



## Extrato hidroalcoólico de rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) na alimentação do peixe Mato Grosso (*Hyphessobrycon eques*)

[*Hydroalcoholic rosela extract (Hibiscus sabdariffa L.) in thick-bush fish (Hyphessobrycon eques) feed*]

### "Artigo Científico/Scientific Article"

Barbara Libanio da Cruz<sup>1</sup> , Marcos Paiva Scardua<sup>2\*</sup> , Rebeca Maria Sousa<sup>3</sup> , Mayara Schueroff Siqueira<sup>3</sup> , Heriberto Gimênes Junior<sup>4</sup> , Henrique Momo Ziemniczak<sup>5</sup> , Alzira Gabriela da Silva Pause<sup>1</sup> , Paulo Henrique Braz<sup>6</sup> , Claucia Aparecida Honorato<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, Brasil.

<sup>2</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará campus Aracati, Aracati-CE, Brasil.

<sup>3</sup>Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande-MS, Brasil.

<sup>4</sup>Laboratório de Ictiologia, Instituto de Meio Ambiente de Mato Grosso do Sul, Campo Grande-MS, Brasil.

<sup>5</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR, Brasil.

<sup>6</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Farroupilha campus Frederico Westphalen, Frederico Westphalen-RS, Brasil.

\*Autor para correspondência/Corresponding Author: E-mail: [marcos.scardua@ifce.edu.br](mailto:marcos.scardua@ifce.edu.br)

### Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a inclusão do extrato hidroalcoólico de rosela (*Hibiscus sabdariffa*) em dietas do peixe Mato Grosso (*Hyphessobrycon eques*). Foram utilizados 120 peixes ( $0,51 \pm 0,06$  g), que foram distribuídos aleatoriamente em 12 aquários de polietileno de 20L, em sistema de recirculação de água, com a densidade de estocagem de 10 peixes por aquário. Os peixes foram alimentados por 21 dias com uma dieta (40,88% PB e 4374,8 Kcal kg<sup>-1</sup>), acrescida de extrato hidroalcoólico de rosela - EHR (controle; 0,12; 0,25 e 0,50 mg de EHR/kg de ração). A inclusão de concentração de 0,25 e 0,50 EHR/kg, promoveu uma melhora nos índices zootécnicos, comprimento padrão e eficiência alimentar. Os peixes apresentaram alteração de croma a\* (tonalidades de verde e vermelho), entretanto, não houve aumento de intensidade em relação à luminosidade croma b\* (tonalidades de azul e amarelo). A utilização de 0,25 e 0,50 EHR/kg refletiu em diminuição da atividade das enzimas AST e ALT. Observou-se o aumento da atividade catalase em concentrações com maiores índices de extratos hidroalcoólicos de rosela na dieta. O extrato hidroalcoólico de rosela é eficiente na alimentação de peixe Mato Grosso na concentração de 0,50 mg EHR/kg.

**Palavras-chave:** aditivo; atividade antioxidante; hepatoprotetora; peixes ornamentais.

### Abstract

This study evaluated the inclusion of hydroalcoholic rosela extract (*Hibiscus sabdariffa*) in diets of the thick-bush fish (*Hyphessobrycon eques*). A hundred and twenty fishes ( $0.51 \pm 0.06$  g), were randomly distributed in 12 polyethylene aquariums of 20L, in a water recirculation system, with the storage density of 10 fish per aquarium. Fish were fed for 21 days per diet (40.88% CP and 4374.8 Kcal kg<sup>-1</sup>), plus rosela alcohol extract - EHR (control; 0.12; 0.25 and 0.50mg of EHR/kg of feed). The inclusion of concentrations of 0.25 and 0.50 EHR/kg promoted an improvement in zootechnical indices, in standard length and feed efficiency. The fish presented alteration of chroma a\* (shades of green and red), there was no increase in intensity in relation to chroma b\* luminosity (shades of blue and yellow). The use of 0.25 and 0.50 EHR/kg reflected decreased activity of AST and ALT enzymes. An increase in catalase activity was observed in concentrations with higher rates of hydroalcoholic rosela extracts in the diet. The hydroalcoholic extract of rosela is efficient in feeding Mato Grosso at the concentration of 0.50 mg EHR/kg.

**Keywords:** additive; antioxidant activity; hepatoprotective; ornamental fish.

Recebido 03 de novembro de 2022. Aceito 06 de abril de 2023.

DOI: <https://doi.org/10.26605/medvet-v17n2-5337>



## Introdução

Na piscicultura ornamental, a cor é um dos principais fatores que impulsionam a escolha dos peixes que irão compor um aquário, tornando-se assim, um valor estético que irá afetar o valor econômico e a comercialização desses animais (Gomes et al., 2021). Naturalmente a cor é produzida pelos cromatóforos, células que contêm pigmentos, entre esses, estão uma família de compostos pigmentados conhecidos como carotenóides. Assim como os outros animais, os peixes não possuem a capacidade de sintetizar esses pigmentos, portanto, devem ser fornecidos via alimentação (Rashidian et al., 2020a).

Com intenção de melhorar o aspecto de peixes, comumente utilizam-se pigmentos sintéticos com baixa eficiência (Nhan et al., 2019; Rashidian et al., 2020b), portanto, pigmentos naturais nas dietas têm sido prospectados (Vanegas-Espinoza et al., 2019) para colorir e também aumentar a atividade antioxidante e os danos causados pelos radicais livres (Nhan et al., 2019).

A rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) tem sido prospectada como alimento funcional (Vanegas-Espinoza et al., 2019) e classificada como uma PANC, planta alimentícia não convencional, possui a função antioxidante, sendo composta por vitaminas C e E, ácidos polifenólicos, flavonoides, ácido araquídico, ácido cítrico, ácido esteárico, ácido málico, além de pectinas, fitoesteróis e antocianinas (Anjos et al., 2017). Os compostos fenólicos apresentam uma reação antioxidante através de seus mecanismos, dentre seus aspectos, inclui-se a capacidade de remoção dos radicais livres, e a inibição de compostos reativos durante o curso normal do metabolismo, retardando a ocorrência de danos às proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, e consequentes, à lesão celular (Silva et al., 2016). Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a inclusão do extrato hidroalcoólico de rosela (EHR) em dietas do peixe Mato Grosso (*Hyphessobrycon eques*).

## Material e Métodos

Foi utilizada uma ração comercial (40,88% PB e 4374,8 Kcal kg<sup>-1</sup>), contendo os ingredientes: Amido de Milho, Alho, Beterraba, Cantaxantina, L-Carnitina, Extrato Vegetal, Farelo de Linhaça, Farelo de Soja, Farinha de Artêmia, Farinha de Peixe, Isolado Proteico de Soja, L-Lisina, Milho, Óleo de Peixe, Óleo de Soja, Protenose, Quirera

de Arroz, Sal, Extrato de Yucca, Premix Vitamínico e Mineral e Aditivos Conservantes, Antioxidante, Adsorvente de Micotoxinas, Probiótico, Prebiótico e Multienzimático.

A rosela foi adquirida no comércio local. Para a formulação do extrato, o material foi pesado (50g), em seguida foram utilizados 300 mL de solução hidroalcoólica (50:50). O material permaneceu em um ambiente refrigerado por 7 dias para obtenção do extrato. Posteriormente ocorreu a inclusão do extrato à ração nas proporções de 0,12; 0,25; 0,50 mg, após a inclusão, a ração permaneceu em estufa a 65°C para a secagem, pelo período de 24 horas.

Os peixes Mato Grosso (*H. eques*) foram adquiridos no comércio local especializado em venda de peixes ornamentais. Estes foram adaptados ao ambiente por um período de 7 dias, recebendo dieta comercial em sistema de recirculação de água. O ensaio *in vivo* foi realizado com 120 peixes com 4 meses de idade (0,51± 0,06 g), distribuídos aleatoriamente em 12 aquários de polietileno de 20 L, em sistema de recirculação de água, com densidade de estocagem de 10 peixes por aquário, estes peixes foram submetidos a um período experimental de 21 dias. Os peixes foram alimentados três vezes ao dia (08h; 11h; 15h) até a saciedade aparente por um período de 21 dias.

A tolerância dos peixes ao EHR foi aferida pela sobrevivência aos protocolos de alimentação diariamente. No 21º dia os peixes foram eutanasiados e mensurados o peso e o comprimento, para os cálculos de desempenho zootécnico: Ganho em peso = peso final - peso inicial; taxa de crescimento específico:  $(\frac{\ln \text{ do peso final } - \ln \text{ do peso inicial}}{\text{dias de experimento}}) \times 100$ ; eficiência alimentar: EA = ganho de peso / consumo de ração; Sobrevivência: S = [número de peixes final/número inicial de peixes] × 100. E fator de condição: K= W/Lb, onde W= peso total, L= comprimento e b= coeficiente angular da relação peso/comprimento).

Para mensurar a coloração, todos os peixes foram utilizados e aferidos com o auxílio de fotocolorímetro portátil Chroma Meter CR-400 (Konica Minolta®), por sistema de coordenadas de Hunter L\*, a\*, b\*, que mede a intensidade de L\* que representa brilho ou luminosidade (-100 preto e, +100 branco), a cromaticidade de a\*, representado pelas tonalidades de verde (-100) e vermelho (+100) e a cromaticidade de b\*, representado pelas tonalidades de azul (-100) e

amarelo (+100) (Rezende et al., 2012). A mensuração foi realizada na região dorsal, logo abaixo da nadadeira dorsal, no peixe in vivo. Para avaliação da atividade hepática e atividade antioxidante do extrato de casca de Rosela, 30 exemplares de peixe Mato Grosso foram utilizados, as análises foram realizadas individualmente.

Para análise das enzimas metabólicas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), amostras de fígado (100 mg) foram homogeneizadas com tampão fosfato de sódio (glicerol v/v em tampão fosfato de sódio 20 mM e Tris 10 mM - pH 7,0) em homogeneizador tipo Potter-Elvehjem. Posteriormente, esta amostra foi centrifugada a 4°C por três minutos a  $600 \times g$  e o sobrenadante submetido a uma nova centrifugação por oito minutos a  $6000 \times g$ . O sobrenadante foi utilizado para os ensaios enzimáticos de ALT e AST. As leituras das amostras foram realizadas por espectrofotometria (espectrofotômetro semi-automático Bioplus S-200), com luz de comprimento de onda apropriado para cada teste.

A atividade antioxidante na pele foi realizada através da atividade da superóxido dismutase (SOD) testada por auto-oxidação do pirogalol, inibida na presença de SOD (Beutler, 1984). As leituras de absorvância foram realizadas em 420 nm, considerando que 1,0 UI inibe 50% a auto-oxidação do pirogalol. A atividade catalase (CAT) foi avaliada lendo o decaimento de  $H_2O_2$  a 230 nm (Beutler, 1984). Uma unidade de CAT foi definida como a quantidade de enzima necessária em 1,0  $\mu\text{mol}$  de  $H_2O_2$   $\text{min}^{-1}$  de oxidação, e a absorvância molar usada foi ( $H_2O_2$ )  $\epsilon_{230} = 0,071 \text{ mM cm}^{-1}$ . A proteína foi determinada com reagente de Bradford contra uma solução padrão de soro de albumina bovina (BSA).

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado contendo quatro concentrações de EHR: 0 (controle); 0,12; 0,25 e 0,50 mg de EHR/kg de ração na alimentação dos peixes Mato Grosso com 3 repetições. A normalidade e homogeneidade da variância dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, em programa Bioestat (versão 5.0). Foi realizada a análise de variância (ANOVA), e quando detectada diferença significativa ( $p < 0,05$ ), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

## Resultados e Discussão

O EHR demonstrou que pode ser utilizado com segurança na alimentação do Mato Grosso, uma vez que não houve mortalidade durante o ensaio. As concentrações de 0,12 e 0,25 mg de EHR/kg de ração proporcionaram melhores índices de eficiência alimentar e as rações de 0,25 e 0,50 mg de EHR/kg maior comprimento padrão. O grupo controle (sem a inclusão de EHR/kg) e o grupo com menor concentração (0,12 mg EHR/kg), obtiveram menores índices de crescimento (Tabela 1).

Não foi observada qualquer alteração referente à luminosidade frente a suplementação com EHR na alimentação. Altas doses de EHR demonstraram aumento da intensidade de vermelho nos peixes (Tabela 1). A utilização de 0,50 mg de EHR/kg promoveu maior efeito na coloração na cromaticidade de  $a^*$ . No trabalho de Vanegas-Espinoza et al. (2019) também foi reportado o aumento da pigmentação nas maiores concentrações de aditivo (antocianinas microencapsuladas), à base de rosela, adicionado na dieta dos peixes (*Carassius auratus*).

Não foram encontradas diferenças significativas nos valores de albumina e SOD hepática. Houve aumento da CAT quando utilizado 0,25 e 0,50 mg de EHR/kg. Houve diminuição da ALT e AST com a inclusão de EHR (Tabela 1). Conforme relatado por Silva et al. (2016), os compostos fenólicos presentes no EHR possuem a capacidade de remoção dos radicais livres e a inibição de compostos reativos no metabolismo, retardando a ocorrência de danos às proteínas, lipídeos e ácidos nucléicos e, conseqüentemente, à lesão celular, desta forma sugerimos que o mesmo tenha ocorrido em *H. eques*, com reflexo na redução de ALT e AST.

A resposta da atividade antioxidante das dietas com inclusão do extrato de rosela estão relacionadas aos compostos bioativos presentes em sua composição. A presença de compostos antioxidantes, como antocianinas, flavonoides e betacaroteno, buscam retardar ou bloquear os efeitos causados pelos radicais livres (Gomes et al., 2021). Esta ação protetora ocorre, principalmente, pela presença de ativos nutricionais incorporados na dieta (Ota et al., 2019), como fontes naturais (Maiti et al., 2017).

A utilização de corantes naturais com fatores pigmentantes, como as antocianinas, promovem a pigmentação vermelha nos alimentos, sendo assim, uma alternativa para a

diminuição de corantes sintéticos, visto que os corantes naturais além de aumentar a coloração favorecem o sistema imune (Vanegas-Espinoza et al., 2019).

A rosela se destaca por possuir uma alta taxa de concentração de antocianinas em sua composição bioquímica, além da presença de compostos fenólicos que em conjunto são responsáveis pela sua coloração e poder

antioxidante (Silva et al., 2016). Fator este observado nos peixes alimentados com 0,25 e 0,50 mg de EHR/kg na dieta, pelo aumento de cor vermelha demonstrado pela cromaticidade de  $a^*$ . Alguns trabalhos reportam o sucesso da incorporação de plantas com componentes pigmentantes na alimentação de peixes (Kaur e Tarang, 2017), no entanto, poucos estudos foram realizados em peixes neotropicais.

**Tabela 1.** Desempenho zootécnico e coloração da pele, atividade das enzimas digestivas, metabólicas e antioxidantes do peixe Mato Grosso (*Hyphessobrycon eques*) alimentados com diferentes níveis de inclusão de extrato hidroalcoólico de rosela (*Hibiscus sabdariffa*).

Parâmetros	Dietas (mg.kg <sup>-1</sup> )				P
	Controle	0,12	0,25	0,50	
GP (g)	0,43±0,09	0,47±0,06	0,53±0,05	0,57±0,08	0,0789
CT (cm)	3,14±0,22	3,10±0,18	3,27±0,16	3,27±0,22	0,1753
CP (cm)	2,48±0,22b	2,39±0,17b	2,62±0,17a	2,65±0,18a	0,0417
Altura (cm)	1,20±0,13	1,21±0,13	1,26±0,12	1,22±0,13	0,8101
EA	1,78±0,33b	3,16±0,44a	3,58±0,39a	1,91±0,29b	<0,0001
TCE (%/dia)	18,95±0,88	18,42±0,64	19,02±0,52	19,31±0,68	0,0733
FC	0,035±0,004	0,032±0,002	0,031±0,002	0,035±0,008	-
<i>Coloração da pele</i>					
L*	58,89±7,89	43,44±18,07	44,23±5,64	43,73±12,64	0,2970
a*	1,76±0,48b	2,01±1,00a	2,45±0,78a	3,19±1,57a	0,0349
b*	-1,15±0,85a	-3,43±4,49a	0,07±0,86b	-0,72±0,70a	0,0222
<i>Enzimas Metabólicas (U/mg)</i>					
ALT	892,00±31,14a	813,75±19,64a	633,0±29,47b	603,75±14,62b	<0,0001
AST	859,60±31,19a	879,50±82,96a	774,0±21,41b	761,25±23,95b	<0,0001
Albumina*	0,13±0,01	0,12±0,01	0,12±0,02	0,12±0,03	0,0975
<i>Enzimas antioxidantes (U/mg)</i>					
CAT	97,67±9,02b	89,5±6,36b	105,7±2,08a	105,0±2,88a	<0,0001
SOD	3,65±0,5	4,30±0,7	4,20±0,55	4,12±0,29	0,3801

\*Médias seguidas de letras distintas reportam diferença pelo teste de Tukey (P<0,05); Dados expressos em média ± desvio padrão. GP (mg)= Ganho em peso; CT (cm)= Comprimento Total; CP (cm)= Comprimento Padrão; EA= Eficiência Alimentar; TCE (%/dia) = Taxa de Crescimento Específico; FC= Fator de Condição relativo. ALT - Alanina Aminotransferase; AST - Aminotransferase de Aspartato; SOD - Superóxido Dismutase; CAT - Catalase. \*Albumina (g.dL<sup>-1</sup>).

A beleza do peixe exacerbada pelo aumento da cor é um fator que a nutrição de organismos aquáticos ornamentais vem buscando, associado à melhora na saúde e bem-estar. Neste contexto, o principal órgão do metabolismo de energia nos peixes é o fígado, e sua desintoxicação apresenta efeito protetor desses animais, e danos como

lesões ou disfunção tem se tornado um dos problemas mais sérios na aquicultura (Ma et al., 2019). A diminuição significativa observada nos valores de AST, revelou um efeito hepatoprotetor, da inclusão do EHR. O efeito hepatoprotetor foi reportado por algumas plantas (Ota et al., 2019;

Gao et al., 2020), demonstrando melhora no desenvolvimento dos peixes.

### Conclusão

O extrato hidroalcoólico de rosela (*Hibiscus sabdariffa*) é eficiente na alimentação de Mato-Grosso (*Hyphessobrycon eques*) a partir da concentração de 0,25 mg EHR/kg.

### Comitê de Ética

O presente estudo foi realizado de acordo com os princípios éticos de experimentação animal, adotado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais do Centro Universitário da Grande Dourados (CEUA/UFGD), registrado sob o protocolo n° 03/2019.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao laboratório de Ictiologia do Imasul o apoio para realização do ensaio experimental.

### Referências

- Anjos, J.C.; Munhoz, M.P.; Silva, V.N.; Tirapeli, K.G.; Pereira, A.A.F.; Nakamune, A.C.M.S. Estudo in vitro da atividade antioxidante de *Hibiscus Sabdariffa* L. **Revista Saúde UniToledo**, 1(1): 20-30, 2017.
- Beutler, E. **Red cell metabolism: a manual of biochemical methods**. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Grune and Stratton, 1984. 188 p.
- Gao, Y.; Meng, L.; Liu, H.; Wang, J.; Zheng, N.; The compromised intestinal barrier induced by mycotoxins. **Toxins**, 12(10): 0619, 2020.
- Gomes, V.D.S.; Cavalcanti, C.R.; Batista, J.M.M.; Almeida, J.L.S.; Santos, F.G.A.; Jordão Filho, J. Uso de aditivos alimentares para peixes ornamentais. **Revista Científica Rural**, 23(1): 266-279, 2021.
- Kaur, R.; Tarang, K.S. Role of feed additives in pigmentation of ornamental fishes. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, 5(2): 684-686, 2017.
- Ma, H.J.; Mou, M.M.; Pu, D.C.; Lin, S.M.; Chen, Y.J.; Luo, L. Effect of dietary starch level on growth, metabolism enzyme and oxidative status of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. **Aquaculture**, 498: 482-487, 2019.
- Maiti, M.K.; Bora, D.; Nandeesha, T.L.; Sahoo, S.; Adarsh, B.K.; Kumar, S. Effect of dietary natural carotenoid sources on colour enhancement of Koi carp, *Cyprinus carpio* L. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, 5(4): 340-345, 2017.
- Nhan, H.T.; Minh, T.X.; Liew, H.J.; Hien, T.T.T.; Jha, R. Effects of natural dietary carotenoids on skin coloration of false Clownfish (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830). **Aquaculture Nutrition**, 25(3): 662-668, 2019.
- Ota, E.C.; Honorato, C.A.; Heredia-Vieira, S.C.; Flores-Quintana, C.I.; de Castro Silva, T.S.; Inoue, L.A.K.A.; Cardoso, C.A.L. Hepatic and gastroprotective activity of *Serjania marginata* leaf aqueous extract in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish Physiology Biochemistry**, 45(3): 1051-1065, 2019.
- Rashidian, G.; Rainis, S.; Prokić, M.D.; Faggio, C. Effects of different levels of carotenoids and light sources on swordtail fish (*Xiphophorus helleri*) growth, survival rate and reproductive parameters. **Natural Product Research**, 35(21): 3675-3686, 2020a.
- Rashidian, G.; Bahrami, G.S.; Farsani, M.N.; Prokić, M.D.; Faggio, C. The oak (*Quercus brantii*) acorn as a growth promotor for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): growth performance, body composition, liver enzymes activity and blood biochemical parameters. **Natural Product Research**, 34(17): 2413-2423, 2020b.
- Rezende, F.P.; Vidal Júnior, M.V.; Andrade, D.R.; Mendonça, P.P.; Santos, M.V.B. Characterization of a new methodology based on the intensity of skin staining of ornamental fish with applications in nutrition. **Journal of Agricultural Science and Technology B**, 2(2): 606-613, 2012.
- Silva, A.B.; Wiest, J.M.; Carvalho, H.H.C. Compostos químicos e atividade antioxidante analisados em *Hibiscus rosa-sinensis* L. (mimo-de-vênus) e *Hibiscus syriacus* L. (hibisco-da-síria). **Brazilian Journal of Food Technology**, 19: e2015074, 2016.
- Vanegas-Espinoza, P.E.; Pérez-Escalante, V.; Aguirre-Guzman, G.; Hoyos-Leyva, J.D.; Del Villar-Martínez, A.A. Microencapsulation of anthocyanins from roselle (*Hibiscus sabdariffa*) and its application on a pigment supplied diet to fantail goldfish (*Carassius auratus*). **Aquaculture International**, 27(6): 1801-1811, 2019.