

**Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos**

**COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS E QUANTIFICAÇÃO DOS
ÁCIDOS GRAXOS LNA, EPA E DHA NO TECIDO MUSCULAR DE
TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*), SUBMETIDAS A DIFERENTES
TRATAMENTOS COM ÓLEO DE LINHAÇA**

**Jesuí Vergílio Visentainer
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

**Profa. Dra. Maria Regina Bueno Franco
Orientadora**

**Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de Doutor
em Ciência de Alimentos**

**Campinas
2003**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

V823c Visentainer, Jesú Vergilio
Composição de ácidos graxos e quantificação dos ácidos graxos LNA, EPA e DHA no tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*), submetidas a diferentes tratamentos com óleo de linhaça / Jesú Vergilio Visentainer. – Campinas, SP: [s.n.], 2003.

Orientador: Maria Regina Bueno Franco
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Tilápia. 2.Ácidos Graxos Ômega-3. 3.Linhaça. 4.Peixe.
I.Franco, Maria Regina Bueno. II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA

**Profa. Dra. Maria Regina Bueno Franco
(Orientadora)**

**Profa. Dra. Elza Ioko Ida
(Membro)**

**Profa. Dra. Helena Teixeira Godoy
(Membro)**

**Profa. Dra. Neura Bragagnolo
(Membro)**

**Prof. Dr. Nilson Evelázio de Souza
(Membro)**

**Prof. Dr. Makoto Matsushita
(Membro)**

**Prof. Dr. Daniel Barrela-Arelano
(Membro)**

AGRADECIMENTOS

Àquele que é a razão de todas as coisas, pois sem Ele nada existiria...

Agradeço, especialmente, à professora Dra. Maria Regina Bueno Franco pela orientação, paciência, compreensão e incentivo nos momentos, particularmente, difíceis. E, pela sua maneira singular de ter me ensinado e dado a oportunidade de crescer profissionalmente.

Aos membros da Banca Examinadora, pelas sugestões e contribuições apresentadas.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Universidade Estadual de Maringá (UEM-DQI) e à Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP-FEA), pelo apoio e oportunidade.

Agradeço à professora Helena (minha dedicada e ex-professora), à Juliana, Marcelo e ao Rodrigo (amigos inseparáveis), pelos saudáveis momentos (alegres e tristes) que convivemos durante a realização deste trabalho.

Aos professores da Universidade Estadual de Maringá: Carmino Hayashi; Makoto Matsushita e Nilson Evelázio de Souza pelas orientações e oportunidade na realização de trabalhos de pesquisas e deste trabalho.

Às professoras Neura Bragagnolo e Helena Teixeira Godoy pela compreensão e oportunidade na realização de trabalhos de pesquisas.

Aos colegas Antonio José Inhamuns, pelos ensinamentos no início das análises cromatográficas e Cristina Boccato Ferreira pela presteza no laboratório.

Aos demais colegas, agradecer talvez não seja a palavra adequada, mas talvez expressar aqui, a saudade que irei sentir pela convivência durante estes anos de labuta.

Dedico e agradeço à minha querida família e especialmente à **Jeane** (minha esposa) e à **Lorena** (minha filha), com todo amor e carinho.

RESUMO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo elevar o teor de ácidos graxos ômega-3 (ω -3 ou n-3) em peixes de cativeiro. Com este propósito, exemplares de tilápias (*Oreochromis niloticus*) juvenis, pesando aproximadamente 88g foram submetidos ao confinamento em um experimento inteiramente casualizado com quatro tratamentos (B, C, D e E) à base de óleo de linhaça e um controle (tratamento A) à base de óleo de girassol. As rações com óleo de linhaça receberam níveis crescentes deste óleo, o qual foi utilizado por apresentar elevado teor do ácido alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3), um precursor de outros ácidos graxos da família n-3 de interesse nutricional. O óleo de girassol utilizado na ração controle foi escolhido por apresentar baixo teor do ácido LNA. As composições de ácidos graxos, umidade e lipídios totais foram monitoradas nas rações durante o período de fornecimento. Após 5 meses de cativeiro em caixas de fibro-cimento (capacidade de 1000L de água), as tilápias foram abatidas, os filés removidos e submetidos à determinação de umidade e de lipídios totais (LT). Nos LT, foi analisada a composição de ácidos graxos e a quantificação dos ácidos LNA, eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) em mg/g de LT usando o éster metílico do ácido tricosanóico como padrão interno. Os LT foram ainda fracionados em lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL) por coluna clássica. A separação dos ésteres metílicos das amostras de LT, LN, FL e a quantificação dos ácidos LNA, EPA e DHA foram realizadas por cromatografia gasosa, em coluna capilar de sílica fundida DB-WAX-20M, de 30m x 0,25mm x 0,25 μ m, mantida a 170°C por 16 minutos, programada a 2°C por minuto até 210°C, permanecendo nesta temperatura por 30 minutos, com injetor a 250°C e detector a 280°C, utilizando hidrogênio como gás de arraste a 1mL/min. Nos LT, LN e FL, foi encontrado um total de 50, 64 e 58 componentes, respectivamente. Os ácidos graxos majoritários foram o linoléico (18:2n-6), oléico (18:1n-

9) e palmítico (16:0), ocorrendo inversão na ordem dos teores destes ácidos em alguns tratamentos e frações. As somatórias dos ácidos graxos da família n-3 nos LT, LN, e FL foram sempre crescentes, enquanto as somatórias dos ácidos da família n-6 foram sempre decrescentes. Em ambas as famílias, a diferença foi significativa para a maioria dos tratamentos à medida que aumentaram os níveis de óleo de linhaça nas rações. Na fração de FL, para um mesmo tratamento, as somatórias de ácidos graxos n-3 foram sempre superiores em relação às somatórias nos LT e LN. Nos LT, o fornecimento de rações à base de óleo de linhaça contribuiu para melhorar o valor nutricional do conteúdo lipídico do tecido muscular deste peixe em vários aspectos: fornecendo teores sempre superiores dos ácidos graxos LNA, EPA e DHA, aumentando a somatória de ácidos graxos da família n-3, reduzindo o valor das razões n-6/n-3 e, ainda, elevando os valores das razões da somatória de ácidos: altamente insaturados/saturados (AGAI/AGS) e poliinsaturados/saturados AGPI/AGS. Na quantificação dos ácidos graxos (LNA, EPA e DHA) em mg/g de LT, ficou bem estabelecido o aumento da concentração destes ácidos à medida que foram aumentados os níveis de óleo de linhaça nas rações. Os valores da concentração dos ácidos LNA, EPA e DHA em mg/g de LT variaram entre os tratamentos A e E de 6,52 a 59,28 (LNA), de 0,15 a 2,54 (EPA) e de 9,93 a 26,13 (DHA). Na análise sensorial, foi empregado o método da diferença simples-triangular, entre filés de tilápias comerciais e aqueles de tilápias que receberam rações com maior nível de óleo de linhaça (tratamento E). Não foi observada diferença significativa no sabor entre estes filés.

GENERAL ABSTRACT

The present work had as its aim to raise the omega-3 (ω -3 or n-3) fatty acids content in farm fish. With this in mind young Tilapias (*Oreochromis niloticus*) samples weighing approximately 88g were taken randomly to captivity in an experiment with four treatments (B, C, D and E) using linseed oil and one control (treatment A) using sunflower oil. The rations with linseed oil received increasing levels of it, being used because of its high level of alpha-linolenic acid (ALA, 18:3n-3), a precursor of other fatty acids of the n-3 family with a high nutritional interest. The sunflower acid used in the control ratio was chosen because of its low levels of ALA acid. The fatty acids composition, moisture and total lipids in the ratios were monitored during the supplying period. After five months of captivity in asbestos-cement boxes (water capacity of 1000L), the tilapias were slaughtered, the filets removed and taken to both moisture and total lipid (TL) determination. In the TL, it was analyzed the composition of fatty acids and the quantification of ALA (18:3n-3), eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) acids in mg/gram of TL using methyl ester of tricosanoic acid as an internal pattern. The TL were still fractioned in neutral lipids (NL) and phospholipids (PL) through classical column. The methyl esters separation of samples of TL, NL, PL and the content of ALA, EPA and DHA was carried out by gas chromatography, in fused-silica capillary column DB-WAX-20M, of 30m x 0.25mm x 0.25 μ m, kept at 170oC for 16 minutes, programmed at 2oC per minute up to 210oC, being kept at his temperature for 30 minutes, with injector at 250oC and detector at 280oC, using hydrogen as a dragging gas at 1mL/min. In TL, NL and PL, a total of 50, 64 and 58 components were found, respectively. The major fatty acids were the linoleic (18:2n-6), oleic (18:1n-9) and palmitic (16:0), where some times an inversion of these values occurred in some treatments and fractions. The fatty acids sums of the n-3 family in

TL, NL, and PL were always increasing, whilst the sums of the n-6 family were always the opposite. The difference was significant for most of the treatments in both families as the linseed oil level increased in the rations. In the PL fraction, for the same treatment, the sums of the n-3 family fatty acids were always higher in relation to the sums in TL and NL. In TL, the supply of linseed oil based rations contributed for a better nutritional value of the meat lipid content (muscular tissue) in various aspects: it always furnished higher fatty acid content of ALA, EPA and DHA, increasing the sum of n-3 family fatty acids, reducing the ratio value of n-6/n-3, and, still increasing the values of HUFA/SFA and PUFA/SFA ratios. In the fatty acids quantification (ALA, EPA and DHA) in mg/g of TL, it was well established the concentration increase of these acids as they had their linseed oil level increased in the rations. The concentration values of ALA, EPA and DHA acids in mg/g of TL varied between the treatments A and E from 6.52 to 59.28 (ALA), from 0.15 to 2.54 (EPA) and from 9.93 to 26.13 (DHA). At the sensorial analysis, it was used the method of simple-triangular difference between the commercial tilapias filets and those which received rations with a higher content of linseed oil (treatment E). It was not found a significant difference in flavor between the filets.

SUMÁRIO

Resumo Geral	ix
General Abstract	xi
Introdução Geral	1
Referências Bibliográficas	5
CAPÍTULO I (artigo de revisão)	
Ácidos graxos em peixes: implicações nutricionais e aspectos Analíticos no Brasil	9
Resumo	11
Abstract	12
Ácidos graxos e seus benefícios	13
Famílias dos ácidos graxos n-6 e n-3 em peixes de água doce	14
Essencialidade dos ácidos graxos n-3 e n-6 em peixes marinhos <i>versus</i> peixes de água doce	17
Ácidos graxos e o homem	18
A essencialidade dos ácidos graxos	18
Aspectos nutricionais: quantidades e razões entre grupos de ácidos graxos	20
Análises de ácidos graxos em peixes no Brasil	22
Identificação e quantificação de ácidos graxos	23
Referências bibliográficas	25
CAPÍTULO II (artigo de revisão)	
Peixes de cativeiros de água doce no Brasil: uma análise crítica sobre o conteúdo lipídico	31
Resumo	33
Abstract	34
Justificativas	35
Introdução	36
Criação de peixes cultivados	36
Composição e alimentação de peixes cultivados	38

Uma análise crítica - Composição de ácidos graxos de peixes de água doce do Brasil	39
Resultados e discussão	42
Teor de lipídios totais e composição dos ácidos LNA, EPA e DHA das espécies	43
Percentagens de LA, somatórias de AGDI e AGPI e razões AGPI/AGDI e n-6/n-3	46
Somatórias de AGS, AGAI-CL e razões AGPI/AGS e AGAI/AGS	50
Comentários gerais	53
Referências bibliográficas	54

CAPÍTULO III (artigo científico)

Composição de ácidos graxos nos lipídios totais de tilápias

(*Oreochromis niloticus*) submetidas a diferentes tratamentos com óleo de

linhaça e análise sensorial do tecido muscular	59
Resumo	61
Abstract	62
Introdução	64
Materiais e métodos	67
Sistema de confinamento e preparo das amostras	67
Preparo e controle das rações	68
Determinação de umidade e lipídios totais	70
Análise de ácidos graxos	71
Identificação dos ácidos graxos	71
Análise sensorial	72
Análise estatística	73
Resultados e discussão	73
Teor de lipídios totais, umidade e composição de ácidos graxos das rações	73
Lipídios totais, umidade do tecido muscular e peso das tilápias	76
Composição de ácidos graxos dos lipídios totais dos diferentes tratamentos	77
Avaliação de alguns índices de qualidade nutricional	84
Somatórias de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e diinsaturados	84
Somatórias dos ácidos graxos altamente insaturados, poliinsaturados e famílias n-6 e n-3	87

Razões entre as somatórias de ácidos graxos (n-6/n-3, AGAI/AGS, AGPI/AGS e AGPI/AGDI)	88
Razões de n-6/n-3	89
Razões de AGAI/AGS, AGPI/AGS e AGPI/AGDI	91
Análise sensorial	93
Referências bibliográficas	94
CAPÍTULO IV (artigo científico)	
Análise da composição de ácidos graxos nas frações de lipídios neutros e fosfolipídios e de lipídios totais de tilápias (<i>Oreochromis niloticus</i>) submetidas a diferentes tratamentos com óleo de linhaça	
	101
Resumo	103
Abstract	104
Introdução	106
Materiais e métodos	109
Fracionamento de lipídios totais em classes de lipídios neutros e fosfolipídios	109
Resultados e discussão	110
Composição de ácidos graxos nas frações de LN, FL e LT das tilápias	110
Composição de ácidos graxos de importância nutricional e de outros componentes nas frações	118
Somatórias de AGS, AGMI, AGDI, AGAI, AGPI, n-3 e n-6 nos LT e nas frações de LN e FL	121
Razões n-6/n-3, AGAI/AGS e AGPI/AGS nos LT e frações de LN e FL	124
Referências bibliográficas	127
CAPÍTULO V (artigo científico)	
Quantificação dos ácidos graxos poliinsaturados alfa-linolênico (LNA), eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) em tilápias (<i>Oreochromis niloticus</i>) submetidas a diferentes tratamentos com óleo de linhaça	
	131
Resumo	133
Abstract	134
Introdução	136

Materiais e métodos	139
Procedimento da análise dos ácidos graxos LNA, EPA e DHA	139
Quantificação dos ácidos LNA, EPA e DHA	141
Testes de recuperação e precisão analítica	141
Resultados e discussão	142
Fator de resposta para os ácidos LNA, EPA e DHA	142
Recuperação e precisão analítica	144
Teor de lipídios, umidade e composição de LNA nas rações	144
Lipídios totais, umidade do tecido muscular e peso das tilápias	146
Quantificação dos ácidos LNA, EPA e DHA no tecido muscular das tilápias	148
Efeito das concentrações de LNA das rações sobre a concentração de LNA, EPA e DHA nos LT de tilápias	150
Comparação das concentrações de LNA, EPA e DHA de tilápias com outros peixes e associação com a dieta humana	153
Referências bibliográficas	158
Conclusão Geral	162
ANEXOS	163
Anexo I	165
Anexo II	167
Anexo III	171

INTRODUÇÃO GERAL

Desde épocas remotas, o homem tem se utilizado dos peixes como alimento para a sua subsistência. Talvez tenha sido o primeiro vertebrado a ser consumido, logo após a utilização de frutos, brotos vegetais e alguns tipos de insetos. Primeiramente, com uma primitiva fisga, o homem aprendeu a capturar os peixes nos rios. Posteriormente, há aproximadamente 3 mil anos, o cultivo de peixes já era praticado na China, utilizando carpas em pequenas represas (Hayashi *et al.*, 1996). O marco da evolução do cultivo racional de peixes iniciou-se por volta da metade do século passado no Japão (Silva & Siqueira, 1997; Hayashi *et al.*, 1996).

Atualmente, com a piscicultura em ascensão, realizam-se pesquisas em vários países como o Japão, Israel, Estados Unidos, Alemanha, Hungria, Coréia, Índia e Filipinas, dentre outros e, em muitos destes países, a piscicultura representa um percentual significativo na economia (Hayashi *et al.*, 1996).

A produção de pescados em termos mundiais teve um desenvolvimento crescente na década de 90, estando estimada em 121 milhões de toneladas/ano (FAO, 1998). No Brasil, esta produção está estimada em 800 mil toneladas/ano (Brasil, 2000). Os pesquisadores brasileiros afirmam que, no Brasil, existe uma grande capacidade de produção levando em consideração a boa qualidade da água e o clima tropical bastante favorável para a implantação da piscicultura. Aliado a isso, o desenvolvimento de técnicas e manejo de espécies nativas ou exóticas poderia elevar a produção piscícola brasileira a um salto que colocaria o Brasil como maior produtor mundial de pescado de água doce.

Nos últimos anos, houve um aumento significativo no consumo de peixes pelos brasileiros, isto se deve, principalmente, ao aumento de pesqueiros no Brasil, às novas espécies criadas em cativeiro e ao fornecimento de peixes pelos criadores, que vendem seus produtos em mercados, feiras-livres, indústrias de filetagem, etc.

Dentre os peixes cultivados, destacam-se espécies exóticas como a tilápia (*Oreochromis niloticus*), conhecida como tilápia-do-nylo. As tilápias, de maneira geral, apresentam todas as características favoráveis ao cultivo, ou seja, adaptação às condições ambientais, baixo nível trófico (onívora), rusticidade,

resistência a baixas concentrações de oxigênio na água, dentre outras. Aliado a isto, apresenta uma boa aceitação pelo consumidor e preço acessível (Ribeiro *et al.*, 1995). Isto fez com que a tilápia fosse um dos peixes de cativeiro de água doce mais consumidos pelos brasileiros.

A investigação da composição química, particularmente com relação à composição de ácidos graxos no conteúdo lipídico de peixes, tem sido freqüentemente objetivada pela comunidade científica mundial, pois está relacionada diretamente à saúde humana (Uauy & Valenzuela, 2000; Hunter *et al.*, 2000; Harris, 1999; Siguel, 1996). Dentre estes ácidos graxos, os pertencentes à família ômega-3 ou n-3, como o ácido alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3) e, particularmente os ácidos eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) têm recebido maior atenção por reduzirem fatores de risco associados a doenças cardiovasculares (von Schacky, 2000; Haglund *et al.*, 1998; Kromhout *et al.*, 1995), psoríase (Mayser *et al.*, 1998), artrite (Ewin, 1997; Kremer *et al.*, 1987) e câncer (Kimura *et al.*, 2001, Rose & Connolly, 1999). Desta forma, o uso de peixes, óleos de pescado e de concentrados de ácidos graxos tem sido recomendado para os humanos.

No entanto, a alimentação dos peixes exerce um fator determinante na composição de sua carne, especialmente sobre a composição dos lipídios. Os ácidos graxos da dieta são transferidos para os peixes através da alimentação e podem ser utilizados no seu metabolismo, armazenados e/ou transformados em outros ácidos (Zenebe *et al.*, 1998; Henderson, 1996).

As composições de ácidos graxos dos lipídios de peixes de água doce e marinha, de *habitat* natural, diferem entre si. Este fato está associado a vários fatores, dentre estes, às diferenças relacionadas à bioquímica do metabolismo dos ácidos graxos essenciais no peixe marinho e de água doce (Greene & Selivonchick, 1987) e à composição dos alimentos ingeridos nos dois *habitats* (Zenebe *et al.*, 1998).

Os peixes de água doce apresentam enzimas capazes de dessaturar e alongar os ácidos LNA (um precursor da família n-3) e o ácido linoléico (LA, 18:2n-6; um precursor da família n-6) em outros ácidos graxos. Portanto, ministrando para estes peixes alimentos com o ácido LNA, serão produzidos ácidos graxos da

família n-3 de importante valor nutricional como o EPA e DHA. Por outro lado, o fornecimento de LA, um ácido comumente encontrado em vários alimentos, produzirá ácidos da família n-6.

Para os peixes de água doce, a ração é a principal fonte de alimento utilizada nos cultivos. No Brasil, estima-se que a produção de rações tenha aumentado em aproximadamente 140% nos últimos dois anos (Martino & Takahashi, 2001). Nos ingredientes, são utilizados constituintes de origem vegetal (farelos, óleos, etc.) ou de origem animal (farinhas de carne, de sangue, de ossos, etc.). Estes constituintes comumente são utilizados no cultivo de tilápias e de outras espécies de água doce (Ribeiro *et al.* 1995). Rações formuladas com estes ingredientes possivelmente apresentam elevado teor do ácido LA, enquanto o teor do ácido LNA poderá ser muito baixo ou inexistente. Em trabalhos realizados no Brasil, sobre a composição de ácidos graxos em rações para peixes, foram encontrados elevados teores de LA e baixos teores de LNA, enquanto que outros ácidos graxos da família n-3 foram encontrados com baixos teores ou não foram detectados (Moreira *et al.*, 2001; Maia, 1992).

A semente de linho possui uma variação aproximada de 32 a 38% de óleo, denominado popularmente de óleo de linhaça, o qual apresenta em média elevados teores do ácido alfa-linolênico (44,6 a 51,5%) em percentagem relativa e constitui uma das maiores fontes do ácido LNA (Ceotto, 2000; Carter, 1993).

Em relação à composição de ácidos graxos em peixes de água doce, em estudos realizados no país, foram observadas diferenças expressivas entre os peixes de cativeiro (alimentados com ração) e os peixes de *habitat* natural (alimentados com alimentos do meio) (Inhamus & Franco, 2001; Moreira *et al.*, 2001; Silva, 2000; Oliveira, 2000; Andrade *et al.*, 1995; Maia *et al.*, 1995; Maia *et al.*, 1994; Maia, 1992; Maia & Rodriguez-Amaya, 1992). Os resultados comparativos destes trabalhos mostraram que os peixes de *habitat* natural apresentaram melhor valor nutricional do que os peixes cultivados. E ainda, os poucos trabalhos realizados com tilápias, produzidas em cativeiro, mostraram baixos teores dos ácidos n-3 em relação a muitos outros peixes. Em muitos destes trabalhos, a composição de ácidos graxos foi expressa em percentagem de área relativa (método da normalização simples). Estes resultados, apesar de

importantes, muitas vezes dificultam a interpretação dos resultados em termos quantitativos.

Com o objetivo de melhorar o valor nutricional do tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*), principalmente com relação à composição dos ácidos graxos n-3 e de quantificar os ácidos graxos LNA, EPA e DHA em mg/g de lipídios totais, realizou-se um experimento com 4 tratamentos (à base de óleo de linhaça) e um tratamento (à base de óleo de girassol). O óleo de girassol foi utilizado por apresentar baixo teor de LNA. Nos diferentes tratamentos com óleo de linhaça (fonte do ácido LNA), as rações foram suplementadas com níveis crescentes deste óleo. Foram analisados os teores de umidade e lipídios totais nos filés. Nos LT, foram analisadas a composição de ácidos graxos e a quantificação dos ácidos LNA, EPA e DHA. Os LT foram fracionados em lipídios neutros e fosfolipídios e a composição de ácidos graxos foi determinada nestas frações. No intuito de verificar a possível influência no sabor do tecido muscular, devido à suplementação com óleo de linhaça, foi realizada a análise sensorial entre filés de tilápias comerciais e de tilápias que receberam o maior nível de óleo de linhaça.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, A. D.; RUBIRA, A. F.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N. E. ω -3 Fatty acids in freshwater fish from south Brazil. *JAOCs*, v. 72, p. 1207-10, 1995.
- BRASIL (2000). Recursos pesqueiros. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente [www documento]. URL <http://www.ibama.gov.br/atuacao/pescaqui/estat.htm>
- CARTER, J. F. Potential of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. *Cereal Food World*, v.38, p.753-59, 1993.
- CEOTTO, B. O que é que a linhaça tem. Dentro das sementes da planta que dá origem ao linho há componentes que equilibram os hormônios femininos e reforçam as defesas do corpo. *Rev. Saúde*, p. 37-40, 2000.
- EWIN, J. O Lado Sadio das Gorduras. Trad. de Ana Beatriz Rodrigues. Editora Campus Ltda, Rio de Janeiro, 1997.162p.
- FAO (1998). Report on important recent events concerning trade in fisheries products [www documento]. URL <http://www.Fao.org/fi/meetings/cofi/cofi98-asp>

- GREENE, D. H. S.; SELIVONCHICK, D. P. Lipid metabolism in fish. *Prog. Lipid Res.*, v. 26, p. 53-85, 1987.
- HAGLUND, O.; WALLIN, R.; WRETLING, S.; HULTBERG, B.; SALDEEN, T. Effects of fish oil alone and combined with long chain (n-6) fatty acids on some coronary risk factors in male subjects. *J. Nutr. Biochem.*, v. 9, p. 629-35, 1998.
- HARRIS, W. S. Nonpharmacologic treatment of hypertriglyceridemia: focus on fish oils. *Clin. Cardiol.*, v. 22, (suppl. II): p. 40-3, 1999.
- HAYASHI, C.; RIBEIRO, R. P.; FURUYA, W. M.; FURUYA, V. R. B. Curso de atualização em piscicultura: Espécies nativas e exóticas. FADEC - UEM - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1996. 156p.
- HENDERSON, R. J. Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. *Arch. Anim. Nutr.*, v. 49, p. 5-22, 1996.
- HUNTER, B. J.; ROBERTS, D. C. K. Potential impact of the fat composition of farmed fish on human health. *Nutr. Res.*, v. 20, p. 1047-58, 2000.
- INHAMUNS, A. J.; FRANCO, M. R. B. Composition of total, neutral and phospholipids in mapará (*Hypophthalmus sp.*) from the Brazilian Amazonian area. *J. Agric. Food Chem.*, v. 49, p. 4859-63. 2001.
- KIMURA, Y.; TAKAKU, T.; NAKAJIMA, S.; OKUDA, H. Effects of carp and tuna oils on 5-fluorouracil-induced antitumor activity and side effects in sarcoma 180-bearing mice. *Lipids*, v. 36, p. 353-59, 2001.
- KREMER, J. M.; JUBIZ, W.; MICHALEK, A. Fish-oil fatty acid supplementation in active rheumatoid arthritis. *Ann. Intern. Med.*, v. 106, p. 497-503, 1987.
- KROMHOUT, D.; FESKENS, E. J. M.; BOWLES, C. H. The protective effect of a small amount of fish on coronary heart disease mortality in a elderly population. *Intern. J. Epidemiol.*, v. 24, p. 340-45, 1995.
- MAIA, E. L. Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídios e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce. Campinas. 1992. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Campinas).
- MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Fatty acid composition of the total, neutral and phospholipids of the Brazilian freshwater fish *Colossoma*

- macropomum*. In: Food Sci. Hum. Nutr., (G. Charalambous, Ed.). Amsterdam. Elsevier Science, 1992. p. 633-42.
- MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; FRANCO, M. R. B. Fatty acids of the total, neutral, and phospholipids of the Brazilian freshwater fish *Prochilodus scrofa*. J. Food Comp. Anal. v. 7, p. 240-51, 1994.
- MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; HOTTA, L. K. Fatty acids composition of the total, neutral and phospholipids of pond-raised Brazilian *Piaractus mesopotamicus*. Int. J. Food Sci. Technol., v. 30, p. 591-97, 1995.
- MARTINO, R.; TAKAHASHI, N. S. A importância da adição de lipídios em rações para a aquicultura. Óleos e grãos. n. 58, p. 32-7, 2001.
- MAYSER, P.; MROWIETZ, U.; ARENBERGER, P.; BARTAK, P.; BUCHVALD, J.; CHRISTOPHERS, E. *et al.* Omega-3 fatty acid-based lipid infusion in patients with chronic plaque psoriasis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled, multicenter trial. J. Am. Acad. Dermatol., v.38, p. 421, 1998.
- MOREIRA, A. B.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian *brycon* freshwater fishes. J. Food Comp. Anal., v.14, p. 565-74, 2001.
- OLIVEIRA, E. R. N. Composição química geral e de ácidos graxos da fração lipídica de peixes do reservatório de Itaipu, Paraná-Brasil: Relação com variáveis biológicas e período de coleta. Maringá. 2000. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Maringá).
- RIBEIRO, R. P.; HAYASHI, C.; FURUYA, W. M. Curso de piscicultura - criação racional de tilápias. FADEC - Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 1995. 23p.
- ROSE, D. P.; CONNOLLY, J. M. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. Pharmacol. Therapeut., v. 83, p. 217-44, 1999.
- SIGUEL, E. A new relationship between total/high density lipoprotein cholesterol and polyunsaturated fatty acids. Lipids, v. 31, p. 51-6, 1996.
- SILVA, A. J. I. Composição lipídica e quantificação dos ácidos graxos poliinsaturados EPA (20:5n-3) e DHA (22:6n-3) de peixes de água doce. Campinas. 2000. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Campinas).

- SILVA, A. L. N.; SIQUEIRA, A. T. Piscicultura em tanques-redes. SUDENE/FADURP- UFRPE. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco 1997. 71p.
- SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. Am. J. Clin. Nutr., v. 54, p. 438-63, 1991.
- UAUY, R.; VALENZUELA, A. Marine oils: The health benefits of n-3 fatty acids. Nutrition, v.16, p. 680-84, 2000.
- von SCHACKY, C. n-3 fatty acids and the prevention of coronary atherosclerosis. Am. J. Nutr., v. 71 (suppl): p. 224S-7S, 2000.
- ZENEBE, T.; AHLGREN, G.; GUSTAFSSON, I. B. Fatty acid and lipid content of *Oreochromis niloticus* L. in Ethiopian lakes - dietary effects of phytoplankton. Ecology of Freshwater Fish. J Fish Biol., v. 7, p. 146-58, 1998.

CAPÍTULO I

ARTIGO DE REVISÃO

ÁCIDOS GRAXOS EM PEIXES: IMPLICAÇÕES NUTRICIONAIS E ASPECTOS ANALÍTICOS NO BRASIL

Trabalho a ser enviado à Revista da Associação Brasileira de Química

ÁCIDOS GRAXOS EM PEIXES: IMPLICAÇÕES NUTRICIONAIS E ASPECTOS ANALÍTICOS NO BRASIL

VISENTAINER, J.V.¹; FRANCO, M. R. B.²

1 - Universidade Estadual de Maringá - Depto de Química - jvvisentainer@uem.br

2 - Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP

Caixa postal - 6121 CEP - 13083-970

RESUMO

Os lipídios dos peixes, especialmente com relação à composição em ácidos graxos, têm recebido atenção por pesquisadores nos últimos anos, devidos aos seus efeitos benéficos na saúde humana. Isto ocorreu juntamente com o desenvolvimento de equipamentos e de técnicas metodológicas de análises. Os resultados destes avanços permitiram associar a estrutura de certos ácidos graxos, especialmente os da família n-3 e n-6, com a essencialidade, bioquímica do metabolismo e importância destes ácidos nas diferentes espécies de peixes (marinhos e de água doce) e no homem. Entretanto, no Brasil, ainda são escassos os trabalhos sobre a composição de ácidos graxos de peixes, particularmente sobre aqueles produzidos em sistema de cativeiro, apesar de que esta modalidade de criação está em ascensão no Brasil. Além disso, em relação às técnicas de identificação e quantificação de ácidos graxos, apesar de acanhados avanços, necessita-se ainda uma maior aplicação das técnicas de análise modernas. A aplicação destas técnicas proporcionará maior confiabilidade na identificação dos ácidos graxos e o uso de metodologias adequadas de quantificação possibilitará a expressão de resultados em termos de concentração dos ácidos graxos em relação à quantidade do conteúdo lipídico. Isto permitirá a elaboração de tabelas de composição, melhores comparações de resultados e aplicações nutricionais, que certamente contribuirão para o desenvolvimento das pesquisas nesta área.

ABSTRACT

The lipids in fish, as for the fatty acids composition, has been receiving a great deal of attention by researchers in the last few years, due their beneficial effects in the human health. Fact that happened at the same time as the development of equipment and methodological analysis techniques. The results of these advances could permit to associate the structure of some fatty acids, especially the n-3 and n-6 family with the essentiality, metabolism biochemistry and importance of these acids in different fish species (saltwater and freshwater) and in man. However, there are not studies in Brazil about fish fatty acids composition, especially those reared in captivity, despite the fact that this modality has been increasing in Brazil. Furthermore, as for the identification techniques and fatty acids quantification, in spite of some modest advances, there is still the need of a greater use of modern analysis techniques. The use of these techniques will provide a greater reliability in identifying fatty acids, and the adequate quantification methodology will make possible to express results in terms of fatty acid concentration as for the lipid content quantity. Thus, allowing the elaboration of composition tables, better results comparison, and nutritional applications, which will contribute for the research development in this area.

1. ÁCIDOS GRAXOS E SEUS BENEFÍCIOS

Os avanços tecnológicos e metodológicos dos últimos anos e a busca de maiores e melhores conhecimentos sobre os lipídios em geral, especialmente os ácidos graxos, permitiram relações interdisciplinares entre profissionais de diversas áreas da ciência, resultando em importante associação entre estruturas dos ácidos graxos e efeitos biológicos. E passou a ser mais importante, sob o ponto de vista bioquímico, considerar o papel das insaturações que ocorrem no sentido do grupamento metil de uma cadeia carbônica, do que fixar o grupamento carboxílico como referência. Assim, as cadeias carbônicas de um ácido graxo insaturado passaram a ser classificadas a partir do grupo metil do carbono terminal, recebendo o nome ômega (ω) da última letra do alfabeto grego, para indicar a posição da dupla ligação, sendo que o uso da letra n também é recomendado.

O uso de concentrados de ácidos graxos, óleos de peixes como suplemento e peixes na alimentação humana tem sido objeto de inúmeras pesquisas nos últimos anos. Isto ocorreu a nível mundial, porque foram evidenciados os efeitos benéficos dos ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) de pescado nas populações que consomem um elevado conteúdo destes em sua dieta, como os esquimós (Kromann & Green, 1980; Dyerberg & Bang, 1979; Dyerberg *et al.*, 1978; Dyerberg *et al.*, 1975) e japoneses que residem em áreas de pesca (Kagawa *et al.*, 1982). Assim, inúmeras pesquisas sobre os conteúdos lipídicos e, especialmente, sobre a composição de ácidos graxos de diversas espécies de pescados e animais marinhos foram realizadas.

Os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) incluem os ácidos graxos com duas ou mais duplas ligações (*The American Heritage*, 2000). Entre estes ácidos, atenção especial tem sido dada aos ácidos graxos alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3) e, principalmente, aos ácidos eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosahexanóico (DHA, 22:6n-3). Estes ácidos graxos poliinsaturados são pertencentes à família ômega-3 (n-3). Os resultados das pesquisas vêm estabelecendo continuamente que, um aumento na ingestão de AGPI n-3 reduz os níveis de triacilgliceróis do sangue (*Department of Health*, 1994). Além disso, estudos feitos com base em intervenções de dietas comprovaram que o consumo de AGPI n-3 e/ou óleos de

pescado reduz fatores bioquímicos de risco associados a doenças cardiovasculares (von Schacky, 2000; Haglund *et al.*, 1998; Eritsland *et al.*, 1996; Kromhout *et al.*, 1995), câncer (Kimura *et al.*, 2001, Rose & Connolly, 1999; Minoura *et al.*, 1988), psoríase (Mayser *et al.*, 1998), artrite (Ewin, 1997; Kremer *et al.*, 1987) e diabetes (Connor *et al.*, 1993).

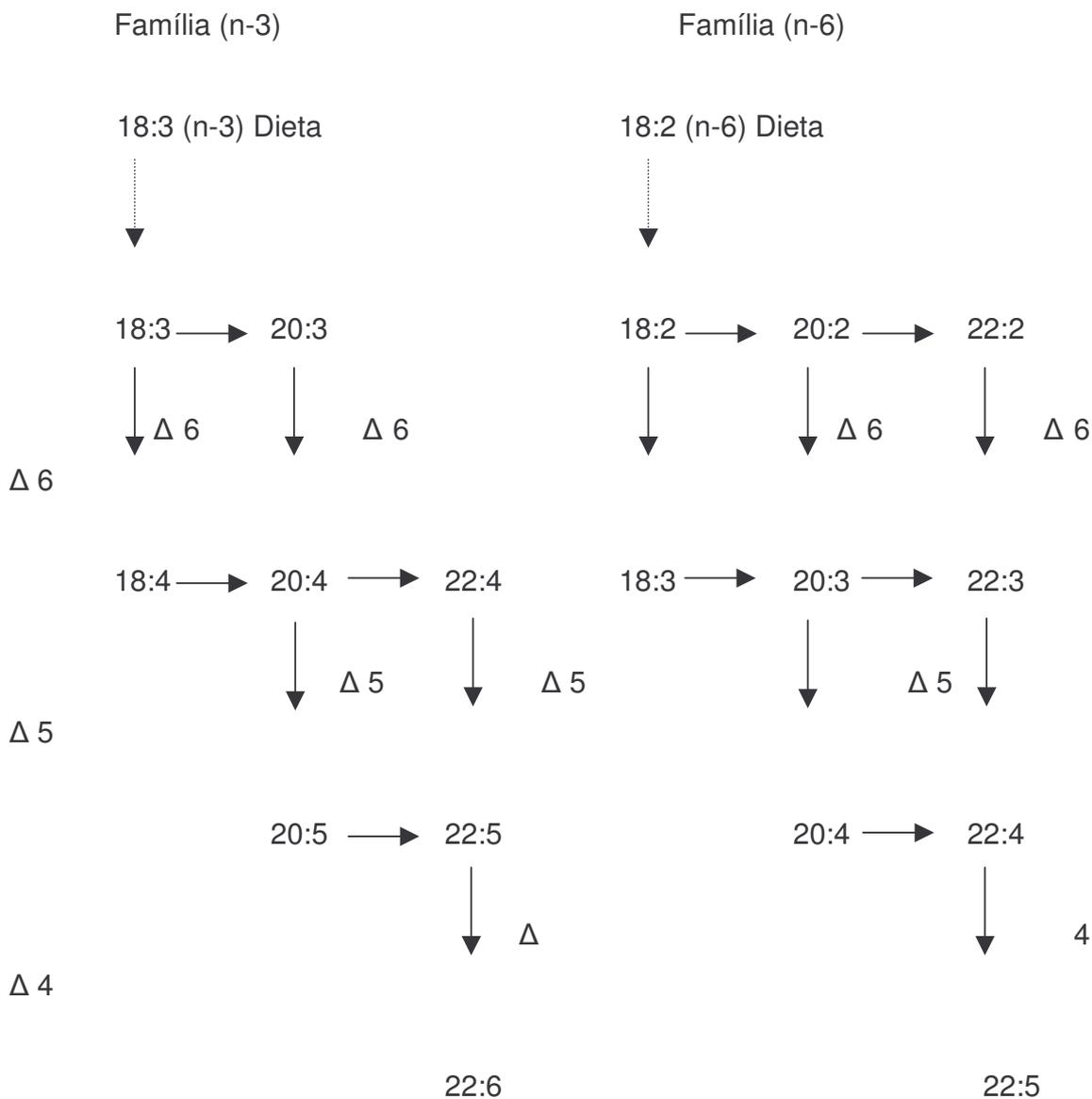
Os resultados das pesquisas permitiram esclarecer alguns fatos, tais como: a necessidade de EPA e DHA, especialmente o DHA, para as membranas biológicas, retina, córtex cerebral, tecidos nervosos, testículos e plaquetas sanguíneas (Schmidt, 2000; Nettleton, 1995) e a importância de EPA, pelos seus efeitos a nível vascular (ações antitrombóticas e antiinflamatórias) exercidas através do metabolismo dos eicosanóides (Mueller & Talbert, 1988). A necessidade dos ácidos graxos AGPI de cadeia longa, pertencentes às famílias n-3 e n-6, para a higidez das membranas biológicas ficou completamente comprovada (Belda & Campos, 1991). Como consequência, a inclusão de AGPI n-3 no enriquecimento de produtos alimentícios começou a ser estudada (Kolanowski *et al.*, 1999; Maurage *et al.*, 1998). Hoje, produtos desta natureza estão disponíveis para o consumidor e novos produtos deverão ser incluídos futuramente.

2. FAMÍLIAS DOS ÁCIDOS GRAXOS n-6 E n-3 EM PEIXES DE ÁGUA DOCE

A família dos AGPI n-3 é conhecida como a família do ácido alfa-linolênico (18:3n-3), um precursor do qual, por alongamento e/ou dessaturação, são gerados os demais ácidos graxos desta série. Enquanto que, a família n-6 apresenta como precursor o ácido linoléico (LA, 18:2n-6), um ácido graxo diinsaturado, que por enzimas elongases e/ou dessaturases pode dar origem a outros ácidos graxos da série n-6 (Ewin, 1997; Henderson & Tocher, 1987; Thain, 1985).

O Esquema 1 mostra um resumo das vias de formação (dessaturação e alongação) dos ácidos graxos das famílias n-3 e n-6, conforme Henderson & Tocher (1987).

Esquema 1. Dessaturação e alongação dos ácidos graxos das famílias n-3 e n-6 de peixes de água doce.



As setas na vertical e horizontal representam a dessaturação (enzimas $\Delta 6$, $\Delta 5$ e $\Delta 4$ dessaturases) e alongação (enzimas elongases), respectivamente.

Fonte: Henderson & Tocher (1987).

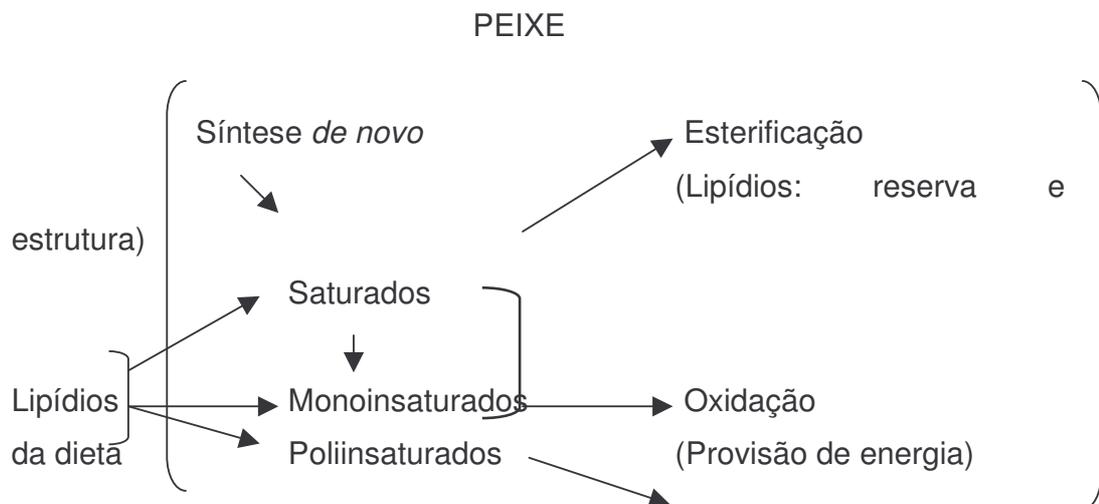
Em comum com todos os vertebrados, os peixes não apresentam as enzimas $\Delta 12$ e $\Delta 15$ dessaturases, que são necessárias para sintetizar os ácidos LA e LNA, respectivamente. Conseqüentemente, os peixes devem obter estes

ácidos da dieta e endogeneamente sintetizar pelo processo de alongação e dessaturação os demais ácidos graxos da série (Henderson & Tocher, 1987). Além disso, os ácidos graxos das famílias n-3 e n-6 podem ser considerados de famílias “nobres”, pois os ácidos de uma família n-3 não podem ser transformados em membros da família n-6 e vice-versa. Isto ocorre porque a inclusão de uma dupla ligação pela Δ -dessaturase e de dois átomos de carbono pela elongase se dá entre a carboxila e a primeira dupla da cadeia carbônica do ácido graxo, não alterando desta forma a posição da dupla ligação em relação ao grupo metil terminal da cadeia carbônica.

Nos peixes, os ácidos graxos saturados (AGS) podem ser sintetizados pela síntese *de novo* (fontes não lipídicas) ou ter sua origem através de lipídios da dieta. Os ácidos monoinsaturados (AGMI) podem ter suas origens em função da dieta lipídica ou serem sintetizados pela $\Delta 9$ dessaturase a partir de um ácido graxo saturado, sendo possível, então, sintetizar apenas o ácido oleico (18:1n-9), um precursor da família n-9. A síntese *de novo* dos saturados é inversamente proporcional aos níveis de ácidos graxos saturados recebidos através da dieta (Henderson, 1996).

O Esquema 2 mostra uma representação resumida do metabolismo de ácidos graxos de peixes de água doce, segundo Henderson (1996).

Esquema 2. Representação esquemática do metabolismo de peixes de água doce.





Fonte: Henderson, 1996.

3. ESSENCIALIDADE DOS ÁCIDOS GRAXOS n-3 E n-6 EM PEIXES MARINHOS *VERSUS* PEIXES DE ÁGUA DOCE

Análises revelaram uma diferença significativa na composição qualitativa e quantitativa de ácidos graxos no conteúdo lipídico entre espécies de água doce e marinha.

As diferenças nos requerimentos qualitativos de ácidos graxos essenciais de espécies de peixes de água doce e espécies marinhas têm sido conhecidas a longo tempo (Tocher & Ghioni, 1999). Espécies de água doce possuem, de uma forma geral, todas as enzimas com capacidade de alongar e dessaturar ácidos graxos precursores, para seus correspondentes seqüenciais de uma determinada família n-3 ou n-6 (Martino & Takahashi, 2001). Portanto, os ácidos graxos linoléico e alfa-linolênico, como precursores, podem satisfazer as exigências das necessidades de ácidos graxos essenciais. As espécies marinhas, no entanto, apresentam variações muito grandes da atividade enzimática, algumas espécies possuindo uma baixíssima ou mesmo nenhuma capacidade de bioconversão nas famílias (Martino & Takahashi, 2001; Tocher & Ghioni, 1999). Assim, os ácidos graxos altamente insaturados de cadeia longa (AGAI-CL), apresentam 20 ou mais átomos de carbono com três ou mais duplas ligações, especialmente os ácidos EPA e DHA, devem ser suplementados na dieta para um ótimo crescimento destes peixes (Tocher & Ghioni, 1999).

A diferença no metabolismo de ácidos graxos entre peixes marinhos e peixes de água doce observada *in vivo* também foi confirmada com pesquisas envolvendo linhagens de células destes peixes. Estudos usando cultura de células de *turbot* (um peixe marinho encontrado na Europa) demonstraram a baixa atividade da enzima elongase, C₁₈₋₂₀, mas alta atividade da Δ 5-dessaturase (Tocher *et al.*, 1989). Em estudo realizado na Inglaterra, com linhagens de células de peixes marinhos carnívoros, os resultados mostraram uma alta atividade da enzima Δ 6 dessaturase e uma atividade muito baixa da Δ 5-dessaturase, porém atividades substanciais das elongases C₁₈₋₂₀ e C₂₀₋₂₂ (Tocher & Ghioni, 1999).

Pesquisadores afirmaram que peixes marinhos apresentam grandes quantidades dos ácidos DHA e EPA nos fosfolípidios de suas membranas celulares e que o ácido DHA, nestes peixes, não pode ser obtido pela síntese *de*

novo (fontes não lipídicas) e nem a partir do precursor LNA. Portanto, os ácidos EPA e DHA são constituintes essenciais e devem estar presentes na dieta de peixes marinhos (Sargent *et al.*, 1999; Tocher & Ghioni, 1999). Segundo Zenebe *et al.* (1998), os fitoplanctons e zooplanctons de origem marinha são ricos em ácidos graxos n-3, enquanto os de água doce possuem maior quantidade de ácidos graxos n-6.

4. ÁCIDOS GRAXOS E O HOMEM

4.1. A ESSENCIALIDADE DOS ÁCIDOS GRAXOS

É de conhecimento geral que existe uma diferença marcante entre a composição de ácidos graxos essenciais (AGE) de organismos terrestres e aquáticos. Enquanto que, nos tecidos de animais terrestres existe uma predominância de ácidos graxos da série linoléica (família n-6), principalmente do ácido linoléico (LA, 18:2n-6) e araquidônico (AA, 20:4n-6), nos organismos aquáticos, de uma forma geral, a predominância está relacionada aos ácidos graxos da série linolênica (família n-3), seja para espécies marinhas ou para espécies de água doce. Entretanto, podem ser encontradas também altas concentrações de ácidos graxos da família n-6 em espécies de água doce (Martino & Takahashi, 2001).

É comumente descrito na literatura que os ácidos LA, LNA e AA ou outros AGPI, como por exemplo, os ácidos DHA e EPA apresentam atividades de ácidos graxos essenciais. No entanto, deve-se restringir cada vez mais o número de ácidos graxos essenciais que possam realmente ser considerados estritamente essenciais, isto é, não basta saber se um determinado ácido graxo teria a capacidade de curar as manifestações patológicas causadas por uma dieta livre de lipídios, adicionando-se à alimentação um determinado ácido graxo, é necessário estabelecer definitivamente se um ácido graxo não é sintetizado pelas células do animal em estudo a partir de um ácido graxo precursor. Neste sentido, devido à importância do AA para muitas atividades vitais celulares, desenvolvimento do cérebro e retina (Schmidt, 2000), o mesmo seria essencial. Por outro lado, este ácido é sintetizado a partir do precursor ácido linoléico

(conforme Esquema 1) e neste critério não seria estritamente essencial (Tahin, 1985).

No homem, à medida que envelhece, o organismo pode perder a capacidade de transformar um precursor em seus ácidos graxos subsequentes das famílias. Especificamente, a idade afeta a atividade da enzima $\Delta 6$ -dessaturase e a insuficiência dessa enzima causa uma deficiência de ácidos graxos em ambas as famílias n-3 e n-6. Baixas concentrações ou ausência desses componentes aceleram o processo de envelhecimento, e aumentam a probabilidade de desenvolvimento de várias doenças degenerativas e inclusive doenças cardíacas (Ewin, 1997). Desta forma, um ácido graxo poderia ser considerado estritamente essencial nas etapas da vida em que não pudesse ser sintetizado a partir de precursores fornecidos. Este mesmo ácido não seria essencial naqueles indivíduos capazes de sintetizá-los através de um precursor.

Na tentativa de suprir eventuais deficiências de ácidos graxos, alguns especialistas sugerem suplementos alimentares contendo os ácidos LA e LNA, como precursores, que ajudariam a suprir a falta dos metabólitos seqüenciais das famílias n-3 e n-6. Porém, especialmente sobre a família n-3, existem controvérsias sobre qual fonte de AGPI n-3 seria a mais adequada na alimentação ou suplementação. Alguns estudos apontam para alguns óleos vegetais de interesse, considerando que são ricos em LNA, precursor dos ácidos graxos da família n-3, especialmente os ácidos EPA e DHA (conforme Esquema 1). Esta hipótese é contestada por Rice (1996), com base em estudos com dietas modificadas, que argumenta que os ácidos EPA e DHA, convertidos no organismo humano a partir de vegetais, são insuficientes para suprir a quantidade diária necessária de um indivíduo e recomenda o peixe ou o óleo de peixe como a melhor fonte de AGPI n-3, capaz de proporcionar uma relação balanceada de EPA e DHA. Experimentos comparativos com dietas à base de óleo vegetal e de peixe em voluntários mostraram que a ingestão de óleo de linhaça, rico em LNA, não produziu quantidade suficiente de ácidos graxos n-3 de cadeia longa (Layne *et al.*, 1996).

4.2. ASPECTOS NUTRICIONAIS: QUANTIDADES E RAZÕES ENTRE GRUPOS DE ÁCIDOS GRAXOS

A sociedade industrializada, os novos hábitos alimentares do homem moderno, o aumento no consumo de óleos de soja, milho, algodão, girassol e outros nas dietas ocidentais proporcionaram, no último século, um aumento na ingestão de ácidos graxos da família n-6 em relação à ingestão de ácidos graxos da família n-3 e, conseqüentemente, um aumento na razão de ácidos da família n-6/ácidos da família n-3 (n-6/n-3).

Devido ao aumento da quantidade de AGPI n-6 na dieta humana, diversas revisões (Simopoulos *et al.*, 1999; Simopoulos 1991; Uauy & Valenzuela, 2000) vêm relatando que, os produtos metabólicos de eicosanóides, produzidos a partir do ácido araquidônico (20:4n-6) (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), são formados em quantidades maiores do que aqueles produzidos a partir da família n-3, especificamente a partir do ácido EPA. Os eicosanóides do ácido araquidônico são biologicamente ativos em pequena quantidade e, caso sejam formados em grandes quantidades, contribuem para a formação de trombose e ateroma, desordens alérgicas e inflamatórias, além de proliferações de células.

As quantidades de ácidos graxos e as razões entre os ácidos graxos das famílias n-6 e n-3, ingeridas atualmente pelo homem, são difíceis de serem analisadas, pois dependem da fisiologia, disponibilidade de alimento e dieta de cada indivíduo. No entanto, alguns autores mostram as tendências destas quantidades, e sugerem os níveis ideais de uma dieta, embora ainda não tenham sido estabelecidas definitivamente as necessidades quantitativas e qualitativas para essas duas famílias de ácidos graxos.

Em trabalho recente, Simopoulos *et al.*(1999) afirma que, nas dietas ocidentais, a razão n-6/n-3 é de aproximadamente 20 a 30:1, valores muito elevados com relação aqueles considerados ideais de 1 a 2:1. Sugano & Hirahara (2000) citaram as recomendações da razão n-6/n-3 de várias organizações e estes valores variaram de 4 a 10:1. Enquanto, o *Department of Health* (1994), da Inglaterra, recomenda que o valor da razão n-6/n-3 seja de no máximo 4.

A razão da somatória de ácidos graxos poliinsaturados/ácidos graxos saturados (AGPI/AGS) na ingestão humana também tem sido avaliada. O

Department of Health and Social Security (1984), da Inglaterra, descreve que a razão de AGPI/AGS inferior a 0,45 constitui uma dieta pouco saudável, especialmente em relação às doenças cardiovasculares. A razão AGPI/AGS foi avaliada na alimentação dos japoneses por Sugano & Hirahara (2000), que mostraram que esta razão variou nos últimos anos, com valores que aumentaram de 0,8 a 1,2:1; e que este aumento não se deve apenas à ingestão de peixes e mariscos, mas também ao aumento na ingestão de óleos vegetais.

É importante salientar aqui, que os pesquisadores consideraram como AGPI os ácidos graxos poliinsaturados que apresentam duas ou mais duplas ligações, incluindo desta forma os diinsaturados, especialmente o ácido linoléico (LA, 18:2n-6), que muitas vezes no conteúdo lipídico de um alimento contribui com valores elevados. Apesar de não estar definitivamente estabelecido, alguns autores sugerem quantidades de AGPI n-3 a serem ingeridas pelo homem. A ingestão diária (EPA + DHA) de 1,25g (Gerster, 1997), de 0,65g (Kris-Etherton *et al.*, 2000) e de 0,2g de AGPI n-3 de cadeia longa (*Department of Health*, 1994) tem sido recomendada para a prevenção de doenças cardiovasculares e inflamatórias.

A ingestão de 0,8 a 1,1g do ácido LNA, um precursor dos demais ácidos da família n-3, também tem sido recomendada por alguns pesquisadores (Galli & Simopoulos, 1989), apesar da baixa taxa de conversão deste ácido em AGPI n-3 de cadeia longa, especialmente EPA e DHA, conforme descrito anteriormente.

5. ANÁLISES DE ÁCIDOS GRAXOS EM PEIXES NO BRASIL

Os escassos trabalhos realizados no Brasil em décadas passadas, sobre a composição de ácidos graxos de óleos e gorduras, particularmente de peixes, apresentaram uma composição de ácidos graxos diferente daquelas encontradas em trabalhos mais recentes, devido à baixa resolução dos métodos analíticos utilizados.

Atualmente, muitos pesquisadores brasileiros têm usado adequadas técnicas de extração de lipídios, modernos equipamentos e técnicas de identificação, associados a colunas capilares de sílica fundida, que proporcionam melhores resultados, devido à separação de isômeros posicionais, geométricos,

de ácidos graxos ramificados e de outros componentes graxos que possam estar presentes no conteúdo lipídico.

A determinação da composição de ácidos graxos está deixando de ser realizada apenas em termos de lipídios totais, mas sim em termos das diferentes classes e subclasses. E as determinações quantitativas de ácidos graxos, antes determinadas em percentagens relativas, baseadas somente no método da normalização simples, começaram a ser realizadas em termos de concentração, ou seja, quantidade de ácido graxo por quantidade de matéria alimentícia ou do conteúdo lipídico.

Graças a estes desenvolvimentos, maiores e melhores informações quanto à quantidade, natureza e comportamento destes compostos nos lipídios de peixes têm sido obtidas nos últimos anos.

5.1. IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS

Dentre as dificuldades encontradas pelos pesquisadores com relação à composição de ácidos graxos, particularmente em peixes, destacam-se os métodos de identificação e quantificação dos ácidos graxos.

Em geral, a identificação dos ácidos graxos é feita através da comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos da amostra com os respectivos padrões. Alguns trabalhos utilizam valores ECL (*Equivalent Chain Length*), comprimento equivalente de cadeia (Christie, 1994; Strànsky *et al.*, 1997). Outros métodos são ainda utilizados na identificação, como o método gráfico (Ackman, 1969), comparação do tempo de retenção relativo (Kates, 1972) e fatores de separação, por Kates (1972) e Ackman (1963).

Em uma análise cromatográfica, o tempo de retenção é frequentemente utilizado para a identificação provisória de substâncias cujas identidades definitivas deverão ser confirmadas por métodos mais conclusivos, como por exemplo , espectrometria de massas (Maia, 1992).

A combinação de parâmetros de retenção, determinados por cromatografia gasosa, com a informação estrutural proveniente do espectrômetro de massa (MS) constitui um dos mais decisivos métodos para identificação de complexos compostos orgânicos (Gutnikov, 1995; Kuksis & Myher, 1995; Lie Ken Jie & Choi,

1992; Woollard & Mallet, 1984). No Brasil, vários parâmetros para identificação dos ácidos graxos foram avaliados criteriosamente, concluindo-se que os valores de ECL e os espectros de massas demonstraram ser os mais confiáveis na identificação de ácidos graxos, quando utilizados em conjunto (Maia, 1992).

Os valores de ECL deveriam ser sempre utilizados e podem reforçar a confiabilidade na identidade de muitos ácidos graxos ou de outros componentes, uma vez que os parâmetros utilizados nos cálculos destes valores são comumente constituintes da própria amostra de peixe e não onerariam os custos da pesquisa.

No Brasil, a grande parte dos trabalhos com relação à composição de ácidos graxos em lipídios de peixes, expressa os resultados da composição em termos percentuais relativos, utilizando simplesmente o método da normalização simples. Desta forma, os valores percentuais apresentados não exprimem resultados reais em termos quantitativos, uma vez que o detector responde diferencialmente entre as diferentes cadeias carbônicas dos ácidos. Além disso, o glicerol, esteróis, pigmentos e outros componentes que foram extraídos pelo sistema de extração, são geralmente ignorados. Portanto, o uso de técnicas de quantificação, ou seja, técnicas que permitam a expressão da concentração em termos de quantidade de ácido graxo por quantidade de matéria alimentícia ou do conteúdo lipídico devem, dentro do possível, ser incluído nestas análises. Isso permitirá melhores comparações quantitativas, aplicações nutricionais e construção de tabelas de composição, que certamente contribuirão para o desenvolvimento desta área.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKMAN, R. G. Gas-liquid chromatography of fatty acids and esters. In: Lowenstein, J. M. ed., *Method. Enzimol.*, v. XIV. Academic Press, London, 1969. p. 320-81.
- ACKMAN, R. G. An analysis of separation factors applicable in the gas-liquid chromatography of unsaturated fatty acid methyl esters on a polyester substrate. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v. 40, p. 564-67, 1963.
- BELDA, M. C. R.; CAMPOS, M. A. P. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.11, p. 5-33, 1991.
- CHRISTIE, W. W. *Lipid analysis*, Oxford, England. Pergamon Press, 1994. 307p.
- CONNOR, W. E.; PRINCE, M. J.; ULLMANN, D. The hypotriglyceridemic effect of fish oil in adult-onset diabetes without adverse glucose control. *Ann. NY Acad. Sci.*, v. 683, p. 337-40, 1993. *Apud: Am. J. Clin. Nutr.* v. 70 (3 suppl.) p. 560S – 569S. 1999.
- DEPARTMENT OF HEALTH. Report on Health and Social Subjects nº 46. *Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease*. HMSO, London, 1994, 178p.
- DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY. Report on Health and Social Subjects nº 28. *Diet and Cardiovascular Disease*. HMSO, London, 1984. *Apud: Meat Sci.*, v. 42, p. 443-56, 1996.
- DYERBERG, J.; BANG, H. O. Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. *Lancet*, v.2, p. 433-35, 1979.
- DYERBERG, J.; BANG, H. O.; HJORNE, N. Fatty acids composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 2, p. 958-966, 1975.
- DYERBERG, J.; BANG, H. O.; STOFF ERSEN, E.; MONCADA, S.; VANE, J. R. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. *Lancet*, v. 2, p. 117-19, 1978.
- ERITSLAND, J.; ARNESEN, H.; GRONSETH, K.; FJELD, N. B.; ABDELNOOR, M. Effect of dietary supplementation with n-3 fatty acids on coronary artery bypass graft patency. *Am. J. Cardiol.*, v. 77, p. 31-6, 1996.
- EWIN, J. O *Lado Sadio das Gorduras*. Trad. de Ana Beatriz Rodrigues. Editora Campus Ltda, Rio de Janeiro, 1997.162p.

- GALLI, C.; SIMOPOULOS, A. P. Dietary ω -3 and ω -6 fatty acids: biological effects and nutritional essentiality. Plenum Press, New York, 1989. p. 391-402. *Apud*: Am. J. Clin. Nutr., v. 54, p. 438-63, 1991.
- GERSTER, H. Can adults adequately convert alfa- linolenic (18:3n-3) to eicosapentaenoic acid (20:5n-3) and docosahexaenoic acid (22:6n-3)? Int. J. Vit. Nutr. Res., v. 68. p. 159-73, 1997.
- GUTNIKOV, G. Fatty acid profiles of lipids samples. J. Chromatog. B, v. 671, p. 71-89, 1995.
- HAGLUND, O.; WALLIN, R.; WRETLING, S.; HULTBERG, B.; SALDEEN, T. Effects of fish oil alone and combined with long chain (n-6) fatty acids on some coronary risk factors in male subjects. J. Nutr. Biochem., v. 9, p. 629-35, 1998.
- HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. Prog. Lipid Res., v. 26, p. 281-347, 1987.
- HENDERSON, R. J. Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. Arch. Anim. Nutr., v. 49, p. 5-22, 1996.
- KATES, M. Techniques of Lipidology. London, North Holland. American Elsevier Publ. Co., 1972. p. 369-610.
- KAGAWA, Y.; NISHIZAWA, M.; SUZUKI, M. Eicosapoleonic acid of serum of Japanese Islanders with low cardiovascular disease. J. Nutr. Sci. Vitaminol., v. 24, p. 441-448, 1982.
- KIMURA, Y.; TAKAKU, T.; NAKAJIMA, S.; OKUDA, H. Effects of carp and tuna oils on 5-fluorouracil-induced antitumor activity and side effects in sarcoma 180-bearing mice. Lipids, v. 36, p. 353-59, 2001.
- KOLANOWSKI, W.; SWIDERSKI, F.; BERGER, S. Possibilities of fish oil application for food products enrichment with omega-3 AGPI. Int. J. Food Sci. Nutr., v. 50, p. 39-49, 1999.
- KREMER, J. M.; JUBIZ, W.; MICHALEK, A. Fish-oil fatty acid supplementation in active rheumatoid arthritis. Ann. Int. Med., v. 106, p. 497-503, 1987.
- KRIS-ETHERTON, P. M.; TAYLOR, D. S.; YU-POT, S.; HUTH, P.; MORIARTY, K.; FISHELL, V.; *et al.* Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. Am. J. Clin. Nutr., v. 71. p. 179S- 88S, 2000.

- KROMANN, N.; GREEN, A. Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland. *Acta Med. Scand.*, v. 208, p. 401-06, 1980.
- KROMHOUT, D.; FESKENS, E. J. M.; BOWLES, C. H. The protective effect of a small amount of fish on coronary heart disease mortality in an elderly population. *Int. J. Epidemiol.*, v. 24, p. 340-45, 1995.
- KUKSIS, A.; MYHER, J. J. Application of tandem mass spectrometry for the analysis of long-chain carboxylic acids. *J. Chromatog. B*, 671, p. 35-70, 1995.
- LAYNE, K. S.; GOH, Y. H.; JUNPSEN, J. A.; RYAN, E.A.; CHROW, P.; CANDININ, M. T. Normal subjects consuming physiological levels of 18:3(n-3) and 20:5(n-3) from flaxseed or fish oils have characteristic differences in plasma lipid and lipoprotein fatty acid levels. *J. Nutr.*, v. 126, p. 2130-40, 1996.
- LIE KEN JIE, M. S. F.; CHOI, Y. C. Gas chromatography-mass spectrometry of the picolinyl ester derivatives of deuterated acetylenic fatty acids. *J. Chromatog.*, v. 625, p. 271-276, 1992.
- MAIA, E. L. Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídios e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce. Campinas. 1992. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Campinas).
- MARTINO, R.; TAKAHASHI, N. S. A importância da adição de lipídios em rações para a aquicultura. *Óleos e grãos*, n. 58, p. 32-7, 2001.
- MAURAGE, C.; GUESNET, P.; PINAULT, M.; ROCHETTE, L. J.; DURANG, G.; ANTOINE, J. *et al.* Effect of two types of fish oil supplementation on plasma and erythrocyte phospholipids in formula-fed term infants. *Biol. Neonate.*, v. 74, p. 416-29, 1998.
- MAYSER, P.; MROWIETZ, U.; ARENBERGER, P.; BARTAK, P.; BUCHVALD, J.; CHRISTOPHERS, E. *et al.* Omega-3 fatty acid-based lipid infusion in patients with chronic plaque psoriasis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled, multicenter trial. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v. 38, p. 421, 1998.
- MINOURA, T.; TAKATA, T.; SAKAGUCHI, M.; TAKADA, H.; YAMAMURA, M.; HIOKI, K. *et al.* Effect of dietary eicosapentaenoic acid on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Res.*, v. 46, p. 4790-94, 1988.

- MUELLER, B.A.; TALBERT, R. L. Biological mechanisms and cardiovascular effects of omega-3 fatty acids. *Clin. Pharmacol.*, v. 7, p. 795-807, 1988.
- NETTLETON, J. A. Omega-3 fatty acids and health. New York: Chapman & Hall. 1995. 357p.
- RICE, R. Linseed or fish? Dietary sources of omega-3 fatty acids assessed. *Lipid Technol.*, v. 8, p. 34-7, 1996.
- ROSE, D. P.; CONNOLLY, J. M. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacol. Therapeut.*, v. 83, p. 217-44, 1999.
- SARGENT, J.; McEvoy, L.; ESTEVEZ, A.; BELL, G.; BELL, M.; HENDERSON, J.; TOCHER, D. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture*, v. 179, p. 217-29, 1999.
- SCHMIDT, M. A. Gorduras inteligentes. Trad. de Dirceu Henrique Pereira. São Paulo - SP. Editora Roca LTDA, 2000. 231p.
- SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 54, p. 438-63, 1991.
- SIMOPOULOS, A. P.; LEAF, A.; SALEM, N. Essentiality and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Ann. Nutr. Metabol.*, v. 43, p. 127-30, 1999.
- STRÀNSKY, K.; JURŠÍK, T.; VITEK, A. Standard equivalent chain length values of monoenic and polyenic (methylene interrupted) fatty acids. *J. High Resol. Chromatog.*, v. 20, p. 143-58, 1997.
- SUGANO, M., HIRAHARA, F. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Japan. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 71 (suppl.): 189S-96S, 2000.
- TAHIN, Q. S. Importância fisiológica e patológica dos ácidos graxos. *Arq. Biol. Technol.*, v. 28, p. 335-61, 1985.
- THE AMERICAN HERITAGE (2000). Dictionary of the English Language, 4 ed., Published by the Houghton Mifflin Company. [www documento]. URL <http://www.bartleby.com/61/22/P/P0432200.html>
- TOCHER, D. R.; CARR, J.; SARGENTE, J. R. Polyunsaturated fatty acid metabolism in fish cells: Differential metabolism of (n-3) and (n-6) series acids by cultured cells originating from a freshwater teleost fish and from marine teleost. *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 94B, p. 367-74, 1989.

- TOCHER, D. R.; GHIONI, C. Fatty acid metabolism in marine fish: Low activity of fatty acyl $\Delta 5$ desaturation in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cells. *Lipids*, v.34, p. 433-40, 1999.
- UAUY, R.; VALENZUELA, A. Marine oils: the health benefits of n-3 fatty acids. *Nutrition*, v. 16, p. 680-84, 2000.
- von SCHACKY, C. n-3 fatty acids and the prevention of coronary atherosclerosis. *Am. J. Nutr.*, v. 71 (suppl): p. 224S-7S, 2000.
- WOOLLARD, P. M.; MALLET, A. I. A novel gas chromatography-mass spectrometric assay for monohydroxy fatty acids. *J. chromatog.*, v. 306, p. 1-21, 1984.
- ZENEBE, T.; AHLGREN, G.; GUSTAFSSON, I. B. Fatty acid and lipid content of *Oreochromis niloticus* L. in Ethiopian lakes - dietary effects of phytoplankton. *Ecology of Freshwater Fish. J. Fish Biol.*, v. 7, p. 146-58, 1998.

CAPÍTULO II
ARTIGO DE REVISÃO

***PEIXES DE CATIVEIROS DE ÁGUA DOCE NO BRASIL: UMA ANÁLISE
CRÍTICA SOBRE O CONTEÚDO LIPÍDICO***

Trabalho a ser enviado à Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos

PEIXES DE CATIVEIROS DE ÁGUA DOCE NO BRASIL: UMA ANÁLISE CRÍTICA SOBRE O CONTEÚDO LIPÍDICO

VISENTAINER, J.V.¹; FRANCO, M. R. B.²

1 - Universidade Estadual de Maringá - Depto de Química -

jvisentainer@uem.br

2 - Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP

Caixa postal - 6121 CEP - 13083-970

RESUMO

No Brasil, na última década, houve um crescimento vertiginoso na criação de peixes de cativeiro de água doce, este fato é verificado no cotidiano pelo crescente número de pesqueiros, indústrias de processamento e pelo aparecimento nos mercados, de espécies que antes só eram obtidas através do extrativismo. No entanto, dentre outros fatores, a dieta alimentar dos peixes é determinante sobre a composição do tecido muscular (filé) dos peixes, especialmente sobre a composição de ácidos graxos de importante valor nutricional. Desta forma, neste trabalho, foi realizada uma análise crítica sobre a composição de ácidos graxos, entre peixes de água doce produzidos em cativeiro (alimentados com rações comerciais) e aqueles de rios e reservatórios (alimentados com constituintes do meio aquático). Para isto, foram realizadas discussões comparativas dos resultados apresentados por pesquisadores brasileiros e publicados em dissertações, teses, periódicos nacionais e internacionais, na última década, sobre a composição de ácidos graxos de peixes de água doce. Nos resultados, em relação à composição de ácidos graxos, ficou evidenciada a superioridade nutricional da carne dos peixes de rios e reservatórios em relação às espécies de cativeiro. Isto ocorreu, possivelmente, devido às diferentes dietas recebidas por estes peixes, ou seja, a composição das rações recebidas pelos peixes de cativeiro não foi adequada, em termos nutricionais, para produzir ou armazenar ácidos graxos de importante valor nutricional, como aqueles da família n-3. Nesta análise crítica, salientamos que os fabricantes de rações e os criadores de peixes parecem estar mais preocupados com a produção

e produtividade, do que com o valor nutricional da carne do peixe. Entretanto, isto não é um fato isolado e acontece nas mais diferentes áreas da produção e comercialização de alimentos no atual mundo globalizado.

ABSTRACT

There was an enormous growth of freshwater fish farming in Brazil in the last decade, this fact can be seen through the crescent number of fish farms, processing industries and the appearance of species in the market that were only possible through catching them. However, amongst other factors, the fish eating diet is determinant on the fish muscular tissue composition (filets), especially on the composition of fatty acid of important nutritional value. Thus, it was carried out in this work a critical analysis on the composition of fatty acids among the freshwater fish reared in captivity (fed with commercial rations) and those from rivers and reservoirs (fed organically in natural habitat). For this, comparative discussions of the presented results on fresh water fish fatty acids composition were carried out by Brazilian researchers, published in dissertations, theses, national and international periodicals in the last decade. As for the fatty acids composition, according to the results, there was a superior quality of the fish filets of both river and reservoir as compared to the captivity ones. This was possibly due to the distinct diets these fishes received, in other words, the rations they received were not nutritionally adequate to produce or store important n-3 fatty acids of great nutritional value. At this critical analysis, we would like to highlight that both ration producers and fish raisers do not seem to be worried about the nutritional value of the fish meet but about profit and productivity. However, this is not an isolated fact, happening worldwide in different sectors of food production and commerce.

1. JUSTIFICATIVAS

Devido ao aumento do consumo de peixes de cativeiros pelos brasileiros, desenvolveu-se um trabalho com o objetivo de realizar uma análise crítica sobre o conteúdo lipídico de peixes cultivados, de rios e reservatório e fornecer dados comparativos sobre o valor nutricional destes peixes obtidos no Brasil, em função das dietas que estas espécies receberam. No intuito de atingir estes objetivos, várias informações foram agrupadas em um trabalho único, utilizando-se como banco de dados artigos científicos nacionais, internacionais e teses publicadas por alguns pesquisadores brasileiros na última década.

São vários os fatores que determinam a composição química de uma determinada espécie de peixe. Dentre estes fatores, destacam-se a genética, sexo, tipo e época da desova, estágio produtivo, tamanho e migração, além de fatores ambientais relacionados com variações em seu *habitat* e formas de criação. A influência da temperatura, variação no volume de água e a estação do ano afetam diretamente a disponibilidade de alimento para os peixes e têm sido objetos de vários estudos nos últimos anos (Moreira *et al.*, 2001; Zenebe *et al.*, 1998; Ahlgren *et al.*, 1994; Henderson & Tocher, 1987; Weatherley & Gill, 1983).

A dieta alimentar dos peixes de água doce exerce um fator decisivo sobre a composição do tecido muscular e, especialmente, sobre a composição de ácidos graxos dos lipídios deste tecido. Desta forma, foram discutidas, comparativamente, a influência da alimentação sobre a composição lipídica de peixes cultivados (gaiola e tanque) e a composição lipídica de peixes de rios e reservatório.

Nas análises e discussões comparativas, foram incluídos o teor de lipídios totais (LT) e o teor de alguns ácidos de importância biológica: linoléico (LA, 18:2n-6), alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3), eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3). Foram ainda analisadas as somatórias dos ácidos: saturados (AGS), diinsaturados (AGDI), poliinsaturados (AGPI), altamente insaturados de cadeia longa (AGAI-CL) e as razões entre somatórias: família n-6 pela família n-3 (n-6/n-3), poliinsaturados por saturados (AGPI/AGS), de ácidos altamente insaturados por saturados (AGAI/AGS) e poliinsaturados por diinsaturados (AGPI/AGDI).

2. INTRODUÇÃO

2.1. CRIAÇÃO DE PEIXES CULTIVADOS

O homem, desde épocas remotas, tem se utilizado dos peixes como alimento para a sua subsistência. Primeiramente, com uma simples fisga, o homem aprendeu a utilizar-se dos peixes através do extrativismo nos rios e mananciais e, posteriormente, há mais ou menos 3.000 anos têm-se registros de que o cultivo de peixes já era praticado na China, utilizando-se para isso carpas domésticas em tanques ou pequenas represas (Hayashi *et al.*, 1996).

Em relação a outros países onde a atividade piscícola é desenvolvida, o Brasil apresenta algumas vantagens, dentre estas, o clima tropical, a temperatura favorável para o desenvolvimento de diversos tipos de tanques, o elevado volume de água e o grande número de rios, represas, áreas alagadas, lagos naturais e, principalmente, a qualidade da água. Todos estes fatores contribuem satisfatoriamente para elevar a piscicultura brasileira ao maior produtor mundial de pescado de água doce (Hayashi *et al.*, 1996; Ribeiro *et al.*, 1995; Castagnolli, 1995).

Dados da produção mundial de pescado mostram que houve um incremento muito grande na década de 50 e 60, ocorrendo uma estabilização na década de 70 e 80, e voltando a ter um novo incremento na década de 90, estando hoje estimada em torno de 121 milhões de toneladas/ano (FAO, 1998). A produção brasileira está estimada em aproximadamente 800 mil toneladas, sendo 35% de águas continentais, principalmente das regiões sul e nordeste com 221,3 e 188,0 mil toneladas, respectivamente (Brasil, 2000). Estes dados mostram que a produção brasileira não chega a 1% da produção mundial.

O consumo médio mundial de produto pesqueiros está em torno de 16,4kg/hab./ano, enquanto que a média brasileira oscila num percentual de 25% deste valor (Hayashi *et al.*, 1996). Segundo Souza (1998), o consumo médio *per capita* anual de pescado no Brasil é pequeno, cerca de 6,4kg/ano, muito abaixo de países como o Japão (71,9kg/ano), Portugal (60,2kg/ano), Senegal (40kg/ano), Noruega (41,2kg/ano) e Espanha, com 37,7kg/ano, indicando uma capacidade de crescimento bastante razoável.

O aumento no consumo de peixes de cativeiro pelos brasileiros, nos últimos anos, deve-se ao crescente número de "pesque-pague", "pague-pesque", a novas espécies de peixes criadas em cativeiro e ao fornecimento de peixes pelos criadores, que vendem os seus produtos em mercados, feiras-livres, indústrias de defumação, filetagem, etc. Neste crescimento do cultivo de peixes de água doce, destacam-se principalmente espécies exóticas, como a tilápia, que apresenta uma boa aceitação pelo consumidor e pode ser criada em sistemas de cativeiro, apesar dos preços serem considerados muito aquém do poder aquisitivo da maioria da população (Vargas & Moreira, 1998; Hayashi *et al.* 1996). Porém, nos últimos anos tem sido observada uma redução nos preços das carnes de peixes de cativeiro.

2.2. COMPOSIÇÃO E ALIMENTAÇÃO DE PEIXES CULTIVADOS

A principal fonte de alimentos para os peixes cultivados é a ração. A produção de rações para o mercado brasileiro da aquicultura, embora considerado ainda pequeno, vem crescendo nesses últimos anos e passou das 80 mil toneladas produzidas em 1998, para cerca de 99 mil toneladas em 1999 e com uma previsão de aproximadamente 119 mil toneladas no ano de 2000, segundo a Associação Nacional dos Fabricantes de Alimentos para Animais (ANFAL) (Martino & Takahashi, 2001).

O elevado consumo de ração é um fator determinante para os piscicultores, pois são necessários em média 2 a 3kg de ração para produzir 1kg de peixe de cativeiro (Hunter & Roberts, 2000). E, segundo Ribeiro *et al.*(1995), o conhecimento dos alimentos que irão constituir uma ração é de grande importância prática, uma vez que, o custo com a alimentação na piscicultura representa cerca de 65% do custo de produção, sendo necessário conhecer a proporção adequada de cada nutriente para ser utilizado com a máxima eficiência, principalmente, na substituição de alimentos convencionais por alimentos alternativos.

O estabelecimento dos níveis qualitativo e quantitativo de lipídios nas rações tem sido descrito para várias espécies de peixes, como sendo muito variável tanto para peixes de água doce como para os marinhos (Hayashi *et al.*,1996). Contudo, há necessidade de se estabelecer os níveis ótimos, pois o

excesso ou falta de ácidos graxos essenciais nas rações podem causar problemas de origem patológica, além da redução dos valores de ganho de peso e conversão alimentar (Martino & Takahashi, 2001).

É reconhecido que as concentrações de ácidos AGPI no músculo de peixes variam de espécie a espécie e dependem, especialmente da dieta do peixe e da temperatura da água. Espécies marinhas de águas quentes requerem ácidos graxos da família n-6 e aquelas de águas frias necessitam de AGPI n-3 de cadeia longa, porém, as de água fria não conseguem alongar e dessaturar ácidos graxos precursores com facilidade (Maia, 1992). No entanto, peixes de águas doce e fria, como a truta, utilizam o LNA (precursor) porque são capazes de alongação e dessaturação para AGPI n-3 subseqüentes da série (Haumann, 1989). Espécies de peixes de água doce e quente necessitam dos ácidos graxos da família n-3 e n-6. No entanto, o efeito dos ácidos graxos n-6 (18:2n-6 e 20:4n-6) foi superior ao dos ácidos graxos n-3 (18:3n-3 e 20:5n-3) para o crescimento de tilápias, indicando que estas espécies requerem mais ácidos graxos n-6 do que n-3. De qualquer forma, os peixes de águas quentes necessitam bem menos ácidos graxos essenciais que os de águas frias (Watanabe, 1982).

O conteúdo de lipídios em peixes apresenta elevada variação quantitativa. Algumas espécies de peixes, na parte comestível, variam de um mínimo de 0,5% a um máximo de 25% de lipídios. Neste sentido, Ackman (1989) realizou uma classificação geral para peixes marinhos com relação ao teor de gordura, classificando-os por categorias que incluem: magros, com menos de 2% de gordura; os de baixa gordura, de 2 a 4%; os médios, de 4 a 8% e os gordos, mais que 8%.

3. UMA ANÁLISE CRÍTICA - COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE PEIXES DE ÁGUA DOCE DO BRASIL

A composição lipídica de um total de 19 espécies de peixes foi analisada no presente trabalho, incluindo dentre outras, espécies de importância comercial no Brasil. Algumas espécies foram comuns nas análises realizadas pelos pesquisadores, porém diferiram quanto ao sistema de criação ou obtenção. As espécies que foram capturadas nos rios e reservatório tiveram como dieta os

alimentos existentes naturalmente no meio aquático, enquanto que as espécies coletadas em tanques e gaiolas tiveram como alimentação básica, o fornecimento de rações comerciais.

A seguir, são fornecidos dados sobre as espécies dos diferentes trabalhos pesquisados:

Curimatã (Rio) - As amostras de peixes curimatã (*Prochilodus nigricans*) foram capturadas no período da cheia (janeiro a junho, ano não citado), bacia amazônica - Amazonas - Brasil (Silva, 2000).

Curimatã (Rio) - As espécies de curimatã (*Prochilodus scrofa*) foram capturadas no Rio Mogi Guaçu, São Paulo - Brasil. As amostras foram capturadas no mês de maio de 1990 (Maia *et al.*, 1994).

Mapará (Rio) - As espécies de mapará (*Hypophthalmus sp.*) foram capturadas no período da cheia (janeiro a junho, ano não citado), Rio Amazonas - Manaus - Amazonas – Brasil (Inhamus & Franco, 2001).

Piracanjuba (Tanque), piracanjuba (Gaiola) e piracanjuba (Rio) - As amostras de peixes piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) de origem tanque e gaiola foram coletadas no pesqueiro do Pacu, Maringá - Paraná - Brasil. A piracanjuba (Rio) foi capturada nos rios Cuibá-manso e Porto Primavera no rio Paraná, Brasil. Todas foram coletadas nos meses de setembro a dezembro de 1999 (Moreira *et al.*, 2001).

Piraputanga (Tanque) e piraputanga (Rio) - As amostras de peixes de piraputanga (*Brycon microlepis*) de origem tanque foram coletadas no pesqueiro do Pacu, Maringá - Paraná - Brasil. As de origem rio foram capturadas nos rios Cuibá-manso e Porto Primavera no rio Paraná, Brasil. Ambas coletadas nos meses de setembro a dezembro de 1999 (Moreira *et al.*, 2001).

Tucunaré (Rio) - As espécies de tucunaré (*Cichla ocellaris*) foram capturadas no mês de maio (ano não citado), período da cheia, bacia amazônica - Amazonas - Brasil (Silva, 2000).

Botoado (Reservatório) - As espécies machos de botoado-armado (*Pterodoras granulosus*) foram capturadas no reservatório de Itaipu, Paraná – Brasil, nos meses de junho, setembro e dezembro de 1998 e março de 1999 (Oliveira, 2000).

Corvina (Reservatório) - As espécies machos de corvina (*Plagioscion squamosissimus*) foram capturadas no reservatório de Itaipu, Paraná-Brasil. As amostras foram obtidas nos meses de setembro/dezembro de 1998 e fevereiro/março de 1999 (Oliveira, 2000).

Mapará (Reservatório) - As espécies machos de mapará (*Hypophthalmus edentatus*) foram capturadas no reservatório de Itaipu, Paraná - Brasil. As amostras foram obtidas nos meses de dezembro de 1998, fevereiro e março de 1999 (Oliveira, 2000).

Matrinxã (Tanque) e matrinxã (Gaiola) - As amostras de peixes de matrinxã (*Brycon cephalus*) de origem tanque foram coletadas no pesqueiro do Pacu, Maringá - Paraná - Brasil. As de origem gaiola foram coletadas de gaiolas situadas na represa Capivari da CESP (Centrais Elétricas de São Paulo) no rio Paranapanema, São Paulo - Brasil. Ambas coletadas nos meses de setembro a dezembro de 1999 (Moreira *et al.*, 2001).

Pacu (Tanque) - As espécies de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) foram coletadas no Centro de Pesquisa e Treinamento em Aquicultura (CEPTA), Pirassununga - São Paulo - Brasil. As amostras foram coletadas no mês de maio de 1990 (Maia *et al.*, 1995).

Tambaqui (Tanque) - As espécies de tambaqui (*Colossoma macropomum*) foram coletadas no Centro de Pesquisa e Treinamento em Aquicultura (CEPTA), Pirassununga - São Paulo - Brasil. As amostras foram coletadas no mês de maio de maio de 1990 (Maia & Rodriguez-Amaya, 1992).

Tilápia (Tanque) - As espécies de tilápias (*Oreochromis niloticus*) foram coletadas de tanques do Centro de Pesquisa e Treinamento em Aquicultura (CEPTA), Pirassununga - São Paulo - Brasil. As amostras foram coletadas no mês de maio e não foi citado o ano de coleta (Maia, 1992).

Foram incluídas ainda espécies de peixes de água doce descritas por Andrade *et al.* (1995), que analisaram um total de 17 espécies de peixes de água doce. Como estas espécies foram adquiridas no comércio de Maringá - Paraná - Brasil e a origem não foi descrita. Neste trabalho foram incluídas somente as espécies truta (*Salmo sp.*) e piranha (*Serrasalmus marginatus*), por apresentarem características peculiares. Estas serão analisadas somente em discussões

consideradas relevantes. Não foi citado pelos autores o ano de obtenção das amostras.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ésteres metílicos foram analisados nos lipídios totais (LT) pelos pesquisadores utilizando cromatografia gasosa, coluna capilar e detector de ionização de chama e os resultados foram expressos em percentagens relativas, baseando-se no método da normalização simples. A identificação dos ácidos graxos foi realizada por um ou mais métodos, dentre estes, pelo tempo de retenção, valores de ECL (comprimento equivalente de cadeia), espectrometria de massas e outros.

Os pesquisadores utilizaram nas determinações quantitativas de LT o método de Bligh e Dyer (1959) ou modificações deste método.

4.1. TEOR DE LIPÍDIOS TOTAIS E COMPOSIÇÃO DOS ÁCIDOS LNA, EPA E DHA DAS ESPÉCIES

A Tabela 1 apresenta os resultados dos teores de lipídios totais em gramas de LT/100g de tecido muscular das diferentes espécies de peixes e a composição dos ácidos graxos alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3), eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) de todas as espécies.

As espécies que se destacaram no valor de LT foram mapará-rio (19%), mapará-reservatório (14,32%) e pacu-tanque (11,0%). Estes peixes, na classificação de Ackman (1989), foram considerados altamente gordos, teor maior que 8% de gordura. Apesar das espécies mapará-rio e mapará-reservatório receberem alimentações diferentes, elas apresentaram altos teores de lipídios totais, o que se constitui possivelmente uma característica desta espécie. No entanto, a influência de outros fatores não pode ser descartada.

Tabela 1. Teor de lipídios totais (grama/100g de tecido muscular) e composição dos ácidos graxos LNA, EPA e DHA (em percentagem de área relativa) de várias espécies de água doce.

Nome	Origem	Lipídios	LNA	EPA	DHA	Fonte
Curimatã	Rio	6,0	3,65	1,37	1,45	Silva, 2000
Curimatã	Rio	5,0	3,6	3,1	2,3	Maia <i>et al.</i> , 1994
Mapará	Rio	19	4,1	2,5	2,4	Inhamus &
Piracanjuba	Rio	3,56	0,89	0,48	1,05	Moreira <i>et al.</i> ,
Piraputanga	Rio	2,49	0,97	0,17	1,60	Moreira <i>et al.</i> ,
Tucunaré	Rio	0,8	1,29	0,88	10,01	Silva, 2000
Botoado	Reservatório	2,50	1,85	1,43	2,72	Oliveira, 2000
Corvina	Reservatório	0,71	2,84	3,27	6,11	Oliveira, 2000
Mapará	Reservatório	14,32	3,87	3,13	3,25	Oliveira, 2000
Matrinxã	Gaiola	6,83	0,54	0,10	0,78	Moreira <i>et al.</i> ,
Matrinxã	Tanque	5,09	0,69	0,06	0,37	Moreira <i>et al.</i> ,
Pacu	Tanque	11,0	0,4	tr	0,3	Maia <i>et al.</i> , 1995
Piracanjuba	Gaiola	3,74	0,51	0,13	1,38	Moreira <i>et al.</i> ,
Piracanjuba	Tanque	5,60	1,02	0,21	0,92	Moreira <i>et al.</i> ,
Piraputanga	Tanque	7,94	0,67	0,14	0,85	Moreira <i>et al.</i> ,
Tambaqui	Tanque	6,8	0,5	tr	0,6	Maia & Rodrigue
Tilápia	Tanque	1,3	0,4	tr	1,1	Maia, 1992
Truta	Comércio	6,42	12,71	1,67	11,74	Andrade <i>et al.</i> ,
Piranha	Comércio	0,70	3,44	1,15	3,56	Andrade <i>et al.</i> ,

Lipídios = gramas de lipídios totais por 100g de tecido muscular.

LNA, EPA e DHA = ácidos alfa-linolênico, eicosapentaenóico e docosahexaenóico, respectivamente.

As espécies piranha-comércio (0,70%), corvina-reservatório (0,71%) e tucunaré-rio (0,8%) apresentaram os menores teores de LT e foram classificadas como peixes magros, teor de gordura inferior a 2%, pela classificação de Ackman (1989).

Quanto ao teor de LT, as espécies piraputanga-rio (2,49%), piraputanga-tanque (7,94%), piracanjuba-rio (3,56%), piracanjuba-tanque (5,60%) e piracanjuba-gaiola (3,74%) mostraram que uma mesma espécie pode fazer parte de categorias distintas daquelas propostas por Ackman (1989), o que mostra a influência de vários fatores sobre a composição dos peixes.

Dentre todas as espécies analisadas, os teores dos ácidos LNA e EPA foram superiores para a maioria das espécies que receberam alimentação natural provenientes do meio aquático (rios e reservatório), em relação àquelas espécies que receberam alimentação à base de ração (gaiola e tanque), exceto para a espécie piracanjuba-rio, onde o valor de LNA (0,89%) foi inferior ao encontrado para a espécie piracanjuba-tanque com valores de LNA (1,02%). Porém, a diferença foi muito pequena entre as duas espécies.

Em algumas espécies cultivadas como tilápia-tanque, pacu-tanque e tambaqui-tanque (todas alimentadas com rações), os teores de EPA foram encontrados em níveis de traços, isto não foi observado em nenhuma espécie de rio ou reservatório, onde o menor teor de EPA foi para a espécie piraputanga-rio com 0,17%.

Os teores do ácido DHA foram sempre superiores para todas as espécies capturadas em rios ou reservatório, quando comparados com os teores dos peixes de cativeiro, exceto para a espécie piracanjuba gaiola, que apresentou um valor de 1,38%, enquanto a espécie capturada no rio apresentou 1,05%.

Os valores dos teores dos ácidos LNA, EPA e DHA observados na Tabela 1, de maneira geral, foram superiores para aquelas espécies de peixes que receberam alimentação oriunda do meio aquático (rios e reservatório) em relação àquelas que receberam alimentação à base de rações (gaiola e tanque). Neste sentido, estes resultados fornecem uma indicação do tipo de alimentação que estes peixes receberam, ou seja, possivelmente os peixes de cativeiro receberam rações com baixos teores do ácido LNA, um precursor da família n-3, que pode

ser transformado em outros ácidos graxos da família, nos peixes de água doce. Uma outra indicação é que os peixes de cativeiro receberam na sua dieta baixos teores dos ácidos EPA e DHA, pois estes ácidos não foram armazenados nestas espécies.

As espécies obtidas no comércio apresentaram teores dos ácidos LNA, EPA e DHA sempre superiores aqueles dos peixes de cativeiros. Estas duas espécies apresentam características peculiares. A truta é uma espécie produzida em águas frias e seguiu a tendência de armazenar ácidos graxos poliinsaturados da família n-3, enquanto que a piranha é um peixe carnívoro e, provavelmente, foi obtida do extrativismo e obteve os ácidos LNA, EPA e DHA de outros animais aquáticos da cadeia alimentar.

4.2. PERCENTAGENS DE LA, SOMATÓRIAS DE AGDI E AGPI E RAZÕES AGPI/AGDI E n-6/n-3

A Tabela 2 mostra a somatória das percentagens relativas do ácido linoléico (LA), somatória dos ácidos graxos diinsaturados (AGDI), poliinsaturados (AGPI) e as razões das somatórias dos ácidos graxos poliinsaturados/ácidos diinsaturados (AGPI/AGDI) e da família n-6/família n-3 (n-6/n-3), para as diferentes espécies de peixes.

Nos diferentes trabalhos consultados, não está bem estabelecido quais ácidos graxos são poliinsaturados. Alguns autores consideraram ácidos graxos poliinsaturados, aqueles que apresentam duas ou mais duplas ligações, outros consideraram os que apresentam três ou mais duplas ligações.

Neste trabalho, com o objetivo de uniformizar os resultados e fornecer melhores informações, foram considerados ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), os ácidos com duas ou mais duplas ligações, de acordo com o dicionário *The American Heritage* (2000). Aqueles com três ou mais duplas ligações foram denominados de ácidos altamente insaturados (AGAI) e os ácidos graxos com 20 ou mais átomos de carbonos e com três ou mais duplas ligações de altamente insaturados de cadeia longa (AGAI-CL).

Todas as somatórias e razões apresentadas na Tabela 2 foram compiladas diretamente dos trabalhos ou, quando inexistentes, foram então calculadas a partir das composições de ácidos graxos descritas nos referidos trabalhos.

A Tabela 2 mostra que todas as espécies de peixes (gaiola e tanque), que receberam ração como alimentação básica, apresentaram as maiores somatórias de AGDI. Estes valores, possivelmente, são atribuídos aos elevados teores do ácido linoléico (18:2n-6), existentes nas rações, uma vez que este ácido é o precursor de outros ácidos graxos da família n-6 e não é sintetizado pelos peixes.

Moreira *et al.* (2001) e Maia (1992) analisaram a composição de ácidos graxos nas rações fornecidas para espécies de *Brycon* e para espécies de pacu, tilápia e tambaqui, respectivamente. Ambos encontraram o ácido linoléico como o maior constituinte dos ácidos graxos e baixos teores de AGPI n-3.

Os valores das razões AGPI/AGDI foram analisados nas diferentes espécies, como mostra a Tabela 2, apesar desta razão não ser comumente utilizada por pesquisadores. Nos trabalhos consultados, esta razão não foi calculada em nenhum dos trabalhos. Pelo fato de incluir os valores de AGDI no cálculo, os resultados destas razões foram considerados importantes e mostraram a influência deste grupo de ácidos graxos entre as espécies, pois os resultados mostraram que todas as espécies de rios e reservatórios apresentaram valores sempre superiores desta relação quando comparados com aqueles de peixes de cativeiro.

Tabela 2. Composição de LA (percentagem de área relativa), somatórias de AGDI, de AGPI e das razões AGPI/AGDI e n-6/n-3 das diferentes espécies de peixes de água doce.

Nome	Origem	LA	AGDI	AGPI	AGPI/	n-6/n-3	Fonte
Curimatã	Rio	3,10	5,57	23,00	4,13	0,86	Silva, 2000
Curimatá	Rio	2,5	3,5	22,4	6,41	0,7	Maia <i>et al.</i> , 1994
Mapará	Rio	2,2	3,0	19,7	6,6	0,6	Inhamus &
Piracanjuba	Rio	2,29	2,51	7,19	2,86	1,14	Moreira <i>et al.</i> ,
Piraputanga	Rio	5,10	5,23	12,02	2,30	1,79	Moreira <i>et al.</i> ,
Tucunaré	Rio	3,50	4,80	35,70	7,44	1,03	Silva, 2000
Botoado	Reservatóri	1,45	3,66	25,25	6,90	1,06	Oliveira, 2000
Corvina	Reservatóri	3,56	6,28	38,18	6,08	0,93	Oliveira, 2000

Mapará	Reservatóri	1,89	2,66	22,88	8,60	0,52	Oliveira, 2000
Matrinxã	Gaiola	10,17	10,34	13,84	1,34	6,79	Moreira <i>et al.</i> ,
Matrinxã	Tanque	11,15	11,33	14,20	1,25	8,79	Moreira <i>et al.</i> ,
Pacu	Tanque	9,2	9,8	12,3	1,26	14,28	Maia <i>et al.</i> , 1995
Piracanjuba	Gaiola	9,79	9,96	14,78	1,48	5,07	Moreira <i>et al.</i> ,
Piracanjuba	Tanque	13,77	13,93	18,76	1,35	6,38	Moreira <i>et al.</i> ,
Piraputanga	Tanque	11,03	11,22	14,78	1,32	6,26	Moreira <i>et al.</i> ,
Tambaqui	Tanque	9,2	9,7	12,4	1,28	9,8	Maia & Rodriguez-
Tilápia	Tanque	13,09	15,00	23,8	1,59	14,1	Maia, 1992

LA = Ácido linoléico; AGDI e AGPI = Somatória de ácidos graxos diinsaturados e poliinsaturados, respectivamente.

AGPI/AGDI e n-6/n-3 = razões entre as somatórias dos ácidos graxos poliinsaturados por somatórias dos ácidos graxos diinsaturados e somatórias das famílias n-6 por somatórias da família n-3, respectivamente.

Os valores das razões n-6/n-3, para os peixes de rios e reservatórios, foram sempre inferiores aos encontrados para os peixes de cativeiro (Tabela 2). Os elevados valores das razões n-6/n-3, encontrados nos peixes de cativeiro, receberam grande contribuição do LA, sempre presente em elevados níveis no tecido muscular destes peixes e que foi incluído no cálculo desta razão.

Em termos nutricionais, os baixos valores das razões n-6/n-3 dos peixes de rios e reservatório, certamente contribuirão com maior eficácia para reduzir os níveis elevados desta razão na alimentação humana dos ocidentais, estimada de 20:30:1 por Simopoulos *et al.* (1999).

O uso de óleos vegetais de soja, algodão, milho, dentre outros, que apresentam elevados teores de LA, são comumente utilizados no preparo de rações no Brasil. Desta forma, estes óleos influenciarão diretamente na composição de ácidos graxos e conseqüentemente no valor nutricional do tecido muscular de peixes de água doce criados em sistemas de cativeiro.

Apesar deste trabalho incluir um número reduzido de espécies de peixes de água doce, os elevados níveis de LA, das somatórias de AGDI e razões n-6/n-3 e os baixos níveis das razões de AGPI/AGDI dos peixes cultivados apresentaram resultados antagônicos em relação aos peixes de rios e de reservatório, conforme Tabela 2.

Os resultados destas avaliações formaram dois blocos distintos entre os peixes que receberam ração nas suas dietas (gaiola e tanque) e aqueles que foram alimentados naturalmente (rios e reservatório). Neste sentido, os resultados sugerem que os teores de LA, as somatórias de AGDI e as razões de n-6/n-3, AGPI/AGDI, usados conjuntamente, são boas indicações para caracterizar a origem ou prever o tipo de alimentação que estas espécies receberam, particularmente se as rações foram preparadas com óleos vegetais.

4.3. SOMATÓRIAS DE AGS, AGAI-CL E RAZÕES AGPI/AGS E AGAI/AGS

A Tabela 3 mostra os resultados das somatórias dos ácidos graxos: saturados (AGS), altamente insaturados de cadeia longa (AGAI-CL) e as razões de somatórias de ácidos graxos: poliinsaturados por saturados (AGPI/AGS) e daqueles altamente insaturados por saturados (AGAI/AGS).

Neste trabalho, não foram observadas diferenças comparativas bem definidas nos teores de ácidos graxos saturados (AGS) entre peixes cultivados e peixes de rios e reservatório, conforme mostra a Tabela 3. Estes ácidos graxos nos peixes podem ser obtidos da dieta e/ou sintetizados pela síntese *de novo* (de fontes não lipídicas), segundo Henderson (1996). Desta forma, as variações dos teores dos AGS encontrados nestes peixes foram influenciadas por fatores que não puderam ser estabelecidos neste trabalho.

O *Department of Health and Social Security* (1984), da Inglaterra, sugere que uma dieta que apresenta a razão de AGPI/AGS inferior a 0,45 é pouco saudável, especialmente com relação às doenças cardíacas. Neste sentido, das oito espécies de cativeiro analisadas, somente as espécies de tanque piracanjuba (0,56) e tilápia (0,6) atenderam a este requisito, enquanto que das nove espécies de rios ou reservatório, seis espécies atenderam o requisito, conforme Tabela 3.

Tabela 3. Somatórias de AGS, AGAI-CL e razões AGPI/AGS e AGAI/AGS.

Nome	Origem	AGS	AGAI-CL	AGPI/AGS	AGAI/AGS	Fonte
Curimatã	Rio	44,38	6,74	0,52	0,39	Silva, 2000
Curimbatá	Rio	45,5	13,6	0,5	0,4	Maia <i>et al.</i> ,
Mapará	Rio	50,4	9,0	0,4	0,3	Inhamus &
Piracanjub	Rio	35,60	3,62	0,20	0,13	Moreira <i>et al.</i> ,
Piraputã	Rio	41,86	4,00	0,29	0,16	Moreira <i>et al.</i> ,
Tucunaré	Rio	38,83	12,57	0,92	0,80	Silva, 2000
Botoado	Reservató	38,36	18,88	0,65	0,56	Oliveira, 2000
Corvina	Reservató	33,95	28,53	1,26	0,94	Oliveira, 2000
Mapará	Reservató	41,08	15,74	0,67	0,49	Oliveira, 2000
Matrinxã	Gaiola	35,67	2,72	0,39	0,10	Moreira <i>et al.</i> ,
Matrinxã	Tanque	38,83	2,01	0,37	0,07	Moreira <i>et al.</i> ,
Pacu	Tanque	36,8	2,1	0,3	0,1	Maia <i>et al.</i> ,
Piracanjub	Gaiola	35,65	3,95	0,41	0,14	Moreira <i>et al.</i> ,
Piracanjub	Tanque	33,76	3,49	0,56	0,14	Moreira <i>et al.</i> ,
Piraputã	Tanque	33,63	2,66	0,44	0,11	Moreira <i>et al.</i> ,
Tambaqui	Tanque	41,3	2,2	0,3	0,1	Maia &
Tilápia	Tanque	41,0	7,9	0,6	0,2	Maia, 1992

AGS e AGAI-CL = somatória de ácidos graxos saturados e de ácidos graxos altamente insaturados de cadeia longa, respectivamente.

AGPI/AGS e AGAI/AGS = razões entre somatórias de ácidos graxos poliinsaturados por ácidos graxos saturados e de ácidos graxos altamente insaturados por ácidos graxos saturados, respectivamente.

No cálculo dos ácidos graxos altamente insaturados (AGAI), foram considerados os ácidos que apresentam número de duplas ligações maior ou igual a três, assim, a razão AGAI/AGS foi sempre inferior à razão AGPI/AGS. Desta forma, as espécies de peixes de cativeiro, as quais apresentaram elevadas somatórias de diinsaturado em relação aos peixes de rios e reservatório, promoveram um maior incremento na razão AGPI/AGS em relação à razão AGAI/AGS para uma determinada espécie.

Muitas espécies de peixes marinhos que são ricos em AGAI-CL, especialmente EPA e DHA, armazenam estes ácidos graxos através da dieta, uma vez que apresentam dificuldades em sintetizá-los. Na Tabela 3, os valores das somatórias de AGAI-CL foram superiores para as espécies de reservatório e nas espécies de rios mapará, tucunaré e curimatá. Os valores destas somatórias foram superiores em relação a muitas espécies de peixes marinhos analisadas por Andrade (1994).

Apesar de não ter sido encontrado na literatura valor recomendado para a razão AGAI/AGS na dieta humana, a razão AGAI/AGS poderá ser utilizada para fins comparativos e fornecer resultados e interpretações importantes. Porém, os pesquisadores que utilizam as razões AGPI/AGS e/ou AGAI/AGS devem ficar atentos para os níveis de saturados, diinsaturados e, ainda, em interpretações comparativas entre diferentes trabalhos, verificar criteriosamente as definições que foram estabelecidas pelos pesquisadores com relação às definições de AGPI e AGAI, desta forma evitando interpretações errôneas.

5. COMENTÁRIOS GERAIS

i- Nos constituintes dos conteúdos lipídicos, foi evidenciada a superioridade nutricional dos peixes de rios e reservatório em relação às espécies cultivadas (gaiola e tanque).

ii- Os baixos valores nutricionais de peixes cultivados podem ser melhorados pela elaboração de rações, que contenham precursores de ácidos graxos da família n-3, e/ou pela inclusão nas rações de farinha de peixe e outros constituintes, que possam conter ácidos graxos biologicamente importantes.

iii- Recomenda-se a realização de experimentos interdisciplinares, visando a melhoria do valor nutricional da carne de peixes cultivados e não somente a realização de experimentos isolados que visem a produção e produtividade.

iv- Salienta-se a importância dos resultados obtidos pelos pesquisadores brasileiros, pois certamente, sem estes trabalhos seria impossível a realização deste estudo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKMAN, R. G. Nutritional composition of fats in seafoods . Prog. Food Nutr. Sci., v. 13, p. 161-241, 1989.
- AHLGREN, G.; BLOMQUIST, P.; BOBERG, M.; GUSTAFSSON, I. B. Fatty acid content of dorsal muscle- a indicator of fat quality in freshwater fish. J. Fish Biol., v. 45, p. 131-57, 1994.
- ANDRADE, A. D.; RUBIRA, A. F.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N. E. ω -3 Fatty acids in freshwater fish from south Brazil. J. Am. Oil Chem. Soc., v. 72, p. 1207-10, 1995.
- ANDRADE, A. D. Ácidos graxos ômega-3 em peixes, óleos de peixes e óleos vegetais comestíveis. Maringá. 1994. (Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Maringá).
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem., v. 37, p. 911-17, 1959.
- BRASIL (2000). Recursos pesqueiros. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente [www documento]. URL <http://www.ibama.gov.br/atuacao/pescaqui/estat.htm>
- CASTAGNOLLI, N. Aquicultura para o ano 2000. In: Workshop para subsidiar a capacitação de recursos humanos e a geração de tecnologia em aquicultura sustentável. - São Carlos - SP. 1995, 95p.
- DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY. Report on Health and Social Subjects nº 28. Diet and Cardiovascular Disease. HMSO, London. 1984. *Apud*: Meat Sci., v. 42, p. 443-56, 1996.
- FAO (1998). Report on important recent events concerning trade in fisheries products [www documento]. URL <http://www.Fao.org/fi/meetings/cofi/cofi98-asp>
- HAUMANN, B. F. Aquaculture: New markets for meals, fats and oil. J. Am. Oil Chem. Soc., v. 66, p. 1530-43, 1989.
- HAYASHI, C.; RIBEIRO, R. P.; FURUYA, W. M.; FURUYA, V. R. B. Curso de atualização em piscicultura: Espécies nativas e exóticas. FADEC - UEM - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1996. 156p.
- HENDERSON, R. J. Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. Arch. Anim. Nutr., v. 49, p. 5-22, 1996

- HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid Res.*, v. 26, p. 281-347, 1987.
- HUNTER, B. J.; ROBERTS, D. C. K. Potential impact of the fat composition of farmed on human health. *Nutr. Res.*, v. 20, p. 1047-58, 2000.
- INHAMUNS, A. J.; FRANCO, M. R. B. Composition of total, neutral and phospholipids in mapará (*Hypophthalmus sp.*) from the Brazilian Amazonian area. *J. Agric. Food Chem.*, v. 49, p. 4859-63. 2001.
- MAIA, E. L. Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídios e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce. Campinas. 1992. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Campinas).
- MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Fatty acid composition of the total, neutral and phospholipids of the Brazilian freshwater fish *Colossoma macropomum*. In: *Food Science and Human Nutrition*, (G. Charalambous, Ed.). Amsterdam. Elsevier Science, 1992. p. 633-42.
- MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; FRANCO, M. R. B. Fatty acids of the total, neutral, and phospholipids of the Brazilian freshwater fish *Prochilodus scrofa*. *J. Food Comp. Anal.*, v. 7, p. 240-51, 1994.
- MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; HOTTA, L. K. Fatty acids composition of the total, neutral and phospholipids of pond-raised Brazilian *Piaractus mesopotamicus*. *Int. Food Sci. Technol.*, v. 30, p. 591-97, 1995.
- MARTINO, R.; TAKAHASHI, N. S. A importância da adição de lipídios em rações para a aquicultura. *Óleos e grãos*, n. 58, p. 32-7, 2001.
- MOREIRA, A. B.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian *brycon* freshwater fishes. *J. Food Comp. Anal.*, v.14, p. 565-74, 2001.
- OLIVEIRA, E. R. N. Composição química geral e de ácidos graxos da fração lipídica de peixes do reservatório de Itaipu, Paraná-Brasil: Relação com variáveis biológicas e período de coleta. Maringá. 2000. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Maringá).

- RIBEIRO, R. P.; HAYASHI, C.; FURUYA, W. M. Curso de piscicultura - criação racional de tilápias. FADEC - Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 1995. 23p.
- SILVA, A. J. I. Composição lipídica e quantificação dos ácidos graxos poliinsaturados EPA (20:5n-3) e DHA (22:6n-3) de peixes de água doce. Campinas. 2000. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Campinas).
- SIMOPOULOS, A. P.; LEAF, A.; SALEM, N. Essentiality and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Ann. Nutr. Metabol.*, v. 43, p. 127-30, 1999.
- SOUZA, M. L. R. Industrialização, comercialização e perspectivas da piscicultura. AZOPA – Universidade Estadual de Maringá. Maringá. 1998. 78p.
- THE AMERICAN HERITAGE (2000). Dictionary of the English Language, 4 ed., Published by the Houghton Mifflin Company. [www documento]. URL <http://www.bartleby.com/61/22/P/P0432200.html>
- VARGAS, L.; MOREIRA, H. L. M. Patologia de peixes - Genética e melhoramento de peixes. AZOPA - Universidade Estadual de Maringá. Maringá. 1998, 56p.
- WATANABE, T. Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 73B, p. 3-15, 1982.
- WEATHERLEY, A. H.; GILL, H. S. Protein, lipid, water and caloric contents of immature rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, growing at different rates. *J. Fish Biol.*, v.. 23, p. 653-73, 1983.
- ZENEBE, T.; AHLGREN, G.; GUSTAFSSON, I. B. Fatty acid and lipid content or *Oreochromis niloticus* L. in Ethiopian lakes - dietary effects of phytoplankton. *Ecology of Freshwater Fish. J. Fish Biol.*, v. 7, p. 146-58, 1998.

CAPÍTULO III
ARTIGO CIENTÍFICO

**COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NOS LIPÍDIOS TOTAIS DE TILÁPIAS
(*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDAS A DIFERENTES TRATAMENTOS COM
ÓLEO DE LINHAÇA E ANÁLISE SENSORIAL DO TECIDO MUSCULAR**

Artigo será enviado à Revista *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NOS LIPÍDIOS TOTAIS DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDAS A DIFERENTES TRATAMENTOS COM ÓLEO DE LINHAÇA E ANÁLISE SENSORIAL DO TECIDO MUSCULAR

VISENTAINER, J.V.¹; FRANCO, M. R. B.²

1 - Universidade Estadual de Maringá - Depto de Química -
jvvisentainer@uem.br

2 - Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP
Caixa postal - 6121 CEP - 13083-970

RESUMO

Dentre as espécies de peixes de água doce cultivadas no Brasil, a tilápia (*Oreochromis niloticus*) tem sido uma das mais consumidas pelos brasileiros. No entanto, pesquisas realizadas no Brasil indicaram baixos níveis de ácidos graxos da família n-3 na carne destes peixes, inclusive na tilápia, em relação a outras espécies criadas de *habitat* natural. Neste sentido, foi realizado um experimento com o objetivo de elevar os teores de ácidos graxos n-3 em tilápias, utilizando para isto, quatro rações (tratamento B, C, D e E) suplementadas com níveis crescentes de óleo de linhaça e um tratamento controle à base de óleo de girassol (tratamento A). O óleo de linhaça é uma das maiores fontes do ácido alfa-linolênico (18:3n-3, um precursor de outros ácidos graxos n-3). Após 5 meses de cativeiro, foram realizadas análises de umidade, de lipídios totais (LT) e sensorial nos filés. Os LT foram metilados e analisados por cromatografia gasosa de alta resolução. Não houve diferença significativa nos teores de umidade e de lipídios totais entre os tratamentos. Na análise de ácidos graxos nos LT, foi encontrado um total de 50 componentes comuns para todos os tratamentos. Em cada tratamento, os ácidos majoritários foram os ácidos linoléico (18:2n-6), seguido do oléico (18:1n-9) e palmítico (16:0). Entre todos os tratamentos, houve um aumento com diferença significativa nas percentagens dos ácidos LNA (18:3n-3), EPA (20:5n-3) e DHA (22:6n-3), nas

somatórias de ácidos graxos n-3 e na razão ácidos graxos altamente insaturados/ácidos graxos saturados (AGAI/AGS). Concomitantemente, houve uma diminuição nas somatórias dos ácidos n-6 e nas razões das somatórias n-6/n-3. A suplementação de óleo de linhaça nas rações contribuiu acentuadamente para elevar o valor nutricional dos lipídios da carne deste peixe. Não houve diferença significativa no sabor entre filés de tilápias do tratamento E e filés de tilápias comerciais, quando avaliadas por análise sensorial. O uso de rações com óleo de linhaça poderá elevar o valor nutricional do conteúdo lipídico de outros peixes de água doce e deve ser avaliado em futuras pesquisas.

ABSTRACT

Among the freshwater fish reared in Brazil, the tilapia (*Oreochromis niloticus*) has been one of the most eaten species in Brazil. However, studies carried out in Brazil showed low levels of the n-3 fatty acid family in the filets, including the tilapia, as compared to other species reared in natural habitat. For this reason it was carried out an experiment with the aim of increasing the n-3 fatty acid content levels in tilapias, using four rations (treatment B, C, D and E) with increasing levels of linseed oil and a control treatment using sunflower oil (treatment A). The linseed oil is one of the most important sources of alpha-linolenic acid 18:3n-3 (a precursor of other n-3 fatty acids). After 5 months of captivity, it was done some humidity and total lipid analyses (TL) and sensorial analysis of the filets. The TL were methylated and separated by high-resolution gas chromatography. There was no significant difference in humidity and total lipids content between the treatments. In the TL fatty acids analyses, it was found a total of 50 components in common for all of the treatments and the major acids were the linoleic (18:2n-6), second the oleic (18:1n-9) and third the palmitic (16:0). Among all of the treatments, there was an increase with significant percentage difference in ALA (18:3n-3), EPA (20:5n-3) and DHA (22:6n-3) in the n-3 fatty acids sums and in the ratio of highly unsaturated fatty acids/saturated fatty acids (HUFA/SFA). Concomitantly, there was a

decrease in the n-6 acids sums and in the n-6/n-3 sums ratios. There was not great difference in taste between the filets in treatment E and those from the commerce, when evaluated by sensorial analysis. The linseed oil supplementation in the rations greatly contributed to raise the nutritional lipid value of this fish's meat. The linseed oil rations greatly contributed to increase the lipid nutritional value of this fish. The use of rations, containing linseed oil may improve the lipid content of other freshwater fish and must be evaluated in future researches.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os lipídios de peixes têm sido objetos de inúmeras pesquisas, devido ao efeito protetor contra o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (von Schacky, 2000; Haglund *et al.*, 1998; Eritsland *et al.*, 1996; Kromhout *et al.*, 1995) e artrite reumatóide (Ewin, 1997; Kremer *et al.*, 1987). Uma das grandes razões para este interesse, em relação aos efeitos dos ácidos graxos, é que estudos pioneiros mostraram que povos como os esquimós, os quais consomem grandes quantidades de peixes ricos em ácidos graxos poliinsaturados (AGPI ω -3 ou n-3), entre estes os ácidos eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) têm uma baixa incidência de desordens inflamatórias e/ou cardiovasculares (Kromann & Green, 1980; Dyerberg & Bang, 1979; Dyerberg *et al.*, 1978; Dyerberg *et al.*, 1975). Somando-se a isto, estudos com base em dietas comprovaram que o consumo de AGPI n-3 dos peixes, óleos de pescado e concentrados de ácidos graxos n-3 está associados aos efeitos benéficos em outras doenças, como psoríase (Mayser *et al.*, 1998), câncer (Kimura *et al.*, 2001, Rose & Connolly, 1999; Minoura *et al.*, 1988) e infertilidade humana (Conquer *et al.*, 2000).

Os ácidos alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3) e linoléico (LA, 18:2n-6) são considerados essenciais e precursores dos demais ácidos graxos da família n-3 e n-6, respectivamente. O ácido LA pode ser encontrado em abundância em óleos de milho, soja, girassol, dentre outros, enquanto que, o ácido LNA é encontrado em concentrações elevadas na semente de linho (*Linum usitatissimum*), que ganhou prestígio nos últimos anos, devido ao elevado teor deste ácido (Ceotto, 2000). O linho é uma herbácea que cresce com facilidade em climas tropicais ou temperados e a semente apresenta uma variação aproximada de 32 a 38% de óleo, que é constituído da seguinte composição em percentagem relativa de ácidos graxos: palmítico, 16:0 (4,6 a 6,3%); esteárico, 18:0 (3,3 a 6,1%); oléico, 18:1n-9 (19,3 a 29,4%); linoléico, 18:2n-6 (14,0 a 18,2%) e alfa-linolênico, 18:3n-3 (44,6 a 51,5%) (Carter, 1993).

O aumento no consumo de óleos de soja, milho, algodão, girassol e outros nas dietas ocidentais, no último século, proporcionou um aumento na ingestão de ácidos graxos da família n-6 em relação à ingestão de ácidos graxos da família n-

3, e conseqüentemente, um aumento na razão das somatórias de ácidos n-6/somatórias de ácidos graxos n-3.

Pesquisadores acreditam que atualmente as dietas ocidentais apresentam uma razão n-6/n-3 de aproximadamente 20 a 30:1, valores extremamente altos quando comparados com aqueles considerados ideais, de 1 a 2:1 (Schmidt, 2000; Simopoulos *et al.* 1999). Os altos valores da razão n-6/n-3 geraram um desbalanceamento de ácidos graxos no organismo humano e provavelmente contribuíram para desenvolvimento de processos inflamatórios, desordens do sistema imune, hipertensão e disfunções neurológicas (Schmidt, 2000; Okuyama *et al.*, 1997). Além disso, a necessidade de AGPI de cadeia longa, pertencentes às famílias n-3 e n-6, para a higidez das membranas biológicas ficou completamente comprovada (Belda & Campos, 1991). No entanto, o estabelecimento de razões adequadas, para atender às exigências humanas, está ainda na dependência de muita pesquisa, pois não são perfeitamente conhecidos alguns fatores bioquímicos e fisiológicos envolvidos.

A inclusão de ácidos graxos ômega-3 no enriquecimento de produtos alimentícios e a fabricação de produtos à base de óleo de peixes foram estudadas e desenvolvidas em todo mundo nos últimos anos, o que pode ser evidenciado pelo aparecimento destes produtos no comércio (mercados, farmácias, etc.). No entanto, estes produtos não são comumente incluídos nas dietas, são caros e inacessíveis para grande parte da população brasileira.

A utilização de peixes na alimentação pode constituir uma excelente fonte de AGPI n-3 para suprir as necessidades nutricionais destes ácidos, porém o consumo médio *per capita* de pescado no Brasil é ainda pequeno.

No Brasil nos últimos anos, houve um aumento na criação e, conseqüentemente, no consumo de peixes de cativeiro pelos brasileiros. Isto ocorreu devido às condições hidrográficas favoráveis, ao crescente número de "pesque-pague", "pague-pesque", de novas espécies de peixes e ao fornecimento de peixes pelos criadores, que vendem seus produtos em mercados, feiras livres, indústrias de filetagem, etc. Neste crescimento, destacam-se principalmente espécies como a tilápia (*Oreochromis niloticus*), que apresenta uma boa aceitação

pelo consumidor e pode ser criada em sistemas de cativeiro, apresentando preços mais acessíveis em relação a outros peixes.

Poucos trabalhos têm sido realizados no Brasil sobre a composição de ácidos graxos de peixes cultivados. Os trabalhos existentes, com relação a estes peixes, mostraram que o valor nutricional do conteúdo lipídico de tilápias (Maia, 1992) e de espécies de *Brycon* (Moreira *et al.*, 2001) é geralmente inferior quando comparado com peixes de rios, especialmente com relação aos ácidos graxos da família n-3. Além disso, não foram encontrados na literatura trabalhos realizados com o objetivo de elevar o valor nutricional de peixes cultivados.

Com o objetivo de avaliar e melhorar o valor nutricional da composição lipídica do tecido muscular (filé) de tilápias (*Oreochromis niloticus*) criadas em sistema de cativeiro, realizou-se um experimento, onde foram fornecidas rações com níveis de suplementação crescentes de óleo de linhaça (fonte de LNA). Neste experimento, também foi realizada uma avaliação sensorial, com o objetivo de verificar a possível influência do óleo de linhaça no sabor do tecido muscular destes peixes em relação a tilápias (*Oreochromis niloticus*) comerciais.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. SISTEMA DE CONFINAMENTO E PREPARO DAS AMOSTRAS

Na estação de Aquicultura do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá - PR, exemplares juvenis (aproximadamente 88g) de tilápia (*Oreochromis niloticus*) da variedade Tailandesa foram submetidos a um sistema de confinamento. Em 25 tanques de fibro-cimento (capacidade de 1000L/cada), com sistema de sifonagem e borbulhamento de ar atmosférico, foram colocados 5 exemplares/caixa e alimentados por 5 meses.

O experimento foi completamente aleatorizado com 4 tratamentos (diferentes níveis de óleo de linhaça) e 1 controle (à base de óleo de girassol), sendo que, tanto os tratamentos quanto o controle consistiram de 5 repetições. Antes de iniciar o experimento as tilápias foram submetidas à adaptação por um período de 15 dias, recebendo as rações dos referidos tratamentos. Após este

período, foi iniciado o experimento sem que houvesse a inclusão ou remoção de exemplares.

Após os 5 meses do experimento, no mês de maio de 2000, os filés (tecido muscular) dos exemplares de tilápias de cada repetição foram removidos e imediatamente acondicionados em embalagens de polietileno sob atmosfera de N₂ gasoso e congelados a -18°C até o início das análises. Após, estes foram descongelados à temperatura ambiente e, em seguida, triturados em processador de alimentos (FAET, Multipratic). A polpa do tecido muscular de cada repetição foi dividida em 3 porções para as análises de umidade e lipídios totais.

2.2. PREPARO E CONTROLE DAS RAÇÕES

Os ingredientes básicos utilizados no preparo das rações foram constituídos de matéria-prima de fácil aquisição e comumente utilizada nos processos de elaboração de rações convencionais. Os níveis suplementares do óleo de linhaça em massa, nas rações, foram crescentes recebendo os níveis percentuais de 0,00, 1,25, 2,50, 3,75 e 5,00% para os tratamentos A, B, C, D e E, respectivamente, enquanto que os níveis do óleo de girassol foram complementares para atingir o nível máximo de 5,00% de óleo adicionado.

O óleo de linhaça (fonte de LNA) utilizado no experimento foi fornecido pela empresa GIOVELLI & CIA. LTDA - instalada na cidade de Guarani das Missões - RS. O óleo na forma bruta foi extraído através de prensa mecânica (tipo *expeler*) e filtrado em filtro prensa com a utilização de pano de algodão. Não foi utilizado nenhum solvente no processo extrativo.

O óleo de girassol refinado da marca Vigor e pertencente ao mesmo lote foi obtido no comércio de Campinas - SP e utilizado no controle (tratamento A) e complementação dos níveis lipídicos do óleo de linhaça das rações dos tratamentos B, C, D e E. O óleo de girassol foi utilizado neste experimento por ser acessível e apresentar baixos teores do ácido LNA.

As rações foram preparadas a cada 60 dias por um período de 5 meses por biólogos e zootecnistas da Universidade Estadual de Maringá, especialistas em nutrição animal, e armazenadas em geladeira. A umidade, o teor de lipídios totais e a composição de ácidos graxos nos lipídios totais das rações foram monitorados

nas rações recém-preparadas e no término de cada 60 dias, sendo que, para o último mês de confinamento, a composição foi monitorada nas rações recém-preparadas e no término dos 30 dias.

O Quadro 1 mostra a composição percentual em massa das diferentes rações com os diferentes níveis de óleo de linhaça e girassol, que foram fornecidas para as tilápias, conforme patente requerida n. PI 0202892-1 (Unicamp - INPI, 2002).

Quadro 1. Composição percentual das rações dos diferentes tratamentos*

CONSTITUINTES	TRATAMENTOS				
	A	B	C	D	E
% Milho moído	16,93	16,93	16,93	16,93	16,93
% Farelo de Soja Desengordurado	51,62	51,62	51,62	51,62	51,62
% Farelo de Trigo Comercial	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
% Bagaço de Cana	1,28	1,28	1,28	1,28	1,28
% Calcário	1,74	1,74	1,74	1,74	1,74
% Fosfato Bicálcico	2,41	2,41	2,41	2,41	2,41
% Óleo de Linhaça	0,00	1,25	2,50	3,75	5,00
% Óleo de Girassol	5,00	3,75	2,50	1,25	0,00
% BHT**	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
% NaCl	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
% Premix***	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50

*Dados fornecidos pelo Laboratório de Aquicultura - DBI - Universidade Estadual de Maringá.

**Butil-hidróxi-tolueno (antioxidante).

***Rivimix Roche. Composição: Vit. A (500.000UI); Vit. D₃ (200.000UI); Vit. E (5g); Vit. K₃ (1g); Vit. B₁ (1,5g); Vit. B₂ (1,5g); B₆ (1,5g); B₁₂ (4g); Vit. C (15g); Ac. Fólico (500mg); Ac. Pantotênico (4g); BHT (17,5g); Biotina (50mg); Colina (40mg); Cobre (500mg); Cobalto (10mg); Ferro (5g); Inositol (10g); Iodo (50mg);

Manganês (1,5g); Nicotinamida (7g); selênio (10mg); Zinco (5g) e veículo q.s.p.
1kg.

2.3. DETERMINAÇÃO DE UMIDADE E LIPÍDIOS TOTAIS

As análises de umidade foram realizadas em triplicata no tecido muscular, na repetição de cada tratamento (15 determinações/tratamento), conforme técnicas da AOAC (Cunniff, 1998).

As extrações de lipídios totais (LT) foram realizadas em triplicata no tecido muscular, na repetição de cada tratamento (15 extrações/tratamento), segundo o método de Bligh & Dyer (1959). O extrato (clorofórmio com lipídios) resultante de cada extração foi concentrado em evaporador rotativo, com banho de água à temperatura de 32-34°C, sob vácuo. Os LT foram colocados, separadamente, em frascos âmbar de 7mL de capacidade sob atmosfera de N₂ e congelados a -18°C, para o fracionamento dos lipídios em classes e análises de ácidos graxos.

As determinações quantitativas de LT foram realizadas em triplicata no tecido muscular, na repetição de cada tratamento (15 determinações/tratamento), segundo Maia (1992). Alíquotas de 3mL do extrato de clorofórmio (obtido de cada extração no método de Bligh & Dyer) foram evaporadas em estufa a 100°C, até peso constante. Após secagem e pesagem, os lipídios totais foram descartados.

Nas rações, a determinação de umidade, a determinação quantitativa e a extração dos LT foram realizadas durante o monitoramento em triplicata, utilizando os métodos descritos acima. No total, foram realizadas 18 determinações de umidade, de LT e extrações para cada ração (tratamento).

2.4. ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS

A transesterificação dos ácidos graxos dos lipídios totais foi realizada segundo os procedimentos de Joseph & Ackman (1992). Todas as etapas do processo foram realizadas sob atmosfera de N₂ gasoso.

A separação dos ésteres metílicos foi realizada em um cromatógrafo a gás Varian, mod. 3300, equipado com detector de ionização de chama, injetor *split/splitless* e coluna capilar de sílica fundida DB-WAX 20M (30m x 0,25mm x 0,25µm) (J&W Scientific, USA). Os parâmetros de análises foram os seguintes:

temperatura do injetor 250°C; temperatura do detector 280°C; temperatura da coluna 170°C; por 16 minutos e programada a 2°C por minuto até 210°C, permanecendo nesta temperatura por 30 minutos. Hidrogênio foi utilizado como gás de arraste a 1mL/min., velocidade linear de 38cm/s com filtro de oxigênio acoplado à linha do gás; nitrogênio foi utilizado como gás *make up* a 30mL/min., fluxo do gás hidrogênio 30mL/min., ar sintético de 300mL/min. e o volume de injeção foi de 1µL e *split* na razão 1:50. O tempo de retenção, área dos picos e valores de percentagem relativa de área (método da normalização) foram obtidos com o uso de um integrador Varian mod. 4290.

A composição média dos ácidos graxos foi obtida a partir de uma metilação para cada extração, sendo as injeções realizadas em duplicata. No total, foram realizadas 36 análises de ácidos graxos para cada ração (tratamento) e 30 análises/tratamento (tecido muscular).

2.5. IDENTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS

A identificação dos ácidos graxos foi realizada de acordo com os seguintes procedimentos: determinação dos tempos de retenção (tr) de ésteres metílicos de ácidos graxos da Sigma (EUA) e comparação com os tr dos ésteres metílicos de ácidos graxos das amostras; valores de comprimento equivalente de cadeia (ECL) calculados a partir dos tempos de retenção corrigidos (tr') de padrões de ésteres metílicos da Sigma (EUA) e das amostras, os quais foram comparados com os valores das literaturas (Silva, 2000; Maia, 1992; Strànsky *et al.*, 1997; Thompson, 1996). Como parâmetro decisivo à identificação, os ácidos graxos foram ainda identificados por um espectrômetro de massa Shimadzu QP 5000 acoplado a um cromatógrafo gasoso. Os ésteres metílicos de padrões e amostras foram fragmentados por impacto de elétrons a 70eV e seus espectros de massas comparados e analisados.

2.6. ANÁLISE SENSORIAL

Na análise sensorial, foi empregado o método da diferença simples-triangular, segundo Chaves (1980). A avaliação foi realizada entre filés do

tratamento E (maior nível de óleo de linhaça) contra filés de tilápias (*Oreochromis niloticus*) comerciais.

As tilápias comerciais foram obtidas de piscicultores da região de Maringá-Pr. No dia do abate das tilápias do experimento com óleo de linhaça, as tilápias obtidas no comércio foram também abatidas e o tecido muscular acondicionado e armazenado nas mesmas condições daquelas do experimento com óleo de linhaça.

No dia da análise sensorial, uma amostra representativa do filé (tecido muscular) das diversas repetições do tratamento E e uma amostra do filé das tilápias comerciais, ambas com a mesma massa, foram descongeladas e temperadas com a mesma quantidade de sal de cozinha e foram submetidas ao cozimento pelo vapor d'água por aproximadamente 15 minutos.

Na análise sensorial, cada provador recebeu uma bandeja com três amostras codificadas e foi informado que duas amostras eram iguais e uma diferente. Em seguida, o provador foi solicitado a provar as amostras da esquerda para a direita e identificar a amostra diferente, conforme modelo da ficha de aplicação abaixo (Quadro 2).

FICHA DE APLICAÇÃO	
NOME: -----DATA: ----- -----	
Por favor, prove as amostras codificadas de peixe cozido da esquerda para a direita para sabor.	
Duas amostras são iguais e uma é diferente. Identifique com um círculo a amostra diferente.	
_____	_____
_____	_____

2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A interpretação dos resultados foi obtida pela aplicação de ANOVA e pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, usando o pacote estatístico SAS (1996).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. TEOR DE LIPÍDIOS TOTAIS, UMIDADE E COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DAS RAÇÕES

A Tabela 1 mostra a composição de lipídios totais, umidade e a composição percentual relativa de ácidos graxos nos lipídios totais das rações. Os resultados são médias finais dos diferentes tratamentos, onde cada média de um referido tratamento foi obtida das análises realizadas durante o monitoramento.

Tabela 1. Teores médios de lipídios totais (%), umidade (%) e composição de ácidos graxos (percentagem de área relativa) das rações dos tratamentos.

CONSTITUINTES	¹ TRATAMENTOS				
	A	B	C	D	E
² Lipídios totais	7,6±0,3a	7,7±0,4a	8,0±0,6a	8,0±0,7a	7,8±0,3a
² Umidade	9,7±1,4a	9,6±1,4a	9,6±1,6a	9,4±1,7a	9,9±2,0a
³ AC. GRAXOS					
16:0	9,72±0,11a	9,58±0,11b	9,62±0,22ab	9,47±0,13c	9,63±0,16a b
16:1n7	0,13±0,02a	0,12±0,01b	0,12±0,01ab	0,12±0,01ab	0,13±0,01a
18:0	3,67±0,07a	3,72±0,08b	3,85±0,09c	4,06±0,10d	4,06±0,12d
18:1n9	26,56±0,32 a	25,86±0,26b	25,08±0,35c	24,40±0,31d	23,59±0,26 e
18:1n7	0,82±0,04a	0,87±0,02b	0,99±0,03c	1,06±0,02d	1,11±0,03e
18:2n6	54,34±1,02 a	48,04±1,07b	40,36±1,45c	33,75±1,08d	27,35±1,11 e
t,t-18:2n6	0,24±0,02a	0,20±0,02b	0,17±0,02c	0,13±0,03d	0,06±0,02e
18:2n4	0,19±0,02a	0,16±0,01b	0,13±0,01c	0,10±0,03d	0,07±0,02e
18:3n3	1,83±0,84a	9,14±0,90b	17,46±1,57c	24,76±1,01d	31,94±1,07 e
20:0	0,32±0,03a	0,31±0,02ab	0,30±0,02b	0,30±0,02b	0,30±0,02b
20:1n9	0,25±0,03a	0,28±0,01b	0,36±0,04c	0,40±0,04d	0,41±0,02d
22:0	0,67±0,06a	0,57±0,04b	0,43±0,06c	0,35±0,05d	0,26±0,05e
22:1n11	0,15±0,02a	0,12±0,01b	0,10±0,04c	0,08±0,03d	0,06±0,02e
22:1n9	0,19±0,02a	0,21±0,02b	0,28±0,05c	0,34±0,04d	0,39±0,05e
24:0	0,30±0,04a	0,26±0,02b	0,23±0,06b	0,20±0,02c	0,19±0,02c

¹Tratamentos: A (0,00%); B (1,25%); C (2,50%); D (3,75%) e E (5,00%) de óleo de linhaça completados até 5,00% com óleo de girassol. ²Cada valor é a média de 18 análises.

³Cada valor é a média de 36 análises expressa em percentagem de área relativa.

Médias (com as respectivas estimativas dos desvios padrões) na mesma linha seguidas por nenhuma letra em comum são significativamente diferentes ao nível de 5%.

Foram também detectados ácidos com área < 0,1%: 8:0; 13:0; 14:0; 17:0; 16:1n-9; 17:1n-9; 20:1n-11; 20:2n-9 e 20:3n-9.

Segundo Martino & Takahashi (2001), valores de 10 a 20% de teores de lipídios totais nas rações de diversas espécies de peixes foram considerados ideais para o desenvolvimento. Em tilápias (*Oreochromis niloticus*), foram observadas melhores taxas de crescimento com suplementação de 5% de óleos vegetais.

Neste experimento, as rações foram suplementadas com 5% de lipídios (óleo de girassol e/ou linhaça), conforme Quadro 1, porém as médias finais de lipídios totais após as rações preparadas foram sempre superiores a 5%, devido aos lipídios provenientes dos demais constituintes das rações e não houve diferença significativa entre as médias dos diferentes tratamentos, conforme Tabela 1. Também não houve diferença significativa entre as médias de umidade nas diferentes rações e os valores estão abaixo daqueles comumente encontrados nas rações comerciais, que são de aproximadamente 13% (Nutron Alimentos, 1998).

Nas rações dos diferentes tratamentos, foram encontrados de 24 ácidos graxos, todos pertencentes à configuração cis, exceto o ácido linolelaídico, que é o ácido trans-9, trans-12-octadecadienóico (t,t-18:2n-6), encontrado em níveis decrescentes no sentido do tratamento A para E (Tabela 1).

Os ácidos graxos de maior interesse nesta pesquisa são os ácidos graxos pertencentes à configuração cis das famílias n-3 e n-6 e, os únicos ácidos destas famílias encontrados nas rações foram os ácidos alfa-linolênico (18:3n-3) e linoléico (18:2n-6).

O óleo de linhaça (fonte de ácido alfa-linolênico) e o óleo de girassol (fonte de ácido linoléico) utilizados neste experimento foram analisados separadamente e apresentaram os valores de 45,7% para o ácido alfa-linolênico e de 15,0% para o ácido linoléico no óleo de linhaça, enquanto o óleo de girassol apresentou 0,4% e 56,0% para os ácidos alfa-linolênico e linoléico, respectivamente. Desta forma, nas rações, os níveis do ácido alfa-linolênico foram crescentes do tratamento A (1,83%) para E (31,94%), devido ao crescente aumento de óleo de linhaça adicionado, enquanto que os níveis do ácido linoléico foram decrescentes do tratamento A (54,34%) para E (27,35%), devido à diminuição dos níveis de óleo

de girassol. As diferenças foram significativas para ambos os ácidos em todos os tratamentos (Tabela 1).

3.2. LIPÍDIOS TOTAIS, UMIDADE DO TECIDO MUSCULAR E PESO DAS TILÁPIAS

Os pesos médios encontrados nos exemplares inteiros de tilápia ao final do experimento (após o abate), os teores de lipídios totais (%) e a umidade (%) do tecido muscular dos diferentes tratamentos são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Teores médios de lipídios totais (%), umidade (%) e peso das tilápias dos diferentes tratamentos.

¹ TRATAMENTOS	² LIPÍDIOS TOTAIS	² UMIDADE	³ PESO (g)
A	1,1±0,2a	77,4±0,7a	295,3±83,7a
B	1,0±0,2a	76,8±0,4a	324,7±84,5a
C	1,2±0,3a	77,2±0,7a	284,4±72,7a
D	1,2±0,3a	77,3±1,2a	314,8±66,1a
E	1,1±0,2a	76,9±0,4a	292,2±81,8a

¹Tratamentos: A (0,00%); B (1,25%); C (2,50%); D (3,75%) e E (5,00%) de óleo de linhaça completados até 5,00% com óleo de girassol.

²Cada valor é a média de 15 análises com a respectiva estimativa do desvio padrão.

³Cada peso é a média com a respectiva estimativa dos desvio padrão do total de exemplares do respectivo tratamento (número de exemplares por tratamento, A=21; B= 22; C= 19; D= 21; E= 22).

Médias na mesma coluna seguidas por letras comuns não são significativamente diferentes ao nível de 5% de probabilidade.

Os peixes podem ser classificados quanto ao teor de gordura em: magros (menos de 2% de gordura); de baixo teor (2-4% de gordura); medianamente gordos (4-8% de gordura) e altamente gordos (mais de 8% de gordura) (Ackman, 1989). No presente experimento, as tilápias de todos os tratamentos foram

classificadas como peixes magros, classificação semelhante foi encontrada por Maia (1992) que analisou o conteúdo lipídico de tilápias da mesma espécie, criadas em cativeiro.

Os valores médios de umidade variaram de 76,8 a 77,4%, sem diferença significativa entre os diferentes tratamentos com óleo de linhaça (Tabela 2). Estes valores são próximos aos encontrados no tecido muscular de tilápias (78,1%) por Puwastien *et al.* (1999). Em geral os peixes apresentam de 70 a 85% de umidade (Ogawa & Koike, 1987).

No Brasil, as tilápias para fins comerciais variam de 0,3 a 0,5kg (Ribeiro *et al.*, 1995). Desta forma, as tilápias produzidas neste experimento estão, em média, dentro dos padrões comerciais existentes no Brasil, e os pesos, entre os exemplares dos diferentes tratamentos, não apresentaram diferença significativa, conforme Tabela 2.

3.3. COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DOS LIPÍDIOS TOTAIS DOS DIFERENTES TRATAMENTOS

A Tabela 3 mostra a composição percentual de ácidos graxos nos lipídios totais do tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) do grupo controle (tratamento A) e dos diferentes tratamentos com óleo de linhaça (tratamentos B, C, D e E).

No presente trabalho, foram incluídos os resultados de pesquisas realizadas com espécies de peixes produzidos no Brasil. Ressalta-se que, nestas pesquisas, os autores utilizaram a cromatografia gasosa com detector de ionização de chama, colunas capilares e os ácidos graxos foram quantificados pelo método da normalização simples, o que permitiu a realização de análises comparativas com os resultados do presente trabalho.

Em todos os tratamentos foi encontrado um total de 50 componentes comuns (Tabela 3). Em cada tratamento, os ácidos graxos majoritários foram os ácidos linoléico (18:2n-6), seguido do oléico (18:1n-9) e palmítico (16:0). Um valor semelhante no total de componentes foi encontrado por Maia (1992) em tilápias nilóticas cultivadas. Porém, houve uma inversão na seqüência dos ácidos graxos

majoritários com valores médios para os ácidos: palmítico (28,9%), oléico (19,8%) e linoléico (13,4%).

De um total de 24 ácidos graxos encontrados nas diferentes rações, 19 foram detectados nos lipídios totais do tecido muscular das tilápias, sendo que, não foram encontrados os ácidos 8:0; 13:0; 20:2n-9, 20:3n-9 e 22:1n-11.

Todos os ácidos graxos pertencentes às famílias n-3 e n-6, encontrados no tecido muscular das tilápias (Tabela 3), tiveram suas origens nos ácidos alfa-linolênico (família n-3) e linoléico (família n-6), uma vez que estes ácidos são os precursores dos demais ácidos das famílias e foram os únicos encontrados nas rações ou tiveram sua origem na composição dos ácidos graxos existentes nas tilápias juvenis que iniciaram o experimento.

Tabela 3. Composição de ácidos graxos nos lipídios totais (percentagem de área relativa) do tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos tratamentos A, B, C, D e E.

Pico n ^o	ÁCIDO GRAXO	TRATAMENTOS				
		A	B	C	D	E
2	14:0	0,93±0,27ac	1,89±0,18bc	1,07±0,14a	1,88±0,20bc	0,77±0,06b
5	i15:0	0,16±0,04a	0,17±0,02a	0,15±0,02a	0,14±0,04a	0,16±0,04a
7	15:0	0,22±0,02a	0,21±0,02a	0,22±0,02a	0,21±0,02a	0,22±0,02a
9	i16:0	0,04±0,02a	tr	tr	tr	0,04±0,01a
10	16:0DM	0,51±0,13a	0,49±0,07a	0,54±0,15a	0,55±0,19a	0,58±0,14a
12	16:0	4,80±0,76ab	1,47±0,61bc	14,98±0,51a	14,35±0,61c	14,29±0,34c
14	16:1n9	0,48±0,05a	1,45±0,02bd	0,47±0,03ab	1,46±0,02ab	1,42±0,03cd
15	16:1n7	1,63±0,37a	1,58±0,20a	1,66±0,22a	1,61±0,35a	1,52±0,14a
16	16:1n5	0,11±0,03a	1,10±0,03ab	0,08±0,03b	1,10±0,03ab	0,11±0,03a
17	i17:0	0,29±0,06a	0,29±0,06a	0,26±0,04ab	0,24±0,06b	1,27±0,04ab
20	ai17:0	0,27±0,02a	1,25±0,02ad	0,23±0,02bd	0,21±0,05c	1,21±0,03bc
21	17:0	0,29±0,02a	1,28±0,03ab	0,27±0,05ab	0,26±0,03b	1,28±0,02ab
22	17:1n9	0,09±0,05a	1,09±0,03ab	0,12±0,03ab	0,12±0,03b	1,10±0,04ab
24	18:0DM	0,33±0,09a	0,30±0,04a	0,31±0,07a	0,34±0,11a	0,36±0,08a
25	18:1DM	0,72±0,17a	0,69±0,16a	0,69±0,12a	1,81±0,23ab	0,88±0,22b
27	18:0	5,93±0,53a	5,81±0,47a	5,85±0,49a	5,85±0,72a	6,08±0,69a
28	18:1n11	0,07±0,04a	0,04±0,02b	0,05±0,03ab	1,06±0,02ab	1,05±0,02ab
29	18:1n9	21,09±1,60a	1,82±1,07ab	0,72±1,14ab	1,90±1,85ab	19,95±1,08b
30	18:1n7	2,37±0,18ab	2,35±0,18ab	2,32±0,08b	2,36±0,25ab	2,46±0,12a
32	18:1n4	0,13±0,03a	0,11±0,03b	0,09±0,04b	0,11±0,03b	0,09±0,04b
34	18:2n6	29,16±1,60a	27,92±1,00b	25,21±0,97c	22,86±0,96d	20,72±1,42e
35	t,t-	0,11±0,04a	1,09±0,04ab	0,06±0,03bc	0,05±0,02c	tr

Tabela 3. Composição de ácidos graxos nos lipídios totais (percentagem de área relativa) do tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos tratamentos A, B, C, D e E.

(continuação)

Pico n ^o	ÁCIDO GRAVO	TRATAMENTOS				
		A	B	C	D	E
36	18:2n4	0,11±0,02a	0,11±0,03a	0,14±0,02b	0,12±0,04ab	0,17±0,03c
37	X4	tr	tr	0,12±0,05a	0,14±0,07a	0,22±0,11b
38	18:3n6	1,30±0,12a	1,08±0,09b	0,94±0,07c	0,79±0,08d	0,76±0,09d
39	19:0	0,10±0,04a	0,11±0,03a	0,10±0,04a	0,11±0,02a	0,12±0,02a
41	18:3n3	1,16±0,19a	3,25±0,23b	5,46±0,71c	8,50±1,36d	10,64±1,40e
42	19:2n7	0,22±0,11a	0,17±0,06ab	0,15±0,04bc	0,11±0,03c	0,11±0,06c
43	18:4n3	tr	0,06±0,03a	0,14±0,02b	0,22±0,04c	0,30±0,03d
44	20:0	0,24±0,01a	0,23±0,01a	0,24±0,02a	0,24±0,02a	0,23±0,01a
45	20:1n11	0,09±0,06a	0,10±0,04a	0,09±0,04a	0,10±0,04a	0,16±0,05b
46	20:1n9	0,92±0,11a	0,85±0,16ac	0,87±0,05ac	0,83±0,05bc	0,76±0,04b
	X5	0,06±0,05a	0,05±0,02a	0,04±0,02a	0,06±0,03a	tr
49	20:2n6	2,09±0,27a	1,86±0,16b	1,64±0,14c	1,32±0,14d	1,15±0,12e
51	X6	0,16±0,01a	0,13±0,02b	0,12±0,02b	0,09±0,01c	0,07±0,02d
52	20:3n6	1,29±0,10a	1,26±0,11a	1,08±0,07b	0,94±0,07c	0,83±0,04d
53	20:4n6	3,96±0,71a	3,62±0,42a	3,14±0,54b	2,76±0,76bc	2,62±0,32c
54	20:3n3	0,21±0,03a	0,70±0,06b	1,12±0,14c	1,56±0,12d	1,81±0,18e
55	X7	tr	0,12±0,01a	0,21±0,03b	0,27±0,02c	0,34±0,02d
56	20:4n3	tr	0,07±0,04a	0,14±0,02b	0,21±0,03c	0,25±0,02d
57	20:5n3	0,04±0,02a	0,14±0,02b	0,23±0,02c	0,34±0,08d	0,45±0,06e
58	22:0	0,17±0,01a	0,15±0,01b	0,14±0,01bc	0,12±0,01c	0,10±0,03d
59	22:1n9	0,05±0,03a	0,08±0,04b	0,11±0,02c	0,14±0,02d	0,15±0,03d
60	22:2n6	0,05±0,03a	0,04±0,03a	0,04±0,02a	0,04±0,02a	tr

Tabela 3. Composição de ácidos graxos nos lipídios totais (percentagem de área relativa) do tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos tratamentos A, B, C, D e E.

(conclusão)

Pico n ^o	2 ^o ÁCIDO GRAXO	1 ^o TRATAMENTOS				
		A	B	C	D	E
63	22:4n6	1,28±0,18a	1,13±0,09b	0,93±0,13c	0,68±0,07d	0,62±0,06d
64	22:5n6	3,80±0,75a	3,03±0,31b	2,08±0,33c	1,66±0,47d	1,47±0,19d
65	22:4n3	tr	0,12±0,02a	0,18±0,03b	0,23±0,05c	0,25±0,02d
66	22:5n3	0,46±0,08a	0,75±0,13b	1,02±0,11c	1,13±0,16c	1,36±0,30d
67	24:0	0,06±0,03a	tr	0,06±0,03a	0,09±0,03a	0,07±0,10a
68	22:6n3	2,00±0,53a	3,04±0,56b	3,81±0,57c	4,39±0,83d	5,05±0,89e

¹Tratamentos: A (0,00%); B (1,25%); C (2,50%); D (3,75%) e E (5,00%) de óleo de linhaça completados até 5,00% com óleo de girassol.

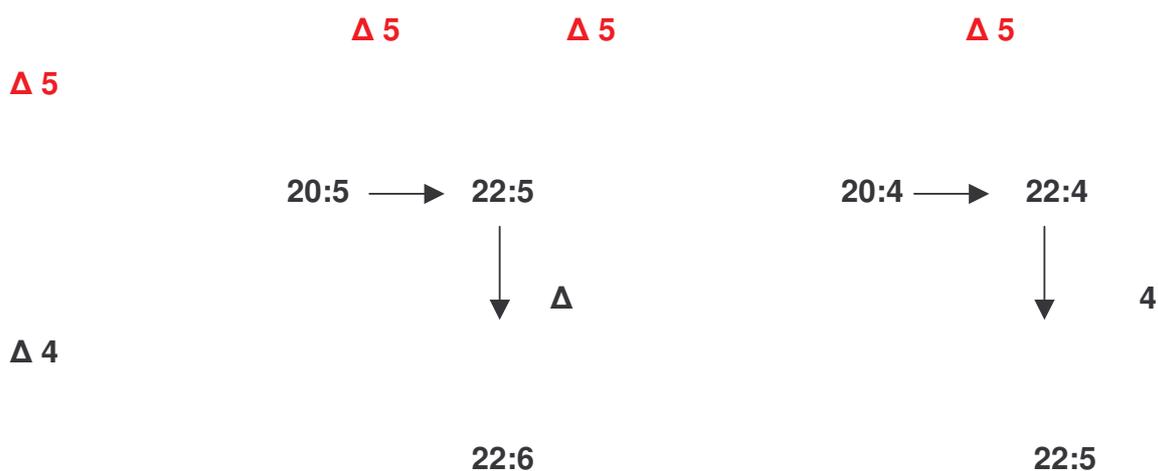
²Cada valor é a média de 30 análises de ácidos graxos expressa em percentagem de área relativa.

Médias (com as respectivas estimativas dos desvios padrões) na mesma linha seguidas por nenhuma letra em comum são significativamente diferentes ao nível de 5%.

Abreviaturas: i - iso; ai - anteiso; Xn - não identificado; DMA - dimetilacetal e tr - traço (área < 0,04%).

Apesar de não existir diferença entre os tratamentos ao nível de 5% para todos os ácidos graxos da família n-6, de maneira geral, os níveis dos ácidos graxos desta família decresceram entre os tratamentos, com a diminuição dos níveis de óleo de girassol adicionados às rações, isto ocorreu devido à redução dos níveis do precursor (ácido linoléico) fornecido pelas rações.

O Esquema 1 mostra possíveis vias de dessaturação e alongação de ácidos graxos de peixes de água doce pertencentes às família n-3 ou do



As setas na vertical e horizontal representam a dessaturação (enzimas dessaturases) e alongação (enzimas elongases), respectivamente.

Fonte: Henderson & Tocher (1987)

Os ácidos graxos de grande importância fisiológica e nutricional LNA, EPA e DHA tiveram os seus teores aumentados e com diferença significativa entre todos os tratamentos, à medida que aumentaram os níveis de suplementação do óleo de linhaça nas rações, passando respectivamente dos valores iniciais de 1,16%, 0,04 e 2,00% (tratamento A) e atingindo os valores de 10,64%, 0,45% e 5,05% no tratamento E (Tabela 3).

A composição do tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*), cultivadas e alimentadas com rações formuladas com ingredientes vegetais, foram analisadas no Brasil por Maia (1992), estas tilápias foram coletadas no mês de maio (ano não descrito), mesmo mês do abate das tilápias deste experimento e foram encontrados teores de 0,4% para LNA, 1,1% para o DHA e o ácido EPA foi encontrado em nível de traço. Os resultados do experimento de Maia (1992) indicam que a ração fornecida para as tilápias apresentava baixos níveis do precursor alfa-linolênico ou de ácidos graxos da família n-3.

Os teores do ácido linolelaídico (t,t-18:2n-6), nos óleos de girassol e linhaça analisados isoladamente, foram de 0,30 e 0,07%, respectivamente. Desta forma, as rações apresentaram valores decrescentes nos teores deste

ácido à medida que foram decrescendo os níveis de óleo de girassol e aumentando os níveis de óleo de linhaça (Tabela 1). O ácido linolelaídico (minoritário) foi armazenado no tecido muscular das tilápias deste experimento, mantendo a mesma tendência da composição das rações, ou seja, os teores diminuíram à medida que decresceu o nível de óleo de girassol nas rações, estes teores no tecido muscular apresentaram diferenças significativas entre alguns tratamentos (Tabela 3).

Nos lipídios totais do tecido muscular das tilápias, não houve diferença significativa ao nível de 5%, para os componentes 15:0; 15:0; 16:0DMA; 16:1n-7; 18:0DMA; 18:0; 19:0 e 20:0, entre todos os tratamentos, conforme Tabela 3.

3.4. AVALIAÇÃO DE ALGUNS ÍNDICES DE QUALIDADE NUTRICIONAL

3.4.1. SOMATÓRIAS DE ÁCIDOS SATURADOS, MONOINSATURADOS E DIINSATURADOS

A Tabela 4 mostra os resultados das somatórias da percentagem relativa dos ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), diinsaturados (AGDI), altamente insaturados (AGAI), poliinsaturados (AGPI) e das famílias n-3 e n-6 nos lipídios totais.

Neste trabalho, foram considerados como ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) os ácidos com duas ou mais duplas ligações, conforme o dicionário *The American Heritage* (2000) e, como ácidos graxos altamente insaturados (AGAI), os ácidos com 3 ou mais duplas ligações.

Do ponto de vista nutricional, a ingestão de ácidos graxos saturados aumenta os níveis de colesterol sérico em humanos (Ewin, 1997; Khosla & Sundram, 1996), enquanto os níveis de colesterol total no plasma sanguíneo diminuem, quando a ingestão de ácidos graxos saturados é substituída por monoinsaturados (*Department of Health*, 1994).

Neste estudo, somatórias dos ácidos graxos saturados (AGS) variaram entre 22,70 e 23,57% e as dos monoinsaturados (AGMI) variaram de

25,77 a 27,03%. Não foram encontradas correlações bem estabelecidas com os níveis de óleo de linhaça recebidos nos tratamentos, apesar de existirem diferenças significativas para ambos os grupos, com valores decrescentes entre o tratamento A (controle) e o tratamento E (maior nível de óleo de linhaça), conforme Tabela 4.

TABELA 4. Somatórias de grupos de ácidos graxos dos lipídios totais (LT) de tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos tratamentos A, B, C, D e E.

GRUPOS	TRATAMENTOS				
Somatórias	A	B	C	D	E
AGS	23,50±0,85 a	22,86±0,64 b	23,57±0,69 a	22,70±1,08 b	22,84±0,78 b
AGMI	27,03±2,04 a	26,57±1,16 ab	26,58±1,34 ab	26,79±2,18 ab	25,77±1,18 b
AGDI	31,63±1,73 a	30,10±1,11 b	27,18±0,98 c	24,45±0,91 d	22,15±1,51 e
AGAI (duplas ≥ 3)	15,50±1,99 a	18,25±1,32 b	20,27±1,33 c	23,41±1,21 d	26,41±1,84 e
AGPI (duplas ≥ 2)	47,13±2,17 a	48,35±1,01 ab	47,45±1,06 ab	47,86±1,77 ab	48,56±0,84 b
n-3	3,87±0,59a	8,13±0,53b	12,10±0,93 c	16,58±0,85 d	20,11±1,85 e
n-6	42,93±2,12 a	39,94±0,75 b	35,06±1,22 c	31,05±1,28 d	28,17±1,48 e

Os valores apresentados são de somatórias com as respectivas estimativas dos desvios padrões.

Médias na mesma linha seguidas por nenhuma letra em comum são significativamente diferentes ao nível de 5%.

No entanto, os valores encontrados para os AGS em todos os tratamentos com óleo de linhaça deste experimento (Tabela 4) foram comparativamente sempre inferiores a outras espécies de peixes cultivados: espécies de *Brycon* (33,63 a 38,83%) analisadas por Moreira *et al.* (2001); pacu (36,8%) por Maia *et al.* (1995) e tilápias (41,0%) por Maia (1992). Além disso, os AGS do presente experimento foram inferiores para peixes de rios: mapará (50,4%) analisados por Inhamus & Franco (2001); tucunaré (38,83%) e curimatã (44,38%) por Silva (2000); curimatã (45,5%) por Maia *et al.* (1994) e ainda para peixes de reservatório: mapará (38,36%), corvina (33,95%) e botoado (38,36%) analisados por Oliveira (2000).

Os teores das somatórias de AGS ou AGMI podem ter suas origens em função da dieta lipídica. Além da dieta, os ácidos graxos saturados podem ser gerados pela síntese *de novo* (fontes de carbono não lipídicas) e transformados em ácidos graxos monoinsaturados. E ainda, a síntese *de novo* é inversamente proporcional aos níveis de ácidos graxos saturados recebidos da dieta (Henderson, 1996). Os níveis destes ácidos nas diferentes espécies são regidos por variáveis, como o tipo de alimentação, influência do meio onde sobrevivem, características individuais das espécies, dentre outras.

O ácido linoléico (LA, 18:2n-6), um dos componentes majoritários nas rações (Tabela 1), foi transferido para os tecidos musculares, onde também foi encontrado como um dos majoritários (Tabela 3). Portanto, o LA foi quem mais contribuiu no aumento das somatórias dos AGDI, dos AGPI e de ácidos da família n-6.

Os valores decrescentes de AGDI do tratamento A (31,63%) para E (22,15%), com diferenças significativas entre todos os tratamentos (Tabela 4), evidenciaram que outros óleos vegetais, como os de soja, algodão, milho, dentre outros, os quais apresentam elevados teores de LA, podem influenciar nas somatórias que envolvem este ácido. Estes óleos são

comumente utilizados no preparo de rações no Brasil e, desta forma, podem influenciar no valor nutricional do tecido muscular de peixes de água doce criados em sistemas de cativeiro.

Os teores das somatórias de AGDI encontrados no tecido muscular, em todos os tratamentos com óleo de linhaça, variaram de 31,63% (tratamento A) a 22,15% (tratamento E) e foram sempre superiores aos teores dos peixes de rios, como a piraputanga 5,23% e piracanjuba 2,51% (Moreira *et al.*, 2001); mapará 3,0% (Inhamus & Franco, 2001); tucunaré 4,80% e curimatã 5,57% (Silva, 2000); curimatã 3,5% (Maia *et al.*, 1994) e aos peixes de reservatório: mapará 2,66%, corvina 6,28% e botoado 3,66% (Oliveira, 2000). Além disso, as somatórias de AGDI nos tratamentos com óleo de linhaça foram superiores para espécies cultivadas em tanques, como matrinxã 11,33%, piraputanga 11,22% e piracanjuba 13,93% (Moreira *et al.*, 2001); pacu 9,8% (Maia *et al.*, 1995) e tambaqui 9,7% (Maia & Rodriguez-Amaya, 1992).

A somatória de AGDI em tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas e coletadas no mês de maio (não foi citado o ano de coleta) por Maia (1992) foi de 15,0%. Este valor foi superior a todos os peixes de rios, reservatório e cultivados descritos anteriormente, porém inferior aos valores de AGDI do presente experimento para todos os tratamentos com óleo de linhaça.

3.4.2. SOMATÓRIAS DOS ÁCIDOS GRAXOS ALTAMENTE INSATURADOS, POLIINSATURADOS E FAMÍLIAS n-6 E n-3

Nas análises dos resultados apresentados na Tabela 4, ficou evidente a necessidade de estabelecer as definições de AGPI e AGAI, pois os valores das somatórias de AGPI e AGAI são muito diferentes, o que altera os resultados onde são utilizados estes grupos de ácidos graxos.

Nas análises da somatória de AGAI, houve um aumento crescente com diferenças significativas entre todos os tratamentos à medida que aumentaram os níveis de óleo de linhaça. Nas análises do total de AGPI, que é a soma de AGAI com diinsaturados, as diferenças significativas foram observadas somente para alguns tratamentos, isto ocorreu devido ao

decréscimo de diinsaturados à medida que aumentaram os níveis de óleo de linhaça entre os tratamentos (Tabela 4).

A somatória de ácidos graxos da família n-3 e n-6 é mostrada na Tabela 4. Houve diferença significativa para ambas as famílias entre todos os tratamentos à medida que aumentaram os níveis de óleo de linhaça. A somatória de ácidos graxos n-6 foi superior em todos os tratamentos em relação à somatória de n-3. Porém, enquanto as somatórias de n-3 aumentaram entre os tratamentos à medida que aumentaram os níveis de óleo de linhaça, as somatórias de n-6 decresceram. Isto ocorreu devido ao aumento do ácido LNA e ao decréscimo do LA nas rações, à medida que os níveis de óleo de linhaça foram crescentes e de girassol decrescentes entre os tratamentos.

3.4.3. RAZÕES ENTRE AS SOMATÓRIAS DE ÁCIDOS GRAXOS (n-6/n-3, AGAI/AGS, AGPI/AGS E AGPI/AGDI)

Foi realizada uma análise comparativa das razões entre grupos de ácidos graxos: somatória da família n-6/somatória da família n-3 (n-6/n-3); somatória de altamente insaturados/somatória de saturados (AGAI/AGS), somatória de poliinsaturados/somatória de saturados (AGPI/AGS) e somatória de poliinsaturados/somatória de diinsaturados (AGPI/AGDI), entre tilápias (*Oreochromis niloticus*) submetidas aos tratamentos com óleo de linhaça e de alguns peixes de água doce, inclusive tilápia da mesma espécie (Tabela 5).

As razões apresentadas na Tabela 5, com relação aos tratamentos com óleo de linhaça, foram obtidas das somatórias apresentadas na Tabela 4, enquanto que as razões das diferentes espécies de peixes foram oriundas de pesquisas desenvolvidas no Brasil em peixes cultivados em tanques e alimentados com rações. Os valores das razões destas espécies foram compilações dos respectivos trabalhos ou calculados a partir da composição percentual dos ácidos graxos apresentada nos trabalhos.

As espécies de peixes comparadas com aquelas submetidas aos diferentes tratamentos com óleo de linhaça foram: tilápia (*Oreochromis*

niloticus); matrinxã (*Brycon cephalus*); pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*), conforme Tabela 5. As espécies de peixes pacu e tambaqui foram coletadas no mês de maio de 1990, a espécie matrinxã nos meses de setembro a dezembro de 1999 e a espécie tilápia no mês de maio, sem citação do ano de coleta.

TABELA 5. Razões de grupos de ácidos graxos dos lipídios totais de tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos tratamentos A, B, C, D, E e de espécies de peixes cultivados.

TRATAMENTO S	n-6/n-3	AGAI/AG S	AGPI/AG S	AGPI/AGDI	FONTE
Tratamento A	11,09±1,6 6a	0,66±0,09 a	2,01±0,15 a	1,49±0,11a	-
Tratamento B	4,91±0,31 b	0,80±0,05 b	2,12±0,09 b	1,61±0,08b	-
Tratamento C	2,90±0,28 c	0,86±0,05 c	2,01±0,08 a	1,75±0,07c	-
Tratamento D	1,87±0,09 d	1,03±0,07 d	2,11±0,15 b	1,96±0,12d	-
Tratamento E	1,40±0,22 e	1,16±0,07 e	2,13±0,09 b	2,19±0,09e	-
ESPÉCIES					
Matrinxã	8,79	0,07	0,37	1,25	Moreira <i>et al.</i> , 2001
Pacu	14,28	0,1	0,37	1,26	Maia <i>et al.</i> , 1991
Tambaqui	9,8	0,1	0,3	1,28	Maia & Rodriguez-Amaya, 1992
Tilápia	14,1	0,2	0,6	1,59	Maia, 1992

Os valores apresentados para os tratamentos A, B, C, D e E são razões com as respectivas estimativas dos desvios padrões e valores na mesma coluna

seguidos por nenhuma letra em comum são significativamente diferentes ao nível de 5%.

3.4.4. RAZÕES DE n-6/n-3

Quanto à questão nutricional, não há um consenso entre os pesquisadores nos valores ideais da razão n-6/n-3 indicados à dieta. O *Department of Health* (1994) da Inglaterra recomenda valor de no máximo 4, enquanto Simopoulos *et al.* (1991) recomenda um intervalo de 5 a 10. Alguns pesquisadores acreditam que a razão n-6/n-3 nas dietas ocidentais se deslocou de uma proporção 20:1 para 30:1, nos últimos anos, indicando uma razão extremamente alta, pois a ideal seria de 1 a 2:1, de acordo com Schmidt (2000) e Simopoulos *et al.* (1999).

Nos tratamentos com óleo de linhaça, os valores das razões n-6/n-3 decresceram significativamente com o aumento nos níveis do óleo de linhaça, entre todos os tratamentos, conforme Tabela 5. O tratamento A (controle) apresentou a maior razão n-6/n-3 (11,09), sendo o único tratamento que não se enquadra nas recomendações feitas anteriormente, enquanto que o tratamento E (maior nível de óleo de linhaça) apresentou uma razão n-6/n-3 de 1,41 próxima ao ideal descrita por Schmidt (2000) e Simopoulos *et al.* (1999).

Uma análise comparativa entre os tratamentos com óleo de linhaça e das espécies de peixes produzidas em cativeiro indicou elevados valores das razões n-6/n-3, para todos os peixes cultivados, principalmente das espécies tilápia (14,1) e pacu (14,28), valores estes muito superiores aos tratamentos (B, C, D e E) do presente trabalho, como mostra a Tabela 5.

Steffens (1997) descreve que os valores da razão n-6/n-3 em peixes de água doce não cultivados variam de 0,25 a 1, e que esta razão é menor em peixes marinhos. Estes valores estão de acordo com o trabalho realizado por Andrade (1994), que analisou um total de 10 espécies de peixes marinhos do sul do Brasil. Destas espécies, 9 apresentaram valores que variaram de 0,07 a 0,63. De todos os peixes cultivados e das tilápias submetidas a tratamento com óleo de linhaça (Tabela 5), os valores mais

próximos dos descritos por Andrade (1994) e Steffen (1997) foram os das tilápias dos tratamentos D (1,87) e E (1,40), as quais receberam elevados níveis de óleo de linhaça.

Estes resultados mostram que as tilápias podem ter o seu valor nutricional melhorado, com relação à razão n-6/n-3, pela inclusão de óleo de linhaça nas rações fornecidas para estas espécies.

3.4.5. RAZÕES DE AGAI/AGS, AGPI/AGS E AGPI/AGDI

Recentes revisões na comunidade científica têm estabelecido que, um aumento na ingestão de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, principalmente da família n-3, reduz fatores bioquímicos de risco associados a doenças cardiovasculares, artrite, psoríase e câncer (Hunter & Roberts, 2000; Simopoulos *et al.*, 1999; Simopoulos 1991; Siguel, 1996). Além disso, outras fontes têm mostrado que os ácidos graxos saturados oriundos da dieta aumentam o colesterol sanguíneo no homem (Ewin, 1997; Sanches-Muñiz & Cuesta, 1998).

Dietas que apresentam a razão de AGPI/AGS inferior a 0,45 são consideradas pouco saudáveis com relação às doenças cardíacas, conforme descrito pelo *Department of Health and Social Security* (1984), da Inglaterra. Desta forma, valores maiores na razão AGPI/AGS indicam um alimento com valor nutricional superior.

Nos tratamentos com óleo de linhaça, os valores das razões AGAI/AGS apresentaram diferença significativa entre todos os tratamentos e aumentaram com o aumento nos níveis do óleo de linhaça, os valores desta razão variaram de 0,66 (tratamento A) a 1,16 (tratamento E), conforme mostra a Tabela 5.

Não foram encontrados na literatura valores nutricionais recomendados para a razão AGAI/AGS. No entanto, partindo-se da premissa de que ácidos graxos altamente insaturados são benéficos para a saúde humana (Okuyama *et al.*, 1997) e de que a diminuição de ácidos graxos saturados pode reduzir os níveis de colesterol total no plasma sanguíneo (*Department of Health*, 1994), os valores crescentes desta razão de

AGAI/AGS nos tratamentos podem indicar que o valor nutricional do tecido muscular das tilápias melhorou, com o aumento dos níveis de óleo de linhaça entre os tratamentos.

A razão AGPI/AGS, apesar de apresentar diferenças significativas entre alguns tratamentos, não aumentou à medida que aumentaram os níveis de óleo de linhaça entre os tratamentos, porém houve diferença significativa entre os tratamentos A (2,01) e o tratamento E (2,13). No entanto, os valores de todos os tratamentos do presente experimento foram superiores ao valor recomendado pelo *Department of Health and Social Security* (1984), da Inglaterra.

Os valores da razão AGPI/AGS foram sempre superiores quando comparados com as razões AGAI/AGS, conforme Tabela 5. Isto mostra que, a inclusão de diinsaturados, além de aumentar o valor da razão AGPI/AGS, poderá alterar interpretações de resultados. Neste sentido, a relação AGPI/AGS na avaliação nutricional de alimentos, especialmente em peixes, deverá ser utilizada com cautela.

As razões AGPI/AGDI foram sempre crescentes e com diferenças significativas entre todos os tratamentos que receberam óleo de linhaça, com valores que variaram de 1,49 (tratamento A) a 2,19 (tratamento E), conforme Tabela 5. Estes valores mostram que todas as espécies de peixes cultivadas apresentaram menores razões de AGPI/AGDI em relação aos tratamentos B, C, D e E, porém o valor do controle (tratamento A, 1,49) foi inferior ao da espécie tilápia (1,59). Neste sentido, esta razão foi uma boa indicação para separar os peixes em dois blocos distintos, ou seja, os que receberam óleo de linhaça (tratamentos B, C, D e E) e aqueles que não receberam (tilápia, matrinxã, pacu, tambaqui e tilápia do tratamento A).

As razões AGAI/AGS e de AGPI/AGS dos tratamentos (B, C, D e E) com óleo de linhaça foram sempre superiores em relação a todas as demais espécies de peixes (Tabela 5). Estes resultados podem indicar os baixos teores de precursores e/ou de ácidos graxos poliinsaturados nas rações destes peixes.

A adição de óleo de linhaça em rações para as tilápias contribuiu para melhorar o valor nutricional do conteúdo lipídico da carne (tecido muscular) deste peixe, em vários aspectos: fornecendo teores sempre superiores dos ácidos graxos LNA, EPA e DHA, aumentando a somatória de ácidos graxos da família n-3, reduzindo o valor das razões n-6/n-3 e ainda elevando os valores das razões de AGAI/AGS e AGPI/AGS. Além disso, a suplementação de rações com óleo de linhaça para melhorar o valor nutricional de outros peixes de cativeiro poderá ser avaliada em futuras pesquisas.

3.5. ANÁLISE SENSORIAL

De um total de 48 provadores, houveram 14 identificações corretas e 34 incorretas, ou seja, 14 provadores identificaram as amostras do tecido muscular (filés) de tilápias corretamente e 34 provadores erraram na identificação. Desta forma, conforme dados tabelados por Chaves (1980), não existiu diferença ao nível de 1% de significância entre tecidos musculares de tilápias comerciais e aqueles submetidos ao tratamento com óleo de linhaça (tratamento E).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKMAN, R. G.** Nutritional composition of fats in seafoods. *Prog. Food Nutr. Sci.*, v.13, p. 161-241, 1989.
- ANDRADE, A. D.** Ácidos graxos ômega-3 em peixes, óleos de peixes e óleos vegetais comestíveis. Maringá, 1994. (Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Maringá).
- BELDA, M. C. R.; CAMPOS, M. A. P.** Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.11, p. 5-33, 1991.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J.** A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem.*, v. 37, p. 911-17, 1959.
- CARTER, J. F.** Potential of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. *Cereal Food World*, v. 38, p. 753-59, 1993.
- CEOTTO, B.** O que é que a linhaça tem. Dentro das sementes da planta que dá origem ao linho há componentes que equilibram os hormônios femininos e reforçam as defesas do corpo. *Rev. Saúde*, p. 37-40, 2000.
- CHAVES, J. B. P** Avaliação sensorial de alimentos - Métodos de análises. Viçosa. Editora da Universidade Federal de Viçosa. 1980. 69p.
- CONQUER, J. A.; MARTIN, J. B.; TUMMON, I.; WATSON, L.; TEKPETEY, F.** Effect of DHA supplementation on DHA status and sperm motility in asthenozoospermic males. *Lipids*, v. 35, p. 149-54, 2000.
- CUNNIFF, P. A.** Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists. 2v. 1998.
- DEPARTMENT OF HEALTH.** Report on Health and Social Subjects nº 46. Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease. HMSO, London, 1994, 178p.
- DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY.** Report on Health and Social Subjects nº 28. Diet and Cardiovascular Disease. HMSO, London, 1984. *Apud: Meat Sci.*, v. 42, p. 443-56, 1996.
- DYERBERG, J.; BANG, H. O.** Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. *Lancet*, v.2, p. 433-35, 1979.

- DYERBERG, J.; BANG, H. O.; HJORNE, N. Fatty acids composition of the plasma lipids in Geenland Eskimos. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 2, p. 958-66, 1975.
- DYERBERG, J.; BANG, H. O.; STOFFERSEN, E.; MONCADA, S.; VANE, J. R. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and arteriosclerosis. *Lancet*, v. 2, p. 117-19, 1978.
- ERITSLAND, J.; ARNESEN, H.; GRONSETH, K.; FJELD, N. B.; ABDELNOOR, M. Effect of dietary supplementation with n-3 fatty acids on coronary artery bypass graft patency. *Am. J. Cardiol.*, v. 77, p. 31-6, 1996.
- EWIN, J. O Lado Sadio das Gorduras. Trad. de Ana Beatriz Rodrigues. Editora Campus Ltda, Rio de Janeiro, 1997.162p.
- HAGLUND, O.; WALLIN, R.; WRETILING, S.; HULTBERG, B.; SALDEEN, T. Effects of fish oil alone and combined with long chain (n-6) fatty acids on some coronary risk factors in male subjects. *J. Nutr. Biochem.*, v. 9, p. 629-35, 1998.
- HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid Res.*, v. 26, p. 281-347, 1987.
- HENDERSON, R. J. Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. *Arch. Anim. Nutr.*, v. 49, p. 5-22, 1996.
- HUNTER, B. J.; ROBERTS, D. C. K. Potential impact of the fat composition of farmed fish on human health. *Nutr. Res.*, v. 20, p. 1047-58, 2000.
- INHAMUNS, A. J.; FRANCO, M. R. B. Composition of total, neutral and phospholipids in mapará (*Hypophthalmus sp.*) from the Brazilian Amazonian area. *J. Agric. Food Chem.*, v. 49, p. 4859-63. 2001.
- JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G. Capillary column gas chromatography method for analysis of encapsulated fish oil and fish oil ethyl esters: collaborative study. *J. AOAC Int.*, v. 75, p. 488-506, 1992.
- KIMURA, Y.; TAKAKU, T.; NAKAJIMA, S.; OKUDA, H. Effects of carp and tuna oils on 5-fluorouracil-induced antitumor activity and side effects in sarcoma 180-bearing mice. *Lipids*, v. 36, p. 353-59, 2001.

- KHOSLA, P.; SUNDRAM, K. Effects of dietary fatty acid composition on plasma cholesterol. *Prog. Lipid Res.*, v. 35, p. 93-132, 1996.
- KREMER, J. M.; JUBIZ, W.; MICHALEK, A. Fish-oil fatty acid supplementation in active rheumatoid arthritis. *Ann. Int. Med.*, v. 106, p. 497-503, 1987.
- KROMANN, N.; GREEN, A. Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland. *Acta Med. Scand.*, v. 208, p. 401-06, 1980.
- KROMHOUT, D.; FESKENS, E. J. M.; BOWLES, C. H. The protective effect of a small amount of fish on coronary heart disease mortality in a elderly population. *Int. J. Epidemiol.*, v. 24, p. 340-45, 1995.
- MAIA, E. L. Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídios e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce. Campinas. 1992. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Campinas).
- MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Fatty acid composition of the total, neutral and phospholipids of the Brazilian freshwater fish *Colossoma macropomum*. In: *Food Science and Human Nutrition*. G. Charalambous (Ed), 1992. p. 633-42.
- MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; FRANCO, M. R. B. Fatty acids of the total, neutral, and phospholipids of the Brazilian freshwater fish *Prochilodus scrofa*. *J. Food Comp. Anal.*, v. 7, p. 240-51, 1994.
- MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; HOTTA, L. K. Fatty acids composition of the total, neutral and phospholipids of pond-raised Brazilian piaractus mesopotamicus. *Int. J. Food Sci. Technol.*, v. 30, p. 591-97, 1995.
- MARTINO, R.; TAKAHASHI, N. S. A importância da adição de lipídios em rações para a aquicultura. *Óleos e Grãos*, n. 58, p. 32-7, 2001.
- MAYSER, P.; MROWIETZ, U.; ARENBERGER, P.; BARTAK, P.; BUCHVALD, J.; CHRISTOPHERS, E. *et al.* Omega-3 fatty acid-based lipid infusion in patients with chronic plaque psoriasis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled, multicenter trial. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v.38, p. 421, 1998.
- MINOURA, T.; TAKATA, T.; SAKAGUCHI, M.; TAKADA, H.; YAMAMURA, M.; HIOKI, K. *et al.* Effect of dietary eicosapentaenoic acid on azoxymethane-

- induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Res.*, v. 46, p. 4790-94, 1988.
- MOREIRA, A. B.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian *Brycon freshwater* fishes. *J. Food Comp. Anal.*, v. 14, p. 565-74, 2001.
- NUTRON ALIMENTOS LTDA. Uma Empresa Eridania Bélghin-say. Rações Nutron Peixes. Catálogos de rações. Campinas. 1998. 4p.
- OGAWA, M.; KOIKE, J. Manual de pesca. Associação dos Engenheiros de Pesca do Estado do Ceará, Fortaleza/CE. 1987. 797p.
- OKUYAMA, H.; KOBAYASHI, T.; WATANABE, S. Dietary fatty acids – The n-6/n-3 balance and chronic elderly diseases. Excess linoleic acid and relative n-3 deficiency syndrome seen in Japan. *Prog. Lipid Res.* v. 35, p. 409-57, 1997.
- OLIVEIRA, E. R. N. Composição química geral e de ácidos graxos da fração lipídica de peixes do reservatório de Itaipu, Paraná-Brasil: Relação com variáveis biológicas e período de coleta. Maringá. 2000 (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Maringá).
- PUWASTIEN, P.; JUDPRASONG, K.; KCTTWAN, E.; VASANACHITT, K.; NAKNGAMANONG, Y.; BHATTACHARJCC, L. Proximate composition of raw and cooked Thai freshwater and marine fish. *J. Food Comp. Anal.*, v. 12, p. 9-16, 1999.
- RIBEIRO, R. P.; HAYASHI, C.; FURUYA, W. M. Curso de piscicultura - criação racional de tilápias. FADEC - Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 1995. 23p.
- ROSE, D. P.; CONNOLLY, J. M. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacol. Therapeut.*, v. 83, p. 217-44, 1999.
- SANCHES-MUÑIZ, F. J.; CUESTA, C. Lipid metabolism in experimental animals. *Grasas y Aceites.* v. 49, p. 340-6, 1998.
- SAS Statistical Analytical System, SAS Institute INC., SAS Campus drive, Cary, Caroline, USA, Version 6.0, 1996.
- SCHMIDT, M. A. Gorduras inteligentes. Trad. de Dirceu Henrique Pereira. São Paulo – SP. Editora Roca LTDA, 2000. 231p.

- SIGUEL, E.** A new relationship between total/high density lipoprotein cholesterol and polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, v. 31, p. 51-6, 1996.
- SILVA, A. J. I.** Composição lipídica e quantificação dos ácidos graxos polinsaturados EPA (20:5 n-3) e DHA (22:6 n-3) de peixes de água doce. Campinas. 2000. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Campinas).
- SIMOPOULOS, A. P.** Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.54, p. 438-63, 1991.
- SIMOPOULOS, A. P.; LEAF, A.; SALEM, N.** Essentiality and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Ann. Nutr. Metabol.*, v. 43, p. 127-30, 1999.
- STEFFENS, W.** Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *Aquaculture*, v. 151, p. 97-119, 1997.
- STRÁNSKY, K.; JURŠÍK, T.; VITEK, A.** Standard equivalent chain length values of monoenic and polyenic (methylene interrupted) fatty acids. *J. High Resol. Chromatog.*, v. 20, 143-58, 1997.
- THE AMERICAN HERITAGE (2000).** Dictionary of the English Language. 4 ed., published by the Houghton Mifflin Company. [www documento]. URL <http://www.bartleby.com/61/22/P/P0432200.html>
- THOMPSON, R. H.** A simplified fatty acid analyses in multicomponent foods with a standard set of isothermal GLC conditions coupled with ECL determinations. *J. Chromatog. Sci.*, v. 34, p. 495-504, 1996.
- UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS (2002).** Visentainer, J. V.; Franco, M. R. B.; Hayashi C.; Soares, C. M. e Matsushita, M. Formulação de ração para peixes de água doce enriquecida com óleo de linhaça. PI202.892-1 (Não disponível). Patente. requerida em 12/07/02 (INPI). Anais da Associação Brasileira de Química. Brasil.
- von SCHACKY, C.** n-3 fatty acids and the prevention of coronary atherosclerosis. *Am. J. Nutr.*, v. 71 (suppl): p. 224S-7S, 2000.

CAPÍTULO IV
ARTIGO CIENTÍFICO

**ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NAS FRAÇÕES DE
LIPÍDIOS NEUTROS E FOSFOLIPÍDIOS E DE LIPÍDIOS TOTAIS DE TILÁPIAS
(*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDAS A DIFERENTES TRATAMENTOS COM
ÓLEO DE LINHAÇA**

Artigo será enviado à Revista *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NAS FRAÇÕES DE LIPÍDIOS NEUTROS E FOSFOLIPÍDIOS E DE LIPÍDIOS TOTAIS DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDAS A DIFERENTES TRATAMENTOS COM ÓLEO DE LINHAÇA

VISENTAINER, J.V.¹; FRANCO, M. R. B.²

**1 - Universidade Estadual de Maringá - Depto de Química -
jvvisentainer@uem.br**

**2 - Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP
Caixa postal - 6121 CEP - 13083-970**

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo melhorar o valor nutricional do conteúdo lipídico de filés de tilápias (*Oreochromis niloticus*) criadas em sistema de cativeiro e avaliar, conjuntamente, as frações de lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL) dos lipídios totais (LT) com relação à composição de ácidos graxos. A literatura tem mostrado baixo teor dos ácidos graxos da família n-3 nos lipídios de peixes de cativeiro em relação aos peixes de água doce não cultivados. Assim, para realizar este estudo, tilápias foram submetidas a um confinamento por um período de 5 meses, recebendo rações suplementadas com níveis crescentes de óleo de linhaça (tratamentos B, C, D e E) e uma ração controle, com óleo de girassol (tratamento A). O óleo de linhaça, apresenta elevados teores do ácido alfa-linolênico (18:3n-3), um precursor de ácidos graxos da série n-3. Os LT foram fracionados em LN e FL por cromatografia em coluna clássica. Os extratos de LN, FL e os LT foram metilados e separados por cromatografia gasosa de alta resolução e a composição de ácidos graxos foi analisada e discutida comparativamente entre estes extratos. Na análise de ácidos graxos, foram encontrados um total de 50 (LT), 64 (LN) e 58 (FL) componentes. Os ácidos majoritários foram o linoléico (18:2n-6), oléico (18:1n-9) e palmítico (16:0), embora nem sempre na mesma ordem para alguns tratamentos e frações. As somatórias dos ácidos da família n-3, em

todos os extratos, foram sempre crescentes, enquanto que as dos ácidos da família n-6 foram sempre decrescentes. Nestas famílias, a diferença foi significativa para a maioria dos tratamentos à medida que aumentou a suplementação de óleo de linhaça nas rações. Nos LT, a suplementação com linhaça forneceu teores sempre superiores dos ácidos LNA (18:3 n-3), EPA (20:5n-3), DHA (22:6n-3) e da somatória de ácidos n-3 e reduziu a relação n-6/n-3. Todos os componentes presentes nos LT foram encontrados nos LN e FL. Em cada tratamento, a fração de FL mostrou a maior somatória de ácidos n-3. O fracionamento dos LT em classes forneceu informações que podem ser importantes durante o preparo, armazenamento e processamento de peixes e ainda pode ser utilizado na concentração de grupos de ácidos graxos.

ABSTRACT

This work had as its aim to improve the nutritional value of the lipid content in Tilapias filets (*Oreochromis niloticus*) reared in captivity, and at the same time evaluate the neutral lipid fractions (NL) and phospholipids (PL), and of total lipids (TL) in relation to the composition. Literature has shown low levels of fatty acids of n-3 family as compared to freshwater fish of natural habitats. Thus, to accomplish this study, Tilapias were taken to captivity for 5 months, receiving crescent levels of supplementation with rations based on linseed oil (treatments B, C, D and E) and a control ration with sunflower oil (treatment A). The linseed oil, because of its high content of alpha-linolenic acid (18:3n-3), is a precursor of the n-3 acid series. The TL were fractioned in NL and PL by chromatography in classical column. The extracts of NL, PL and TL were methylated and separated by high-resolution gas chromatography and the fatty acids composition was analyzed and discussed comparatively between these extracts. As for the fatty acids analysis, it was found a total of 50 (TL), 64 (NL) and 58 (PL) components. The major acids were the linoleic (18:2n-6), oleic (18:1n-9) and palmitic (16:0), although not always in them same order for some treatments and fractions. In all of the extracts, the n-3 acids family sums were always increasing,

whilst in the n-6 acids family, they were always decreasing. It was found a great difference in these families for most of the treatments as the supplementation with linseed oil was increased in the rations. In the TL, the linseed supplementation furnished higher contents of ALA (18:3 n-3), EPA (20:5n-3), DHA (22:6n-3) and n-3 acids sums and reduced the n-6/n-3 relation. All of the components present in the TL were found in NL and TL. In each treatment, the PL fraction showed a higher sum of n-3 acids. The fractioning of TL in classes, furnished important information for preparing, storing and processing fish, and also being used for fatty acids utilization.

1. INTRODUÇÃO

A necessidade dos ácidos graxos polinsaturados AGPI, especialmente aqueles de cadeia longa e pertencentes às famílias n-3 e n-6, já ficou completamente comprovada para a higidez das membranas biológicas, isto é, para que elas possam desempenhar adequadamente as funções que dependem de suas propriedades (Belda & Campos, 1991).

Os ácidos graxos AGPI n-3 e n-6 desempenham funções importantes no organismo humano. Estes grupos de ácidos graxos são, preferencialmente, incorporados nos fosfolípidios das membranas celulares, onde desempenham papel estrutural e funcional e são precursores de um grupo de moléculas com 20 átomos de carbono denominadas eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos) (Hunter & Roberts, 2000). Somando-se a isto, a ingestão de AGPI n-3 diminui a razão de ácidos graxos da família n-6/família n-3, considerada elevada na população ocidental (Simopoulos *et al.*, 1999), a qual pode ser prejudicial à saúde humana.

Nos lipídios totais do tecido muscular de peixes, pode existir uma grande variedade de substâncias orgânicas lipossolúveis, que são distribuídas em três classes principais: lipídios neutros (LN), fosfolípidios (FL) e glicolipídios (GL). Desta forma, a composição de ácidos graxos nos lipídios totais é obviamente influenciada pelas classes de lipídios constituintes.

Os lipídios neutros incluem as substâncias ou subclasses chamadas de triacilgliceróis (TG), diacilgliceróis (DG), monoacilgliceróis (MG), alquil-diacilgliceróis, esteróis (principalmente colesterol livre e esterificado), ceras e ácidos graxos livres (AGL) (Kates, 1972).

Os tecidos ricos em gordura têm os triacilgliceróis como principais constituintes, enquanto que os fosfolípidios predominam naqueles peixes de baixos teores de lipídios (Henderson & Tocher, 1987). Muitas espécies de peixes com baixo teor de lipídios totais na carne (músculos) possuem considerável depósito de lipídios no fígado na forma de triacilgliceróis,

servindo como fonte de energia quando da escassez de alimentos (Stansby, 1973).

Os fosfolipídios (FL) incluem qualquer composto graxo que contém o ácido fosfórico, e incluem os glicerofosfolipídios e esfingomielina (Christie, 1994). Nos peixes, os FL são encontrados como constituintes das membranas celulares e membrana celular das organelas (Wang, 1990). Os ácidos graxos nos FL, geralmente são de cadeias longas e mais insaturados do que aqueles que estão combinados aos triacilgliceróis. Assim, os fosfolipídios que se encontram presentes nas células, exercendo funções vitais, não estão disponíveis como fonte de reserva de energia (Henderson & Tocher, 1987).

O termo glicolipídios, segundo Christie (1994), é usado para descrever qualquer composto contendo uma ou mais moléculas de monossacarídeos, unidas através de uma ligação glicosídica a uma parte lipídica, e assim, englobam os glicerolipídios e alguns esfingolipídios. Geralmente, os glicolipídios são mais abundantes em plantas do que em animais (Guzmán, 1994). Em algumas espécies de peixes como carpa (Guzmán, 1994), curimatã (Maia *et al.*, 1999) e camarões (Johnston *et al.*, 1983), a concentração de GL foi muito inferior quando comparada aos LN e FL. Em análises realizadas nos lipídios totais em tilápias (*Oreochromis niloticus*) de cativeiro, a fração de glicolipídios não foi encontrada por Maia (1992).

Atualmente, a determinação da composição de ácidos graxos deixou de ser realizada apenas em termos de lipídios totais, mas sim em termos das diferentes classes e subclasses. Desta forma, maiores informações quanto à natureza e ao comportamento destes componentes têm sido obtidas. Foi constatado, por exemplo, que tanto a oxidação como a lipólise de peixes, carne e frango, envolvem principalmente os fosfolipídios e que a maior susceptibilidade à oxidação desta classe de lipídios está diretamente ligada à sua composição de ácidos graxos, tendo concentrações mais altas de insaturados (Allen & Foegeding, 1981; Shewfelt, 1981; Braddock & Dugan Jr., 1972).

Os triacilgliceróis nos peixes são primariamente localizados sob a pele e entre os músculos, estando mais susceptíveis para reações do que os fosfolípidios. Desta forma, o teor de ácidos graxos insaturados constituintes dos triacilgliceróis, pode ainda ser mais reduzido durante o aquecimento do que os ácidos graxos dos fosfolípidios. De acordo com Wang (1990), isto poderia explicar a redução na quantidade relativa de 18:1n-9 (um dos maiores constituintes dos triacilgliceróis), depois do processo de defumação, enquanto uma relativa quantidade de ácidos graxos ômega-3 (em grande parte encontrados nos fosfolípidios) aumentou, mostrando que os ácidos graxos poliinsaturados foram concentrados, devido à perda de ácidos dos triacilgliceróis

Espécies de carpas submetidas a dietas com total abstinência de alimentos, por um período de 1 a 7 dias, apresentaram um aumento crescente dos ácidos araquidônico (AA, 20:4n-6) e docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) (Geurden *et al.*, 1999), possivelmente, resguardando esses componentes lipídicos estruturais das membranas.

O ácido graxo alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3) é um precursor de ácidos graxos da família n-3, este ácido é encontrado em abundância em sementes de linho (*Linum usitatissimum*). Esta herbácea cresce com facilidade em climas tropicais ou temperados e a semente apresenta uma variação aproximada de 32 a 38% de óleo, que é constituído da seguinte composição em percentagem relativa de ácidos graxos: palmítico (16:0, 4,6 a 6,3%); esteárico (18:0, 3,3 a 6,1%); oléico (18:1n-9, 19,3 a 29,4%); linoléico (18:2 n-6, 14,0 a 18,2%) e alfa-linolênico (18:3n-3, 44,6 a 51,5%) (Carter, 1993).

Com o objetivo de melhorar o valor nutricional do conteúdo lipídico do tecido muscular de tilápias criadas em sistema de cativeiro e avaliar a composição de ácidos graxos dos lipídios totais (LT), especialmente das frações de lipídios neutros (LN) e fosfolípidios (FL), tilápias (*Oreochromis niloticus*) foram alimentadas com diferentes níveis de óleo de linhaça (fonte do ácido LNA) nas rações, por um período de 5 meses.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos relativos ao sistema de confinamento, preparo de amostras e rações, determinações físico-químicas, análise e identificação de ácidos graxos e análise estatística foram descritos anteriormente em materiais e métodos (capítulo III).

2.1. FRACIONAMENTO DE LIPÍDIOS TOTAIS EM CLASSES DE LIPÍDIOS NEUTROS E FOSFOLIPÍDIOS

Os lipídios totais (LT) foram fracionados em lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL) por cromatografia em coluna clássica. O processo foi realizado em tubo cromatográfico de vidro de 30cm de comprimento por 2cm de diâmetro interno, contendo 25g de sílica gel 60 (70-230 mesh, Merck) como adsorvente, de acordo com as especificações de Johnston *et al.* (1983).

As eluições dos lipídios neutros e fosfolipídios (de cada extração de LT) foram realizadas segundo o método descrito por Maia (1992), com as seguintes seqüências de eluições: Fração I - Lipídios neutros (eluída com 200mL de 20% acetona em clorofórmio); Fração II - Fosfolipídios (eluída com 200mL de metanol).

Os solventes das eluições foram evaporados em evaporador rotativo com banho de água à temperatura de 32-34°C sob vácuo e, posteriormente, com fluxo de gás nitrogênio para completar a remoção do solvente e, a secagem total, completada em dessecador a vácuo. O concentrado de cada eluição foi transferido para frasco tipo âmbar de 7mL de capacidade, sob atmosfera de N₂ gasoso e congelado a -18° C para a análise posterior (composição de ácidos graxos).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NAS FRAÇÕES DE LN, FL E LT DAS TILÁPIAS

As Tabelas 1 e 2 mostram a composição (em percentagem de área relativa) de ácidos graxos nas frações de lipídios neutros (LN) e fosfolipídios

(FL), respectivamente, e indicam a presença de um determinado ácido graxo nos lipídios totais (LT) no tecido muscular de tilápias dos diferentes tratamentos.

Tabela 1. Composição de ácidos graxos (percentagem de área relativa) nos lipídios neutros e presença de ácidos graxos nos lipídios totais (LT) no tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos tratamentos A, B, C, D e E.

Pico n ^o	LT	2 ÁCIDO GRAXO	1 TRATAMENTOS				
			A	B	C	D	E
1		12:0	0,09±0,02a	0,07±0,01a	0,07±0,01a	0,12±0,06b	0,07±0,01a
2	X	14:0	1,36±0,27a	1,18±0,08	1,56±0,15c	1,35±0,10a	1,21±0,08b
3		14:1n7	0,05±0,02a	0,04±0,01a	0,04±0,01a	0,04±0,01a	0,04±0,01a
4		14:1n5	tr	0,04±0,00a	0,04±0,01a	0,06±0,03b	0,04±0,00a
5	X	i15:0	0,23±0,06a	0,23±0,03a	0,21±0,02a	0,15±0,07b	0,22±0,03a
6		ai15:0	0,06±0,01a	0,06±0,01a	0,05±0,01a	0,05±0,02a	0,06±0,01a
7	X	15:0	0,25±0,02a	0,23±0,02a	0,24±0,02a	0,25±0,04a	0,25±0,01b
8		15:1n7	0,05±0,01a	0,05±0,00a	0,06±0,00a	0,06±0,02a	0,06±0,01a
9	X	i16:0	0,07±0,02a	0,06±0,01a	0,06±0,01a	0,06±0,02a	0,06±0,01a
10	X	16:0DMA	0,05±0,02a	0,05±0,01a	0,05±0,02a	0,09±0,04b	tr
11		X1	0,08±0,05a	tr	0,06±0,03b	0,07±0,04a	tr
12	X	16:0	14,48±1,20	13,33±0,29	14,66±0,51	13,83±0,81	13,75±0,59
14	X	16:1n9	0,54±0,05a	0,52±0,03a	0,54±0,02a	0,55±0,10a	0,53±0,05a
15	X	16:1n7	2,24±0,44a	2,16±0,14a	2,30±0,28a	2,20±0,34a	2,19±0,15a
16	X	16:1n5	0,11±0,02a	0,11±0,02a	0,09±0,01b	0,08±0,02c	0,09±0,02c
17	X	i17:0	0,31±0,06a	0,30±0,04a	0,26±0,04b	0,26±0,05c	0,27±0,02b
18		X2	tr	tr	0,07±0,03a	0,06±0,03a	0,10±0,02b
20	X	ai17:0	0,34±0,04a	0,31±0,02a	0,28±0,02b	0,25±0,02c	0,25±0,02c
21	X	17:0	0,26±0,06a	0,23±0,02	0,25±0,02a	0,24±0,02a	0,24±0,01b
22	X	17:1n9	0,16±0,03a	0,16±0,02a	0,18±0,02a	0,17±0,02a	0,17±0,03a
23		17:1n7	tr	tr	0,04±0,01a	0,04±0,01a	0,06±0,00b

Tabela 1. Composição de ácidos graxos (percentagem de área relativa) nos lipídios neutros e presença de ácidos graxos nos lipídios totais (LT) no tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos tratamentos A, B, C, D e E.

(continuação)

Pico n ^o	LT	2º ÁCIDO GRAXO	1º TRATAMENTOS				
			A	B	C	D	E
24	X	18:0DMA	nd	nd	nd	nd	nd
25	X	18:1DMA	07±0,06ab	0,05±0,02a	0,04±0,01a	0,10±0,06b	tr
27	X	18:0	44±0,53ab	1,08±0,35c	1,14±0,24bc	4,53±0,51a	4,14±0,33c
28	X	18:1n11	07±0,02ab	06±0,01bc	0,07±0,01ab	0,08±0,02a	0,06±0,01c
29	X	18:1n9	5,76±0,85a	5,75±0,36a	25,63±0,91a	25,79±0,62a	4,75±0,79b
30	X	18:1n7	2,46±0,39a	2,40±0,24a	2,63±0,43a	2,56±0,41a	2,93±0,19b
31		18:1n5	tr	tr	0,04±0,01a	0,12±0,10b	tr
32	X	18:1n4	0,16±0,03a	15±0,02ab	0,13±0,04ab	0,12±0,06b	0,12±0,02b
33		X3	tr	tr	0,04±0,01a	0,04±0,01a	tr
34	X	18:2n6	3,53±2,47a	2,47±1,41a	28,26±1,08b	24,33±1,22c	3,81±1,36c
35	X	t,t-18:2n6	0,08±0,02a	0,04±0,03b	tr	tr	tr
36	X	18:2n4	0,09±0,04a	12±0,03bc	0,15±0,04c	0,10±0,04ab	0,12±0,02bc
37	X	X4	0,06±0,04a	0,08±0,03a	0,13±0,04b	0,14±0,05b	0,24±0,02c
38	X	18:3n6	1,60±0,13a	1,39±0,09b	1,15±0,08c	1,00±0,13d	0,96±0,08d
39	X	19:0	0,04±0,02a	0,04±0,01a	tr	0,04±0,01a	0,05±0,01a
40		19:1n7	tr	tr	tr	0,04±0,01	tr
41	X	18:3n3	1,50±0,17a	1,25±0,21b	7,28±0,70c	11,37±1,52d	3,66±2,08e
42	X	19:2n7	0,27±0,13a	0,24±0,05a	0,20±0,03b	0,13±0,06c	0,19±0,06b
43	X	18:4n3	0,06±0,02a	13±0,02bc	0,21±0,02c	0,29±0,04b	0,38±0,07d
44	X	20:0	24±0,03ab	0,24±0,02a	0,22±0,02b	0,23±0,03ab	0,22±0,01b
45	X	20:1n11	0,09±0,05a	13±0,02ab	0,15±0,03b	0,14±0,06b	0,22±0,05c

Tabela 1. Composição de ácidos graxos (percentagem de área relativa) nos lipídios neutros e presença de ácidos graxos nos lipídios totais (LT) no tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos tratamentos A, B, C, D e E.

(continuação)

Pic o n	LT	2 ÁCIDO GRAXO	1 TRATAMENTOS				
			A	B	C	D	E
46	X	20:1n9	1,00±0,15a	,96±0,06ab	0,88±0,07bc	0,92±0,11b	0,83±0,10c
47		20:2n9	0,04±0,01a	0,04±0,02a	0,04±0,01a	0,04±0,01a	tr
48	X	X5	0,10±0,04a	,09±0,03ab	0,11±0,04a	0,07±0,03b	,07±0,02b
49	X	20:2n6	1,51±0,20a	1,44±0,07b	1,17±0,13b	0,92±0,18c	,79±0,14d
50		20:3n9	tr	tr	0,04±0,01a	0,04±0,01a	,04±0,01a
51	X	X6	0,07±0,01a	,07±0,01a	0,04±0,01b	tr	tr
52	X	20:3n6	0,88±0,11a	,84±0,09a	0,66±0,06b	0,55±0,08c	,51±0,08c
53	X	20:4n6	1,26±0,16a	1,18±0,21a	0,83±0,11b	0,88±0,27c	,74±0,16b
54	X	20:3n3	0,22±0,02a	,64±0,04b	0,96±0,22c	1,34±0,14d	1,47±0,12e
55	X	X7	0,04±0,00a	,09±0,01b	0,15±0,02c	0,19±0,03d	22±±0,02e
56	X	20:4n3	0,04±0,01a	,08±0,01b	0,12±0,01c	0,19±0,03d	,19±0,02d
57	X	20:5n3	0,05±0,01a	,07±0,01b	0,10±0,02c	0,14±0,04d	,16±0,02e
58	X	22:0	0,16±0,04a	,16±0,03a	0,12±0,03b	,11±0,03bc	,09±0,01c
59	X	22:1n9	0,10±0,03a	,14±0,02b	,13±0,02ab	0,17±0,04c	,18±0,02c
60	X	22:2n6	,07±0,01ab	,08±0,00a	,06±0,02bc	,05±0,02cd	,05±0,01d
61		21:5n3	0,05±0,02a	,06±0,01a	0,04±0,01b	tr	tr
62		22:3n6	0,04±0,01a	,04±0,00a	tr	tr	tr
63	X	22:4n6	0,58±0,07a	,51±0,11b	0,41±0,05c	0,30±0,06d	,24±0,02e
64	X	22:5n6	1,03±0,13a	,83±0,16b	0,49±0,07c	0,44±0,10c	,30±0,06d
65	X	22:4n3	tr	,11±0,02a	0,13±0,02b	0,17±0,02c	,16±0,01c
66	X	22:5n3	0,18±0,04a	,31±0,07b	0,44±0,04c	0,50±0,04d	,55±0,09e

Tabela 1. Composição de ácidos graxos (percentagem de área relativa) nos lipídios neutros e presença de ácidos graxos nos lipídios totais (LT) no tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos tratamentos A, B, C, D e E.

(conclusão)

Pico n ^o	LT	² ÁCIDO GRAXO	¹ TRATAMENTOS				
			A	B	C	D	E
67	X	24:0	tr),04±0,02a	tr	tr	tr
68	X	22:6n3	,54±0,12a	,87±0,16b	,99±0,17b	,31±0,27c	,17±0,25c

¹Tratamentos: A (0,00%); B (1,25%); C (2,50%); D (3,75%) e E (5,00%) de óleo de linhaça completados até 5,00% com óleo de girassol.

²Cada valor é a média de 30 análises de ácidos graxos expressa em percentagem de área relativa.

Médias (com as respectivas estimativas dos desvios padrões) na mesma linha seguidas por nenhuma letra em comum são significativamente diferentes ao nível de 5%.

A letra X na coluna com a sigla LT indica a presença de um determinado ácido graxo nos lipídios totais.

Abreviaturas: i - iso; ai - anteiso; Xn - não identificado; DMA - dimetilacetal; tr - traço (área < 0,04%) e nd - não detectado.

Tabela 2. Composição de ácidos graxos (percentagem de área relativa) nos fosfolipídios e presença de ácidos graxos nos lipídios totais (LT) no tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos tratamentos A, B, C, D e E.

Pic o n	T	2 ^o ÁCIDO GRAXO	1 ^o TRATAMENTOS				
			A	B	C	D	E
1		12:0	0,04±0,02a	tr	tr	0,05±0,04a	tr
2	X	14:0	0,43±0,11ab	0,40±0,03a	0,43±0,06ab	0,44±0,10ab	0,38±0,06b
3		14:1n7	0,04±0,01a	tr	0,05±0,02a	0,08±0,04b	tr
5	X	15:0	0,07±0,02a	0,07±0,01ab	0,06±0,01b	0,06±0,02ab	0,07±0,01ab
7	X	15:0	0,21±0,03a	0,19±0,03b	0,21±0,02ac	0,23±0,02c	0,22±0,02ac
9	X	16:0	0,04±0,01a	tr	tr	0,04±0,01a	tr
10	X	16:0DM	0,17±0,17abc	0,09±0,08c	0,29±0,14a	0,15±0,16bc	0,26±0,25ab
11		X1	0,05±0,04a	tr	0,11±0,04b	0,15±0,05c	0,08±0,03d
12	X	16:0	0,659±0,68a	0,65±0,93a	0,34±0,76ab	0,10±0,85b	0,55±1,70c
13		16:1n11	0,08±0,04a	0,08±0,01ac	0,16±0,06b	0,05±0,01c	0,13±0,05b
14	X	16:1n9	0,33±0,07ac	0,29±0,02c	0,39±0,07b	0,31±0,03a	0,32±0,04ac
15	X	16:1n7	0,56±0,15a	0,63±0,06ab	0,79±0,20c	0,68±0,17b	0,72±0,09cb
16	X	16:1n5	0,10±0,02a	0,10±0,01a	0,14±0,03b	0,13±0,01bc	0,12±0,02c
17	X	17:0	0,23±0,06a	0,21±0,02a	0,22±0,06a	0,22±0,02a	0,22±0,04a
18		X2	tr	tr	0,07±0,01a	0,05±0,02b	0,09±0,02c
19		16:2n7	0,05±0,01ac	0,06±0,01ab	0,07±0,01b	0,05±0,01c	0,06±0,02abc
20	X	17:0	0,11±0,05a	0,07±0,01b	0,11±0,04a	0,07±0,03b	0,12±0,04a
21	X	17:0	0,34±0,04a	0,31±0,03bc	0,30±0,03c	0,34±0,02ab	0,31±0,02c
22	X	17:1n9	0,07±0,03ab	0,07±0,01b	0,08±0,02ab	0,08±0,01a	0,07±0,02ab
24	X	18:0DM	0,70±0,10a	0,63±0,06b	0,71±0,05a	0,64±0,08b	0,75±0,09a
25	X	18:1DM	1,63±0,26a	1,61±0,16a	1,64±0,17a	1,62±0,21a	1,81±0,06b

Tabela 2. Composição de ácidos graxos (percentagem de área relativa) nos fosfolipídios e presença de ácidos graxos nos lipídios totais (LT) no tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos tratamentos A, B, C, D e E.

(continuação)

Pico n ^o	T	2 ^o ÁCIDO GRAXO	1 ^o TRATAMENTOS				
			A	B	C	D	E
26		17:2n4	0,06±0,02a	0,07±0,01a	0,08±0,03a	0,05±0,02b	0,10±0,02c
27	X	18:0	7,95±0,69ab	7,47±0,65c	7,0±0,35bc	7,94±0,61ab	7,33±0,76a
28	X	18:1n11	nd	nd	nd	nd	nd
29	X	18:1n9	3,37±1,56ab	3,17±0,43a	3,01±0,83a	3,93±0,61b	3,12±0,54a
30	X	18:1n7	3,11±0,31a	3,07±0,33a	15±0,20ab	3,31±0,24b	19±0,16ab
32	X	18:1n4	0,08±0,01a	0,06±0,01b	0,06±0,02b	0,05±0,01b	0,06±0,02b
34	X	18:2n6	23,06±2,19a	2,40±0,80a	3,31±0,49b	20,00±1,34c	2,59±0,50d
35	X	18:2n6	0,06±0,02	tr	tr	tr	tr
36	X	18:2n4	0,08±0,07ab	0,07±0,01ab	0,08±0,04ab	0,05±0,02a	0,09±0,03b
37	X	X4	tr	tr	0,06±0,03a	0,05±0,02a	0,12±0,03b
38	X	18:3n6	0,85±0,11a	0,77±0,07b	0,67±0,07c	0,56±0,08d	0,53±0,07d
39	X	19:0	0,14±0,02ab	0,12±0,02a	0,13±0,03ab	0,09±0,04c	0,15±0,01b
41	X	18:3n3	0,67±0,15a	1,87±0,03b	0,34±0,23c	5,70±0,81d	0,90±0,80e
42	X	19:2n7	0,11±0,06a	0,07±0,02b	0,08±0,03ab	0,05±0,02b	0,07±0,03b
43	X	18:4n3	tr	0,05±0,01a	0,07±0,01a	0,10±0,04b	0,17±0,01c
44	X	20:0	0,14±0,02a	0,14±0,01a	0,13±0,02a	0,11±0,03b	0,14±0,01a
45	X	20:1n11	tr	tr	0,05±0,01a	0,05±0,02a	0,07±0,03b
46	X	20:1n9	0,70±0,08a	0,71±0,05a	0,57±0,06b	0,54±0,06bc	0,52±0,05c
48	X	X5	0,04±0,01	tr	tr	tr	tr
49	X	20:2n6	2,42±0,32a	2,16±0,24b	0,83±0,20c	1,43±0,12d	0,29±0,11d
50		20:3n9	0,05±0,03ab	0,06±0,02a	tr	tr	0,04±0,01b

Tabela 2. Composição de ácidos graxos (percentagem de área relativa) nos fosfolipídios e presença de ácidos graxos nos lipídios totais (LT) no tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos tratamentos A, B, C, D e E.

(conclusão
)

Pico n ^o	T	² ÁCIDO GRAXO	¹ TRATAMENTOS				
			A	B	C	D	E
51	X	X6	0,24±0,02a	0,22±0,02b	0,19±0,02c	0,11±0,04d	0,13±0,02d
52	X	20:3n6	0,67±0,18a	1,66±0,12a	0,45±0,08b	0,20±0,14c	0,10±0,08d
53	X	20:4n6	0,41±0,94a	7,03±0,53a	0,80±0,43b	0,64±0,43c	0,66±0,63c
54	X	20:3n3	0,24±0,02a	0,68±0,08b	0,04±0,13c	0,50±0,14d	0,73±0,21e
55	X	X7	tr	0,14±0,01a	0,25±0,04b	0,32±0,05c	0,38±0,05d
56	X	20:4n3	tr	0,07±0,00a	0,12±0,01b	0,19±0,02c	0,24±0,03d
57	X	20:5n3	0,16±0,04a	0,25±0,03b	0,39±0,03c	0,55±0,07d	0,77±0,11e
58	X	22:0	0,08±0,03a	0,08±0,02a	0,06±0,02ab	0,05±0,01b	tr
59	X	22:1n9	nd	nd	nd	nd	nd
60	X	22:2n6	0,05±0,02a	0,04±0,01a	tr	tr	tr
61		21:5n3	0,04±0,02	tr	tr	tr	tr
62		22:3n6	0,06±0,03a	0,05±0,01a	tr	tr	tr
63	X	22:4n6	0,87±0,28a	1,63±0,14b	0,27±0,11c	0,87±0,10d	0,84±0,16d
64	X	22:5n6	0,15±1,47a	5,83±0,33b	0,52±0,42c	0,43±0,34d	0,55±0,40d
65	X	22:4n3	tr	0,21±0,05a	0,29±0,17b	0,27±0,04b	0,32±0,03b
66	X	22:5n3	0,78±0,09a	1,15±0,07b	0,50±0,15c	0,55±0,09d	0,91±0,25e
67	X	24:0	0,12±0,08a	0,07±0,01bc	0,08±0,03b	0,06±0,02bc	0,04±0,01c
68	X	22:6n3	0,91±0,75a	5,65±0,49b	0,06±0,53c	0,16±0,83c	0,02±0,83d

¹Tratamentos: A (0,00%); B (1,25%); C (2,50%); D (3,75%) e E (5,00%) de óleo de linhaça completados até 5,00% com óleo de girassol.

²Cada valor é a média de 30 análises de ácidos graxos expressa em percentagem de área relativa.

Médias (com as respectivas estimativas dos desvios padrões) na mesma linha seguidas por nenhuma letra em comum são significativamente diferentes ao nível de 5%.

A letra X na coluna com a sigla LT indica a presença de um determinado ácido graxo nos lipídios totais.

Abreviaturas: i - iso; ai - anteiso; Xn - não identificado; DMA - dimetilacetil; tr - traço (área < 0,04%) e nd - não detectado.

Nos LT, foi encontrado um total de 50 componentes comuns para todos os tratamentos com os diferentes níveis de óleo de linhaça, enquanto que na fração de LN e FL, foi encontrado um total de 64 e 58 componentes, respectivamente (Tabelas 1 e 2). Todos os componentes presentes nos LT foram encontrados nas frações de LN e FL. A detecção de componentes não encontrados nos LT, que apareceram nas frações, pode ser devida a uma concentração destes componentes no processo de separação em classes.

Maia (1992), analisando tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) de cativeiro, detectou um total de 50, 50 e 40 componentes para as frações de LT, LN e FL, respectivamente.

Nos LT os ácidos graxos majoritários, com teores decrescentes para o mesmo tratamento ou mesmo nível de óleo de linhaça foram: o ácido linoléico, 18:2n-6, seguido do oléico, 18:1n-9 e palmítico, 16:0 (Tabela 3, capítulo III). Nas frações de LN, os majoritários para os tratamentos A, B e C foram os mesmos dos encontrados nos LT, porém nos tratamentos D e E, os majoritários foram os ácidos oléico, linoléico e palmítico (Tabela 1). Na fração de FL, os ácidos graxos majoritários foram o linoléico, palmítico e oléico, para todos os tratamentos, conforme Tabela 2.

3.2. COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE IMPORTÂNCIA NUTRICIONAL E DE OUTROS COMPONENTES NAS FRAÇÕES

Os teores dos ácidos alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3), eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3), docosahexaenóico (DHA, 22:5n-3) e

araquidônico (AA, 20:4n-6) foram analisados nas frações de lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL), conforme os dados apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Os teores dos ácidos LNA e EPA, nas frações de LN e FL, foram sempre crescentes e com diferença significativa entre todos os tratamentos à medida que aumentaram os níveis de óleo de linhaça. Enquanto que, para o DHA apesar dos teores serem crescentes com o aumento dos níveis de linhaça, foram observadas diferenças significativas apenas entre alguns tratamentos.

Nas comparações entre as frações de LN e FL para um mesmo tratamento com óleo de linhaça, os teores do ácido LNA foram sempre superiores na fração de LN em relação à fração de FL, enquanto que para os ácidos EPA, DHA e AA, os teores foram sempre superiores na fração de FL.

Teores sempre superiores do ácido LNA na fração de LN (em relação à fração de FL) e teores sempre superiores de EPA, DHA e AA na fração de FL (em relação à fração de LN) foram encontrados em diversas espécies de peixes de cativeiro: Maia (1992), em tilápias (*Oreochromis niloticus*); Maia & Amaya-Rodriguez (1992), em tambaqui (*Colossoma macropomum*); Maia *et al.*, (1995), em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Em espécies de peixes de rios, resultados semelhantes foram observados por Maia *et al.*, 1994, em curimatá (*Prochilodus scrofa*); Silva (2000), em tucunaré (*Cichla ocellaris*) e curimatã (*Prochilodus nigricans*).

O LNA é um ácido graxo com cadeia carbônica menor e com menor número de insaturações do que os ácidos EPA, DHA e AA. Portanto, na fração de LN, o ácido LNA possivelmente foi armazenado na estrutura dos triacilgliceróis (TG), um dos principais componentes da fração de LN ou de outras subclasses desta fração, independente do sistema de criação dos peixes citados anteriormente ou dos diferentes tratamentos com óleo de linhaça deste trabalho.

Os dimetilacetais (DMAs), conforme Tabelas 1 e 2, foram encontrados nas frações de FL, com valores de 18:1DMA (1,61 a 1,81%), seguido pelo 16:0DMA (1,09 a 1,29%) e 18:0DMA (0,63 a 0,75%). Na fração de LN, não foi detectado o 18:0DMA e as quantidades de 16:0DMA (tr a 0,09%) e 18:1DMA

(tr a 0,10%). Estes resultados parecem demonstrar, que grande parte dos DMAs se originaram de plasmalogênios fosforilados.

O ácido linolelaídico (t,t-18:2n-6) é um ácido da configuração geométrica *trans* e foi encontrado nos lipídios totais do tecido muscular da tilápias com percentagem de 0,11; 0,09; 0,06; 0,05 e traços, para os tratamentos A, B, C, D e E, respectivamente (Tabela 3, capítulo III). A presença deste ácido também foi detectada nas frações de LN com 0,08% (tratamento A) e 0,04% (tratamento B) e nos tratamentos C, D e E, em quantidades traços. Nos FL, foi encontrado 0,06% para o tratamento A e nos demais tratamentos em quantidades traços.

Apesar dos baixos teores do ácido linolelaídico nos LT e nas frações de LN e FL deste trabalho, os resultados mostraram que este ácido foi transferido para a carne das tilápias através das rações e armazenado tanto nos fosfolipídios (que podem fazer parte da estruturas celulares) como nos lipídios neutros. É importante salientar que os ácidos graxos *trans* têm propriedades físico-químicas e bioquímicas diferentes dos isômeros naturais *cis*. Existe uma hipótese de que a incorporação de ácidos graxos *trans* afeta o funcionamento normal das membranas celulares e, conseqüentemente, o desenvolvimento e proliferação de certas células anormais (Brisson, 1981). Desta forma, a inclusão de rações com elevados níveis de ácidos graxos *trans* deve ser avaliada, uma vez que estes ácidos são transferidos para as carnes dos peixes.

3.3. SOMATÓRIAS DE AGS, AGMI, AGDI, AGAI, AGPI, n-3 E n-6 NOS LT E NAS FRAÇÕES DE LN E FL

A Tabela 3 mostra os resultados das somatórias da percentagem relativa dos ácidos: saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI), diinsaturados (AGDI), ácidos graxos altamente insaturados (duplas ≥ 3 ; AGAI), ácidos graxos poliinsaturados (duplas ≥ 2 ; AGPI), n-3 e n-6, nos lipídios totais (LT), frações de lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL), dos tratamentos.

Não ficaram bem estabelecidas as correlações das somatórias dos AGS e dos AGMI nos LT e nas frações de LN e FL, com o aumento dos níveis de óleo de linhaça, porém diferenças significativas foram observadas entre alguns tratamentos (Tabela 3).

Os valores das somatórias de AGS foram sempre superiores para todos os tratamentos da fração de FL (27,80 a 25,53%) em relação às somatórias nos LT (23,57 a 22,70%) e na fração de LN (22,33 a 20,56%), enquanto que, a somatória dos AGMI foi sempre superior para a fração de LN (33,14 a 32,27%), seguido pelos LT (27,03 a 25,77%) e pela fração de FL (19,21 a 18,18%).

Comparando-se os resultados acima com os de Maia (1992), em tilápias, foi observada inversão da composição de AGS nas frações de LN (40,5%) e FL (36,5%). Na somatória de AGMI de Maia (1992), no entanto, a composição foi de 34,7% na fração de LN e de 20,1% na fração de FL, seguindo a mesma tendência das tilápias do presente experimento.

As somatórias de AGDI, para os diferentes tratamentos, foram decrescentes à medida que aumentaram os níveis de óleo de linhaça com diferença significativa para todos os tratamentos nos LT e FL. Na fração de LN os valores também foram decrescentes, porém não foram observadas diferenças significativas entre alguns tratamentos.

Nas somatórias de AGPI dos LT, LN e FL (Tabela 3), não ficou bem estabelecida a influência do óleo de linhaça entre os diferentes tratamentos, pois não foram observadas diferenças significativas entre alguns tratamentos que receberam óleo de linhaça e o tratamento A (controle). Por

outro lado, as somatórias de AGAI mostraram na sua maioria, resultados que indicam diferenças significativas com valores crescentes à medida que foram adicionados níveis crescentes de óleo de linhaça. Isto ocorreu devido à ausência dos AGDI, que não foram incluídos nos cálculos das somatórias dos AGAI (duplas ≥ 3). Desta forma, a somatória de AGAI foi melhor para avaliar os tratamentos com relação às somatórias de AGPI.

Nos LT, LN e FL, as somatórias dos ácidos graxos da família n-3 foram sempre crescentes, enquanto que as somatórias dos ácidos n-6 foram sempre decrescentes e, em ambas as famílias, a diferença foi significativa entre todos os tratamentos à medida que aumentaram os níveis de óleo de linhaça. A única exceção foi para a somatória n-6 da fração LN, onde não houve diferença significativa entre os tratamentos D e E, conforme Tabela 3.

Tabela 3. Somatórias de grupos de ácidos graxos nos LT, nas frações de LN e FL do tecido muscular de tilápias dos tratamentos A, B, C, D e E.

GRU	TRATAMENTOS				
	A	B	C	D	E
AGS (LT)	23,50±0,85a	22,86±0,64b	23,57±0,69a	22,70±1,08b	22,84±0,78
AGS (LN)	22,33±1,64a	20,56±0,57b	22,12±0,58a	21,47±1,11d	20,88±0,86
AGS (FL)	26,49±0,58a	25,78±0,79b	26,77±0,78a	27,80±1,16c	25,53±1,30
AGMI (LT)	27,03±2,04a	26,57±1,16ab	26,58±1,34a	26,79±2,18a	25,77±1,18
AGMI (LN)	32,79±1,41a	32,67±0,40ab	32,95±1,16a	33,14±1,05a	32,27±1,03
AGMI (FL)	18,44±1,72a	18,18±0,60a	18,45±0,96a	19,21±0,72b	18,32±0,67
AGDI (LT)	31,63±1,73a	30,10±1,11b	27,18±0,98c	24,45±0,91d	22,15±1,51
AGDI (LN)	35,51±2,63a	34,39±1,38a	29,88±1,15b	25,57±1,24c	24,96±1,43
AGDI (FL)	25,83±2,24a	24,87±1,06b	23,45±0,43c	21,63±1,35d	20,20±0,50
AGAI (LT)	15,50±1,99a	18,25±1,32b	20,27±1,33c	23,41±1,21d	26,41±1,84
AGAI (LN)	8,03±0,40a	11,31±0,67b	13,85±0,69c	18,52±1,21d	20,53±2,23
AGAI (FL)	24,86±3,20a	26,96±1,52b	26,52±0,87b	26,72±1,52b	30,78±1,57
AGPI (LT)	47,13±2,17a	48,35±1,01ab	47,45±1,06a	47,86±1,77a	48,56±0,84
AGPI (LN)	43,54±1,98a	45,70±2,01b	43,73±1,80a	44,09±1,87a	45,49±2,01
AGPI (FL)	50,69±2,08a	51,83±1,97b	49,97±1,82c	48,35±1,65d	50,98±1,79
n-3 (LT)	3,87±0,59a	8,13±0,53b	12,10±0,93c	16,58±0,85d	20,11±1,85
n-3 (LN)	2,64±0,24a	6,52±0,12b	10,27±0,92c	15,31±1,55d	17,74±2,39
n-3 (FL)	5,80±0,76a	9,93±0,50b	13,81±0,85c	17,02±1,37d	21,06±1,22
n-6 (LT)	42,93±2,12a	39,94±0,75b	35,06±1,22c	31,05±1,28d	28,17±1,48
n-6 (LN)	40,50±2,67a	38,78±0,86b	33,03±1,40c	28,47±1,35d	27,40±1,57
n-6 (FL)	44,54±1,25a	41,57±1,00b	35,85±0,64c	31,13±1,58d	29,56±1,04

Os valores apresentados são de somatórias com as respectivas estimativas dos desvios padrões. Valores na mesma linha seguidos por nenhuma letra em comum são significativamente diferentes ao nível de 5%.

As somatórias são de ácidos graxos: AGS (saturados); AGMI (monoinsaturados); AGDI (diinsaturados); AGAI (altamente insaturados); AGPI (poliinsaturados); n-3 (ômega-3) e n-6 (ômega-6).

3.4. RAZÕES n-6/n-3, AGAI/AGS E AGPI/AGS NOS LT E FRAÇÕES DE LN E FL

A Tabela 4 mostra as razões entre as somatórias dos ácidos: n-6/n-3, altamente insaturados/saturados (AGAI/AGS) e dos poliinsaturados/saturados (AGPI/AGS) nos LT e frações dos LN e FL, para os diferentes tratamentos.

Tabela 4. Razões entre grupos de ácidos graxos nos LT, nas frações de LN e FL do tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos tratamentos A, B, C, D e E.

GRUPOS	TRATAMENTOS				
	A	B	C	D	E
n-6/n-3 (LT)	11,09±1,66 a	4,91±0,31b	2,90±0,28c	1,87±0,09d	1,40±0,22e
n-6/n-3 (LN)	15,34±1,78 a	5,95±0,21b	3,22±0,37c	1,86±0,22d	1,54±0,29d
n-6/n-3 (FL)	7,68±1,04a	4,19±0,18b	2,60±0,18c	1,83±0,21d	1,40±0,10e
AGAI/AGS (LT)	0,66±0,09a	0,80±0,05b	0,86±0,05c	1,03±0,07d	1,16±0,07e
AGAI/AGS (LN)	0,36±0,03a	0,55±0,02b	0,63±0,04c	0,86±0,08d	0,98±0,13e
AGAI/AGS (FL)	0,94±0,12a	1,05±0,7b	0,99±0,04a b	0,96±0,08a	1,21±0,12c
AGPI/AGS (LT)	2,01±0,15a	2,12±0,09b	2,01±0,08a	2,11±0,15b	2,13±0,09b

AGPI/AGS (LN)	1,95±0,12a	2,22±0,14b	1,98±0,11a	2,05±0,13a	2,18±0,15b
AGPI/AGS (FL)	1,91±0,10a	2,01±0,09b	1,87±0,08a	1,74±0,91c	2,00±0,10b

Os valores apresentados são de razões com as respectivas estimativas dos desvios padrões. Valores na mesma linha seguidos por nenhuma letra em comum são significativamente diferentes ao nível de 5%.

As razões são entre as somatórias dos grupos: ômega-6/ômega-3 (n-6/n-3); ácidos graxos altamente insaturados/ ácidos graxos saturados (AGAI/AGS) e ácidos graxos poliinsaturados /ácidos graxos saturados (AGPI/AGS).

Os valores das razões de n-6/n-3 encontrados (Tabela 4) foram: LN (15,34 a 1,54); LT (11,09 a 1,40) e FL (7,68 a 1,40), os valores foram sempre decrescentes e com diferença significativa na maioria dos tratamentos à medida que aumentaram os níveis de óleo de linhaça.

Análises comparativas entre as frações de LN e FL mostraram que, a fração de FL sempre apresentou valores inferiores na razão n-6/n-3 para cada nível de óleo de linhaça. Em trabalho realizado por Maia (1992), foram encontradas as razões n-6/n-3 nas frações de LN (14,6) e FL (5,0) para tilápias cultivadas em cativeiro.

Em trabalhos realizados por pesquisadores no Brasil, foram obtidas as seguintes razões de n-6/n-3 nas frações de FL: pacu, 2,7 (Maia *et al.*, 1995); tambaqui, 2,3 (Maia & Rodriguez-Amaya, 1992), sendo todas estas espécies de cativeiro. No presente trabalho, os valores das razões n-6/n-3 na fração de FL foram inferiores aos resultados dos trabalhos acima, para os tratamentos que receberam maiores níveis de óleo de linhaça, tratamento D (1,83) e E (1,40), conforme Tabela 4.

As razões AGAI/AGS apresentaram valores crescentes de A para E e com diferença significativa entre todos os tratamentos para os LT e LN. Estes resultados não foram observados na fração de FL, conforme mostra a Tabela 4.

Nos LT, LN e FL, as razões AGPI/AGS sempre aumentaram entre o tratamento A (controle) e o E (maior nível de óleo de linhaça), com diferença significativa entre eles, porém nos tratamentos intermediários estas diferenças não foram sempre observadas (Tabela 4).

A razão AGAI/AGS foi um índice que apresentou melhores resultados em relação ao AGPI/AGS, uma vez que indicou diferença significativa entre todos os tratamentos com óleo de linhaça nas frações de LT e LN, fato que não foi observado pela razão AGPI/AGS.

Nos LT, LN e FL, os valores das somatórias de AGDI, AGAI, n-3 e n-6 e a razão n-6/n-3, de maneira geral, foram bons indicadores para avaliar os efeitos do óleo de linhaça nos diferentes tratamentos, uma vez que forneceram resultados com diferença significativa entre a maioria dos

tratamentos. Por outro lado, na somatória de AGPI destas frações, não ficaram bem estabelecidas tais diferenças entre os tratamentos.

De maneira geral, o fracionamento dos LT em frações de LN e FL forneceu dados importantes sobre a composição de ácidos graxos nos diferentes tratamentos com óleo de linhaça e mostrou a influência deste óleo na composição das diferentes frações do conteúdo lipídico das tilápias. Além disso, o fracionamento permitiu avaliar as características desta composição, principalmente sobre a concentração de certos ácidos graxos ou de grupos de ácidos graxos nas diferentes frações, os quais são importantes para a saúde humana. Do ponto de vista tecnológico, a separação dos LT em classes pode vir a ser utilizada na concentração de certos ácidos graxos de interesse biológico ou ainda fornecer dados que possam ser importantes durante o preparo, armazenamento e processamento de peixes.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, C. E.; FOEGEDING, E. A. Some lipid characteristics and interactions in muscle foods - A review. Food Technol., v. 35, p. 252-57, 1981.**
- BELDA, M. C. R.; CAMPOS, M. A. P. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. Ciênc. Tecnol. Aliment., v.11, p. 5-33, 1991.**
- BRADDOCK, R. J.; DUGAN Jr., L. R. Phospholipid changes in muscle from frozen stored lake Michigan coho salmon. J. Food Sci., v. 37, p. 426-29, 1972.**
- BRISSON, G. J. Lipids in human nutrition. MTP press limited, New Jersey, USA, 1981. 175p.**
- CARTER, J. F. Potential of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. Cereal Food World, v.38, p.753-59, 1993.**
- CHRISTIE, W. W. Lipid analysis, Oxford, England. Pergamon Press, 1994. 307p.**
- GEURDEN, I.; BERGOT, P.; RYCKEGHEM, K. V.; SORGELOOS, P. Phospholipid composition of common carp (Cyprinus carpio) larvae starved or fed different phospholipid classes. Aquaculture, v. 171, p. 93-107, 1999.**
- GUZMÁN, E. S. C. Bioquímica de pescados e derivados. Editora FUNEP - Universidade de São Paulo, Jaboticabal. 1994. 409p.**
- HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. Prog. Lipid Res., v. 26, p. 281-347, 1987.**
- HUNTER, B. J.; ROBERTS, D. C. K. Potential impact of the fat composition of farmed fish on human health. Nutr. Res., v. 20, p. 1047-58, 2000.**
- JOHNSTON, J. J.; GHANBARI, H. A.; WHEELER, W. B.; KIRK, J. R. Characterization of shirimp lipids. J. Food. Sci., v. 48, p. 33-5, 1983.**
- KATES, M. Techniques of Lipidology, North Holland/American Elsevier Publ. Co., London. 1972. p. 269-610.**
- MAIA, E. L. Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídios e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de**

peixes de água doce. Campinas. 1992. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Campinas).

MAIA, E. L.; OLIVEIRA, C. C. S.; SANTIAGO, A. P.; CUNHA, F. E. A.; HOLANDA, F. C. A. F.; SOUSA, J. A. Composição química e classes de lipídios em peixe de água doce curimatã comum, *Prochilodus cearensis*. Ciênc. Tecnol. Aliment., v. 19, p. 433-37, 1999.

MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Fatty acid composition of the total, neutral and phospholipids of the Brazilian freshwater fish *Colossoma macropomum*. In: Food Science and Human Nutrition. G. Charalambous Ed., 1992. p. 633-42.

MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; FRANCO, M. R. B. Fatty acids of the total, neutral, and phospholipids of the Brazilian freshwater fish *Prochilodus scrofa*. J. Food Comp. Anal., v. 7, p. 240-51, 1994.

MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; HOTTA, L. K. Fatty acids composition of the total, neutral and phospholipids of pond-raised Brazilian *Piaractus mesopotamicus*. Int. J. Food Sci. Technol., v. 30, p. 591-97, 1995.

SHEWFELT, R. L. Fish muscle lipolysis - A review. J. Food Biochem., v.5, p. 79-100, 1981.

SILVA, A. J. I. Composição lipídica e quantificação dos ácidos graxos polinsaturados EPA (20:5 n-3) e DHA (22:6 n-3) de peixes de água doce. Campinas. 2000. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Campinas).

SIMOPOULOS, A. P.; LEAF, A.; SALEM, N. Essentiality and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. Ann. Nutr. Metabol., v. 43, p. 127-30, 1999.

STANSBY, M. E. Polyunsaturated and fat in fish fresh. J. Am. Diet Assoc. Res., v. 63, p. 625-30, 1973.

WANG, Y. J.; MILLER, L. A.; PERREN, M.; ADDIS, P. B. Omega-3 fatty acids in Lake Superior fish. J. Food Sci., v. 55, p. 71-3, 1990.

CAPÍTULO V

ARTIGO CIENTÍFICO

**QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS
ALFA-LINOLÊNICO (LNA), EICOSAPENTAENÓICO (EPA) E
DOCOSAHEXAENÓICO (DHA) EM TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*)
SUBMETIDAS A DIFERENTES TRATAMENTOS COM ÓLEO DE LINHAÇA**

Este trabalho será enviado à Revista *Journal of Food Composition and Analysis*.

QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS ALFA-LINOLÊNICO (LNA), EICOSAPENTAENÓICO (EPA) E DOCOSAHEXAENÓICO (DHA) EM TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDAS A DIFERENTES TRATAMENTOS COM ÓLEO DE LINHAÇA

VISENTAINER, J.V.¹; FRANCO, M. R. B.²

1 - Universidade Estadual de Maringá - Depto de Química -

jvisentainer@uem.br

2 - Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP

Caixa postal - 6121 CEP - 13083-970

RESUMO

A importância dos ácidos poliinsaturados da família n-3 para a saúde humana, especialmente dos ácidos linolênico (LNA, 18:3n-3), eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA, 20:5n-3), tem sido objeto de inúmeras pesquisas realizadas em todo o mundo. Os peixes, de maneira geral, constituem uma boa fonte destes ácidos, especialmente os peixes marinhos de água frias e profundas. No Brasil, tem sido observado um crescimento na criação e consumo de peixes de cativeiro de água doce pelos brasileiros, especialmente de tilápias (*Oreochromis niloticus*). Contudo, pesquisas têm mostrado que peixes de água doce, inclusive tilápias, apresentam baixos teores destes ácidos, quando comparados com peixes marinhos ou peixes de água doce de *habitat* natural. Quanto às técnicas de quantificação de ácidos graxos, a maioria dos trabalhos realizados no Brasil e em outras partes do mundo expressa os resultados em termos de porcentagem de área relativa, utilizando somente o método da normalização simples, o que muitas vezes dificulta a interpretação e discussão de resultados em termos quantitativos. Assim, foi desenvolvido um experimento com o objetivo de aumentar os teores dos ácidos LNA, EPA e DHA em tilápias criadas em cativeiro e de quantificar estes ácidos em mg por grama de lipídios totais e tecido muscular. Neste experimento, tilápias foram submetidas a um sistema de confinamento, por um período de 5 meses, recebendo suplementação de rações com níveis

crescentes de óleo de linhaça, fonte do ácido LNA (um precursor de outros ácidos da família n-3, dentre estes, EPA e DHA) e um tratamento com ração à base de óleo de girassol (controle). A umidade e o teor de lipídios totais (LT) do tecido muscular foram determinados. Os LT foram metilados, separados e a quantificação dos ácidos LNA, EPA e DHA foi realizada por cromatografia gasosa de alta resolução. Na quantificação, utilizou-se como padrão interno o metil éster do ácido tricosanóico (23:0). Esta metodologia foi avaliada por 21 laboratórios internacionais e recomendada para a quantificação dos ácidos EPA e DHA. Os resultados de umidade e LT não mostraram diferenças significativas entre os tratamentos. Na quantificação dos ácidos LNA, EPA e DHA, em mg/g de LT, o aumento da concentração destes ácidos ficou bem estabelecido, com diferença significativa entre todos os tratamentos, à medida que a suplementação com óleo de linhaça foi aumentada. A aplicação desta metodologia de quantificação permitiu expressar a quantidade destes ácidos por quantidade de LT ou de tecido muscular e, conseqüentemente, realizar discussões e interpretações, em relação às necessidades de ingestão dos ácidos LNA, EPA e DHA, o que não seria possível utilizando somente o método da normalização simples.

ABSTRACT

The importance of n-3 polyunsaturated fatty acids family for human health, especially the α -linolenic acid (ALA, 18:3n-3), eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3), has been the subject of innumerous researches carried out all over the world. Fish, in a general manner, is a good source of these acids, mainly those from cold saltwater and deep sea. In Brazil, in the last years, there has been a growth in the production and consumption of freshwater fish reared in captivity systems, mainly the tilapias (*Oreochromis niloticus*). However, studies have shown that these freshwater fish, including the tilapias, present a low content of these acids, when compared to those from the sea or from natural habitats (rivers, reservoirs). As for the fatty acids quantification techniques, the majority of the Brazilian works and those from other parts of the world

express the results in terms of relative area percentage, what sometimes makes the interpretation and the discussion of results difficult. Thus, it was developed an experiment to increase the fatty acids ALA, EPA and DHA contents in tilapias raised in captivity and quantify these acids in mg per gram of total lipids and muscular tissue. In this experiment tilapias were taken to captivity for a period of 5 month only receiving increasing levels of linseed oil, a high source of ALA acid (a precursor of other n-3 family acids, as EPA and DHA) and a treatment of sunflower oil ration (control). Both the muscular tissue humidity and total lipids (TL) were determined. The TL were methylated, separated and the ALA, EPA and DHA acids quantification was carried out by high-resolution gas chromatography. For the quantification, it was used as an internal pattern, the methyl ester of tricosanoic acid (23:0). This methodology was evaluated by 21 international labs and recommended for the EPA and DHA acid quantifications. Both the humidity and TL results did not show any significant differences between the treatments. The increase of the concentration of ALA, EPA and DHA (in mg/g of TL) acids was well established, with a significant difference among all of the treatments, as the supplementation with linseed oil was increased. By using this quantification methodology, it was allowed to express the quantity of these acids by TL quantity or of muscular tissue, and consequently, promote discussions and interpretations as for the necessity of ALA, EPA and DHA acids intake, which would not be possible by the relative area percentage.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, houve a nível mundial um grande interesse pelos ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) ômega-3 (ou n-3) em pesquisas e, conseqüentemente, em indústrias alimentícias e farmacêuticas, as quais suplementaram alimentos e desenvolveram concentrados com ômega-3.

Os AGPI n-3 são precursores de compostos denominados de eicosanóides, os quais estão envolvidos em vários processos metabólicos de grande importância para os humanos, principalmente aqueles relacionados à atividade cardiovascular (von Schacky, 2000; Haglund *et al.*, 1998; Eritsland *et al.*, 1996; Kromhout *et al.*, 1995).

Na dieta humana, um elevado consumo de ácidos graxos n-6 e baixo de n-3 tem ocorrido, nos últimos 100 anos, devido ao crescente consumo de óleos vegetais como os de milho, girassol, algodão e soja. Hoje, nas dietas ocidentais a razão n-6/n-3 está estimada em aproximadamente 20 a 30:1, distante daquela ideal de 1 a 2:1 (Schmidt, 2000; Simopoulos *et al.* 1999). Esta alta razão n-6/n-3 gerou um desequilíbrio no balanceamento de ácidos graxos no organismo e, acredita-se que prejudicou as funções biológicas do organismo humano sendo responsável por hipertensão, desordens do sistema imunológico e inflamações, depressão e outros distúrbios nas funções neurológicas no homem.

Algumas alternativas têm sido sugeridas para aumentar os níveis de AGPI n-3 na dieta ocidental, como o aumento na dieta de alimentos de origem marinha, especialmente peixes, utilização de concentrados à base de óleos marinhos e inclusão na dieta de alimentos suplementados com AGPI n-3. No entanto, estas alternativas são de custos elevados e muitas vezes longe do poder aquisitivo da maioria da população brasileira.

Os peixes de origem marinha comumente constituem uma excelente fonte de AGPI n-3, por sua vez, peixes de água doce podem apresentar altos níveis de AGPI com 18 átomos de carbonos e consideráveis concentrações dos ácidos graxos de cadeia longa, como o eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) (Steffens, 1997).

No Brasil, uma das alternativas para aumentar a ingestão de AGPI n-3 é a inclusão de peixes de cativeiro de água doce na alimentação. A criação destes peixes tem aumentado nos últimos anos, destacam-se principalmente espécies exóticas, como a tilápia (*Oreochromis niloticus*), que apresenta uma boa aceitação pelo consumidor e comumente tem preço relativamente baixo em relação a outros peixes de cativeiro, nativos ou marinhos.

No entanto, os ácidos graxos que compõem os lipídios de pescado refletem a variabilidade de ácidos graxos presentes na dieta destas espécies (Henderson & Tocher, 1987). Steffens (1997) relatou que salmonídeos e carpa de água doce, alimentados com dietas contendo elevadas quantidades de óleos de peixe, produziram níveis consideráveis de AGPI n-3. Em pesquisas realizadas no Brasil, foi demonstrado que peixes de cativeiro, alimentados exclusivamente com rações, apresentaram baixos níveis de AGPI n-3, quando comparados com espécies nativas (Moreira *et al.*, 2001).

Apesar de não estar definitivamente estabelecido, alguns autores sugerem quantidades de AGPI n-3 a serem ingeridas pelo homem. A ingestão diária (EPA + DHA) de 1,25g (Gester, 1997), 0,65g (Kris-Etherton *et al.* 2000) e de 0,2g de AGPI n-3 de cadeia longa (*Department of Health*, 1994) tem sido recomendada para a prevenção de doenças cardiovasculares e inflamatórias.

A ingestão de 0,8 a 1,1g de LNA, um precursor dos demais ácidos da família n-3, também tem sido recomendada por pesquisadores (Galli & Simopoulos, 1989), apesar da baixa taxa de conversão deste ácido em AGPI n-3 de cadeia longa, especialmente EPA e DHA (Rice, 1996; Layne *et al.*, 1996).

Uma das maiores fontes de LNA é a semente de linho (*Linum usitatissimum*), que ganhou prestígio nos últimos anos, devido ao elevado teor deste ácido (Ceotto, 2000). Esta herbácea cresce com facilidade em climas tropicais ou temperados e a semente apresenta uma variação aproximada de 32 a 38% de óleo, que é constituído da seguinte composição

em % relativa de ácidos graxos: palmítico (16:0), 4,6 a 6,3%; esteárico (18:0), 3,3 a 6,1%; oléico (18:1n-9), 19,3 a 29,4%; linoléico (18:2n-6), 14,0 a 18,2% e alfa-linolênico (18:3n-3), 44,6 a 51,5% (Carter, 1993).

No Brasil, os trabalhos existentes com relação à composição de ácidos graxos em óleos de peixes e outros materiais lipídicos utilizam a cromatografia gasosa e o detector de ionização de chama como instrumento de análise. Os resultados dos ácidos graxos são comumente expressos em termos percentuais relativos, utilizando somente o método da normalização simples. Desta forma, os valores percentuais de ácidos graxos apresentados não expressam resultados reais em termos quantitativos, uma vez que o detector responde diferencialmente entre as diferentes cadeias carbônicas de ácidos graxos e, como salientado por Joseph & Ackman (1992), o conteúdo de glicerol é geralmente ignorado, assim como a quantidade de esteróis livres, principalmente o colesterol, além de outras substâncias que eventualmente podem estar presentes no extrato lipídico. Portanto, para a quantificação adequada dos ácidos graxos devem ser utilizados métodos de calibração, cujos resultados permitem aplicações em termos nutricionais, comparações quantitativas e construção de tabelas de composição.

A importância do uso de AGPI n-3 na dieta vem sendo bastante divulgada no Brasil, porém trabalhos de quantificação de ácidos graxos, que expressam os resultados em massa de ácido graxo por massa de lipídios totais ou massa da parte comestível, utilizando padronização interna, são praticamente inexistentes.

O objetivo deste trabalho foi de melhorar o valor nutricional do tecido muscular (filé) de tilápias (*Oreochromis niloticus*), criadas em sistema de cativeiro e alimentadas com diferentes níveis de suplementação óleo de linhaça, além de utilizar técnicas modernas de quantificação dos ácidos graxos LNA, EPA e DHA em mg/grama de lipídios totais ou da parte comestível das tilápias.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos relativos ao sistema de confinamento, preparo de amostras e rações, determinações físico-químicas, identificação de ácidos graxos e análise estatística foram descritos anteriormente em materiais e métodos (capítulo III).

2.1. PROCEDIMENTO DA ANÁLISE DOS ÁCIDOS GRAXOS LNA, EPA E DHA

A transesterificação dos ácidos graxos e quantificação dos ácidos LNA, EPA e DHA nos lipídios totais foram realizadas segundo os procedimentos de Joseph & Ackman (1992). Todas as etapas do processo foram realizadas sob atmosfera de N₂ gasoso e o procedimento foi realizado da seguinte forma: Em um tubo de vidro com tampa rosqueável foi adicionado 1mL de uma solução com concentração de 1mg/mL de metiltricosonato (padrão interno) em isooctano, em seguida o solvente foi completamente removido com fluxo de N₂ gasoso. Posteriormente, cerca de 25mg de lipídios totais foram pesados no tubo contendo o padrão interno e, a este se adicionaram 1,5mL de uma solução metanólica de NaOH 0,5mol/L. Em seguida, a solução foi aquecida em banho-maria a 100°C por aproximadamente 5 minutos e resfriada à temperatura ambiente.

Dois mililitros (mL) de uma solução de BF₃ (trifluoreto de boro) a 12% em metanol foram adicionados ao tubo, que foi novamente aquecido em banho-maria a 100°C, durante 30 minutos e resfriado em água corrente, até a temperatura ambiente. Imediatamente após, foi adicionado 1mL de isooctano, agitado vigorosamente por 30 segundos e, finalmente, adicionaram-se 5mL de solução aquosa saturada de NaCl. A amostra esterificada foi mantida em repouso na geladeira, para permitir uma melhor separação das duas fases. O sobrenadante foi retirado e transferido para um frasco âmbar de 7mL e mais 1mL de isooctano foi adicionado ao tubo e após agitação, retirado e adicionado à fração anterior, que foi então concentrada para um volume final de aproximadamente 1mL, sob atmosfera de N₂ gasoso.

A separação dos ésteres metílicos foi realizada em um cromatógrafo a gás Varian, mod. 3300, equipado com detector de ionização de chama, injetor *split/splitless* e coluna capilar de sílica fundida DB-WAX 20M (30m X 0,25mm X 0,25µm) (J&W Scientific, USA). Os parâmetros de análises foram os seguintes: temperatura do injetor 250°C; temperatura do detector 280°C; temperatura da coluna 170°C; por 16 minutos e programada a 2°C por minuto até 210°C, permanecendo nesta temperatura por 30 minutos. Hidrogênio foi utilizado como gás de arraste a 1mL/min., velocidade linear de 38cm/s com filtro de oxigênio acoplado à linha do gás; nitrogênio foi utilizado como gás *make up* a 30mL/min., fluxo do gás hidrogênio 30mL/min., ar sintético de 300mL/min. e injeção tipo *split* na razão 1:50. Os lipídios totais de cada extração foram submetidos a uma metilação e as injeções com volume de 1µL realizadas em duplicatas. O tempo de retenção e a área dos picos foram obtidos com o uso de um integrador Varian mod. 4290.

2.2. QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS LNA, EPA E DHA

Os ácidos graxos LNA, EPA e DHA foram quantificados em mg/g de lipídios totais, através da padronização interna e utilizando padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos da marca Sigma com 99% de pureza. O metil éster do ácido tricosanóico (23:0, metil-tricosonoato) foi utilizado como padrão interno, por não estar presente nas amostras analisadas.

Os cálculos foram realizados seguindo a metodologia de Joseph & Ackman (1992), conforme a equação:

$$\text{LNA, EPA ou DHA (mg/g)} = [(A_X \times M_P \times F_{CX}) / (A_P \times M_A \times F_C)]$$

onde:

A_X = Área de LNA, EPA ou DHA;

A_P = Área do padrão interno;

F_{CX} = Fator de correção teórico (detector) dos ácidos LNA, EPA e DHA.

M_P = Massa do padrão interno adicionado à amostra em miligramas;

M_A = Massa da amostra de lipídios totais em gramas;

F_C = Fator de conversão para expressar os resultados em mg de ácido graxo/g de lipídios totais a partir dos metil ésteres de LNA, EPA e DHA. Foram utilizados os valores de 1,04 para EPA e DHA e de 1,05 para o LNA.

2.3. TESTES DE RECUPERAÇÃO E PRECISÃO ANALÍTICA

A eficiência da metodologia de metilação foi verificada utilizando-se padrões de ácidos graxos de LNA, EPA e DHA e *Cod liver Oil* (CLO). Após determinação das quantidades de LNA, EPA e DHA em mg/g de CLO, acrescentaram-se, em triplicada e separadamente, quantidades conhecidas dos padrões de ácidos graxos de LNA, EPA e DHA ao CLO e procedeu-se a metilação.

A precisão da análise foi estimada a partir dos resultados quantitativos de 5 metilações consecutivas de uma mesma amostra com padrão interno.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. FATOR DE RESPOSTA PARA OS ÁCIDOS LNA, EPA E DHA

Na quantificação dos ácidos LNA, EPA e DHA pelo método de Joseph & Ackman (1992), foi realizado o cálculo do fator de resposta do detector de ionização de chama (DIC) para os referidos ácidos em relação ao padrão interno (metil-tricosonoato).

O uso do fator de correção teórico (F_{CX}) nas determinações quantitativas de ácidos graxos poliinsaturados, como os ácidos LNA, EPA e DHA, é recomendado por vários pesquisadores, (Joseph & Ackman, 1992; Shanta & Ackman, 1990; Bannon *et al.*, 1986), desde que os parâmetros químicos e instrumentais também estejam otimizados para assegurar que erros oriundos destes parâmetros foram eliminados.

A recomendação do fator teórico é baseada na instabilidade oxidativa dos insaturados, pois é impossível a obtenção e manutenção de padrões

desta natureza com alto grau de pureza livres da autooxidação (Bannon *et al.*, 1986).

Desta maneira, primeiramente, houve dificuldade de encontrar os fatores de correção experimentais próximos aos teóricos para os ácidos LNA, EPA e DHA, possivelmente devido à instabilidade oxidativa dos ácidos poliinsaturados. Posteriormente, utilizaram-se padrões lacrados e novos destes ácidos, com alto grau de pureza, os quais foram preparados e imediatamente injetados no cromatógrafo, minimizando assim os erros provenientes dos parâmetros químicos.

Em relação ao metil-tricosonoato (padrão interno), os ácidos LNA apresentaram fator de correção experimental de $0,97 \pm 0,02$, EPA de $0,99 \pm 0,02$ e DHA de $0,98 \pm 0,02$. Os valores teóricos dos fatores de correção foram de: 1,01 (LNA); 0,99 (EPA) e 0,97 (DHA), conforme descrito por Craske & Banon (1988).

O uso de padrões de ácidos graxos saturados é uma maneira de verificar a otimização do instrumento, uma vez que os ácidos saturados apresentam menor grau de instabilidade em relação aos poliinsaturados. Assim, foi utilizado um frasco de metil éster do ácido 22:0 (metil-docosonoato), lacrado e novo. As análises forneceram valor do fator de resposta experimental de $1,01 \pm 0,01$, enquanto o fator de resposta teórico foi de 1,01. Isto demonstrou que, as condições de aplicação da metodologia estavam otimizadas e, portanto, foram utilizados os fatores de correção teóricos para os cálculos em mg/g de LNA, EPA e DHA.

Em ensaios realizados preliminarmente com metil ésteres de ácidos graxos saturados 20:0 (metil-eicosanoato) e 24:0 (metil-tetracosanoato), não lacrados e antigos, foram encontrados valores muito superiores na diferença entre o fator de correção teórico e experimental, em relação aquele encontrado para o 22:0 (metil-docosonoato). Portanto, apesar dos ácidos graxos saturados apresentarem maior estabilidade em relação aos insaturados, recomenda-se nas metodologias de quantificação o uso de padrões sempre novos, preparados e armazenados adequadamente e que seja realizado imediatamente o processo cromatográfico.

3.2. RECUPERAÇÃO E PRECISÃO ANALÍTICA

As percentagens de recuperação para os ácidos foram de: $99,5 \pm 0,2$ (LNA); $99,2 \pm 0,2$ (EPA) e $99,5 \pm 0,3$ (DHA), indicando alta acuidade. Valores muito próximos foram encontrados por Silva (2000), 99,1 e 99,4 para o EPA e DHA, respectivamente.

Os valores dos coeficientes de variação (CV%) da determinação quantitativa de LNA, EPA e DHA, foram de 2,9%; 2,6% e 2,9%, respectivamente, indicando alta precisão. No trabalho colaborativo de Joseph & Ackman (1992), envolvendo 21 (vinte e um) laboratórios, em análises realizadas no óleo de “*menhaden*”, foram encontrados valores de CV% nos ácidos EPA e DHA de 5,9% e 5,3%, respectivamente.

3.3. TEOR DE LIPÍDIOS, UMIDADE E COMPOSIÇÃO DE LNA NAS RAÇÕES

A Tabela 1 mostra a composição de lipídios totais, umidade e a composição quantitativa em mg de LNA, EPA e DHA/g de lipídios totais das rações. Os resultados são médias finais dos diferentes tratamentos, obtidas das análises realizadas durante o monitoramento.

Estudos realizados com diversas espécies de peixes indicaram os níveis de 10-20% de lipídios nas rações como sendo ideais para a obtenção de excelentes taxas de ganho de peso (crescimento) e, para tilápias (*Oreochromis niloticus*), foram observadas melhores taxas de crescimento quando estas espécies foram alimentadas com suplementação de 5% de óleos vegetais (Martino & Takahashi, 2001).

Tabela 1. Lipídios totais (%), umidade (%) e teores de LNA, EPA e DHA (mg/g de lipídios totais) das rações dos diferentes tratamentos

CONSTITUINTE	¹ TRATAMENTOS				
	A	B	C	D	E
² Lipídios totais	7,6±0,3a	7,7±0,4a	8,0±0,6a	8,0±0,7a	7,8±0,3a
² Umidade	9,7±1,4a	9,6±1,4a	9,6±1,6a	9,4±1,70a	9,9±2,0a
³ LNA	13,60±2,0	79,38±3,8	140,19±13,0	202,11±11,6	272,36±8,57
³ EPA	nd	nd	nd	nd	nd
³ DHA	nd	nd	nd	nd	nd

¹Tratamentos: A (0,00%); B (1,25%); C (2,50%); D (3,75%) e E (5,00%) de óleo de linhaça completados até 5,00% com óleo de girassol.

²Cada valor é a média de 18 análises.

³Cada valor é a média de 36 análises de ácidos graxos expressa mg/100g de lipídios totais.

Médias (com as respectivas estimativas dos desvios padrões) na mesma linha seguidas por nenhuma letra em comum são significativamente diferentes ao nível de 5%.

LNA, EPA e DHA, ácidos alfa-linolênico, eicosapentaenóico e docosahexaenóico, respectivamente. nd, não detectado.

Neste experimento, as rações foram suplementadas com 5% de lipídios (óleo de linhaça), porém as médias finais de lipídios totais após as rações preparadas foram sempre superiores a 5%, devido aos lipídios provenientes dos demais constituintes das rações e não houve diferença significativa entre as médias dos diferentes tratamentos, conforme a Tabela 1.

Não houve diferença significativa entre as médias de umidade nas diferentes rações, conforme mostra a Tabela 1, cujos valores estão abaixo daqueles comumente encontrados nas rações comerciais, que são de aproximadamente 13% (Nutron Alimentos, 1998).

As concentrações de LNA em mg/g de lipídios totais aumentaram, com diferença significativa entre todos os tratamentos, à medida que aumentaram os níveis de óleo de linhaça adicionados às rações, e variaram de 13,60 a 272,36 mg/g de lipídios totais. Os ácidos EPA e DHA não foram encontrados nas rações, conforme mostra a Tabela 1.

3.4. LIPÍDIOS TOTAIS, UMIDADE DO TECIDO MUSCULAR E PESO DAS TILÁPIAS

Os pesos médios encontrados nos exemplares inteiros de tilápia (após o abate), os teores de lipídios totais (LT) e umidade do tecido muscular dos diferentes tratamentos são mostrados na Tabela 2.

A Tabela 2 mostra que, independentemente do tipo e quantidade de óleo vegetal (girassol e/ou linhaça) utilizado nas rações, não houve diferença significativa entre as médias de LT do tecido muscular das tilápias dos diferentes tratamentos com óleo de linhaça. Os teores de lipídios totais variaram de 1,0 a 1,2g/100g de tecido muscular das tilápias (Tabela 2). Segundo a classificação de Ackman (1989), a espécie deste experimento foi classificada como magra, pois apresentou teor de gordura menor que 2%. Em trabalho realizado por Maia (1992), o teor percentual de lipídios desta espécie (criada em cativeiro) foi de 1,3%, também classificada como magra.

Tabela 2. Teores de lipídios totais (%), umidade (%) no tecido muscular e peso das tilápias (*Oreochromis niloticus*) dos diferentes tratamentos

¹ TRATAMENTO S	² LIPÍDIOS TOTAIS	² UMIDADE	³ PESO (g)
A	1,1±0,2a	77,4±0,7a	295,3±83,7a
B	1,0±0,2a	76,8±0,4a	324,7±84,5a
C	1,2±0,3a	77,2±0,7a	284,4±72,7a
D	1,2±0,2a	77,3±1,2a	314,8±66,1a
E	1,1±0,2a	76,9±0,4a	292,2±81,8a

¹Tratamentos: A (0,00%); B (1,25%); C (2,50%); D (3,75%) e E (5,00%) de óleo de linhaça completados até 5,00% com óleo de girassol.

²Cada valor é a média de 15 análises com a respectiva estimativa do desvio padrão.

³Cada peso é a média com a respectiva estimativa do desvio padrão do total de exemplares do respectivo tratamento (total de exemplares/tratamento, A= 21; B=22; C= 19; D= 21 e E= 22).

Médias na mesma coluna seguidas por letras comuns não são significativamente diferentes ao nível de 5% de probabilidade.

Segundo Ogawa & Koike (1987), o teor de umidade nos pescados variam em média de 70 a 85%. Neste experimento, não houve diferença significativa nos teores de umidade entre os tratamentos. Os valores variaram de 76,8 a 77,4%, conforme a Tabela 2. Outros pesquisadores observaram teores de umidade de 78,4% (Maia, 1992) e 73,2% (Visentainer *et al.*, 2001) no tecido muscular de tilápias.

Neste estudo, os pesos médios dos exemplares de tilápias variaram de 284,4 a 324,7g, sem diferença significativa entre os diferentes tratamentos (Tabela 2). As tilápias produzidas neste experimento estão, em

média, dentro dos padrões comerciais existentes no Brasil, ou seja, com peso entre 300 a 500g (Ribeiro *et al.*, 1995).

3.5. QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS LNA, EPA E DHA NO TECIDO MUSCULAR DAS TILÁPIAS

Os valores dos ácidos LNA, EPA e DHA em mg/g de lipídios totais do tecido muscular das tilápias, nos diferentes tratamentos, estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Teor de LNA, EPA e DHA (mg/100g de lipídios totais) de tilápias (*Oreochromis niloticus*) submetidas a diferentes tratamentos com óleo de linhaça.

ÁCIDO	TRATAMENTOS				
	A	B	C	D	E
LNA	6,52±1,88 a	18,84±3,01 b	34,21±3,33 c	55,25±7,3 7d	59,28±7,56 e
EPA	0,15±0,01 a	0,82±0,11b	1,40±0,12c	2,01±0,37 d	2,54±0,46e
DHA	9,93±2,64 a	16,82±2,26 b	22,72±2,71 c	25,99±2,6 3d	26,13±4,17e

¹Tratamentos: A (0,00%); B (1,25%); C (2,50%); D (3,75%) e E (5,00%) de óleo de linhaça completados até 5,00% com óleo de girassol.

²Cada valor é a média de 30 análises de ácidos graxos (LNA, EPA e DHA) expressa em mg/100g de lipídios totais com a respectiva estimativa do desvio padrão.

Médias na mesma linha seguidas por nenhuma letra em comum são significativamente diferentes ao nível de 5%.

Os ácidos LNA, EPA e DHA, todos de grande importância fisiológica e nutricional, apresentaram médias das concentrações com valores sempre crescentes e houve diferença significativa entre todos os tratamentos à medida que os níveis de óleo de linhaça aumentaram nas rações, conforme Tabela 3.

O ácido LNA, um precursor da família n-3 e único desta família presente nas diferentes rações e com concentrações crescentes (Tabela 1), sofreu alongação e dessaturação para os subsequentes da série EPA e DHA (Esquema 1) no tecido muscular das tilápias, porém parte do LNA não foi convertido e foi armazenado no tecido muscular. Por outro lado, parte das concentrações dos ácidos LNA, EPA e DHA encontrada no tecido muscular das tilápias pode ser remanescente das tilápias juvenis que iniciaram o experimento.

O Esquema 1 mostra as possíveis vias metabólicas de dessaturação e alongação de ácidos graxos de peixes de água doce da família n-3 ou família do ácido LNA (Tahin,1985).

ESQUEMA 1. Fluxograma do metabolismo dos ácidos graxos da família n-3

Ácido alfa-linolênico (9,12,15) 18:3n-3 (dieta)



Ácido alfa-linolênico (9,12,15) 18:3n-3



Δ 6-dessaturase

Ácido estearidônico (6,9,12,15) 18:4n-3



Elongase

Ácido di-homo-alfa-linolênico (11,14,17) 20:4n-3



Δ 5-dessaturase

Ácido eicosapentaenóico - EPA- (5,8,11,14,17) 20:5n-3



Elongase

Ácido clupanodônico - DPA - (7,10,13,16,19) 22:5n-3



Δ 4-dessaturase

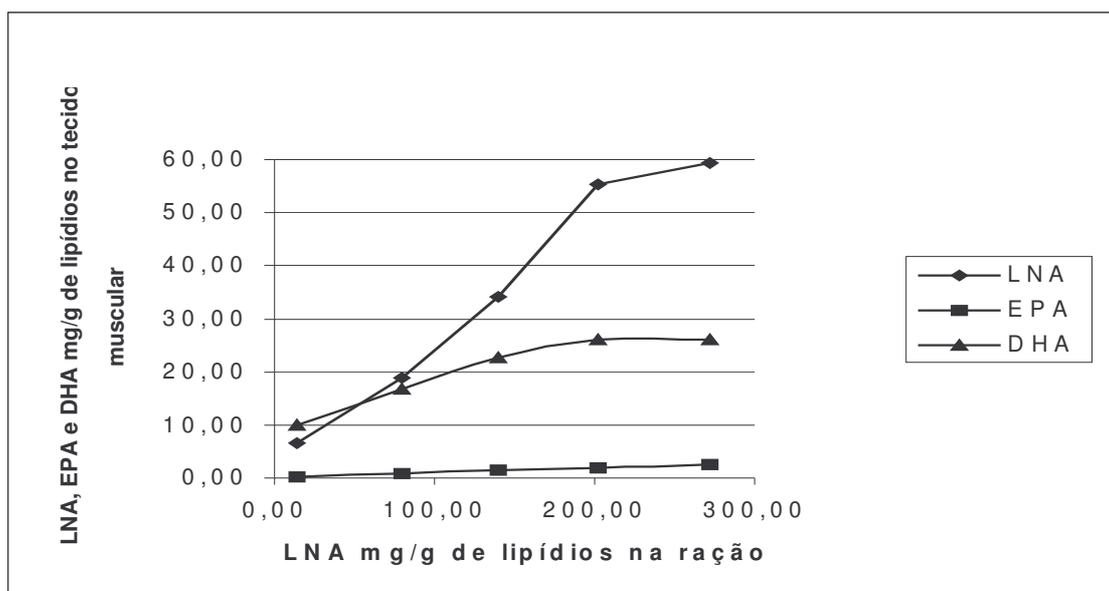
Ácido docosahexaenóico - DHA - (4,7,10,13,16,19) 22:6n-3

Fonte: Tahin (1985).

3.6. EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DE LNA DAS RAÇÕES SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE LNA, EPA E DHA NOS LT DE TILÁPIAS

A partir das concentrações do ácido LNA (mg/g de lipídios totais - LT) das diferentes rações (Tabela 1) e das concentrações dos ácidos LNA, EPA e DHA (em mg/g de LT) encontrados nas tilápias submetidas aos diferentes tratamentos (Tabela 3), foram desenvolvidas as curvas de concentrações de LNA das rações (eixo das abcissas) *versus* concentrações dos ácidos LNA, EPA e DHA (eixo das ordenadas), conforme Figura 1.

Figura 1. Curvas da variação das concentrações de LNA das rações *versus* concentrações dos ácidos LNA, EPA e DHA no tecido muscular de tilápias.



As curvas de concentração de LNA, EPA e DHA em mg/g de LT do tecido muscular das tilápias, resultantes do fornecimento de LNA (mg/g de LT) através das rações (Figura 1), mostram que houve um aumento sempre crescente nas concentrações destes ácidos no tecido muscular.

No entanto, as concentrações dos ácidos LNA e DHA no tecido muscular aumentaram acentuadamente nos tratamentos A até D, tendendo a uma estabilidade com o aumento da concentração de LNA da ração. Pela

análise da Figura 1 e Esquema 1, pode-se observar que, o acúmulo de LNA (ácido precursor) e a conversão até o ácido DHA no tecido muscular parecem estar limitados por um valor em torno de 200,00mg de LNA/g de lipídios totais da ração.

As concentrações de EPA no tecido muscular também aumentaram acentuadamente após os primeiros tratamentos com óleo de linhaça, da mesma forma que ocorreu para os ácidos LNA e DHA. Por outro lado, ao contrário do que ocorreu para os ácidos LNA e DHA, as concentrações de EPA parecem sugerir uma tendência sempre crescente (Figura 1). Desta forma, concentrações de LNA maiores que aquelas da ração do tratamento E poderiam resultar em um aumento nas concentrações de EPA.

Esta diferença na tendência de estabilidade das concentrações dos ácidos EPA e DHA (Figura 1) pode ser explicada pelo fato de que estes ácidos não estão submetidos às mesmas enzimas (Esquema 1) e sugere que pode ter ocorrido saturação enzimática pelo(s) substrato(s) e/ou ativação de regulador(es) da síntese destes ácidos nos tecidos musculares, à medida que as concentrações de LNA das rações foram aumentando.

Na Tabela 4 foram calculados o aumento percentual das concentrações em mg/lipídios totais dos ácidos LNA, EPA e DHA do tecido muscular das tilápias dos diferentes tratamentos. Estes cálculos foram realizados para os tratamentos B, C, D e E, para um respectivo ácido, em relação ao tratamento A (controle), ou seja, o tratamento A foi utilizado como base de cálculo nas determinações dos aumentos percentuais dos demais tratamentos.

Os aumentos observados para o ácido LNA foram de 189, 425, 747 e 809%; para o EPA, de 447, 833, 1.240 e 1.593%; enquanto para o DHA, foram de 69, 129, 162 e 163%, respectivamente para os tratamentos B, C, D e E (Tabela 4). Estes resultados mostram claramente o aumento das concentrações destes ácidos à medida que foram aumentados os níveis de óleo de linhaça nas diferentes rações.

TABELA 4. Concentração e aumento percentual dos ácidos LNA, EPA e DHA dos lipídios totais (LT) do tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) nos diferentes tratamentos.

ÁCIDO GRAXO	TRATAMENTOS				
	A	B	C	D	E
LNA (mg/g)	6,52	10,94	24,24	55,25	50,20
EPA (mg/g)	0,15	0,82	1,40	2,01	2,54
DHA (mg/g)	0,02	16,82	22,72	25,00	26,12

Os valores em miligramas dos ácidos LNA, EPA e DHA/grama de LT foram obtidos da Tabela 3.

Os resultados do aumento percentual para cada ácido graxo são aproximados e foram calculados tendo como base de cálculo o tratamento A (controle).

As pequenas diferenças no aumento percentual entre os tratamentos D e E, para os ácidos LNA e DHA, em especial para o DHA, que apresentou uma diferença de 1%, mostram a tendência de estabilização nas concentrações destes ácidos no tecido muscular, em função das concentrações de LNA das rações, ou seja, concentrações maiores de LNA adicionadas às rações poderiam não alterar significativamente as concentrações de LNA e DHA no tecido muscular. No entanto, a diferença entre os tratamentos D e E, para o ácido EPA de 353% (Tabela 4), mostra uma tendência de aumento da concentração deste ácido se os níveis de óleo de linhaça fossem aumentados acima do tratamento E, como já foi observado e discutido na Figura 1.

No entanto, pesquisas futuras devem ser realizadas, com o objetivo de verificar o valor limítrofe da concentração LNA que deve ser adicionado às rações, visando maiores concentrações dos ácidos LNA, EPA e DHA ou de outros ácidos graxos de interesse fisiológico e nutricional, em tilápias ou em outras espécies de peixes.

3.7. COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE LNA, EPA E DHA DE TILÁPIAS COM OUTROS PEIXES E ASSOCIAÇÃO COM A DIETA HUMANA

A determinação das concentrações de ácidos graxos, realizada neste trabalho, permite fazer comparações com aquelas obtidas em outros trabalhos, uma vez que, nesta determinação é corrigida a resposta diferencial do detector para uma determinada cadeia carbônica de um ácido graxo e os constituintes (colesterol, esteróis, etc.) não são ignorados. Além disso, é levada em consideração a quantidade do material onde está contido o ácido graxo, ou seja, no caso de peixes, a quantidade de lipídios ou de tecido muscular que contém um determinado ácido graxo. Quando se usa simplesmente o método da normalização simples, as comparações entre concentrações de ácidos graxos se limitam à obtenção da percentagem de área relativa, especialmente, se não são utilizados fatores de correção e não é levada em consideração a quantidade do material que contém o ácido graxo.

As concentrações de LNA, EPA e DHA no tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) produzidas em cativeiro e alimentadas com rações comerciais foram analisadas por Visentainer *et al.* (2001) e, as concentrações de LNA e DHA em mg/g de lipídios totais foram de 3,02 e 3,00, respectivamente, enquanto o ácido EPA não foi detectado no tecido muscular destas tilápias. Desta forma, os valores de LNA, EPA e DHA encontrados no presente experimento foram superiores, inclusive para o tratamento A (controle), conforme Tabela 3.

Pesquisando a composição lipídica do músculo de mapará (*Hypophthalmus sp*) e tucunaré (*Cichla ocellaris*) da região amazônica, de diferentes épocas sazonais, Silva (2000) encontrou valores médios destas épocas de 17,78mg de EPA e 16,75mg de DHA por grama de LT para a espécie mapará e de 4,1mg de EPA e 37,6mg de DHA por grama de LT para a espécie tucunaré. Considerando que, são peixes de *habitat* natural e se alimentaram de alimentos provenientes do meio aquático, as concentrações elevadas destes ácidos já eram esperadas. Porém, a concentração de DHA de 16,75mg/g de LT do mapará com relação às tilápias do presente experimento foi comparativamente inferior aos tratamentos B (16,82mg/g de LT), C (22,72mg/g de LT), D (25,99mg/g de LT) e E (26,13mg/g de LT).

Com o objetivo de mostrar as concentrações de LNA, EPA e DHA de forma mais clara e facilitar as discussões em termos das recomendações de ingestão e quantidades destes ácidos, foram calculadas as concentrações dos ácidos em mg por 100g de tecido muscular das tilápias (filés) submetidas a diferentes níveis de óleo de linhaça. Foi usada como base de cálculo a percentagem de LT (Tabela 2) e a concentração de cada ácido em mg/g de LT (Tabela 3) de cada tratamento. Foram ainda calculados os valores de somatórias de (LNA + EPA + DHA) e de (EPA + DHA). Estes resultados são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5. Concentrações dos ácidos LNA, EPA e DHA e somatórias destes ácidos, em mg por 100g de tecido muscular de tilápias, submetidas aos tratamentos com óleo de linhaça.

CONSTITUINTE S	TRATAMENTOS				
	A	B	C	D	E
LNA	7,2	18,8	41,1	66,3	65,2
EPA	0,2	0,8	1,7	2,4	2,8
DHA	10,9	16,8	27,3	31,2	28,7
Somatória	18,3	36,4	70,1	99,9	96,7
LNA+EPA+DHA Somatória	11,1	17,6	29,0	33,6	31,5
EPA +DHA					

Os valores de LNA, EPA, DHA e das somatórias de (LNA+EPA+DHA) e (EPA+DHA) são expressos em mg/ 100g de tecido muscular.

Uma Hipótese:

O *Department of Health* (1994) recomenda 200mg/dia de AGPI n-3 de cadeia longa para a prevenção de doenças cardiovasculares e inflamatórias.

Considerando, somente os ácidos EPA e DHA (AGPI-n-3 de cadeia longa que foram quantificados no presente estudo), um indivíduo alimentando-se somente de tilápias deste experimento (como única fonte de EPA e DHA) deveria ingerir diariamente 595g de tecido muscular de tilápias do tratamento D, 635g do tratamento E e 1.821g do tratamento A.

Desta forma, o consumo diário de tecido muscular seria relativamente alto para os tratamentos D e E, e extremamente elevado para o tratamento A. Porém, deve ser observado que não foram considerados outros ácidos AGPI n-3 de cadeia longa que estão presentes nestas tilápias. Além disso, o ácido LNA presente em elevados teores nos tratamentos D (66,3g/100g de tecido muscular) e E (65,2g/100g de tecido muscular), conforme Tabela 5, embora apresente baixa taxa de conversão em humanos, poderá ser convertido em outros AGPI n-3 de cadeia longa, inclusive EPA e DHA.

O fato das tilápias (*Oreochromis niloticus*) deste experimento serem consideradas peixes magros (menos de 2% de gordura), segundo a classificação de Ackman (1989), foi determinante nos resultados das concentrações dos ácidos LNA, EPA e DHA em mg/100g de tecido muscular (Tabela 5). Desta forma, peixes com maiores teores de lipídios e apresentando a mesma composição quantitativa apresentariam concentrações mais elevadas destes ácidos. Assim, a inclusão na dieta de óleo de linhaça para outros peixes de cativeiro, com maior teor de gordura, poderá contribuir significativamente no atendimento das exigências nutricionais de AGPI n-3 em humanos.

As discussões dos resultados e da hipótese citada anteriormente, só puderam ser realizadas devido à quantificação dos ácidos LNA, EPA e DHA. Isto mostra claramente a importância da quantificação de ácidos graxos nos conteúdos lipídicos.

No Brasil, são escassos os trabalhos de quantificação de ácidos graxos utilizando padronização interna. Esta metodologia, por vezes onerosa, deveria dentro do possível ser utilizada por pesquisadores brasileiros e para todos os ácidos graxos, pois os resultados são facilmente interpretados e comparados. Além disso, permitem a elaboração de tabelas de composição, que podem ser utilizadas por profissionais da área de alimentos ou áreas afins.

Os resultados obtidos neste experimento mostraram que as tilápias (*Oreochromis niloticus*) submetidas aos tratamentos com diferentes níveis de linhaça podem ser consideradas fontes ricas em ácidos graxos LNA, EPA e DHA, especialmente aquelas que receberam maiores níveis de óleo linhaça, e desta forma, ficou bem estabelecido quantitativamente o aumento do valor nutricional do conteúdo lipídico destas tilápias.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKMAN, R. G. Nutritional composition of fats in seafood. *Prog. Food Nutr. Sci.*, v.13, p. 161-241, 1989.
- BANNON, C. D.; CRASKE, J. D.; HILLIKER, A. E. Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability. Validation of theoretical relative response factors of unsaturated esters in the flame ionization detector. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v. 63, p. 105-110, 1986.
- CARTER, J. F. Potential of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. *Cereal Food World*, v.38, p. 753-59, 1993.
- CEOTTO, B. O que é que a linhaça tem. Dentro das sementes da planta que dá origem ao linho há componentes que equilibram os hormônios femininos e reforçam as defesas do corpo. *Rev. Saúde*, p. 37-40, 2000.
- CRASKE, J. D.; BANNON, C. D. Letter to the editor. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v. 65, p. 1190-91, 1988.
- DEPARTMENT OF HEALTH. Report on Health and Social Subjects nº 46. Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease. HMSO, London, 1994, 178p.
- ERITSLAND, J.; ARNESEN, H.; GRONSETH, K.; FJELD, N. B.; ABDELNOOR, M. Effect of dietary supplementation with n-3 fatty acids on coronary artery bypass graft patency. *Am. J. Cardiol.*, v. 77, p. 31-6, 1996.
- GALLI, C.; SIMOPOULOS, A. P. Dietary ω -3 and ω -6 fatty acids: biological effects and nutritional essentiality. Plenum Press, New York, 1989. p. 391-402. *Apud: Am. J. Clin. Nutr.*, v. 54, p. 438-63, 1991.
- GERSTER, H. Can adults adequately convert alfa- linolenic (18:3n-3) to eicosapentaenoic acid (20:5n-3) and docosahexaenoic acid (22:6n-3)? *Int. J. Vitaminol. Nutr. Res.*, v. 68. p. 159-73, 1997.
- HAGLUND, O.; WALLIN, R.; WRETLING, S.; HULTBERG, B.; SALDEEN, T. Effects of fish oil alone and combined with long chain (n-6) fatty acids on some coronary risk factors in male subjects. *J. Nutr. Biochem.*, v. 9, p. 629-35, 1998.
- HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid Res.*, v. 26, p. 281-347, 1987.

- JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G. Capillary column gas chromatography method for analysis of encapsulated fish oil and fish oil ethyl esters: collaborative study. *J. AOAC Int.*, v. 75, p. 488-506, 1992.
- KRIS-ETHERTON, P. M.; TAYLOR, D. S.; YU-POT, S.; HUTH, P.; MORIARTY, K.; FISHELL, V. *et al.* Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 71. p. 179S- 88S, 2000.
- KROMHOUT, D.; FESKENS, E. J. M.; BOWLES, C. H. The protective effect of a small amount of fish on coronary heart disease mortality in an elderly population. *Int. J. Epidemiol.*, v. 24, p. 340-45, 1995.
- LAYNE, K.S.; GOH, Y. H.; JUNPSEN, J.A.; RYAN, E.A.; CHROW, P.; CANDININ, M. T. Normal subjects consuming physiological levels of 18:3(n-3) and 20:5(n-3) from flaxseed or fish oils have characteristic differences in plasma lipid and lipoprotein fatty acid levels. *J. Nutr.*, v. 126, p. 2130-40, 1996.
- MAIA, E. L. Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídios e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce. Campinas. 1992. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Campinas).
- MARTINO, R.; TAKAHASHI, N. S. A importância da adição de lipídios em rações para a aquicultura. *Óleos e Grãos*, n. 58, p. 32-7, 2001.
- MOREIRA, A. B.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian brycon freshwater fishes. *J. Food Comp. Anal.*, v.14, p. 565-74, 2001.
- NUTRON ALIMENTOS LTDA. Uma Empresa Eridania Bélghin-say. Rações Nutron Peixes. Catálogos de rações. Campinas. 1998. 4p.
- OGAWA, M.; KOIKE, J. Manual de pesca. Associação dos Engenheiros de Pesca do Estado do Ceará, Fortaleza/CE. 1987. 797p.
- RIBEIRO, R. P.; HAYASHI, C.; FURUYA, W. M. Curso de piscicultura - criação racional de tilápias. FADEC - Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 1995. 23p.
- RICE, R. Linseed or fish? Dietary sources of omega-3 fatty acids assessed. *Lipid Technol.*, v. 8, p. 34-7, 1996.

- SCHMIDT, M. A. Gorduras inteligentes. Trad. de Dirceu Henrique Pereira. São Paulo - SP. Editora Roca LTDA, 2000. 231p.
- SHANTA, N. C.; ACKMAN, R. G. Nervonic acid versus tricosanoic acid as internal standards in quantitative gas chromatographic analysis of fish longer-chain n-3 polyunsaturated acid methyl ester. *J. Chromatog. B*, v. 533, p.1-10. 1990.
- SILVA, A. J. I. Composição lipídica e quantificação dos ácidos graxos poliinsaturados EPA (20:5 n-3) e DHA (22:6 n-3) de peixes de água doce. Campinas. 2000. (Tese de doutorado - Universidade Estadual de Maringá).
- SIMOPOULOS, A. P.; LEAF, A.; SALEM, N. Essentiality and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Ann. Nutr. Metabol.*, v. 43, p. 127-30, 1999.
- STEFFENS, W. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *Aquaculture*, v. 151, p. 97-119, 1997.
- TAHIN, Q. S. Importância fisiológica e patológica dos ácidos graxos. *Arq. Biol. Tecnol.*, v. 28, p. 335-61, 1985.
- VISETAINER, J. V.; FERREIRA, F. G.; FRANCO, M. R. B. Composição química e de ácidos graxos e quantificação de LNA, EPA e DHA em filés de tilápias submetidas à dieta prolongada. In: IV SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, Campinas. Alimentos para o século 21 desafios e tendências para a América latina. 2001, p.47.
- von SCHACKY, C. n-3 fatty acids and the prevention of coronary atherosclerosis. *Am. J. Nutr.*, v. 71 (suppl): p. 224S-7S, 2000.

CONCLUSÃO GERAL

Este estudo mostrou que, o fornecimento de rações suplementadas com níveis crescentes de óleo de linhaça para tilápias (*Oreochromis niloticus*), submetidas ao confinamento, aumentou o valor nutricional do conteúdo lipídico do tecido muscular.

A separação dos lipídios totais em classes de fosfolipídios e lipídios neutros mostrou que certos ácidos ou grupos de ácidos graxos podem ser concentrados nas diferentes frações.

A análise sensorial das tilápias que receberam o maior nível de óleo de linhaça mostrou que o sabor dos filés não foi alterado pelo fornecimento deste óleo nas rações.

A metodologia de quantificação dos ácidos LNA, EPA e DHA permitiu comparações e discussões que não poderiam ser realizadas pelo método da normalização simples que expressam os resultados em percentagem de área relativa. Desta forma, esta metodologia fica recomendada para análises futuras destes ácidos.

Novos estudos poderão confirmar se níveis superiores deste óleo elevariam o valor nutricional das tilápias e se os resultados demonstrados neste experimento poderiam se aplicar a outras espécies de peixes de água doce cultivadas.

ANEXOS

ANEXO I. Valores de comprimento equivalente de cadeia, calculados a partir do tempo de retenção corrigido (ECL') de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de tilápias, padrões e literatura.

Ácidos graxos		VALORES DE ECL'					
		Amostras ^a ± d.p.	Padrões ^a ± d.p.	Literatura			
				1	2	3	4
1	12:0	12.00+0.00	11.99+0.01	12.00	12.10	12.0000	
2	14:0	14.00+0.00	14.00+0.00	14.00	14.00	14.0000	14.000
3	14:1n7	14.34+0.01		14.31	14.26		14.303
4	14:1n5	14.45+0.02	14.43+0.01	14.42	14.35		
5	i15:0	14.51+0.00	14.51+0.00	14.51	14.51	14.5177	14.513
6	ai15:0	14.63+0.01		14.67	14.66	14.6837	14.674
7	15:0	14.98+0.00	15.00+0.01	14.99	14.98	15.0000	15.000
8	15:1n7	15.23+0.02		15.35	15.32	15.3368	
9	i16:0	15.48+0.01		15.49	15.51	15.5159	15.507
10	16:0DM	15.60+0.00		15.66	15.66		
11	X1	15.87+0.00					
12	16:0	16.00+0.00	16.00+0.01	16.00	16.00	16.0000	16.000
13	16:1n11	16.14+0.01		16.13			
14	16:1n9	16.24+0.00	16.25+0.00	16.24	16.21		16.167
15	16:1n7	16.31+0.00	16.30+0.01	16.30	16.26	16.3120	16.310
16	16:1n5	16.42+0.01	16.43+0.01	16.41	16.37	16.4152	16.417
17	i17:0	16.50+0.00	16.50+0.01	16.49	16.50	16.5151	16.511
18	X2	16.53+0.01					
19	16:2n7	16.57+0.00		16.59	16.60		
20	ai17:0	16.68+0.01	16.67+0.00	16.67	16.65	16.6820	16.675
21	17:0	16.99+0.00	17.00+0.01	16.99	16.98	17.0000	17.000
22	17:1n9	17.27+0.01	17.27+0.00	17.26	17.23	17.2507	
23	17:1n7	17.47+0.01	17.46+0.01			17.3035	
24	18:0DM	17.59+0.00			17.65		
25	18:1DM	17.81+0.01		17.80	17.83		
26	17:2n4	17.88+0.00		17.88			
27	18:0	18.00+0.01	18.00+0.00	18.00	18.00	18.0000	18.000
28	18:1n11	18.16+0.01	18.16+0.01	18.15	18.13	18.2000	
29	18:1n9	18.26+0.02	18.25+0.00	18.24	18.21	18.2334	18.236
30	18:1n7	18.32+0.00	18.31+0.02	18.31	18.26	18.3028	18.301
31	18:1n5	18.44+0.01		18.42	18.40	18.3634	18.423
32	18:1n4	18.52+0.01			18.51		
33	X3	18.61+0.00					
34	18:2n6	18.74+0.01	18.72+0.01	18.72	18.64	18.7093	18.699
35	t,t-	18.77+0.00	18.76+0.02			18.7208	
36	18:2n4	18.95+0.01	18.92+0.00	18.92	18.84		18.898
37	X4	19.01+0.00					
38	18:3n6	19.05+0.01	19.04+0.01	19.04	18.92	19.0252	19.015
39	19:0	19.07+0.00	19.06+0.00	18.99	19.00	19.0000	19.000
40	19:1n7	19.34+0.01		19.35		19.3009	

41	18:3n3	19.38+0.00	19.36+0.01	19.38	19.25	19.3598	19.347
----	--------	------------	------------	-------	-------	---------	--------

ANEXO I. Valores de comprimento equivalente de cadeia, calculados a partir do tempo de retenção corrigido (ECL') de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de tilápias, padrões e literatura.

Continuação

Ácidos graxos		VALORES DE ECL'					
		Amostras ^a ± d.p.	Padrões ^a ± d.p.	Literatura			
42	19:2n7	19.60+0.01		19.59			
43	18:4n3	19.71+0.00	19.70+0.00	19.70	19.52	19.6773	19.663
44	20:0	20.00+0.01	20.00+0.01	20.00	20.00	20.0000	20.000
45	20:1n11	20.17+0.02	20.16+0.01	20.17		20.1738	20.171
46	20:1n9	20.22+0.00	20.20+0.02	20.22	20.19	20.2157	20.215
47	20:2n9	20.40+0.01			20.46		
48	X5	20.63+0.01					
49	20:2n6	20.72+0.00	20.71+0.00	20.71	20.62	20.6980	20.686
50	20:3n9	20.78+0.01			20.65		
51	X6						
52	20:3n6	21.00+0.02	21.00+0.00	20.96	20.88	20.9744	20.959
53	20:4n6	21.24+0.00	21.24+0.01	21.24	21.09	21.2014	21.185
54	20:3n3	21.38+0.01	21.38+0.00	21.38	21.24	21.3528	21.337
55	X7	21.50+0.00					
56	20:4n3	21.66+0.01	21.66+0.00	21.66	21.49	21.6255	21.605
57	20:5n3	21.90+0.01	21.90+0.01	21.89	21.70	21.8541	21.838
58	22:0	22.00+0.01	22.00+0.01	22.00	22.01	22.0000	22.000
59	22:1n9	22.22+0.01	22.22+0.00	22.22	22.15	22.2066	22.200
60	22:2n6	22.71+0.00	22.71+0.01	22.70		22.6943	22.681
61	21:5n3	22.77+0.02		22.81		22.8552	22.880
62	22:3n6	22.83+0.00	22.85+0.02	22.95			22.953
63	22:4n6	23.24+0.01	23.23+0.00	23.23	22.89	23.2002	23.180
64	22:5n6	23.53+0.00	23.52+0.00	23.52	23.08	23.4801	23.458
65	22:4n3	23.60+0.01	23.60+0.01	23.63			23.605
66	22:5n3	23.90+0.02	23.89+0.00	23.89	23.34	23.8563	23.832
67	24:0	24.00+0.01	24.00+0.01	24.00	23.52	24.0000	24.000
68	22:6n3	24.13+0.01	24.14+0.00	24.16	23,54	24.1375	24.119

Siglas: DMA - dimetil acetal; ai - anteiso; i - iso; Xn - Ácido graxo não identificado.

a- Coluna DB-WAX 20M - 30m x 0,25mm x 0,25µm; 200°C/ isotérmica (condições utilizadas para determinação de ECL' neste experimento)

1- Silva, A. J. I., 2000 (Coluna DB-WAX 20M - 30m x 0,25mm x 0,25µm; 200°C/ isotérmica)

- 2- Maia, E. L., 1992 (Coluna DB-WAX 20M - 50m x 0,22mm x 0,25 μ m; 200°C/42min. (2°C/min.) até 210°C]
- 3- Strànký, *et al.*, 1997 (Coluna DB-WAX 20M - 30m x 0,25mm x 0,25 μ m; 200°C/isotérmica)
- 4- Thompson, R. H., 1996 (Coluna Carbowax 20M - 60m x 0,25mm x 0,25 μ m; 200°C/isotérmica)

ANEXO II. Razão m/e e abundância relativa dos principais fragmentos de ésteres metílicos de ácidos graxos de tilápias, obtidos por espectrometria de massas através de ionização por impacto de elétrons a 70 eV.

Íon nº	Ácido Graxo	PRINCIPAIS FRAGMENTOS DE MASSA (m/e)										Íon Molecular
		74	87	43	41	55	75	14	57	69	59	
2	14:0	74 10 0	87 52, 9	43 44, 9	41 33, 7	55 23	75 18, 8	14 3 11, 3	57 10, 9	69 8,4	59 8,3	242 2,4%
3	14:1n7	55 10 0	41 92, 0	74 76, 0	69 68, 4	43 66, 2	96 38, 6	84 37, 6	87 36, 8	67 35,4	83 30,2	240
4	14:1n5	55 10 0	41 86, 8	74 72, 4	69 62, 4	43 48, 6	87 30, 6	96 28, 4	84 27, 3	49 26,2	59 24,0	
5	i15:0	74 10 0	43 70, 2	87 69, 0	41 55, 4	55 48, 6	57 34, 9	83 34, 6	69 30, 6	59 14,0	39 10,4	256 3,4%
6	ai15:0	74 10 0	41 92, 4	43 90, 6	55 68, 0	87 42, 4	57 34, 9	83 34, 6	69 30, 6	59 14,0	39 10,4	256 3,4%
7	15:0	74 10 0	87 55, 1	43 43, 6	41 33, 1	75 33, 1	55 23, 8	57 13, 4	69 9,1	42 8,4	59 6,3	256 3,2%
8	15:1n7	55 10 0	41 78, 0	74 76, 0	43 57, 0	84 54, 6	69 46, 8	67 44, 2	83 36, 4	87 28,6	96 26,2	254
9	i16:0	74	43	41	87	57	55	42	71	69	39	270

		10 0	94, 5	65, 9	50, 6	49, 7	49, 1	21, 8	20, 3	19,0	13,3	
10	16:0DM A	75 10 0	43 68, 7	41 44, 5	57 43, 0	71 31, 2	74 25, 0	55 24, 3	87 22, 4	45 22,2	69 17,6	m-31= 255 8,9%
11	X1	74 10 0	43 98, 9	41 89, 7	57 78, 9	87 63, 3	55 57, 9	45 30, 3	69 28, 2	71 28,2	40 26,4	
12	16:0	74 10 0	87 55, 0	43 49, 7	41 38, 7	55 25, 0	75 21, 5	57 14, 4	69 10, 4	59 7,7	42 8,0	270 3,5%
13	16:1n11	55 10 0	41 97, 4	69 53, 0	84 50, 6	96 47, 0	83 40, 8	98 36, 4	54 30, 6	81 30,0	67 29,0	268
14	16:1n9	55 10 0	41 99, 3	69 52, 9	84 51, 0	96 46, 6	83 40, 2	98 36, 8	54 35, 3	81 32,4	67 32,1	268
15	16:1n7	55 10 0	41 89, 2	69 58, 1	84 46, 2	67 41, 3	83 40, 8	96 41, 3	97 34, 2	54 33,0	98 31,9	268 m-31= 237 5,4%
16	16:1n5	55 10 0	41 97, 5	69 58, 8	43 58, 8	74 46, 4	75 30, 4	87 30, 4	83 29, 0	84 25,3	57 22,8	268
17	i17:0	74 10 0	43 74, 6	87 59, 6	41 54, 0	55 43, 0	75 42, 6	57 41, 3	69 20, 4	59 13,8	42 14,2	284
18	X2	74 10 0	43 84, 1	41 78, 9	55 70, 1	87 45, 8	69 37, 6	83 25, 1	98 20, 9	57 18,2	75 15,7	
19	16:2n7	67 10	41 93,	81 64,	55 57,	79 54,	95 36,	54 37,	82 35,	80 33,2	43 24,0	

		0	0	2	3	0	0	0	0			
20	ai17:0	74	43	87	55	41	57	69	83	42	59	284
		10	66,	57,	46,	37,	21,	17,	11,	10,8	9,5	2,9%
		0	1	7	1	4	7	3	5			
21	17:0	74	87	43	41	55	75	75	57	69	143	284
		10	55,	53,	41,	30,	21,	22,	17,	11,5	9,2	3,7%
		0	7	9	4	4	9	5	9			
22	17:1n9	55	41	43	69	84	83	96	97	57	95	
		10	97,	64,	44,	34,	33,	29,	28,	18,2	18,0	
		0	9	7	3	3	0	7	7			

ANEXO II. Razão m/e e abundância relativa dos principais fragmentos de ésteres metílicos de ácidos graxos de tilápias, obtidos por espectrometria de massas através de ionização por impacto de elétrons a 70 eV.

Continuação

Íon nº	Ácido Graxo	PRINCIPAIS FRAGMENTOS DE MASSA (m/e)										Íon Molecula r
		55	41	43	69	84	83	96	97	57	95	
23	17:1n7	100	90, 4	65, 2	39, 3	38, 4	32, 0	29, 0	28, 4	18,0	17,8	
24	18:0DM A	100	64, 6	32, 8	30, 6	23, 9	21, 9	20, 0	18, 0	14,8	11,7	m-31= 283
25	18:1DM A	100	98, 5	80, 9	65, 8	53, 9	43, 8	30, 9	28, 8	26,7	23,7	m- 31=281
26	17:2n4	100	92, 8	76, 0	48, 7	44, 9	37, 0	34, 9	33, 0	32,4	32,0	
27	18:0	100	75, 7	66, 9	59, 9	58, 4	29, 0	25, 5	23, 9	20,9	15,2	298
28	18:1n11	100	94, 0	69, 2	48, 3	45, 3	38, 4	34, 9	32, 4	131, 9	127, 4	296
29	18:1n9	100	85, 3	69, 1	46, 4	46, 1	41, 1	38, 0	35, 2	35,2	32,8	296
30	18:1n7	100	91, 6	66, 6	48, 4	43, 3	33, 3	33, 3	31, 7	30,7	30,6	296

			2	6	0	4	8	9	3			
31	18:1n5	55 100	41 94, 4	43 64, 6	69 51, 3	74 40, 7	83 35, 3	84 29, 0	97 28, 6	87 27,7	96 26,8	296
32	18:1n4	55 100	41 74, 3	69 48, 2	74 44, 2	83 34, 8	84 29, 2	97 28, 6	67 26, 8	87 26,4	67 20,3	296
33	X3	55 100	41 75, 6	43 47, 0	69 38, 0	74 34, 3	87 26, 8	83 25, 9	56 22, 0	84 18,4	96 16,8	
34	18:2n6	67 100	41 91, 2	55 72, 0	81 67, 2	95 45, 2	68 40, 0	54 38, 0	69 35, 2	79 33,2	43 32,0	294
35	t,t- 18:2n6	41 100	67 95, 5	55 86, 7	43 84, 8	81 78, 3	54 50, 7	95 47, 5	82 35, 0	57 34,9	69 30,6	
36	18:2n4	41 100	55 73, 9	67 63, 1	81 46, 3	43 38, 5	82 38, 0	95 37, 2	69 35, 0	44 33,2	68 31,5	294
37	X4	41 88,9	67 88, 9	55 66, 2	82 61, 0	54 37, 7	95 36, 2	96 36, 2	68 28, 9	69 24,4	43 23,0	
38	18:3n6	41 100	67 80, 9	79 95, 4	80 74, 2	81 54, 0	55 51, 5	93 46, 4	43 43, 0	91 40,4	94 32,3	292
39	19:0	74 100	43 73, 9	41 54, 7	87 62, 6	55 43, 9	75 25, 9	57 23, 0	44 22, 8	69 18,4	67 18,2	312
40	19:1n7	55 100	41 74, 8	43 60, 0	69 45, 0	74 43, 2	83 25, 2	57 22, 9	84 22, 7	97 21,5	87 19,0	

41	18:3n3	79 100	41 88, 3	67 63, 2	55 53, 1	95 44, 7	93 41, 5	80 41, 0	81 38, 6	43 31,3	43 29,3	292
42	19:2n7	67 100	41 77, 6	81 74, 4	55 58, 1	95 47, 3	82 42, 1	43 39, 7	79 37, 2	96 30,2	54 30,1	308
43	18:4n3	79 100	41 84, 4	67 46, 9	93 42, 7	91 40, 5	80 40, 2	55 33, 7	77 26, 3	39 23,1	81 20,6	290

ANEXO II. Razão m/e e abundância relativa dos principais fragmentos de ésteres metílicos de ácidos graxos de tilápias, obtidos por espectrometria de massas através de ionização por impacto de elétrons a 70 eV.

Continuação

P ico nº	Ácido Graxo	PRINCIPAIS FRAGMENTOS DE MASSA (m/e)										Íon Molecula r
		74	43	87	41	55	57	75	14	42	69	
44	20:0	100	61, 4	57, 5	31, 0	30, 0	27, 0	27, 1	3 12, 0	11, 3	10, 1	326 6,5%
45	20:1n11	100	99, 0	86, 9	49, 2	42, 2	33, 7	32, 5	31, 7	27, 6	25, 1	324
46	20:1n9	100	90, 9	76, 3	51, 6	39, 8	39, 6	31, 4	29, 4	29, 1	27, 5	324
47	20:2n9	100	88, 2	75, 9	68, 5	61, 5	60, 3	45, 6	43, 4	40, 1	34, 0	
48	X5	100	80, 9	64, 9	63, 9	49, 2	39, 6	32, 7	29, 7	27, 2	29, 8	
49	20:2n6	100	99, 6	87, 2	85, 7	58, 4	55, 0	50, 4	49, 5	46, 5	43, 8	322
50	20:3n9	100	97, 9	70, 0	68, 0	51, 6	49, 0	48, 8	44, 4	36, 0	31, 2	
51	X6	41	67	81	55	79	43	80	82	54	12	

		100	93, 4	70, 0	67, 4	58, 1	46, 2	39, 9	30, 9	29, 4	1 23, 4	
52	20:3n6	41 100	67 92, 5	79 91, 7	80 84, 7	55 67, 2	81 62, 3	93 45, 2	43 44, 2	94 36, 1	91 32, 2	320
53	20:4n6	41 100	79 96, 9	80 70, 8	67 65, 8	91 65, 1	55 45, 5	93 45, 1	43 37, 4	77 31, 9	78 25, 3	318
54	20:3n3	79 100	41 94, 0	67 66, 3	55 63, 1	95 50, 9	80 48, 4	81 43, 0	43 41, 4	93 38, 4	10 8 34, 8	320
55	X7	79 100	41 88, 3	67 56, 7	55 48, 5	80 46, 9	93 45, 4	91 41, 1	81 29, 2	94 25, 2	10 8 21, 1	
56	20:4n3	79 100	41 92	67 55, 8	55 49, 1	80 44, 7	93 42, 4	91 41, 4	81 28, 0	94 22, 8	77 22, 3	318
57	20:5n3	79 100	41 90, 7	91 58, 4	67 58, 3	55 41, 4	93 33, 8	77 33, 2	43 24, 2	10 5 23, 3	10 6 23, 0	316
58	22:0	74 100	43 72, 6	87 61, 2	41 39, 8	55 34, 7	57 28, 1	69 15, 5	71 9,7	97 8,2	97 8,2	354 6,0%
59	22:1n9	55 100	43 96, 4	41 89, 8	69 53, 2	67 44, 1	83 41, 7	97 31, 9	96 29, 5	87 26, 6	84 25, 4	m-32= 320 7,1%
60	22:2n6	67	81	55	41	82	95	54	96	43	69	350

		100	99, 9	93, 6	93, 4	79, 4	60, 3	57, 7	56, 5	37, 7	35, 9	
61	21:5n3	79 100	41 93, 1	80 83, 2	67 71, 3	55 46, 3	43 40, 3	91 38, 6	81 32, 9	95 30, 8	77 23, 8	330
62	22:3n6	79 100	41 86, 4	67 84, 4	91 71, 5	81 68, 2	55 57, 1	11 9 55, 6	93 53, 2	11 8 51, 1	59 47, 3	
63	22:4n6	79 100	41 99, 7	80 80, 1	67 77, 3	55 60, 5	91 51, 3	93 47, 9	43 43, 5	81 42, 9	77 31, 0	346
64	22:5n6	41 100	79 97	91 72	67 65, 7	80 57, 6	55 43, 1	93 41, 4	43 37, 6	77 37, 2	10 5 31, 8	344
65	22:4n3	41 100	79 95, 7	55 58, 8	67 72, 0	95 44, 6	80 41, 8	93 39, 6	81 33, 0	91 32, 6	43 32, 3	346

ANEXO II. Razão m/e e abundância relativa dos principais fragmentos de ésteres metílicos de ácidos graxos de tilápias, obtidos por espectrometria de massas através de ionização por impacto de elétrons a 70 eV.

Conclusão

66	22:5n3	79 100	41 98, 6	67 63, 3	91 60, 9	55 61, 7	80 42, 7	93 41, 2	10 5 29, 4	77 28, 1	11 9 24, 3	344
67	24:0	74 100	43 95, 4	87 68, 4	41 57, 2	55 45, 1	57 42, 3	75 35, 4	69 21, 1	71 17, 4	14 3 16, 6	382
68	22:6n3	79 100	41 95, 5	91 77, 9	67 55, 7	77 41, 8	55 35, 7	39 22, 5	93 38, 9	10 5 30, 9	92 26, 2	342

Siglas: DMA - dimetil acetal; ai - anteiso; i - iso; Xn - Ácido graxo não identificado.

ANEXO III

Cromatogramas característicos de ésteres metílicos de ácidos graxos:

Dos lipídios totais do tecido muscular, tratamentos A (Fig. 1), B (Fig. 2), C (Fig. 3), D (Fig. 4) e E (Fig. 5). Os ácidos graxos foram numerados de acordo com a Tabela 3 do capítulo III.

Das frações de lipídios neutros e fosfolipídios, do tecido muscular, tratamento C (Fig. 6 e 7). Os ácidos graxos foram numerados de acordo com as Tabelas 1 e 2, respectivamente (capítulo IV).

Das quantificações dos ácidos LNA, EPA e DHA dos lipídios totais, tratamentos A (Fig. 8), B (Fig. 9), C (Fig. 10), D (Fig. 11) e E (Fig. 12) do tecido muscular de tilápias, capítulo V.

