. 78–85, 2003 (doi: 10/2003.8114_suppl_2E78x).
- ALI, M.; SHUJA, M.N.; ZAHOR, M.; QADRI, I. Phytic acid: How far have we come? **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 11, p.1551-1554, 2010.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official Methods of Analysis of AOAC**, 16^a ed., Patricia Cunniff (editor), Washington, DC, 1141p., 1995.
- AVMA- **Guidelines for the euthanasia of animals**: 2013 Edition. Disponível em: <https://www.avma.org/kb/policies/documents/euthanasia.pdf>. Acesso em 24 de abril de 2016.
- BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de jundiá**. Santa Maria, Ed. UFSM, 2004, 222 p.
- BLIGH, E.C.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry Physiology**, v.37, n. 8, p. 911-917, 1959.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. v. 72, p. 248-254, 1976.
- CHENG, W.W; GUILLAUME, J. Etude de la nutrition phospho calcique de la crevette japonaise (*Penaeus japonicus*). CIEM **Comite Mariculture**. 12-14 p, 1984.
- DENDOUGUI, F.; SCHWEDT, G. In vitro analysis of binding capacities of calcium to phytic acid in different foods amples. **European Food Research and Technology**. v. 219, p. 409–415, 2004. [http:// dx.doi.org/10.1007/s00217-004-0912-7](http://dx.doi.org/10.1007/s00217-004-0912-7).
- DESHPANDE S.S.; DAMODARAN, S. Effect of Phytate on Solubility, Activity and Conformation of Trypsin and Chymotrypsin. **Journal of Food Science**. v. 54, n. 3, 1989.
- EMPSON, K.L.; LABUZA, T.P.E. Phytic acid as a food antioxidant. **Journal of food Science**. v. 56, n. 2, 1991.
- ENES, P.; Panserat, S.; Kaushik, S.; Oliva-Teles, A. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish Physiology Biochemistry**, v.35, p.519-539, 2009.
- FRACALOSSO, D.M.; MEYER, G.; SANTA MARIA, F.M. Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum**, v. 26, n. 3, p.345-352, 2004.
- GALDIOLI, E. M.; HAYASHI, C.; FARIA, A. C. E. A.; SOARES, C. M. Substituição parcial e total da proteína do farelo de soja pela proteína dos farelos de canola e algodão em dietas para alevinos de piavuçu, *Leporinus macrocephalus* (Garavello e Britski, 1988). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 841-847, 2001.

GAWLICKA, A.; PARENT, B.; HORN, M.H.; ROSS, N.; OPSTAD, I.; TORRISSEN, O.J. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. **Aquaculture**, v. 184, p.303-314, 2000.

GÓMES, D.C.; RIVERA-HOYOS, C.M.; MORALES-ÁLVAREZ, E.D.; REYES-MONTAÑO, E.A.; VARGAS-ALEJO, N.E.; RAMÍREZ-CASALLAS, I.N.; TÜRKMEN, K.E.; SÁENZ-SUÁREZ, H.; SÁENZ-MORENO, J.A.; POUTOU-PIÑALES, R.A.; GONZÁLEZ-SANTOS, J.; ARÉVALO-GALVIS, A.; “In Silico” Characterization of 3-Phytase A and 3-Phytase B from *Aspergillus niger*. **Enzyme Research**, v. 2017 p. 23, 2017.

GRAF, E.; EATON, J.W. Antioxidant functions of phytic acid. **Free Radical Biology e Medicine**, v. 8, n. 1, p. 61-69, 1990.

HSIEH, S.L.; SHIAU, S.Y. Effects of diets containing different carbohydrates on starved condition in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* x *O.aureus*. **Fisheries Science**, v.66, p.32-37, 2000.

HIDALGO, M.C.; UREA, E.; SANZ, A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activitis. **Aquaculture**, v.170, n. 3-4, p.267-283, 1999.

KUMAR, V.; SINHA A.K.; MAKKARA H.P.S.; BECKER K.; Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. **Food Chemistry**, v. 120, n. 4, p. 945–959, 2010.

HUMMEL, B.C.W. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n.12, p. 1393-1399. 1959.

KOBLITZ, M.G.B. **Bioquímica de alimentos: teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2008. 242p.

LEE, S.H.; PARK, H.J.; CHUN, H.K.; CHO, S.Y.; CHO, S.M.; LILLEHOJ, H.S.; Dietary phytic acid lowers the blood glucose level in diabetic KK mice. **Nutrition Research**. v. 26, n. 9, p. 474- 479, 2006.

LEE, S.H.; PARK, H.K.; CHUN, H.J.; CHO, S.Y.; JUNG, H.J.; CHO, S.M.; KIM, D.Y.; KANG, M.S.; LILLEHOJ, H.S. Dietary phytic acid improves serum and hepatic lipid levels in aged ICR mice fed a high-cholesterol diet. **Nutrition Research**, v. 27, p. 505-510, 2007

MCCLAIN, W.R.; GATLIN, D.M.; Dietary Zinc Requirement of *Oreochromis aureus* and Effects of Dietary Calcium and Phytate on Zinc Bioavailability. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 19, p. 103-108, 1988. DOI: 10.1111/j.1749-7345.1988.tb00936.x

MEYER, G.; FRACALOSSO, D.M.; BORBA, M.R. A importância da qualidade da energia na ração de peixes. **Panorama da Aquicultura**, v. 14, n. 83, p. 53-57, 2004.

PARK, J. T.; JOHNSON, M. J. A submicro determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, v. 181, p. 149-151, 1949.

- RASID, R.; BROWN, J. H.; PRATOOMYOT, J.; MONROIG, O.; SHINN, A. P. Growth performance, nutrient utilization and body composition of *Macrobrachium rosenbergii* fed graded levels of phytic acid. **Aquaculture**, v. 479, p. 850–856, 2017.
- SALHI, M.; Chediak, G.; Bellagamba, M.; Carnevia, D. Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. **Aquaculture**, v. 231, p. 435–444, 2004.
- SAKAC, M.; BRUNET, A. B.; MISAN, A.; TUMBAS, V.; MÉDIC, D. Antioxidant Activity of Phytic Acid in Lipid Model System. **Food Technology Biotechnol.** v. 48, n. 4, 524–529, 2010.
- SEKITA, A.; OKAZAKI, Y.; KATAYAMA, T. Dietary phytic acid prevents fatty liver by reducing expression of hepatic lipogenic enzymes and modulates gut microflora in rats fed a high-sucrose diet. **Nutrition**, v. 32, n. 3, p.720-722 , 2016.
- SPIES, J.R. Colorimetric procedures for amino acids. **Methods in Enzymology**, v. 3, n.1, p. 467-477, 1957.
- SPINELLI, J.; HOULE, C.R.; WEKELL, J.C. The effect of phytates on the growth of rainbow trout fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. **Aquaculture**. v. 30, p. 71–83. 1983.
- STODOLAK, B; STARZYNSKA, A; CZYSCZON, M; ZYLA , K. The effect of phytic acid on oxidative stability of raw and cooked meat. **Food Chemistry**v. 101, n. 3, p. 1041-1045, 2007.
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995. 147p. (Boletim Técnico, 5).
- USMANI, N.; ANDJAFRI, A.K. Influence of Dietary Phytic Acid on the Growth, Conversion Efficiency, and Carcass Composition of Mrigal *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) Fry. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 33, p. 199–204, 2002. doi:10.1111/j.1749-7345.2002.tb00495.x
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- VERDOUW, H.; VANECHTELD, C.J.A.; DECKKERS, E.M.J. Ammonia determinations based on indophenol formation with sodium salicylate. **Water Research**, v. 12, p. 399-402, 1978.

4 ARTIGO II

EFEITOS DO ÁCIDO FÍTICO EXTRAÍDO DO FARELO DE ARROZ SOBRE O CRESCIMENTO E ESTRESSE OXIDATIVO DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

Letícia Lopes da Costa¹, Silvandro Tonetto de Freitas¹, Jossiele Leitemperger², Aline M. B. do Amaral³, Joziane Soares de Lima¹, Thaís Soares¹, Shelen Rossi¹, Ademir Baldissera Bach¹,
Vania Lucia Loro^{2,3}, Leila Picolli da Silva^{1*}

¹ Departamento de Ciência Animal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Avenida Roraima, 1000, Santa Maria, RS, 97015-900, Brazil.

² Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Avenida Roraima, 1000, Santa Maria, RS, 97015-900, Brazil.

³ Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Avenida Roraima, 1000, Santa Maria, RS, 97015-900, Brazil.

Corresponding Author:

(*) Dr. Leila Picolli da Silva.

Departamento de Ciência Animal

Universidade Federal de Santa Maria

97105-900 - Santa Maria, RS, Brazil.

Phone: 55 32208365

E-mail: leilapicollidasilva@gmail.com

Artigo científico submetido a revista Fish and Shelfish Immunology

RESUMO

EFEITOS DO ÁCIDO FÍTICO EXTRAÍDO DO FARELO DE ARROZ SOBRE O CRESCIMENTO E ESTRESSE OXIDATIVO DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

AUTORA: Letícia Lopes da Costa
ORIENTADORA: Leila Picolli da Silva

O estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a ação de níveis crescentes de ácido fítico extraído do farelo de arroz, sobre o crescimento e parâmetros antioxidantes em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). Trezentos juvenis de jundiá com média de 7 ± 2.30 g foram distribuídos aleatoriamente em 20 tanques d'água de polietileno de 70L (15 peixes por tanque) em sistema de recirculação de água, durante 50 dias de alimentação. Foram formuladas cinco dietas, sendo quatro com diferentes níveis de ácido fítico (0,5%AF, 1,0%AF, 1,5%AF ou 2,0%AF) e uma dieta controle, ou seja, sem adição de ácido fítico (0%AF). Para cada tratamento foram utilizadas quatro repetições. Os animais foram alimentados três vezes ao dia até a saciedade aparente. Os peixes foram medidos e pesados para avaliação de crescimento e posteriormente foi calculado o índice hepato-somático (IHS). No fígado e nas brânquias foram feitas as análises de Proteína carbonil (PC), Glutathione reduzida (GSH). No tecido hepático foram feitas as análises de Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione peroxidase (GPx) e Glutathione-S-transferase (GST). A adição crescente de ácido fítico não influenciou no peso final, na conversão alimentar aparente e no índice hepato-somático dos animais. As concentrações de proteína carbonil nos níveis de 0,5% e 1,0% AF foram menores, demonstrando efeito antioxidante da substância. A atividade das enzimas SOD e CAT aumentou com a presença de 0,5% e 1,0% AF na dieta. GSH, GST e GPx foram maiores nos tecidos hepáticos dos animais que receberam 0,5% de AF na dieta. Os resultados do estudo mostram que os teores entre 0,5 a 1% de AF na dieta de jundiá melhoram a atividade antioxidante, exercendo efeitos protetores sobre possíveis danos oxidativos nos tecidos.

Palavras-chave: Peixe. Nutrição. Mioinositol 6-fosfato. Antioxidante.

ABSTRACT**EFFECTS OF PHYTIC ACID EXTRACTED FROM RICE FARM ON SIVER CATFISH GROWTH AND OXIDATIVE STRESS (*Rhamdia quelen*)**

AUTHOR: Leticia Lopes da Costa

ADVISOR: Leila Picoll da Silva

The objective of this study was to evaluate the effect of increasing levels of phytic acid extracted from rice bran on growth and oxidative stress parameters in juvenile silver catfish (*Rhamdia quelen*). Three hundred juveniles of silver catfish with an average of 7 ± 2.30 g were randomly randomized in 20 tanks of polyethylene of 70L (15 fishs per tanks) in a system of recirculation of water, by period of 50 days of feeding. Five diets were formulated, four with different levels of phytic acid (0.5%PA, 1.0%PA, 1.5%PA or 2.0%PA) and a control diet, that is, without the addition of phytic acid (0%PA). Four replicates were used for each set. The animals were fed three times daily to an apparent satiation. The fish were measured and weighed for assessment of growth, and the hepatosomatic index (HSI) was subsequently calculated. Analyses were made of protein carbonyl content and reduced glutathione (GSH) in the liver and in the gills, while analyses of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione-S-transferase (GST) were performed in the liver tissue only. The increasing phytic acid addition did not influence the final weight, the apparent feed conversion and the hepato-somatic index of the animals. The concentrations of carbonyl protein at 0.5% and 1.0% PA levels were lower, demonstrating the antioxidant effect of the substance. The activity of SOD and CAT enzymes increased with the presence of 0.5% and 1.0% PA in the diet. GSH, GST and GPx were higher in the hepatic tissues of the animals that received 0.5% of PA in the diet. The results of the study show that contents between 0.5% and 1% of PA in the silver catfish diet improve antioxidant activity, exerting protective effects on possible oxidative damages in tissues.

Keywords: Fish. Nutrition. Myo-inositol 6-phosphate. Antioxidant.

4.1 INTRODUÇÃO

A intensificação de cultivo aquícola vem acompanhada por maior estresse nos sistemas de criação, acarretando em gasto energético para manter a estabilidade metabólica no organismo animal (SOUZA et al., 2016). Neste sentido, muitos aditivos são lançados anualmente no mercado, com a finalidade de diminuir os efeitos do estresse criatório sobre aspectos produtivos e sanitários. Muitos elementos protetivos de danos oxidativos são encontrados naturalmente nos ingredientes usados para compor a dieta, e podem ser melhor explorados em favor do metabolismo animal. Para promover essa ação pró-nutricional é necessário desenvolver estudos de identificação, quantificação e verificar as concentrações de interesse no uso destes agentes nas rações animais.

O ácido fítico (inositol 6-fosfato) é a forma química predominante de armazenamento de fósforo nas sementes dos vegetais. Geralmente essa molécula está associada a efeitos indesejáveis sobre o metabolismo e desempenho animal, pois além de ser uma forma de fósforo indisponível aos monogástricos e peixes, também forma quelatos com metais di- e tri-valentes (cálcio, magnésio, manganês, ferro e zinco) e outros compostos orgânicos reativos (ex. proteínas), reduzindo sua biodisponibilidade no trato digestório (ALI et al., 2010). Mas se por um ponto de vista científico as altas concentrações de ácido fítico têm sido apontadas como o principal entrave para o uso de vários produtos vegetais na nutrição de peixes, outros segmentos da pesquisa têm demonstrado que este mesmo composto apresenta significantes efeitos como moderador de estresse, pela sua capacidade de quelar ferro, suprimindo a catálise de íons nas reações oxidativas (GRAF e EATON, 1990; EMPSON et al., 1991; ALI et al., 2010; KUMAR et al., 2010).

Na área da saúde, o fitato tem demonstrado potencial significativo como terapêutico. Alguns estudos têm destacado o papel do ácido fítico na prevenção da formação de radicais livres que podem levar a danos oxidativos ao DNA e, conseqüentemente, ao desencadeamento de processos cancerígenos (RIZVI et al., 2006). Outras pesquisas com ratos e aves demonstraram a ação efetiva desta molécula para reduzir os níveis de glicose e triglicerídios no sangue, além de controlar o acúmulo de lipídios hepáticos (OKAZAKI et al., 2003; LEE et al., 2007). Na produção de peixes McClain; Gatlin (1988) demonstraram que a inclusão de 1,5% de fitato na dieta promoveu maior ganho de peso em tilápia azul (*Oreochromis aureus*). Assim, contrariando a primeira suposição que “rotula” o ácido fítico como antinutriente, essas pesquisas apontam-no como importante mediador de reações fisiológicas vitais,

considerando-o nutriente essencial para manutenção das funções celulares (GRASES et al., 2004; RIZVI et al., 2006; XU et al., 2007).

A escassez de informações sobre os efeitos metabólicos e antioxidantes da adição de baixos níveis de ácido fítico na nutrição de peixes motivam a condição de novos estudos sobre este assunto. A busca por compostos com potencial antioxidante no sentido de aumentar a proteção contra agentes tóxicos também tem sido um importante motivo de estudos e pesquisas recentes. O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito de níveis crescentes de ácido fítico extraído do farelo de arroz, sobre o crescimento e como moderador oxidativo no jundiá (*Rhamdia quelen*).

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Manejo experimental

A pesquisa foi realizada nas instalações dos Laboratórios de Piscicultura, e Laboratório de Toxicologia Aquática da Universidade Federal de Santa Maria Rio Grande do Sul, Brasil (Latitude: 29° 41 03 S; Longitude: 53° 48 25 W), após ser aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animais desta Universidade (número do protocolo 8087140916).

Foram selecionados trezentos animais com média de $7 \pm 2,30$ g e distribuídos aleatoriamente em um sistema de recirculação de água, composto por um reservatório de água termorregulado à 24°C de 1000 litros, um filtro biológico e 20 caixas d'água de polietileno (70L). Os peixes foram alocados ao acaso em 20 unidades experimentais, sendo 15 animais por caixa, cada tratamento com quatro repetições, totalizando 60 animais por tratamento. Os animais foram aclimatados às condições de criação duas semanas antes do início do experimento sendo alimentados manualmente três vezes ao dia até a saciedade aparente. Foram realizadas duas sifonagens diárias nas unidades experimentais (10:30 e às 15:30 horas), para remoção de sujidades. A qualidade da água foi monitorada e permaneceu nas condições ideais para a espécie durante todo o experimento.

Após, transcorrido 50 dias de experimento, todos os peixes passaram por jejum de 24 horas e então foram anestesiados com benzocaína (35 mg/L) para a realização da biometria, com medição e pesagem dos animais. Oito peixes por tratamento foram eutanaziados por overdose de benzocaína, 250mg/L (AVMA, 2013) para remoção do fígado e posteriormente

calcular o índice hepato-somático (IHS), os mesmos fígados foram utilizados para análises de atividade antioxidante, assim como, as brânquias dos animais.

4.2.2 Dietas experimentais

Foram formuladas cinco dietas (Tabela 1), sendo quatro com diferentes níveis de ácido fítico (0,5%AF, 1,0%AF, 1,5%AF ou 2,0%AF) e uma dieta controle, ou seja, sem adição de ácido fítico (0%AF). Todos os tratamentos foram formulados a partir da mesma dieta base contendo 37% de proteína bruta, 3250 kcal/kg de energia digestível e 12% de lipídios (SALHI et al., 2004).

O ácido fítico foi fornecido pela Ingal Alimentos (Santa Maria-RS) obtido pelo processo de beneficiamento do farelo de arroz.

Tabela 1. Formulação das dietas com níveis crescentes de ácido fítico para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*)

INGREDIENTES (%)	Tratamentos ¹				
	0%AF	0,5%AF	1,0%AF	1,5 %AF	2,0%AF
Farinha de peixe ²	62,70	62,70	62,70	62,70	62,70
Amido	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Celulose	17,80	17,30	16,80	16,30	15,80
Sal (cloreto de sódio)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Óleo de soja	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
PVM ³	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Ácido fítico	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00

	Composição centesimal ⁴				
	0%AF	0,5%AF	1,0%AF	1,5 %AF	2,0%AF
Matéria seca	96,23	96,24	96,17	95,98	96,29
Proteína bruta	38,02	38,42	38,66	38,71	38,40
Gordura	12,35	12,63	12,11	12,24	12,10
Matéria mineral	26,84	27,00	27,33	27,63	28,35
FDN	5,66	5,86	5,93	5,75	5,56
Ca ⁵	3,45	3,47	3,48	3,50	3,50
P	1,67	1,68	1,69	1,70	1,72
ED ⁶	3258	3117	3040	3232	3212

¹Tratamentos: 0%AF: dieta controle(sem adição de ácido fítico); dieta 0,5%AF: 0,5 de adição de ácido fítico; dieta 1,0%AF: 1 % de adição de ácido fítico; dieta 1,5%AF: 1,5 % de adição de ácido fítico; dieta 2,0%AF: 2 % de adição de ácido fítico;

²Farinha de peixe oriunda de resíduo de filetagem de tilápia (Copisces Paraná/Brasil);

³PVM: Premix vitamínico e mineral: composição/kg de produto: Ác. Fólico: 299,88; Ác. Ascórbico: 15.000,12 mg; Ác. Pantotênico: 3.000,10 mg; Biotina: 0,06 mg; Niacina (B3): 9.000,32 mg; Colina (B4): 103.500,00 mg; Vitamina A: 1.000.000,00 UI; Vitamina B1: 1.500,38 mg; Vitamina B2: 1.500,00 mg; Vitamina B6: 1.500,38 mg; Vitamina D3: 240.000,00 UI; Vitamina E: 10.000,00 mg; Vitamina K3: 400,00 mg; Inositol: 9.999,92 mg; Ferro: 6.416,80 mg; Manganês: 8.000,40 mg; Cobre: 1.000,00 mg; Zinco: 13.999,50 mg; Iodo: 45,36 mg; Cobalto: 60,06 mg; Selênio: 60,30 mg; Magnésio: 5,10 mg; Cloro: 2,30%; Enxofre: 0,01%;

⁴Composição analisada na matéria natural (Laboratório de Piscicultura /UFMS).

⁵Ca: Cálcio(Estimado com base na análise dos ingredientes)

⁶Calculada: Energia digestível(Kcal/Kg)= ((PB*5,65*0,85)+(EE*9,4*0,9)+(CSDN*4,15*0,7)) (ajustada de acordo com Meyer et al., 2004).

4.2.3 Determinação da composição centesimal

A composição centesimal das dietas foi determinada de segundo a AOAC (1995) com os seguintes procedimentos: matéria seca após secagem a 105°C durante 24 h (metodologia 930.15), cinza por incineração a 550°C durante 10 h (metodologia 942.05), proteína (N × 6,25) pelo método de Kjeldahl após digestão ácida (metodologia 954.01). O teor de gordura foi determinado pelo método de Bligh e Dyer (1959). A determinação de fibra em detergente neutro (FDN) segundo Van Soest; Robertson; Lewis, 1991. Fósforo foi determinado pelo método de Tedesco et al.,1995.

4.2.4 Determinação de Proteína Carbonil e GSH

A proteína carbonil foi avaliada no fígado e brânquias dos peixes através do método descrito por Yan et al. (1995) com modificações descritas em Müller et al., (2017). A carbonilação total foi calculada utilizando um coeficiente de extinção molar de 22.000 M/cm e foi expressa como nmol carbonil/mg de proteína.

A glutatona reduzida (GSH) foi ensaiada utilizando-se a medida dos tióis não proteicos (Ellman; 1959), utilizando uma curva de GSH como padrão. Alíquotas de 50uL de homogenado foram desproteinizadas utilizando-se 100 uL de TCA e centrifugados 3000 x g por 10 minutos a 4°C. Foi utilizado alíquotas de 5-20 uL de sobrenadante para medir a quantidade de GSH, o sobrenadante foi misturado ao DTNB (5,5-ácido ditiobis-2-nitrobenzóico, 0,01 M dissolvido em etanol). A GSH foi quantificada medindo-se a absorvância em 412 nm depois de uma hora de incubação no escuro utilizando-se leitor de microplacas. Os resultados foram expressos em nmol de GSH/g de proteína.

4.2.5 Determinação da atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx e GST)

Os tecidos (fígado e brânquia) foram homogeneizados com tampão Tris-HCl 50 mM, pH 7,5 e centrifugados a 1400 rpm por 10 minutos, de acordo com padronizações descritas em Müller et al. (2017). A fração sobrenadante foi congelada a -70°C para medições posteriores. Os sobrenadantes foram utilizados para a análise de SOD, CAT, GST e GPX (fígado), GST e GPX (brânquias).

A atividade total de SOD foi avaliada testando a inibição da reação de superóxido radical na presença de adrenalina (MISRA E FRIDOVICH, 1972). A reação foi quantificada a partir da formação de adrenocromo a 480 nm em um meio contendo tampão de glicina-NaOH (50 mM, pH 10), adrenalina (1 mM) e homogenado (20-50 μL). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima que inibe 50% da taxa de oxidação da adrenalina. A atividade de SOD foi determinada em um leitor de microplacas e expressa como unidade SOD/mg de proteína.

A Catalase (CAT) foi medida através da diminuição de H_2O_2 a 240 nm (AEBI, 1984). A mistura de ensaio consistiu em 1 mL de tampão de fosfato de potássio (50 mM, pH 7,0), 0,05 mL de H_2O_2 (0,3 M) e 0,01 mL de homogeneizado. A atividade da CAT foi expressa como $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína.

A atividade da glutationaperoxidase (GPx) foi medida por espectrofotometria ultravioleta seguindo a taxa de oxidação de NADPH a 340 nm pela reação acoplada com glutationaredutase (PAGLIA E VALENTINE, 1967). A mistura de ensaio consistia em tampão de fosfato de potássio (100 mM, pH 7,0), 1 mM de NaN_3 , 1 mM de glutationa reduzida (GSH), NADPH 0,15 mM, e homogeneizado de tecido (20 μL). A reação foi iniciada pela adição de 30 μL de 0,4 mM de H_2O_2 com um volume final de 300 μL . A atividade específica foi determinada num leitor de microplacas e expressa em $\text{nmol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína.

A atividade da glutationa-S-transferase (GST) foi determinada por espectrofotometria a 340 nm utilizando o método descrito por Habig et al. (1974). A mistura de ensaio continha 1 -cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) 1 mM de etanol, 10 mM de glutationa reduzida (GSH), tampão fosfato de potássio 20 mM (pH 6,5) e 10 μL de homogeneizado de tecido. A atividade da enzima foi calculada utilizando o coeficiente de extinção molar (9,6 mM/cm). Uma unidade de GST foi definida como a quantidade de enzima necessária para catalisar o conjugado 1 mol de CDNB com GSH / min a 25°C . Os dados foram expressos como $\mu\text{mol GS-DNB}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína.

O teor de proteína do homogenado foi medido usando o método descrito em Lowry et al. (1951) utilizando albumina de soro bovino como padrão.

4.2.6 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. As diferenças foram consideradas significativas a um nível de probabilidade de 5% ($P < 0,05$).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Desempenho e crescimento

Os juvenis de jundiá aceitaram prontamente as dietas que continham níveis crescentes de ácido fólico desde o início do estudo e mantiveram comportamento normal, sem ocorrência de mortalidade durante o período experimental. O peso final, índice hepato-somático e a conversão alimentar não foram significativamente afetados pela dieta (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito da exposição ao ácido fólico sobre o desempenho do jundiá (*Rhamdia quelen*).

Variáveis	Tratamentos				
	0,0% AF	0,5% AF	1,0% AF	1,5% AF	2,0% AF
PI	7,38±2,03	7,25±2,10	7,53±2,11	7,50±2,30	7,43±1,62
PF	29,81±7,48	24,19±8,99	29,99±11,18	27,74±10,21	26,97±6,73
IHS	1,16±0,18	1,27±0,20	1,31±0,24	1,31±0,20	1,29±0,18
CAA	1,83±0,25	2,02±0,56	1,83±0,24	2,02±0,16	1,86±0,18
SOB.	100	100	100	100	100

Valores expressos como média±desvio padrão. ¹Tratamentos: 0% AF: dieta controle(sem adição de ácido fólico); dieta 0,5% AF: 0,5 de adição de ácido fólico; dieta 1,0% AF: 1 % de adição de ácido fólico; dieta 1,5% AF: 1,5 % de adição de ácido fólico; dieta 2,0% AF: 2 % de adição de ácido fólico; ²Variáveis: PI (g): Peso inicial; PF (g): Peso final; SOB (%): Sobrevivência; IHS (%)- índice hepatossomático:(peso do fígado/peso do peixe) x100;

CAA- Conversão alimentar aparente: consumo total de alimento/ganho em peso; Médias com letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

4.3.2 Indicadores de estresse oxidativo

A inclusão de 0,5% e 1%AF promoveu menor concentração de proteína carbonil no fígado e brânquias, demonstrando seu efeito protetivo sobre estes tecidos (Tabela 1). Os peixes que receberam 0,5%AF tiveram maior produção de GSH nos tecidos hepáticos e brânquias (Tabela 3).

Tabela 3. Determinação de Proteína Carbonil e GSH no fígado e nas brânquias de jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos a níveis crescentes de ácido fítico na dieta.

Variáveis	Tratamentos				
	0,0%AF	0,5%AF	1,0%AF	1,5%AF	2,0%AF
Prot. Carb. Fig.	9,19±0,62 ^a	5,85±0,36 ^b	5,65±0,32 ^b	8,96±0,63 ^a	8,56±0,57 ^a
Prot. Carb. Bran.	5,23±0,22 ^a	3,12±0,13 ^b	3,11±0,12 ^b	5,30±0,24 ^a	5,58±0,79 ^a
GSH fig.	0,49±0,03 ^c	0,91±0,06 ^a	0,81±0,06 ^b	0,46±0,05 ^c	0,44±0,04 ^c
GSH bran.	0,31±0,02 ^c	0,59±0,03 ^a	0,43±0,04 ^b	0,30±0,02 ^c	0,29±0,01 ^c

Valores expressos como média±desvio padrão.¹Tratamentos: 0%AF: dieta controle (sem adição de ácido fítico); dieta 0,5%AF: 0,5 de adição de ácido fítico; dieta 1,0%AF: 1% de adição de ácido fítico; dieta 1,5%AF: 1,5% de adição de ácido fítico; dieta 2,0%AF: 2% de adição de ácido fítico; ²Variáveis – Prot. Carb. Fig: Proteína carbonil no fígado (nmol carbonil/mg proteína); Prot. Carb. Bran.: Proteína carbonil nas brânquias(nmol carbonil/mg proteína); GSH fig.: GSH no fígado (nmol GSH/g tecido); GSH branq.: GSH nas brânquias (nmol GSH/g tecido); Médias com letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

A atividade enzimática de SOD e CAT foi maior nos jundiás que receberam 0,5% e 1,0%AF (Tabela 4). A atividade das enzimas GST e GPX foram maiores nos peixes que consumiram 0,5%AF na ração. Os animais que não receberam ácido fítico na dieta tiveram comportamento protetivo ao estresse oxidativo semelhante aos peixes que receberam níveis mais elevadas (1,5% e 2,0%AF) (Tabela 4).

Tabela 4. Atividade das enzimas SOD, CAT, GST e GPX no fígado dos jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com níveis crescentes de ácido fítico.

Variáveis	Tratamentos ¹				
	0,0% AF	0,5% AF	1,0% AF	1,5% AF	2,0% AF
SOD	3,58±0,28 ^b	5,2±0,61 ^a	5,49±0,59 ^a	3,7±0,42 ^b	3,64±0,25 ^b
CAT	3,23±0,07 ^b	4,73±0,27 ^a	4,73±0,34 ^a	3,15±0,12 ^b	3,05±0,09 ^b
GST	0,42±0,06 ^c	0,90±0,06 ^a	0,78±0,06 ^b	0,36±0,015 ^c	0,38±0,02 ^c
GPX	1,71±0,09 ^c	2,66±0,11 ^a	2,17±0,14 ^b	1,70±0,09 ^c	1,64±0,09 ^c

Valores expressos como média±desvio padrão.¹Tratamentos: 0%AF: dieta controle (sem adição de ácido fítico); dieta 0,5%AF: 0,5 de adição de ácido fítico; dieta 1,0%AF: 1% de adição de ácido fítico; dieta 1,5%AF: 1,5% de adição de ácido fítico; dieta 2,0%AF: 2% de adição de ácido fítico; ²Variáveis –SOD: Superóxido dismutases (umol min mg proteína); CAT: Catalase (umol min mg proteína); GST: Glutathione S-transferase (umol GS-DNB min/mg/proteína); GPX: Glutathione peroxidase (umol GS-DNB min/mg/proteína); Médias com letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,05). NS=não significativo (P>0,05); *P<0,05. **Fonte:** Elaboração dos autores.

4.4. DISCUSSÃO

Apesar de o peixe ser por natureza um animal vulnerável ao estresse do manejo de criação, os peixes de todos os grupos experimentais receberam prontamente a ração fornecida e não houve nenhuma morte durante o período experimental. Neste estudo, não houve diferença (P<0,05) em nenhum dos tratamentos para ganho de peso final, índice hepatossomático, e conversão alimentar aparente.

A inclusão de 0,5% e 1% de ácido fítico na dieta também promoveu efeitos notáveis na proteção contra o estresse oxidativo, evidenciado pela redução na formação de proteína carbonil. A formação da proteína carbonil é um fenômeno comum, que culmina com a oxidação de proteína e danos na integridade dos tecidos. A dosagem da carbonilação de proteínas já está consolidada como biomarcador de toxicidade de pesticidas, indicando dano oxidativo. Este biomarcador se altera em situações de toxicidade (Parvez e Raisuddin, 2005; Clasen et al., 2018). Pode-se observar que os melhores resultados foram obtidos nas menores concentrações de ácido fítico administrada, tanto no tecido hepático quanto nas brânquias, no entanto, o grupo controle mostrou valores semelhantes aos peixes que receberam níveis mais altos de ácido fítico.

Os peixes que foram alimentados com 0.5% de ácido fítico tiveram maiores níveis de GSH, que é um componente essencial do sistema antioxidante e também é utilizado na atividade da enzima glutathione-S-transferase (GST). Juntos a glutathione, somada a atividade da GST, auxiliando na detoxificação do animal de espécies reativas e eliminando peróxidos lipídicos da célula (DRINGEN, 2000; PISOSCHI E POP, 2015).

Neste sentido, o aumento dos níveis de GSH evidenciado nos tecidos dos peixes alimentados com dieta 0.5%AF comprova o efeito protetivo desta molécula contra danos oxidativos no organismo animal. Esta afirmativa é reforçada pela maior produção de enzimas antioxidantes observada no grupo 0.5%AF e 1%AF. A SOD, CAT e GPx atuam em conjunto metabolizando e eliminando oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio. A GST atua nos processos de conjugação, onde produtos da oxidação de lipídios, como aldeídos e hidroperóxidos, são eliminados como subprodutos ligados à glutathione (LUSHCHAK, 2011; ATLI et al., 2016).

É importante ressaltar que acima de 1% a presença de ácido fítico se torna um pró-oxidante, induzindo ao dano oxidativo e ocasionando efeitos indesejáveis sobre o metabolismo e desempenho do jundiá. Os resultados obtidos no presente estudo indicam que é de extrema relevância que hajam outras pesquisas sobre os benefícios que baixas concentrações de ácido fítico podem proporcionar a variadas espécies de peixes, antes de considerar como uma substância totalmente deletéria ao organismo animal.

4.5 CONCLUSÃO

Foi possível concluir com o presente estudo que a presença de pequenas doses de ácido fítico na dieta de jundiá causa um efeito protetivo contra possíveis danos oxidativos. O nível de até 1% de fitato, na alimentação desta espécie, ativa o sistema antioxidante do organismo, auxiliando assim, a diminuir a condição de estresse no sistema de criação.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBI, H.; Catalase *in vitro*. **Methods in Enzymology**, n. 105, p. 121-126, 1984. DOI: 10.1016/S0076-6879(84)05016-3.

ALI, M.; SHUJA, M.N.; ZAHOOR, M.; QADRI, I. Phytic acid: How far have we come?, **African Journal of Biotechnology**, n.9, p. 1551-1554, 2010. DOI: 10.5897/AJB10.045

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official Methods of Analysis of AOAC**, 16^a ed., Patricia Cunniff (editor), Washington, DC, 1141p., 1995.

ATLI, G.; CANLI, E.G.; EROGLU, A.; CANLI, M.; Characterization of antioxidant system parameters in four freshwater fish species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 126, p. 30-37, 2016. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2015.12.012

AVMA- **Guidelines for the euthanasia of animals**: 2013 Edition. Disponível em: <https://www.avma.org/kb/policies/documents/euthanasia.pdf>. Acesso em 24 de abril de 2016.
BLIGH, E.C.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid.Extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry Physiology**, v.37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

CLASEN, B.; LORO, V.L.; MURUSSI, C.R.; TIECHER, T.L.; MORAES, B.; ZANELLA, R.; Bioaccumulation and oxidative stress caused by pesticides in *Cyprinus carpio* reared in a rice-fish system. **Science of the Total Environment**, V. 626. p.737-743, 2018. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.154

DRINGEN, R.; GUTTERER, J.M.; HIRRLINGER, J. Glutathione metabolism in brain metabolic interaction between astrocytes and neurons in the defense against reactive oxygen species, **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 16 p. 4912-4916, 2000.

ELLMAN, G.L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, n. 82, p. 70-77, 1959.

EMPSON, K.L.; LABUZA, T.P.; Graf, E. Phytic acid as a food antioxidant, **Journal of Food Science**, n. 56, p. 560-563, 1991. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1991.tb05324.x

GRAF, E.; EATON, J.W.; Antioxidant functions of phytic acid. **Free Radical Biology and Medicine**, n. 8, p. 61-69, 1990. DOI: 10.1016/0891-5849(90)90146-A

GRASES, F.; GARCIA-FERRAGUT, L.; COSTA-BAUZÁ, A.; MARCH, J.G.; Study of the effects of different substances on the early stages of papillary stone formation, **Nephron**, n. 73, p. 561-568, 1996. DOI: 10.1159/000189141

HABIG, W.H.; PABST, M.J.; JACOBY, W.B. Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation, **Journal of Chemical Biology**, n. 249, p. 7130-7139, 1974.

- KUMAR, V.; AMIT, K.S.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review, **Food Chemistry**, n. 120, p. 945-959, 2010. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.11.052
- LEE, S.H.; PARK, H.J.; CHUN, H.K.; CHO, S.Y.; JUNG, H.J.; CHO, S.M.; KIM, D.Y.; KANG, M.S.; LILLEHOJ, H.S. Dietary phytic acid improves serum and hepatic lipid levels in aged ICR mice fed a high-cholesterol diet, **Nutrition Research**, n. 27, p. 505-510, 2007. DOI: 10.1016/j.nutres.2007.05.003
- LUSHCHAK, V.I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals, **Aquatic Toxicology**, v. 101, p. 13-30, 2011. DOI: 10.1016/j.aquatox.2010.10.006
- MCCLAIN, W.R.; D.M. GATLIN, Dietary zinc requirement of *Oreochromis aureus* and effects of dietary calcium and phytate on zinc bioavailability, **Journal of the World Aquaculture**, n. 19, p. 103-108, 1988. DOI: 10.1111/j.1749-7345.1988.tb00936.x
- MEYER, G.; FRACALOSSO, D.M.; BORBA, M.R. A importância da qualidade da energia na ração de peixes. **Panorama da Aquicultura**, v. 14, n. 83, p. 53-57, 2004.
- MISRA, H.P.; I. Fridovich, The role of superoxide anion in the auto-oxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase, **Journal of Biological Chemistry**, n. 247, p. 3170-3175, 1972.
- MÜLLER, T.E.; NUNES, M.E.; MENEZES, C.C.; MARINS, A.T.; LEITEMPERGER, J.; GRESSLER, A.C.L.; CARVALHO, F.B.; DE FREITAS, C.M.; QUADROS, V.A.; FACHINETTO, R.; ROSEMBERG, D.B; LORO, V.L. Sodium selenite prevents paraquat-induced neurotoxicity in zebrafish. **Molecular Neurobiology**, n.1, p.1-14, 2017. DOI: 10.1007/s12035-017-0441-6
- OKAZAKI, Y.; KAYASHIMA, T.; KATAYAMA, T. Effect of dietary phytic acid on hepatic activities of lipogenic and drug-metabolizing enzymes in rats fed 1,1,1-trichloro-2,2-bis (P-chlorophenyl) ethane (DDT), **Nutrition Research**, n. 23, p. 1089-1096, 2003. DOI: 10.1016/S0271-5317(03)00101-5
- PAGLIA, D.E.; VALENTINE, W.N.; Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathione peroxidase, **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, n. 70, p. 158-165, 1987.
- PARVEZ, S.; RAISUDDIN, S. Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctate* (Bloch). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 20, p. 112-117, 2005. DOI: 10.1016/j.etap. 2004.11.002
- PISOSCHI, A.M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55-74, 2015. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040
- RIZVI, I.; RIGGS, D.R.; JACKSON, B.J.; CUNNINGHAM, C.; MCFADDEN, D.W. Inositol hexaphosphate (IP6) inhibits cellular proliferation in melanoma, **Journal of Surgical Research**, n. 133, p. 3-6, 2006. DOI: 10.1016/j.jss.2006.02.023

SALHI, M.; Chediak, G.; Bellagamba, M.; Carnevia, D. Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. **Aquaculture**, v. 231, p. 435–444, 2004.

SOUZA, R.G.C.; PIÑEYRO, J.I.G.; CARDOSO, N.A; ANDRADE, J.E.; SILVA, J.G.; BARBOSA, H.T.B. Stocking density and its effects to the zootechnical development of young tambaqui in an intensive production system, **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, n. 4, p. 80-92, 2016. DOI: 10.2312/ActaFish.2016.4.1.80-92

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995. 147p. (Boletim Técnico, 5).

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

XU, Y.; LIU, X.; PRESTIWICH, G.D. Synthesis of phosphatase-resistant analogues of phytic acid (InsP6), **Tetrahedron Letters**, n.46, p. 8311-8314, 2005. DOI: 10.1016/j.tetlet.2005.09.175

YAN, L.J.; TRABER, M.G.; PACKER, L. Spectrophotometric method for determination of carbonyls in oxidatively modified apolipoprotein B of human low-density lipoproteins. **Analytical Biochemistry**, n. 228, p. 349-351, 1995. DOI: 10.1006/abio.1995.1362

5 DISCUSSÃO GERAL

Como resultados desta pesquisa pode-se observar que a adição de 0,5%AF demonstra efeito sobre o metabolismo de gordura, uma vez que de os peixes apresentaram menor índice de gordura visceral (IGV) do que os que não receberam ácido fítico na dieta.

Houve uma diminuição de glicogênio hepático nos jundiás que receberam 5%AF em comparação aos peixes que receberam 2,0%AF na dieta.

No entanto, a idéia inicial de molécula inibidora de protease é confirmada com a adição de 2,0%AF na alimentação dos jundiás, pois com esta concentração os peixes tiveram menor produção de enzimas proteases no estômago.

A maior porcentagem de proteína na composição corporal dos peixes, que receberam 1,5%AF em comparação ao grupo controle, e a menor concentração lipídica nos grupos que receberam qualquer nível de ácido fítico na dieta, demonstra que a presença dessa substância atua melhorando a qualidade do pescado.

A inclusão de 0,5% e 1% de ácido fítico na dieta promoveu efeitos notáveis na proteção contra o estresse oxidativo, evidenciado pela redução na formação de proteína carbonil. A formação da proteína carbonil é resultado da oxidação da proteína e de danos nos tecidos e sua dosagem é utilizada como biomarcador que se altera em situações de toxicidade (Clasen et al., 2018; Parvez e Raisuddin, 2005;).

Os peixes que foram alimentados com 0,5% de ácido fítico tiveram maiores níveis de GSH, que é um componente essencial do sistema antioxidante e também é necessário para a atividade da enzima glutathione-S-transferase (GST). Juntas a glutathione, somada a atividade da GST, atuam desintoxicando o metabolismo animal de espécies reativas e eliminando peróxidos lipídicos da célula como aldeídos e hidroperóxidos (ATLI et al., 2016; DRINGEN, 2000; LUSHCHAK, 2011; PISOSCHI; POP, 2015). A maior atividade enzimática de SOD e CAT nos níveis 0,5% e 1,0%AF, assim como GST e GPX nos peixes que consumiram 0,5%AF reforça a importância de níveis baixos desta substância na alimentação dos jundiás, no efeito de defesa contra o estresse oxidativo.

Neste cenário, a adição de ácido fítico na alimentação dessa espécie, será viável somente se o produtor priorizar a melhoria na qualidade do pescado, e não ganho zootécnico, pois a substância não atua como promotor de crescimento no jundiá.

No entanto, se os animais estiverem em condição de estresse extremo, como em um sistema intensivo, o ácido fítico em baixas concentrações, atua como moderador oxidativo,

pois diminui a produção de proteína carboníl e aumenta a produção de GSH, além de aumentar a atividade de enzimas antioxidantes.

Esse estudo demonstrou que o ácido fítico pode dar uma resposta positiva ou negativa de acordo os benefícios esperados. Entretanto, a concentração de 2%AF não agrega valor zootécnico, metabólico ou antioxidante para esta espécie, e em algumas situações esse nível apresentou um comportamento antinutricional e pró-oxidante .

São necessárias outras pesquisas sobre os efeitos do ácido fítico, um assunto que ainda é envolvido por “mitos” na nutrição em geral.

6 CONCLUSÃO GERAL

Nesta pesquisa foi possível concluir que a adição de ácido fítico na dieta, não interfere no desempenho zootécnico do jundiá (*Rhamdia quelen*). Na concentração de 1,5%AF aumenta o teor proteico, além de, em qualquer nível diminuir a concentração de gordura na composição de peixe inteiro.

A inclusão de 2% de ácido fítico na deita de jundiá atua negativamente na atividade da enzima protease, no entanto, nenhum nível testado interfere na atividade das outras enzimas digestivas avaliadas.

O ácido fítico, em baixas concentrações (0,5% e 1,0%), atua como moderador oxidativo, pois diminui a produção de proteína carboníl e aumenta a produção de GSH no fígado e nas brânquias, além de aumentar a atividade de enzimas antioxidantes no fígado.

De modo geral, o ideal é tentar minimizar a concentração de ácido fítico na alimentação dos peixes, em vez de eliminá-lo completamente da dieta.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, M.; SHUJA, M.N.; ZAHOOR, M.; QADRI, I. Phytic acid: How far have we come? **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 11, p. 1551-1554, 2010.

ATLI, G.; CANLI, E.G.; EROGLU, A.; CANLI, M.; Characterization of antioxidant system parameters in four freshwater fish species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 126, p. 30-37, 2016. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2015.12.012

BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. Jundiá (*Rhamdia sp.*). In: Baldisserotto, B.; Gomes, L. C. (Eds.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**, Santa Maria, UFSM, Pp. 303-325, 470p, 2005.

BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de jundiá**. Santa Maria, Ed. UFSM, 222 p. 2004.

BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R.C.G.; DE PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J.; Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BENZAQUEN, T. Dossiê Antioxidantes. **Revista Food Ingredientes Brasil**, n. 6, 2009. Disponível em: <www.revista-fi.com>. Acesso em: 9 de maio de 2016.

BENEVIDES, C.M.J.; SOUZA, M.V.; SOUZA, R.D.B.; LOPES, M.V.; Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 18, n. 2, p. 67-79, 2011.

BERGAMIN, G. T; VEIVERBERG, C.A; SIQUEIRA, L.V; EGGERS, D. P; RADÜNZ J. N. Digestibilidade aparente de farelos vegetais tratados para remoção de antinutrientes em dietas para jundiá. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n. 8, 2013.

BIANCHI, M.L.P; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BRASIL. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Brasil inicia o maior projeto de pesquisa já elaborado para desenvolver a aquicultura, 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/35429495/brasil-inicia-o-maior-projeto-de-pesquisa-ja-elaborado-para-desenvolver-a-aquicultura>>. Acesso em: 28 de agosto de 2018

CAMARGO, S.O.; POUHEY, J.L.; MARTINS, C. Parâmetros eritrocitários do jundiá (*Rhamdia quelen*) submetido à dieta com diferentes níveis de proteína. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1406-1411, 2005.

CARLI, L.; Rosso, N.D.; Schnitzler, E.; Carneiro, P.I.B. Study of stability of phytic acid with Ni(II) complex. **Food Science and Technology**, v.26, n.1, 2006.

CARNEIRO, P.C.F; MIKOS, J.D. Frequência alimentar e crescimento de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen*. **Ciências Rurais**, v. 35, n. 1, p. 187-197, 2005.

CHELH, I.; GATELLIER, P.; SANTÉ-LHOUTELLIER, V.; Characterization of fluorescent Schiff bases formed during oxidation of pig myofibrils. **Meat Science**, v. 76, n. 2, p. 210-215, 2006.

CHENG, W.W; GUILLAUME, J. Etude de la nutrition phosphocalcique de la crevette japonaise (*Penaeus japonicus*). **CIEM Comite Mariculture**, 12-14 p, 1984.

CLASEN, B.; LORO, V.L.; MURUSSI, C.R.; TIECHER, T.L.; MORAES, B.; ZANELLA, R.; Bioaccumulation and oxidative stress caused by pesticides in *Cyprinus carpio* reared in a rice-fish system. **Science of the Total Environment**. V. 626. p.737-743, 2018. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.154

CÚNEO, F; FARFAN, J.A.; CARRARO, F.; Distribuição de fitatos em farelos de arroz estabilizado com exógena. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 20, n. 1, p. 94-98, 2000.

DALCIN, M.O.; PIANESSO, D.; SILVA V.C.; MOMBACH, P.I.; ADORIAN, T.J.; LIMA, J.S.; GOULART, F.R.; SILVA, L.P. Concentrado proteico de arroz na alimentação do jundiá (*Rhamdia quelen*). **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.70, n.1, p.306-314, 2018.

DENDOUGUI, F.; SCHWEDT, G. In vitro analysis of binding capacities of calcium to phytic acid in different food samples. **European Food Research and Technology**. v. 219, p. 409–415, 2004. [http:// dx.doi.org/10.1007/s00217-004-0912-7](http://dx.doi.org/10.1007/s00217-004-0912-7).

DESHPANDE S.S.; DAMODARAN, S.Effect of Phytate on Solubility, Activity and Conformation of Trypsin and Chymotrypsin. **Journal of Food Science**, v. 54, n. 3, 1989.

DOMÍNGUEZ, B.M.; GÓMEZ, M^a V.I.; LEÓN, F.R. O ácido fítico: Aspectos nutricionales e implicaciones analítica. **Archivos Latino Americano de Nutrición**, v. 52, n. 3, p. 219-231, 2002.

DRINGEN, R.; GUTTERER, J.M.; HIRRLINGER, J. Glutathione metabolism in brain metabolic interaction between astrocytes and neurons in the defense against reactive oxygen species, **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 16 p. 4912-4916, 2000.

EMPSON K.L.; LABUZA, T.P.E. Phytic acid as a food antioxidant. **Journal of food Science**, v. 56, n. 2, 1991.

FAO. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. **Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos**. Roma, 2016. Disponível em< <http://www.fao.org/3/a-i5555s.pdf>>. Acesso em: 10 maio de 2017

FEBLES, C.I.; ARIAS, A.; HARDISSON, A.; RODRÍGUEZ-ÁLVAREZ, C.; SIERRA, A.; Phytic acid level in infant flours. **Food Chemistry**, v. 74, n. 4, p. 437-441, 2001.

FRACALOSSO, D.M.; MEYER, G.; SANTAMARIA, F.M.; WEINGARTNER, M.; FILHO E.Z.; Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum**, v. 26, n. 3, p. 345-352, 2004.

FURUYA, W.M. **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo, Ed. Grafia & Editora, p.100, 2010.

GALDIOLI, E.M.; HAYASHI, C.; FARIA, A.C.E.A.; SOARES, C.M. Substituição parcial e total da proteína do farelo de soja pela proteína dos farelos de canola e algodão em dietas para alevinos de piavuçu, *Leporinus macrocephalus* (Garavello&Britski, 1988). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 841-847, 2001.

GÓMES, D.C.; RIVERA-HOYOS, C.M.; MORALES-ÁLVAREZ, E.D.; REYES-MONTAÑO, E.A.; VARGAS-ALEJO, N.E.; RAMÍREZ-CASALLAS, I.N.; TÜRKMEN, K.E.; SÁENZ-SUÁREZ, H.; SÁENZ-MORENO, J.A.; POUTOU-PIÑALES, R.A.; GONZÁLEZ-SANTOS, J.; ARÉVALO-GALVIS, A.; “In Silico” Characterization of 3-Phytase A and 3-Phytase B from *Aspergillus niger*. **Enzyme Research**, v. 2017, p. 23, 2017.

GRAF, E.; EATON, J.W. Antioxidant functions of phytic acid. **Free Radical Biology e Medicine**, v. 8, n. 1, p. 61-69, 1990.

GRAEFF, A.; SEGALIN, C. A.; PRUNER, E. N.; AMARAL H. J. **Produção de alevinos de Jundiá (*Rhamdia quelen*)**. Boletim técnico, 2012. Disponível em: <http://intranetdoc.epagri.sc.gov.br/producao_tecnico_cientifica/DOC_4125.pdf>. Acesso em: 20 de agosto de 2018.

GUERRIERO, G.; DI FINIZIO, A.; GARCIA, G. Stress induced changes of plasma antioxidants in aquatic sea bass. **Compendium of Biochemistry and Physiology**, part.A, v. 132, n. 1, p. 205-211, 2002.

HAMRE, K. ; CHRISTIANSEN, R.; WAAGBO, R.; MAAGE, A.; TORSTENSEN, B.E.; LYGREN, B.; LIE, O.; WATHNE, E.; ALBREKTSSEN, S.; Antioxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic Salmon (*Salmosalar*, L.): effects on growth performance and fillet quality. **Aquaculture Nutrition**, v.10, n. 2, p.113-123, 2004.

KUHN, C.R.; SOARES, G.J.D. Proteases e inibidores no processo de surimi. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 8, n. 1, p. 5-11, 2002.

KUMAR, V.; SINHA A.K.; MAKKARA H.P.S.; BECKER K.; Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. **Food Chemistry**, v. 120, n. 4, p. 945–959, 2010.

KUMAR, V.; BECKER K.; MAKKARA H.P.S.; DEVAPPA, R.K.; Isolation of phytate from *Jatropha curcas* kernel meal and effects of isolated phytate on growth, digestive physiology and metabolic changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.).**Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 9, p. 2144–2156, 2011.

LAZZARI, R.; NETO, J.R.; EMANUELLI, T.; PEDRON, F.A.; COSTA, M.L.; LOSEKANN, M.E.; CORREIA, V.; BOCHI, V.C.; Diferentes fontes protéicas para a alimentação do jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciencia Rural**, v. 36, n. 1, p. 240-246. 2006.

LEE, B.J; HENDRICKS D.G; CORNFORTH D.P. Antioxidant effects of carnosine and phytic acid in model beef system. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 394-398. 1998

LEE, S.H.; PARK, H.J.; CHO, S.Y.; JUNG, H.J.; CHO, S.M.; CHO, Y.S.; LILLEHOJ, H.S. Effects of dietary phytic acid on serum and hepatic lipid levels in diabetic KK mice. **Nutrition Research**, v. 25, n. 9, p. 869-876, 2005.

LEE, S.H.; PARK, H.J.; CHUN, H.K.; CHO, S.Y.; CHO, S.M.; LILLEHOJ, H.S.; Dietary phytic acid lowers the blood glucose level in diabetic KK mice. **Nutrition Research**, v. 26, n. 9, p. 474- 479, 2006.

LEE, S.H.; PARK, H.K.; CHUN, H.J.; CHO, S.Y.; JUNG, H.J.; CHO, S.M.; KIM, D.Y.; KANG, M.S.; LILLEHOJ, H.S. Dietary phytic acid improves serum and hepatic lipid levels in aged ICR mice fed a high-cholesterol diet. **Nutrition Research**, v. 27, p. 505-510, 2007.

LELIS, G.R.; ALBINO, L.F.T.; SILVA, C.R.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C.; BORSATTO, C.G. Suplementação dietética de fitase sobre o metabolismo de nutrientes de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1768-1773, 2010.

LIVINGSTONE, D. R.; Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, n. 8, p. 656-666, 2001.

LORO, V. L.; JORGE M. B.; SILVA K. R.; WOOD C. M. Oxidative stress parameters and antioxidant response to sublethal water borne zinc in a euryhaline teleost *Fundulus heteroclitus*: Protective effects of salinity. **Aquatic Toxicology**, v. 110-111. p. 187–193, 2012.

LOVATTO, N.M; SILVA, L.P; LOUREIRO, B.B.; GOULART, F.R; PRETTO, A; SPERONI, C.S.; RADÚNZ N. J.; LORO, V. L. Efeitos de dietas contendo concentrados proteicos vegetais no desempenho e atividade de enzimas digestivas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p. 1071-1082, 2014.

LUSHCHAK, V.I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals, **Aquatic Toxicology**, v. 101, p. 13-30, 2011. DOI: 10.1016/j.aquatox.2010.10.006

MAGA, J.A. Phytate: its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.30, n.1, p.1-9, 1982.

MASELLA R.; MASELLA, R.; DI BENEDETTO, R.; VARÌ, R.; FILESI, C.; GIOVANNINI, C.; Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 16, p. 577–586, 2005.

MELO, J.F.B.; RADUNZ NETO, J.; SILVA, J.H.S.; TROMBETTA, C.G.; Desenvolvimento e composição corporal de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Ciência Rural**, v. 32, n. 2, p. 323-327, 2004.

MESSINA, M. Phytate's potential role in reducing colon-cancer risk. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 54, n. 3/4, p. 762, 1991.

PAPAS, A.M. Diet and Antioxidant Status. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 37, n. 9, p. 999-1007, 1999.

PARVEZ, S.; RAISUDDIN, S. Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctate* (Bloch).

Environmental Toxicology and Pharmacology, v. 20, p. 112-117, 2005. DOI: 10.1016/j.etap. 2004.11.002

PISOSCHI, A.M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55-74, 2015. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040

SEKITA, A.; OKAZAKI, Y.; KATAYAMA, T. Dietary phytic acid prevents fatty liver by reducing expression of hepatic lipogenic enzymes and modulates gut microflora in rats fed a high-sucrose diet. **Nutrition**, v. 32, n. 3, p.720-722, 2016.

SPINELLI, J.; HOULE, C. R.; WEKELL, J. C. The effect of phytates on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. **Aquaculture**, v. 30, p. 71-83, 1983.

TYSKA, D.; MALLMANN, C.A; CORRÊIA, V.; TAMIOSSO, C.D; MALLMANN, A.O; RADÜNZ, J. N. Concentrados proteicos vegetais na alimentação de Jundiás (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v.43, n.7, p.1251-1257, 2013.

USMANI, N.; ANDJAFRI, A.K. Influence of Dietary Phytic Acid on the Growth, Conversion Efficiency, and Carcass Composition of Mrigal *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) Fry. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 33, p. 199–204, 2002. doi:10.1111/j.1749-7345.2002.tb00495.x