

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Câmpus de Botucatu

Influência da farinha de bagaço de uva e resveratrol na atividade de enzimas antioxidantes da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida a estresse por calor/oxigênio dissolvido e estresse por classificação de tamanho

MATHEUS GARDIM GUIMARÃES

Zootecnista

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Zootecnia

BOTUCATU – SP

JUNHO - 2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Câmpus de Botucatu

Influência da farinha de bagaço de uva e resveratrol na atividade de enzimas antioxidantes da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida a estresse por calor/oxigênio dissolvido e estresse por classificação de tamanho

MATHEUS GARDIM GUIMARÃES

Zootecnista

ORIENTADORA: Prof^a. Ass. Dra. Margarida Maria Barros

CO-ORIENTADOR: Dr Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Zootecnia

BOTUCATU – SP

JUNHO - 2020

G963i

Guimarães, Matheus Gardim

Influência da farinha de bagaço de uva e resveratrol na atividade de enzimas antioxidantes da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida a estresse por calor/oxigênio dissolvido e estresse por classificação de tamanho / Matheus Gardim Guimarães. -- Botucatu, 2020

79 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientadora: Margarida Maria Barros

Coorientadora: Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho

1. Bagaço de uva. 2. Aditivos. 3. *Oreochromis niloticus*. 4. Sistema antioxidante. 5. Estresse oxidativo. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

BIOGRAFIA

Matheus Gardim Guimarães, filho de Renato Ferreira Guimarães e Fabiana Gardim Guimarães, nasceu no município de Caieiras, São Paulo, no dia 31 de julho de 1995.

Ingressou no curso de graduação em Zootecnia no Universidade Estadual Paulista “*Júlio de Mesquita Filho*”, câmpus de Botucatu em março de 2013, concluindo-se em 01 de dezembro de 2017.

No ano seguinte, ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Curso de Mestrado, na Universidade Estadual Paulista “*Júlio de Mesquita Filho*”, câmpus de Botucatu, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Saúde de Peixes, sendo que a pesquisa desenvolvida avaliou a capacidade antioxidante e o desempenho produtivo de tilápia-do-Nilo alimentada com dietas suplementadas com farinha de bagaço de uva e resveratrol.

No dia 28 de fevereiro de 2020 submeteu-se à banca para Exame Geral de Qualificação.

*“Nada é permanente nesse
mundo cruel. Nem mesmo nossos
problemas.”*

Charles Chaplin

Aos

Meus pais, Renato Ferreira Guimarães e Fabiana Gardim Guimarães por tudo que fizeram e fazem por mim, por todos os ensinamentos e conselhos e, principalmente por serem meus melhores amigos, amo vocês mais que uma rua!

À

Minha noiva, Michele Alves de Sousa, meu amor, minha companheira, que sempre está lá para me levantar e deixar meu dia melhor. Te amo demais amore meu!!!

À

Toda minha família, que sempre está junto para o que der e vier, qualquer problema fica mais fácil de ser superado quando estamos juntos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e Nossa Senhora Aparecida, sempre me dando forças e sabedoria para conseguir conquistar todos os meus objetivos.

Aos meus pais Renato Ferreira Guimarães e Fabiana Gardim Guimarães, que desde sempre fizeram de tudo para que eu conseguisse estudar em uma boa escola e principalmente, seguir em uma área que amo, a Zootecnia, sem eles nada disso seria possível, com certeza eu não estaria onde estou hoje sem a amizade que temos e, principalmente, o amor que nos une. Amo vocês demais! Muito mais que uma rua!!!

À minha noiva, Michele Alves de Sousa, ela que é o meu amor a mais de 10 anos, minha futura esposa e mãe dos meus filhos, praticamente metade da minha vida foi ao seu lado, nós crescemos juntos e vamos envelhecer juntos, se estou aqui hoje, você tem grande parte nessa conquista, com todo apoio e incentivo para correr atrás de nossos sonhos, que com certeza iremos alcançá-los. Te amo demais amore meu!!

À minha orientadora, Profa. Assist. Dra. Margarida Maria Barros, por desde o dia que fui pedir para dar uma palestra no grupo de estudos já me acolheu, me aceitou em seu laboratório como aluno de iniciação científica (CNPq – PIBIC), me deu a oportunidade de estudar e trabalhar no exterior (Auburn University, USA), e logo depois aceitou me orientar no mestrado. Não tenho palavras para agradecer tamanha generosidade e paciência ao longo desses 2 anos, muitíssimo obrigado professora!

Ao meu co-orientador, Dr Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho, que nunca mediu esforços para ajudar, desde a época da minha graduação, durante a idealização e realização do experimento e, também, na escrita científica, acredito que está mais do que apto a ser orientador com seus próprios alunos, meu muitíssimo obrigado!

Ao Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, por todo o ensinamento desde minha graduação até as últimas matérias ministradas durante meu mestrado, e principalmente por ser um exemplo do amor pela profissão e pela pesquisa.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório, equipe AquaNutri, (Igor Simões, William Xavier, Pedro Pucci e Edgar Damasceno) e aos estagiários Rafael Colauto que é aluno de iniciação científica e Celso Murilo que acaba de ingressar no curso de mestrado.

Meu muito obrigado a todos vocês por toda ajuda e por todo esse tempo de laboratório que passei ao lado de vocês, sem vocês nada disso seria possível!!

Aos meus dois grandes amigos Igor Simões, meu irmão mais velho de outra mãe, por sempre me ajudar tanto dentro quanto fora da universidade, com certeza nossa amizade será para além da época de universidade, ao meu outro irmão mais velho de outro estado, William Xavier, sempre me auxiliando e sendo companheiro de estudo em algumas matérias, e também nas horas vagas com nossas versões de músicas hilárias. Meu muito obrigado a vocês dois, sem a ajuda de vocês eu não teria chegado até aqui!!

À equipe do LabAves (Cássio, Jessica, Priscila, Fernanda e Tatiane) por todo companheirismo entre os laboratórios, por toda ajuda nas matérias que fazíamos em conjunto, e por ser uma amizade tanto dentro quanto fora da universidade, muito obrigado!!

À Professora Giuseppina Pace Pereira Lima, por todo auxílio na elaboração do trabalho, por ter disponibilizado seu laboratório para a realização das análises e discussões sobre os resultados, muitíssimo obrigado!

À toda equipe do Laboratório Pós Colheita, por todo o auxílio nas análises, em especial ao aluno de doutorado Gean Charles Monteiro, que cedeu seu tempo para me ajudar na realização das mesmas.

À coordenação do Programa de Pós-graduação em Zootecnia – PPGZOO, pela minha formação, especificamente ao Prof. Dr. José Roberto Sartori coordenador da atual gestão.

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

Por fim, meu muitíssimo obrigado a todos! Parte desta conquista é de vocês!!

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
-------------	---

CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	2
-----------------------------	---

CAPÍTULO I

1. Uva (<i>Vitis spp.</i>).....	4
-----------------------------------	---

2. Bagaço de uva.....	7
-----------------------	---

3. Compostos fenólicos presentes no bagaço de uva.....	11
--	----

4. Uva e co-produtos na alimentação animal.....	15
---	----

5. Sistema antioxidante.....	19
------------------------------	----

6. Estresse em peixes.....	22
----------------------------	----

7. Referências.....	23
---------------------	----

CAPÍTULO II

ABSTRACT.....	36
---------------	----

1. Introduction.....	37
-----------------------------	-----------

2. Material and methods.....	40
-------------------------------------	-----------

<i>2.1. Experimental diets.....</i>	<i>40</i>
-------------------------------------	-----------

<i>2.1.1. Grape pomace flour (GPF) processing.....</i>	<i>40</i>
--	-----------

<i>2.1.2. Phenolic compounds analyses by UPLC in GPF and experimental diets.....</i>	<i>41</i>
--	-----------

<i>2.1.3. DPPH and FRAP in GPF and diets.....</i>	<i>42</i>
---	-----------

<i>2.1.4. Determination of total phenols (TP), total flavonoids (TF) and total anthocyanins (TA) in GPF and diets.....</i>	<i>42</i>
--	-----------

<i>2.2. Feeding trial (Phase I).....</i>	<i>43</i>
--	-----------

2.3. Stress and analysis (Phase II).....	44
2.3.1. Heat/dissolved oxygen-induced stress (HDOIS).....	44
2.3.2. Size-sorting-induced stress (SSIS).....	45
2.4. Hematological assay.....	45
2.5. Antioxidant enzyme activity (Phase I and II).....	46
2.6. Liver lipid peroxidation (Phase I and II).....	47
2.7. Statistical analysis.....	48
3. Results.....	48
3.1. Growth performance.....	48
3.2. Hematological parameters before and after HDOIS and SSIS.....	48
3.3. Liver antioxidant enzymes activity before and after HDOIS and SSIS.....	49
4. Discussion.....	50
5. Acknowledgments.....	56
6. References.....	56

CAPÍTULO III

Implicações.....	79
------------------	----

TABELAS

Table 1. Formulation and chemical composition of the experimental diets and GPF....	63
Table 2. Phenolic content and antioxidant analyses of the GPF and experimental diet.....	64
Table 3. Initial body weight (IBW), final body weight (FBW), weight gain (WG), feed intake (FI), feed conversion ratio (FRC), specific growth rate (SGR), Feed efficiency	

(FE), Protein efficiency ratio (PER), survival (SUR) of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 75 days.....	65
Table 4. Hematological parameters of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 30 days and subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress.....	66
Table 5. Hematological parameters of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 30 days and subjected to Size-sorting-induced stress.....	67
Table 6. Liver antioxidant enzymes activity of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 30 days and subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress.....	68
Table 7. Liver antioxidant enzymes activity of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 30 days and subjected to Size-sorting-induced stress.....	69

FIGURAS

Figure 1. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.0 GPF for Nile tilapia.....	70
Figure 2. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.2 GPF for Nile tilapia.....	71
Figure 3. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.4 GPF for Nile tilapia.....	72
Figure 4. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.6 GPF for Nile tilapia.....	73
Figure 5. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.8 GPF for Nile tilapia.....	74
Figure 6. Anthocyanins content in diet supplemented with 1.0 GPF for Nile tilapia.....	75
Figure 7. Anthocyanins content in diet supplemented with 1.5 GPF for Nile tilapia.....	76

Figure 8. Stilbene content in diet supplemented with RES for Nile
tilapia.....77

Resumo

Influência da farinha de bagaço de uva e resveratrol na atividade de enzimas antioxidantes da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida a estresse por calor/oxigênio dissolvido e estresse por classificação de tamanho

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da inclusão dietética da farinha de bagaço de uva sobre o desempenho produtivo, perfil hematológico e atividade das enzimas antioxidantes da tilápia-do-Nilo submetidas a desafio por estresse térmico e hipóxia, e desafio por classificação de tamanho. Um grupo de 600 tilápias invertidas sexualmente ($47.56 \text{ g} \pm 0.96$) foi distribuído aleatoriamente em 40 aquários de 250 L (15 peixes/aquário) e alimentados com sete dietas práticas contendo níveis de farinha de bagaço de uva 0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5% e uma dieta contendo 0,02% de resveratrol, por 75 dias. As dietas foram formuladas para conter 29% de proteína digestível e 18 MJ de energia digestível kg^{-1} . Após 30 dias de alimentação foram avaliados parâmetros hematológicos e atividade das enzimas do sistema antioxidante. Dois diferentes grupos de peixes foram submetidos a dois tipos de estresse, um grupo foi submetido ao desafio térmico e hipóxia ($34^\circ\text{C}/0,87 \text{ mg/L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido) por dois dias e, outro grupo a desafio por classificação de tamanho. Os mesmos parâmetros hematológicos e atividade das enzimas do sistema antioxidante foram determinados após os desafios. No presente estudo, o perfil hematológico da tilápia-do-Nilo se manteve dentro da faixa de normalidade preconizada para a espécie quando submetidos ao desafio térmico e hipóxia, enquanto no desafio por classificação os peixes apresentaram maiores porcentagens de hematócrito, hemoglobina e menores níveis de concentração de hemoglobina corpuscular média, demonstrando que tal estresse é mais prejudicial aos peixes. A farinha de bagaço de uva e o resveratrol foram capazes de eliminar substâncias geradas pelo estresse oxidativo, não necessitando da ação da enzima catalase frente a ambos os desafios, porém não houve efeito significativo no desempenho produtivo. Os resultados do presente estudo sugerem o nível de suplementação de 1,5% de farinha de bagaço de uva, devido a seu potencial antioxidante determinar resultados numericamente análogos ao resveratrol.

Palavras-chave: bagaço de uva, aditivos, *Oreochromis niloticus*, sistema antioxidante, estresse oxidativo.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O **Capítulo I** aborda o uso de alimentos funcionais em dietas para peixes, os quais, nos últimos anos, após a restrição de antibióticos têm sido comumente estudados buscando minimizar os efeitos deletérios impostos nos sistemas de produção intensiva. Dentre as consequências fisiológicas descritas em função do sistema intensivo de produção, o estresse oxidativo tem demonstrado prejudicar o desempenho produtivo, deprimir o sistema imunológico e interferir no bem-estar dos animais. Desta maneira, os alimentos funcionais, na forma de aditivos, vêm sendo utilizados na tentativa de minimizar os efeitos causados por danos oxidativos e por uso de fármacos. Mecanismos de ação benéficos têm sido propostos para estes aditivos, os quais podem favorecer a absorção e digestão dos nutrientes, modular o sistema imunológico e apresentar ação antioxidante. Dentre os aditivos alternativos apresenta-se o resíduo de suco integral de uva, produto obtido a partir do processamento do suco integral de uva.

Com base nas informações apresentadas no Capítulo I, o estudo apresentado no **Capítulo II** avaliou os efeitos da inclusão do resíduo de suco integral de uva ou resveratrol na dieta da tilápia-do-Nilo, por meio de parâmetros de crescimento, hematológicos e atividade enzimática do sistema antioxidante dos peixes submetidos ao estresse térmico e por classificação. O artigo intitulado: “The influence of grape pomace flour and resveratrol on antioxidant enzymes activity of Nile tilapia subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress and size sorting-induced stress” foi redigido de acordo com as normas do periódico *Aquaculture* (fator de impacto 3.022).

Capítulo I

1. UVA (*Vitis spp.*)

As uvas pertencem às maiores culturas de frutas do mundo, com produção global de cerca de 78 milhões de toneladas em 2018 (OIV, 2019). Devido aos efeitos benéficos sobre a saúde humana e sua importância econômica, a uva é amplamente cultivada em todo o mundo sendo consumida na forma de vinhos, sucos e *in natura*. Historicamente, a produção e exportação das uvas era controlada quase exclusivamente pelos países europeus tradicionais; no entanto, nos últimos anos, a América do Sul mostrou taxa significativa de crescimento na produção e exportação de uvas com duas safras por ano (RUIZ, 2011). A produção global de sucos de uvas é estimada em cerca de 29 milhões de hectolitros e o principal produtor e consumidor são os Estados Unidos da América, Brasil e Espanha (FAO e OIV, 2017).

No Brasil, a viticultura teve seu início com a chegada dos colonizadores portugueses em meados do século XVI, quando se consagrou como atividade comercial no final do século XIX com a chegada dos imigrantes italianos (PROTAS et al., 2008). De acordo com dados da Organização para Alimentação e Agricultura (2010), o Brasil ocupa a 20ª posição em termos de produção mundial de uvas. Em 2017 a produção de uvas no Brasil foi de 1,7 milhões de toneladas/ano (CAMARGO et al., 2011; Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2018).

Classificada botanicamente como *Vitis spp.*, a uva possui atualmente mais de 10.000 variedades conhecidas no mundo, predominantemente encontrada em climas temperados, sendo encontrada em todos os continentes (FERRARI et al., 2010) por se adaptarem a diferentes variedades de clima e solo (VEDANA et al., 2008). A *Vitis vinífera* é uma das duas principais espécies de uva cultivadas no Brasil, sendo mais valorizada devido a sua destinação para a elaboração de vinhos e produtos finos diversos,

possuindo custo mais elevado devido aos cuidados e gastos durante a produção, visto que é mais susceptível a doenças recorrentes na viticultura. Outra espécie de importância econômica é a *Vitis labrusca*, correspondendo aproximadamente a 80% da produção, em função da rusticidade e alta produção de mosto. Esta cultivar é destinada à produção vinícola, de sucos e seus derivados e, também, ao consumo *in natura* (SAUTTER, 2003; CAMARGO e NACHTIGAL, 2007). Segundo dados da União Brasileira de Viticultura a uva no Brasil possui três destinações diferentes, sendo elas: produção de vinhos, produção de sucos e comércio *in natura* (PEREIRA e GAMEIRO, 2008).

Devido ao crescimento da produção de uvas, o suco apresenta-se como alternativa em relação a produção de vinhos, se tornando atrativo para o investimento de pequenos e médios produtores, propagando novas agroindústrias e contribuindo para melhor estabilidade econômica do setor vitícola (RIZZON et al., 1998; IBRAVIN, 2013). A produção de suco de uva no Brasil vem aumentando a alguns anos, tendo o Rio Grande do Sul como o principal produtor de uvas e seus derivados, sendo que a produção aumentou de 126,9 milhões de litros em 2008 para 417 milhões de litros em 2018 (VITIBRASIL, 2019). Paralelamente, o consumo de suco integral demonstrou crescimento expressivo de 190,8% em 10 anos, com 11 milhões de litros em 2008 para 34 milhões de litros em 2018 (VITIBRASIL, 2019). O suco de uva é elaborado em diversas etapas, sendo estas: a recepção da matéria prima, quando é avaliado o estado sanitário; peso e teor de açúcar das uvas; separação do engaço; esmague; tratamento térmico; esgotamento; prensagem e envase a quente. A separação do engaço das bagas e esmagamento das uvas é realizada por desengaçadeira e esmagadeira mecânica (MARZAROTTO, 2005; RIZZON e MENEGUZZO, 2007).

Uvas de mesa, da espécie *Vitis labrusca*, como as cultivares ‘Isabel’, ‘Bordô’ e ‘Niágara Rosada’, correspondem a 50% de uvas comercializadas *in natura*, sendo grande

parte destinada a produção de sucos. Tais cultivares são produzidas, principalmente, na região sul do país, entre os meses de janeiro e fevereiro. Somado a isso, novas variedades apresentadas pela Embrapa Uva e Vinho também são utilizadas como ‘BRS Cora’, ‘BRS Rúbea’, ‘BRS Violeta’, ‘BRS Magna’, ‘BRS Carmen’ e os clones ‘Isabel Precoce’ e ‘Concord Clone 30’ (RIZZON e MENEGUZZO, 2007; CAMARGO et al., 2010; LIMA et al., 2014; GOMEZ et al., 2020).

A BRS Violeta é uma cultivar híbrida, obtida em 2006 a partir do cruzamento entre BRS Rúbea × IAC 1398-21 e foi lançada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Uva e Vinho, Embrapa Uva e Vinho, como alternativa para aumentar a qualidade e competitividade do vinho de mesa e do suco de uva produzido no Brasil. Esse cultivar se caracteriza por alta concentração de cor e açúcar, sendo especialmente indicado para o cultivo em zonas climáticas subtropicais como o estado de São Paulo. Tal variedade de uva está sendo disponibilizada para a indústria vinícola brasileira e é indicada para a preparação direta de sucos e a produção de vinhos ou para adição de sucos e vinhos feitos a partir das uvas Concord e Isabel, adicionando mais cor (CAMARGO et al., 2005). Com poucos anos de existência, a produção de BRS Violeta em 2011, atingiu 2400 toneladas no Rio Grande do Sul (DE MELLO e MACHADO, 2011). No entanto, em relação a uva BRS Violeta e a composição química de produtos e derivados, como mosto e suco de uva, bem como os efeitos positivos na avaliação sensorial do suco foram relatados (AZEVEDO et al., 2009; BORGES et al., 2011; SILVA et al., 2011).

O desenvolvimento da cultivar híbrida de uva BRS Violeta atendeu às necessidades de produtores e vinicultores de zonas subtropicais do Brasil. Em contraste, esta cultivar apresenta baixa concentração de resveratrol, considerado potente antioxidante (REBELLO, 2013). Resultados sugerem que a cultivar BRS Violeta pode ser considerada candidata interessante para a elaboração de suco de uva, altamente colorido e rico em

antioxidantes e para confecção de vinhos tintos jovens. Além disso, os resíduos sólidos gerados durante a elaboração dos produtos derivados da uva BRS Violeta podem ser de interesse adicional, pois ainda contêm grandes quantidades de compostos fenólicos (REBELLO, 2013).

As uvas são fonte promissora para o desenvolvimento de produtos nutracêuticos, devido à sua combinação única de fitoquímicos, tais como: flavonóides, taninos, antocianinas, ácidos fenólicos, resveratrol e fibra alimentar (TEIXEIRA et al., 2014). A maioria desses compostos bioativos está presente na casca dos frutos e sementes (MENDES et al., 2013).

2. BAGAÇO DE UVA

Atualmente, quase um terço da produção de alimentos, cerca de 1,3 bilhão de toneladas por ano, é perdida ou desperdiçada globalmente. A perda de alimentos na União Européia (UE-27) em 2006 foi de cerca de 89 milhões de toneladas, podendo aumentar para cerca de 126 milhões de toneladas até 2020, caso não sejam adotadas políticas ou prevenções adicionais (EUROPEAN COMMISSION, 2011).

O Desafio da Fome Zero lançado pelo Secretário-Geral das Nações Unidas no Rio de Janeiro no ano de 2012, durante a conferência Rio+20, refere-se ao desafio de erradicar a perda de alimentos favorecendo o desperdício zero. A redução e a reciclagem de resíduos precisam de atenção urgente, pois aumentariam a segurança alimentar, reduziriam a poluição ambiental da cadeia de produção de alimentos, diminuiriam os custos de gerenciamento de resíduos e abririam oportunidades para a produção de novos produtos, incluindo ração animal. Afim de atender a alta demanda por ração animal, o uso eficiente dos recursos disponíveis e a ampliação e busca por novos recursos,

particularmente aqueles que não competem com a alimentação humana, são essenciais para o desenvolvimento sustentável do setor agrícola. O setor de processamento de alimentos gera aproximadamente 1,81 (Índia); 6,53 (Filipinas); 32,0 (China) e 15,0 (EUA) milhões de toneladas de resíduos de frutas e vegetais, que são compostados ou despejados em aterros ou rios causando riscos ambientais (WADHWA, 2013).

Sabe-se que o processo de vinificação e extração do suco de uva gera grandes quantidades de resíduos sólidos (BRAHIM et al., 2014). Tais resíduos são denominados bagaço de uva, sendo o resíduo mais abundante do processamento das uvas (BARCIA et al., 2014). Este bagaço é constituído, principalmente, por casca, sumo e sementes (LLOBERA e CAÑELLAS, 2007), os quais contém compostos que se mantêm, mesmo depois da elaboração do suco, como corantes, antioxidantes, e outros compostos com atividades possivelmente funcionais (SILVA, 2003; CAMPOS, 2005; FERRARI, 2010).

São importantes fontes de compostos fenólicos que exibem várias propriedades bioativas como antioxidantes e antimicrobianos (BARCIA et al., 2014). Isto faz do bagaço de uva excelente opção na produção de aditivos alimentares, medicamentos, entre outros. Tal ação melhoraria a economia das viticulturas proporcionando maior valor agregado aos subprodutos (AYALA-ZAVALA et al., 2011). Dependendo das condições das uvas quando colhidas, os resíduos podem representar de 13,5 a 14,5% do volume total de uvas, podendo chegar até 20% (ROCKENBACH et al., 2008; AHMAD e ALI SIAHSAR, 2011). Esses resíduos são compostos de água, proteínas, lipídios, carboidratos, vitaminas, minerais e compostos com importantes propriedades biológicas, como fibra, vitamina C e compostos fenólicos, dependendo do tipo de resíduo, cultivar, condições climáticas de cultivo e processo de produção do suco ou vinho (AHMAD e ALI SIAHSAR, 2011; KY et al., 2014).

De acordo com o Decreto-Lei n.º 239/97, de 9 de Setembro de 1997, resíduos são quaisquer substâncias ou objetos de que o detentor se desfaz ou tem intenção ou obrigação de se desfazer, nomeadamente os previstos em portaria do Ministério da Economia, da Saúde, da Agricultura, do Desenvolvimento Rural, da Pesca e do Ambiente, em conformidade com o Catálogo Europeu de Resíduos, aprovado por decisão da Comissão Europeia. Pode, ainda, ser denominado como: resíduo é todo material descartado, individual ou coletivamente, pela ação humana, animal ou por fenômenos naturais, que seja nocivo à saúde, ao ambiente e, ao bem-estar da população (FERRARI, 2010).

Uma porção destes resíduos pode ser utilizada como fertilizante (ARVANITOYANNIS et al., 2006) e, em alguns casos, as sementes são utilizadas para extração de óleo. Entretanto, porção significativa é descartada no ambiente, sem que haja algum destino que agregue valor e evite a contaminação ambiental. O acúmulo destes materiais no solo pode prejudicar a germinação de plantas, em função da grande concentração de compostos fenólicos e taninos (NORTHUP et al., 1998).

Nos últimos anos, estudos científicos sobre a caracterização dos componentes químicos dos subprodutos residuais das uvas permitiram diferentes aplicações na tentativa de se obter ingredientes de alto valor agregado para utilização na indústria de alimentos (MUÑOZ-GONZÁLEZ et al., 2014). O bagaço de uva é especialmente rico em polifenóis, sendo que os compostos mais encontrados são as antocianinas, catequinas, procianidinas, flavonóis, ácidos fenólicos e estilbenos, em alguns casos, sendo este dificilmente encontrado em uvas brasileiras (RODRÍGUEZ et al., 2006; MAKRIS et al., 2007).

Atualmente, parte destes resíduos é utilizada para a produção de *grappa*, como ingrediente para ração animal e como combustível para caldeiras. Entretanto, parcela

significativa acaba sendo descartada no ambiente, podendo gerar contaminação ambiental (PIRRA, 2005; ARVANITOYANNIS et al., 2006).

O processamento de alimentos pode incluir ações que implicam em aumento de temperatura, como cozimento, assado, fritura, entre outros. Nestas condições, muitos compostos bioativos podem ser alterados, resultando em degradação, isomerização, polimerização, entre outras modificações, o que pode ocasionar perdas em sua atividade biológica e/ou a formação de substâncias tóxicas (YU e AHMEDNA, 2013). Alguns estudos têm avaliado a estabilidade térmica e, em geral, estes indicam a ocorrência de perdas no teor de compostos fenólicos totais e redução da capacidade antioxidante dos alimentos que passam por estes processos (ROSS et al., 2011).

Para a determinação das características de secagem da farinha de uva, MASKAN et al. (2002) compararam os processos de secagem ao ar e ao sol e o efeito da temperatura de secagem, velocidade do ar e espessura da amostra. Os autores concluíram que a velocidade do ar não afetou a secagem das amostras, mas o tempo de secagem, espessura da amostra e a temperatura do ar influenciaram o teor de umidade da farinha durante a secagem. Também concluíram que a secagem ao sol levou mais tempo que a secagem ao ar quente e, portanto, pode ser arriscada em função do possível crescimento microbiano.

SU e SILVA (2006) avaliaram os efeitos do tipo de fermentação na retenção de antocianinas totais, fenóis totais e atividade antioxidante do resíduo de mirtilo, extraído do suco antes da fermentação, fermentação da casca ou acetificação da pele. Concluiu-se que o processo de vinificação reduziu, significativamente, o teor total de antocianinas e o teor total de polifenóis dos subprodutos.

O processo de fermentação degrada a estrutura da célula do bagaço, aumentando a liberação de inúmeros compostos derivados do bagaço, incluindo polissacarídeos, manoproteínas, cutícula de semente e, certamente, polifenóis. Portanto, o tipo e a

quantidade de antioxidantes extraídos podem ser diferentes ao usar bagaço de uva fermentado em comparação ao não fermentado (Ribereau-Gayon et al., 2006).

3. COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NO BAGAÇO DE UVA

A uva é considerada uma das maiores fontes de compostos fenólicos quando comparada a outras frutas e vegetais, entretanto existe grande diversidade entre cultivares, resultando em uvas com características diferentes que estão diretamente ligadas ao perfil de polifenóis (ABE et al., 2007). As concentrações de polifenóis no suco de uva integral estão parcialmente estabelecidas, sendo tais substâncias biologicamente ativas e determinadas por diversos fatores, dentre eles: a variedade de uva, as condições climáticas, além das técnicas de cultivo e processamento (BRASIL, 2013). Como anteriormente apresentado, as uvas são matéria prima promissora para o desenvolvimento de produtos nutraceuticos, devido à sua combinação única de fitoquímicos, flavonóides, taninos, ácidos fenólicos, resveratrol e fibra alimentar (TEIXEIRA et al., 2014).

Nas plantas, os compostos fenólicos presentes podem melhorar o sistema antioxidante, aperfeiçoando o equilíbrio antioxidante e impedindo efetivamente a oxidação. Os flavonóides são os compostos fenólicos mais estudados devido à sua capacidade antioxidante total. Podem atenuar também a resposta ao estresse, pela ação das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) (LU et al., 2013). No entanto, as propriedades antioxidantes são a bioatividade mais notável dos compostos fenólicos do bagaço de uva. As características antioxidantes têm sido amplamente estudadas, incluindo a eliminação de radicais livres, inibição da oxidação lipídica e redução na formação de hidroperóxido (XIA et al., 2010).

Os compostos polifenólicos, especialmente os flavonóides, receberam atenção científica substancial devido a importantes efeitos promotores de saúde, como proteção contra aterosclerose e câncer, associados à ingestão de alimentos ricos em flavonóides (MCCULLOUGH et al., 2012). Dados indicam que os efeitos promotores de saúde dos flavonóides são amplamente baseados em suas atividades anti-inflamatórias, modulando as atividades dos principais reguladores da inflamação, podendo ser essa proteção celular mais relevante que as propriedades antioxidantes (KIM et al., 2008).

Os compostos fenólicos são poderosos antioxidantes, podendo neutralizar os radicais livres doando um elétron ou hidrogênio a ampla variedade de espécies reativas de oxigênio, nitrogênio, incluindo O_2^- e OH^- atuando, também, como quelantes de metais para converter hidroperóxidos ou pró-oxidantes de metais em compostos estáveis (TSAO e LI, 2012). Os compostos fenólicos, como quelantes de metais podem inibir diretamente a redução de Fe^{3+} , reduzindo a produção de OH reativo gerado na reação de Fenton (PERRON e BRUMAGHIM, 2009).

Os subprodutos da uva podem atuar como substâncias do tipo prebióticas, devido a quantidade de compostos bioativos, o que significa que aumentam a quantidade de bactérias saudáveis no intestino. Os mecanismos exatos de como os compostos fenólicos promovem o crescimento bacteriano não foram elucidados; no entanto, foi proposto que bactérias selecionadas possuem enzimas específicas que podem metabolizar compostos fenólicos para obter energia, além de aumentar o consumo de nutrientes como açúcares (GARCÍA-RUIZ et al., 2008). Estes podem apresentar efeitos antagônicos, por exemplo: quando utilizados adequadamente na forma de alimentos ou alimentos funcionais, são fortes antioxidantes contra o excesso de substâncias geradas no estresse oxidativo, como por exemplo EROs, sendo portanto benéficos para a saúde. Por outro lado, podem exibir

atividade pró-oxidante quando consumidos em altas doses (50 – 250 μ M), como na forma de suplementos (BOUAYED e BOHN, 2010).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários das plantas, desempenhando importantes atividades fisiológicas, sendo que sua concentração está sujeita a variações. Estes podem ser classificados em dois grupos: não flavonóides e flavonóides. Na uva, os não flavonóides são principalmente ácidos fenólicos, como por exemplo a catequina, estilbenos e os flavonóides são antocianinas, flavonóis e flavan-3-ols (monômeros, dímeros, oligômeros e polímeros, os últimos também conhecidos como taninos) (GARRIDO e BORGES, 2011). Os flavonóis são representados principalmente por rutina, quercetina e miricetina, que têm recebido considerável interesse devido às suas propriedades antioxidantes (MUDNIC et al., 2010). Entre os ácidos fenólicos, catequina, ácido gálico e ácido cafeico têm recebido atenção devido à sua atividade antioxidante, antimicrobiana e bactericida (XIA et al., 2010). Além disso, os estilbenos, particularmente o trans-resveratrol (trans-3,5,40-tri-hidroxiestilbeno), foram associados a muitos benefícios à saúde, incluindo atividade bactericida, fungicida, cardioprotetora e anticâncer, bem como aumento da longevidade em humanos (ALI et al., 2010).

As antocianinas, grupo de compostos pertencentes à classe dos flavonóides (MEDINA, 2009), representam grupo de pigmentos naturais com estruturas fenólicas variadas (VOLP et al., 2008), os quais são responsáveis pelas cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho que aparecem em frutas, flores, algumas folhas, caules e raízes de plantas (JORDÃO et al, 1998; MALACRIDA e MOTTA, 2005). As antocianinas apresentam papel importante na prevenção e/ou no retardo do aparecimento de várias doenças devido, exclusivamente, à sua atividade antioxidante, a qual é regulada pelas suas diferenças na estrutura química (VOLP et al., 2008). As principais antocianinas encontradas nas uvas são cianidina, malvidina e delfinidina. O consumo dessas

antocianinas está associado a atividades biológicas, como capacidade antioxidante e prevenção de doenças cardiovasculares (XIA et al., 2010).

Do ponto de vista nutricional, o bagaço de uva é interessante porque é fonte abundante e barata de compostos fenólicos (EL GENGAIHI et al., 2013; TOALDO et al., 2013). Devido a necessidade de processamento do bagaço de uva para sua utilização como aditivo funcional, certas precauções devem ser tomadas para a preservação de tais compostos, pois o processamento térmico pode ser considerado a maior causa das alterações nutricionais de um alimento, destruindo alguns tipos de vitaminas termolábeis, entre elas a vitamina C, por ser instável ao calor (FELLOWS, 2006).

As antocianinas são rapidamente destruídas pelo aquecimento durante o processamento e armazenamento de alimentos. Estudos demonstraram relação entre a destruição das antocianinas e o aumento da temperatura, portanto processos utilizando tempo reduzido e alta temperatura têm sido recomendados para melhor retenção desses compostos (MALACRIDA e MOTTA, 2006). Estudo demonstrou que a temperatura de aquecimento afetou o conteúdo de procianidinas do bagaço de uva e mirtilo, exceto quando aquecido a 40°C. O conteúdo total de antocianinas de bagaço de uva e mirtilo diminuiu, consideravelmente, quando a temperatura de aquecimento aumentou de 60 para 125°C, mas não foi afetada quando aquecida a 40°C. Os resultados sugeriram que o aquecimento a 40°C por até três dias pode não ter efeitos prejudiciais no perfil da procianidina e no conteúdo total de antocianinas (KHANAL et al., 2010). No entanto, a refrigeração do produto ocasionará pouca ou nenhuma perda de compostos sensoriais ou nutricionais, enquanto o congelamento causa mudanças em pigmentos, aromas e componentes nutricionais importantes (FELLOWS, 2006).

4. UVA E CO-PRODUTOS NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL

O bagaço de uva, rico em compostos fenólicos, pode ser considerado fonte de compostos com ação antioxidante de grande interesse para nutrição animal (BRENES et al., 2008). O consumo ou suplementação de polifenóis na dieta animal é capaz de auxiliar no retorno à homeostase, aumentando a atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT, GPx (KANSANEN, 2013).

Para elucidar tais benefícios, pesquisas têm sido desenvolvidas com animais de produção sendo testado resíduos do processamento, bem como os compostos antioxidantes presentes nas uvas. Pesquisas têm sido realizadas com frangos de corte. Brenes et al. (2008) avaliaram a inclusão dietética de bagaço de uva (60g kg^{-1}) para frangos de corte de 21 a 42 dias e observou-se que o bagaço de uva não prejudicou o desempenho, tamanho dos órgãos e a digestibilidade de proteínas. Os resultados de tal estudo sugeriram, também, que os polifenóis presentes no bagaço de uva foram absorvidos em níveis suficientes para contribuir para a proteção dos PUFA's presentes nas membranas e para modular a atividade antioxidante no conteúdo ileal e músculo. Neste estudo, observou-se que o potencial antioxidante do bagaço de uva foi similar ao da vitamina E. Em outro estudo, a suplementação dietética de $1,5\text{g kg}^{-1}$ e $3,0\text{g kg}^{-1}$ de hesperidina (flavonóide) e $0,2\text{g kg}^{-1}$ de acetato de tocoferol também não determinou efeito no desempenho produtivo de frangos de corte (SIMITZIS et al., 2011).

Efeitos positivos no desempenho produtivo foram observados por Zhang et al. (2014) com a suplementação de 400mg kg^{-1} de resveratrol, potente antioxidante, que determinou maior ganho de peso diário e aumento na expressão do receptor do hormônio do crescimento (GHR). Resultados semelhantes foram descritos para frangos de ossos negros “Xuefeng” (*Gallus gallus domesticus*), no que se refere ao crescimento e a

expressão do gene do hormônio do crescimento. Ainda, neste estudo, observou-se que o resveratrol reduziu o estresse oxidativo e modulou a expressão de genes relacionados ao sistema imune, após os animais serem submetidos ao estresse térmico (LIU et al., 2014).

Entretanto, como descrito em outros estudos, a suplementação dietética de 15g kg⁻¹ de bagaço de uvas vermelha para frangos de corte não determinou efeito no crescimento, porém, o residuo aumentou significativamente a digestibilidade ileal aparente de vários aminoácidos e a energia metabolizável, com efeito positivo no número de *Lactobacillus spp.* no íleo e na atividade antioxidante do sangue (DPPH) (LICHOVNIKOVA et al., 2015).

Em frangos de corte a suplementação dietética de 10 g e 50 g kg⁻¹ de bagaço de uva melhorou a capacidade antioxidante, aumentando o α -tocoferol e reduzindo o teor de ferro plasmático, entretanto, não afetou a concentração de glutathione redutase e glutathione peroxidase plasmática. Contudo, os autores afirmaram que a suplementação de bagaço de uva foi, igualmente, eficaz em potencial antioxidante se comparado à vitamina E (CHAMORRO et al., 2017).

A suplementação de 10g kg⁻¹ de bagaço de uva na dieta de frangos de corte foi capaz de reduzir o colesterol e melhorar a qualidade de carne, sem afetar o desempenho, digestibilidade e as características da carcaça (ADITYA et al., 2018). Já em galinhas poedeiras, a suplementação dietética de 10, 20 e 30g kg⁻¹ de bagaço de uva estimulou as atividades das enzimas SOD e GPx, consequentemente, houve benefícios para o desenvolvimento, qualidade dos ovos e saúde animal (REIS et al., 2019).

A utilização de antioxidante como aditivo na dieta de animais sob condições de estresse foi avaliada em estudo com codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 55 dias de idade. Neste estudo utilizou-se dietas suplementadas com 0, 200, e 400 mg kg⁻¹ de resveratrol e foi determinado que o maior nível melhorou a capacidade

antioxidante quando os animais foram submetidos ao estresse térmico de 34°C por 8 horas/dia durante 12 semanas (SAHIN et al., 2012).

Pesquisas com a uva e seus compostos também vêm sendo realizadas com peixes. A suplementação de 200, 400, 600 e 800 mg kg⁻¹ de proantocianidinas de semente de uva, potente antioxidante, em dietas de alevinos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) melhorou o desempenho e a composição corporal (ZHAI et al., 2014). Em contraste, Zheng et al. (2017) demonstraram que a dose dietética de 0,3g kg⁻¹ de resveratrol causou danos hepáticos e no intestino, devido ao aumento de citocinas inflamatórias.

Em pesquisa realizada com juvenis de “southern flounder” (*Paralichthys lethostigma*), Wilson et al. (2015) relataram efeitos positivos da suplementação de 0,6 mg kg⁻¹ de resveratrol no desempenho produtivo. Os autores atribuem esse efeito às propriedades antioxidantes do resveratrol e sua capacidade de prevenir o dano oxidativo da proteína carbonil e a peroxidação lipídica no tecido muscular dos peixes.

A suplementação dietética de 1,5, 4,5 e 8 mg kg⁻¹ de sementes de uva na dieta de carpa comum (*Cyprinus carpio L.*) determinou melhora significativa no ganho de peso, conversão alimentar, eficiência alimentar e taxa de crescimento específico (ABDULRAHMAN, 2016). Ainda, com a carpa comum, Nader e Abdulrahman (2017) avaliaram a suplementação de níveis de 2,5, 5,0, 7,5 e 10 mg kg⁻¹ de bagaço de uva, sendo que tais suplementações foram capazes de melhorar os parâmetros hematológicos e imunes.

Em estudo com trutas arco íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas com rações suplementadas com níveis de óleo de semente de uva de 250, 500 e 1000 mg kg⁻¹ observou-se efeito positivo no ganho de peso, sobrevivência, composição de ácidos graxos e na atividade das enzimas do sistema antioxidante. Peixes alimentados com as dietas suplementadas com 250 mg kg⁻¹ apresentaram menores níveis de SOD, CAT e

GPx, sendo tal resultado atribuído a não existência de substâncias geradas pelo estresse oxidativo devido a ação antioxidante do óleo de semente de uva (ARSLAN et al., 2018).

Em estudo com a carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) observou-se que, a suplementação dietética de 300 mg kg⁻¹ de bagaço de uva preveniu danos hepáticos induzidos pela bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, sendo que os autores atribuem esse efeito protetor à prevenção da produção excessiva de EROs, bem como a prevenção de danos lipídicos pela melhoria da atividade do sistema de defesa antioxidante enzimático e não enzimático (SOUZA et al., 2019). Em estudo com a mesma espécie de peixe e bagaço de uva (300 mg kg⁻¹ de ração), os autores observaram que houve efeito protetor no metabolismo energético branquial ligado ao metabolismo de ATP (BALDISSERA et al., 2019).

O efeito protetor de antioxidantes também foi avaliado com a tilápia-do-Nilo sob contaminação com óxido de zinco. Os autores determinaram que o licopeno e o resveratrol mitigaram os efeitos tóxicos do óxido de zinco, gerando melhor proteção quando tais aditivos foram combinados (ABDEL-DAIM et al., 2019). Resultados positivos foram descritos por Jia et al. (2019), no que se refere a proteção hepática. Os autores concluíram que o resveratrol foi capaz de minimizar o dano hepático, o processo de inflamação e a imunossupressão de tilápias injetadas com solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). A suplementação dietética de antocianina (20 e 40 mg kg⁻¹ de ração), igualmente para tilápias-do-Nilo, se mostrou benéfica por melhorar a taxa de sobrevivência em condições de estresse por amônia, em função do aumento da capacidade antioxidante, respostas imunes inespecíficas e expressão de genes relacionados à imunidade (YILMAZ, 2019).

5. SISTEMA ANTIOXIDANTE

A oxidação biológica é um processo primitivo e, em face das inevitáveis consequências da toxicidade do O_2 , a evolução forneceu estratégias defensivas apropriadas. Quando formas de vida aeróbicas mais complexas se desenvolveram, as defesas antioxidantes se diversificaram e se adaptaram às novas situações. A primeira linha de defesa corresponde às substâncias antioxidantes, como vitamina C, vitamina E, ácido úrico, glutathione e carotenóides. Além disso, no papel de segunda linha de defesa, diversas enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) impedem a cascata de reações oxidantes, interceptando e inativando os compostos intermediários reativos de oxigênio, fechando o ciclo lipídico-peroxidativo (AHMAD, 1995). As enzimas antioxidantes são cruciais no esforço para neutralizar a toxicidade do oxigênio quando o suprimento de outros compostos antioxidantes é escasso ou esgotado (AHMAD, 1995). As substâncias antioxidantes juntamente com as enzimas constituem os chamados antioxidantes primários (CADENAS, 1995).

Enzimas especialmente adaptadas, como catalase, superóxido dismutase e enzimas dependentes de glutathione (glutathione peroxidase e glutathione redutase) foram detectadas na maioria das espécies de peixes. Juntamente com essas enzimas, antioxidantes de baixo peso molecular, como carotenóides, vitaminas E, K e C, aminoácidos e peptídeos (glutathione) também foram detectados em defesas antioxidantes em peixes (RUDNEVA, 1997). Pertencente ao grupo de substâncias fenólicas antioxidantes, o resveratrol tem ação importante na expressão do gene Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) responsável pela regulação da atividade das enzimas antioxidantes (PARHIZ et al., 2015) e, portanto, auxilia o combate do estresse oxidativo.

O estresse oxidativo é definido como desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a atividade do sistema antioxidante, sendo que os produtos gerados não podem ser, efetivamente, neutralizados pelo organismo (DURAND et al., 2013; ZHONG e ZHOU, 2013). Consequentemente, as espécies reativas de oxigênio (EROs) podem danificar o DNA e cromossomos, modificar aminoácidos e contribuir para a fragmentação de proteínas, peroxidação lipídica intensificada nas membranas celulares, apoptose e necrose celular (LYKKESFELDT e SVENDSEN, 2007; LEOPOLDINI et al., 2011; LANDETE, 2013).

Em homeostase, as EROs são desativadas pela tríade de antioxidantes enzimáticos (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) e antioxidantes de baixo peso molecular (tocoferóis, ácido ascórbico) (PASZKIEWICZ et al., 2012; DURAND et al., 2013; LANDETE, 2013). A fonte exógena de antioxidante constitui a primeira linha de defesa contra a geração excessiva de EROs. Esta inclui, por exemplo, os polifenóis que protegem os componentes celulares contra danos oxidativos causados pelos radicais livres, reduzindo assim o risco de doenças neurodegenerativas associadas ao estresse oxidativo (D'ARCHIVIO et al., 2007; ZHONG e ZHOU, 2013).

A superóxido dismutase (SOD) é a primeira enzima de desintoxicação e antioxidante da célula. É importante enzima antioxidante endógena que atua como componente do sistema de defesa contra espécies reativas de oxigênio (EROs). Catalisa a dismutação de duas moléculas de ânion superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio molecular (O_2), consequentemente tornando o ânion superóxido, potencialmente prejudicial, menos perigoso. A SOD é uma metaloenzima e, portanto, requer um cofator metálico para sua atividade. Com base no tipo de íon metálico necessário como cofator pela SOD existem várias formas da enzima, como Mn-SOD

agindo na mitocôndria, e Cu/Zn-SOD agindo no citosol celular. (FRIDOVICH, 1995; DRINGEN et al., 2005).

A catalase (CAT) é uma enzima antioxidante comum presente em quase todos os tecidos vivos que utilizam oxigênio. A enzima utiliza ferro ou manganês como cofator e catalisa a degradação ou redução do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio molecular, completando, conseqüentemente, o processo de desintoxicação, iniciado pela SOD (CHELIKANI et al; 2004). A CAT é altamente eficiente, pois pode quebrar milhões de moléculas de peróxido de hidrogênio por segundo. A CAT também reage, eficientemente, com doadores de hidrogênio, como metanol, etanol, ácido fórmico ou fenóis com atividade de peroxidase (CHELIKANI et al., 2004).

A glutathione peroxidase (GPx) é a enzima intracelular importante que decompõe os peróxidos de hidrogênio (H_2O_2) em água; e peróxidos lipídicos aos seus álcoois correspondentes, principalmente nas mitocôndrias e algumas vezes no citosol (GÓTH et al., 2004). Esta enzima possui o mineral selênio como componente da sua estrutura. Por esse motivo a GPx é, frequentemente, chamada de selenocisteína peroxidase. A enzima desempenha papel crucial na inibição do processo de peroxidação lipídica e, portanto, protege as células do estresse oxidativo (GILL e TUNEJA, 2010).

Os aldeídos são substâncias que se destacam como metabólitos secundários da oxidação de lipídios. Dentre estes compostos, o malonaldeído é um dos mais abundantes, resultante da peroxidação lipídica tecidual, principalmente dos ácidos graxos araquidônico (AA, C20:4), eicosapentaenóico (EPA, C20:5) e docosaheptaenóico (DHA, C22:6). Para a sua dosagem são empregados métodos colorimétricos, como no teste do ácido tiobarbitúrico (TBA), sendo que em tal teste uma molécula de malonaldeído reage com duas de TBA. Apesar de sua simplicidade e facilidade de execução, o teste do TBA não é específico para o malonaldeído (MDA), reagindo com ampla variedade de

compostos, entre eles, outros aldeídos, açúcares, aminoácidos, proteína, aminas e bilirrubina. Por este motivo é também denominado teste das substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico, servindo como indicador do estresse oxidativo (Thiobarbituric Acid-Reactive Substances – TBARS) (MAYNE, 2003).

6. ESTRESSE EM PEIXES

As consequências do estresse em peixes resultantes das práticas da aquicultura e os métodos de minimização desses efeitos têm recebido considerável atenção ao longo dos anos (BARTON e IWAMA, 1991; MAZIK et al., 1991). O estresse altera o equilíbrio interno, homeostase, e tem efeitos prejudiciais no comportamento, crescimento, reprodução, função imunológica e tolerância a doenças (CHEN et al., 2004). Dessa forma, peixes submetidos a condições de estresse desenvolveram adaptações fisiológicas e bioquímicas para lidar, minimizar ou eliminar esses efeitos deletérios. O conjunto dessas adaptações é denominado resposta ao estresse, a qual pode ser dividida em primária, secundária e terciária (GOOS e CONSTEN, 2002; DAVIS, 2004). Como resposta primária estão relacionados os hormônios catecolaminas e corticosteróides; secundária, as alterações fisiológicas; já as terciárias são constituídas por efeitos no crescimento somático e populacional.

Na natureza, de modo geral, os fatores estressores podem ser considerados agudos, os quais normalmente são de curto prazo e alta intensidade. Essas situações envolvem reação de luta ou fuga, resultando na sobrevivência ou na morte do indivíduo. Situações crônicas nas quais a intensidade do estressor é baixa, mas persistente, são menos comuns na natureza, mas encontradas no setor aquícola (TORT, 2011). Práticas comuns na produção de peixes podem induzir ao estresse, tais como: manejo, captura, transporte,

flutuações de temperatura, saturação de oxigênio, salinidade ou condições precárias de qualidade de água. Tais fatores podem aumentar a incidência de doenças, o que pode afetar o setor aquícola (TSUZUKI et al., 2001; USHA et al., 2011).

Dentre os fatores estressores, a diminuição da saturação de oxigênio dissolvido na água pode induzir os peixes ao estresse oxidativo. Peixes submetidos à hipóxia apresentam aumento da atividade das enzimas do sistema antioxidante como: superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase no fígado (LUSHCHAK et al., 2001). Tal aumento ocorre devido à tentativa de resistir ao estresse oxidativo, pois quando esses animais são expostos a baixos níveis de oxigênio dissolvido têm a capacidade de elevar o potencial antioxidante, a fim de evitar danos oxidativos (OEHLERS et al., 2007). Foi demonstrado, em estudos anteriores, o aumento da taxa de hemoglobina para peixes submetidos a estresse térmico (TEIXEIRA et al., 2012; DAMASCENO et al., 2016) e quando associado a variações no oxigênio dissolvido na água (VICENTE et al., 2019), tais resultados demonstram a tentativa em manter a oxigenação dos tecidos. Além da baixa saturação de oxigênio, quando a oxigenação é reintroduzida no ambiente, pode ocorrer a supressão da atividade da enzima catalase e, conseqüentemente, aumento da concentração de H_2O_2 (WELKER et al., 2012).

Dentre as práticas utilizadas na produção de peixes, o manejo de classificação e transporte de peixes são consideradas atividades multi-operacionais por envolverem captura, adensamento e hipóxia, podendo resultar em perda da homeostase com maior prejuízo metabólico (URBINATI e CARNEIRO, 2004). O efeito deletério do estresse para tilápias do Nilo, após 4h de transporte foi demonstrado por Barros et al. (2014). Observou-se que houve aumento no número de eritrócitos, taxa de hemoglobina, concentração de cortisol e glicose, além da diminuição de leucócitos e linfócitos e aumento de neutrófilos.

7. REFERÊNCIAS.

- ABE, L. T.; MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de uvas *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera* L. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 394 – 400, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000200032>
- ABDEL-DAIM, M. M.; EISSA, I. A.; ABDEEN, A.; ABDEL-LATIF, H. M.; ISMAIL, M.; DAWOOD M. A.; HASSAN A. M. Lycopene and resveratrol ameliorate zinc oxide nanoparticles-induced oxidative stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Environmental Toxicology Pharmacology**, v. 69, p. 44-50, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2019.03.016>
- ABDULRAHMAN, N. M. Impact of grape seed as food supplement on growth performance, organoleptic evaluation, and proximate analysis of common carp. **Basrah Journal of Veterinary Research**, v. 15 (3), p. 183- 191, 2016.
- ADITYA, S.; OHH, S.-J.; AHAMMED, M.; & LOHAKARE, J. Supplementation of grape pomace (*Vitis vinifera*) in broiler diets and its effect on growth performance, apparent total tract digestibility of nutrients, blood profile, and meat quality. **Animal Nutrition**, v. 4(2), p. 210-214, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.01.004>
- AHMAD, S. (ed.). Preface. In: Oxidative Stress and Antioxidant. **Defenses in Biology**. Chapman & Hall, NY, p. 11–17, 1995.
- AHMAD, S. M.; & ALI SIAHSAR, B. Analogy of physicochemical attributes of two grape seeds cultivar. **Ciencia e Investigación Agraria**, v. 38(2), p. 291-301, 2011. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202011000200014>
- ARSLAN, G.; SÖNMEZ, A.Y.; YANI, K. T. Effects of grape *Vitis vinifera* seed oil supplementation on growth, survival, fatty acid profiles, antioxidant contents and blood parameters in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture Research**, v. 49 (6), p. 2256-2266, 2018. <https://doi.org/10.1111/are.13686>
- ARVANITOYANNIS, I. S.; LADAS, D.; MAVROMATIS, A. Potential uses and applications of treated wine waste: a review. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 41, n. 5, p. 475–487, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.01111.x>
- AYALA-ZAVALA, J.; VEGA-VEGA, V.; ROSAS-DOMÍNGUEZ, C.; PALAFOX-CARLOS, H.; VILLA-RODRIGUEZ, J.; SIDDIQUI, M. W.; DÁVILA-AVIÑA, J.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. Agro-industrial Potential of Exotic Fruit Byproducts as a Source of Food Additives. **Food Research International**. v. 44, p. 1866–1874, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.021>

ALI, K., MALTESE, F., CHOI, Y., & VERPOTE, R. Metabolic constituents of grapevine and grape – derived products. **Phytochemistry Reviews**, 9(3), 357–378, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11101-009-9158-0>

AZEVEDO, F. Q.; GONÇALVES, M. A.; SCHNEIDER, E. P.; PORTELA, M. N.; & RUFATO, A. R. Caracterização de mosto e suco da uva “BRS Violeta” produzida em Pelotas-RS. XVIII Congresso de Iniciação Científica; XI Encontro de Pós-Graduação - I Mostra Científica, Outubro, Pelotas, 2009. Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/cic/2009/cd/pdf/CA/CA_02009.pdf>. Acesso em 17 ago. 2019.

BARCIA, M. T.; PERTUZATTI, P. B.; RODRIGUES, D.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; GODOY, H. T. Occurrence of Low Molecular Weight Phenolics in *Vitis vinifera* Red Grape Cultivars and their Winemaking By-products from São Paulo (Brazil). **Food Research International**. Int. v. 62, p. 500–513, 2014. <https://doi.org/10.12691/ajfst-3-4A-4>

BALDISSERA, M. D.; SOUZA, C. F.; DESCOVI, S. N.; VERDI, C. M.; ZEPPENFELD, C. C.; SILVA, A. S.; et al. Grape pomace flour ameliorates *Pseudomonas aeruginosa*-induced bioenergetic dysfunction in gills of grass carp. **Aquaculture**, v. 506, p. 359–366, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.065>

BARTON, B.A.; IWAMA, G.K.; ANNU. Rev Fish dis 1 3-26, 1991. BAYER, J.; GOMER, A.; DEMIR, Y.; AMANO, H.; KISH, D. D.; FAIRCHILD, R.; and HEEGER, P. S. Effects of green tea polyphenols on murine transplant-reactive T cell immunity. **Clinical Immunology**, v. 110, p. 100–108, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2003.10.006>

BORGES, R. S.; PRUDÊNCIO, S. H.; ROBERTO, S. R.; & DE ASSIS, A. M. Avaliação sensorial de suco de uva cv. Isabel em cortes com diferentes cultivares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, Volume Especial, p. 584–591, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452011000500080>

BOUAYED J.; BOHN T. Exogenous antioxidants double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v. 3, p. 228-237, 2010. <http://dx.doi.org/10.4161/oxim.3.4.12858>

BRAHIM, M.; GAMBIER, F.; & BROSSE, N. Optimization of polyphenols extraction from grape residues in water medium. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 18-22, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.030>

BRENES, A.; VIVEROS, A.; GONI, I.; CENTENO, C.; SAYAGO-AYERDI, S. G.; ARIJA, I.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens. **Poultry Science**, v. 87, p. 307– 316, 2008. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00297>

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, tendo em vista o Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009, no Decreto nº 1.355, de 30 de dezembro de 1994, constando no processo nº 21000.001251/2013-12; através da Instrução Normativa nº 42, de 11 de setembro de 2013, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro,

a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Disponível em: <http://www.lex.com.br/legis_24833424_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_42_DE_11_DE_SETEMBRO_DE_2013.aspx>. Acesso em: 1 jun. 2019.

CADENAS, E. Mechanisms of oxygen activation and reactive oxygen species detoxification. In: Ahmad, S. (ed.), **Oxidative Stress and Antioxidant Defenses in Biology**. Chapman & Hall, New York, p. 1–46, 1995.

CAMARGO, U. A.; TONIETTO, J.; & HOFFMANN, A. Progressos na Viticultura Brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura** E, p. 144-149, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452011000500017>

CAMARGO, U. A.; NACHTIGAL, J. C. Recomendações para produção de videiras em sistemas de base ecológica. **Embrapa Uva e Vinho**. 2007. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/documentos/doc065.pdf>>. Acesso em: 06 nov. 2019.

CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P. S. Novas cultivares brasileiras de uva. Bento Gonçalves: **Embrapa Uva e Vinho**. p. 64, 2010.

CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; & NACHTIGAL, J. C. BRS Violeta: Nova cultivar de uva para suco e vinho de mesa. **Comunicado Técnico**, v. 63, 2005. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/cot063.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2019.

CAMPOS, L. M. A. S. **Obtenção de extratos de bagaço de uva Cabernet Sauvignon (Vitis vinífera): Parâmetros de processo e modelagem matemática**. 2005. 123f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. 2005.

CHAMORRO, S.; VIVEROS, A.; REBOLE, A.; ARIJA I.; ROMERO C.; ALVAREZ I.; REY A.; BRENES A. Addition of exogenous enzymes to diets containing grape pomace: effects on intestinal utilization of catechins and antioxidant status of chickens. **Food Res Int**, v. 96, p. 226–34, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.02.010>

CHELIKANI, P.; FITA, I.; LOEWEN, P. C. Diversity of structures and properties among catalases. **Cellular and Molecular Life Sciences**. v. 61, p. 192–208, 2004.

CHEN, C.; WOOSTER, G.A.; BOWSER, P.R. Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbontetrachloride, gentamicin, or copper sulfate. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 239, n. 1-4, p. 421–443, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.033>

D'ARCHIVIO, M.; FILESI, C.; DIBENEDETTO, R.; GARGIULO, R.; GIOVANNINI, C.; MASEL-LA R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanità**, 43: 348–361, 2007.

DAVIS, K. B. Temperature affects physiological stress responses to acute confinement in sunshine bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) **Comparative Biochemistry and physiology, PartA**, v. 139, p. 433-440, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2004.09.012>

DE MELLO, L. M. R., & MACHADO, C. A. E. Quantidade de uvas processadas no Rio Grande do Sul. **Banco de dados de uva, vinho e derivados**. 2011. Disponível em: <http://vitibrasil.cnpuv.embrapa.br/index.php?sopcao=sopt_07&opcao=opt_03>. Acesso em: 30 out. 2019.

DRINGEN, R.; PAWLOWSKI P. G.; HIRRLINGER, J. Peroxide detoxification by brain cells. **Journal of Neuroscience Research**, v. 79, p. 157–165, 2005. <https://doi.org/10.1002/jnr.20280>

DURAND, D.; DAMON, M.; GOBERT, M. Oxidative stress in farm animals: general aspects. **Cahiers de Nutrition et de Dietetique.**, v. 48, p. 218–224, 2013.

European Commission. Preparatory Study on Food Waste across EU 27, Technical Report. European Commission. **Roadmap to Resource Efficient Europe**. COM 571 final.v. 054, 2010.

EL GENGAHI, S.; ELLA, F. M. A., HASSAN, E. M., SHALABY, E. A., BAKER, D. H. A. Phytochemical investigation and radical scavenging activity of wastes of some grape varieties grown in Egypt. **Global Journal of Pharmacology**, v. 7, p. 465–473, 2013. doi: 10.5829/idosi.gjp.2013.7.4.1115

FAOSTAT. FAO Statistical Databases & Data-sets, 2015.

FAO e OIV. Table and dried grapes: world data available. **FAO-OIV Focus 2016**, 2017. Disponível em: <<http://www.oiv.int/js/lib/pdfjs/web/viewer.html?file=/public/medias/5268/fao-oiv-focus-2016.pdf>>. Acesso em: 15 mai. 2020.

FERRARI, V. **A sustentabilidade da vitivinicultura através de seus próprios resíduos**. 2010. 26 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Econômicas). Universidade de Caxias do sul, Rio Grande do Sul, 2010.

FELLOWS, P. J. Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e práticas. Porto Alegre, **Artmed**, v. 2, p. 602, 2006.

FRIDOVICH, I. Superoxide radical and superoxide dismutases. **Annual Review of Biochemistry**, v. 64, p. 97–112, 1995

GARCÍA-RUIZ, A.; BARTOLOMÉ, B.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A. J.; PUEYO, E.; MARTÍN-ÁLVAREZ, P. J.; MORENO-ARRIBAS, M. Potential of Phenolic Compounds for Controlling Lactic Acid Bacteria Growth in Wine. **Food Control**. v. 19, p. 835–841, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.08.018>

GARRIDO, J., & BORGES, F. Wine and grape polyphenols. A chemical perspective. **Food Research International**, v. 44, p. 3134–3148, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.002>

GILL, S. S; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiol Biochemistry**, v. 48, p. 909–930, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>

GOOS, H. J. T.; CONSTEN, D. Stress adaptation, cortisol and pubertal development in the male common carp, *Cyprinus carpio*. *Molecular and cellular Endocrinology*, v. 331, p. 145-157, 2002.

GOMEZ, H. A. G.; MARQUES, M. O. M.; BORGES, C. V. et al. Biogenic Amines and the Antioxidant Capacity of Juice and Wine from Brazilian Hybrid Grapevines. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 75, p. 258–264, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00811-5>

GÓTH L, RASS P, PÁY A. Catalase enzyme mutations and their association with diseases. **The Journal of Molecular Diagnostics**, v. 8, p. 141–149, 2004.

IBRAVIN. Instituto Brasileiro do Vinho. **Vinhos do Brasil: Principais regiões produtoras**, 2013. Disponível em: < <http://www.ibravin.org.br/regioesprodutoras.php>>. Acesso em: 16 out. 2019.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. (2013). Produção agrícola municipal. Brasília: IBGE. Disponível em:<<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela>>. Acesso em: 23 out. 2019.

JIA, R.; DU, J.; CAO, L.; JOHNSON, O.; GU, Z.; JENEY, G.; XU, P.; YIN, G. Antioxidative, inflammatory and immune responses in hydrogen peroxide-induced liver injury of tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*), **Fish Shellfish Immunology**, v. 84, p. 894–905, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.10.084>

JORDÃO, A. M.; SILVA, R.; LAUREANO, O. Influência da rega na composição fenólica das uvas tintas da casta Touriga francesa (*Vitis vinífera* L.). **Revista Ciência e Tecnologia em Alimentos**. Reynosa, v. 2, n. 2, p. 60-73, 1998.

KANSANEN, E., KUOSMANEN, S. M., LEINONEN H., LEVONEN A. L. The Keap1-Nrf2 pathway: mechanisms of activation and dysregulation in cancer. **Redox Biology**, v. 1, p. 45-49, 2013.

KHANAL, R. C.; HOWARD, L. R.; & PRIOR, R. L. Effect of heating on the stability of grape and blueberry pomace procyanidins and total anthocyanins. **Food Research International**, v. 43(5), p. 1464–1469, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.04.018>

KIM, H. P.; PARK, H.; SON, K. H; CHANG, H. W.; KANG, S. S. Biochemical pharmacology of biflavonoids: implications for anti-inflammatory action. **Archives of Pharmacal Research**. v. 31, p. 265–273, 2008.

KY, I.; LORRAIN, B.; KOLBAS, N.; CROZIER, A.; & TEISSEDRE, P.-L. Wine by-products: phenolic characterization and antioxidant activity evaluation of grapes and grape pomaces from six different French grape varieties. **Molecules**, v. 19(1), p. 482–506, 2014. <https://doi.org/10.3390/molecules19010482>

LANDETE, J. M. Dietary intake of natural antioxidants: vitamins and polyphenols. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, p. 706–721, 2013. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.555018>

LEOPOLDINI, M.; RUSSO, N.; TOSCANO, M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 125 p. 288–306, 2011. doi:10.1016/j.foodchem.2010.08.012

LICHOVNIKOVA, M.; KALHOTKA, L.; VOJTECH, A.; BORIVÓJ, K.; VOJTECH, A. The effects of red grape pomace inclusion in grower diet on amino acid digestibility, intestinal microflora, and sera and liver antioxidant activity in broilers. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 39 p. 406–412, 2015. <https://doi.org/10.3906/vet1403-64>

LIMA, M. S.; SILANI, I. S. V.; TOALDO, I. M. T.; CORREA, L. C.; BIASOTO, A. C. T.; PEREIRA, G. D.; BORDIGNON-LUIZ, M. T.; NINOW, J. L. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. **Food Chemistry**, v. 161, p. 94–103, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.109>

LIU, L. L.; HE, J. H.; XIE H. B.; YANG Y. S.; LI J. C.; ZOU Y. Resveratrol induces antioxidant and heat shock protein mRNA expression in response to heat stress in black-boned chickens. **Poultry Science**, 93, 54–62, 2014. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03423>

LLOBERA, A.; CAÑELLAS, J. Dietary Fibre Content and Antioxidant Activity of Manto Negro Red Grape (*Vitis vinifera*): Pomace and Stem. **Food Chemistry**, v. 101, p. 659–666, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.025>

LU, M.-F.; XIAO, Z.-T.; ZHANG, H.-Y. Where Do Health Benefits of Flavonoids Come From? Insights from Flavonoid Targets and their Evolutionary History. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 434, p. 701–704, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.04.035>

LYKKESFELDT, J.; SVENDSEN, O. Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals. **The Veterinary Journal**, v. 173, p. 502–511, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.06.005>

MAKRIS, D. P.; BOSKOU, G.; & ANDRIKOPOULOS, N. K. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20(2), p. 125–132, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.04.010>

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. da. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Revista Ciência e Tecnologia em Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 659–664, 2005.

MALACRIDA, R. A.; MOTTA, S. da. Antocianinas em Suco de Uva: Composição e Estabilidade. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 26, p. 59–82, 2006.

MARZAROTTO, V. Suco de Uva. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas: Matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação, mercado**. São Paulo: Edgard Blücher, p. 311–345, 2005.

MASKAN, A.; KAYA, S.; & MASKAN, M. Hot air and sun drying of grape leather (pestil). **Journal of Food Engineering**, v. 54, p. 81–88, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00188-1](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00188-1)

MAYNE, S. T. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 3, p. 933S–940S, 2003. <https://doi.org/10.1093/jn/133.3.933S>

MAZIK, P. M.; SIMCO, B. A.; PARKERN, N. C. Influence of water hardness and salts on survival and physiological characteristics of striped bass during and after transport. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 120, p. 121–126, 1991. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1991\)120<0121:IOWHAS>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1991)120<0121:IOWHAS>2.3.CO;2)

MCCULLOUGH, M. L.; PETERSON, J.J.; PATEL, R.; JACQUES, P. F.; SHAH, R.; DWYER, J. T. Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality in a prospective cohort of US adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 95, p. 454–464, 2012. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.016634>

MEDINA, A. L. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de araçá (*Psidium cattleianum*)**. 2009. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. 2009.

MELLO, L. M. R. Vitivinicultura Brasileira: Panorama 2012 **Comunicado Técnico**, v. 137, 2013. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/#a2013>>. Acesso em: 23 out. 2019.

MENDES, J. A.; PROZIL, S. O.; EVTUGUIN, D. V.; LOPES, L. P. C. Towards Comprehensive Utilization of Winemaking Residues: Characterization of Grape Skins from Red Grape Pomaces of Variety Touriga Nacional. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 25–32, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.047>

MUDNIC, I.; MODUN, D.; RASTIJA, V.; VUKOVIC, J.; BRIZIC, I.; KATALINIC, V.; KOZINA, B.; MEDIC-SARIC, M.; BOBAN, M. Antioxidative and vasodilatory effects of phenolic acids in wine. **Food Chemistry**, 119, 1205–1210, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.038>

MUÑOZ-GONZÁLEZ, C.; RODRÍGUEZ-BENCOMO, J. J.; MARTÍN-ÁLVAREZ, P. J.; MORENO-ARRIBAS, M. V.; POZO-BAYÓN, M. Á. Recovery of Aromatic Aglycones from Grape Pomace Winemaking By-products by Using Liquid–Liquid and Pressurized-Liquid Extraction. **Food Analytical Methods**, v. 7, p. 47–57, 2014. doi 10.1007/s12161-013-9597-5

NADER, P. J. & ABDULRAHMAN, N. M. Impact of black grape by-products on blood pictures in Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). **Basrah Journal of Agricultural Sciences**, v. 30(1), p. 32–37, 2017. doi:10.21276/basjas

NORTHUP, R. R.; DAHLGREN, R. A.; & MCCOLL, J. G. Polyphenols as regulators of plant-litter-soil interactions in northern California's pygmy forest: A positive feedback? **Biogeochemistry**, v. 42(1-2), p. 189–220, 1998.

ORGANISATION INTERNATIONALE DE LA VIGNE ET DU VIN. VINE AND WINE OUTLOOK 2008–2009. OIV – 18. Belgique: Peters SA. 2013. Disponível em: <<http://www.oiv.int/oiv/info/esplublicationoiv>>. Acesso em: 10 nov. 2019.

Dados da viticultura Banco de dados de uva, vinho e derivados. **Comercialização de vinhos e derivados no Rio Grande do Sul**. 2019. Disponível em: <<http://www.Vitibrasil.cnpuv.embrapa.br>>. Acesso em: 07 Nov. 2019.

PARHIZ, H.; ROOHBAKHSH, A.; SOLTANI, F.; REZAEI, R.; IRANSHAHI, M. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models. **Phytotherapy Research**, v. 29(3), p. 323–331, 2015. <https://doi.org/10.1002/ptr.5256>

PASZKIEWICZ, M.; BUDZYNSKA, A.; ROZALSKA, B.; SADOWSKA, B. The immunomodulatory role of plant polyphenols (in Polish). **Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej**, v. 66, p. 637–646, 2012.

PEREIRA, E. P.; GAMEIRO, A. H. Sistema agroindustrial da uva no Brasil: arranjos governanças e transações. Sober, **XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**. São Paulo. 2008. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/9/590.pdf>>. Acesso em: 05 set. 2018.

PERRON, N. R.; BRUMAGHIM, J. L. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 53, p. 75–100, 2009. doi 10.1007/s12013-009-9043-x

PIRRA, A. J. D. Estudos de tratabilidade aeróbia de efluentes vinícolas na Região Demarcada do Douro. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3/4, p. 255–264, 2005.

PROTAS, J. F. S.; CAMARGO, U. A.; MELLO, L. M. R. A viticultura brasileira: realidade e perspectivas. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. 2008.

REBELLO, L. P. G.; LAGO-VANZELA, E. S.; BARCIA, M. T.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; DA-SILVA, R.; CASTILLO-MUÑOZ, N.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubra × IAC 1398–21) using HPLC–DAD–ESI-MS/MS. **Food Research**. Int 54, p.354–366, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.024>

REIS, J. H.; GEBERT, R. R.; BARRETA, M.; BOIAGO, M. M.; SOUZA, C. F.; BALDISSERA, M. D.; DA SILVA, A. S. Addition of grape pomace flour in the diet on laying hens in heat stress: Impacts on health and performance as well as the fatty acid profile and total antioxidant capacity in the egg. **Journal of Thermal Biology**, v. 80, p. 141–149, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.01.003>

RIZZON, L. A.; MANFROI, V.; MENEGUZZO, J. Elaboração de suco de uva na propriedade vitícola. Bento Gonçalves: **Embrapa Uva e Vinho**. p. 2, 1998.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. Suco de uva. **Brasília: Embrapa Informação Tecnológica**, 2007.

RIBERAU-GAYON, P.; DUBOURDIEU, D.; DONECHE, B. Handbook of Enology. John Wiley: Chichester, West Sussex, England, Hoboken, NJ. 2nd ed. 2006.

- ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; & FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 238-244, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612008000500036>
- RODRÍGUEZ MONTEALEGRE, R.; ROMERO PECES, R.; CHACÓN VOZMEDIANO, J. L.; MARTÍNEZ GASCUEÑA, J.; & GARCÍA ROMERO, E. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19(6-7), p. 687-693, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.05.003>
- ROSS, C. F.; HOYE, C.; & FERNANDEZ-PLOTKA, V. C. Influence of heating on the polyphenolic content and antioxidant activity of grape seed flour. **Journal of Food Science**, v. 76(6), p. 884-90, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02280.x>
- RUDNEVA, I. I. Blood antioxidant system of Black Sea elasmobranch and teleost. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 118C, p. 255-260, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0742-8413\(97\)00111-4](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(97)00111-4)
- RUIZ, V. S. Avances em viticultura em el mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 131-143, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000500016>
- SAHIN, K., ORHAN, C., AKDEMIR, F., TUZCU, M., IBEN, C., SAHIN, C. Resveratrol protects quail hepatocytes against heat stress: modulation of the Nrf2 transcription factor and heat shock proteins. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 96, p. 66-74, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2010.01123.x>
- SAUTTER, C. K. **Avaliação da presença de resveratrol em suco de uva**. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, 2003.
- SILVA, G. G., NASCIMENTO, R. L., OLIVEIRA, V. S., ARAÚJO, A. J. B., OLIVEIRA, J. B., & PEREIRA, G. E. Características físico-químicas de sucos de uvas “Isabel Precoce” e “BRS Violeta” elaborados no Nordeste do Brasil. **Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semiárido. Embrapa Semiárido**. Documentos, 238. 353-359, 2011. Petrolina: Embrapa Semiárido. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/916687>>. Acesso em, 27 set. 2019.
- SILVA, L. M. L. R. Caracterização dos subprodutos da vinificação. Spectrum-Milenium - **Revista do ISPV**. v. 28, 2003. Disponível em: <<http://www.ipv.pt/millennium/millennium28/10.pdf>>. Acesso em: 17 abr. 2018.
- SIMITZIS, P. E., SYMEON, G. K., CHARISMIADOU, M. A., AYOUTANTI, A. G., DELIGEORGIS S. G. The effects of dietary hesperidin supplementation on broiler performance and chicken meat characteristics. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 91, p. 275-282, 2011. <https://doi.org/10.4141/cjas10094>
- SOUZA, C. F.; BALDISSERA, M. D.; DESCOVI, S. N.; ZEPPENFELD, C. C.; VERDI C. M.; SANTOS, R. C. V.; DA SILVA, A. S.; BALDISSEROTTO, B. Grape pomace

flour alleviates *Pseudomonas aeruginosa*-induced hepatic oxidative stress in grass carp by improving antioxidant defense. **Microbial Pathogenesis**, v. 129, p. 271-276, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.024>

SU, M. S.; & SILVA, J. L. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by-products as affected by fermentation. **Food Chemistry**, v. 97(3), p. 447-451, 2006.

TEIXEIRA, A.; BAENAS, N.; DOMINGUEZ-PERLES, R.; BARROS, A.; ROSA, E.; MORENO, D. A.; GARCIA-VIGUERA, C. Natural Bioactive Compounds from Winery By-products as Health Promoters: A Review. **International Journal of Molecular Science**. v. 15, p. 15638–15678, 2014. <https://doi.org/10.3390/ijms150915638>

TOALDO, I. M., FOGOLARI, O., PIMENTEL, G. C., DE GOIS, J. S., BORGES, D. L. G., CALIARI, V., BORDIGNON-LUIZ, M. Effect of grape seeds on the polyphenol bioactive content and elemental composition by ICP-MS of grape juices from *Vitis labrusca* L. **LWT - Food Science and Technology**. v. 53, p. 1–8, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.028>

TORT, L. Stress and immune modulation in fish, **Development & Comparative Immunology**, v. 35 p. 1366-1375, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.07.002>

TSAO, R; LI, H. Antioxidant properties in vitro and in vivo: realistic assessments of efficacy of plant extracts. **In Plant Sciences Reviews**, 2012.

TSUZUKI, M.Y.; OGAWA, K.; STRÜSSMANN, C.A. et al. Physiological responses after stress and subsequent recovery at different salinities in adults pejerrey *Odontesthes bonariensis*. **Aquaculture**, v. 200, p. 349-362, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00573-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00573-1)

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P. et al. **Tópicos especiais de piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: Tecart, p.171-194, 2004.

USHA, R.; EFFECT, J.; HRUBEC, T. C.; SMITH, S. A. Hematology of fishes. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. Schalm's **Veterinary Hematology**. 6th ed. **Wiley-Blackwell: Ames**, v. 126, p.994-1003, 2011.

VEDANA, M. I. S. **Efeito do processamento na atividade antioxidante da uva**. 2008. 88 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia em Alimentos). Universidade Federal do Paraná (UFPR), Paraná, 2008.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira Nutrição Clínica**, v. 23, n. 2, p. 141-149, 2008.

WADHWA, M.; BAKSHI, M. P. S. Utilization of fruit and vegetable wastes as livestock feed and as a substrate for generation of other value added products. Makkar HPS, editor. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. RAP Publication, Bangkok, Thailand. v. 04, p. 56, 2013.

- WELKER, A. F.; CAMPOS, E.G.; CARDOSO, L. A.; HERMES-LIMA, M. Role of catalase on the hypoxia/reoxygenation stress in the hypoxiatolerant Nile tilapia. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 302, p 1111–1118, 2012. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00243.2011>
- WILSON, W. N.; BAUMGARNER, B. L.; WATANABE, W. O.; ALAM, M. S.; KINSEY, S. T. Effects of resveratrol on growth and skeletal muscle physiology of juvenile southern flounder. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 183, p. 27-35, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.12.014>
- XIA, E. Q.; DENG, G. F.; GUO, Y. J.; LI, H. B. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. **Int. J. Mol. Sci.** v. 11, p. 622–646, 2010. <https://doi.org/10.3390/ijms11020622>
- YILMAZ, E.; Effects of dietary anthocyanin on innate immune parameters, gene expression responses, and ammonia resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 93, p. 694–701, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.08.033>
- YU, J.; & AHMEDNA, M. Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. **Int. Journal of Food Science and Technology**, v. 48(2), p. 221–237, 2013. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03197.x>
- ZHAI, S. W.; LU, J. J.; CHEN, X. H. Effects of dietary grape seed proanthocyanidins on growth performance, some serum biochemical parameters and body composition of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. **Italian Journal of Animal Science.**, v. 13, p. 536–540, 2014. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3357>
- ZHANG, C. M. S.; TIAN, Y.; YAN, F.; KANG, X.; HAN, R.; SUN, R.; ZHANG, H. Modulation of growth and immunity by dietary supplementation with resveratrol in Young chickens receiving conventional vaccinations. **American Journal of Veterinary Research**, v. 75, p. 752–759, 2014. <https://doi.org/10.2460/ajvr.75.8.752>
- ZHENG, Y.; ZHAO, Z.; WU, W.; SONG, C.; MENG, S.; FAN, L.; BING, X.; CHEN, J. Effects of dietary resveratrol supplementation on hepatic and serum pro-/anti-inflammatory activity in juvenile GIFT tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 73, p. 220-228, 2017. doi: 10.1016/j.dci.2017.03.030
- ZHONG, R.; ZHOU, D. Oxidative stress and role of natural plant derived antioxidants in animal reproduction. **Journal of Integrative Agriculture.**, v. 12, p. 1826–1838, 2013. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60412-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60412-8)

Capítulo II

The influence of grape pomace flour and resveratrol on antioxidant enzymes activity of Nile tilapia subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress and size-sorting-induced stress

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the effects of grape pomace flour (GPF) on productive performance, hematological profile and antioxidant enzymes activity of Nile tilapia subjected to heat/dissolved oxygen-induced-stress (HDOIS), and size-sorting-induced stress (SSIS). A group of 600 male Nile tilapia ($47.56 \text{ g} \pm 0.96$) was randomly distributed in 40 250-L aquaria (15 fish / tank) and fed eight practical diets with graded levels of GPF at 0.0; 0.2; 0.4; 0.6; 0.8; 1.0; 1.5% and 0.02% resveratrol for 75 days. The diets were formulated to contain 32% crude protein and 18 MJ kg^{-1} crude energy. After 30 days of feeding, five fish per treatment were sampled for hematological profile and antioxidant enzyme activity determination. Then, two different groups of fish were subjected to different types of stress, one group was subjected to HDOIS (34°C / 0.87 mg / L^{-1} dissolved oxygen) for two days and another group were subjected to SSIS. After both stressors, the same hematological profile and antioxidant enzyme activity were determined. Our results showed that the hematological profile of Nile tilapia remained within the normal range for the species when subjected to HDOIS, whereas in SSIS, fish showed higher levels of hematocrit, hemoglobin and lower levels of mean corpuscular hemoglobin concentration, demonstrating that such stress can be considered more harmful to fish. GPF and resveratrol were able to eliminate oxidative stress substances, not requiring the action of catalase for both challenges, but there was no significant effect on growth performance. The results of the present study suggest a dietary

supplementation level of 1.5% of grape pomace flour, due to its antioxidant potential on determining results numerically analogous to resveratrol.

Keywords: Grape residue, functional feed stuffs, *Oreochromis niloticus*, antioxidant system, oxidative stress.

Highlights:

1. CAT activity was lower in fish exposed to HDOIS and SSIS.
2. Dietary GPF and RES were able to keep erythropoiesis under HDOIS.
3. Dietary GPF and RES attenuate oxidative stress after SSIS.

1. Introduction

Grape (*Vitis vinifera* L.) crops belong to the group of main agro-economic activities in the world with around 78 million tons in 2018, 57% of which corresponds to wine grape, 36% to table fruit and 7% to raisins (OIV, 2019). Industrial processing of grape generates considerable amounts of residues, pomace and stems, which is mainly used to composting or discarded potentially causing environmental problems (Brahim et al., 2014). The grape pomace is defined as a by-product of grape industry, which consists of peels, seeds and stems (Llobera & Cañellas, 2007), and accounts for about 20% - 25% of the weight of the grape crushed (Yu & Ahmedna, 2013).

Besides the environmental issue, attention has been drawn to the agro-industrial residues, especially due to presence of bioactive compounds. Fruit processing by-products such as lemon (Baba et al., 2016), grape (Arslan et al., 2018), orange (Vicente et al., 2019) and mango (Lizárraga-Velázquez et al., 2019) have been considered as

functional feedstuff to be used by the fish-feed industry. Their functional characteristics are related, mainly, to their phenolic compounds. In grape, the presence of flavonoids, flavonols and anthocyanins can be associated with improved health, along with other compounds which are not flavonoids, such as phenolic acids and the stilbene resveratrol (Sautter et al., 2005; Ali et al., 2010; Xia et al., 2010; Krikorian et al., 2012).

The flavonols are represented mainly by rutin, quercetin and myricetin, which have received considerable interest due to their antioxidant properties (Mudnic et al., 2010). Among the flavanols, catechin, gallic acid and caffeic acid have gained attention due to their antioxidant, antimicrobial and bactericidal activity (Xia et al., 2010). The principal anthocyanins found in grapes are cyanidin, malvidin and delphinidin. The consumption of these anthocyanins is associated to biological activities, such as antioxidant capacity and prevention of cardiovascular diseases (Xia et al., 2010). Also, stilbenes, particularly trans-resveratrol (trans-3,5,4'-trihydroxystilbene), have been associated with many health benefits including bactericidal, fungicidal, cardio-protection and anticancer activity as well as increased longevity in humans (Ali et al., 2010).

Several types of biological activity are related to phenolic compounds and antioxidant capacity, which is the one most commonly investigated, is mainly associated with flavonoid compounds, although this property has also been reported for non-flavonoids. Those phenolic compounds have biological activities including, mainly, antioxidant (Abdel-Daim et al., 2019; Jia et al., 2019), anti-inflammatory (Baldiserra et al., 2019; Jia et al., 2019), immunostimulant (Ylmaz, 2019) and shows impact on skeletal muscle (Salomão et al., 2019) when include in fish feed. Therefore, the use of these by-products has been considered a promising alternative, especially to synthetic drugs used

to control disease, by increasing fish resistance to cope with many stress conditions related to fish culture.

Although researches have been conducted to clarify the beneficial effects of grapes and its by-products on fish diets, its functional aspect still demands further investigation. The beneficial effects on growth and health status were described for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) adding grape seed proanthocyanidins on diet (Zhai et al., 2014). Similar results were described by Yilmaz (2019) for Nile tilapia related to flavonoid anthocyanidins derived from blackberries. The grape seed oil has been tested, and positive results on growth performance, survival and antioxidant enzymes were described for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by Arslan et al. (2018). Resveratrol, the main antioxidant compound present in grape, has also been tested. This phenolic compound along with lycopene minimized the ZnONP-mediated oxidative stress physiological consequences for Nile tilapia (Abdel-Daim et al., 2019); its antioxidative, anti-inflammatory and hepatoprotective characteristics were described for Nile tilapia under oxidative-induced liver stress (Jia et al., 2019), and resveratrol has also been considered as a strategy to improve growth of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) along with exercise (Salomão et al., 2019).

Not only the by-products, but also the residues have been tested on fish diet. An increase on apparent digestibility coefficient and feed conversion efficiency for rainbow trout fry was described by Peña et al. (2019) adding 60 g kg⁻¹ of grape pomace flour (GPF). The modulation of inflammatory response was described by Baldissera et al. (2019a) for grass carp infected with *Pseudomonas aeruginosa* adding 150 or 300 mg of GPF kg diet⁻¹; the supplementation of 300 mg GPF kg diet⁻¹ exerted protective effects on branchial energetic metabolism linked to ATP metabolism (Baldissera et al., 2019b), and

that the same previous amount exerted hepatoprotective effect by improving enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense (Souza et al., 2019).

Based on the functional and environmentally friendly characteristics of grape residues, we assessed the dietary supplementation of grape pomace flour and resveratrol effects on Nile tilapia diet subjected to heat/dissolved oxygen and size-sorting induced stress.

2. Material and methods

This study consisted of two phases. In phase I, fish were fed experimental diets containing levels of grape pomace flour (GPF) and a resveratrol (RES) for 30 days, in order to nutritionally prepare them to cope with stress. After the feeding period, one group of fish was subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress (HDOIS) and other group to size-sorting-induced stress (SSIS), aiming to better understand the putative nutritional effect of GPF and RES on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) health. In phase II, the remained fish continued to be fed the same experimental diets until the day 75 and then the growth performance was evaluated. All experimental procedures were approved by the Animal Ethics Committee of the Veterinary and Animal Science College, São Paulo State University (protocol CEUA 0194/2018).

2.1. Experimental diets

2.1.1. Grape pomace flour (GPF) processing

Grape Pomace (BRS Violeta) was obtained from São Paulo State University (Unesp), School of Agriculture (Botucatu, SP, Brazil). The grapes were manually

destemmed and crushed in a manual crusher. Grapes were macerated in a water bath at $60 \pm 2^{\circ}\text{C}$ for 1 h, under constant stirring. After maceration, the juice was separated by draining using a light pulp crushing. The residue of drained material was collected and storage at -20°C until processing. Then, grape pomace was defrosted and dried in a forced air oven at 38°C for 24h and then, grind and storage at -20°C .

Eight practical diets were formulated to containing graded levels of GPF and RES (0; 0.2; 0.4; 0.6; 0.8; 1.0 and 1.5% GPF and 0.02% RES) (Table 1). These diets were formulated to contain 32% crude protein and 18 MJ kg^{-1} crude energy (NRC, 2011; FURUYA, 2010). Dietary ingredients were ground, homogenized in a mixer (Ação Científica[®], Piracicaba, SP, Brazil), moisturized (23% water, w:v) and extruded. Extruded pellets (3 – 4 mm) were obtained through a single-screw laboratory extruder (Extec[®], Ribeirão Preto, SP, Brazil) at 90°C and dried in a forced air oven (55°C ; 24h). After, the experimental diets were then coated with GPF and RES mixed with the same amount of carboxymethylcellulose (CMC) using an industrial blender for 10 minutes. The basal diet was coated only with CMC. Diets were stored frozen in air-tight plastic bags at -20°C for subsequent use. The chemical composition of both, GPF and the experimental diets were analyzed according to AOAC protocols (2000).

2.1.2. Phenolic compounds analyses by UHPLC in GPF and experimental diets

Briefly, phenolic compounds were extracted from GPF and experimental diets using acidified methanol solution (80:19:1 of 80% methanol, 19% H_2O and 1% acetic acid). Then, it were filtrated using membrane filters (PTFE, $0.45 \mu\text{m}$, Millipore, MA, EUA) and injected (20 μL) in an UHPLC system (Ultimate 3000 BioRS, Dionex-Thermo Fisher Scientific Inc., USA), equipped with a diode array, with flow of 0.6 mL min^{-1} , using a column Luna[®] $2.5 \mu\text{m}$ C18 (2) HST $2.0 \times 50 \text{ mm}$ (Phenomenex[®], USA) in a

temperature of 39 °C and 29 min running time (Natividade et al., 2013) (Table 2 and Figures 1 to 8).

2.1.3. DPPH and FRAP in GPF and diets

The superoxide radical scavenge activity of GPF and diets was determined as described by Brand-Williams et al. (1995) with slight modification. Briefly, dried sample (500 mg) was weighed into light-protected balance, extracted with ethanol, and mixed with a 40 µM DPPH ethanolic solution. Trolox was used as the reference standard to convert the inhibitory capacity of each sample to antioxidant power in Trolox equivalence. The ferric reducing power (FRAP) was determined according to Benzie and Strain (1996) measured at 594 nm. Results are presented on Table 2.

2.1.4. Determination of total phenols (TP), total flavonoids (TF) and total anthocyanins (TA) in GPF and diets

The TP content was determined according to Singleton and Rossi (1965). Extracts were prepared using acidified methanol solution. Folin-Ciocalteu reagent and 20% sodium carbonate were added to the mixture. The results were calculated with a gallic acid calibration curve and absorbance was measured at 725 nm.

For TF analysis, the extracts were prepared according to the method described by POPOVA et al. (2004), slightly altered. The extraction was performed through an acidified methanol solution and later, by adding a 5% aluminum chloride solution. Absorbance was measured at 425 nm (Spectrophotometer BEL Photonics®, SP 2000 UV/vis). The total flavonoids content was then calculated by means of quercetin standard curve and the results presented as mg 100 g⁻¹ quercetin equivalent of dried mass.

Total anthocyanins (TA) were evaluated by the differential pH method (GIUSTI and WROLSTAD, 2001). Absorbance was measured at 510 and 700 nm using pH 1.0 and 4.5 buffer solutions. The concentration of monomeric anthocyanins was expressed as mg cyanidine-3-glycoside equivalents per gram of flour (mg g^{-1}). Results are presented on Table 2 and Figures 1 to 8.

All biochemical analysis of GPF and diets were proceeded at Postharvest Laboratory of São Paulo State University (Unesp), Biosciences Institute at Botucatu, SP, Brazil.

2.2. Feeding trial (Phase I)

A group of 600 male Nile tilapia fingerlings was obtained from a commercial fish farm (Palmital, SP, Brazil), and transferred to AquaNutri Laboratory facilities (FMVZ, Botucatu, SP, Brazil). Then, fish were kept in wet laboratory conditions and fed basal diet with no GPF and RES supplementation for quarantine period before starting the feeding trial.

Fish were then randomly sampled (47.56 ± 0.96 g; mean $\pm$ SD), stocked in plastic tanks (250 L, 15 fish/tank) and hand-fed four times a day for 75 days to apparent satiation with experimental diets, in a completely randomized design consisting of eight treatments and five replicates. The recirculated system was supplied with 6 L min^{-1} dechlorinated tap water passing through a biological filter to reduce impurities and ammonia concentration. The photoperiod was maintained at a 12 h light:12 h dark. The water quality parameters were monitored using an YSU 556[®] multi-probe system (YSI Environmental, Yellow Springs, OH, USA) once a week: temperature (26.4 ± 0.6 °C); pH (6.55 ± 0.28); and dissolved oxygen ($7.30 \pm 0.5 \text{ mg L}^{-1}$). The ammonia concentration

was determined using a commercial test kit (Alcon[®], Camboriú, SC, Brazil). Once a week the tanks were cleaned with 10% of water exchange.

2.3. Stress and analysis (Phase I)

In brief, after 30 days of feeding period fish (five/treatment; 1 per tank) were sampled (benzocaine, 67 mg L⁻¹) for hematological profile and antioxidant enzyme activity analyses. These data were considered before stress. After, two other groups were established from the remain fish: one group was subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress (HDOIS; 20 fish per treatment) and, the other group was subjected to size-sorting induced stress (SSIS; 15 fish per treatment). After, fish from each stress were sampled, and the same hematological profile and antioxidant enzyme activity analyses were determined. These data were considered after stress. Both data, before and after, were compared aiming to understand if fish fed GPF were nutritionally better prepared to cope with stress.

2.3.1. Heat/dissolved oxygen-induced stress (HDOIS)

The warm-water challenge room contained 40 40 L-plastic aquaria with filtering system, individual aeration, and a heating system. A group of 160 fish (133.73 ± 13.09 g) was randomly distributed at a density of four fish per tank and submitted to heat/dissolved oxygen-induced stress by the gradual increase of the water temperature, according to Damasceno et al. (2016). In brief, the temperature was set at 26°C and rises up 1°C h⁻¹ (80 watts aquarium heater) till reach 34°C. Then, fish were kept under this condition for two days. At the same time the oxygenation was discontinued during the day (8h) and the oxygen concentration and saturation dropped from 3.95 ± 0.82 to 0.87 ± 0.46 mg L⁻¹, and

56.4 ± 0.72 to 11.3 ± 0.35, respectively. During the night, the oxygenation returned, and the oxygen concentration and saturation returned to initial conditions following Lushchak et al. (2005) protocol. The temperature and dissolved oxygen concentration were monitored hourly using an YSI 556® multi-probe system (YSI Environmental, Yellow Springs, OH, USA). Fish were fed the same experimental diet as in feeding trial. At the end of HDOIS, the same initial hematological profile and antioxidant enzyme activity (five fish/treatment) were evaluated.

2.3.2. Size-sorting-induced stress (SSIS)

A second group of 120 fish (138.55 ± 17.55 g) was submitted to SSIS as described by Fernandes Junior et al. (2016). In brief, groups of 15 fish/treatment were randomly collected and confined into an experimental net cage at a high stock density (140 kg m⁻³) for 15 minutes, simulating the harvesting process. Each net cage (treatment) was kept inside an isolated 250L-tank. Then, fish were transferred to a fiberglass table and sorted into three sizes i.e., small, medium, and large, as it is routinely carried out in a Nile tilapia fish farm. This practice lasted for one minute per treatment and then fish were immediately subjected to the sampling process. For such, five fish/treatment were randomly sampled, and the same hematological profile and antioxidant enzyme activity were evaluated, and stressed profile determined.

2.4. Hematological assay

After fish were randomly collected and anesthetized (benzocaine, 0.1 g L⁻¹), blood was collected from the caudal vein using a tuberculin syringe rinsed with anticoagulant (3% EDTA, Vetec, Química Fina Ltda, Duque de Caxias, RJ, Brazil) for determination

of red blood cell (RBC), hemoglobin (Hb), hematocrit (Htc), leukocyte (Leuk), total plasma protein (TPP) and albumin (ALB). Blood sample from each fish was considered a replicate. Red blood cell (RBC) was determined by dilution and enumeration using hemocytometer. The hemoglobin was determined by the cyanmethaemoglobin colorimetric method using a commercial kit (Gold Analisa Diagnóstica, Belo Horizonte, MG, Brazil) according to Collier (1944). The hematocrit was determined by microhematocrit method, as described by Goldenfarb et al. (1971). The mean corpuscular volume $[MCV = (Htc \times 10) / \text{erythrocytes}]$ and the mean corpuscular hemoglobin concentration $[MCHC = (Hb \times 100) / Htc]$ were calculated according to Wintrobe (1934).

The total plasma protein (TPP) was measured using a manual Goldberg refractometer by breaking the microhematocrit capillary just above the leucocyte layer after the hematocrit reading. The albumin concentration (ALB) was determined by the bromocresol method using the commercial kit Labtest Diagnóstica S.A. (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brazil) for colorimetric determination. The albumin:globulin ratio (A/G) was determined using albumin and total plasma protein values ($\text{Globulin} = \text{TPP} - \text{ALB}$; $A/G = \text{ALB}/\text{Globulin}$).

2.5. Antioxidant enzyme activity (Phase I)

Liver samples were obtained from the same fish that were bled for hematological profile determination, before and after HDOIS and SSIS. Fish were killed by a lethal dose of benzocaine (1.0 g L^{-1}), liver samples were collected, immediately immersed in liquid nitrogen, and stored at -80°C until enzyme activity determination. Briefly, one gram of liver samples was homogenized in 5 ml of 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0). The

homogenate was centrifuged at 5000 rpm for 20 minutes at 4°C. Supernatant was used for enzyme activity and protein content analyzes.

Superoxide dismutase (SOD; EC 1.15.1.1) activity was assayed according to Beauchamp and Fridovich (1971), which measures one unit of SOD required to inhibit 50% of nitroblue tetrazolium (NBT). The inhibition of NBT was measured spectrophotometrically (Abs) at 560 nm. Catalase (CAT; EC 1.11.1.6) activity was assayed according to Sinha (1972), in which dichromate in acetic acid is reduced to chromic acetate in the presence of H₂O₂ when heated, forming perchromic acid as an unstable intermediate. The absorbance reading was performed in spectrophotometer at 610 nm. Glutathione peroxidase (GPx; EC 1.11.1.9) activity was assayed according to Flohè and Günzler (1984). For all antioxidant enzyme assay the total protein concentration was determined according to Bradford (1976) method with Coomassie brilliant blue G-250, using bovine serum albumin as standard. The absorbance reading was performed in spectrophotometer at 320 nm. Results were expressed as U.mg pt⁻¹.

2.6. Liver lipid peroxidation (Phase I)

Concentration of malondialdehyde (MDA) was determined following the methodology described by Buege and Aust (1978). An aliquot of supernatant from the homogenate (200 µL) was mixed with 500 µL of a previously prepared solution containing 15% (w/v) trichloroacetic acid (TCA), 0.375% (w/v) thiobarbituric acid (TBA), 80% (v/v) hydrochloric acid 0.25 N and 0.01% (w/v) butylated hydroxytoluene (BHT). The mixture was heated to 100 °C for 15 min. Then, after being cooled to room temperature and centrifuged at 1500 g for 10 min, absorbance was measured at 535 nm

in the supernatant. Concentration was expressed as nmol MDA per gram of tissue, calculated from a calibration curve.

2.7. Statistical analysis

Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's test to determine possible significant differences among treatments. All analyses were conducted using the Minitab® 16.1.1.0 software. Differences among treatments were considered significant at $P < 0.05$. Each value of the data was expressed as mean $\pm$ SD. The Student *t*-test was utilized to compare values when the data presented non-parametric behavior.

3. Results

3.1. Growth performance

The growth performance was not affected ($P > 0.05$) neither by the dietary GPF nor RES supplementation, after 75 days of feeding. As to survival rate, there was a statistical difference among the treatments. The lowest survival was observed for fish fed 1.0 GPF and the highest for fish fed 0.0 and 0.4 GPF (Table 3).

3.2. Hematological parameters before and after HDOIS and SSIS

By comparing the treatments, the supplementation of GPF and RES did not affect the hematological parameters of Nile tilapia, neither before nor after HDOIS ($P > 0.05$). By the comparison of data from each treatment, before and after HDOIS, mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) decreased ($P < 0.05$) for fish fed 0.2 GPF and hematocrit (Htc) increased ($P < 0.05$) for fish fed 1.5 GPF, after stress (Table 4).

As to SSIS, the comparison among treatments showed that 0.6 and 0.8 GPF determined lower values for hemoglobin (Hb) than 1.0 GPF ($P < 0.05$), and 0.2 and 0.8 GPF lower than 1.0 GPF for MCHC, after stress. By the comparison of data from each treatment, SSIS determined an increase ($P < 0.05$) on Hb for fish fed RES, an increase ($P < 0.05$) on hematocrit (Htc) for fish fed 0.0, 0.2, 0.6 and 1.5 GPF, and a decrease ($P < 0.05$) on MCHC for fish fed 0.2 and 0.6 GPF (Table 5).

3.3. *Liver antioxidant enzymes activity before and after HDOIS and SSIS*

The dietary supplementation of GPF and RES did not affect superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) activities ($P > 0.05$), neither by the comparison among treatments nor by comparing the data of each treatment, before and after HDOIS. As to catalase (CAT), it was observed that by the comparison of treatments fish fed 0.2 GPF showed the highest enzyme activity ($P < 0.05$) if compared with fish fed RES, after stress. By the comparison of data from each treatment, before and after HDOIS, fish fed 0.6 GPF up to RES showed lower enzyme activity ($P < 0.05$), after stress. However, when comparing each data from treatment, fish fed only RES showed an increase on malondialdehyde (MDA) concentration after HDOIS (Table 6).

As to enzymes activity on SSIS, the supplementation of GPF and RES did not affect SOD, CAT and GPx activity ($P > 0.05$), neither before nor after stress by comparing treatments. However, by the comparison of the data from each treatment it was observed that fish fed 0.8 and 1.5 of GPF and RES showed a decrease ($P > 0.05$) on CAT activity after stress, and fish fed 1.0 GPF a decrease ($P > 0.05$) on GPx. As to MDA concentration, it was observed that fish fed 0.0, 0.6, 1.5 GPF and RES showed an increase ($P < 0.05$) after stress (Table 7).

4. Discussion

O intuito do presente trabalho foi determinar o nível de inclusão de grape pomace flour (GPF), resíduo de baixo custo proveniente da agroindústria de sucos integrais de uva, com ação antioxidante equivalente ao resveratrol (RES) permitindo sua substituição, em função do alto custo. De modo geral, os resultados demonstraram que a atividade antioxidante das dietas foi responsiva à suplementação de GPF e maior que a dieta suplementada com o resveratrol. Nem o GPF, nem o resveratrol influenciaram o desempenho produtivo e perfil hematológico. Entretanto, devido a ação antioxidante do GPF e RES em eliminar substâncias geradas pelo estresse oxidativo, provavelmente, não houve substrato para ação da enzima CAT quando da submissão ao estresse térmico e por classificação de tamanho.

A não influência, tanto do GPF e RES no desempenho produtivo pode ser explicada pela formulação das dietas, as quais atendem às exigências nutricionais da espécie e, ainda, pelo tempo de administração da dieta, o qual pode não ter sido suficientemente longo para permitir ação no crescimento, como demonstrado por Baldissera et al. (2019) que testaram o uso de *Vitis vinifera* por 60 dias para carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*), e Peña et al. (2019) para trutas-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) por 83 dias com resíduo de uva vermelha. A ação do resveratrol no crescimento do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) foi determinada por Salomão et al. (2019) quando os peixes foram arraçados com dietas suplementadas com 0,6 g kg⁻¹ por 30 dias, porém em combinação com exercício e concentração três vezes maior que a utilizada neste estudo.

Ressalta-se que não foi detectada concentração de resveratrol nas dietas suplementadas com GPF, somente no resíduo e na dieta suplementada com o próprio

composto e, portanto, pode-se inferir que os compostos fenólicos encontrados no GPF e nas dietas, provavelmente não possuem ação reguladora do gene do crescimento, como descrito para o resveratrol. Entretanto, futuros estudos devem ser desenvolvidos, avaliando-se não só maiores níveis de inclusão dietética e tempo de administração das dietas, mas também a expressão de genes relacionados ao sistema antioxidante como Nrf2 e Hsp70. Ressalta-se, ainda, a necessidade de se testar em condições de estresse determinados flavonóides, como antocianinas específicas que ocorreram em maior quantidade na variedade de uva testada, uma vez que apresentaram alta atividade antioxidante.

Resultados similares, em relação ao desempenho zootécnico, foram descritos com diferentes espécies de peixes alimentados com dietas suplementadas com GPF: 0,03% para carpa capim (Baldissera et al., 2019) e 1,8% para truta arco-íris (Peña et al., 2019). Compostos fenólicos extraídos de frutas têm sido testados, como de semente de manga para *Danio rerio* (Lizárraga-Velázquez et al., 2019) e antocianinas provenientes de amoras para tilápia-do-Nilo (Ylmaz, 2019) e não prejudicou o desempenho. Efeito negativo no peso final foi determinado para “*blunt snout bream*” (*Megalobrama amblycephala*) com a inclusão na dieta de 1.08% de RES, sendo tal resultado atribuído a capacidade do RES em diminuir a quantidade de gordura do tecido adiposo e visceral (Zhang et al., 2018). Diferente dos resultados do presente estudo, o uso de protoantocianidina extraída da semente de uva mostrou efeito positivo nas respostas de desempenho produtivo para tilápia-do-Nilo (Zhai et al., 2014). Resultados semelhantes foram obtidos com a carpa comum (*Cyprinus carpio*) alimentada com ração suplementada com semente de uva (Abdulrahman et al., 2016) e truta arco-íris com óleo de semente de uva (Arslan et al., 2018).

Embora no presente estudo a porcentagem de sobrevivência tenha sido estatisticamente diferente entre tratamentos, isto se deve ao comportamento agonístico, característico de espécies da família Cichlidae, como a tilápia-do-Nilo. Esta afirmação baseia-se na observação efetuada durante a pesquisa e no conhecimento da característica territorialista descrita para espécie e, portanto, não estão relacionados com a inclusão de GPF e RES nas dietas (Barreto et al., 2011).

No que se refere a saúde dos peixes, o perfil hematológico é utilizado como indicador de suas condições fisiológicas, pois reflete alterações das células do sangue, sendo influenciada por fatores extrínsecos e intrínsecos como temperatura, oxigênio dissolvido, doenças, diferentes tipos de estresse, além da condição nutricional do animal (Ranzani-Paiva et al., 2014; Barros et al., 2014). Neste estudo o perfil hematológico da tilápia-do-Nilo se manteve dentro da faixa de normalidade preconizada para a espécie e determinada em condições experimentais semelhantes, de acordo com Barros et al. (2009), Teixeira et al. (2012), Damasceno et al. (2016), Araújo et al. (2017) e Vicente et al. (2019). Observou-se que, de modo geral, que a homeostasia não se alterou quando os peixes foram submetidos ao HDOIS, independentemente do nível de inclusão de GPF e RES nas dietas. Alterações eram esperadas, quando da submissão a tal estresse, visto que o aumento da temperatura acarreta a diminuição da capacidade de saturação do oxigênio dissolvido na água (Barton, 2002). Essa alteração refere-se, principalmente, ao aumento da Hb que acarretaria melhor oxigenação dos tecidos (Teixeira et al., 2012; Damasceno et al., 2016; Vicente et al., 2019).

O estresse por classificação, quando comparado aos estresses por baixa temperatura, transporte e térmico/hipóxia, pode ser considerado uns dos manejos mais prejudiciais aos peixes (Freitas et al., unpublished data), pois envolve captura,

adensamento, hipóxia, classificação e nova estocagem. O estresse denominado de multi-fases determina maior demanda energética e maior tempo de recuperação (Barton, 2002; Conte, 2004), podendo haver consequências fisiológicas mais significativas, que podem ser observadas no perfil hematológico dos peixes submetidos ao SSIS, como aumento da porcentagem de hematócrito e, por consequência, a diminuição do CHCM, que reflete a necessidade de oxigenação.

Em ambos os estresses, HDOIS e SSIS, as alterações no perfil hematológico foram menos deletérias do que esperado. A hipótese é que as dietas possuem níveis de suplementação de vitamina C (300 mg kg^{-1} , Falcon et al., 2007) e vitamina E (50 mg kg^{-1} , NRC, 2011) que atendem às exigências da espécie para a saúde e manutenção da eritropoiese, pois atuam na síntese de células vermelhas (Hrubec & Smith, 2010) e proteção contra possível estresse oxidativo, já que tais compostos têm como característica, a capacidade de sequestro de radicais livres (Garrido & Borges, 2013) e, portanto, podendo minimizar a fragilidade eritrocitária. Embora os compostos presentes no GPF e o resveratrol apresentem característica antioxidante, esta ação pode não ter sido expressiva, uma vez que os peixes alimentados com a dieta controle não apresentaram parâmetros fora da faixa de normalidade para tilápias saudáveis.

De modo geral, o estresse por classificação demandou maior atividade do sistema antioxidante, se comparado ao estresse térmico. Os peixes alimentados com as dietas suplementadas com 0,6 a 1,5% GPF e RES (0,02%) e submetidos ao HDOIS e 0,8 e 1,5% GPF e RES (0,02%) para os submetidos ao SSIS apresentaram diminuição na atividade da enzima CAT após os desafios impostos. A menor atividade da CAT, após os estresses, pode significar que a ação desta enzima não foi necessária devido à baixa quantidade de espécies reativas do oxigênio, uma vez que a catequina, composto fenólico presente no

GPF, pode ter atuado no sequestro de espécies reativas do oxigênio, principalmente o radical ânion superóxido e peróxido de hidrogênio. As catequinas são também fortes sequestradores de radicais hidroxila e óxido nítrico e, podem também quelar íons metálicos por conta de sua estrutura catecol formando complexos estáveis com Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} (Chen et al., 2003). Este composto pode, ainda, se infiltrar na membrana fosfolipídica celular animal tornando-a mais rígida e, de certa forma, restringindo a difusão dos radicais livres (Caturla et al., 2003). A diminuição da atividade da CAT foi mais evidente nos peixes submetidos ao HDOIS, provavelmente pela menor severidade do estresse e, por consequência, menor dano oxidativo às células. Ressalta-se que, a concentração da catequina foi responsiva à suplementação dietética de GPF, sendo que a atividade, embora não significativa, foi numericamente menor com o maior nível de inclusão do produto.

A menor atividade antioxidante foi anteriormente relatada em estudos com a utilização dietética de GPF em dietas para carpa capim por Souza et al. (2019) e Baldissera et al. (2019) e, de óleo de semente de uva com a truta-arco-íris por Arslan et al. (2018). Entretanto, o aumento da capacidade antioxidante em função da inclusão dietética de GPF foi descrito para frangos de corte por Lichovnikova et al. (2015) e Chamorro et al. (2017). O efeito antioxidante do resveratrol (50 mg kg^{-1}) foi comprovado com tilápias-do-Nilo desafiadas com óxido de zinco na água (Abdel-Daim et al., 2019) e peróxido de hidrogênio por injeção intraperitoneal por Jia et al. (2019). Além dos resultados positivos obtidos com a tilápia-do-Nilo, a suplementação desse composto foi capaz de reduzir os índices de peroxidação lipídica no músculo de “southern flounder” (*Paralichthys lethostigma*), como relatado por Wilson et al. (2015).

No que se refere ao estresse oxidativo, pode-se observar que a peroxidação lipídica, expressa como malonaldeído (MDA), reflete a severidade do SSIS. De modo geral, tanto GPF como o RES suplementados na ração não foram suficientes para minimizar a peroxidação lipídica no estresse por classificação. Mesmo nos tratamentos em que não houve diferença significativa entre as concentrações, comparando-se os valores antes e após o estresse por classificação e térmico/hipóxia, a diferença no SSIS foi numericamente maior que no HDOIS. Souza et al. (2019) demonstraram que a suplementação dietética de 0,015 e 0,03% GPF foi capaz de proteger o fígado contra o dano oxidativo. A combinação de compostos antioxidantes tem sido testada em rações. Abdel-Daim et al. (2019) demonstraram que a suplementação com licopeno (0,05%) e resveratrol (0,005%), em combinação, foi eficiente para prevenir a peroxidação lipídica nos rins, fígado e brânquias da tilápia-do-Nilo submetida ao estresse induzido por óxido de zinco.

O objetivo do presente estudo foi demonstrar os benefícios em relação a tilápia-do-Nilo alimentada com dietas suplementadas com GPF e RES, portanto, nossas descobertas podem auxiliar a indústria de ração para peixes, demonstrando que utilização de resíduos provenientes da indústria de sucos integrais de uva como alimentos funcionais, podem ser utilizadas pelos piscicultores como estratégia nutricional para minimizar o estresse oxidativo e, conseqüentemente, perdas econômicas, além de contribuir para o meio ambiente, onde tais resíduos poderiam ser descartados.

Mais estudos são necessários devido aos dados encontrados no presente estudo, por exemplo, a peroxidação lipídica estatisticamente maior após os desafios e paralelamente, a menor atividade da enzima CAT, portanto é necessário a avaliação da atividade de enzimas antioxidantes adicionais e a investigação de outras fontes de peróxido de

hidrogênio sob diferentes condições de estresse, como também, a possível resposta imune frente a desafio bacteriano para animais arraçados com dietas suplementadas com GPF e RES.

Em suma, com base no perfil hematológico e na atividade das enzimas antioxidantes (CAT e GPx), a suplementação dietética de 1.5% de GPF contribuiu para a tilápia-do-Nilo manter a eritropoiese e a capacidade antioxidante sob os diferentes tipos de estresse impostos, apresentando potencial antioxidante semelhante ao do resveratrol, produto de alto custo, o que torna o GPF alternativa economicamente viável para a indústria de rações visto que, possivelmente, seria descartado no meio ambiente.

5. Acknowledgments

The study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance code 001.

6. References

- Abdel-Daim, M. M., Eissa, I. A., Abdeen, A., Abdel-Latif, H. M., Ismail, M., Dawood, M. A., & Hassan, A. M., 2019. Lycopene and resveratrol ameliorate zinc oxide nanoparticles-induced oxidative stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 69, 44-50. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.03.016>
- Ali, K., Maltese, F., Choi, Y., & Verpote, R., 2010. Metabolic constituents of grapevine and grape - derived products. *Phytochemistry Reviews*, 9(3), 357-378. <https://doi.org/10.1007/s11101-009-9158-0>
- Araújo, E. P., Carvalho, P. L. P. F., Freitas, J. M. A., Silva, R. L., Rocha, M.K. H. R., Teixeira, C. P., ...Barros, M. M., 2017. Dietary spray-dried plasma enhances the growth performance, villus: crypt ratio and cold-induced stress resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 479, 675-681. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.003>

- Arslan, G., Sönmez, A. Y., & Yan, K. T., 2018. Effects of grape *Vitis vinifera* seed oil supplementation on growth, survival, fatty acid profiles, antioxidant contents and blood parameters in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research*, 49(6), 2256-2266. <https://doi.org/10.1111/are.13686>
- Baba, E., Acar, Ü., Öntaş, C., Kesbiç, O. S., & Yılmaz, S., 2016. Evaluation of Citrus limon peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture*, 465, 13-18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.023>
- Baldissera, M. D.; Souza, C. F.; Descovi, S. N.; Verdi, C. M.; Zeppenfeld, C. C.; Silva, L. L.; et al., 2019. Effects of dietary grape pomace flour on the purinergic signaling and inflammatory response of grass carp experimentally infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Aquaculture*, 503, 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.015>
- Baldissera, M. D.; Souza, C. F.; Descovi, S. N.; Verdi, C. M.; Zeppenfeld, C. C.; Silva, A. S.; et al., 2019. Grape pomace flour ameliorates *Pseudomonas aeruginosa*-induced bioenergetic dysfunction in gills of grass carp. *Aquaculture*, 506, 359–366. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.065>
- Barreto, R. E.; Carvalho, G. G. A.; Volpato, G. L., 2011. The aggressive behavior of Nile tilapia introduced into novel environments with variation in enrichment. *Zoology* 114: 53–57. <http://dx.doi.org/10.1016/j.zool.2010.09.001>
- Barros, M.M., Falcon, D.R., Orsi, R.O., Pezzato, L.E., Fernandes Jr., Guimarães, I.G., Fernandes Jr., A.; Padovani, C.R., Sartori, M.M.P., 2014. Non-specific immune parameters and physiological response of Nile tilapia fed β -glucan and vitamin C for different periods and submitted to stress and bacterial challenge. *Fish Shellfish Immunology*. 39, 188-195. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2014.05.004>
- Barros, M.M., Ranzani-Paiva, M.J.T., Pezzato, L.E., Falcon, D.R., Guimarães, I.G., 2009. Haematological response and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed diets containing folic acid. *Aquaculture Research*. 40, 895-903. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02175.x>
- Barton, B.A., 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*. 42, 517-525. <https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517>
- Beauchamp, C., Fridovich, I., 1971 Superoxide dismutase: improved assay and applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 44, 276-287
- Brahim, M., Gambier, F., & Brosse, N., 2014. Optimization of polyphenols extraction from grape residues in water medium. *Industrial Crops and Products*, 52, 18-22. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.030>
- Benzie, I. F., Strain, J. J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239, 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. L. W. T., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science Technology*. 28, 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bradford, M. M., 1976. A rapid method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. *Analytical Biochemistry*. 72, 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Buege, J.A., Aust, S.D., 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. 52, 302–310. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(78)52032-6)
- Caturla, N.; Vera-Samper, E.; Villalain, J.; Mateo, C. R.; Micol, V., 2003. The relationship between the antioxidant and the antibacterial properties of galloylated catechins and the structure of phospholipid model membranes. *Free Radical Biology & Medicine*, 34, 648–662. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)01366-7](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)01366-7)
- Chamorro S., Viveros A., Rebole A., Arija I., Romero C., Alvarez I., Rey A., Brenes A., 2017. Addition of exogenous enzymes to diets containing grape pomace: effects on intestinal utilization of catechins and antioxidant status of chickens. *Food Research International*, 96, 226–34. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.02.010>
- Chen, L., Yang, X., Jiao, H., Zhao, B., 2003. Tea catechins protect against lead-induced ROS formation, mitochondrial dysfunction, and calcium dysregulation in PC12 cells. *Chemical Research in Toxicology*. 16, 1155–1161. <https://doi.org/10.1021/tx0340605>
- Collier, H. B., 1944. The standardization of blood haemoglobin determination. *Canadian Medical Association Journal* 50, 550–552.
- Conte, F. S., 2004. Stress and welfare of culture fish. *Applied Animal Behavior Science*, Oxford, v. 86, p.205. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2004.02.003>
- Damasceno F. M.; Fleuri, L. F.; Sartori, M. M. P.; Amorim, R. L.; Pezzato, L. E.; Silva, R. L.; Carvalho, P. L. P. F.; Barros, M. M., 2016. Effect of dietary inorganic copper on growth performance and hematological profile of Nile tilapia subjected to heat-induced stress. *Aquaculture*. 454, 257–264. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.029>
- Falcon, D. R.; Barros, M. M.; Pezzato, L. E., 2007. Physiological responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fed Fe vitamin C and lipid supplemented diets and submitted to low-temperature stress. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.38, p.287–295. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-7345.2007.00098.x>
- Fernandes, A. C.; de Carvalho, P.L.P.F.; Pezzato, L. E.; Koch, J. F. A. J. F. A.; Teixeira, C. P.; Cintra, F. T. T.; Damasceno, F. M. F. M.; Amorin, R. L.; Padovani, C. R.; Barros, M. M., 2016. The effect of digestible protein to digestible energy ratio and choline supplementation on growth, hematological parameters, liver steatosis and

- size-sorting stress response in Nile tilapia underfield condition. *Aquaculture* 456, 83–93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.001>
- Flohè, L.; Günzler, W.A., 1984. *Methods in Enzymology*. 105, 114. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05015-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05015-1)
- Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. Toledo: GFM, p. 100
- Garrido, J.; Borges, F., 2013. Wine and grape polyphenols—A chemical perspective. *Food Research International*. 54, 1844–1858. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.002>
- Giusti, M. M. and Wrolstad, R. E., 2001. “Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy,” *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, vol. 1, pp. F1.2.1–F1.2.13. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Goldenfarb, P. B.; Bowyer, F. P.; Hall, E., Brosious, E., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: The microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*. 56, 35–39. <https://doi.org/10.1093/ajcp/56.1.35>
- Hrubec, T. C. & Smith, S. A., 2010. Hematology of fishes. In D. J. Weiss, K. J. Wardrop (Eds.), *Schalm’s veterinary Hematology*, 6th ed. (pp. 994-1003). Hoboken, NJ: Blackwell Publishing.
- Jain, N. C., 1986. *Schalm’s Veterinary Hematology*, 4th ed. Philadelphia, PA: Lea e Febiger.
- Jia R.; Du J.; Cao L.; Johnson O.; Gu Z.; Jeney G.; Xu P.; Yin G., 2019. Antioxidative, inflammatory and immune responses in hydrogen peroxide-induced liver injury of tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*), *Fish Shellfish Immunology*, 84, 894–905. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.10.084>
- Jia, R.; Li, Y.; Cao, L.; Du, J.; Zheng, T.; Qian, H.; Gu, Z., Jeney, G., Xu, P., Yin, G., 2019. Antioxidative, anti-inflammatory and hepatoprotective effects of resveratrol on oxidative stress-induced liver damage in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 215, 56-66. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2018.10.002>
- Krikorian, R., Boespflug, E. L., Fleck, D. E., Stein, A. L., Wightman, J. D., Shidler, M.D., et al., 2012. Concord grape juice supplementation and neurocognitive function in human aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 5736-5742. <https://doi.org/10.1021/jf300277g>
- Lichovnikova, M.; Kalhotka L.; Vojtech A.; Borivoj K.; Vojtech An., 2015. The effects of red grape pomace inclusion in grower diet on amino acid digestibility, intestinal microflora, and sera and liver antioxidant activity in broilers. *Turkish Journal Veterinary Animal Sciences*, 39: 406-412, doi:10.3906/vet1403-64

- Lizárraga-Velázquez, C. E.; Hernández, C.; González-Aguilar, G. A.; Heredia, J. B., 2019. Effect of dietary intake of phenolic compounds from mango peel extract on growth, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in zebrafish (*Danio rerio*). *Latin content journal of aquatic research*, 47(4), 602-611. <http://dx.doi.org/10.3856/vol47-issue4-fulltext-3>
- Llobera, A.; Cañellas, J., 2007. Dietary Fibre Content and Antioxidant Activity of Manto Negro Red Grape (*Vitis vinifera*): Pomace and Stem. *Food Chemistry*. 101, 659–666. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.025>
- Mudnic, I., Modun, D., Rastija, V., Vukovic, J., Brizic, I., Katalinic, V., et al., 2010. Antioxidative and vasodilatory effects of phenolic acids in wine. *Food Chemistry*, 119, 1205–1210. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.038>
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient Requirements of Fishes and Shrimp Washington: DC. National Academies Press, p. 376. 2011
- Natividade, M. M. P.; Corrêa, L. C.; Souza, S. V. C. de; Pereira, G. E.; & Lima, L. C. de O., 2013. Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. *Microchemical Journal*, 110, 665–674. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.08.010>
- OIV (International Organisation of Vine and Wine)., 2019. OIV Statistical Report on World Vitiviniculture. París.
- Peña, E., Badillo-Zapata, D.; Viana, M. T.; Correa-Reyes, G., 2019. Use of grape pomace in formulated feed for the rainbow trout fry, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *Journal World Aquaculture Society*; 1–9. <https://doi.org/10.1111/jwas.12669>
- Popova, M., Bankova, V., Butovska, D., Petkov, V., Nikolova-Damyanova, B., Sabatini, A.G., Marcazzan, G.L., Bogdanov, S., 2004. Validated methods for quantification of biologically active constituents of “poplar type” propolis. *Phytochemical Analysis* 15, 235–240. <https://doi.org/10.1002/pca.777>
- Ranzani-Paiva, M.J.T.; Lombardi, J.V.; Corleto, F., 2014. Hematologia e histopatologia de tilápia-do-Nilo exposta a concentrações sub-letais de selenito de sódio ($\text{Na}_2\text{SeO}_3 \text{ Se}^{4+}$). *Boletim Instituto Pesca*, 40, 23–33
- Rossetto, M. R. M., Vianello, F., Rocha, S. D., Lima, G. P. P., 2009. Antioxidant substances and pesticide in parts of beet organic and conventional manure. *African Journal Plant Science*. 3, 245–253. Corpus ID: 85674032
- Salomão, R. A. S.; De Paula, T. G.; Zanella, B. T. T.; Carvalho, P. L. P. F.; da Silva Duran, B. O.; Valente, J. S.; ... & Carvalho, R. F., 2019. The combination of resveratrol and exercise enhances muscle growth characteristics in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 235, 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.05.002>
- Sautter, C. K., Denardin, S., Alves, A. O., Mallmann, C. A., Penna, N. G., & Hecktheuer, L. H., 2005. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brazil. *Ciência e*

- Tecnologia de Alimentos, 25, 437-442. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000300008>
- Singleton, V. L.; Rossi, J. A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal Enology Viticulture. 16, 144–158
- Sinha, A.K., 1972. Colorimetric assay of catalase. Analytical Biochemistry. 47, 389–394. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90132-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(72)90132-7)
- Souza C.F.; Baldissera M.D.; Descovi S.N.; Zeppenfeld C.C.; Verdi C.M.; Santos R.C.V.; et al. Grape pomace flour alleviates *Pseudomonas aeruginosa*-induced hepatic oxidative stress in grass carp by improving antioxidant defense. Microbial Pathogenesis. 2019; 129:271-276. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.024>
- Teixeira, C.P.; Barros, M.M.; Pezzato, L.E.; Fernandes Júnior, A.C.; Koch, J.F.; Padovani, C. R., 2012. Growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis Niloticus*, fed diets containing levels of pyridoxine and haematological response under heat stress. Aquaculture Research. 43, 1081-1088. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02911.x>
- Vicente, I. S.; Fleuri, L. F.; Carvalho, P. L.; Guimarães, M. G.; Naliato, R. F.; Müller, H. D. C.; Sartori, M. M. P.; Pezzato, L. E.; Barros, M. M., 2019. Orange peel fragment improves antioxidant capacity and haematological profile of Nile tilapia subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress. Aquaculture Research, v. 50, 80–92. <https://doi.org/10.1111/are.13870>
- Wilson, W. N.; Baumgarner, B. L.; Watanabe, W. O.; ALAM, M. S.; Kinsey, S. T., 2015. Effects of resveratrol on growth and skeletal muscle physiology of juvenile southern flounder. Comparative Biochemistry Physiology - Part A Molecular Integrative Physiology, 183, 27-35. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.12.014>
- Wintrobe, M.M., 1934. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. Folia Haematologica 51, 32-49
- Yilmaz E., 2019. Effects of dietary anthocyanin on innate immune parameters, gene expression responses, and ammonia resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish and Shellfish Immunology, 93, 694–701. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.08.033>
- Yu, J., & Ahmedna, M., 2013. Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. International Journal Food Science Technology., 48(2), 221–237. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03197.x>
- Xia, E.-Q., Deng, G. F., Guo, Y.-J., & Li, H.-B., 2010. Biological activities of polyphenols from grapes. International Journal of Molecular Sciences, 11, 622–646. <https://doi.org/10.3390/ijms11020622>
- Zhai S. W., Lu J. J., Chen X. H., 2014. Effects of dietary grape seed proanthocyanidins on growth performance, some serum biochemical parameters and body composition

of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Italian Journal Animal Science., 13, 536–540. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3357>

Zhang, D. D.; Yan, Y. A.; Tian, H. Y.; Jiang, G. Z.; Li, X. F.; and Liu, W. B., 2018. Resveratrol supplementation improves lipid and glucose metabolism in high-fat diet-fed blunt snout bream. Fish Physiology Biochemistry. 44, 163–173. <https://doi.org/10.1007/s10695-017-0421-9>

Table 1

Formulation and chemical composition of the experimental diets and GPF.

63

Ingredients (g·kg ⁻¹)	0 GPF	0.2 GPF	0.4 GPF	0.6 GPF	0.8 GPF	1.0 GPF	1.5 GPF	RES	
Soybean meal	558.1	558.1	558.1	558.1	558.1	558.1	558.1	558.1	
Poultry meal	50	50	50	50	50	50	50	50	
Corn	288.2	286.2	284.2	282.2	280.2	278.2	273.2	288	
Wheat meal	50	50	50	50	50	50	50	50	
Soybean oil	22	22	22	22	22	22	22	22	
DL-Methionine (98%)	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	
L-Threonine (98.5%)	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9	
Dicalcium phosphate	18	18	18	18	18	18	18	18	
Vitamin C ¹	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	
Premix Vit/Min ²	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	
BHT ³	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
NaCl	1	1	1	1	1	1	1	1	
Grape Pomace Flour (GPF)	0	2	4	6	8	10	15	0	
Resveratrol	0	0	0	0	0	0	0	0.2	
Analyzed bromatological composition									GPF
(% dry weight basis)									
Dry matter (%)	93.78	94.14	93.91	94.22	94.75	94.06	94.01	93.88	24.89
Crude Protein (%)	32.63	31.97	31.13	31.67	31.21	30.70	31.21	32.54	5.53
Crude Energy (MJ·kg ⁻¹)	18.15	18.1	18.18	18.21	18.3	18.14	18.01	18.06	16.69
Crude Fat (%)	5.96	6.00	6.31	5.84	6.05	6.59	6.30	6.16	0.91
Crude fiber (%)	3.62	3.37	3.65	3.85	4.03	3.76	3.46	3.84	14.01
Ash (%)	6.15	5.95	5.92	6.09	6.10	6.14	6.46	6.08	3.2

¹Vitamin C – Rovimix® Stay – C® 35 – DSM. Nutritional Products, Switzerland.²Vitamin and Mineral Premix – Acquamel® – Mcassab®. Brazil. (kg of product): vitamin A = 1.750.000 IU; vitamin D₃ = 375.000 IU; vitamin E = 20.000 IU; vitamin K₃ = 500 mg; vitamin B₁ = 2,000 mg; vitamin B₂ = 2.500 mg; vitamin B₆ = 2.500 mg; vitamin B₁₂ = 5.000 mg; vitamin B₃ = 8.750 mg; vitamin B₅ = 7.500 mg; folic acid = 625 mg; calcium pantothenate = 12,000 mg; biotin = 50 mg; vitamin C = 37.500 mg; inositol = 12.500 mg; Fe = 15.000 mg; Cu = 4 mg; Mn = 3.750 mg; Zn = 17.500 mg; Co = 50 mg; I = 100 mg; Se = 75 mg.³Butylated hydroxytoluene – antioxidant.0.0 GPF: control 0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.2 GPF: 0.2% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.4 GPF: 0.4% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.6 GPF: 0.6% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.8 GPF: 0.8% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.0 GPF: 1.0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.5 GPF: 1.5% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet and RES: 0.02% supplementation of resveratrol kg⁻¹ diet.

Table 2

Phenolic content and antioxidant analyses of the GPF and experimental diets.

Phenolic Compounds (mg 100g ⁻¹)	GPF	0 GPF	0.2 GPF	0.4 GPF	0.6 GPF	0.8 GPF	1.0 GPF	1.5 GPF	RES
<i>Flavonols</i>									
Rutin	24.60	3.63	3.65	3.66	3.66	3.70	3.76	3.86	3.63
<i>Phenolic acids</i>									
Gallic acid	16.26	8.41	8.30	8.52	8.83	9.10	9.91	10.33	7.99
Catequin	660.36	7.07	8.61	9.55	10.25	11.49	12.60	13.72	7.05
Caffeic acid	3.30	0.49	0.49	0.49	0.50	0.52	0.53	0.57	0.49
Chlorogenic acid	33.09	2.99	2.99	3.01	3.02	3.03	3.04	3.06	2.99
<i>Stilbene</i>									
Resveratrol	0.08	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	19.28
<i>Anthocyanins</i>									
Cyanidin 3.5 diglucoside	569.28	nd	0.92	1.78	2.59	3.54	4.03	5.62	nd
Delphinidin 3-O- glucoside	295.37	nd	0.41	0.72	1.05	1.39	1.53	2.24	nd
Cyanidin 3-O- glucoside	35.91	nd	0.04	0.08	0.10	0.21	0.28	0.36	nd
Malvidin 3.5 diglucoside	461.37	nd	0.88	1.65	2.53	3.72	4.30	5.70	nd
Malvidin 3-O- glucoside	9.94	nd	0.07	0.15	0.22	0.33	0.43	0.51	nd
Total	2113.24	22.59	26.37	29.61	32.74	37.01	40.42	45.96	41.42
Total phenols (mg g ⁻¹)	49.52	0.9	1.04	1.09	1.10	1.23	1.32	1.49	1.31
Total flavonoids (mg g ⁻¹)	25.15	0.44	0.45	0.52	0.52	0.58	0.59	0.65	0.51
Total anthocyanins (mg g ⁻¹)	21.98	nd	0.02	0.04	0.05	0.1	0.12	0.17	nd
DPPH (ug/g Trolox)	31.32	9.94	11.91	13.69	16.14	17.26	18.68	20.54	14.23
FRAP (mmol Fe g ⁻¹)	2.57	0.27	0.29	0.30	0.31	0.34	0.35	0.41	0.27

Nd = Not detected; t = traces

0.0 GPF: control 0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.2 GPF: 0.2% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.4 GPF: 0.4% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.6 GPF: 0.6% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.8 GPF: 0.8% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.0 GPF: 1.0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.5 GPF: 1.5% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet and RES: 0.02% supplementation of resveratrol kg⁻¹ diet.

Table 3

Initial body weight (IBW), final body weight (FBW), weight gain (WG), feed intake (FI), feed conversion ratio (FRC), specific growth rate (SGR), Feed efficiency (FE), Protein efficiency ratio (PER), survival (SUR) of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 75 days

	Diets								<i>p</i> value
	0.0 GPF	0.2 GPF	0.4 GPF	0.6 GPF	0.8 GPF	1.0 GPF	1.5 GPF	RES	
IBW (g)	46.93 ± 0.86	47.73 ± 0.89	47.26 ± 1.80	46.73 ± 1.01	47.60 ± 0.86	48.06 ± 1.81	48.13 ± 1.34	47.91 ± 1.77	0.639
FBW (g)	322.57 ± 12.09	339.18 ± 9.30	340.0 ± 26.4	331.3 ± 25.2	334.71 ± 10.33	330.8 ± 46.7	318.1 ± 27.8	323.21 ± 14.11	0.819
WG (g)	275.64 ± 12.47	286.09 ± 16.14	292.7 ± 25.6	283.0 ± 27.3	285.49 ± 10.64	273.9 ± 52.3	270.0 ± 28.3	275.30 ± 15.56	0.894
SGR (%)	2.56 ± 0.06	2.61 ± 0.03	2.62 ± 0.09	2.60 ± 0.10	2.60 ± 0.03	2.56 ± 0.22	2.51 ± 0.13	2.54 ± 0.10	0.774
FI (g)	314.48 ± 14.07	325.38 ± 13.30	317.38 ± 14.01	318.24 ± 12.63	320.60 ± 7.95	327.8 ± 30.9	331.93 ± 30.9	324.59 ± 8.91	0.677
FCR	1.14 ± 0.04	1.14 ± 0.09	1.08 ± 0.06	1.13 ± 0.08	1.12 ± 0.05	1.21 ± 0.15	1.23 ± 0.10	1.18 ± 0.03	0.190
FE	0.87 ± 0.03	0.88 ± 0.07	0.92 ± 0.05	0.88 ± 0.07	0.89 ± 0.04	0.83 ± 0.10	0.81 ± 0.06	0.84 ± 0.02	0.216
PER	2.73 ± 0.11	2.75 ± 0.23	2.87 ± 0.18	2.77 ± 0.22	2.78 ± 0.12	2.59 ± 0.34	2.53 ± 0.19	2.64 ± 0.07	0.216
SUR (%)	100 a	91.43 ± 12.78 al	100 a	97.14 ± 6.39 ab	97.14 ± 6.39 ab	85.71 ± 10.10 b	100 a	100 ab	0.015

Initial body weight (IBW) = initial mean weight (g/fish); Final body weight (FBW) = final mean weight (g/fish); Weight gain (WG) = final weight – initial weight; Feed Intake (FI) = dry feed intake (g/fish); Feed conversion rate (FCR) = feed intake / weight gain; Specific growth rate (SGR) = (Ln of final weight – Ln of initial weight) × 100 / experimental period; Survival rate (SUR) = (initial fish number – final fish number) / initial fish number × 100 (%);

Values are means ± SD of five replicates. No significant difference at $P > 0.05$ (Tukey Test).

0.0 GPF: control 0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.2 GPF: 0.2% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.4 GPF: 0.4% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.6 GPF: 0.6% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.8 GPF: 0.8% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.0 GPF: 1.0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.5 GPF: 1.5% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet and RES: 0.02% supplementation of resveratrol kg⁻¹ diet.

Table 4

Hematological parameters of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 30 days and subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress¹.

HDOIS		Diets							RES	<i>p</i> value
		0.0 GPF	0.2 GPF	0.4 GPF	0.6 GPF	0.8 GPF	1.0 GPF	1.5 GPF		
RBC (10 ⁶ μ L ⁻¹)	Before	2.31 $\pm$ 0.16	2.38 $\pm$ 0.23	2.24 $\pm$ 0.12	2.20 $\pm$ 0.12	2.37 $\pm$ 0.22	2.29 $\pm$ 0.27	2.31 $\pm$ 0.30	2.33 $\pm$ 0.20	0.905
	After	2.29 $\pm$ 0.26	2.29 $\pm$ 0.20	2.46 $\pm$ 0.44	2.19 $\pm$ 0.54	2.49 $\pm$ 0.27	2.33 $\pm$ 0.30	2.47 $\pm$ 0.24	2.35 $\pm$ 0.34	0.853
<i>P</i> value		0.868	0.549	0.365	0.961	0.469	0.820	0.399	0.932	
Hb (g dL ⁻¹)	Before	8.29 $\pm$ 0.67	8.16 $\pm$ 0.86	8.50 $\pm$ 0.79	7.90 $\pm$ 0.67	8.22 $\pm$ 0.52	8.25 $\pm$ 0.98	8.23 $\pm$ 0.92	7.91 $\pm$ 0.29	0.922
	After	8.27 $\pm$ 0.61	8.30 $\pm$ 0.08	8.30 $\pm$ 0.75	8.03 $\pm$ 0.93	8.17 $\pm$ 0.85	8.16 $\pm$ 0.81	8.93 $\pm$ 0.66	9.03 $\pm$ 1.64	0.570
<i>P</i> value		0.949	0.737	0.692	0.808	0.920	0.888	0.213	0.213	
Htc (%)	Before	37.80 $\pm$ 2.95	36.80 $\pm$ 4.32	38.70 $\pm$ 2.80	37.10 $\pm$ 3.21	41.50 $\pm$ 6.04	38.30 $\pm$ 7.08	36.70 $\pm$ 3.55 B	38.40 $\pm$ 6.45	0.830
	After	41.40 $\pm$ 1.52	40.10 $\pm$ 2.36	39.80 $\pm$ 3.83	39.20 $\pm$ 4.27	41.00 $\pm$ 4.54	41.90 $\pm$ 2.79	45.30 $\pm$ 2.99 A	40.70 $\pm$ 2.77	0.157
<i>P</i> value		0.060	0.185	0.662	0.408	0.887	0.338	0.004	0.497	
MCV (fL)	Before	167.56 $\pm$ 2.57	154.6 $\pm$ 12.1	173.0 $\pm$ 23.4	168.1 $\pm$ 13.2	174.2 $\pm$ 15.1	167.2 $\pm$ 23.3	159.7 $\pm$ 15.0	163.8 $\pm$ 18.4	0.636
	After	182.4 $\pm$ 18.5	176.0 $\pm$ 17.7	165.6 $\pm$ 29.3	167.3 $\pm$ 12.9	164.9 $\pm$ 17.2	182.8 $\pm$ 35.3	172.81 $\pm$ 9.68	175.3 $\pm$ 24.3	0.841
<i>P</i> value		0.150	0.062	0.671	0.936	0.392	0.439	0.164	0.427	
MCHC (g dL ⁻¹)	Before	22.00 $\pm$ 1.78	22.21 $\pm$ 0.41 A	22.12 $\pm$ 2.55	20.77 $\pm$ 0.34	20.01 $\pm$ 1.80	21.83 $\pm$ 2.65	22.50 $\pm$ 2.25	20.97 $\pm$ 2.65	0.535
	After	20.00 $\pm$ 1.64	20.21 $\pm$ 0.97 B	20.99 $\pm$ 2.46	20.52 $\pm$ 1.37	20.06 $\pm$ 2.37	19.56 $\pm$ 2.27	19.73 $\pm$ 0.96	22.13 $\pm$ 3.19	0.579
<i>P</i> value		0.106	0.045	0.499	0.708	0.972	0.190	0.053	0.554	
A:G	Before	0.27 $\pm$ 0.12	0.46 $\pm$ 0.16	0.35 $\pm$ 0.08	0.35 $\pm$ 0.11	0.35 $\pm$ 0.15	0.34 $\pm$ 0.10	0.32 $\pm$ 0.06	0.37 $\pm$ 0.10	0.468
	After	0.39 $\pm$ 0.11	0.41 $\pm$ 0.05	0.43 $\pm$ 0.09	0.40 $\pm$ 0.07	0.50 $\pm$ 0.12	0.44 $\pm$ 0.09	0.40 $\pm$ 0.15	0.45 $\pm$ 0.12	0.741
<i>P</i> value		0.154	0.582	0.167	0.862	0.268	0.176	0.393	0.300	

¹RBC: red blood cell count; Hb: hemoglobin; Htc: hematocrit; MCV: mean corpuscular volume; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; A:G: albumin:globulin ratio. Means and *SD* – maximum of five replicates.

Uppercase letters compare fish in the same treatment before and after subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress by T test (*P* < 0.05).

0.0 GPF: control 0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.2 GPF: 0.2% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.4 GPF: 0.4% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.6 GPF: 0.6% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.8 GPF: 0.8% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.0 GPF: 1.0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.5 GPF: 1.5% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet and RES: 0.02% supplementation of resveratrol kg⁻¹ diet.

Table 5
Hematological parameters of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 30 days and subjected to Size-sorting-induced stress¹.

SSIS		Diets							RES	p value
		0.0 GPF	0.2 GPF	0.4 GPF	0.6 GPF	0.8 GPF	1.0 GPF	1.5 GPF		
RBC (10 ⁶ μ L ⁻¹)	Before	2.31 $\pm$ 0.16	2.38 $\pm$ 0.23	2.24 $\pm$ 0.12	2.20 $\pm$ 0.12	2.37 $\pm$ 0.22	2.29 $\pm$ 0.27	2.31 $\pm$ 0.30	2.33 $\pm$ 0.20	0.905
	After	2.48 $\pm$ 0.41	2.60 $\pm$ 0.29	2.35 $\pm$ 0.12	2.43 $\pm$ 0.36	2.45 $\pm$ 0.08	2.45 $\pm$ 0.17	2.34 $\pm$ 0.05	2.41 $\pm$ 0.21	0.832
P value		0.432	0.230	0.234	0.262	0.542	0.321	0.839	0.567	
Hb (g dL ⁻¹)	Before	8.29 $\pm$ 0.67	8.16 $\pm$ 0.86	8.50 $\pm$ 0.79	7.90 $\pm$ 0.67	8.22 $\pm$ 0.52	8.25 $\pm$ 0.98	8.23 $\pm$ 0.92	7.91 $\pm$ 0.29 B	0.922
	After	8.43 $\pm$ 0.19 ab	8.08 $\pm$ 0.37 ab	7.84 $\pm$ 0.38 ab	7.27 $\pm$ 1.78 b	7.48 $\pm$ 0.64 b	9.12 $\pm$ 0.98 a	8.32 $\pm$ 0.28 ab	8.86 $\pm$ 0.15 abA	0.011
P value		0.694	0.854	0.151	0.490	0.088	0.201	0.859	0.001	
Htc (%)	Before	37.80 $\pm$ 2.95 B	36.80 $\pm$ 4.32 B	38.70 $\pm$ 2.80	37.10 $\pm$ 3.21 B	41.50 $\pm$ 6.04	38.30 $\pm$ 7.08	36.70 $\pm$ 3.55 B	38.40 $\pm$ 6.45	0.830
	After	44.20 $\pm$ 2.59 A	43.20 $\pm$ 0.83 A	40.60 $\pm$ 1.95	41.20 $\pm$ 1.92 A	41.40 $\pm$ 3.44	43.40 $\pm$ 4.04	42.10 $\pm$ 1.71 A	45.40 $\pm$ 1.08	0.051
P value		0.008	0.031	0.366	0.050	0.975	0.211	0.028	0.075	
MCV (fL)	Before	167.56 $\pm$ 2.57	154.6 $\pm$ 12.1	173.0 $\pm$ 23.4	168.1 $\pm$ 13.2	174.2 $\pm$ 15.1	167.2 $\pm$ 23.3	159.7 $\pm$ 15.0	163.8 $\pm$ 18.4	0.636
	After	181.6 $\pm$ 29.5	167.7 $\pm$ 21.7	172.8 $\pm$ 3.12	171.4 $\pm$ 20.2	177.9 $\pm$ 18.3	177.8 $\pm$ 18.3	174.46 $\pm$ 8.92	189.1 $\pm$ 18.4	0.734
P value		0.349	0.285	0.989	0.767	0.739	0.448	0.108	0.066	
MCHC (g dL ⁻¹)	Before	22.00 $\pm$ 1.78	22.21 $\pm$ 0.41 A	22.12 $\pm$ 2.55	20.77 $\pm$ 0.34 A	20.01 $\pm$ 1.80	21.83 $\pm$ 2.65	22.50 $\pm$ 2.25	20.97 $\pm$ 2.65	0.535
	After	19.79 $\pm$ 0.75 ab	18.44 $\pm$ 0.14 bB	19.32 $\pm$ 0.94 ab	19.41 $\pm$ 0.71 abB	18.07 $\pm$ 0.07 b	21.04 $\pm$ 1.29 a	19.81 $\pm$ 1.48 ab	19.53 $\pm$ 0.41 ab	0.001
P value		0.051	0.000	0.071	0.027	0.073	0.578	0.067	0.296	
A:G	Before	0.27 $\pm$ 0.12	0.46 $\pm$ 0.16	0.35 $\pm$ 0.08	0.39 $\pm$ 0.03	0.35 $\pm$ 0.15	0.34 $\pm$ 0.10	0.32 $\pm$ 0.06	0.37 $\pm$ 0.10	0.468
	After	0.36 $\pm$ 0.14	0.38 $\pm$ 0.13	0.55 $\pm$ 0.23	0.34 $\pm$ 0.21	0.43 $\pm$ 0.30	0.40 $\pm$ 0.15	0.35 $\pm$ 0.08	0.36 $\pm$ 0.06	0.657
		0.331	0.427	0.134	0.650	0.606	0.527	0.591	0.898	

¹RBC: red blood cell count; Hb: hemoglobin; Htc: hematocrit; MCV: mean corpuscular volume; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; A:G: albumin:globulin ratio. Means and SD – maximum of five replicates.

Uppercase letters compare fish in the same treatment before and after subjected to size-sorting-induced stress by T test (P < 0.05).

Lowercase letters compare fish between treatments before and after subjected to size-sorting-induced stress by Tukey test (P < 0.05).

0.0 GPF: control 0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.2 GPF: 0.2% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.4 GPF: 0.4% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.6 GPF: 0.6% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.8 GPF: 0.8% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.0 GPF: 1.0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.5 GPF: 1.5% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet and RES: 0.02% supplementation of resveratrol kg⁻¹ diet.

Table 6Liver antioxidant enzymes activity of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 30 days and subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress¹.

HDOIS		Diets								<i>p</i> value
		0.0 GPF	0.2 GPF	0.4 GPF	0.6 GPF	0.8 GPF	1.0 GPF	1.5 GPF	RES	
SOD (U.mgpt ⁻¹)	Before	29.65 ± 7.29	27.08 ± 3.04	25.84 ± 6.63	24.71 ± 5.73	30.68 ± 9.11	34.29 ± 2.90	27.5 ± 10.0	32.2 ± 10.1	0.449
	After	30.68 ± 9.83	25.02 ± 1.84	25.64 ± 5.92	32.12 ± 9.88	26.67 ± 9.87	35.78 ± 1.95	28.83 ± 5.28	28.62 ± 8.59	0.420
<i>P</i> value		0.856	0.242	0.960	0.197	0.525	0.393	0.801	0.563	
CAT (U.mgpt ⁻¹)	Before	12.23 ± 2.57	13.62 ± 2.44	12.42 ± 4.15	11.93 ± 3.61 A	15.21 ± 5.32 A	15.61 ± 2.47 A	11.62 ± 4.59 A	14.30 ± 5.92 A	0.660
	After	9.33 ± 6.46 ab	9.92 ± 3.37 a	7.14 ± 1.97 ab	5.51 ± 1.92 abB	5.67 ± 2.97 abB	4.48 ± 1.21 abB	3.72 ± 3.59 abB	3.61 ± 1.30 bB	0.005
<i>P</i> value		0.648	0.087	0.050	0.014	0.023	0.000	0.042	0.017	
GPx (U.mgpt ⁻¹)	Before	28.55 ± 9.30	27.83 ± 2.86	26.00 ± 6.64	26.86 ± 7.00	30.98 ± 9.10	38.56 ± 1.39	28.90 ± 11.40	31.95 ± 9.44	0.401
	After	29.15 ± 9.19	24.98 ± 3.01	25.28 ± 5.22	34.14 ± 11.12	27.90 ± 11.00	35.41 ± 6.58	31.32 ± 4.55	32.13 ± 0.32	0.262
<i>P</i> value		0.921	0.169	0.858	0.262	0.641	0.356	0.684	0.968	
LPO (nmol MDA/ml ⁻¹)	Before	1.68 ± 0.21	1.78 ± 0.39	1.49 ± 0.24	1.57 ± 0.36	1.75 ± 0.18	1.78 ± 0.59	1.81 ± 0.18	1.51 ± 0.41 B	0.718
	After	2.44 ± 0.88	2.05 ± 0.41	2.01 ± 0.52	2.16 ± 0.51	1.81 ± 0.01	2.08 ± 0.26	2.23 ± 0.60	2.54 ± 0.50 A	0.573
<i>P</i> value		0.132	0.326	0.105	0.074	0.501	0.343	0.213	0.010	

SOD: superoxide dismutase; CAT: catalase; GPx: glutathione peroxidase; LPO: lipid peroxidation. Means and *SD* – maximum of five replicates.Uppercase letters compare fish in the same treatment before and after subjected to heat/dissolved oxygen-induced by T test (*P* < 0.05).Lowercase letters compare fish between treatments before and after subjected to heat/dissolved oxygen-induced by T test (*P* < 0.05).0.0 GPF: control 0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.2 GPF: 0.2% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.4 GPF: 0.4% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.6 GPF: 0.6% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.8 GPF: 0.8% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.0 GPF: 1.0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.5 GPF: 1.5% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet and RES: 0.02% supplementation of resveratrol kg⁻¹ diet.

Table 7
Liver antioxidant enzymes activity of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 30 days and subjected to Size-sorting-induced stress¹.

SSIS		Diets								<i>p</i> value
		0.0 GPF	0.2 GPF	0.4 GPF	0.6 GPF	0.8 GPF	1.0 GPF	1.5 GPF	RES	
SOD (U.mgpt ⁻¹)	Before	29.65 ± 7.29	27.08 ± 3.04	25.84 ± 6.63	24.71 ± 5.73	30.68 ± 9.11	34.29 ± 2.90	27.5 ± 10.0	32.2 ± 10.1	0.449
	After	21.31 ± 8.54	29.45 ± 6.78	24.61 ± 6.57	28.21 ± 8.18	28.21 ± 8.43	28.42 ± 5.32	31.71 ± 9.36	24.5 ± 10.1	0.551
<i>P</i> value		0.141	0.508	0.776	0.459	0.670	0.073	0.514	0.266	
CAT (U.mgpt ⁻¹)	Before	12.23 ± 2.57	13.62 ± 2.44	12.42 ± 4.15	11.93 ± 3.61	15.21 ± 5.32 A	15.61 ± 2.47	11.62 ± 4.59 A	14.30 ± 5.92 A	0.660
	After	8.22 ± 6.37	10.58 ± 5.65	9.48 ± 3.10	8.62 ± 6.05	6.84 ± 4.83 B	7.92 ± 6.83	5.12 ± 3.71 B	4.95 ± 1.14 B	0.645
<i>P</i> value		0.248	0.321	0.244	0.389	0.035	0.121	0.043	0.026	
GPx (U.mgpt ⁻¹)	Before	28.55 ± 9.30	27.83 ± 2.86	26.00 ± 6.94	26.86 ± 7	30.98 ± 9.1	38.56 ± 1.39 A	28.9 ± 11.4	31.95 ± 9.44	0.401
	After	20.96 ± 8.48	30.34 ± 7.66	25.52 ± 6.73	27.91 ± 6.52	31.19 ± 7.99	29.21 ± 3.62 B	30.09 ± 9.28	28.66 ± 0.28	0.373
<i>P</i> value		0.219	0.524	0.914	0.814	0.970	0.003	0.868	0.481	
LPO (nmol MDA/ml ⁻¹)	Before	1.68 ± 0.21 B	1.78 ± 0.39	1.49 ± 0.24	1.57 ± 0.36 B	1.75 ± 0.18	1.78 ± 0.59	1.81 ± 0.18 B	1.51 ± 0.41 B	0.718
	After	2.29 ± 0.18 A	2.20 ± 0.39	2.30 ± 0.78	2.23 ± 0.18 A	2.48 ± 0.67	2.39 ± 0.63	2.18 ± 0.13 A	2.57 ± 0.70 A	0.789
<i>P</i> value		0.002	0.381	0.094	0.016	0.080	0.163	0.020	0.028	

SOD: superoxide dismutase; CAT: catalase; GPx: glutathione peroxidase; LPO: lipid peroxidation. Means and *SD* – maximum of five replicates.

Uppercase letters compare fish in the same treatment before and after subjected to size-sorting-induced stress by T test ($P < 0.05$).

0.0 GPF: control 0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.2 GPF: 0.2% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.4 GPF: 0.4% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.6 GPF: 0.6% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 0.8 GPF: 0.8% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.0 GPF: 1.0% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet; 1.5 GPF: 1.5% supplementation of Grape pomace flour kg⁻¹ diet and RES: 0.02% supplementation of resveratrol kg⁻¹ diet.

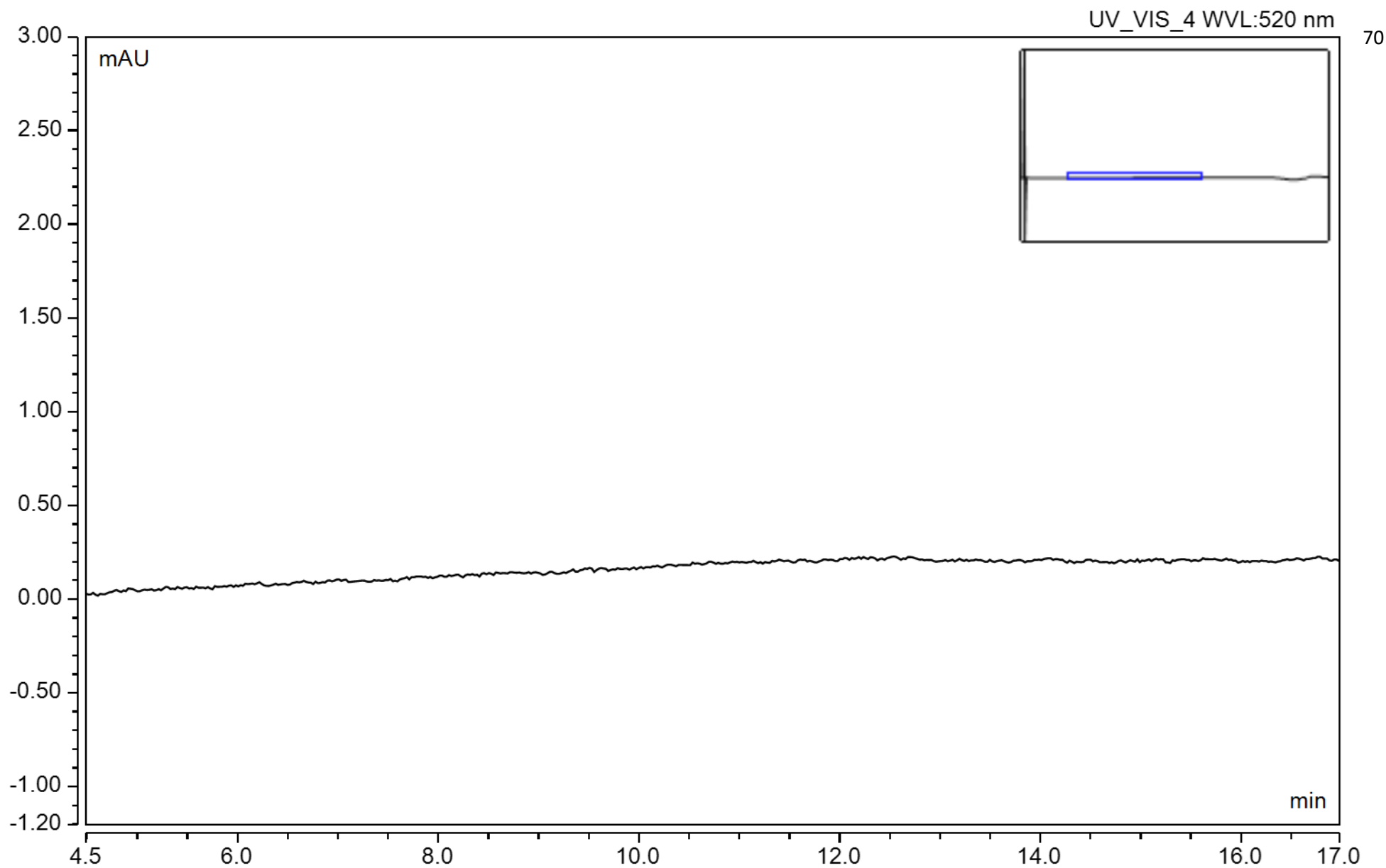


Figure 1. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.0 GPF for Nile tilapia.

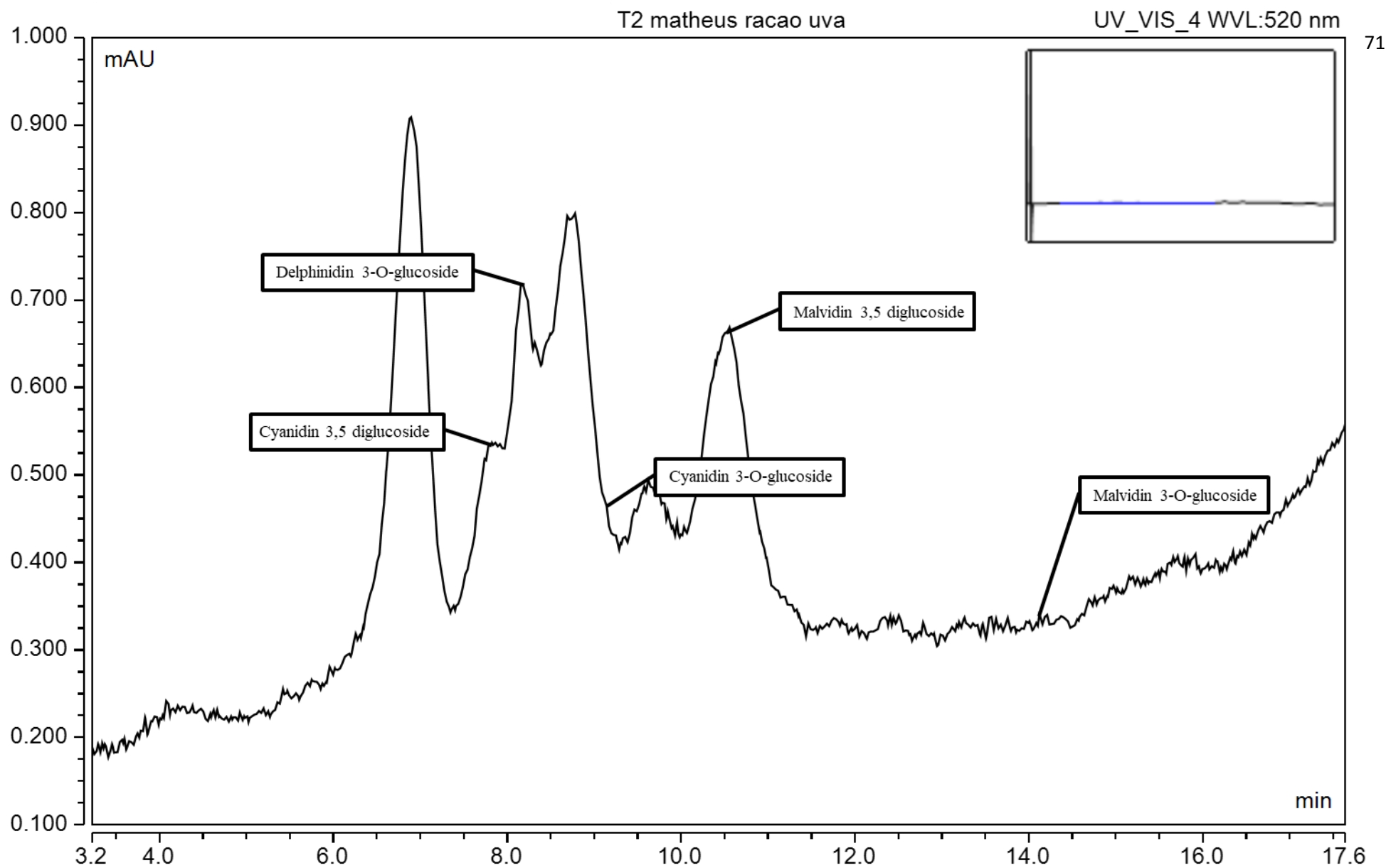


Figure 2. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.2 GPF for Nile tilapia.

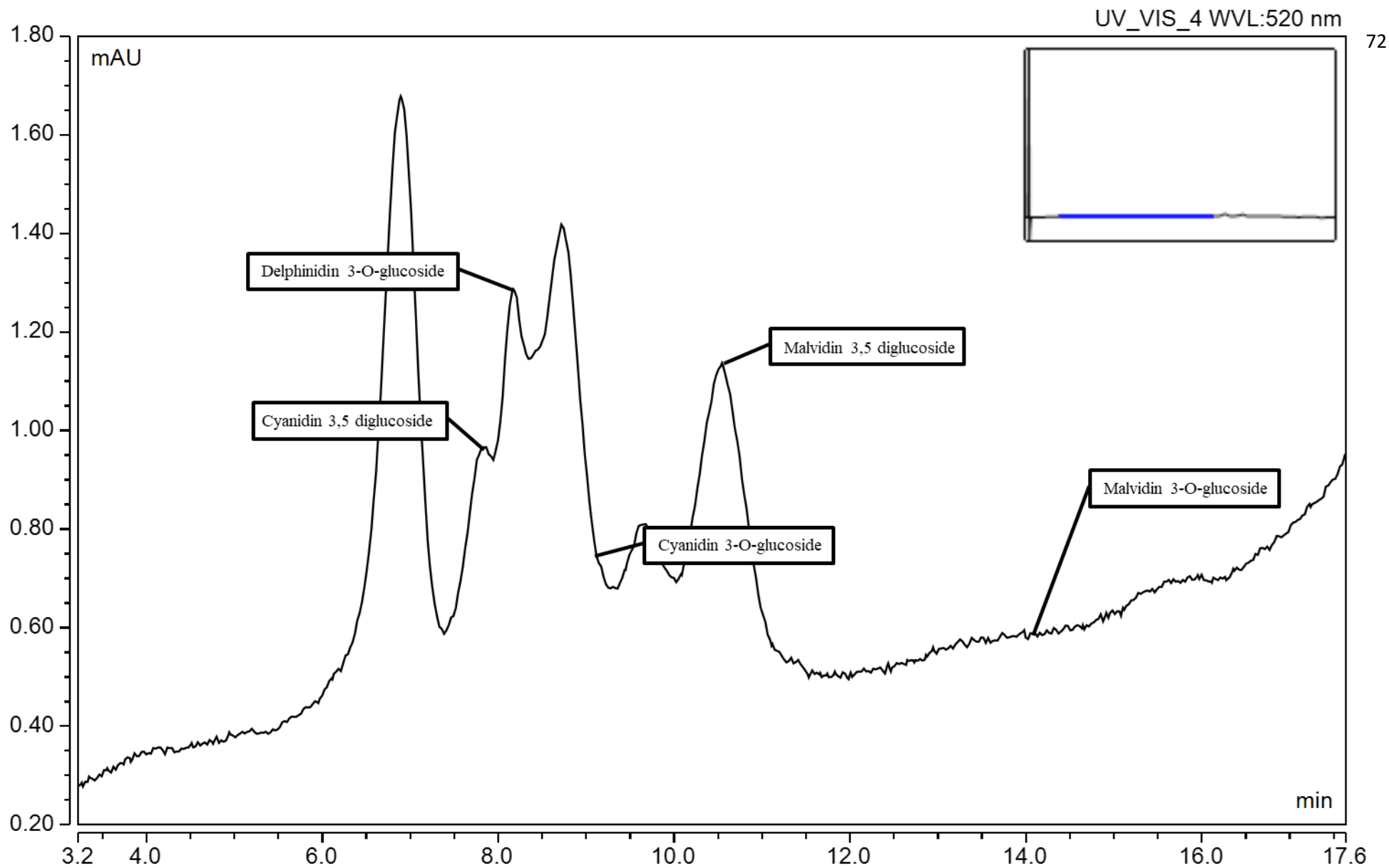


Figure 3. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.4 GPF for Nile tilapia.

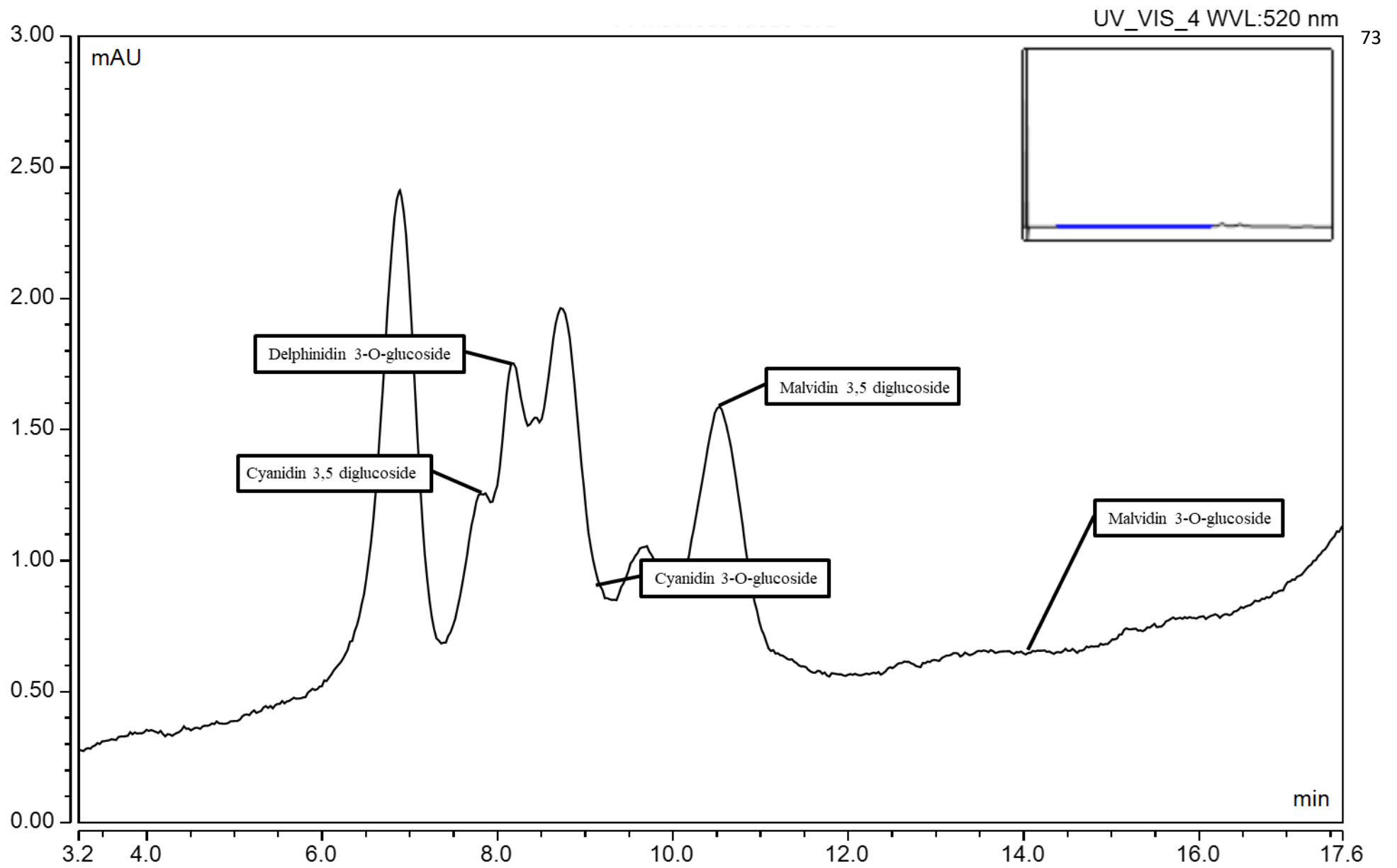


Figure 4. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.6 GPF for Nile tilapia.

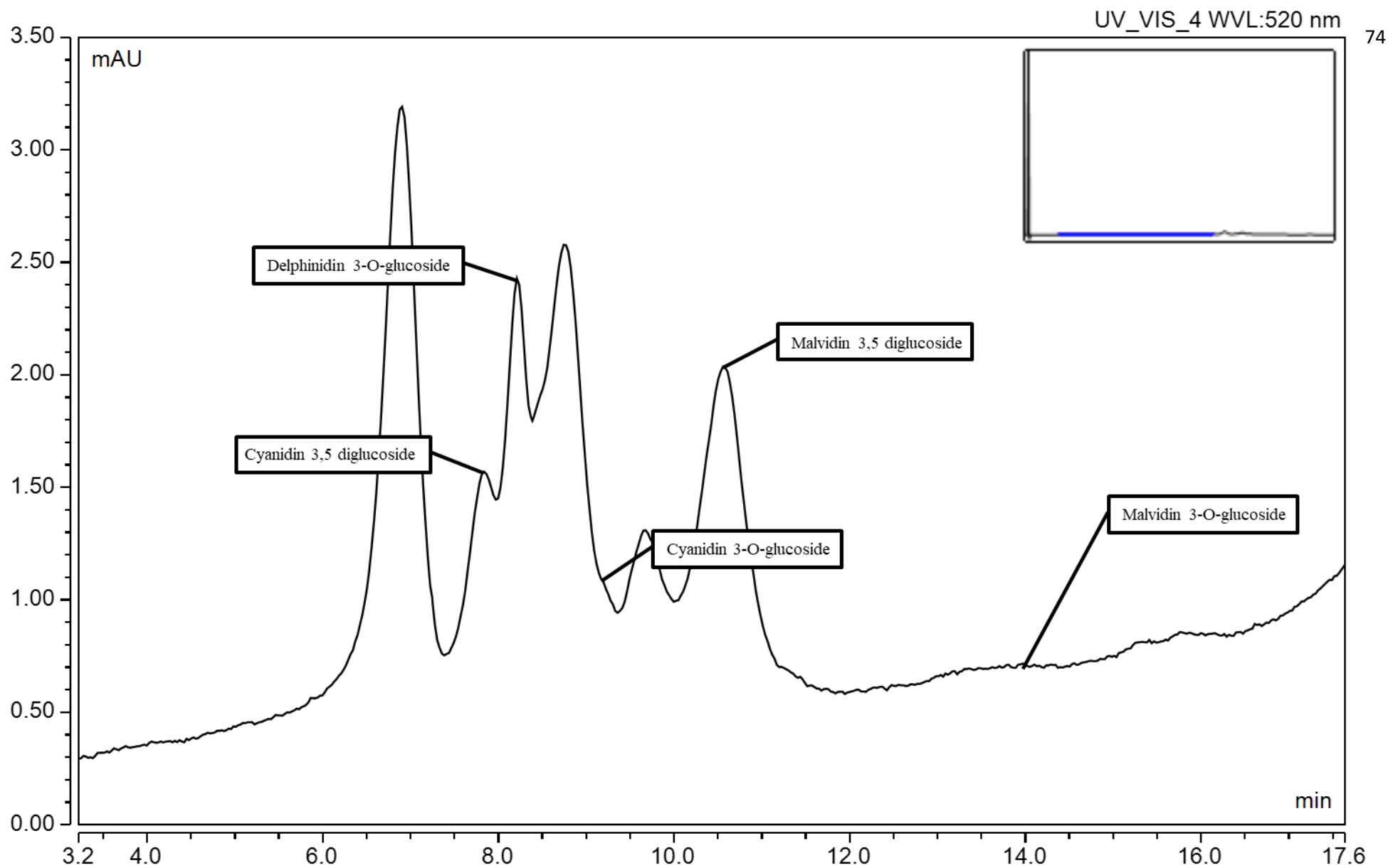


Figure 5. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.8 GPF for Nile tilapia.

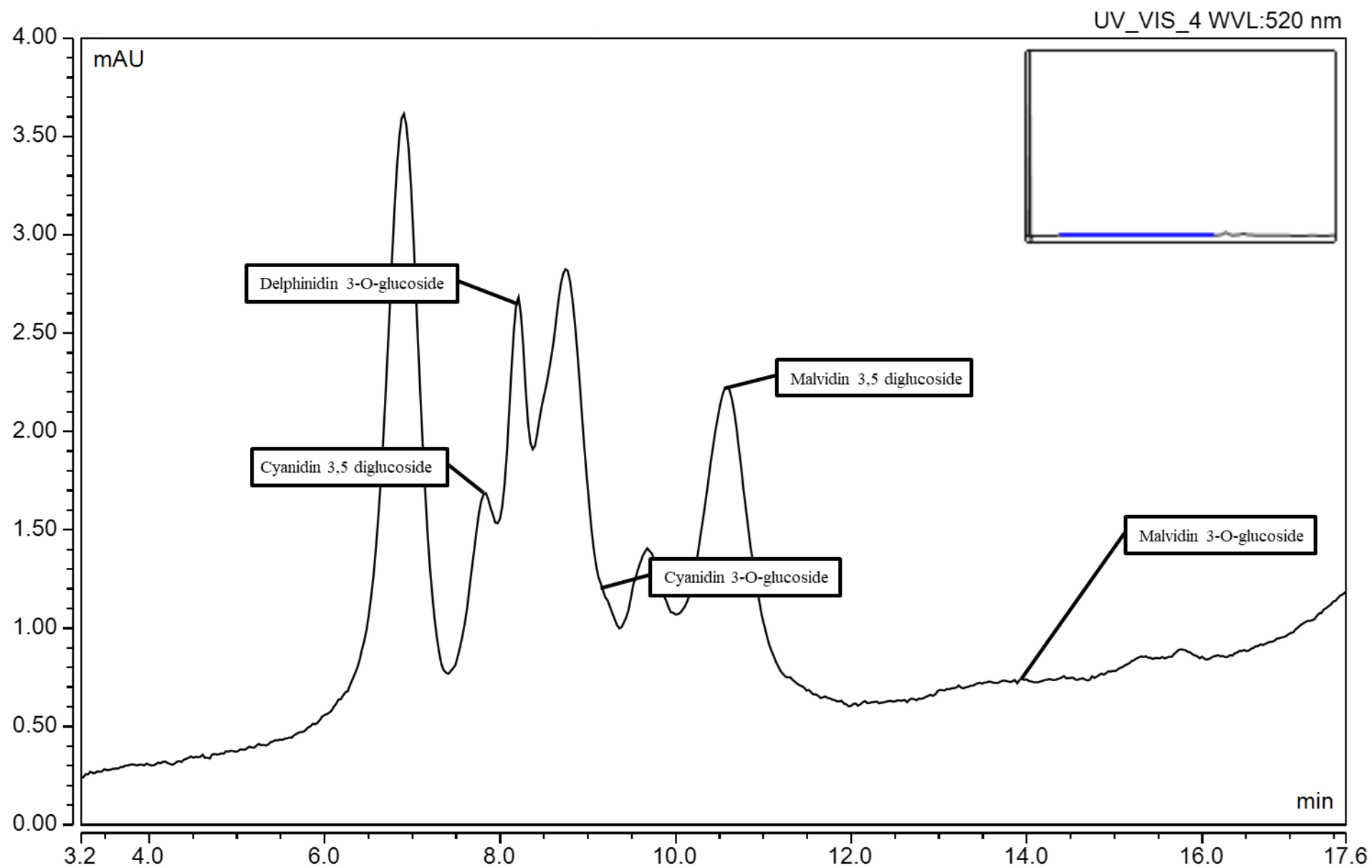


Figure 6. Anthocyanins content in diet supplemented with 1.0 GPF for Nile tilapia.

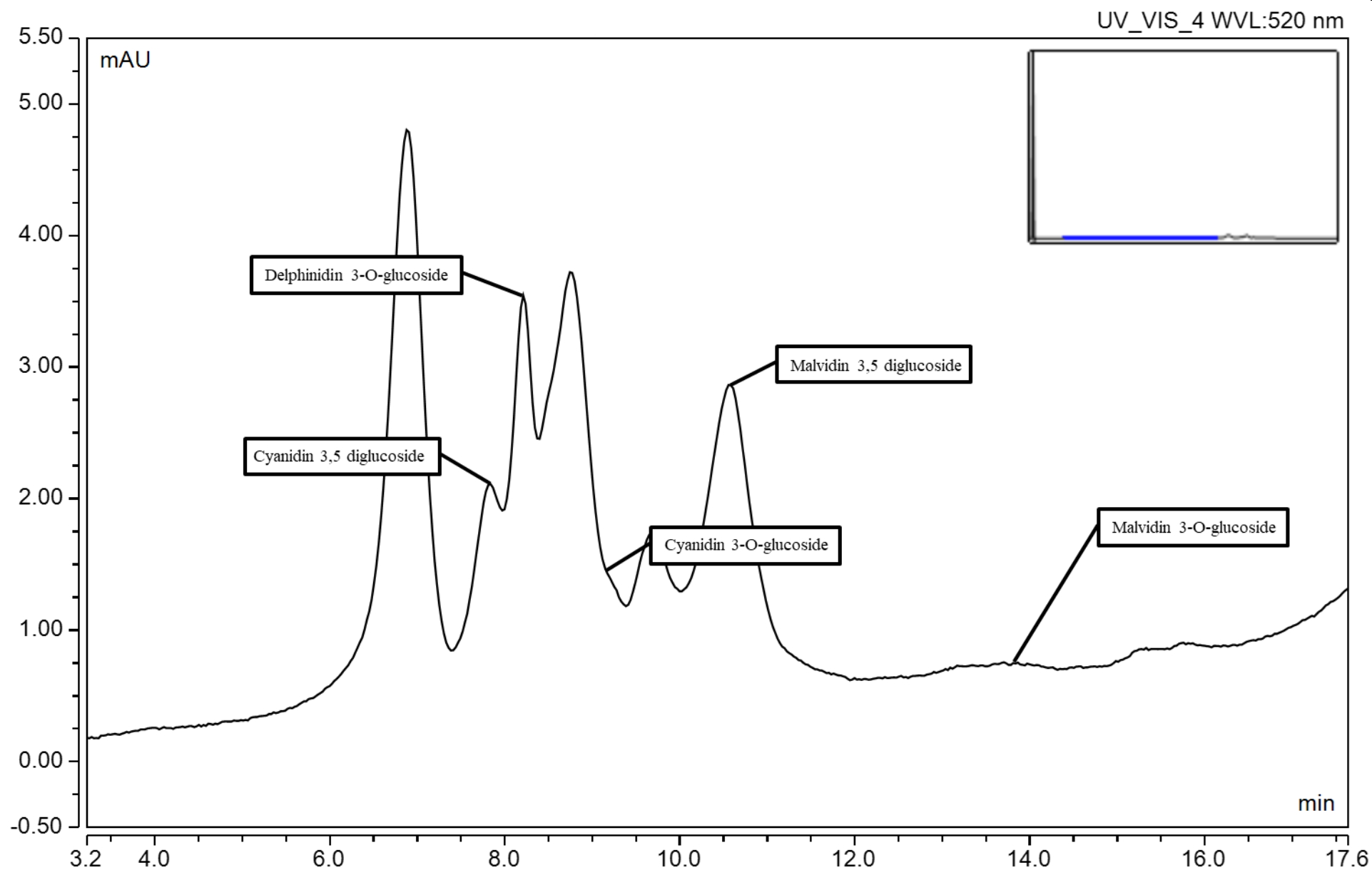


Figure 7. Anthocyanins content in diet supplemented with 1.5 GPF for Nile tilapia.

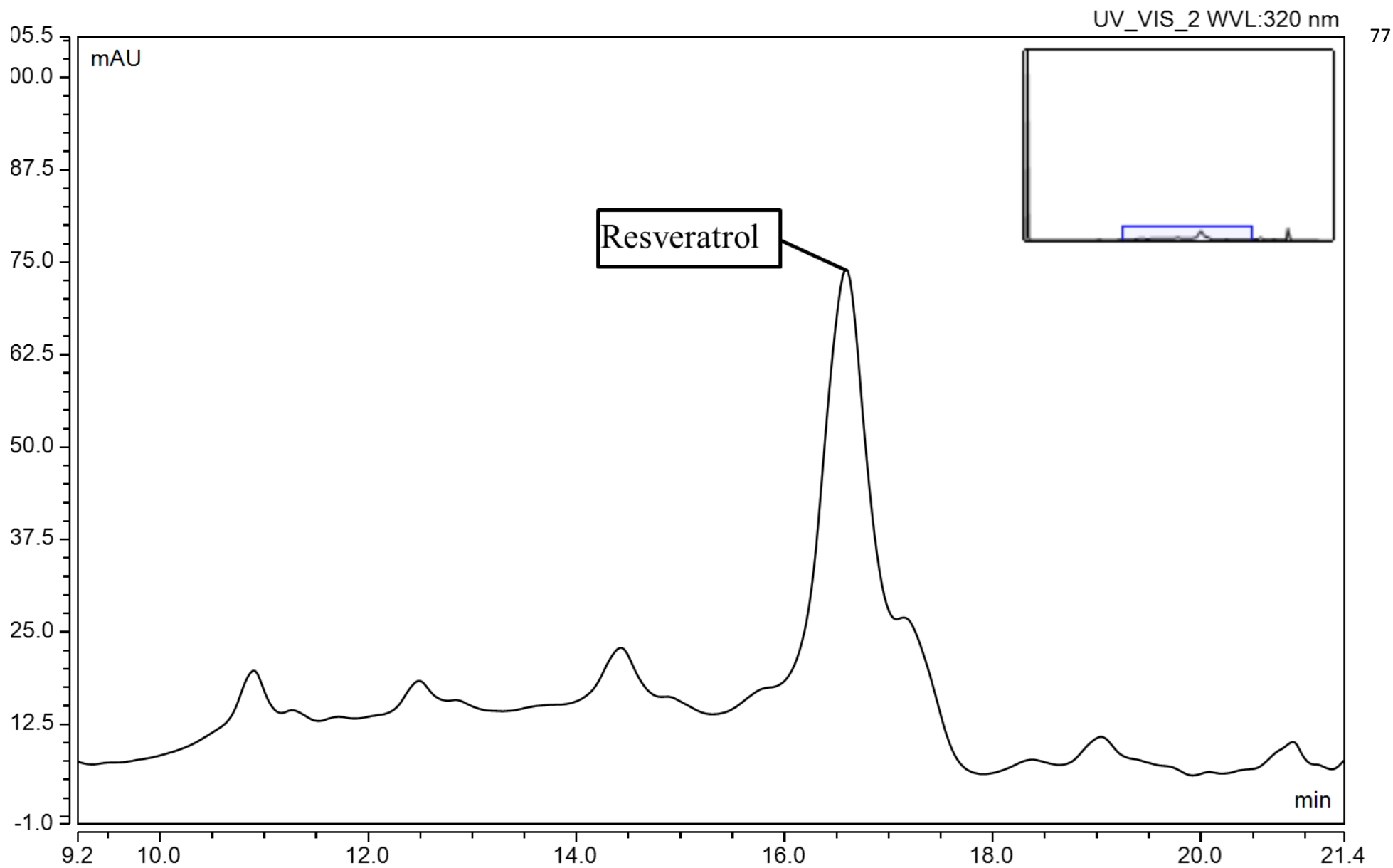


Figure 8. Stilbene content in diet supplemented with RES for Nile tilapia.

Capítulo III

Implicações

Atualmente a tentativa na redução de desperdício de alimentos é crescente, buscando destinos viáveis para tais resíduos. Aliado a isso, o uso indiscriminado de antibióticos na produção aquícola em muitos países foi determinado como questão urgente, portanto a utilização de resíduos com características funcionais provenientes de agroindústrias encoraja fortemente sua regulamentação. O uso da farinha de bagaço de uva surge como candidato a tal propósito devido a seu potencial antioxidante, em função de seus compostos fenólicos presentes no resíduo, como demonstrado no presente estudo.

A utilização da farinha de bagaço de uva promoveu melhora na saúde, o qual foi comprovada pela ação antioxidante do GPF e RES em eliminar substâncias geradas pelo estresse oxidativo, conseqüentemente, não houve substrato para ação da enzima catalase, responsável por neutralizar a ação do peróxido de hidrogênio. Os resultados obtidos nesse estudo são interessantes uma vez que, o uso de farinha de bagaço de uva não foi amplamente estudado para peixes, com poucas pesquisas a respeito, necessitando de mais estudos sobre benefícios para tal classe animal.

Vale ressaltar que o experimento foi realizado utilizando-se dietas extrudadas, uma vez que, dietas para peixes são, em sua maioria, comercializadas desta forma, podendo a farinha de bagaço de uva ser incorporada após seu processamento, a partir do banho com carboximetilcelulose, sendo eficiente na incorporação do produto após processamento. Devido a presença de compostos fenólicos, os quais apresentam características termossensíveis e fotossensíveis, é necessário estocar as rações em compartimentos protegidos da luz, para evitar a degradação e perda de tais compostos antioxidantes.

Desta forma, fica evidenciada a possibilidade de uso da farinha de bagaço de uva como alimento funcional pela indústria de dietas para tilápia-do-Nilo, e sua incorporação após processamento das rações.