

**EFEITO DE FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS NA  
DIETA E DA REDUÇÃO DA TEMPERATURA  
SOBRE O METABOLISMO LIPÍDICO DE  
TILÁPIAS NILÓTICAS (*Oreochromis niloticus*) E  
TRUTAS ARCO-ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*)**

**PAULA ADRIANE PEREZ RIBEIRO**

**2007**

**PAULA ADRIANE PEREZ RIBEIRO**

**EFEITO DE FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS NA DIETA E DA  
REDUÇÃO DA TEMPERATURA SOBRE O METABOLISMO  
LIPÍDICO DE TILÁPIAS NILÓTICAS (*Oreochromis niloticus*) E  
TRUTAS ARCO-ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Doutorado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientadora

Prof<sup>a</sup>.Priscila Vieira Rosa Logato

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos  
Técnicos da Biblioteca Central da UFLA**

Ribeiro, Paula Adriane Perez

Efeito de fontes de ácidos graxos na dieta e da redução da temperatura sobre o metabolismo lipídico de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) e trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) / Paula Adriane Perez Ribeiro. -- Lavras : UFLA, 2007.

162 p. : il.

Orientadora: Priscila Vieira Rosa Logato.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Nutrição. 2. Peixe. 3. Lipídios. 4. Óleos. 5. Enzimas. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-639.3758

**PAULA ADRIANE PEREZ RIBEIRO**

**EFEITO DE FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS NA DIETA E DA  
REDUÇÃO DA TEMPERATURA SOBRE O METABOLISMO  
LIPÍDICO DE TILÁPIAS NILÓTICAS (*Oreochromis niloticus*) E  
TRUTAS ARCO-ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Doutorado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 09 de março de 2007

Prof. Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas	DZO/UFLA
Prof. Dr. Luis David Solis Murgas	DMV/UFLA
Prof. Dr. Mário César Guerreiro	DQI/UFLA
Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato	DZO/UNESP-Botucatu

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Priscila Vieira Rosa Logato  
UFLA  
(Orientadora)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

À minha família, que tornou possível mais esta etapa e  
a Deus, responsável por tudo,

**DEDICO.**

Ao meu pai Paulo Marcelo Ribeiro (“*in memoriam*”) que  
sempre esteve e, de alguma forma sempre estará presente  
em todos os momentos da minha vida,

**OFEREÇO.**

*“Felicidade não é apenas a realização de todos os nossos  
desejos, mas sim a noção de que podemos nos satisfazer  
com nossas reais possibilidades.”*

*(Hammed)*

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização deste curso.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelas oportunidades a mim concedidas e apoio financeiro no Brasil e no exterior.

Em especial à Prof<sup>ª</sup>. Dra. Priscila Vieira Rosa Logato, pela amizade, orientação, apoio e confiança, presentes em todas as etapas deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Mário César Guerreiro, pelo total apoio, dedicação e paciência nas análises enzimáticas e cromatográficas.

Ao Prof. Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas, pelas dicas referentes à elaboração do projeto e auxílio nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Luis David Solis Murgas e sua esposa Luciene, pelos ensinamentos preciosos, apoio e incentivo aos meus estudos no exterior.

À Faculdade de Biología da Universidade de Murcia, Espanha, pelo apoio concedido à realização do experimento, em especial ao Departamento de Fisiología Animal e ao Laboratório de Radioproteção e Resíduos do S.A.C.E. (Servicio de Apoyo a las Ciencias Experimentales), na pessoa de Maria Dolores Alcázar Fernández, pela atenção e auxílio nas análises.

Ao Prof. Dr. Francisco Javier Martínez López, da Universidade de Murcia, Espanha, pela co-orientação no projeto.

Aos funcionários da Estação de Piscicultura da UFLA, Eleci Pereira e José Roberto, pela colaboração em campo.

Aos funcionários do Laboratório de Pesquisa Animal/Zootecnia: Eliana dos Santos, Suelba Ferreira, Márcio Nogueira e José Virgílio; aos funcionários Carlos Henrique Souza e Kátia de Oliveira, da Secretaria de Pós-graduação; à Keila Cristina de Oliveira e Cristina Oliveira, da Secretaria do DZO, pela prontidão e disposição em todas as horas.

Aos amigos Marcelo Gomes de Araújo e Jodnes Sobreira Vieira, pela colaboração e companheirismo.

Aos amigos Reinaldo Kanji Kato e Adriano Geraldo, pela valiosíssima amizade e compreensão durante toda a pós-graduação.

Aos pós-graduandos Daniel Okamura e Felipe Guedes de Araújo, pela disposição e sugestões durante a condução dos experimentos.

Aos alunos de graduação e integrantes do NAQUA (Núcleo de Estudos em Aquicultura), pela dedicação, em especial aos alunos Antônio Carlos Silveira Gonçalves, Daniella Aparecida de Jesus Paula, Adriano Carvalho Costa e Aline de Assis Lago, pelo auxílio em campo e em laboratório.

Aos funcionários do Centro de Análise e Prospecção Química do Departamento de Química da UFLA e à aluna de graduação Ester Lambert, pelo auxílio nas análises cromatográficas.

Aos colegas da Universidade de Murcia, Espanha, Laura Martínez Rubio e Pedro Almada Pagán, pela imensurável ajuda na condução do experimento, amizade e solidariedade nesta etapa no exterior.

Às queridas amigas Juliana dos Santos, Kamilla Ribas Soares, Ana Luisa Aguiar de Castro e Mônica Patrícia Maciel, pelo apoio, compreensão e incentivo nos momentos difíceis e por todos estes anos de convivência.

A todos os colegas de pós-graduação, pela presença e disposição na condução deste trabalho.

Aos meus pais Paulo Marcelo Ribeiro (“*in memoriam*”) e Clarice Perez Ribeiro, irmãos e demais familiares, por acreditarem e me apoiarem incondicionalmente em todas as minhas decisões.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

A Deus, por tudo!

**MUITO OBRIGADA!!**

## **BIOGRAFIA**

PAULA ADRIANE PEREZ RIBEIRO, filha de Paulo Marcelo Ribeiro e Clarice Perez Ribeiro, nasceu em Araçatuba, estado de São Paulo, em 29 de maio de 1976.

Em 28 de julho de 2001 graduou-se em Zootecnia pela Universidade Federal de Lavras.

Em abril de 2002, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Lavras, com concentração em Nutrição de Monogástricos, onde obteve o título de “Mestre” aos doze dias do mês de dezembro de 2003.

Em setembro de 2003 obteve aprovação para mudança de nível mestrado-doutorado, em Zootecnia, com concentração em Nutrição de Monogástricos. Em 2005 realizou parte dos trabalhos de doutorado na Universidade de Murcia, Espanha, submetendo-se ao exame final de tese no dia 09 de março de 2007, para a obtenção do título de “Doutor”.



## SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	iv
RESUMO GERAL.....	vi
GENERAL ABSTRACT.....	viii
CAPÍTULO I - Lipídios: aspectos gerais.....	1
RESUMO.....	2
ABSTRACT.....	3
1 INTRODUÇÃO.....	4
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	6
2.1 Lipídios.....	6
2.1.1 Ácidos graxos.....	6
2.1.1.1 Estrutura e classificação das cadeias carbônicas.....	6
2.1.1.2 Funções dos ácidos graxos.....	8
2.1.1.3 Fontes de ácidos graxos.....	12
2.2 Biossíntese dos ácidos graxos.....	18
2.2.1 Dessaturases.....	22
2.3 Lipogênese.....	24
2.4 Influência da dieta nos lipídios teciduais de animais monogástricos.....	31
2.5 Influência da temperatura no metabolismo lipídico em peixes.....	33
2.6 Perfil lipídico de peixes.....	34
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
CAPÍTULO II – Efeito da fonte de óleo na dieta e da temperatura sobre a biossíntese de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 em trutas arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ).....	46
RESUMO .....	47

ABSTRACT.....	48
1 INTRODUÇÃO.....	49
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	51
2.1 Local e duração do experimento.....	51
2.2 Animais e tratamentos.....	51
2.3 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	54
2.4 Métodos analíticos.....	55
2.4.1 Isolamento de hepatócitos em trutas.....	55
2.4.2 Marcação dos hepatócitos com isótopo radioativo.....	56
2.4.3 Extração lipídica e análise de ácidos graxos.....	57
2.4.4 Análise das amostras marcadas com radioisótopos.....	58
2.4.5 Determinação da taxa de oxidação nos hepatócitos.....	58
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
3.1 Composição química corporal.....	60
3.2 Perfil lipídico muscular.....	62
3.3 Dessaturação dos ácidos graxos.....	69
4 CONCLUSÕES.....	75
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
CAPÍTULO III – Efeito de diferentes óleos na dieta e da temperatura sobre a lipogênese e o perfil lipídico de tilápias nilóticas ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	80
RESUMO.....	81
ABSTRACT.....	82
1 INTRODUÇÃO.....	83
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	84
2.1 Local e duração do experimento.....	84
2.2 Animais e tratamentos.....	84
2.3 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	87

<b>2.4 Métodos analíticos.....</b>	<b>88</b>
<b>2.4.1 Extração lipídica e análise de ácidos graxos.....</b>	<b>88</b>
<b>2.4.2 Determinação da atividade enzimática.....</b>	<b>89</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>90</b>
<b>3.1 Composição química corporal.....</b>	<b>90</b>
<b>3.2 Perfil lipídico muscular.....</b>	<b>92</b>
<b>3.3 Atividade enzimática.....</b>	<b>97</b>
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>101</b>
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>102</b>
<b>CAPÍTULO IV – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>105</b>
<b>LISTA DE ANEXOS.....</b>	<b>107</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>123</b>
<b>ANEXO B.....</b>	<b>128</b>
<b>ANEXO C.....</b>	<b>159</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela</b>		<b>Pág.</b>
1.	Perfil de ácidos graxos de cadeia longa de óleos de interesse comercial.....	15
2.	Perfil de ácidos graxos de cadeia longa de diferentes elos da cadeia alimentar marinha (valores em %).....	17
3.	Principais classes de lipídios teciduais em peixes.....	35
4.	Perfil lipídico peixes tropicais de água doce e marinhos, em % de ácidos graxos.....	37
5.	Composição percentual das rações experimentais formuladas para truta arco-íris ( <i>O. mykiss</i> ).....	52
6.	Perfil de ácidos graxos das dietas experimentais fornecidas para truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ).....	53
7.	Porcentagem corporal média de umidade, proteína, extrato etéreo e cinzas, na matéria seca, de trutas arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta fornecida e do tempo de coleta.....	61
8.	Porcentagem média dos ácidos graxos linoléico, araquidônico, $\alpha$ -linolênico, EPA e DHA no músculo de trutas arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta fornecida e do tempo de coleta.....	63

9.	Porcentagem média de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados no músculo de trutas arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta fornecida e do tempo de coleta.....	65
10.	Porcentagem média de radioatividade recuperada na formação de PUFA's ômega-3, em hepatócitos de trutas arco-íris ( <i>O. mykiss</i> ), em função da dieta fornecida e do tempo de coleta.....	70
11.	Composição percentual das rações experimentais formuladas para tilápia nilótica ( <i>O. niloticus</i> ).....	85
12.	Perfil de ácidos graxos das dietas experimentais fornecidas para tilápia nilótica ( <i>O. niloticus</i> ).....	86
13.	Porcentagem média de umidade, proteína, extrato etéreo e cinzas, na matéria seca, do músculo de tilápias nilóticas ( <i>O. niloticus</i> ), em função da dieta fornecida em duas épocas.....	91
14.	Porcentagem e perfil de ácidos graxos do tecido muscular de tilápia nilótica ( <i>O. niloticus</i> ), em duas épocas, e efeito dos tratamentos nestes percentuais.....	93
15.	Efeito dos tratamentos na atividade das enzimas málica e glicose-6-P desidrogenase (em U/mg de proteína) no tecido hepático de tilápia nilótica ( <i>O. niloticus</i> ), em duas épocas.....	97

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Pág.</b>
1.	Diferenças estruturais entre ácidos graxos das séries ômega-9, ômega-6 e ômega-3.....	8
2.	Síntese de eicosanóides em animais. PG, prostaglandinas; TX, tromboxano; PGI <sub>2</sub> , prostaciclina I <sub>2</sub> ; GSH, glutatião reduzido.....	11
3.	Biossíntese de ácidos graxos poliinsaturados em animais.....	20
4.	Produção de acetil-CoA citossólico.....	24
5.	Síntese de malonil-CoA.....	25
6.	Fase oxidativa da via das pentoses.....	26
7.	Ciclo do piruvato/malato.....	27
8.	Representação dos possíveis substratos para as rotas lipogênicas.....	29

9.	Alterações na proporção de ácidos graxos mono e poliinsaturados no tecido muscular de trutas arco-íris ( <i>O. mykiss</i> ), alimentadas com dieta contendo óleo de linhaça, durante a adaptação à redução da temperatura de 20°C para 15°C.....	66
10.	Alterações na proporção de EPA (C20:5 n-3) no tecido muscular de trutas arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), alimentadas com dieta contendo óleo de linhaça, durante a adaptação à redução da temperatura de 20°C para 15°C.....	67
11.	Percentual de radioatividade recuperada na atuação das dessaturases para a formação de C22:5 n-3 nos hepatócitos de trutas arco-íris ( <i>O. mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta após a redução da temperatura de 20°C para 15°C...	71
12.	Atividade enzimática nos hepatócitos de trutas arco-íris ( <i>O.mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta após a redução da temperatura de 20°C para 15°C.....	73
13.	Proporções de ácidos graxos saturados, mono e poliinsaturados no músculo de tilápias, alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de óleo, em duas temperaturas.....	96
14.	Atividades hepáticas das enzimas glicose-6-P desidrogenase (G6PD) e enzima málica (EM) em tilápias, alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de óleo, em duas temperaturas.....	99

## RESUMO GERAL

RIBEIRO, Paula Adriane Perez. **Efeito de fontes de ácidos graxos na dieta e da redução da temperatura sobre o metabolismo lipídico de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) e trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).** 2007. 162p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

Os experimentos foram realizados na Universidade de Murcia, Espanha e na Estação de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Brasil, com duração de 24 meses, com o objetivo de avaliar o metabolismo lipídico de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*). No primeiro experimento, conduzido na Espanha, foram utilizadas 40 fêmeas de truta arco-íris, com peso médio inicial de 225g, mantidas em caixas de metabolismo de 600L. Os tratamentos aplicados foram: 1- dieta controle + óleo de linhaça, a 20°C; 2- dieta controle + óleo de linhaça, 5 dias após a redução da temperatura para 15°C; 3- dieta controle + óleo de linhaça, 10 dias após a redução da temperatura para 15°C; 4- dieta controle + óleo de peixe, a 20°C; 5- dieta controle + óleo de peixe, 5 dias após a redução da temperatura para 15°C; 6- dieta controle + óleo de peixe, 10 dias após a redução da temperatura para 15°C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 3 repetições e os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x3, sendo 2 dietas e 3 tempos de coleta (0, 5 e 10 dias). Os parâmetros avaliados foram: perfil de ácidos graxos e composição bromatológica do músculo e atividade hepática de  $\Delta^6$  e  $\Delta^5$  dessaturase. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo software SISVAR, com as médias dos tratamentos comparadas pelo teste F (5%) e os tempos de coleta submetidos à análise de regressão. Os peixes alimentados com a dieta contendo óleo de linhaça apresentaram maiores alterações no perfil de ácidos graxos poliinsaturados, quando comparados aos animais submetidos à dieta com óleo de peixe ( $P < 0,05$ ). Esse perfil sofre modificações lineares com a redução da temperatura, refletindo uma adaptação metabólica destes animais ao estresse térmico. Não houve diferença significativa na composição bromatológica muscular dos peixes submetidos aos diferentes tratamentos ( $P > 0,05$ ). O segundo experimento, foi realizado no laboratório de nutrição de peixes da UFLA, sendo subdividido em dois experimentos. No primeiro, foram utilizados 45 machos sexados de tilápia nilótica, com peso médio inicial de 204g, mantidos em 15

---

<sup>1</sup> Comitê orientador: Priscila Vieira Rosa Logato – UFLA (Orientadora); Rilke Tadeu Fonseca de Freitas – UFLA; Mário César Guerreiro – UFLA e Francisco Javier Martinez Lopes – UM, Espanha.



caixas de metabolismo de 100L, a uma temperatura média de 20,9°C. Os tratamentos aplicados foram: 1- dieta controle + óleo de oliva; 2- dieta controle + óleo de milho; 3- dieta controle + óleo de soja; 4- dieta controle + óleo de linhaça; 5- dieta controle + óleo de peixe. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 4 repetições. No segundo sub-experimento, foram utilizados 40 machos sexados de tilápia nilótica, com peso médio inicial de 205g, mantidos em 5 caixas de metabolismo de 250L, a uma temperatura média de 24,7°C. Os tratamentos aplicados foram: 1- dieta controle + óleo de oliva; 2- dieta controle + óleo de milho; 3- dieta controle + óleo de soja; 4- dieta controle + óleo de linhaça; 5- dieta controle + óleo de peixe. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 7 repetições. Os parâmetros avaliados para os dois sub-experimentos desta etapa foram: perfil de ácidos graxos do tecido muscular e atividade hepática de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e enzima málica (EM). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo software SISVAR e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott (5%). Não houve diferenças significativas para os teores musculares de umidade e cinzas, em ambos experimentos ( $P > 0,05$ ). Porém, foram observadas alterações nos teores de lipídios e proteína nos peixes referentes aos tratamentos 1, 2 e 3, nos dois experimentos ( $P < 0,05$ ). Os peixes alimentados com dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados apresentaram maiores teores dos mesmos em sua composição lipídica muscular ( $P < 0,05$ ). A atividade enzimática de G6PD foi superior a de EM, em ambas as condições experimentais, sendo mais elevadas nos animais alimentados com rações contendo óleo de oliva, milho e soja ( $P < 0,05$ ), evidenciando, conseqüentemente, a maior deposição lipídica muscular destes peixes.

## GENERAL ABSTRACT

RIBEIRO, Paula Adriane Perez. **Effect of the source of fatty acids in the diet and of temperature on the lipid metabolism of Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)**. 2007. 162p. Thesis (Doctor in Animal Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

The experiments were conducted at the Murcia University, Spain and Federal University of Lavras (UFLA) Fish Farming Station, Brazil, during 24 months, in order to evaluate the lipid metabolism of rainbow trout (*O. mykiss*) and Nile tilapias (*O. niloticus*). In the first experiment conducted in Spain, a total of 40 female rainbow trout specimen were utilized, with an initial average weight of 225g, maintained in metabolism boxes of 600L. The applied treatments were: 1- diet with linseed oil, box at 20°C; 2- diet with linseed oil, five days after the reduction of the box temperature to 15°C; 3- diet with linseed oil, ten days after the reduction of the box temperature to 15°C; 4- diet with fish oil, box at 20°C; 5- diet with fish oil, five days after the reduction of the box temperature to 15°C; 6- diet with fish oil, ten days after the reduction of the box temperature to 15°C. The experiment was in a completely randomized design with three replicates and the treatments arranged in 2x3 factorial scheme, that is, two diets and three collection times (zero, five and ten days). The evaluated parameters were: fatty acid profile and chemical composition of the muscle and hepatic activity of  $\Delta^6$  and  $\Delta^5$  desaturase. The data were submitted to variance analysis by the SISVAR software and the means of the treatments compared by F's test (5%) and the collection times submitted to regression analysis. The fish fed with diet containing linseed oil presented increased alterations in the polyunsaturated fatty acid profile, as compared with the animals submitted to the diet with fish oil ( $P < 0.05$ ). That profile undergoes linear modifications with reducing temperatures, reflecting a metabolic adaptation of these animals to heat stress. The results have not shown any statistical differences for the moisture, protein and lipids contents of the fish ( $P > 0.05$ ). The second experiment, conducted in the Fish Nutrition Laboratory of the UFLA, was subdivided into two experiments. In the first, a total of 45 sexed males of Nile tilapia were utilized, with an initial average weight of 204g, maintained in 100L metabolism boxes, at an average temperature of 20.9°C. The applied treatments were: 1- control diet plus olive oil; 2- control diet plus corn oil; 3- control diet plus

---

<sup>1</sup> Guidance Committee: Priscila Vieira Rosa Logato – UFLA (Adviser); Rilke Tadeu Fonseca de Freitas – UFLA; Mário César Guerreiro – UFLA and Francisco Javier Martinez Lopes – Spain.

soybean oil; 4- control diet plus linseed oil; 5- control diet plus fish oil. The experiment was in a completely randomized design with five treatments and four replicates. In the second sub-experiment, a total of 40 sexed males of Nile tilapia were utilized, with an initial average weight of 205g, maintained in five 250L metabolism boxes, at an average temperature of 24.7°C. The applied treatments were: 1- control diet plus olive oil; 2- control diet plus corn oil; 3- control diet plus soybean oil; 4- control diet plus linseed oil; 5- control diet plus fish oil. The experiment was in a completely randomized design with five treatments and seven replicates. The evaluated parameters for the sub-experiments of this step were: fatty acid profile of the muscle tissue and hepatic activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and malic enzyme (ME). The data were submitted to variance analysis by the SISVAR software and the means of the treatments were compared by Scott-Knott's test (5% of significance). The fish fed on diets rich in polyunsaturated fatty acids presented increased contents of such fat acids in their lipid muscle composition ( $P < 0.05$ ). The hepatic activity of G6PD was superior to that of ME in both experimental conditions, being higher in the specimen fed rations containing olive, corn and soybean oil ( $P < 0.05$ ), thus, evidencing the highest lipid muscle deposition of these fish.

## **CAPÍTULO I**

### **LIPÍDIOS: ASPECTOS GERAIS**

## RESUMO

RIBEIRO, Paula Adriane Perez. Lipídios: aspectos gerais. In: **\_\_\_ Efeito de fontes de ácidos graxos na dieta e da redução da temperatura sobre o metabolismo lipídico de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) e trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*)**. 2007, Cap.1, p.1-45. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

Os lipídios vêm sendo estudados há muito tempo, destacando-se pesquisadores interessados em investigar as relações entre as substâncias presentes na dieta e o desenvolvimento ou não de doenças. Algumas classes lipídicas proporcionam maiores benefícios à saúde, como os PUFA's (Ácidos Graxos Poliinsaturados). A exemplo destes podemos citar o ácido araquidônico, o EPA (ácido eicosapentaenóico) e o DHA (ácido docosahexaenóico), fisiologicamente importantes. São normalmente encontrados em óleos de peixe ou sintetizados pelo homem e pelos animais, através da dessaturação e alongamento da cadeia carbônica, mediante a presença de enzimas específicas. O metabolismo lipídico está fundamentado, entre outros processos bioquímicos, na lipogênese propriamente dita e na biossíntese de ácidos graxos de cadeia longa. A capacidade de alongar e dessaturar ácidos graxos depende de uma série de fatores, dentre eles, do sistema enzimático de cada espécie. A presença e a atividade das dessaturases variam de acordo com a espécie animal. As principais rotas lipogênicas apresentam uma grande variação entre as espécies, tanto na sua disposição tecidual, quanto nos substratos para a síntese lipídica. Em peixes, os processos lipogênicos são, geralmente, comparáveis à maioria dos animais mamíferos. O conhecimento das séries de ácidos graxos e do seu metabolismo nos organismos animais possibilita a manipulação do perfil lipídico em favor de uma maior relação ômega-3/ômega-6, conseqüentemente, agregando valor nutricional e econômico a algumas espécies de peixes, por exemplo. Este fato pode representar o sucesso na atividade aquícola.

---

<sup>1</sup> Comitê orientador: Priscila Vieira Rosa Logato – UFLA (Orientadora); Rilke Tadeu Fonseca de Freitas – UFLA; Mário César Guerreiro – UFLA e Francisco Javier Martinez Lopes – UM, Espanha.

## ABSTRACT

RIBEIRO, Paula Adriane Perez. Lipids: general aspects. In: **Effect of the source of fatty acids in the diet and of temperature on the lipid metabolism of Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)**. 2007. Chap.1, p.1-45. Thesis (Doctor in Animal Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

Lipids have been studied for a long time, with emphasis on researchers interested in investigating the relationship between diet contents and diseases. Some lipid types such as the Poly-Unsaturated Fat Acids (PUFA) have shown to provide more health benefits than others. E.g., the Eicosapentaenoic Acid (EPA) and the Docosahexaenoic Acid (DHA) are physiologically important. They are usually found in fish oil, or in human- and animal-synthesized oil as a result of the de-saturation and elongation of the carbon chain by specific enzymes. The lipidic metabolism is based on, among other biochemical processes, the lipogenesis itself and on the biosynthesis of long-chain fat acids. The ability to elongate and de-saturate fat acids depends on many factors, the type of enzymatic system of each species being among them. The presence and activity of the desaturases vary depending on the animal species. The main lipogenic routes show great variation among several species, not only in its tissue arrangement but also in the presence of substrates for its lipidic synthesis. In fish, the lipogenic processes are, usually, comparable to those of most mammals. By knowing the fat acid series and their metabolism in animals, it is possible to manipulate the lipidic profile favoring an increase of the omega-3/omega-6 ratio, thus, adding nutritional and economical value to some fish species, for instance. This fact may be crucial in the success of fish-farming businesses.

---

<sup>1</sup>Guidance Committee: Priscila Vieira Rosa Logato – UFLA (Adviser); Rilke Tadeu Fonseca de Freitas – UFLA; Mário César Guerreiro – UFLA and Francisco Javier Martinez Lopes – Spain.

## 1 INTRODUÇÃO

A importância do consumo de produtos de origem animal reside em alguns fatores como o fornecimento de aminoácidos essenciais, de ferro mais biodisponível quando comparado aos vegetais e fornecimento de energia, entre outros.

Porém, sabe-se que alimentos de origem animal apresentam maior densidade energética em relação aos de origem vegetal, devido ao maior teor lipídico dos mesmos. Assim sendo, a ocorrência de obesidade e de doenças provenientes desse quadro é comum mediante situações onde o consumo destes alimentos é excessivo.

A nutrologia humana e animal vêm estudando os lipídios há muito tempo, destacando-se pesquisadores interessados em investigar as relações entre as substâncias presentes na dieta e o desenvolvimento ou não de doenças. Dentre essas doenças são de importância relevante as crônico-degenerativas. Distúrbios cardiovasculares decorrentes de aterosclerose estão diretamente relacionados ao elevado consumo de lipídios, sobretudo na forma de colesterol, gorduras saturadas e óleos trans-insaturados, comumente presentes em alimentos de origem animal. No entanto, sabe-se que dentre as diferentes classes de lipídios algumas trazem benefícios maiores à saúde, como os PUFAs (Ácidos Graxos Poliinsaturados).

Estudos nesta área constatarem que a ingestão de alimentos constituídos por PUFAs, principalmente da série ômega-3, reduzem o nível de colesterol no organismo. Os ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), ambos da série ômega-3, por exemplo, são derivados do ácido  $\alpha$ -linolênico, sendo normalmente encontrados em óleos de peixe ou também sintetizados pelo homem e pelos animais, através da dessaturação e alongamento da cadeia do ácido  $\alpha$ -linolênico, mediante a presença de enzimas específicas.

Os primeiros relatos sobre a importância dos lipídios na nutrição de peixes datam da década de 1960. Atualmente, sabe-se que estes compostos são bem metabolizados por esses animais e que suas exigências nutricionais já estão definidas.

O conhecimento das séries lipídicas e sua incorporação nos alimentos de origem animal são tão importantes quanto as informações sobre a capacidade de converter precursores em ácidos graxos de importância fisiológica. A possibilidade de se alterar o perfil de ácidos graxos em favor de uma maior relação ômega-3/ômega-6 e, conseqüentemente, agregar valor nutricional e econômico a algumas espécies de peixes é, sem dúvida, uma alternativa a ser explorada. Assim sendo, os esforços no sentido de conhecer melhor o metabolismo lipídico de espécies de peixes economicamente importantes pode representar sucesso na atividade aquícola.

O presente estudo teve como objetivo geral avaliar o metabolismo lipídico da tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) e da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), alimentadas com dietas contendo diferentes ácidos graxos de cadeia longa, por meio da determinação da capacidade lipogênica e composição lipídica das espécies. Desta forma, foram desenvolvidos dois experimentos avaliando especificamente a biossíntese de PUFA's ômega-3 em trutas e a lipogênese em tilápias, ambos sob influência da dieta e da temperatura.



## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Lipídios**

Os lipídios são moléculas orgânicas insolúveis em água e que podem ser extraídas dos tecidos por solventes apolares. Devido a sua insolubilidade em meio aquoso, encontram-se compartimentalizados nos líquidos corporais, podendo estar associados às membranas celulares, sob a forma de gotículas nos adipócitos ou associados às proteínas no plasma. São normalmente classificados em lipídios simples (gorduras e ceras) e lipídios complexos (fosfolipídios, glicolipídios e outros) (Champe & Harvey, 1997).

A maioria dos lipídios naturais consiste em triacilgliceróis, fosfolipídios, monoacilgliceróis e outras substâncias de natureza lipídica, presentes em menores proporções (Mahan & Escott-Stump, 1998).

Os lipídios são constituídos por aproximadamente 90% de ácidos graxos, os quais conferem suas propriedades gerais.

#### **2.1.1 Ácidos graxos**

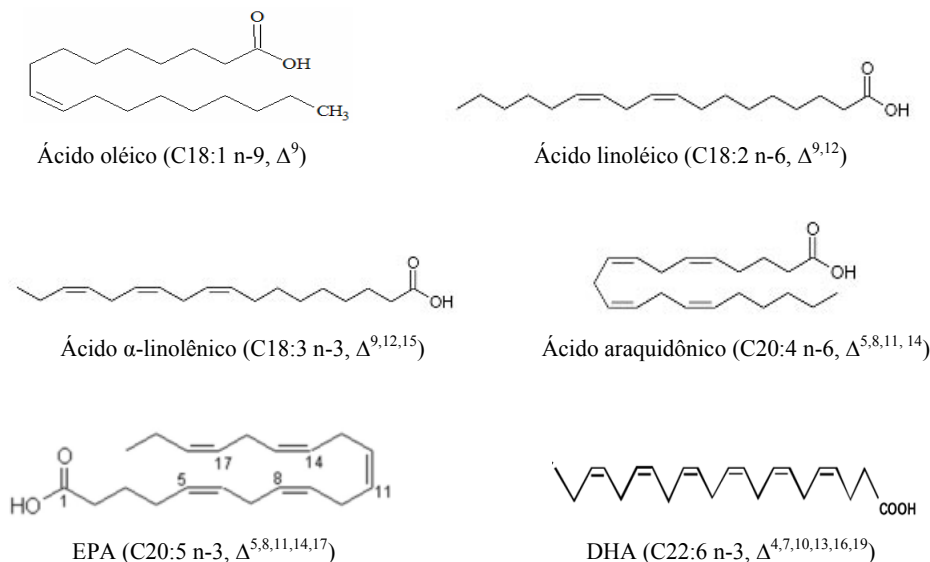
##### **2.1.1.1 Estrutura e classificação das cadeias carbônicas**

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos alifáticos obtidos, geralmente, a partir da hidrólise de gorduras e óleos. Caracterizam-se por possuir uma função ácida, de natureza carboxílica e hidrófila, e uma cadeia carbônica hidrófoba, a qual permite que sejam classificados em: saturados, sem duplas ligações e insaturados, contendo uma ou mais duplas ligações (Murray et al., 1994).

De acordo com este critério de classificação, surgiram as denominações “ômega”, conforme a posição da primeira insaturação na cadeia. Os ácidos graxos ômega-3 são compostos insaturados, contendo mais de uma dupla ligação, sendo a primeira delas localizada entre os carbonos 3 e 4 da cadeia alifática. Os ácidos graxos da série ômega-6, por sua vez, apresentam a primeira insaturação posicionada entre os carbonos 6 e 7, sendo que, para os ácidos graxos denominados ômega-9, esta primeira insaturação encontra-se entre os carbonos 9 e 10 da cadeia alifática.

Os ácidos graxos de origem animal apresentam geralmente uma estrutura bem simples, ou seja, têm cadeia aberta, que pode conter até seis duplas ligações. Os ácidos graxos de origem vegetal são bem variados, podendo conter ligações acetilênicas, epóxi-hidróxi e ceto-grupos ou anéis de ciclopropeno. Já os ácidos graxos de bactérias podem ser saturados, monoenóicos, de cadeia ramificada, ou conter um anel de ciclopropano (o ácido lactobacílico) (Murray et al., 1994).

A Figura 1 ilustra alguns ácidos graxos representativos das séries ômega-9, ômega-6 e ômega-3 e suas respectivas estruturas.



**FIGURA 1** Diferenças estruturais entre ácidos graxos das séries ômega-9, ômega-6 e ômega-3 (Murray et al., 1994).

### 2.1.1.2 Funções dos ácidos graxos

Estudos com ácidos graxos monoinsaturados, como o ácido oléico, por exemplo, evidenciam sua influência na composição de membranas, alterando os conteúdos de fosfolípídios e colesterol. Ainda, em substituição às gorduras saturadas, reduz os níveis de LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade), sem alterar os níveis de HDL (Lipoproteína de Alta Densidade), como acontece com os ácidos graxos poliinsaturados (Marinetti, 1990).

As funções dos ácidos graxos essenciais parecem ser diversas, embora não bem definidas; além da formação de prostaglandinas e leucotrienos, são encontrados nos lipídios estruturais de todas as células e estão relacionados com

a integridade estrutural da membrana mitocondrial, ocorrendo em altas concentrações nos órgãos reprodutores.

No entanto, os lipídios são capazes de regular o metabolismo e a funcionalidade das células, ao contrário do que se acreditava no início do século passado, quando se afirmava que os ácidos graxos funcionavam apenas como substratos energéticos e componentes estruturais de membranas (Pompéia et al., 2000).

Os ácidos graxos da série ômega-3 atuam também como sinalizadores intracelulares, suprimindo a expressão de genes envolvidos na lipogênese, e induzindo a transcrição de genes envolvidos na oxidação lipídica e na termogênese (Grimm et al., 2002). A dinâmica corporal do metabolismo de lipídios é importante para o organismo e, conseqüentemente, para as células imunes. Os receptores PPAR (Peroxisome proliferator- activated receptors) são um grupo de receptores nucleares chave, envolvidos na homeostase lipídica e também identificados no tecido linfóide (Braissant et al., 1996). O PPAR está envolvido na transcrição dos genes: carnitina palmitoil transferase, HMG-CoA sintetase mitocondrial, acil-CoA oxidase peroxisomal, proteínas ligadoras de ácidos graxos, entre outros. Os ácidos graxos ômega-3 e seus metabólitos são ligantes do PPAR, podendo regular alguns processos bioquímicos por esta via de ativação (Mascaro et al., 1998).

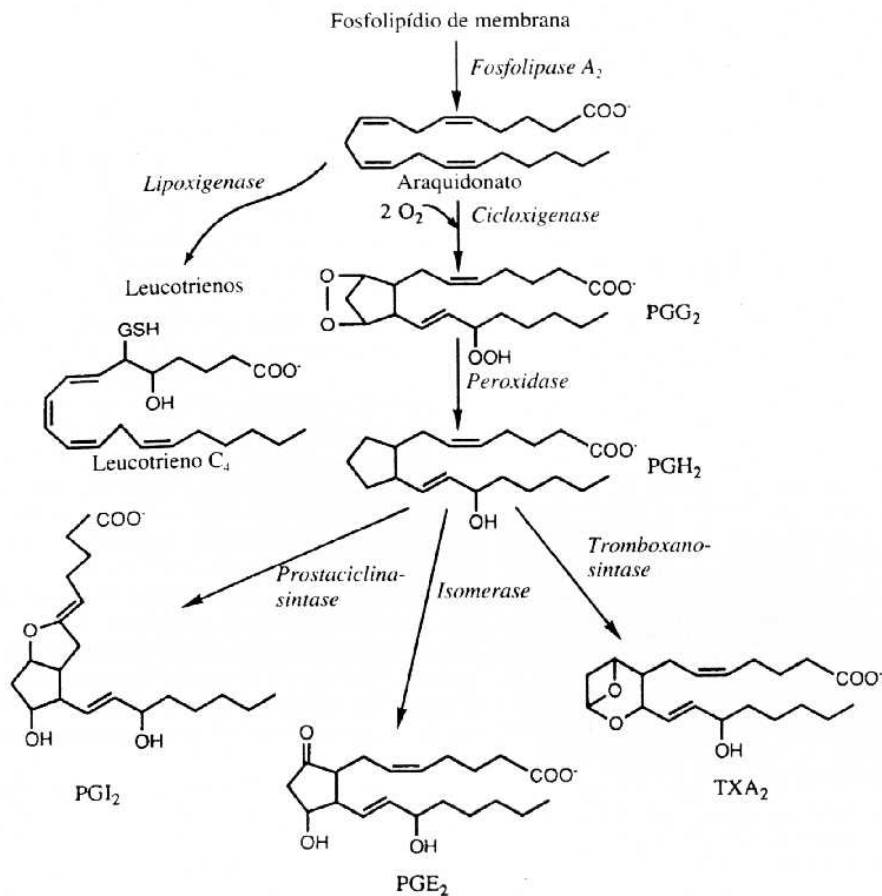
A série linolênica é essencial ainda para funções cardíacas e vasculares, assim como para o bom funcionamento dos sistemas endócrino e imunológico (Nunes, 1995).

Os ácidos graxos podem regular a funcionalidade de leucócitos e este efeito, é em parte, devido à alteração na transcrição gênica. O EPA e o DHA apresentam efeitos marcantes na função leucocitária, afetando as respostas inflamatórias e imunitárias. Apresentam efeitos benéficos no tratamento de doenças cardiovasculares, autoimunes, esclerose múltipla e certos tipos de

câncer. A determinação dos genes estimulados ou inibidos pelos efeitos desses ácidos graxos e de sua funcionalidade (proliferação e produção de citocinas, por exemplo), certamente contribui para explicar o mecanismo de ação destes compostos e estabelecer os benefícios de sua suplementação sobre a função do sistema imune (Calder, 1996; Fernandes et al., 1998).

Sabe-se que os efeitos dos ácidos graxos de cadeia longa na redução de doenças cardíacas, no aumento do tempo de coagulação e na diminuição da agregação plaquetária, observados inicialmente em esquimós, estão associados à síntese de prostanóides, que agem inibindo a agregação de plaquetas junto à parede dos vasos sanguíneos, evitando a trombose. Segundo Murray et al. (1994), uma elevada proporção de ácidos graxos poliinsaturados em relação aos saturados, na dieta, é o principal fator que determina a redução da concentração de colesterol plasmático, condição esta considerada benéfica na prevenção de doença cardíaca coronariana. A variação nestas proporções pode, ainda, influenciar favoravelmente o tipo de eicosanóide sintetizado, indicando uma possível alteração no curso destas doenças, mediante manipulação da dieta.

A Figura 2 ilustra a síntese de eicosanóides em animais.



**FIGURA 2** Síntese de eicosanóides em animais. PG, prostaglandinas; TX, tromboxano; PGI<sub>2</sub>, prostaciclina I<sub>2</sub>; GSH, glutatião reduzido (Swenson & Reece, 1996).

As rotas seguidas pelos ácidos araquidônico e EPA são basicamente as mesmas. No entanto, o tromboxano produzido a partir do ácido araquidônico (denominado TXA<sub>2</sub>) apresenta propriedades distintas do tromboxano formado pelo EPA (denominado TXA<sub>3</sub>). O TXA<sub>2</sub> é um potente vasoconstritor,

promovendo um aumento da agregação plaquetária, enquanto o TXA<sub>3</sub> atua como vasodilatador, diminuindo a agregação plaquetária (Sprecher, 1981).

O EPA e o DHA, PUFAs de cadeia longa, são importantes componentes dos fosfolipídios das membranas biológicas, onde têm sido considerados como essenciais para a manutenção das propriedades físico-químicas da membrana, regulando a sua permeabilidade (Stubbs & Smith, 1984, citados por Murgas, 1999). Este fator é de grande relevância na parede celular dos neurônios, na iniciação e propagação dos impulsos nervosos.

O sistema nervoso central, depois do tecido adiposo, apresenta a maior concentração de lipídios do organismo, os quais constituem mais da metade do peso seco do tecido nervoso. Lipídios complexos, como gangliosídios, cerebrosídios, sulfatídios e fosfoinositídios, por exemplo, são predominantemente encontrados no cérebro. Os tecidos neurais são ricos em ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, sendo mais relevantes o ácido araquidônico (C20:4 n-6) e o DHA (C22:6 n-3), que perfazem cerca de 50% do total de ácidos graxos da substância cinzenta cerebral (Freitas & Kietzer, 2002). Exercem papel fundamental na manutenção do funcionamento do sistema nervoso central, modulando, entre outros fatores, a atividade visual, a maturação sensorial e o neurodesenvolvimento mental (Das, 2003 e Nascimento & Oyama, 2003).

### **2.1.1.3 Fontes de ácidos graxos**

As fontes vegetais de ácidos graxos podem ser encontradas no mercado a um preço mais acessível quando comparadas às fontes de origem animal. Além disso, apresentam uma maior estabilidade de oxidação, preservando-se intactas por mais tempo.

A natureza dos óleos e gorduras depende do tipo de ácido graxo ligado ao glicerol, do comprimento das cadeias carbônicas, bem como do grau de insaturação dos compostos. A configuração dos ácidos graxos constituintes de óleos e gorduras é ainda responsável por diferenças no sabor, textura, ponto de fusão e absorção pelo organismo (Bobbio & Bobbio, 1992).

Os óleos comestíveis são geralmente provenientes de sementes oleaginosas, como as de milho, soja, linhaça, canola, girassol, entre outras (Bortoluzzi, 1993). Estes óleos, em geral, passam por diversos processos industriais, sendo submetidos a uma redução de temperatura, o que favorece a cristalização dos ácidos graxos saturados de cadeia longa, que são então removidos por filtração. Após esta etapa, os óleos são destilados a vapor em vácuo, para a retirada de compostos voláteis responsáveis por odor e sabor desagradáveis (Moretto & Fett, 1998).

Óleos vegetais como os de soja, de linhaça e de canola, apresentam altos teores de ácido  $\alpha$ -linolênico, precursor do EPA e do DHA, sendo estes níveis superiores quando comparados aos óleos de milho e de girassol, por exemplo.

O óleo de milho, extraído do germe do milho, apresenta aplicações muito variadas, dentre as quais podemos destacar: indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia, fábricas de rações animais, entre outras.

O óleo de soja, consumido mundialmente em larga escala, tem uma utilização também bastante diversificada. Seu baixo preço aliado à excelente qualidade permite seu aproveitamento não só na alimentação humana, como na nutrição animal.

Os óleos de soja e de milho, em geral, apresentam baixo teor de ácido palmítico (C16:0) e elevado teor de ácido linoléico (C18:2 n-6). A presença em maior proporção de ácidos graxos insaturados confere a esses óleos uma pequena tendência à solidificação. Por este motivo são, muitas vezes,



adicionados a outros óleos vegetais, em processos de industrialização de gorduras denominadas “shortenning” e margarinas (Pereira, 2003).

O óleo de linhaça, obtido por prensagem e aplicação de solventes, é utilizado em larga escala, desde a fabricação de tintas, vernizes e resinas, indústrias alimentícias e de cosméticos, até a elaboração de rações animais. Apresenta aproximadamente 55% de ácidos graxos ômega-3, 14,5% de ômega-6 e 18,6% ácidos graxos da série ômega-9 (Wankenne, 2001).

Dentre as fontes lipídicas vegetais mais consumidas destaca-se também o azeite de oliva, difundido mundialmente a partir de culturas da região mediterrânea. O termo “azeite” é usado exclusivamente para os óleos obtidos de frutos, onde o produto classificado como “virgem” contém aproximadamente 90% de ácidos graxos insaturados, sendo o principal deles o ácido oléico e cerca de 9% de PUFAs (Wankenne, 2001).

Os óleos de peixe comerciais, geralmente obtidos de espécies marinhas, passam por prensagem e refinação. Para a refinação do óleo utiliza-se o processo de acidulação, promovendo, assim, a ruptura dos triacilgliceróis e liberação dos ácidos graxos, que, na sua maioria, são insaturados. Devido a sua alta susceptibilidade a peroxidação, são previamente estabilizados, aumentando assim seu tempo de conservação (Barroeta & Xalabarder, 1994; Windsor & Barlow, 1981, citados por Serrano, 2002).

A Tabela 1 apresenta alguns óleos comerciais, utilizados também na elaboração de dietas para animais e sua composição aproximada em ácidos graxos de cadeia longa.

**TABELA 1** Perfil de ácidos graxos de cadeia longa de óleos de interesse comercial.

FONTES COMERCIAIS	ÁCIDO GRAXO						
	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:4	C20:5	C22:6
Óleo de soja <sup>1</sup>	5,06	22,37	43,14	11,25	0,65	nd	nd
Óleo de canola <sup>1</sup>	2,42	60,32	15,02	13,17	0,50	nd	nd
Óleo de linhaça <sup>1</sup>	4,80	19,44	14,07	54,88	0,31	nd	nd
Óleo de milho <sup>2</sup>	4,00	24,00	44,40	1,96	1,00	nd	nd
Óleo de girassol <sup>3</sup>	3,10	27,65	56,30	2,60	0,43	nd	nd
Óleo de algodão <sup>4</sup>	3,10	22,86	50,16	1,32	0,20	nd	nd
Óleo de oliva <sup>5</sup>	2,70	71,80	10,27	0,70	nd	nd	nd
Óleo de peixe <sup>6</sup>	3,50	13,00	1,00	37,00	nd	1,10	0,80

nd – não determinado;

<sup>1</sup> Almeida (2004);

<sup>2</sup> ANVISA - Agência Nacional da Vigilância Sanitária (1999);

<sup>3</sup> Alexander (1998);

<sup>4</sup> Bortoluzzi (1993);

<sup>5</sup> JAOCS - Journal of American Oil Chemist's Society (1985);

<sup>6</sup> Serrano (2002).

Embora diversos autores não relatem a presença de PUFA's ômega-3, como o EPA e o DHA, em óleos vegetais, eles podem ser detectados, ainda que em baixos níveis, como constatado por Pereira (2003) e Murata (1998), estudando fontes de óleo na alimentação animal.

A presença do EPA e do DHA nos óleos de peixe é decorrente da alimentação destes animais, normalmente rica em organismos planctônicos com altos teores de ácidos graxos poliinsaturados.

A cadeia alimentar marinha é composta basicamente por algas unicelulares, constituintes do fitoplâncton marinho, cuja metade da composição

lipídica primordial é representada por PUFAs, principalmente da série ômega-3. As microalgas do fitoplâncton de água doce possuem uma constituição de ácidos graxos muito similar às de origem marinha. Entretanto, o perfil lipídico destas algas apresenta-se com uma maior concentração de PUFAs da série ômega-6. Algumas algas marinhas, por exemplo, apresentam quantidades relevantes de ômega-3 em sua composição e são a base da alimentação de muitos peixes de regiões temperadas (Barlow & Pike, 1991). Na Tabela 2 estão apresentadas as composições em ácidos graxos de cadeia longa dos principais constituintes da cadeia alimentar básica de espécies aquícolas.

**TABELA 2** Perfil de ácidos graxos de cadeia longa de diferentes elos da cadeia alimentar marinha (valores em %).

ORGANISMOS	ÁCIDO GRAXO						
	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:4	C20:5	C22:6
Mexilhões <sup>1</sup>	nd	4,80	1,52	4,67	nd	19,64	12,71
Bivalvos <sup>1</sup>	nd	10,05	1,09	4,56	nd	15,34	14,31
Fitoplâncton <sup>2</sup> :							
<i>Chlorella minutissima</i>	nd	Nd	nd	0,10	nd	27,30	nd
<i>Chlorella vulgaris</i>	nd	Nd	nd	nd	nd	26,60	nd
<i>Chlorella sp.</i>	nd	Nd	nd	0,20	nd	27,80	0,50
<i>Nannochloris coccooides</i>	nd	Nd	nd	0,10	nd	37,80	nd
<i>Chaetoceros septentrionale</i>	nd	3,40	0,50	0,50	nd	20,80	3,70
Zooplâncton <sup>3</sup> :							
Rotíferos	nd	5,10	11,50	6,40	3,15	8,10	1,90
Nematóides	21,50	31,60	12,00	2,20	1,60	nd	nd
Copépodos	5,40	4,10	1,10	1,10	1,10	20,10	28,60
Artêmia	1,90	21,80	7,20	3,30	2,70	9,90	0,40

nd – não determinado;

<sup>1</sup> Adaptado de Contreras-Guzmán (1994);

<sup>2</sup> Adaptado de Watanabe (1987) e Contreras-Guzmán (1994);

<sup>3</sup> Pereira (2001).

Os PUFAs da série ômega-3 estão presentes em concentrações relativamente altas em peixes de água fria das regiões temperadas ou subtropicais, como salmão, bacalhau, arenque, entre outros. Porém, sabe-se que a composição em ácidos graxos da carcaça desses peixes irá depender de sua alimentação e, conseqüentemente, de sua capacidade filtradora. (Lottemberg, 1992).

As aves de corte quando alimentadas com dietas contendo óleo como fonte de ácidos graxos, como por exemplo, óleos de soja e de linhaça, podem refletir pequenas quantidades de ácidos graxos ômega-3 na carne. Este fato pôde ser evidenciado por Rosa (1999) que, ao estudar a influência de dietas contendo diferentes fontes de óleo no perfil lipídico de frangos de corte, observou uma incorporação de PUFAs na coxa, quando da utilização de óleo de linhaça na ração.

A composição das gorduras em algumas espécies animais pode ser alterada com modificações na composição dos lipídios da dieta. Dessa forma, pode-se, por exemplo, alterar o conteúdo de ácidos graxos dos lipídios no músculo, elevando-se os níveis de EPA e DHA das rações.

## **2.2 Biossíntese dos ácidos graxos**

A síntese orgânica dos ácidos graxos saturados acontece no compartimento extramitocondrial, por um sistema enzimático complexo, cujo ponto de partida é a acetil-CoA. A partir dos ácidos graxos saturados formam-se os monoinsaturados, no fígado, por meio de reação catalisada por dessaturases microsossomais. Dos monoinsaturados originam-se os poliinsaturados, por ação de dessaturases específicas para a posição da dupla ligação na cadeia (Belda & Pourchet-Campos, 1991).

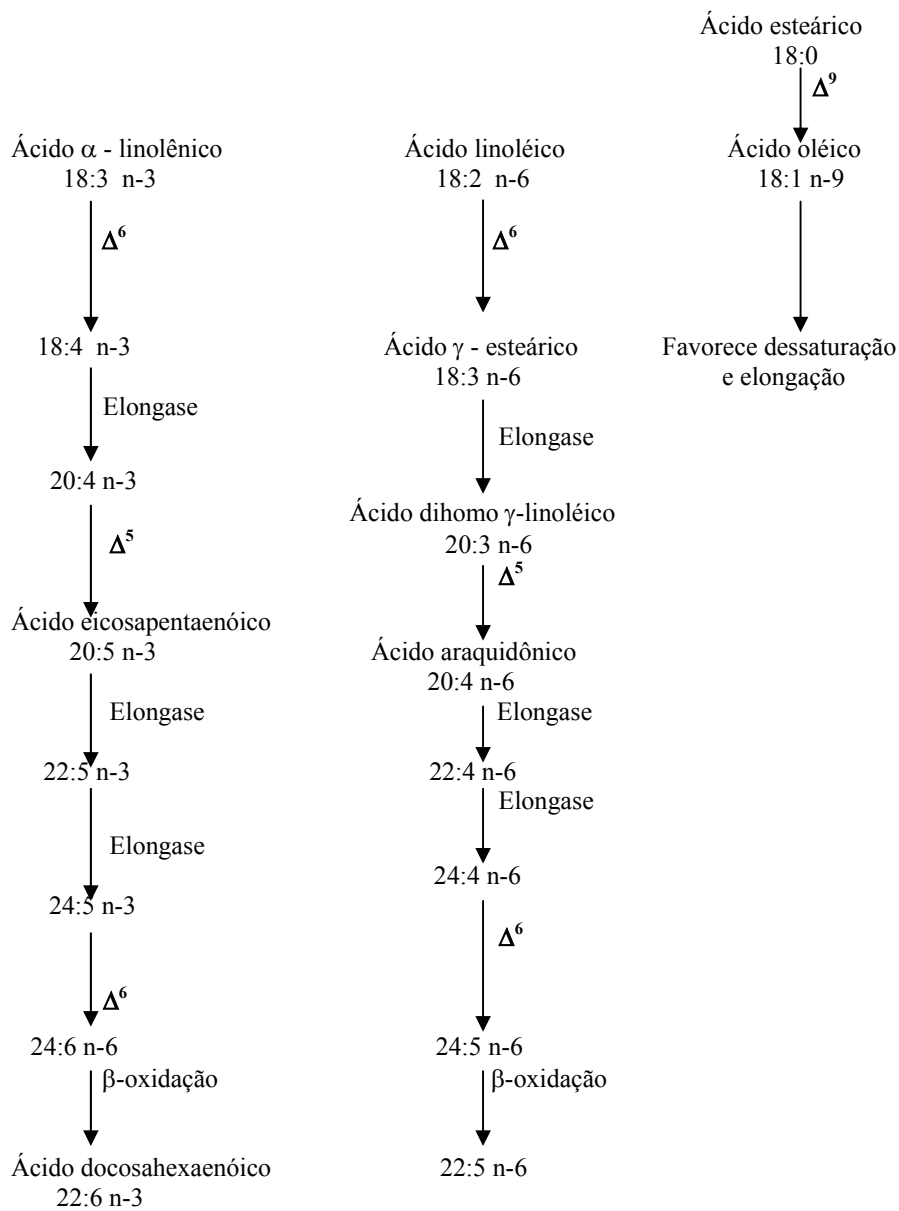
Os tecidos animais, em comparação com plantas, têm capacidade limitada na síntese de determinados ácidos graxos. Assim, requerem a presença, na dieta, de alguns ácidos graxos poliinsaturados obtidos, em última análise, de fontes vegetais. Estes compostos são ditos “essenciais”.

O nome "ácido graxo nutricionalmente essencial" foi criado para descrever os ácidos graxos insaturados linoléico e linolênico. Os ácidos linoléico e linolênico não podem ser sintetizados no metabolismo animal; somente o ácido

araquidônico pode sofrer síntese no organismo, desde que haja suprimento adequado de linoléico na dieta.

O metabolismo animal não tem capacidade de dessaturar para a extremidade metila e, portanto, a conversão de membros de uma família ômega em outra não é possível. Os animais são incapazes de produzir endogenamente as famílias ômega-6 e ômega-3 que, portanto devem ser supridas pela alimentação. Dessa forma, os ácidos linoléico e linolênico, precursores destas famílias, são essenciais aos animais, sendo sintetizados somente por plantas, bactérias e algumas classes de fungos (Swenson & Reece, 1996).

A Figura 3 mostra o esquema da biossíntese das séries de PUFAs ômega-9, ômega-6 e ômega-3, em animais.



**FIGURA 3** Biossíntese de ácidos graxos poliinsaturados em animais (adaptado de Napier, 2002).

Inicialmente acreditava-se que o processo de biossíntese de ácidos graxos em peixes seguia o mesmo padrão que em mamíferos. Posteriormente, observou-se que os peixes marinhos não possuíam a capacidade de realizar tal processo de forma tão eficiente como a maioria das espécies de água doce. Esta diferença influenciou de maneira significativa as exigências de ácidos graxos entre as espécies de água doce e marinha.

A cadeia alimentar marinha é formada por seres ricos em ômega-3, como o EPA e o DHA. Assim, os peixes marinhos perderam, pelo menos aparentemente, a capacidade de alongamento e dessaturação de ácidos graxos. Os peixes de água doce, de uma forma geral, possuem uma série de enzimas capazes de modificar o perfil da dieta e dos ácidos graxos, bem como dos produtos de sua biossíntese. Isto significa que muitas dessas espécies podem transformar um determinado ácido graxo em seu correspondente de cadeia mais longa. Por exemplo, o ácido  $\alpha$ -linolênico (C18:3 n-3), pode ser convertido em EPA (C20:5 n-3) e este ainda pode originar o DHA (C22:6 n-3) (Martino, 2003).

Ao contrário dos peixes de origem marinha, as espécies de água doce, como a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), carpa comum (*Cyprinus carpio*), bagre americano (*Ictalurus punctatus*), tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), entre outros, possuem a capacidade de realizar o processo de biossíntese com muito mais eficiência. Esta capacidade permite a inclusão, na alimentação, de óleos vegetais, desde que contenham uma quantidade adequada de ácido  $\alpha$ -linolênico, que será então convertido em EPA e DHA pelo sistema enzimático do peixe (Martino, 2003).

A capacidade de alongar e dessaturar ácidos graxos, gerando compostos fisiologicamente importantes para o desenvolvimento, depende de uma série de fatores, entre eles, do sistema enzimático de cada espécie.



### 2.2.1 Dessaturases

As dessaturases são enzimas específicas para posição e número de insaturações na cadeia do ácido graxo. A reação de dessaturação catalisada por dessaturases de ácidos graxos é um processo aeróbico que utiliza oxigênio molecular e elétrons, obtidos da cadeia de transporte de elétrons.

Existem três tipos de dessaturases de ácidos graxos: acil-CoA, acil-lipídio e acil-ACP dessaturase. A acil-CoA dessaturase é uma enzima de membrana que atua em reações de dessaturação de ácidos graxos esterificados a coenzima A (CoA), utilizando como doador de elétrons o citocromo *b5*. Está presente em animais, fungos e leveduras. A acil-ACP dessaturase é encontrada em plantas, atuando em reações de dessaturação de ácidos graxos ligados a uma proteína acil-carreadora (ACP). A acil-lipídio dessaturase é uma enzima de membrana encontrada em plantas, fungos e cianobactérias (Nakamura & Nara, 2004).

Os ácidos graxos essenciais, em animais, podem ser dessaturados e alongados dependendo da espécie, pela atividade das enzimas  $\Delta^9$ ,  $\Delta^6$  e  $\Delta^5$  dessaturases e das elongases.

A  $\Delta^9$  (estearoil-CoA dessaturase) é uma das dessaturases mais estudadas. Trata-se de uma enzima de membrana, microsomal, que funciona em conjunto com o citocromo *b5*, catalisando o primeiro passo da rota biossintética dos PUFA's, para a incorporação de uma insaturação na cadeia do ácido esteárico (C18:0), transformando-o em ácido oléico (C18:1 n-9) (Tocher et al., 1998).

A  $\Delta^6$  dessaturase é uma enzima de membrana, encontrada no retículo endoplasmático. Catalisa as reações de inserção de insaturações nas séries ômega-6 e ômega-3, convertendo o ácido linoléico (C18:2 n-6) em ácido  $\gamma$ -linolênico (C18:3 n-6) e o ácido  $\alpha$ -linolênico (C18:3 n-3) em estearidônico ou octadecatetraenóico (C18:4 n-3), respectivamente (Sayanova et al., 1999).

A  $\Delta^6$  dessaturase é requerida também para a síntese do ácido docosaheptaenóico ou DHA (C22:6 n-3), a partir do docosapentaenóico (C22:5 n-3). Anteriormente atribuía-se a produção de DHA à ação de uma enzima classificada como  $\Delta^4$  dessaturase. Na verdade, esta enzima é encontrada somente em plantas e organismos inferiores, tendo sido identificada primeiramente em *Thraustochytrium* sp., uma alga com alto teor de DHA (Pereira et al., 2003).

Estudos demonstram que os genes responsáveis pela expressão da atividade da  $\Delta^6$  dessaturase são mais funcionais em hepatócitos e tecidos cerebral e cardíaco, embora estejam ativos também em outros tecidos. A atividade desta enzima “*in vivo*” é regulada por componentes presentes na dieta e pela ação de hormônios específicos (Antueno et al., 2001 e Bourre et al., 1990).

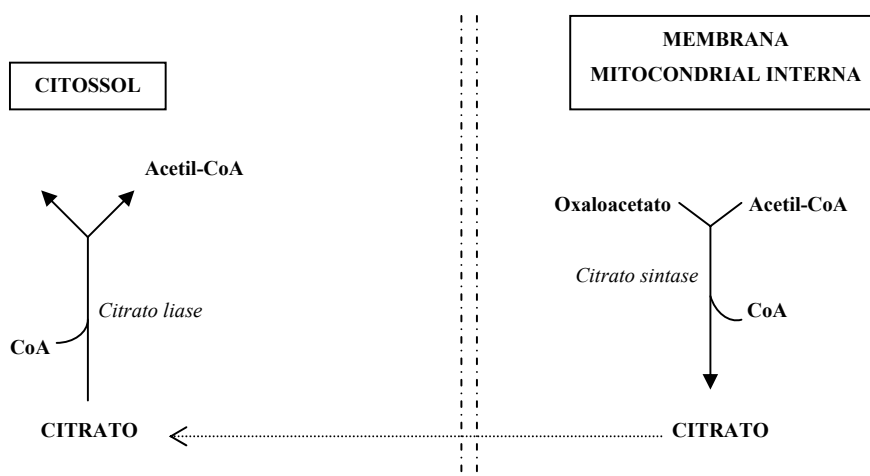
A  $\Delta^5$  dessaturase apresenta características estruturais semelhantes à  $\Delta^6$  dessaturase, catalisando, no entanto, o passo final na produção de PUFA's ômega-6 e ômega-3. É responsável pela conversão do ácido di-homo  $\gamma$ -linolênico (C20:3 n-6) em ácido araquidônico (C20:4 n-6) e do ácido eicosatetraenóico (C20:4 n-3) em ácido eicosapentaenóico ou EPA (C20:5 n-3). Apresenta maior atividade na glândula adrenal, fígado e cérebro, sendo regulada principalmente pelos componentes da dieta (Nakamura & Nara, 2004).

A presença e a atividade das dessaturases variam de acordo com a espécie animal. Os gatos, por exemplo, possuem baixa atividade da  $\Delta^6$  dessaturase e possivelmente da  $\Delta^5$  dessaturase também; peixes marinhos apresentam atividade da  $\Delta^6$  dessaturase, porém com limitações da  $\Delta^5$  dessaturase, ao passo que os peixes de água doce como a truta, a carpa e a tilápia possuem atividade satisfatória de ambas as dessaturases, podendo assim converter ácidos graxos essenciais a ácido araquidônico, EPA e DHA, com maior eficiência (Pereira et al., 2003).

A modulação da biossíntese de PUFA pode ser considerada o ponto chave no tratamento de doenças crônicas como aterosclerose, diabetes, inflamações, câncer e doenças cardiovasculares.

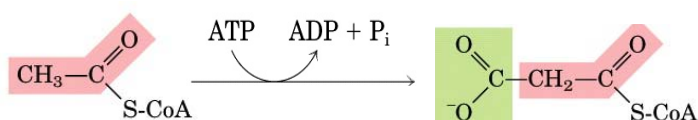
### 2.3 Lipogênese

A lipogênese se inicia com a produção de uma molécula de acetil-CoA citossólico, através da formação de citrato, como representado na Figura 4. Porém, esta translocação do citrato mitocondrial ao citossol ocorre somente quando sua concentração está elevada dentro da mitocôndria, em função de uma inibição na atividade da enzima isocitrato desidrogenase, no ciclo de Krebs, pelo acúmulo de ATP. Assim, o aumento de ATP e de citrato favorecem a ocorrência desta rota metabólica (Champe & Harvey, 1997).



**FIGURA 4** Produção de acetil-CoA citossólico (Champe & Harvey, 1997).

Em seguida, ocorre a carboxilação da acetil-CoA, para a formação de malonil-CoA, um processo catalisado pela enzima acetil-CoA carboxilase (Figura 5).



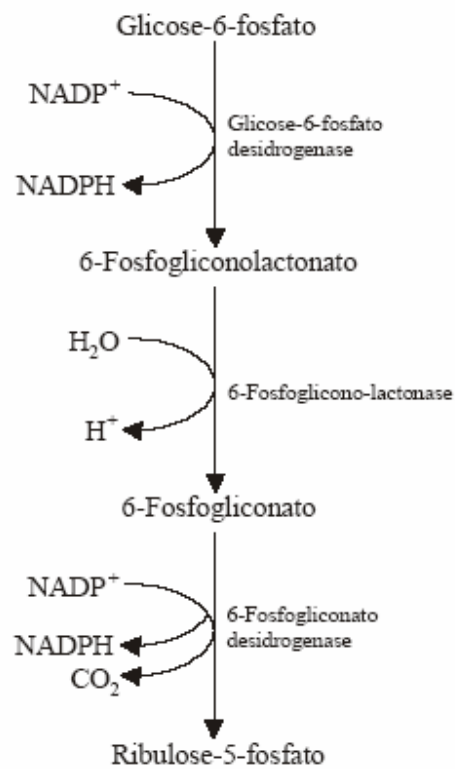
**FIGURA 5** Síntese de malonil-CoA (Lehninger et al., 1995).

A partir da molécula de malonil-CoA formam-se os diferentes ácidos graxos, pela ação de um complexo “ácido graxo sintetase”, um dímero contendo sete enzimas e uma proteína transportadora de acila (ACP).

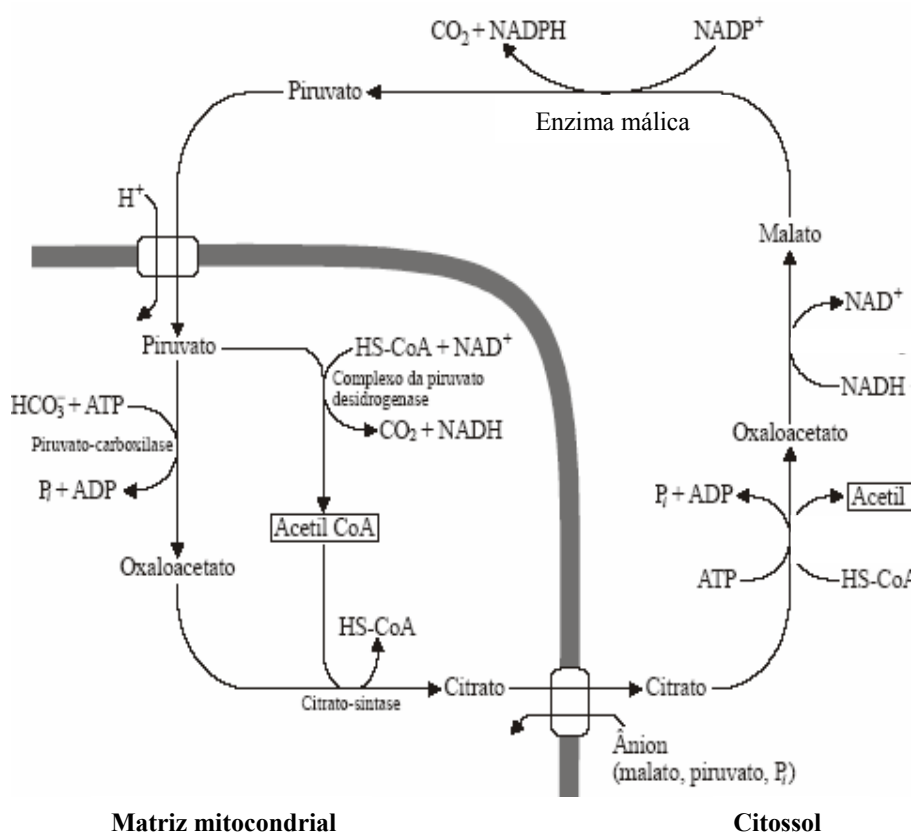
É importante ressaltar que, para a ocorrência eficaz das vias lipogênicas faz-se necessária a participação de NADPH, como doador de equivalentes redutores. As reações oxidativas da via das pentoses fosfatadas são a principal fonte de hidrogênio necessário à síntese redutiva dos ácidos graxos. Assim, tecidos especializados na lipogênese ativa também apresentam esta via ativa.

Em grande parte das espécies animais a principal fonte metabólica de NADPH é a via das pentoses fosfatadas. Trata-se de um processo bioquímico, constituído por duas fases: uma fase oxidativa irreversível e uma fase não oxidativa reversível. O suprimento de NADPH ocorre na fase irreversível, pela ação da glicose-6-P desidrogenase. Uma outra fonte alternativa de provimento de NADPH para a síntese de ácidos graxos é o ciclo do piruvato/malato, pela ação direta da enzima málica (Salway, 1994).

As Figuras 6 e 7 ilustram a rota das pentoses fosfatadas (fase oxidativa) e o ciclo do piruvato/malato, exemplificando a ação das enzimas glicose-6-P desidrogenase e málica, respectivamente, na formação de NADPH.



**FIGURA 6** Fase oxidativa da via das pentoses (Motta, 2003).



**FIGURA 7** Ciclo do piruvato/malato (Motta, 2003).

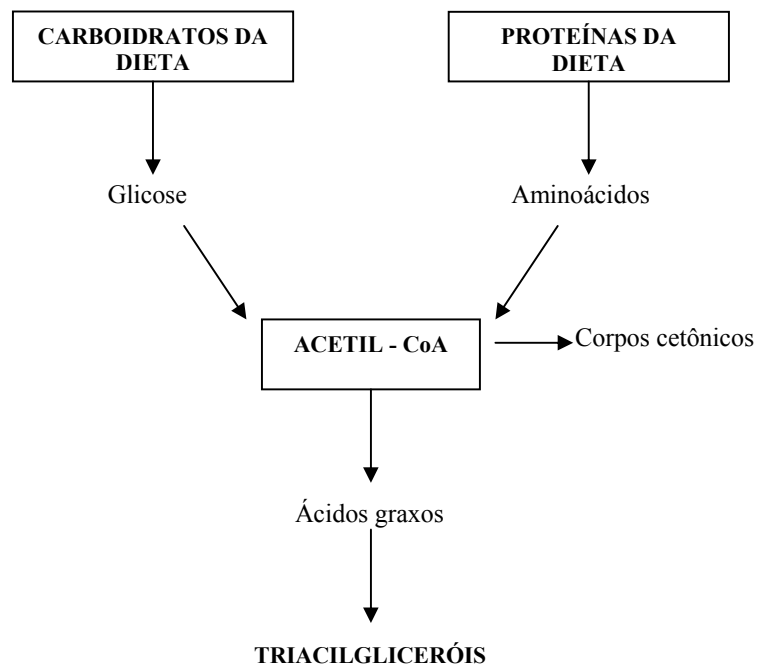
As principais rotas lipogênicas apresentam uma grande variação entre as espécies, tanto na sua disposição nos tecidos, quanto nos substratos para a síntese lipídica. Nos ratos, a lipogênese ocorre no tecido adiposo e fígado. No homem, entretanto, o tecido adiposo pode não ser considerado um sítio tão importante e o fígado, muitas vezes, apresenta baixa atividade lipogênica. Em algumas espécies de pássaros, por exemplo, a síntese lipídica acontece exclusivamente no tecido hepático, onde é particularmente importante no fornecimento de lipídios para a formação do ovo.

Em peixes, a digestão e absorção de ácidos graxos saturados e monoinsaturados é normalmente menor quando comparada a dos ácidos graxos poliinsaturados (Bell et al., 2001). Entretanto, sabe-se que uma vez absorvidas as gorduras da dieta, a energia proveniente da quebra dos triglicerídios em ácidos graxos de diferentes graus de insaturação é igualmente utilizada nos processos metabólicos, e assim, a energia digestível dessas gorduras dietárias torna-se um bom indicador da biodisponibilidade de energia para os peixes (NRC, 1993).

Os processos lipogênicos e lipolíticos em peixes são, em geral, comparáveis à maioria dos animais mamíferos. Assim, os ácidos graxos oriundos da quebra dos lipídios da dieta podem ser incorporados à estrutura dos fosfolipídios, armazenados como lipídios de reserva ou oxidados para fornecer energia (Henderson, 1996, citado por Menoyo et al., 2003).

As vias lipogênicas encontram-se mais ativas no período absorptivo do animal, quando a ingestão de energia pela dieta excede o gasto energético pelo organismo. A síntese dos ácidos graxos é favorecida pela disponibilidade de substratos (acetil-CoA e NADPH, derivados do metabolismo da glicose), ativação da enzima acetil-CoA carboxilase, que irá catalisar a reação para formação de malonil-CoA a partir de acetil-CoA, bem como pela síntese de glicerol. A síntese do triacilglicerol é também favorecida. Esse triacilglicerol formado é envolto, no fígado, em partículas de lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), que seguem até tecidos extra-hepáticos, como o tecido adiposo e muscular.

A Figura 8 ilustra a formação de ácidos graxos e triacilgliceróis a partir de excedentes da dieta.



**FIGURA 8** Representação dos possíveis substratos para as rotas lipogênicas (Adaptado de Lehninger et al., 1995).

A taxa lipogênica em peixes de água doce é regulada principalmente por fatores nutricionais. Sabe-se, por exemplo, que os lipídios da dieta podem suprimir a lipogênese. Assim, um aumento na relação gordura/proteína da dieta inibe a lipogênese em carpa comum (*Cyprinus carpio*), sendo que os altos níveis de lipídios dietéticos promovem uma redução na atividade das enzimas lipogênicas em juvenis de “yellowtail” (*Seriola quinqueradiata*). Porém, quando se aumenta a relação carboidrato/proteína da dieta, obtém-se um aumento proporcional na lipogênese em trutas (Brauge et al., 1995, citados por Tocher, 2003).



Estudos com “turbot” (*Psetta máxima*), uma espécie teleóstea marinha, mostram que a atividade de algumas enzimas hepáticas que participam dos processos de lipogênese, como a glicose-6-fosfato desidrogenase, enzima málica e a acetil-CoA carboxilase, apresenta uma pequena resposta ao aumento no teor de lipídios da dieta (Regost et al., 2001).

As diferentes fontes de gordura influenciam os processos lipogênicos no organismo, porém, o grau dessa influência irá depender da espécie em questão.

Dietas com altos níveis de PUFA's diminuem a capacidade lipogênica do fígado e tecido adiposo de ratos e camundongos (Foufelle et al., 1992), mas pode estimular a lipogênese no tecido adiposo de suínos (Mourot et al., 1994, citado por Gondret et al., 1998).

Pesquisas realizadas com carpa comum (*Cyprinus carpio*) mostram que dietas contendo PUFA's ômega-3 reduzem a lipogênese e o catabolismo de aminoácidos no hepatopâncreas desses peixes. Observou-se também, em estudos com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), que a atividade dos ácidos graxos saturados, nos hepatócitos, sofre uma diminuição significativa pelo aumento dos ácidos graxos poliinsaturados, especialmente pelo ácido linolênico (C18:3 n-3), EPA (C20:5 n-3) e DHA (C22:6 n-3) (Alvarez et al., 2001).

Dietas contendo altos teores de gordura são responsáveis, ainda, pela redução da  $V_{max}$ , da atividade específica e da eficiência catalítica da glicose-6-fosfato desidrogenase hepática em truta arco-íris (Sanchez-Muros et al., 1996). Embora o tecido adiposo tenha alguma capacidade lipogênica nas trutas, o fígado é quantitativamente o principal sítio de síntese lipídica nesta espécie (Henderson & Sargent, 1985, citados por Tocher, 2003).

## 2.4 Influência da dieta nos lipídios teciduais de animais monogástricos

Em muitas espécies de animais não ruminantes a composição corporal de ácidos graxos é reflexo do perfil lipídico da dieta.

Os ácidos graxos presentes em lipídios neutros teciduais, como triacilgliceróis e ésteres de colesterol, são influenciados diretamente pela composição da dieta. No entanto, algumas classes lipídicas, como os fosfolipídios das membranas cardíaca e cerebral, são mais resistentes à modificação na sua composição em função da alimentação (Yaqoob et al., 1995 e Barroeta & Xalabarder, 1994).

Estudos com diversas fontes lipídicas na dieta de animais de laboratório, aves, suínos e peixes evidenciam a possibilidade de alteração na composição de ácidos graxos da carcaça destes animais, comprovando a influência da dieta neste parâmetro.

Morais (2002), estudando o efeito e a concentração de óleos vegetais sobre as frações lipídicas do sangue e fígado de ratos (*Rattus norvegicus*, machos, da linhagem Wistar), observou que os maiores teores de triacilgliceróis no tecido hepático dos animais ocorre mediante um consumo preferencial de azeite de oliva na dieta, em concentrações que podem variar entre 7% e 14%. No entanto, esta fração lipídica é reduzida quando a dieta consumida contém óleo de canola como fonte de energia, sendo que a elevação gradativa de seu nível de inclusão na ração promove um decréscimo nos teores de triacilgliceróis no fígado.

Suínos e aves, alimentados com diferentes fontes de óleo na dieta, apresentam alterações significativas no perfil corporal de ácidos graxos, como mostrado em trabalhos revisados por Leibetseder (1997).

A inclusão de 2% de óleo de linhaça na ração de suínos mestiços Large White x Landrace, de 70 a 100Kg de peso vivo, por exemplo, favorece o

aumento da porcentagem de carne magra na carcaça e da área de olho de lombo, sendo que seu perfil lipídico segue o padrão apresentado pelo óleo utilizado, ou seja, com predominância do ácido  $\alpha$ -linolênico (C18:3 n-3) (Sousa, 2002).

Alao & Balnave (1984), citados por Serrano (2002), descreveram diferenças na composição lipídica da carcaça de frangos de corte, quando as aves foram alimentadas com rações contendo óleo de girassol e óleo de oliva, como meio de variar a concentração de ácido  $\alpha$ -linolênico. Os mesmos autores, trabalhando com três níveis de farinha de peixe na ração (4, 8 e 12%) encontraram maiores teores de ácidos graxos da série ômega-3 (197 mg/100g de carne) quando utilizaram 12% de farinha de peixe na formulação da dieta.

Serrano (2002), trabalhando com diferentes fontes de ácidos graxos nas rações de frangos de corte, linhagem “Cobb”, verificou que o perfil lipídico da dieta se reflete principalmente nos cortes de peito, coxas e sobrecoxas das aves, evidenciando que o óleo de peixe pode enriquecer a carne de frango com ácidos graxos ômega-3 ( $\alpha$ -linolênico, EPA e DHA).

Este reflexo da composição de ácidos da dieta no perfil lipídico corporal também ocorre em coelhos, sendo este efeito dependente de fatores como idade dos animais e duração do período de alimentação. Gondret et al. (1998), avaliando o efeito de diferentes fontes de ácidos graxos na dieta de coelhos Nova Zelândia Branco, em crescimento, observaram que a adição de óleo de girassol, rico em ácidos graxos poliinsaturados, em detrimento da inclusão de óleo de coco na dieta, resulta em um aumento significativo nos lipídios totais e no conteúdo destes ácidos graxos no músculo, além de melhorar a qualidade organoléptica da carne.

## 2.5 Influência da temperatura no metabolismo lipídico em peixes

Dentre alguns fatores ambientais que influenciam de maneira bastante acentuada o metabolismo das diferentes espécies de peixes, afetando suas exigências de ácidos graxos, destaca-se a temperatura.

Uma estratégia importante de muitos teleósteos para a adaptação à temperatura é o aumento na proporção de ácidos graxos insaturados na membrana fosfolipídica.

O nível de ácidos graxos insaturados no organismo depende não só da composição da dieta como também da dessaturação dos ácidos graxos de membrana. Este processo tem sido considerado um importante mecanismo de adaptação ao estresse térmico em peixes. Alterações na composição do ácido graxo do fosfolipídio de membranas celulares evidenciam a adaptação ao frio para manter a sua fluidez, e a maioria das respostas significativas a este estresse é o aumento dos níveis de ácidos graxos insaturados (Trueman et al., 2000).

As dessaturases, por exemplo, são enzimas-chave, que catalisam reações de inserção de duplas ligações para a formação dos ácidos graxos insaturados. A capacidade adaptativa dos organismos aos ambientes frios está diretamente relacionada à maior ou menor atividade destas enzimas, que influencia na composição dos ácidos graxos da membrana, melhorando sua fluidez.

Alterações paralelas na atividade de dessaturases e na composição de ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs) dos microssomas hepáticos em milkfish (*Chanos chanos*) foram observadas por Hsieh et al. (2003), durante um estudo de aclimatação a 15°C. Em resposta à temperatura fria, a atividade da  $\Delta^9$  dessaturase, por exemplo, aumentou significativamente de 1,25 para 3,08 mmol/min/g proteína, sendo igual a 2,3 mmol/min/g proteína a 25°C, seguida por um declínio até os níveis originais, como um sinal de recuperação fisiológica. Este fato também é observado em outras espécies, como a truta arco-

íris (*Oncorhynchus mykiss*) e a carpa comum (*Cyprinus carpio*) (Hsieh et al., 2003).

Hagar & Hazel (1985), estudando este efeito no metabolismo de trutas observou que durante a redução da temperatura de 20°C para 5°C houve um aumento na atividade hepática da  $\Delta^9$  dessaturase, de 0,27 para 0,54mmol/min/g proteína.

Farkas (1984) também constatou, em trabalhos com carpa comum, que as modificações nas proporções de ácidos graxos de membrana dependem diretamente da temperatura e do tempo de exposição a qual os animais são submetidos, sendo esta uma resposta reversível ao estresse térmico.

A capacidade de aumento da atividade das dessaturases varia de acordo com a espécie e favorece a tolerância térmica de peixes teleósteos. Esta flexibilidade, evidente em muitas espécies se reflete no perfil lipídico das mesmas.

Luzia et al. (2003) ao avaliarem o perfil lipídico da tilápia nilótica, obtida em rios, por exemplo, reportaram valores de 8,95% de ácidos graxos no verão e 4,10% no inverno, porém, com uma maior proporção de poliinsaturados na época fria em relação aos saturados e monoinsaturados.

## **2.6 Perfil lipídico de peixes**

Os principais compostos presentes nos extratos lipídicos de peixes podem ser agrupados segundo a Tabela 3.

**TABELA 3** Principais classes de lipídios teciduais em peixes.

<b>LIPÍDIOS NEUTROS</b>	<b>LIPÍDIOS POLARES</b>
Triacilgliceróis	Glicolipídios
Hidrocarbonetos	Fosfolipídios
Carotenóides	
Vitaminas lipossolúveis	
Esteróis	
Alquil e Alquenil éteres de diacilgliceróis	
Álcoois graxos e Ceras	

Contreras-Guzmán (1994)

No músculo da maioria das espécies de peixes os lipídios neutros somam cerca de 90% dos lipídios totais, embora sua partição possa diminuir em relação à depleção dos depósitos de reserva. Deste total, cerca de 96 a 98% está representado pelos triacilgliceróis. Assim, a porcentagem de lipídios polares é dependente do teor de triacilgliceróis, com os quais estabelecem uma relação inversa (Contreras-Guzmán, 1994).

Estudos sobre o metabolismo de ácidos graxos em peixes demonstram que as exigências variam de acordo com a espécie. Isto é evidente quando se compara o perfil de ácidos graxos de espécies marinhas ao de água doce.

A base da cadeia alimentar marinha é constituída por algas unicelulares, compostas por, aproximadamente, 20% de seu peso seco de lipídios, sendo que 50% desses lipídios se encontram sob a forma de PUFAs, principalmente da série ômega-3. As microalgas de água doce possuem uma constituição de ácidos graxos muito similar às de origem marinha. Entretanto, o perfil lipídico destas algas apresenta-se com uma maior concentração de PUFAs ômega-6. Essa diferença vem caracterizar e determinar a composição de ácidos graxos entre as espécies de peixes de água doce e marinha (Napier, 2002).

A composição de ácidos graxos de peixes tropicais encontra-se já bem documentada no Brasil, sendo que algumas informações foram obtidas de espécies selvagens, enquanto outras foram obtidas com espécies cultivadas e, portanto, alimentadas com dietas artificiais. O conhecimento do padrão básico de ácidos graxos em espécies selvagens é difícil de se obter, devido à variabilidade de alimentação natural destas espécies.

A maior temperatura do ambiente tropical favorece o acúmulo de ácidos graxos de cadeia longa pelos peixes brasileiros. Estes ácidos graxos chegam a representar até 80% do perfil lipídico completo, em algumas espécies (Contreras-Guzmán, 1994).

A Tabela 4 apresenta o perfil lipídico básico de algumas espécies de peixes tropicais de água doce e marinhos, determinado por diferentes pesquisadores.

**TABELA 4** Perfil lipídico de peixes tropicais de água doce e marinhos, em % de ácidos graxos.

ESPÉCIES	ÁCIDOS GRAXOS								
	14:0	16:0	16:1	18:1	18:2	18:3	20:4	20:5	22:6
<b>Água doce</b>									
Mandi <sup>1</sup>	3,33	17,17	11,17	33,23	7,32	5,23	tr	tr	tr
Curimba <sup>2</sup>	3,30	32,00	14,60	22,90	3,70	5,60	tr	tr	tr
Tambaqui <sup>3</sup>	0,70	14,60	1,20	28,60	26,10	9,10	1,80	0,50	1,60
Tilápia <sup>4</sup>	4,70	25,20	6,70	30,90	12,80	0,90	1,30	0,10	0,60
Truta arco-íris <sup>5</sup>	5,56	16,9	6,88	19,8	5,68	1,05	tr	5,4	14,1
<b>Marinha</b>									
Salmão do Atlântico <sup>6</sup>	1,32	21,79	4,78	8,80	2,23	0,45	1,48	11,78	35,10
Sardinha <sup>7</sup>	8,10	19,20	6,90	12,00	tr	tr	tr	13,60	9,90
Arenque <sup>8</sup>	7,00	16,00	6,00	13,00	tr	tr	tr	5,00	6,00
Cação-azul <sup>9</sup>	1,80	17,80	3,30	14,50	tr	tr	tr	5,10	31,80
Raia <sup>10</sup>	1,20	14,60	2,30	15,60	tr	tr	tr	5,80	35,60

tr - traços;

<sup>1</sup> *Pimelodus clarias* (Oetterer & Lima, 1980, citados por Contreras-Guzmán, 1994);

<sup>2</sup> *Prochilodus linneatus* (Maia & Rodriguez-Amaya, 1984);

<sup>3</sup> *Colossoma macropomum* (Maia, 1992);

<sup>4</sup> *Oreochromis niloticus* (Oliveira et al., 2004);

<sup>5</sup> *Oncorhynchus mykiss* (Yanar et al., 2006);

<sup>6</sup> *Salmo salar* (Menoyo et al., 2003);

<sup>7</sup> *Sardinella brasiliensis* (Nunes et al., 1980, citados por Contreras-Guzmán, 1994);

<sup>8</sup> *Clupea harengus* (Ass. Fish Meal Manuf., 1986, citada por Contreras-Guzmán, 1994);

<sup>9</sup> *Prionace glauca* (Pizzardi, 1987, citado por Contreras-Guzmán, 1994);

<sup>10</sup> *Raia* sp. (Instituto de Fomento Pesqueiro, 1983, citado por Contreras-Guzmán, 1994).

Em nutrição de peixes, os lipídios como uma fonte de energia não protéica, parecem poupar a proteína pela redução eficiente de matéria orgânica e



da perda de nitrogênio. No entanto, altos níveis de lipídios na dieta podem levar a uma maior deposição de gordura em peixes, com possíveis alterações na qualidade da carne em termos de estabilidade de armazenamento, afetando suas propriedades físicas e organolépticas.

A maior ou menor deposição lipídica na carcaça irá depender não só do teor de gordura na dieta, mas também da espécie em questão e de seu estágio de desenvolvimento (Austreng & Krogdahl, 1987, citados por Regost et al., 2001).

Os principais locais de deposição lipídica em peixes dependem basicamente da espécie analisada. Na maioria dos salmonídeos a deposição de gordura ocorre principalmente nas vísceras e em quantidade bem menor no tecido muscular. O “seabass” europeu (*Dicentrarchus labrax*) acumula gordura também nas vísceras e fígado. Já no “turbot” (*Psetta maxima*) a deposição lipídica se localiza nas porções marginais do corpo do animal, com pequeno ou nenhum acúmulo de gordura visceral (Andersen & Alsted, 1993, citados por Regost et al., 2001).

Maia (1992), em estudo com tilápia, pacu e curimba observou que não ocorre acúmulo de C18:3 n-3 nos lipídios musculares, provavelmente pela sua rápida conversão em ácidos graxos ômega-3 das séries C20 e C22, essenciais para a composição dos fosfolipídios. Observou ainda uma predominância de C20:4 n-6 e C22:6 n-3 nos fosfolipídios, cada um contribuindo em média, com 10% dos ácidos graxos, incluindo ocasionalmente C22:5 n-3 e C20:5 n-3, em níveis próximos a 5%. Tal situação parece indicar que tanto o ácido araquidônico como o DHA, são essenciais para estas espécies.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, J.W. Immunonutrition: the role of  $\omega$ -3 fatty acids. **Nutrition**, v.14, p.627-633, 1998.

ALMEIDA, E.G. de. **Avaliação de diferentes fontes de óleo e do ácido linoleico conjugado sobre o desempenho, perfil lipídico e parâmetros ósseos de frangos de corte**. Pirassununga: Universidade de São Paulo, 2004. 29p. (Relatório de Iniciação Científica).

ALVAREZ, M.J. et al. Short-term modulation of lipogenesis by macronutrients in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. **British of Journal Nutrition**, v.84, p.619-628, 2001.

ANTUENO, R.J. de et al. Activity of human  $\Delta$ 5 and  $\Delta$ 6 desaturases on multiple n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. **FEBS Letters**, v.509, p.77-80, 2001.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Valores de referência: RDC Nº 482**. Brasília: ANVISA. 1999.

BARLOW, S.; PIKE, I.H. Humans, animals benefit from omega-3 polyunsaturated fatty acids. **Feedstuffs**, Mineapolis, v.63, n.19, p.18-26, May 1991.

BARROETA, A.; XALABARDER, A. Importancia de la composición grasa (omega-3/omega-6) en nutrición animal. **Alimentación, Equipos y Tecnología**, v.8, n.3, p.55-59, 1994.

BELDA, M.C.R.; POURCHET-CAMPOS, M.A. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.11, n.1, p.5-35, 1991.

BELL, M.V.; DICK, J.R.; PORTER, A.E.A. Biosynthesis and tissue deposition of docosahexaenoic acid (22:6 n-3) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Lipids**, v.36, p.1153-1159, 2001.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 1992. 223p.

BORTOLUZZI, R.C. **Elaboração de fiambres (emulsões) com carne de frango e óleos vegetais**. 1993. 72p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade de São Paulo, Piracicaba.

BOURRE, J.M.; PICIOTTI, M.; DUMONT, O. Delta 6 desaturase in brain and liver during development and aging. **Lipids**, v.25, p.354-356, 1990.

BRAISSANT, O. et al. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR): tissue distribution of PPAR $\alpha$ ,  $\delta$  and  $\gamma$  in the adult rat. **Endocr.**, v.137, p.354-366, 1996.

CALDER, P.C. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.55, p.737-774, 1996.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. **Bioquímica ilustrada**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997. 446p.

CONTRERAS-GUZMÁN, E.S. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal, SP: FUNEP, 1994. 409p.

DAS, U.N. Long-chain polyunsaturated fatty acids in the growth and development of the brain and memory. **Nutrition**, New York, v.19, n.1, p.62-65, 2003.

FARKAS, T. Adaptation of fatty acid composition to temperature – a study on carp (*Cyprinus carpio* L.) liver slices. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.79B, n.4, p.531-535, 1984.

FERNANDES, G. et al. Modulation of apoptotic gene expression in spleens of b/w mice by the source of dietary lipids with and without calorie restriction. **FASEB Journal**, v.9, p.72-78, 1998.

FOUFELLE, F. et al. Effect of diets rich in medium-chain and long-chain triglycerides on lipogenic-enzyme gene expression in liver and adipose tissue of the weaned rat. **European Journal of Biochemistry**, v.208, p.381-387, 1992.

FREITAS, J.J.S.; KIETZER, K.S. Ácidos graxos e sistema nervoso. In: CURI, R.; POMPEIA, C.; MIYASAKA, C.K.; PROCOPIO, J. **Entendendo a gordura: os ácidos graxos**. Barueri: Manole: 2002. 580p.

GONDRET, F. et al. Effects of dietary fatty acids on lipogenesis and lipid traits in muscle, adipose tissue and liver of growing rabbits. **Journal of Animal Science**, v.66, p.483-489, 1998.

GRIMM, H. et al. Regulatory potential of n3 fatty acids in immunological and inflammatory processes. **British Journal Nutrition**, v.87, n.1, p.59-67, 2002.

HAGAR, A.F.; HAZEL, J.R. Changes in desaturase activity and the fatty acid composition of microsomal membranes from liver tissues of thermally acclimation rainbow trout. **J. Comp. Physiol**, v.156B, p.35-42, 1985.

HSIEH, S.L.; CHEN, Y.N.; KUO, C.M. Physiological responses, desaturase activity and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) under cold acclimation. **Aquaculture**, v.220, p.903-918, 2003.

JAOCS. Composition of seven different types of plant oils analyzed for 38 compounds. **Journal of American Oil Chemist's Society**, v.62, n.3, p.533, 1985.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica**. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 1995. 839p.

LEIBTSEDER, J. The effect of nutrition on the composition of animal fat. **Animal Research and Development**, Turbingen, v.45, n.1, p.46-58, 1997.

LOTTEMBERG, M.P. Dieta na hiperelesterolemia. In: QUINTÃO, E. (Ed.). **Colesterol e aterosclerose**. Rio de Janeiro: Qualitymarck, 1992. p.177-193.

LUZIA, L.A. et al. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. **Food Chemistry**, p.1-5, Jan. 2003.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Alimentos, nutrição e Dietoterapia**. 9.ed. São Paulo: Roca, 1998. 1179p.

MAIA, E.L. **Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídicos e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce**. 1992. 242p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos)-Universidade de Campinas, Campinas.

MAIA, E.L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Composição em ácidos graxos de peixes de água doce do rio Amazonas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 7., 1984, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: [s.n.], 1984. p.226-227.

MARINETTI, G.V. Dietary management of elevated blood lipids. In: \_\_\_\_\_. **Disorders of lipid metabolism.** New York: Plenum, 1990. p.135-168.

MARTINO, R.C. Exigências e cuidados da adição de lipídeos em rações para peixes e a sua importância para o homem – Parte 2. **Rev. Panorama da Aqüicultura**, v.13, n.75, p.58-60. 2003.

MASCARO, C. et al. Control of human muscle-type carnitine palmitoyltransferase I gene transcription by peroxisome proliferator-activated receptor. **Journal Biol. Chem.**, v.273, p.8560-8563, 1998.

MENOYO, D. et al. Growth, digestibility and fatty acid utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed varying levels of n-3 and saturated fatty acids. **Aquaculture**, v.225, p.295-307, 2003.

MORAIS, C.S.N. **Efeito do tipo e concentração de óleos vegetais e de gordura animal sobre frações lipídicas do sangue e fígado de ratos.** 2002. 69p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)–Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos.** São Paulo: Varela, 1998. 150p.

MOTTA, V.T. **Bioquímica básica.** Autolab Análises Clínicas, 2003. 310p.

MURATA, L.S. **Efeito de fontes de óleo na ração sobre o desempenho e o perfil lipídico dos ovos e sangue de poedeiras comerciais.** 1998. 66p. Tese (Doutorado em Zootecnia)–Universidade do Estado de São Paulo, Jaboticabal.

MURGAS, L.D.S. **Desempenho reprodutivo de varrões híbridos alimentados com rações suplementadas com óleo de soja como fonte de ácidos graxos.** 1999. 111p. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MURRAY, R.K. et al. **Harper: bioquímica.** 7.ed. São Paulo: Atheneu, 1994. 763p.

NAKAMURA, M.T.; NARA, T. Structure, function and dietary regulation of  $\Delta 6$ ,  $\Delta 5$  and  $\Delta 9$  desaturases. **AR Reviews in Advance**, v.24, p.345-376, 2004.

NAPIER, J.A. Plumbing the depths of PUFA biosynthesis: a novel polyketide synthase-like pathway from marine organisms. **TRENDS in Plant Science**, v.7, n.2, p.51-53. 2002.

NASCIMENTO, C.M.O.; OYAMA, L.M. Long-chain polyunsaturated fatty acids essential for brain growth and development. **Nutrition**, New York, v.19, n.1, p.66-69, 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of fish**. Washington: National Academy, 1993.

NUNES, I.J. **Nutrição animal básica**. Belo Horizonte: UFMG, 1995. 98p.

OLIVEIRA, N. de M.S. et al. Perfil de ácidos graxos em filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) submetidos a tratamentos de sanificação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004, Recife. **Anais...** Recife: 2004.

PEREIRA, A.M. **Produção de alimento vivo: importância e perspectiva para aqüicultura**. Recife: Universidade Federal Rural do Pernambuco, 2001. 5p. (Relatório Científico).

PEREIRA, M.C. de A. **Características de fontes lipídicas comerciais e seus efeitos sobre o perfil lipídico plasmático, hepático e cerebral de ratos**. 2003. 125p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)–Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PEREIRA, S.L.; LEONARD, A.E.; MUKERJI, P. Recent advances in the study of fatty acids desaturases from animals and lower eukaryotes. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 68, p.97-106, 2003.

POMPÉIA, C. et al. Effect of fatty acids on leukocyte function. **Brazilian Journal Medicine Biological Research**, v.33, p.1-14, 2000.

REGOST, C. et al. Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture**, v.193, p.291-309, 2001.

ROSA, F.C. **Teor de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 no peito e na coxa de frangos de corte alimentados com rações contendo três fontes de óleo.** 1999. 93p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SALWAY, J.G. **Metabolism at a glance.** Londres: United Kingdom. Balckwell Science, 1994. 95p.

SANCHEZ-MUROS, M.J. et al. Long-term nutritional effects on the primary liver and kidney metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). II. Adaptative response of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity to high-carbohydrate/low-protein and high-fat/non-carbohydrate diets. **Aquaculture Nutrition**, v.2, p.193-200, 1996.

SAYANOVA, O.; SHEWRY, P.R.; NAPIER, J.A. Histidine-41 of cytochrome b5 domain of the borage  $\Delta 6$  desaturase is essencial for enzyme activity. **Plant Physiol.**, v.121, p.641-646, 1999.

SERRANO, P.P. **Desempenho, parâmetros sanguíneos, perfil graxo e conteúdo de colesterol na carcaça de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de ácidos graxos.** 2002. 64p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SOUSA, R.V. de. **Desempenho, qualidade de carcaça e da carne e perfil lipídico de suínos de 70 a 100Kg de peso vivo alimentados com rações contendo diferentes óleos.** 2002. 146p. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SPRECHER, H. Biochemistry of essencial fatty acids. **Procceding Lipid Research**, London, v.20, n.1, p.13-22, 1981.

SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes:** fisiologia dos animais domésticos. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856p.

TOCHER, D.R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Fisheries Science**, v.11, n.2, p.107-184, 2003.

TOCHER, D.R.; LEAVER, M.J.; HODGSON, P.A. Recents advances in the biochemistry and molecular biology of fatty acyl desaturases. **Prog. Lipid Research**, v.37, p.73-117, 1998.

TRUEMAN, R.J. et al. Thermal thresholds of lipid restructuring and delta 9-desaturase expression in the liver of carp (*Cyprinus carpio*). **Journal Exp. Biol**, v.203, p.641–650, 2000.

WANKENNE, M.A. **Aditivos & ingredientes**. São Paulo: Canola, 2001. n.17, p.28-36.

WATANABE, T. Requerimientos de ácidos graxos y nutrición lipídica en los peces. **Nutrición en Acuicultura II**, v.319, p.99-166, 1987.

YANAR, Y. et al. Effect of carotenoids from red pepper and marigold flower on pigmentation, sensory properties and fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Food Chemistry**, p.1-5, 2006.

YAQOOB, P. et al. Comparison of the effects of a range of dietary lipids upon serum and tissue lipid composition in the rat. **International Journal Biochemistry Cell Biology**, Oxford, v.27, n.3, p.297-310, 1995.



## **CAPÍTULO II**

### **EFEITO DA FONTE DE ÓLEO NA DIETA E DA TEMPERATURA SOBRE A BIOSÍNTESE DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS ÔMEGA-3 EM TRUTAS ARCO-ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*)**

## RESUMO

RIBEIRO, Paula Adriane Perez. Efeito da fonte de óleo na dieta e da temperatura sobre a biossíntese de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). In: **\_\_\_ Efeito de fontes de ácidos graxos na dieta e da redução da temperatura sobre o metabolismo lipídico de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) e trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*)**. 2007, Cap.2, p.46-79. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

O experimento foi realizado no Departamento de Fisiologia Animal da Faculdade de Biologia, Universidade de Murcia, Espanha, com duração de 70 dias, entre os meses de outubro e dezembro de 2005. Objetivou-se avaliar a biossíntese de PUFA $\omega$ -3 em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) em crescimento. Foram utilizadas 40 fêmeas de truta arco-íris, com peso médio de 225g, mantidas em caixas de 600L, com temperatura inicialmente controlada em 20°C, sendo reduzida para 15°C para as coletas de amostras. O delineamento experimental foi um DIC, com 3 repetições e os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x3, sendo 2 dietas e 3 tempos de coleta a 15°C (0, 5 e 10 dias). Os parâmetros avaliados foram: composição química corporal, perfil muscular de ácidos graxos e atividade hepática de  $\Delta^6$  e  $\Delta^5$  dessaturase. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo software SISVAR, com as médias comparadas pelo teste F (5%) e os tempos de coleta submetidos à análise de regressão. Os peixes alimentados com a dieta contendo óleo de linhaça apresentaram maiores alterações no perfil de ácidos graxos poliinsaturados, quando comparados aos animais submetidos à dieta com óleo de peixe ( $P < 0,05$ ). Este perfil sofre modificações lineares com a redução da temperatura, refletindo uma adaptação metabólica dos animais ao estresse térmico. Não houve diferença significativa na composição bromatológica muscular dos peixes submetidos aos diferentes tratamentos, com exceção do teor de cinzas, que apresentou redução ao longo do tempo de coleta ( $P > 0,05$ ).

---

<sup>1</sup> Comitê orientador: Priscila Vieira Rosa Logato – UFLA (Orientadora); Rilke Tadeu Fonseca de Freitas – UFLA (Co-orientador); Mário César Guerreiro – UFLA (Co-orientador), Francisco Javier Martínez Lopes – UM, Espanha (Co-orientador).

## ABSTRACT

RIBEIRO, Paula Adriane Perez. Effect of the source of oil in the diet and of temperature on the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids n-3 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In: **Effect of the source of fatty acids in the diet and of temperature on the lipid metabolism of Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)**. 2007. Chap.2, p.46-79. Thesis (Doctor in Animal Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

The experiment was conducted at the Murcia University, Spain, during 70 days, in order to evaluate the polyunsaturated fatty acids n-3 biosynthesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). A total of 40 female rainbow trout specimen were utilized, with an initial average weight of 225g, maintained in metabolism 600L boxes. The experiment was in a completely randomized design with three replicates and the treatments arranged in 2x3 factorial scheme, that is, two diets and three collection times (zero, five and ten days). The evaluated parameters were: fatty acid profile and chemical composition of the muscle and hepatic activity of  $\Delta^6$  and  $\Delta^5$  desaturase. The data were submitted to variance analysis by the SISVAR software and the means of the treatments compared by F's test (5%) and the collection times submitted to regression analysis. The fish fed with diet containing linseed oil presented increased alterations in the polyunsaturated fatty acid profile, as compared with the animals submitted to the diet with fish oil ( $P < 0.05$ ). A linear modification on the fatty acid profile was observed with respect to the temperature variation, reflecting a metabolic adaptation of these animals to heat stress. The results have not shown any statistical differences for the moisture, protein and lipids contents of the fish ( $P > 0.05$ ).

---

<sup>1</sup>Guidance Committee: Priscila Vieira Rosa Logato – UFLA (Adviser); Rilke Tadeu Fonseca de Freitas – UFLA; Mário César Guerreiro – UFLA and Francisco Javier Martinez Lopes – Spain.

## 1 INTRODUÇÃO

A crescente preocupação dos consumidores com a qualidade dos alimentos e suas interferências na saúde têm contribuído para o desenvolvimento mundial da aqüicultura, uma vez que os benefícios do consumo periódico de peixes estão cientificamente comprovados.

A composição lipídica dos peixes, em geral, é caracterizada por altos teores de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), especialmente do ácido eicosapentaenóico (EPA) e do ácido docosahexaenóico (DHA), ambos da série ômega-3, derivados do ácido  $\alpha$ -linolênico.

A nutrologia humana ressalta a importância da ingestão regular de PUFAs ômega-3 para a manutenção do organismo. A quantidade média diária recomendada de ácido  $\alpha$ -linolênico na dieta de humanos é de 0,5% do total da energia exigida por dia, sendo que 1g deve ser de EPA + DHA, para se obter os efeitos clínicos desejados (Alexander, 1998).

O termo "ácido graxo nutricionalmente essencial" foi criado para descrever os PUFAs linoléico e linolênico. Os ácidos linoléico (C18:2 n-6) e linolênico (C18:3 n-3) não podem ser sintetizados no metabolismo animal e, portanto, devem ser supridos pela dieta. Sua essencialidade está relacionada, principalmente, ao fato de serem precursores de compostos fisiologicamente importantes, como os ácidos araquidônico (C20:4 n-6), EPA (C20:5 n-3) e DHA (C22:6 n-3).

A biossíntese de ácidos graxos poliinsaturados no tecido hepático em mamíferos, assim como em peixes, é um processo microsomal que envolve reações de alongação e dessaturação da cadeia carbônica. O ácido  $\alpha$ -linolênico (C18:3 n-3) é convertido em EPA (C20:5 n-3) e, na seqüência, em DHA (C22:6 n-3), numa ação combinada de elongases e dessaturases, mais especificamente da  $\Delta^6$  e  $\Delta^5$  dessaturases.

Estudos *in vivo* mostram que quando trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) são submetidas a injeções de ácido linolênico marcado radioativamente, esta radioatividade é recuperada em ampla faixa de PUFAs, incluindo o EPA e o DHA. Este fato comprova a existência de processos de bioconversão eficientes nesta espécie. Hepatócitos isolados de truta arco-íris podem incorporar eficientemente radioisótopos do ácido  $\alpha$ -linolênico e rapidamente alongá-lo e dessaturá-lo. Sabe-se, no entanto, que a atividade destas enzimas é afetada, principalmente, pela dieta e por fatores hormonais, freqüentemente modulados pela temperatura (Tocher et al., 2004).

A cultura primária de hepatócitos é uma técnica amplamente utilizada em estudos de metabolismo, por permitir que se reproduzam, *in vitro*, condições bioquímicas similares às das células do tecido hepático intacto. Este tipo de metodologia tem sido empregada freqüentemente em truta arco-íris, como forma de se estudar processos metabólicos como a lipogênese, glicogênese, respostas hormonais, toxicidade de compostos, entre outros.

O efeito da temperatura na biossíntese de ácidos graxos em peixes tem sido avaliado em muitos estudos. Williams & Hazel (1995) trabalhando com trutas arco-íris expostas à baixa temperatura observaram que os isolados de células hepáticas são caracterizados por aumento nos níveis de PUFAs ômega-3 e redução nos níveis de ácidos graxos saturados. Hazel (1979), citado por Buzzi (1996), constatou que essa alteração, promovida pela diminuição da temperatura, é conseqüência de um aumento considerável na proporção de fosfatidiletanolamina.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da fonte lipídica da dieta e a influência da temperatura sobre o processo de biossíntese de PUFAs em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), mediante o isolamento de hepatócitos e marcação com radioisótopos.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local e duração do experimento

O experimento foi conduzido no Laboratório de Piscicultura do Departamento de Fisiologia Animal da Faculdade de Biologia, Universidade de Murcia, Espanha e as análises realizadas nos Laboratórios de Análise de Lipídios e Laboratório de Radioproteção e Resíduos do S.A.C.E. (Servicio de Apoyo a las Ciencias Experimentales), Universidade de Murcia, Espanha.

O período experimental foi de 70 dias, realizado entre os meses de outubro e dezembro de 2005.

### 2.2 Animais e tratamentos

Foram utilizadas 40 fêmeas de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), com peso médio inicial de  $225 \pm 10,32$ g, alojadas em 4 caixas de metabolismo com capacidade de 600L, num sistema fechado de recirculação de água, com temperatura e fotoperíodo controlados. Os tratamentos aplicados foram:

- 1- dieta com óleo de linhaça, a 20°C;
- 2- dieta com óleo de linhaça, 5 dias após a redução da temperatura para 15°C;
- 3- dieta com óleo de linhaça, 10 dias após a redução da temperatura para 15°C;
- 4- dieta com óleo de peixe, a 20°C;
- 5- dieta com óleo de peixe, 5 dias após a redução da temperatura para 15°C;
- 6- dieta com óleo de peixe, 10 dias após a redução da temperatura para 15°C.

As dietas foram purificadas, formuladas com dextrina, caseína, gelatina, celulose, os óleos fonte dos ácidos graxos referentes a cada tratamento (ácido  $\alpha$ -linolênico, EPA e DHA) e suplementos mineral e vitamínico. A composição percentual e o perfil de ácidos graxos das rações experimentais estão apresentados nas Tabelas 5 e 6.

**TABELA 5** Composição percentual das rações experimentais formuladas para truta arco-íris (*O. mykiss*).

INGREDIENTES (%)	DIETAS	
	A – Óleo de linhaça	B – Óleo de peixe
Caseína	40,85	40,85
Gelatina	8,17	8,17
Dextrina	39,48	39,48
Celulose	4,00	4,00
Óleo de linhaça	6,00	-
Óleo de peixe	-	6,00
Fosfato bicálcico	1,00	1,00
Suplementos <sup>(1)</sup>	0,50	0,50
<b>TOTAL</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
Proteína bruta (%)	42,19	42,26
Extrato etéreo (%)	18,70	18,81
Cálcio (%)	0,49	0,47
Fósforo (%)	0,51	0,50

<sup>(1)</sup> Composição por quilo do suplemento vitamínico e mineral: Vitamina A, 1500UI; Vitamina B1, 20mg; Vitamina B2, 15mg; Vitamina B3, 1000UI; Vitamina B12, 10mcg; Vitamina E, 25mg.; Vitamina PP, 120mg; Colina, 2000mg; Pantotenato de Cálcio, 80mg; Ácido fólico, 2mg; Manganês, 80mg; Ferro, 24mg; Zinco, 50mg; Cobre, 8mg; Iodo, 3mg; Selênio, 0,10mg; BHT, 170mg.

**TABELA 6** Perfil de ácidos graxos das dietas experimentais fornecidas para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).

ÁCIDO GRAXO	DIETAS	
	A - Óleo de linhaça	B - Óleo de peixe
C12:0	0,08	0
C14:0	2,55	6,36
C15:0	0,22	0,51
C16:0	11,91	18,10
C16:1 n-7	3,55	9,23
C17:0	0,19	0,31
C17:1 n-7	0,15	0,33
C18:0	5,24	4,87
C18:1 n-9	22,47	22,89
C18:1 n-7	2,62	5,55
C18:2 n-6	9,15	2,74
C18:3 n-6	0,22	0
C18:3 n-3	30,73	5,99
C18:4 n-3	0,42	0,84
C20:0	0,19	0
C20:1 n-9	4,12	10,43
C20:2 n-6	0,21	0,40
C20:4 n-6	0,12	0
C20:5 n-3	1,96	3,87
C22:0	0,16	0
C22:1 n-9	0,35	0,83
C22:5 n-3	0,24	0,42
C22:6 n-3	2,85	5,86
C24:0	0,12	0
C24:1 n-9	0,18	0,46
<b>TOTAIS</b>	<b>Dieta com óleo de linhaça</b>	<b>Dieta com óleo de peixe</b>
n-3	36,20	16,99
n-6	9,69	3,14
n-9	27,12	34,61
Saturados	20,67	30,15
Monoinsaturados	33,44	49,72
Poliinsaturados	45,89	20,13
n-3/n-6	3,74	5,40



Os animais receberam as rações duas vezes ao dia, períodos nos quais as caixas de metabolismo foram também sifonadas para a retirada de restos de ração e excretas. Os parâmetros limnológicos de pH, nitrito ( $\text{NO}_2$ ) e íon amônio ( $\text{NH}_3^+$ ) foram medidos semanalmente, utilizando-se o kit comercial Prodac Internacional Test®, com os valores obtidos por comparação em escala colorimétrica. A temperatura da água foi monitorada diariamente, com o auxílio de termômetro de bulbo úmido.

Ao final do período pré-experimental, de 60 dias, a temperatura da água das caixas de metabolismo foi reduzida de 20°C para 15°C, numa velocidade de 0,5°C/h, com o auxílio de uma serpentina resfriadora acoplada a um controlador de temperatura automatizado. Esta temperatura de 15°C foi mantida até o término do período experimental.

### 2.3 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com três repetições e os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x3, sendo duas dietas e três tempos de coleta a 15°C (0, 5 e 10 dias), com modelo estatístico:

$$y_{ij} = \mu + d_i + t_j + (dt)_{ij} + e_{ij}, \text{ onde:}$$

$y_{ij}$  = amostragem da parcela referente à dieta  $i$  no tempo de coleta  $j$  ( $i = 1,2$  e  $j = 1,2,3$ );

$\mu$  = média geral do experimento;

$d_i$  = efeito da dieta  $i$  ( $i = 1,2$ );

$t_j$  = efeito do tempo de coleta  $j$  ( $j = 1,2,3$ );

$(dt)_{ij}$  = efeito da interação da dieta  $i$  no tempo de coleta  $j$ ;

$e_{ij}$  = desvio associado a cada observação que, por hipótese, tem distribuição normal, com média zero e variância  $\delta^2$ .

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SISVAR (Ferreira, 2000), sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey (5% de significância) e os tempos de coleta submetidos à análise de regressão.

## **2.4 Métodos analíticos**

Foram realizadas análises corporais e hepáticas dos peixes, individualmente, e das rações experimentais fornecidas.

As rações experimentais foram analisadas para a determinação dos teores de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas, de acordo com a metodologia proposta pela AOAC (1998).

Ao final de sessenta dias de experimento, com a temperatura da água mantida em 20°C, foram abatidos seis peixes, sendo três que receberam dieta com óleo de linhaça e três que receberam dieta com óleo de peixe, correspondentes ao tempo zero de amostragem. Estes animais foram insensibilizados com banho em solução contendo óleo de cravo, pesados e eviscerados, com separação apenas do fígado para o isolamento dos hepatócitos. As carcaças dos animais foram acondicionadas em embalagens plásticas, com adição de nitrogênio gasoso e armazenadas a -20°C, evitando oxidação, para serem posteriormente analisadas para a determinação da composição bromatológica e do perfil de ácidos graxos.

### **2.4.1 Isolamento de hepatócitos em trutas**

A metodologia adotada para o isolamento de hepatócitos em trutas foi adaptada de Tocher et al. (2002). O fígado, após ser extraído do animal, foi imerso em uma solução salina, numa placa de Petri e perfundido, por meio de

seringa heparinizada, para a adição desta mesma solução. Este procedimento teve por finalidade retirar o sangue do tecido hepático. Após esta lavagem, o fígado foi transferido para erlenmeyer e triturado em solução preparada com colagenase e meio salino balanceado, acrescido de albumina sérica bovina livre de ácidos graxos (Hanks balanced salt solution/fatty acid free bovine serum albumin ou HBSS/FFA-BSA). Em seguida as amostras foram mantidas em banho, a 25°C, por 40 minutos, para que a colagenase pudesse romper o tecido hepático, separando os hepatócitos.

A amostra foi filtrada e submetida a três centrifugações (2000 rpm, a 4°C, por 15 minutos; 2000 rpm, a 4°C, por 10 minutos e 2000 rpm, a 4°C, por 5 minutos, respectivamente), até que fossem obtidos os hepatócitos puros, que foram, então, re-suspendidos em meio de cultura celular (M199).

Uma alíquota pequena destes hepatócitos, já isolados, foi separada e corada com Trypan Blue, para a observação e contagem em câmara de Neubauer. O número mínimo de células viáveis para marcação com isótopo radioativo foi de  $6 \times 10^8$  células/frasco de cultivo.

#### **2.4.2 Marcação dos hepatócitos com isótopo radioativo**

Para esta etapa foi utilizado o ácido graxo sintético marcado com  $^{14}\text{C}$ ,  $[1-^{14}\text{C}]18:3n-3$  ( $50-55\mu\text{Ci mmol}^{-1}$ ), obtido da Sigma®. Este ácido graxo foi conjugado com albumina sérica bovina livre de ácido graxo (BSA-FFA), para então ser incubado com os hepatócitos, conforme descrito por Ghioni et al. (1997).

Para a incubação de uma média de  $6 \times 10^8$  hepatócitos/frasco de cultivo é necessária uma atividade do radioisótopo de  $3,5\mu\text{Ci}$ . Esta atividade foi confirmada por leitura das amostras em um contador de partículas  $\beta$ , Wallac 1414 WinSpectral v3.0.

Foram misturados, em frascos de cultivo celular, 6mL da solução de hepatócitos isolados a 714 $\mu$ L do ácido graxo marcado com isótopo radioativo. As amostras foram mantidas em banho a 25°C, com agitação, por 2 horas, para que as células pudessem metabolizar e incorporar o material radioativo. Após este período de incubação, as amostras foram congeladas a -20°C, até que pudessem ser analisadas para a determinação da atividade das dessaturases.

### **2.4.3 Extração lipídica e análise de ácidos graxos**

As amostras de tecido muscular foram submetidas à extração lipídica pelo método de Folch et al. (1957). O conteúdo de lipídios totais foi determinado por extração e homogeneização em solução clorofórmio:metanol (2:1), contendo 0,01% de BHT (butirato hidroxitolueno) como antioxidante. Os metil ésteres de ácidos graxos (FAME) foram submetidos à cromatografia gasosa, utilizando-se equipamento Hewlett-Packard, 5890, com coluna capilar de sílica fundida SP<sup>TM</sup> 2560 (100m x 0,25mm x 0,20 $\mu$ m) (Supelco<sup>®</sup>). As condições cromatográficas foram: gás de arraste hélio, numa pressão de 290kPa; temperatura inicial da coluna em 140°C, durante 5 minutos, elevando-se 4°C/min., até 230°C; temperatura do detector e do injetor em 250°C, sendo injetados 3 $\mu$ L da amostra. A identificação e quantificação dos ácidos graxos foram feitas por comparação dos tempos de retenção dos padrões de ésteres metílicos (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA) com os da amostra.

A determinação do perfil de ácidos graxos das rações utilizadas em cada tratamento seguiu a mesma metodologia descrita acima.

#### **2.4.4 Análise das amostras marcadas com radioisótopos**

As amostras de células hepáticas marcadas com radioisótopos foram submetidas à avaliação da atividade de  $\Delta^6$  e  $\Delta^5$  dessaturases.

As células hepáticas foram centrifugadas (2000rpm, a 4°C, por 2 minutos) e o sobrenadante foi descartado. Os hepatócitos foram lavados com 5mL de solução HBSS/FFA-BSA. Os lipídios totais foram transesterificados e os metil ésteres de ácidos graxos (FAME) foram re-suspendidos em 100 $\mu$ L de hexano, contendo 0,01% de BHT. O material foi aplicado em placas de cromatografia de camada delgada (TLC), de 20x20cm, impregnadas com solução contendo 2g de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ), em 20mL de acetonitrila e pré-ativadas a 110°C por 30 minutos, conforme a metodologia descrita por Wilson & Sargent, 1992). As placas foram reveladas em tolueno/acetonitrila, na proporção de 95:5. Estas placas foram marcadas com tinta radioativa e a autorradiografia do material foi feita utilizando-se filme Kodak Storage Phosphor Screen 6P, com leitura em Personal Molecular Imager Fx, BioRad, auxiliada por um software Quantity 1. As áreas de sílica contendo ácidos graxos poliinsaturados foram separadas e levadas para a quantificação da radioatividade, por meio de leitura em contador de partículas  $\beta$ , Wallac 1414 WinSpectral v3.0.

#### **2.4.5 Determinação da taxa de oxidação nos hepatócitos**

A análise da oxidação dos ácidos graxos nos hepatócitos foi feita de acordo com a metodologia proposta por Frøyland et al. (2000) e Torstensen et al. (2000). Foi retirada uma alíquota de 1mL das amostras de hepatócitos, após o período de incubação com os ácidos graxos marcados com  $^{14}\text{C}$ . Este material foi centrifugado (10000rpm, por 10 minutos), em microcentrífuga. Foram retirados

500 $\mu$ L do sobrenadante, aos quais adicionaram-se 100 $\mu$ L de solução BSA-FFA 6% (albumina sérica bovina livre de ácidos graxos) e 900 $\mu$ L de ácido perclórico 4M (HClO<sub>4</sub>). O material foi novamente centrifugado (10000rpm, por 10 minutos) e 500 $\mu$ L do sobrenadante foram levados para a quantificação da radioatividade, por leitura em contador de partículas  $\beta$ , Wallac 1414 WinSpectral v3.0. Este procedimento teve por finalidade avaliar as perdas de radioatividade nos hepatócitos em processos metabólicos de  $\beta$ -oxidação.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros limnológicos mantiveram-se dentro das faixas normais para trutas arco-íris, sendo os valores médios de pH, nitrito (NO<sub>2</sub>) e amônia (NH<sub>3</sub>), de 6,8, 0,2mg/L e 0mg/L, respectivamente. O oxigênio dissolvido foi mantido constante durante todo o período experimental, sendo de 7mg/L.

#### 3.1 Composição química corporal

O peso médio final dos peixes, nas condições experimentais, foi de 353±53,9g para os animais que receberam a dieta contendo óleo de linhaça e 429±48,1g para os animais que receberam a dieta contendo óleo de peixe.

Os tratamentos aplicados não interferiram significativamente nos teores de umidade, proteína e lipídios da carcaça dos animais ( $P>0,05$ ). No entanto, de acordo com os resultados da análise de variância, é possível observar efeito significativo dos tratamentos na porcentagem de cinzas dos peixes, sobretudo ao longo dos tempos de coleta a 15°C ( $P<0,05$ ). Não houve interação significativa entre as dietas e os tempos de coleta estudados ( $P>0,05$ ) (Tabela 7).

**TABELA 7** Porcentagem corporal média de umidade, proteína, extrato etéreo e cinzas, na matéria seca, de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta fornecida e do tempo de coleta.

DIETAS	TEMPO (dias)			MÉDIA
	0	5	10	
<b>Umidade</b>				
Óleo de linhaça	76,67±0,46	77,16±1,42	77,15±0,14	<b>76,99</b>
Óleo de peixe	76,43±0,40	76,43±0,47	76,98±1,00	<b>76,61</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>76,55 a</b>	<b>76,8 a</b>	<b>77,07 a</b>	
CV	1,01%			
<b>Proteína</b>				
Óleo de linhaça	88,98±1,54	89,05±6,31	90,11±3,34	<b>89,38</b>
Óleo de peixe	90,24±3,38	87,86±4,89	90,53±2,66	<b>89,54</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>89,61 a</b>	<b>88,46 a</b>	<b>90,32 a</b>	
CV	3,84%			
<b>Extrato etéreo</b>				
Óleo de linhaça	7,16±1,14	7,22±2,96	6,08±3,22	<b>6,82</b>
Óleo de peixe	9,42±2,39	7,25±3,57	7,21±2,26	<b>7,96</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>8,29 a</b>	<b>7,24 a</b>	<b>6,65 a</b>	
CV	36,86%			
<b>Cinzas</b>				
Óleo de linhaça	5,44±0,07	5,39±0,44	5,16±0,18	<b>5,33</b>
Óleo de peixe	5,38±0,25	5,22±0,54	4,78±0,48	<b>5,13</b>
<b>MÉDIA<sup>1</sup></b>	<b>5,41</b>	<b>5,31</b>	<b>4,97</b>	
CV	6,09%			

<sup>1</sup>Efeito linear (P<0,05).

A composição química em umidade, proteína e lipídios corporais em peixes é normalmente afetada por diferenças na relação proteína/energia da dieta, ou por alterações na concentração lipídica das mesmas, como observado por Wang et al. (2005), Borba et al. (2003), Nanton et al. (2003), Dias et al.



(1998), trabalhando com alterações nesta relação dietética para diferentes espécies de peixes. Entretanto, peixes alimentados com dietas isoprotéicas, isoenergéticas e sem variações nos teores lipídicos totais, em geral, não mostram diferenças na composição química básica da carcaça, como observado neste estudo. Menoyo et al. (2003) também não encontraram diferença significativa nestes parâmetros, ao avaliarem variações entre os teores de ômega-3 e de ácidos graxos saturados em dietas para salmão do Atlântico (*Salmo salar*), porém mantendo-se os níveis protéicos e energéticos constantes.

Foram observadas diferenças significativas para os teores corporais de cinzas, ocorrendo uma diminuição na porcentagem de matéria mineral, à medida que se aumentou o tempo de coleta, obtendo-se assim os menores níveis aos 10 dias de coleta, após a redução da temperatura de 20°C para 15°C ( $P < 0,05$ ). Esta variação está relacionada com a deposição de parte desta matéria mineral no tecido ósseo, conforme o crescimento dos animais.

### **3.2 Perfil lipídico muscular**

Os tratamentos aplicados interferiram significativamente nos teores dos principais ácidos graxos poliinsaturados do tecido muscular de peixes ( $P < 0,05$ ). Houve, ainda, interação significativa entre as dietas e os tempos de coleta estudados para as variações na porcentagem dos ácidos  $\alpha$ -linolênico (C18:3 n-3) e DHA (C22:6 n-3) ( $P < 0,05$ ), como mostrado na Tabela 8.

**TABELA 8** Porcentagem média dos ácidos graxos linoléico, araquidônico,  $\alpha$ -linolênico, EPA e DHA no músculo de trutas arco-íris (*O. mykiss*), em função da dieta fornecida e do tempo de coleta.

DIETAS	TEMPO (dias)			MÉDIA
	0	5	10	
<b>C18:2 n-6 (ácido linoléico)</b>				
Óleo de linhaça	6,15±1,03	5,58±2,96	4,37±0,78	<b>5,37 A</b>
Óleo de peixe	2,26±0,98	5,13±1,19	1,52±0,22	<b>2,97 B</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>4,20</b>	<b>5,36</b>	<b>2,94</b>	
CV	35,03%			
<b>C20:4 n-6 (ácido araquidônico)</b>				
Óleo de linhaça	1,48±0,32	1,59±0,27	1,17±0,28	<b>1,41 A</b>
Óleo de peixe	0,95±0,28	1,10±0,17	0,16±0,20	<b>0,74 B</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>1,22</b>	<b>1,35</b>	<b>0,67</b>	
CV	23,98%			
<b>C18:3 n-3 (ácido <math>\alpha</math>-linolênico)</b>				
Óleo de linhaça	5,49±0,46aA	3,10±0,21bA	2,67±0,30bA	<b>3,75</b>
Óleo de peixe	1,30±1,10aB	1,28±0,25aB	0,32±0,22aB	<b>0,97</b>
<b>MÉDIA<sup>1</sup></b>	<b>3,40</b>	<b>2,19</b>	<b>1,50</b>	
CV	22,19%			
<b>C20:5 n-3 (EPA)</b>				
Óleo de linhaça	5,55±1,94	5,07±0,36	4,60±1,09	<b>5,07 A</b>
Óleo de peixe	3,47±0,35	3,42±0,71	1,99±0,39	<b>2,96 B</b>
<b>MÉDIA<sup>1</sup></b>	<b>4,51</b>	<b>4,26</b>	<b>3,30</b>	
CV	24,61%			
<b>C22:6 n-3 (DHA)</b>				
Óleo de linhaça	28,15±4,78aA	26,44±4,70aA	26,56±4,78aA	<b>27,05</b>
Óleo de peixe	17,47±3,88bB	26,94±0,74aA	12,07±4,38bB	<b>18,83</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>22,81</b>	<b>26,69</b>	<b>19,32</b>	
CV	18,61%			

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste F ( $P>0,05$ );

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ );

<sup>1</sup> Efeito linear ( $P<0,05$ ).

Observou-se efeito significativo das dietas fornecidas sobre a porcentagem final destes ácidos graxos ( $P < 0,05$ ). Os animais alimentados com a dieta contendo óleo de linhaça apresentaram maiores alterações no perfil de ácidos graxos poliinsaturados quando comparados aos animais que receberam a dieta formulada com óleo de peixe. Este fato pode ser explicado pela condição a que os animais foram submetidos, durante o período experimental.

A redução da temperatura representa um fator de estresse para os peixes, levando a uma adaptação metabólica pelo organismo animal. Esta condição direciona os processos metabólicos no sentido de manter a permeabilidade das membranas celulares, condição esta determinada, entre outros fatores, pela proporção de PUFA's (Mishra & Samantaray, 2004; Sargent et al., 1989).

A proporção muscular de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados, neste estudo, refletiu também alterações significativas conforme o tratamento ministrado ( $P < 0,05$ ). Houve interação significativa entre as dietas e os tempos de coleta avaliados para as variações na porcentagem dos ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados, como apresentado na Tabela 9.

**TABELA 9** Porcentagem média de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados no músculo de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta fornecida e do tempo de coleta.

DIETAS	TEMPO (dias)			MÉDIA
	0	5	10	
<b>Saturados</b>				
Óleo de linhaça	25,23±3,14	28,99±5,01	29,38±5,49	<b>27,86</b>
Óleo de peixe	28,12±4,15	29,77±4,12	36,76±0,86	<b>31,55</b>
<b>MÉDIA<sup>1</sup></b>	<b>26,67</b>	<b>29,38</b>	<b>33,07</b>	
CV	13,75%			
<b>Monoinsaturados</b>				
Óleo de linhaça <sup>1</sup>	21,84±6,30aB	24,83±4,48aA	26,10±3,91aB	<b>24,26</b>
Óleo de peixe	43,67±4,56aA	29,91±0,93bA	46,19±4,11±aA	<b>39,92</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>32,75</b>	<b>27,37</b>	<b>36,14</b>	
CV	13,55%			
<b>Poliinsaturados</b>				
Óleo de linhaça <sup>1</sup>	52,94±4,37aA	46,18±3,11aA	44,52±4,68aA	<b>47,88</b>
Óleo de peixe	28,22±2,04abB	40,31±3,32aA	17,05±4,01bB	<b>28,53</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>40,58</b>	<b>43,24</b>	<b>30,78</b>	
CV	14,64%			

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste F ( $P>0,05$ );

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ );

<sup>1</sup> Efeito linear ( $P<0,05$ ).

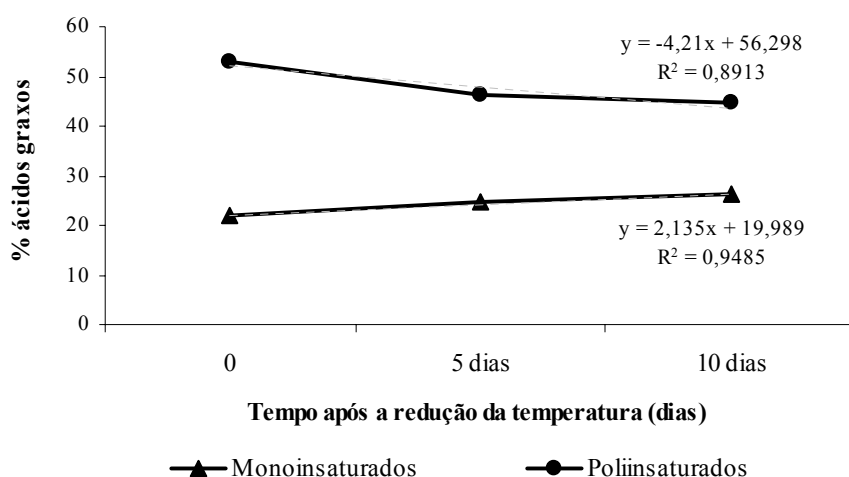
Alterações na composição do fosfolipídio de membranas celulares evidenciam a adaptação ao frio, mantendo sua fluidez, como observado em estudos com carpa (*Cyprinus carpio*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Trueman et al., 2000).

Assim, os animais neste estudo, que receberam dieta contendo óleo de linhaça e, portanto, rica em precursores de ácidos graxos fisiologicamente importantes para a manutenção desta permeabilidade, apresentaram processos de

bioconversão ativos. Por outro lado, aqueles alimentados com dieta contendo óleo de peixe, onde estes compostos encontram-se prontamente disponíveis, não mostraram alterações relevantes no perfil lipídico.

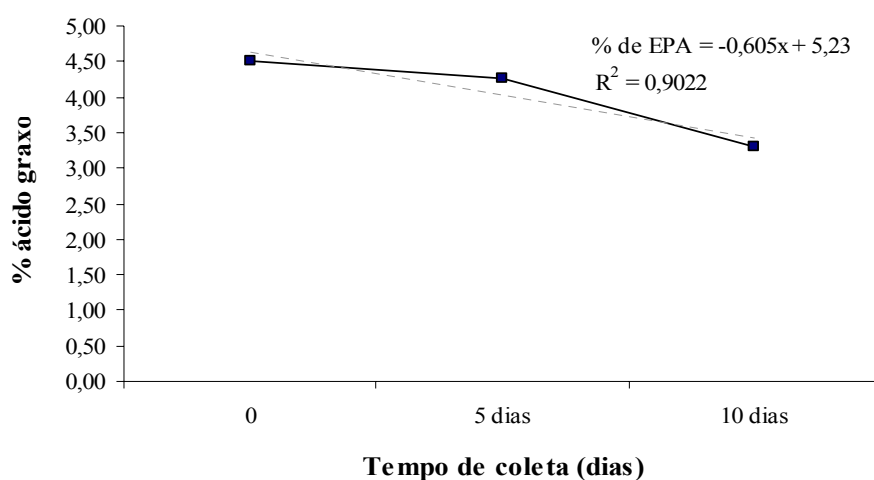
Esta adaptação metabólica dos peixes ao estresse térmico foi observada também por Hsieh et al. (2003), ao expor o milkfish (*Chanos chanos*) à redução na temperatura de 25°C para 15°C. Estes autores constataram um aumento significativo na proporção de ácidos graxos mono e poliinsaturados, no tecido muscular dos peixes, no intuito de manter a permeabilidade das membranas celulares.

As proporções de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados, encontradas neste trabalho, mostram comportamento linear, quando analisadas nos animais alimentados com dieta contendo óleo de linhaça e submetidos à redução da temperatura (Figura 9).



**FIGURA 9** Alterações na proporção de ácidos graxos mono e poliinsaturados no tecido muscular de trutas arco-íris (*O. mykiss*), alimentadas com dieta contendo óleo de linhaça, durante a adaptação à redução da temperatura de 20°C para 15°C.

Na análise das médias entre os tempos de coleta após a redução da temperatura de 20°C para 15°C, o ácido graxo eicosapentaenóico ou EPA (C20:5 n-3) apresentou comportamento linear decrescente, como ilustrado na Figura 10.



**FIGURA 10** Alterações na proporção de EPA (C20:5 n-3) no tecido muscular de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), alimentadas com dieta contendo óleo de linhaça, durante a adaptação à redução da temperatura de 20°C para 15°C.

Este fato também está associado ao processo de adaptação metabólica dos peixes ao estresse térmico, condicionado pela redução da temperatura.

Condições de estresse, térmico ou de qualquer outra natureza, predisõem os peixes a enfermidades microbianas diversas. Assim, parte destes PUFAs sintetizados é direcionada para o sistema imunológico, como forma de

manter ativas suas propriedades (Sargent et al., 1999). Isto justifica o declínio das quantidades de EPA ao longo do período experimental neste trabalho.

Os processos de imunoestimulação dos ácidos graxos ômega-3 em peixes é evidente, sobretudo aqueles que envolvem a participação do EPA, entre outros compostos desta série. Estudos em macrofagócitos da cabeça do rim, em catfish (*Ictalurus punctatus*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), alimentados com dietas ricas em ômega-3, evidenciaram maior habilidade e eficiência destas células na imunidade destes animais, segundo Sheldon & Blazer (1991) e Ashton et al. (1994), respectivamente. Montero et al. (2003) avaliando também a atividade fagocítica da cabeça do rim, verificaram que a substituição de 60% do óleo de peixe por óleo de soja (rico em ácidos graxos da série ômega-6) reduziu significativamente este parâmetro, comprometendo a defesa imunológica do gilthead seabream (*Sparus aurata*).

Fracalossi & Lovell (1994), trabalhando com catfishes alimentados com altos níveis de ômega-3 obtiveram aumento significativo de anticorpos, duas semanas após a imunização dos animais contra *E. ictaluri*, comprovando a participação efetiva destes compostos nos processos de imunoestimulação em peixes.

A fragilidade osmótica e os fatores de coagulação também sofrem influência de ácidos graxos ômega-3. O efeito destes compostos sobre a fragilidade dos eritrócitos da membrana foi constatado pela lise osmótica em salmão do Atlântico (*Salmo salar*). Altos níveis de EPA, por exemplo, parecem induzir um aumento no vigor da parede celular nesta espécie (Erdal et al. 1991).

Há ainda, a conversão de parte dos PUFAs de 20 carbonos em DHA (PUFAs de 22 carbonos), o que determina a acumulação muscular destes últimos (Sprecher et al, 1999; Wu et al., 2002). Mishra & Samantaray (2004) constataram também este fato ao estudarem o comportamento de rohu (*Labeo rohita*), submetido à redução de temperatura.

### **3.3 Dessaturação dos ácidos graxos**

As dietas fornecidas às trutas não determinaram diferenças significativas na dessaturação total do  $[1-^{14}\text{C}]18:3$  n-3, medida como a soma da radioatividade recuperada como prováveis produtos de ácidos graxos alongados e dessaturados (C18:4 n-3, C20:5 n-3, C22:5 n-3 e C22:6 n-3) nos hepatócitos dos animais ( $P>0,05$ ). Entretanto, o tempo de coleta após a redução da temperatura de 20°C para 15°C interferiu na atividade das dessaturases, influenciando a formação de alguns desses compostos ( $P<0,05$ ) (Tabela 10).



**TABELA 10** Porcentagem média de radioatividade recuperada na formação de PUFAs ômega-3, em hepatócitos de trutas arco-íris (*O. mykiss*), em função da dieta fornecida e do tempo de coleta.

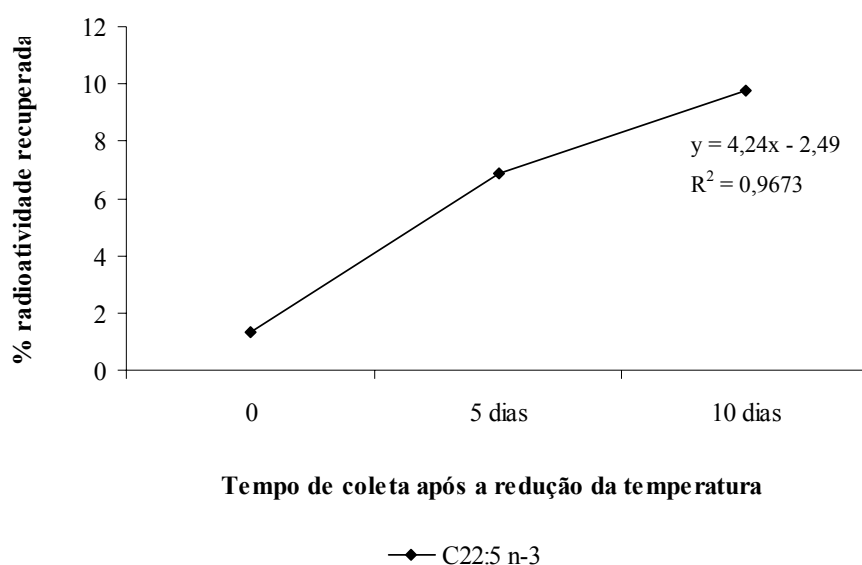
DIETAS	TEMPO (dias)			MÉDIA
	0	5	10	
<b>C18:4 n-3</b>				
Óleo de linhaça	5,66 ± 1,34	8,09 ± 3,24	3,20 ± 1,46	<b>5,65 A</b>
Óleo de peixe	40,32 ± 4,61	7,30 ± 1,53	7,61 ± 1,72	<b>18,41 A</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>22,99</b>	<b>7,70</b>	<b>5,41</b>	
CV	48,47%			
<b>C20:5 n-3 (EPA)</b>				
Óleo de linhaça	1,16 ± 0,40	8,28 ± 2,58	4,69 ± 1,98	<b>4,71 A</b>
Óleo de peixe	6,30 ± 1,56	6,86 ± 1,92	10,55 ± 1,73	<b>7,90 A</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>3,73</b>	<b>7,57</b>	<b>7,62</b>	
CV	26,09%			
<b>C22:5 n-3</b>				
Óleo de linhaça	1,58 ± 0,60	8,15 ± 1,81	7,58 ± 2,45	<b>5,77 A</b>
Óleo de peixe	1,02 ± 0,76	5,63 ± 1,78	11,97 ± 1,03	<b>18,62 A</b>
<b>MÉDIA<sup>1</sup></b>	<b>1,30</b>	<b>6,89</b>	<b>9,78</b>	
CV	47,91%			
<b>C22:6 n-3 (DHA)</b>				
Óleo de linhaça	91,60 ± 1,60	75,48 ± 7,61	84,52 ± 7,68	<b>83,87 A</b>
Óleo de peixe	52,36 ± 5,97	80,21 ± 11,18	69,87 ± 23,42	<b>67,48 A</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>71,98</b>	<b>77,85</b>	<b>77,20</b>	
CV	29,08%			

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste F ( $P > 0,05$ );

<sup>1</sup> Efeito linear ( $P < 0,05$ ).

Para o cálculo da radioatividade recuperada em compostos da dessaturação e alongação do  $[1-^{14}\text{C}]18:3$  n-3, levou-se em consideração as perdas de radioatividade durante a metabolização celular, representadas pelo processo de  $\beta$ -oxidação.

Não houve interação significativa entre as dietas fornecidas e os tempos de coleta estudados ( $P>0,05$ ). No entanto, um dos intermediários do processo de bioconversão do ácido  $\alpha$ -linolênico em DHA, o C22:5 n-3, mostrou-se dependente da temperatura da água ( $P<0,05$ ). A formação deste composto segue um comportamento linear ao longo do tempo de coleta após a redução da temperatura de 20°C para 15°C (Figura 11).



**FIGURA 11** Percentual de radioatividade recuperada na atuação das dessaturases para a formação de C22:5 n-3 nos hepatócitos de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta após a redução da temperatura de 20°C para 15°C.

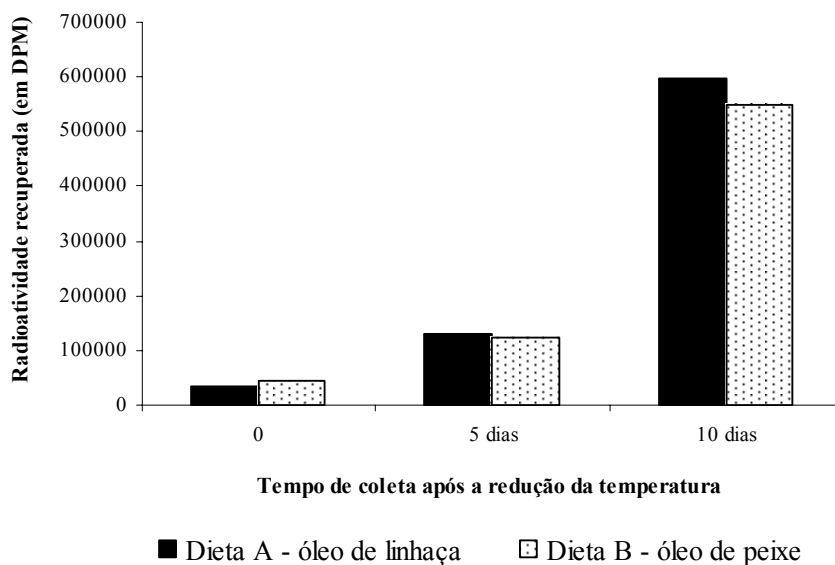
A maior atividade de dessaturases nos hepatócitos das trutas foi observada ao longo dos tempos de coleta, que representam o período onde os

animais foram expostos a temperatura mais baixa (15°C). Isto também pôde ser observado por Ninno et al. (1974), citados por Tocher et al. (2004), em estudos com *Pimelodus maculatus*, por Schuenke & Wodtke (1983), em trabalhos com carpa comum e por Hagar & Hazel (1985), em estudos com trutas. Estas pesquisas mostram maior atividade de  $\Delta^6$  dessaturase nos microsomas hepáticos de peixes em processo de aclimação a baixa temperatura.

De Torrenço & Brenner (1976), citados por Tocher et al. (2004) constataram que peixes expostos à redução de temperatura, de 28°C para 18°C, por exemplo, mostram uma diminuição na atividade hepática da  $\Delta^6$  dessaturase, no primeiro dia de aclimação, provavelmente devido ao período de adaptação do sistema enzimático, apresentando, entretanto, um aumento significativo ao longo de uma semana de aclimação, presumivelmente em função da indução de uma transcrição gênica.

O mesmo ocorre para a atividade da  $\Delta^9$  dessaturase, responsável pela conversão do ácido esteárico em ácido oléico, evidenciando também a influência da baixa temperatura neste parâmetro (Hsieh et al., 2003; Wodtke & Cossins, 1991; Kayama et al., 1986, citados por Tocher et al., 2004). Um gene clonado para  $\Delta^9$  dessaturase em carpas mostra que o aumento na atividade desta enzima, induzido pela baixa temperatura é devido ao aumento da expressão gênica, indicando a capacidade adaptativa desta espécie à flutuação térmica (Trueman et al., 2000).

A Figura 12 apresenta o comportamento das dessaturases durante o processo de aclimação térmica dos peixes neste experimento, expressando sua atuação pela radioatividade recuperada em produtos da dessaturação e alongação do [1-<sup>14</sup>C]18:3 n-3.



**FIGURA 12** Atividade enzimática nos hepatócitos de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta após a redução da temperatura de 20°C para 15°C. Resultados representados pelo total de radioatividade recuperada como produtos da dessaturação/elongação do [1-<sup>14</sup>C]18:3 n-3 (C18:4, C20:5, C22:5, C22:6).

A atividade de dessaturases é influenciada não só pela temperatura, mas também por fatores nutricionais. No entanto, peixes alimentados com dietas contendo óleos vegetais, sobretudo aqueles ricos em ácidos graxos da série ômega-6, apresentam maiores alterações enzimáticas do que animais alimentados com fontes de PUFAs ômega-3. Isto é atribuído ao fato de que animais alimentados com fontes ricas em ômega-6 apresentam diminuição dos níveis de PUFAs ômega-3 nos lipídios celulares, que por consequência leva à redução da inibição enzimática pelo produto. Este evento pode, ainda, ser

explicado pelo aumento de substrato disponível ao se alterar a proporção dietética de ômega-6 e ômega-3. Estudos realizados por diversos autores, envolvendo salmonídeos, como a truta arco-íris e o salmão do Atlântico, comprovam este fato (Zheng et al., 2004; Tocher et al., 2003; Bell et al., 2001; Rodríguez et al., 1997).

Ao se analisar as condições deste experimento, observa-se que as dietas fornecidas aos peixes, formuladas com óleo de linhaça e de peixe, representam, em maior proporção, fontes de ácidos graxos ômega-3 e, portanto, não refletem alterações significativas no comportamento do complexo dessaturase/elongase, no que diz respeito à síntese de PUFAs ômega-3. Este fato está em concordância com as constatações científicas citadas acima.

#### 4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o experimento, conclui-se que o metabolismo de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) é influenciado pela temperatura da água, sobretudo os parâmetros enzimáticos, que refletem, por sua vez, na composição lipídica corporal.

A nutrição é também um fator determinante da composição lipídica corporal, embora não afete diretamente os processos de biossíntese de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3.

As alterações fisiológicas observadas neste experimento comprovam a capacidade adaptativa da espécie à flutuação térmica, uma vez que os peixes respondem ao período de aclimatação adequando sua condição metabólica.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, J.W. Immunonutrition: the role of  $\omega$ -3 fatty acids. **Nutrition**, v.14, n.7-8, p.627-633, 1998.
- ASHTON, I.K. et al. Effects of dietary fatty acid on eicosanoid-generating capacity, fatty acid composition and chemotactic activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) leukocytes. **Biochimica and Biophysica Acta**, p.253-262, 1994.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURE CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Official Agriculture Chemistry**. Washington, 1998. 1102p.
- BELL, J.G. et al. Replacement of fish oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. **The Journal of Nutrition**, v.28, p.1535-1543, 2001.
- BORBA, M.R.de. et al. Growth, lipogenesis and body composition of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) fingerlings fed different dietary protein and lipid concentrations. **Aquatic Living Resources**, v.16, p.362-369, 2003.
- BUZZI, M. **The characterization of docosahexaenoic acid (22:6 n-3) biosynthesis in the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)**. 1996. 182p. Thesis (Doctor of Philosophy)–University of Stirling, Scotland.
- DIAS, J. et al. Regulation of hepatic lipogenesis by dietary protein/energy in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v.161, p.169-186, 1998.
- ERDAL, J.I. et al. Relationship between diet and immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar*) after feeding various levels of ascorbic acid and omega-3 fatty acids. **Aquaculture**, v.98, p.363-379, 1991.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR Sistema de análise estatística para dados balanceados**. Lavras: UFLA/DEX, 2000. Software.
- FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal Biol. Chem.**, v.226, p.497-509, 1957.

FRACALOSSI, D.M.; LOVELL, R.T. Dietary lipid sources influence responses of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to challenge with the pathogen *Edwardsiella ictaluri*. **Aquaculture**, v.119, p.287-298, 1994.

FRØYLAND, L.; LIE, Ø.; BERGE, R.K. Mitochondrial and peroxisomal beta-oxidation capacities in various tissues from Atlantic salmon *Salmo salar*. **Aquaculture Nutrition**, v.6, p.85-89, 2000.

GHIONI, C.; TOCHER, D.R.; SARGENT, J.R. The effect of culture on morphology, lipid and fatty acid composition, and polyunsaturated fatty acid metabolism of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin cells. **Fish Physiol. Biochem.**, v.16, p.499-513, 1997.

HAGAR, A.F.; HAZEL, J.R. Changes in desaturase activity and the fatty acid composition of microsomal membranes from liver tissues of thermally acclimation rainbow trout. **Journal Comp. Physiol**, v.156B, p.35-42, 1985.

HSIEH, S.L.; CHEN, Y.N.; KUO, C.M. Physiological responses, desaturase activity and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) under cold acclimation. **Aquaculture**, v.220, p.903-918, 2003.

MENOYO, D. et al. Growth, digestibility and fatty acid utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed varying levels of n-3 and saturated fatty acids. **Aquaculture**, v.225, p.295-307, 2003.

MISHRA, K. SAMANTARAY, K. Interacting effects of dietary lipid level and temperature on growth, body composition and fatty acid profile of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton). **Aquaculture Nutrition**, v.10, p.359-369, 2004.

MONTERO, D. et al. Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health. **Aquaculture**, v.225, p.252-370, 2003.

NANTON, D.A. et al. Effect of dietary lipid level on fatty acid  $\beta$ -oxidation and lipid composition in various tissues of haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.135, p.95-108, 2003.

RODRÍGUEZ, C. et al. Modification of odd-chain length unsaturated fatty acid by hepatocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing fish oil or olive oil. **Lipids**, v.32, n.6, p.611-619, 1997.

SARGENT, J.R.; HENDERSON, R.J.; TOCHER, D.R. The lipids. In: \_\_\_\_\_. **Fish nutrition**. London: Academic, 1989. 153p.



SARGENT, J.R. et al. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. **Aquaculture**, v.177, p.191-199, 1999.

SCHUENKE, M.; WODTKE, E. Cold-induced of  $\Delta 9$  and  $\Delta 6$  desaturase activities in endoplasmic membranes of carp liver. **Biochem. Biophys. Acta**, v.734, p.70-75, 1983.

SHELDON, W.M.; BLAZER, V.S. Influence of dietary lipid and temperature on bacterial activity of channel catfish macrophages. **Journal of Aquatic Animal Health**, v.3, p.87-93, 1991.

SPRECHER, H. Biochemistry of essential fatty acids. **Proceeding Lipid Research**, London, v.20, n.1, p.13-22, 1981.

TOCHER, D.R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Rev. Fish Science**, v.11, p.107-184, 2003.

TOCHER, D.R. et al. Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comp. Biochem. Physiol.**, v.137, p.49-63, 2004.

TOCHER, D.R. et al. Effects of diets containing linseed oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Fish Physiol. Biochem.**, v.26, p.157-170, 2002.

TORSTENSEN, B.E.; LI, Ø.; FRØYLAND, L. Lipid metabolism and tissue composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) – effects of capelin, palm and oleic-acid enriched sunflower oil as dietary lipid sources. **Lipids**, v.35, p.653-664, 2000.

TRUEMAN, R.J. et al. Thermal thresholds of lipid restructuring and delta 9-desaturase expression in the liver of carp (*Cyprinus carpio*). **Journal Exp. Biol**, v.203, p.641–650, 2000.

WANG, J.T. et al. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v.249, p.439-447, 2005.

WILLIAMS, E.E.; HAZEL, J.R. Restructuring of plasma membrane phospholipids in isolated hepatocytes of rainbow trout during brief *in vitro* cold exposure. **Journal Comp. Physiol.**, v.164, p.600-608, 1995.

WILSON, R.; SARGENT, J.R. High resolution separation of polyunsaturated fatty acids by argentation thin-layer chromatography. **Journal Chromatography**, v.623, p.403-407, 1992.

WODTKE, E.; COSSINS, A.R. Rapid cold-induced changes in membrane order and  $\Delta 9$  desaturase activity in endoplasmic reticulum of carper liver: a time-course study of thermal acclimation. **Biochem. Biophys. Acta**, v.1064, p.343-350, 1991.

WU, F.C.; TING, Y.Y.; CHEN, H.Y. Docosahexaenoic acid is superior to eicosapentaenoic acid as the essential fatty acid for growth of grouper, *Epinephelus malabaricus*. **Journal Nutr.**, v.132, p.72-79, 2002.

ZHENG, X. et al. Effects of diets containing vegetable oil on expression of genes involved in highly unsaturated fatty acid biosynthesis in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v.236, p.467-483, 2004.

### **CAPÍTULO III**

#### **EFEITO DE DIFERENTES ÓLEOS NA DIETA E DA TEMPERATURA SOBRE A LIPOGÊNESE E O PERFIL LIPÍDICO DE TILÁPIAS NILÓTICAS (*Oreochromis niloticus*)**

## RESUMO

RIBEIRO, Paula Adriane Perez. Efeito de diferentes óleos na dieta e da temperatura sobre a lipogênese e o perfil lipídico de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*). In: **\_\_\_ Efeito de fontes de ácidos graxos na dieta e da redução da temperatura sobre o metabolismo lipídico de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) e trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*)**. 2007, Cap.3, p.80-104. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

Os experimentos foram realizados no laboratório de nutrição de peixes da UFLA, com duração de 30 dias cada, entre os meses de junho e julho, e outubro e novembro de 2006, para avaliar o metabolismo lipídico de tilápias nilóticas (*O. niloticus*). No primeiro experimento foram utilizados 45 machos de tilápia, com peso médio de 204g, mantidos em caixas de 100L, a uma temperatura média de 20,9°C. Os tratamentos aplicados foram: 1- dieta com óleo de oliva; 2- dieta com óleo de milho; 3- dieta com óleo de soja; 4- dieta com óleo de linhaça; 5- dieta com óleo de peixe. O delineamento experimental foi um DIC, com cinco tratamentos e quatro repetições. No segundo experimento, foram utilizados 40 machos de tilápia, com peso médio de 205g, mantidos em caixas de 250L, a uma temperatura média de 24,7°C. Os tratamentos aplicados foram: 1- dieta com óleo de oliva; 2- dieta com óleo de milho; 3- dieta com óleo de soja; 4- dieta com óleo de linhaça; 5- dieta com óleo de peixe. O delineamento experimental foi um DIC, com cinco tratamentos e sete repetições. Os parâmetros avaliados para os dois experimentos foram: composição química e perfil de ácidos graxos muscular e atividade hepática de G6PD e EM. Os dados foram submetidos à análise de variância com médias comparadas pelo teste de Scott-Knott (5%). Não houve diferenças significativas para os teores musculares de umidade e cinzas ( $P>0,05$ ). Porém, foram observadas alterações nos teores de lipídios e proteína nos peixes referentes aos tratamentos 1, 2 e 3, nos 2 experimentos ( $P<0,05$ ). Os peixes alimentados com dietas ricas em PUFA's mostraram maiores teores dos mesmos em sua composição lipídica muscular ( $P<0,05$ ). A atividade da G6PD foi superior a da EM, nos 2 experimentos, sendo mais altas nos animais alimentados com rações contendo óleo de oliva, milho e soja ( $P<0,05$ ), evidenciando a maior deposição lipídica muscular destes peixes.

---

<sup>1</sup> Comitê orientador: Priscila Vieira Rosa Logato – UFLA (Orientadora); Rilke Tadeu Fonseca de Freitas – UFLA (Co-orientador); Mário César Guerreiro – UFLA (Co-orientador), Francisco Javier Martínez Lopes – UM, Espanha (Co-orientador).

## ABSTRACT

RIBEIRO, Paula Adriane Perez. Effect of different oils in the diet and of temperature on lipogenesis and the lipid profile of Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*). In: **\_\_\_ Effect of the source of fatty acids in the diet and of temperature on the lipid metabolism of Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)**. 2007. Chap.3, p.80-104. Thesis (Doctor in Animal Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

The experiment was conducted in the Fish Nutrition Laboratory of the UFLA and was subdivided into two experiments. In the first, a total of 45 sexed males of Nile tilapia were utilized, with an initial average weight of 204g, maintained in 100L metabolism boxes, at an average temperature of 20.9°C. The applied treatments were: 1- control diet plus olive oil; 2- control diet plus corn oil; 3- control diet plus soybean oil; 4- control diet plus linseed oil; 5- control diet plus fish oil. The experiment was in a completely randomized design with five treatments and four replicates. In the second sub-experiment, a total of 40 sexed males of Nile tilapia were utilized, with an initial average weight of 205g, maintained in five 250L metabolism boxes, at an average temperature of 24.7°C. The applied treatments were: 1- control diet plus olive oil; 2- control diet plus corn oil; 3- control diet plus soybean oil; 4- control diet plus linseed oil; 5- control diet plus fish oil. The experiment was in a completely randomized design with five treatments and seven replicates. The evaluated parameters for the sub-experiments of this step were: fatty acid profile of the muscle tissue and hepatic activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and malic enzyme (ME). The data were submitted to variance analysis by the SISVAR software and the means of the treatments were compared by Scott-Knott's test (5% of significance). The fish fed on diets rich in polyunsaturated fatty acids presented increased contents of such fat acids in their lipid muscle composition ( $P < 0.05$ ). The hepatic activity of G6PD was superior to that of ME in both experimental conditions, being higher in the specimen fed rations containing olive, corn and soybean oil ( $P < 0.05$ ), thus, evidencing the highest lipid muscle deposition of these fish.

---

<sup>1</sup>Guidance Committee: Priscila Vieira Rosa Logato – UFLA (Adviser); Rilke Tadeu Fonseca de Freitas – UFLA; Mário César Guerreiro – UFLA and Francisco Javier Martinez Lopes – Spain.

## 1 INTRODUÇÃO

Os lipídios são importantes componentes da dieta, fornecendo, de maneira eficiente, energia e ácidos graxos essenciais. No entanto, dietas contendo altos teores de lipídio podem influenciar o metabolismo animal e, por consequência, a composição da carcaça, com acúmulo indesejável de gordura.

A nutrição de peixes tem preconizado, nas últimas décadas, um aumento no conteúdo de energia das dietas, pela elevação nos níveis de gordura, visando assim, uma diminuição da conversão alimentar, com manutenção do crescimento. No entanto, este fato determina um aumento significativo no conteúdo de lipídio na carne.

Em peixes, assim como em outras espécies de animais monogástricos a composição lipídica tecidual é reflexo direto da alimentação. As diversas fontes de gordura influenciam a ressíntese lipídica no organismo e o perfil de ácidos graxos corporais. Dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados, por exemplo, podem diminuir a capacidade lipogênica do tecido hepático e adiposo, promovendo uma melhor composição lipídica da carcaça (Nielsen et al., 2005).

O fígado é o principal local de ocorrência dos processos lipogênicos nos peixes, envolvendo a ação de enzimas específicas, como a glicose-6-P desidrogenase, a isocitrato desidrogenase e a enzima málica. No entanto, em espécies teleósteas, as atividades destas enzimas são proporcionais ao nível de lipídio da dieta, sendo reduzidas conforme o aumento no conteúdo deste componente (Wang et al., 2005).

O presente estudo teve como objetivo avaliar o perfil de ácidos graxos muscular e os processos bioquímicos envolvidos na lipogênese hepática em tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo diferentes ácidos graxos de cadeia longa, em duas épocas do ano.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local e duração do experimento

Os experimentos foram conduzidos na Estação de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e as análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia e na Central de Análise e Prospecção Química do Departamento de Química, da UFLA. O período experimental foi de 30 dias para cada época experimental, compreendidos entre os meses de junho e julho, e outubro e novembro de 2006.

### 2.2 Animais e tratamentos

No primeiro experimento foram utilizados 45 machos sexados de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), com peso médio inicial de  $204,2 \pm 12,5$ g, alojados em 15 caixas de metabolismo com capacidade de 100L. Para o segundo experimento foram utilizados 40 machos sexados de tilápia, com peso médio inicial de  $205,3 \pm 5,1$ g, alojados em 5 caixas de metabolismo com capacidade de 250L.

Os tratamentos aplicados, nos dois experimentos foram:

- 1- dieta controle + óleo de oliva;
- 2- dieta controle + óleo de milho;
- 3- dieta controle + óleo de soja;
- 4- dieta controle + óleo de linhaça;
- 5- dieta controle + óleo de peixe;

As dietas foram purificadas, utilizando dextrina, caseína, gelatina, óleos diversos como fonte dos ácidos graxos referentes a cada tratamento (ácido oléico, ácido linoléico, ácido  $\alpha$ -linolênico, EPA e DHA), antioxidante (BHT),

suplemento mineral e vitamínico. A composição percentual das rações experimentais e seus perfis lipídicos estão apresentados nas Tabelas 11 e 12.

**TABELA 11** Composição percentual média das rações experimentais formuladas para tilápia nilótica (*O. niloticus*).

INGREDIENTES (%)	TRATAMENTOS				
	A Óleo de oliva	B Óleo de milho	C Óleo de soja	D Óleo de linhaça	E Óleo de peixe
Caseína	30,4	30,4	30,4	30,4	30,4
Gelatina	6,08	6,08	6,08	6,08	6,08
Dextrina	55,00	55,00	55,00	55,00	55,00
Celulose	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de oliva	4,00	-	-	-	-
Óleo de milho	-	4,00	-	-	-
Óleo de soja	-	-	4,00	-	-
Óleo de linhaça	-	-	-	4,00	-
Óleo de peixe	-	-	-	-	4,00
Fosfato bicálcico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Suplemento vitamínico <sup>(1)</sup>	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
Suplemento mineral <sup>(2)</sup>	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
<b>TOTAL</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
Proteína bruta (%)	30,58	30,93	30,74	30,13	30,22
Energia bruta (kcal/kg)	4007,36	4074,33	4064,18	4012,44	4096,89
Extrato etéreo (%)	12,80	12,63	12,13	12,98	12,94
Cálcio (%)	0,42	0,40	0,41	0,42	0,40
Fósforo (%)	0,43	0,41	0,43	0,44	0,41

<sup>(1)</sup> Composição do suplemento vitamínico (quantidade por quilo de premix): Vitamina A, 1500 U.I.; Vitamina B1, 20 mg; Vitamina B2, 15 mg; Vitamina B3, 1000 U.I.; Vitamina B12, 10 mcg; 1000 U.I.; Vitamina E, 25 mg.; Vitamina PP, 120 mg; Colina, 2000 mg; Pantotenato de Cálcio, 80 mg; Ácido fólico, 2 mg; BHT, 170 mg.

<sup>(2)</sup> Composição do suplemento mineral (quantidade por quilo de premix): Manganês, 80mg; Ferro, 24mg; Zinco, 50mg; Cobre, 8mg; Iodo, 3mg; Selênio, 0,10mg.



**TABELA 12** Perfil de ácidos graxos das dietas experimentais fornecidas para tilápia nilótica (*O. niloticus*).

ÁCIDO GRAXO (%)	TRATAMENTOS				
	A Óleo de oliva	B Óleo de milho	C Óleo de soja	D Óleo de linhaça	E Óleo de peixe
C14:0	2,05	2,01	1,86	1,80	5,30
C14:1 n-5	0,10	0,07	0,11	0	0,09
C16:0	17,90	20,28	15,48	12,24	19,35
C16:1 n-7	4,68	3,86	0,04	0,03	0
C17:0	0,32	0,21	0,17	0,10	0,22
C17:1 n-7	0,06	0,10	0,13	0,19	0,88
C18:0	30,98	15,56	20,97	22,93	18,13
C18:1 n-9	17,99	7,79	10,68	8,93	5,42
C18:2 n-6	11,82	22,73	38,38	16,46	10,07
C18:3 n-3	0,70	0,45	6,03	30,13	3,31
C20:0	0	0	0,54	0,44	0
C20:1 n-9	1,25	1,41	0,44	0,40	2,82
C20:2 n-6	1,23	1,28	0,21	0,06	0,72
C20:3 n-6	1,32	1,47	0,10	0,01	0,28
C20:4 n-6	5,14	5,74	0,27	0,04	0,76
C20:5 n-3	1,39	1,87	0,27	0,05	6,69
C22:6 n-3	1,22	1,17	0,17	0,52	9,81
<b>TOTAIS</b>					
n-3	3,31	3,49	6,47	30,70	19,81
n-6	19,51	31,22	38,96	16,57	11,83
n-9	19,24	9,20	11,12	9,33	8,24
Saturados	51,25	38,06	39,02	37,51	43,00
Monoinsaturados	24,08	13,23	11,40	9,55	9,21
Poliinsaturados	22,82	34,71	45,43	47,27	31,64
n-3/n-6	0,17	0,11	0,17	1,85	1,67

O consumo médio diário pré-determinado de ração foi de 2% do peso vivo. Os animais receberam as rações uma vez ao dia, período no qual foram também monitorados os parâmetros limnológicos padrão nas caixas de metabolismo. A temperatura da água e o teor de oxigênio foram medidos por um oxímetro digital portátil e o pH, com o auxílio do kit comercial Labcon Test®,

com os valores obtidos por comparação em escala de padrões colorimétricos. As caixas foram sifonadas diariamente para a retirada de restos de ração e excretas (Sipaúba-Tavares, 1994).

### 2.3 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento estatístico para o primeiro experimento foi inteiramente casualizado (DIC), com 5 tratamentos (dietas) e 4 repetições, sendo o modelo estatístico:

$$y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}, \text{ em que:}$$

$y_{ij}$  = amostragem da parcela referente à dieta  $i$  na repetição  $j$  ( $i = 1, 2, \dots, 5$ ) e  $j = (1, 2, \dots, 4)$ ;

$\mu$  = média geral do experimento;

$t_i$  = efeito da dieta  $i$  ( $i = 1, 2, \dots, 5$ );

$e_{ij}$  = desvio associado a cada observação que, por hipótese, tem distribuição normal, com média zero e variância  $\delta^2$ .

Para o segundo experimento adotou-se também um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 5 tratamentos (dietas) e 7 repetições, sendo o modelo estatístico:

$$y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}, \text{ em que:}$$

$y_{ij}$  = amostragem da parcela referente à dieta  $i$  na repetição  $j$  ( $i = 1, 2, \dots, 5$ ) e  $j = (1, 2, \dots, 7)$ ;

$\mu$  = média geral do experimento;

$t_i$  = efeito da dieta  $i$  ( $i = 1, 2, \dots, 5$ );

$e_{ij}$  = desvio associado a cada observação que, por hipótese, tem distribuição normal, com média zero e variância  $\delta^2$ .

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SISVAR, proposto por Ferreira (2000), sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância.

## **2.4 Métodos analíticos**

Ao final da fase experimental os animais foram abatidos, eviscerados, com separação do fígado, para posterior análise, desprovidos de cabeça e nadadeiras e filetados. As amostras de tecido hepático e tecido muscular, acondicionadas em embalagens plásticas, com adição de nitrogênio gasoso, protegidas em papel alumínio e armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , foram analisadas para a determinação do perfil de ácidos graxos e atividade enzimática. As amostras de tecido muscular também foram analisadas para a determinação dos teores de umidade, proteína, cinzas e extrato etéreo, de acordo com a metodologia proposta por Silva (1998).

### **2.4.1 Extração lipídica e análise de ácidos graxos**

As amostras de tecido muscular foram submetidas à extração lipídica pelo método de Folch et al. (1957). O conteúdo de lipídios totais foi determinado por extração e homogeneização em clorofórmio e metanol. As amostras foram transmetiladas conforme a metodologia de Hartman & Lago (1973), citados por Rosa (1999), que consiste de saponificação e conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos. Os metil ésteres de ácidos graxos (FAME) foram submetidos à cromatografia gasosa, utilizando-se equipamento Varian 3800, com detector por ionização em chama, injetor no modo “splitless”, coluna capilar de sílica fundida DB-WAX (30m x 0,25mm x 0,25 $\mu\text{m}$ ) (J&W Scientific, USA), acoplado a um software (Borwin, JMBS Developpements). As condições cromatográficas

foram: gás de arraste nitrogênio, numa vazão de 2,0mL/min.; temperatura inicial da coluna em 75<sup>0</sup>C, durante 4 minutos, elevando-se 10<sup>0</sup>C/min., até 235<sup>0</sup>C; temperatura do detector em 280<sup>0</sup>C e do injetor em 250<sup>0</sup>C, sendo injetado 1μL da amostra, com tempo de corrida de 30 minutos. A identificação e quantificação dos ácidos graxos foram feitas por comparação dos tempos de retenção dos padrões de ésteres metílicos (Supelco® 37 FAME Mix) com os da amostra.

#### **2.4.2 Determinação da atividade enzimática**

As amostras de tecido hepático foram homogeneizadas em tampão HEPES-KOH 25mM, pH 7,2, centrifugadas a 10000rpm, 4<sup>0</sup>C por 30 minutos, para então serem analisadas para a determinação das atividades enzimáticas de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD, E.C.1.1.1.49) de acordo com Graeve (1994) e enzima málica (EM, E.C.1.1.1.40), segundo metodologia descrita por Spina et al. (1966). A cinética enzimática foi monitorada por espectrofotometria ultra-violeta, com um equipamento SpectroUV, acoplado a um software UVWin v.5.0.1. O conteúdo de proteína solúvel total do fígado foi determinado pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina sérica bovina (BSA) como padrão. A unidade de atividade enzimática (UI), definida como μmoles de substrato convertido em seu respectivo produto, por minuto, foi expressa em mg de proteína solúvel hepática (atividade específica).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros limnológicos, monitorados nos dois experimentos, mantiveram-se dentro das faixas normais para tilápia nilótica, sendo os valores médios de pH e oxigênio dissolvido ( $\text{DO}_2$ ) de 7,0 e 5,70mg/L, respectivamente, para o experimento I, e de 7,1 e 4,77mg/L, respectivamente, para o experimento II. A média de temperatura durante os períodos experimentais foi de  $20,9 \pm 0,6^\circ\text{C}$ , para o experimento I e de  $24,7 \pm 0,2^\circ\text{C}$ , para o experimento II.

#### 3.1 Composição química corporal

O peso médio final dos peixes, nas condições experimentais, foi de  $253,8 \pm 13,8\text{g}$  para os animais do experimento I e  $287,2 \pm 14,5\text{g}$ , para os animais do experimento II.

Os tratamentos aplicados não interferiram significativamente nos teores de umidade e cinzas do músculo dos animais ( $P > 0,05$ ). No entanto, de acordo com os resultados da análise de variância, é possível observar um efeito significativo dos tratamentos sobre a porcentagem de lipídios e de proteína dos peixes, nos dois experimentos realizados ( $P < 0,05$ ).

A composição química muscular e o percentual de nutrientes encontrados nas tilápias avaliadas nos dois experimentos estão apresentados na Tabela 13.

**TABELA 13** Porcentagem média de umidade, proteína, extrato etéreo e cinzas, na matéria seca, do músculo de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida em dois experimentos.

TRATAMENTOS	NUTRIENTES <sup>1</sup>			
	Umidade	Proteína	Extrato etéreo	Cinzas
<b>EXPERIMENTO I</b>				
A - óleo de oliva	78,13 ± 0,63a	53,21 ± 0,95b	16,57 ± 0,53a	5,20 ± 0,12a
B - óleo de milho	77,77 ± 0,99a	49,68 ± 0,86c	15,99 ± 0,31a	5,45 ± 0,82a
C - óleo de soja	76,25 ± 3,96a	55,05 ± 0,58b	14,27 ± 0,94b	4,99 ± 0,68a
D - óleo de linhaça	77,96 ± 0,78a	55,48 ± 0,55b	9,24 ± 0,52c	4,86 ± 0,52a
E - óleo de peixe	78,73 ± 1,79a	63,44 ± 0,92a	7,82 ± 0,51d	5,17 ± 0,50a
<b>EXPERIMENTO II</b>				
A - óleo de oliva	77,80 ± 0,82a	47,20 ± 2,63c	13,84 ± 1,18b	5,29 ± 0,74a
B - óleo de milho	78,29 ± 0,66a	51,84 ± 1,42b	15,05 ± 1,54a	5,73 ± 0,90a
C - óleo de soja	75,40 ± 5,62a	53,84 ± 8,87b	15,68 ± 1,15a	5,40 ± 0,50a
D - óleo de linhaça	78,04 ± 0,85a	65,50 ± 1,25a	10,27 ± 0,56c	5,77 ± 1,02a
E - óleo de peixe	78,46 ± 0,73a	64,31 ± 3,31a	8,30 ± 0,66d	5,29 ± 1,01a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (P>0,05).

Os animais alimentados com dietas isoprotéicas, isoenergéticas e sem variações nos teores lipídicos totais, normalmente, não mostram diferenças na sua composição química básica (Menoyo et al., 2003). No entanto, observou-se, neste estudo, alterações significativas nos teores de extrato etéreo e de proteína das tilápias, em ambos os experimentos (P<0,05). Os animais alimentados com dietas contendo óleo de oliva, milho e soja mostram, claramente, uma maior deposição lipídica muscular, acompanhada de menores teores protéicos, em relação aos animais que receberam dietas formuladas com óleos de linhaça e de peixe.

Este fato pode estar relacionado a uma maior atividade de enzimas lipogênicas, favorecida pela composição em ácidos graxos dos lipídios presentes nas dietas, situação esta que proporciona um processo lipogênico mais acentuado, explicando a maior deposição lipídica destes peixes.

Apesar das variações verificadas para estes parâmetros, em ambos os experimentos, as médias encontradas se aproximam das relatadas em estudos realizados por Aiura (2003), Luzia et al. (2003), Furuya et al. (2000), Araújo (1999), Viegas (1993), dentre outros, desconsiderando-se as diferenças atribuídas às condições em que as pesquisas foram realizadas.

Os teores de umidade e cinzas nos filés apresentaram-se uniformes dentre os tratamentos avaliados, não sendo detectadas diferenças estatisticamente significativas ( $P > 0,05$ ). Os resultados, em média, de 78% para umidade e 5,3% para cinzas estão de acordo com a maioria dos estudos realizados com composição corporal de peixes de água doce, sobretudo tilápias.

### **3.2 Perfil lipídico muscular**

Os tratamentos aplicados alteraram o perfil lipídico muscular da tilápia, interferindo significativamente nos teores dos ácidos palmítico (C16:0), em ambos os experimentos, esteárico (C18:0) e oléico (C18:1 n-9), nos animais do experimento I e palmitoléico (C16:1),  $\alpha$ -linolênico (C18:3 n-3), eicosatrienóico (C20:3 n-6), araquidônico (C20:4 n-6) e eicosapentaenóico ou EPA (C20:5 n-3), nos animais do experimento II ( $P < 0,05$ ). Em função destes efeitos, observaram-se também, alterações significativas nas proporções de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, bem como nos teores de compostos da série ômega-9, referentes aos peixes do experimento I, e nas proporções de ácidos graxos saturados e poliinsaturados (PUFAs), além dos teores de compostos da série ômega-6, nos animais do experimento II ( $P < 0,05$ ) (Tabela 14). Os demais ácidos

graxos e proporções dos mesmos, no tecido muscular dos peixes não sofreram influência significativa das dietas estudadas, nas diferentes temperaturas ( $P>0,05$ ). O perfil lipídico completo dos peixes do experimento I e II está apresentado nas Tabelas 7A e 8A, do anexo.

**TABELA 14** Porcentagem e perfil de ácidos graxos do tecido muscular de tilápia nilótica (*O. niloticus*), em dois experimentos, e efeito dos tratamentos nestes percentuais.

<sup>1</sup> Ácido graxo	TRATAMENTOS				
	A Óleo de oliva	B Óleo de milho	C Óleo de soja	D Óleo de linhaça	E Óleo de peixe
<b>EXPERIMENTO I</b>					
C16:0	21,01±0,70 b	20,68±0,44 b	21,56±0,89 a	22,06±0,90 a	20,36±0,70 b
C18:0	9,81±0,95 b	19,92±0,53 a	14,61±1,31 a	10,20±1,89 b	11,04±1,34 b
C18:1 n9	16,16±0,69 a	14,35±2,22 a	14,58±1,67 a	14,51±0,97 a	8,54±1,20 b
<b>TOTAIS</b>					
n9	17,54±0,77 a	10,22±1,56 b	15,70±1,57 a	15,66±0,97 a	15,87±2,10 a
Satur.	33,07±1,75 b	43,20±1,17 a	38,51±1,21 a	34,28±1,00 b	33,66±1,69 b
Monoins.	21,84±1,59 a	20,54±2,40 a	20,17±1,54 a	19,46±2,09 a	14,94±1,41 b
<b>EXPERIMENTO II</b>					
C16:0	25,96±1,54 a	20,84±2,08 b	21,11±1,60 b	21,69±1,57 b	18,43±1,35 b
C16:1	3,65±0,99 a	2,13±1,23 b	2,52±1,01 b	4,26±1,25 a	4,32±1,53 a
C18:3 n3	0,69±0,08 b	0,60±0,20 b	0,57±0,10 b	1,07±0,15 a	0,53±0,17 b
C20:3 n6	1,40±0,29 b	1,74±0,37 a	1,74±0,22 a	1,39±0,26 b	1,17±0,47 b
C20:4 n6	6,58±1,48 b	8,15±0,95 a	9,28±1,15 a	6,19±1,71 b	5,81±1,16 b
C20:5 n3	0,83±0,31 b	0,58±0,19 b	0,75±0,56 b	1,10±0,59 b	1,75±0,42 a
<b>TOTAIS</b>					
n6	20,87±1,75 b	24,04±1,34 a	25,33±1,23 a	21,42±1,47 b	19,71±1,64 b
Satur.	38,14±3,37 a	30,74±2,71 b	31,12±1,73 b	35,12±3,09 a	27,16±3,39 b
Poliins.	26,98±2,28 b	30,52±1,87 a	33,60±2,05 a	29,02±3,85 b	29,23±2,95 b

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P>0,05$ ).

Os ácidos graxos que compõem os lipídios musculares de tilápias refletem a variabilidade de ácidos graxos presentes na dieta desta espécie. Peixes



em cativeiro, que recebem dietas contendo baixos níveis de PUFAs, por exemplo, apresentam seu perfil lipídico corporal pobre nestes ácidos graxos. Este fato pôde ser constatado por vários pesquisadores, trabalhando com proporções diferenciadas de lipídio e suas fontes na dieta para espécies de água doce (Henderson & Tocher, 1987; Moreira et al., 2001; Maia, 1992).

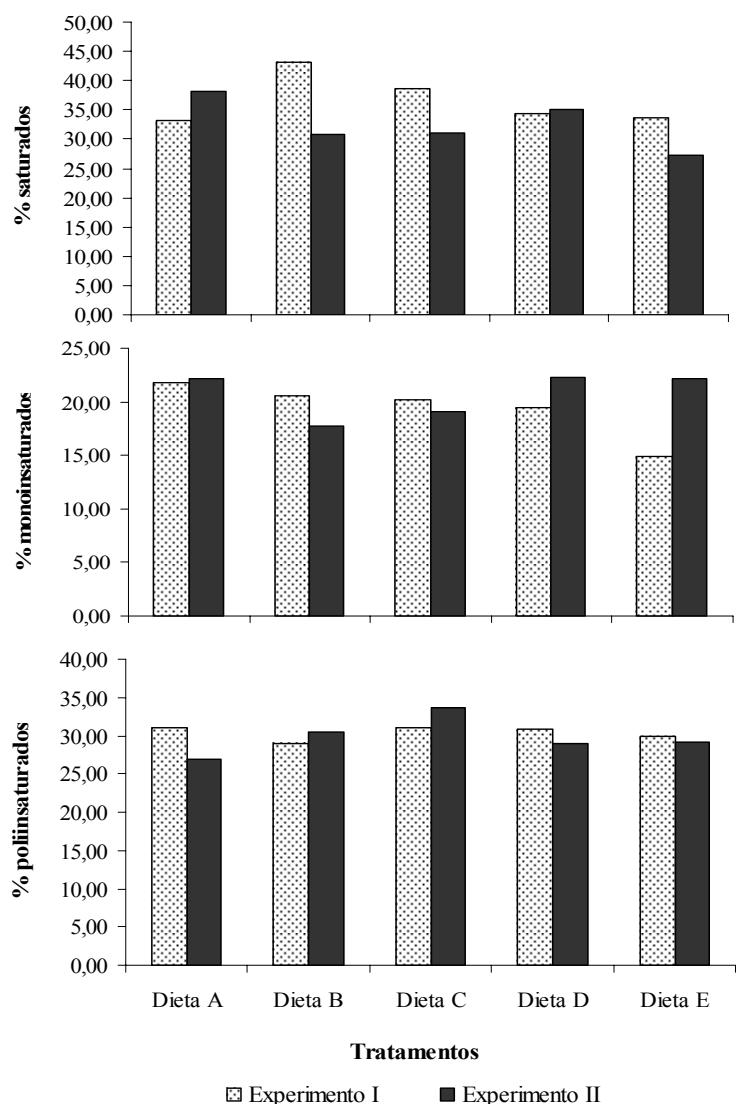
O ácido oléico (C18:1 n-9), monoinsaturado, é o principal representante da família ômega-9. Portanto, valores elevados deste ácido graxo nas rações à base de óleo de oliva, de milho, e de soja, certamente elevaram a proporção de ácidos graxos monoinsaturados no tecido muscular dos animais que receberam tais dietas, no primeiro experimento. Este padrão foi encontrado também por Visentainer et al. (2003), ao avaliarem a composição de ácidos graxos em tilápias submetidas à dieta prolongada.

Este reflexo da composição da dieta no perfil lipídico muscular pode ser observado também nos animais do experimento II, quando se analisam os teores encontrados de ácido  $\alpha$ -linolênico (1,07%), mais elevados nos peixes alimentados com dieta contendo óleo de linhaça, de ácido araquidônico (8,15% e 9,28%), naqueles alimentados com dietas ricas em óleo de milho e soja, respectivamente, e do EPA (1,75%), nos animais que receberam dietas formuladas com óleo de peixe. Justi et al. (2003) avaliando dietas contendo óleo de linhaça para tilápia, como forma de enriquecimento em ômega-3, observou valores semelhantes de ácido  $\alpha$ -linolênico nos filés, com uma média de 1,04%.

O teor encontrado para o EPA, no segundo experimento, é condizente também com a proporção média, de 1,98%, detectada por Andrade et al. (1995), ao avaliarem a influência dos ácidos graxos dietéticos para peixes de água doce, em condições semelhantes.

As proporções de ácidos graxos saturados, mono e poliinsaturados no tecido muscular dos peixes, em função das dietas fornecidas e das médias de

temperatura, de 20,9°C e 24,7°C, obtidas nos experimentos I e II, respectivamente, estão apresentadas na Figura 13.



**FIGURA 13** Proporções de ácidos graxos saturados, mono e poliinsaturados no músculo de tilápias, alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de óleo (Dieta A- óleo de oliva; Dieta B- óleo de milho; Dieta C- óleo de soja; Dieta D- óleo de linhaça; Dieta E- óleo de peixe), em duas épocas do ano.

### 3.3 Atividade enzimática

As diferentes fontes de óleo empregadas nas rações interferiram significativamente na atividade das enzimas hepáticas avaliadas, glicose-6-P desidrogenase e enzima málica, em ambos os experimentos ( $P < 0,05$ ).

A Tabela 15 apresenta os valores médios das atividades destas enzimas, expressos em U/mg de proteína, e os efeitos das dietas fornecidas, nos dois experimentos.

**TABELA 15** Efeito dos tratamentos na atividade das enzimas málica e glicose-6-P desidrogenase (em U/mg de proteína) no tecido hepático de tilápia nilótica (*O. niloticus*), em dois experimentos.

TRATAMENTOS	ATIVIDADE ENZIMÁTICA <sup>1</sup>	
	Enzima málica	Glicose-6-P desidrogenase
<b>EXPERIMENTO I</b>		
A – óleo de oliva	0,062 ± 0,004 b	0,329 ± 0,036 a
B – óleo de milho	0,084 ± 0,006 a	0,196 ± 0,011 b
C – óleo de soja	0,061 ± 0,008 b	0,220 ± 0,022 b
D – óleo de linhaça	0,021 ± 0,003 c	0,114 ± 0,009 c
E – óleo de peixe	0,028 ± 0,002 c	0,105 ± 0,008 c
<b>EXPERIMENTO II</b>		
A – óleo de oliva	0,048 ± 0,001 a	0,290 ± 0,006 a
B – óleo de milho	0,037 ± 0,006 b	0,236 ± 0,026 b
C – óleo de soja	0,041 ± 0,003 b	0,220 ± 0,016 b
D – óleo de linhaça	0,024 ± 0,003 c	0,136 ± 0,008 c
E – óleo de peixe	0,015 ± 0,002 d	0,101 ± 0,006 d

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P > 0,05$ ).

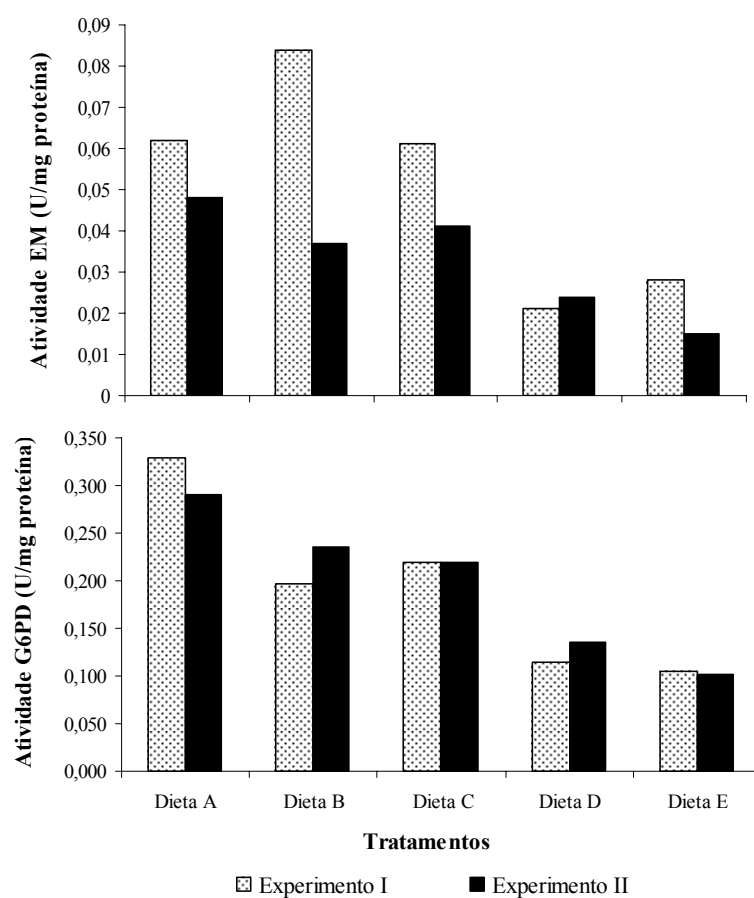
As enzimas lipogênicas estudadas mostraram atividade hepática mais elevada nos animais que receberam dietas formuladas com óleo de oliva, milho e soja, quando comparadas aos animais alimentados com dietas contendo óleo de linhaça e peixe. Este fato está relacionado à proporção diferenciada de ácidos graxos insaturados das fontes de óleo empregadas. As dietas formuladas com óleo de oliva, milho e soja apresentam altas proporções de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados na série ômega-6, predispondo a uma maior atuação das enzimas que participam dos processos de lipogênese e armazenamento lipídico.

Pesquisas realizadas com ratos mostram que dietas contendo PUFAs ômega-3, reduzem significativamente a lipogênese hepática (Zampelas et al., 1995). Isto explica, em parte, a menor atuação das enzimas lipogênicas nos peixes alimentados com dietas contendo óleo de linhaça e óleo de peixe e, portanto, ricas em PUFAs ômega-3, nos dois experimentos realizados.

Os processos lipogênicos observados em peixes seguem o mesmo padrão que para os animais mamíferos. Na formação dos ácidos graxos, as rotas metabólicas requerem quantidades específicas de energia reduzida, sob a forma de NADPH. Em peixes, a principal fonte metabólica de NADPH é a fase oxidativa da via das pentoses fosfatadas, catalisada, entre outras enzimas, pela glicose-6-P desidrogenase (G6PD). A enzima málica (EM), atuante no ciclo do piruvato/malato, contribui também para o suprimento de NADPH, ainda que em menor proporção (Salway, 1994).

A atividade destas enzimas é normalmente afetada pela temperatura da água, fatores hormonais, mas principalmente pela composição da dieta e frequência de alimentação, podendo ser utilizadas como indicadores do status nutricional de algumas espécies (Méton et al., 2003; Sanden et al., 2003) e Fritz & Kletzien, 1987, citados por Sanden et al., 2003.

A Figura 14 mostra o comportamento das enzimas G6PD e EM, em função das dietas fornecidas e das médias de temperatura, de 20,9°C e 24,7°C, obtidas nos experimentos I e II, respectivamente.



**FIGURA 14** Atividades hepáticas das enzimas glicose-6-P desidrogenase (G6PD) e enzima málica (EM) em tilápias, alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de óleo (Dieta A- óleo de oliva; Dieta B- óleo de milho; Dieta C- óleo de soja; Dieta D- óleo de linhaça; Dieta E- óleo de peixe), em duas temperaturas.

As enzimas mostraram comportamento semelhante nos dois experimentos, com discrepância apenas na atividade hepática da enzima málica, referente aos animais alimentados com dietas contendo óleo de milho. Observa-se que a atividade desta enzima é maior nos animais submetidos à temperatura média mais baixa, quando comparados aos demais.

Sabe-se que, em mamíferos, a via das pentoses supre cerca de 60% do NADPH requerido nos processos lipogênicos e que somente 40% é proveniente da ação da enzima málica (Salway, 1994). Isto é verificado também em peixes, onde a participação da G6PD no fornecimento de energia para os processos lipogênicos é geralmente maior quando comparada à EM. No entanto, a contribuição desta última é essencial, podendo ser variável de acordo com a espécie, idade, status fisiológico, etc. Estudos com piracanjuba (*B. orbignyanus*), em condições controladas, mostram que a atividade da EM representa cerca de 50% da atividade da G6PD (Borba et al.; 2003). Entretanto, Figueiredo-Silva et al. (2005), reportaram valores muito próximos de atividade de G6PD e de EM para trutas, com médias de 0,110 e 0,100U/mg de proteína, respectivamente.

Dados da literatura mostram que a atividade destas enzimas, para peixes, encontra-se numa faixa de 0,109 a 0,920U/mg de proteína para G6PD e 0,013 a 0,082U/mg de proteína para EM (Dias et al., 2004; Borba et al., 2003; Metón et al., 2003; Regost et al. 2001; Dias et al., 1998). Esta ampla faixa de variação ocorre em função da diversidade, não só de espécies estudadas, mas também das condições experimentais em que estes ensaios são realizados. Regost et al. (2001), por exemplo, encontraram atividades médias de G6PD e de EM de 0,220 e 0,050U/mg de proteína, respectivamente, para turbot (*Psetta máxima*) alimentados com óleo de peixe na dieta. Estes dados são os que mais se aproximam dos resultados obtidos neste estudo, de 0,105 e 0,028U/mg de proteína para G6PD e EM, respectivamente, no experimento I, e de 0,101 e 0,015U/mg de proteína para G6PD e EM, respectivamente, no experimento II.

#### 4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foram realizados os experimentos, conclui-se que a lipogênese em tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) é influenciada pela composição do lipídio da dieta, sobretudo as atividades hepáticas da glicose-6-P desidrogenase e da enzima málica. Este fato reflete-se na composição química muscular destes animais, evidenciando uma maior deposição lipídica nos peixes alimentados com dietas ricas em ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados ômega-6, que favorecem a atividade destas enzimas.

A nutrição, portanto, mostra-se como o principal fator determinante da maior ou menor taxa lipogênica nesta espécie.



## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIURA, F.S. **Efeito do tanino sobre a deposição lipídica, composição em ácidos graxos e rendimento de filé de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).** 2003. 55p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal.

ANDRADE, A.D.; RUBIRA, A.F. MATSUSHITA, M. Omega-3 fatty acids in freshwater fish from south Brazil. **Am. Oil Chem. Society**, v.72, p.1207-10, 1995.

ARAÚJO, M.G. de. **Influência de rações formuladas com milho processado e amido de milho sobre o desempenho e composição corporal da tilápia (*Oreochromis Niloticus* Linnaeus, 1757).** 1999. 56p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BORBA, M.R. de et al. Growth, lipogenesis and body composition of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) fingerlings fed different dietary protein and lipid concentrations. **Aquatic Living Resources**, v.16, p.362-369, 2003.

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

DIAS, J. et al. Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth, lipid deposition and metabolic hepatic enzymes in juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup). **Aquaculture Research**, v.35, p.1122-1130, 2004.

DIAS, J. et al. Regulation of hepatic lipogenesis by dietary protein/energy in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v.161, p.169-186, 1998.

FERREIRA, D.F. **SISVAR Sistema de análise estatística para dados balanceados.** Lavras: UFLA/DEX, 2000. Software.

FIGUEIREDO-SILVA, A.C. et al. Effects of dietary conjugated linoleic acid on growth, nutrient utilization, body composition and hepatic lipogenesis in rainbow trout juveniles (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.248, p.163-172, 2005.

- FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal Biol. Chem.**, v.226, p.497-509, 1957.
- FURUYA, W.M. et al. Exigência de proteína para alevino revertido de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.1912-1917, 2000.
- GRAEVE, K. Purification, characterization and cDNA sequence of glucose-6-phosphate dehydrogenase from potato (*Solanum tuberosum* L.). **Plant Journal**, v.5, n.3, p.353-361, 1994.
- HENDERSON, R.J.; TOCHER, D.R. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. **Prog. Lipid Res.**, v.26, p.281-347, 1987.
- JUSTI, K.C. et al. The influence of feed supply time on the fatty acid profile of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on a diet enriched with n-3 fatty acids. **Food Chem.**, v.80, p.489-493, 2003.
- LUZIA, L.A. et al. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. **Food Chemistry**, p.1-5, Jan. 2003.
- MAIA, E.L. **Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídicos e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce.** 1992. 242p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos)-Universidade de Campinas, Campinas.
- MENOYO, D. et al. Growth, digestibility and fatty acid utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed varying levels of n-3 and saturated fatty acids. **Aquaculture**, v.225, p.295-307, 2003.
- MÉTON, I.; FERNÁNDEZ, F.; BAANANTE, I.V. Short- and long-term effects of refeeding on key enzyme activities in glycolysis-gluconeogenesis in the liver of gilthead seabream (*Sparus auratus*). **Aquaculture**, v.225, p.99-107, 2003.
- MOREIRA, A.B. et al. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian *Brycon* freshwater fishes. **Journal Food Comp. Anal.**, v.14, p.565-574, 2001.

NIELSEN, N.S. et al. Effect of structured lipids based on fish oil on the growth and fatty acid composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.250, p.411-423, 2005.

REGOST, C. et al. Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture**, v.193, p.291-309, 2001.

SALWAY, J.G. **Metabolism at a glance**. Londres: United Kingdom. Balckwell Science, 1994. 95p.

SANDEN, M.; FRØYLAND, L.; HEMRE, G.I. Modulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase and malic enzyme activity by glucose and alanine in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. hepatocytes. **Aquaculture**, v.221, p.469-480, 2003.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 2.ed. Viçosa: UFV, 1998. 165p.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H. **Limnologia aplicada à aqüicultura**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 70p.

SPINA, J.; BRIGHT, H.J.; ROSENBLOOM, J. Purification and properties of L-malic enzyme from *Escherichia coli*. **Biochemistry**, v.9, p.29-39, 1966.

VIEGAS, E.M.M. **Efeito da utilização do destilado da desodorização do óleo de soja e do óleo de palma bruto sobre o crescimento e composição corporal de tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. 1993. 128p. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Universidade de Campinas, Campinas.

VISENTAINER, J.V. et al. Composição química e de ácidos graxos em tilápias (*Oreochromis niloticus*) submetidas à dieta prolongada. **Revista Nacional da Carne**, v.313, p.36-43, 2003.

WANG, J.T. et al. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v.249, p.439-447, 2005.

ZAMPELAS, A. et al. Effects of dietary fatty acid composition on basal and hormonestimulated hepatic lipogenesis and on circulating lipids in the rat. **Br. Journal Nutr.**, v.74, p.381-392, 1995.

## **CAPÍTULO IV**

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A crescente preocupação dos consumidores em relação à qualidade dos alimentos consumidos tem levado a comunidade científica a intensificar as pesquisas que envolvem nutrição animal e benefícios à saúde humana.

Os últimos relatórios da British Nutrition Foundation e do UK Department of Health, sobre os efeitos dos ácidos graxos sobre a saúde humana, apresentam recomendações claras quanto à importância da manutenção da relação ômega-3/ômega-6, bem como de sua natureza, além de aconselharem um aumento no consumo médio de PUFA's ômega 3, de 0,1 para 0,2 g/dia.

O desequilíbrio dietético dessas classes de ácidos graxos pode ser retificado pelo aumento no consumo de alimentos ricos nestas fontes, como peixes em geral. Encontrar maneiras de enriquecê-los, por meio do conhecimento de seu metabolismo e modificações na sua alimentação pode ser uma forma viável de agregar valores ao alimento, tornando-o nutricionalmente saudável.

As diferentes classes de lipídios representam fontes de compostos essenciais ao bom desempenho do organismo, desde que consumidos adequadamente. Assim, o conhecimento do metabolismo lipídico animal, destacando-se a importância das séries lipídicas, sua incorporação e processos de bioconversão, torna-se fundamental ao estabelecimento de ferramentas importantes para a nutrição humana.

## LISTA DE ANEXOS

### ANEXO A

	<b>Página</b>
TABELA 1A. Valores médios dos parâmetros limnológicos das caixas de metabolismo para truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ).....	123
TABELA 2A. Valores médios dos parâmetros limnológicos das caixas de metabolismo para tilápia ( <i>O. niloticus</i> ), no experimento I.....	124
TABELA 3A. Valores médios dos parâmetros limnológicos das caixas de metabolismo para tilápia ( <i>O. niloticus</i> ), no experimento II.....	124
TABELA 4A. Porcentagem e perfil de ácidos graxos do tecido muscular de tilápia nilótica ( <i>O. niloticus</i> ), no experimento I, e efeito dos tratamentos nestes percentuais.....	125
TABELA 5A. Porcentagem e perfil de ácidos graxos do tecido muscular de tilápia nilótica ( <i>O. niloticus</i> ), no experimento II, e efeito dos tratamentos nestes percentuais.....	126
TABELA 6A. Perfil de ácidos graxos dos óleos utilizados no preparo das dietas experimentais.....	127

## ANEXO B

	<b>Página</b>
TABELA 1B. Análise de variância do percentual de C18:2 n-6 (ácido linoléico) no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	128
TABELA 2B. Análise de variância do percentual de C20:3 n-6 no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	128
TABELA 3B. Análise de variância do percentual de C20:4 n-6 (ácido araquidônico) no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	129
TABELA 4B. Análise de variância do percentual de C18:3 n-3 (ácido $\alpha$ -linolênico) no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	129
TABELA 5B. Análise de variância do percentual de C20:3 n-3 no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	130

TABELA 6B.	Análise de variância do percentual de C20:5 n-3 (ácido eicosapentaenóico ou EPA) no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	130
TABELA 7B.	Análise de variância do percentual de C22:6 n-3 (ácido docosahexaenóico ou DHA) no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	131
TABELA 8B.	Análise de variância do percentual de ácidos graxos saturados no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	131
TABELA 9B.	Análise de variância do percentual de ácidos graxos monoinsaturados no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	132
TABELA 10B.	Análise de variância do percentual de ácidos graxos poliinsaturados no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	132



TABELA 11B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-3 (n-3) no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	133
TABELA 12B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-6 (n-6) no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	133
TABELA 13B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-9 (n-9) no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	134
TABELA 14B. Análise de variância da relação entre os ácidos graxos da série ômega-3 e ômega-6 (n-3/n-6) no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	134
TABELA 15B. Análise de variância do percentual de umidade no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	135

TABELA 16B. Análise de variância do percentual de proteína no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	135
TABELA 17B. Análise de variância do percentual de lipídios no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	136
TABELA 18B. Análise de variância do percentual de cinzas no músculo de truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.....	136
TABELA 19B. Análise de variância do percentual de radioatividade recuperada no processo de dessaturação/elongação do [1- <sup>14</sup> C]18:3 n-3 a C18:4 n-3 em hepatócitos de trutas arco-íris ( <i>O. mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta.....	137
TABELA 20B. Análise de variância do percentual de radioatividade recuperada no processo de dessaturação/elongação do [1- <sup>14</sup> C]18:3 n-3 a C20:5 n-3 em hepatócitos de trutas arco-íris ( <i>O. mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta.....	137

TABELA 21B. Análise de variância do percentual de radioatividade recuperada no processo de dessaturação/elongação do [1- <sup>14</sup> C]18:3 n-3 a C22:5 n-3 em hepatócitos de trutas arco-íris ( <i>O. mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta.....	138
TABELA 22B. Análise de variância do percentual de radioatividade recuperada no processo de dessaturação/elongação do [1- <sup>14</sup> C]18:3 n-3 a C22:6 n-3 em hepatócitos de trutas arco-íris ( <i>O. mykiss</i> ), em função da dieta e do tempo de coleta.....	138
TABELA 23B. Análise de variância do percentual de C14:0 (ácido mirístico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	139
TABELA 24B. Análise de variância do percentual de C14:1 (ácido miristoléico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	139
TABELA 25B. Análise de variância do percentual de C16:0 (ácido palmítico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	139

TABELA 26B	Análise de variância do percentual de C16:1 (ácido palmitoléico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	140
TABELA 27B	Análise de variância do percentual de C17:0 no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	140
TABELA 28B	Análise de variância do percentual de C17:1 no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	140
TABELA 29B	Análise de variância do percentual de C18:0 no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	141
TABELA 30B.	Análise de variância do percentual de C18:1 n-9 (ácido oléico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	141
TABELA 31B.	Análise de variância do percentual de C18:2 n-6 (ácido linoléico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	141

TABELA 32B. Análise de variância do percentual de C18:3 n-3 (ácido $\alpha$ -linolênico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	142
TABELA 33B. Análise de variância do percentual de C20:1 n-9 no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	142
TABELA 34B. Análise de variância do percentual de C20:2 n-6 no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	142
TABELA 35B. Análise de variância do percentual de C20:3 n-6 no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	143
TABELA 36B. Análise de variância do percentual de C20:4 n-6 (ácido araquidônico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	143
TABELA 37B. Análise de variância do percentual de C20:5 n-3 (ácido eicosapentaenóico ou EPA) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	143

TABELA 38B. Análise de variância do percentual de C22:6 n-3 (ácido docosaheptaenóico ou DHA) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	144
TABELA 39B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos saturados no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	144
TABELA 40B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos monoinsaturados no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	144
TABELA 41B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos poliinsaturados no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	145
TABELA 42B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-3 (n-3) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	145
TABELA 43B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-6 (n-6) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	145

TABELA 44B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-9 (n-9) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	146
TABELA 45B. Análise de variância da relação entre os ácidos graxos das séries ômega-3 e ômega-6 (n-3/n-6) no músculo de tilápia nilótica ( <i>O. niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	146
TABELA 46B. Análise de variância do percentual de C14:0 (ácido mirístico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	146
TABELA 47B. Análise de variância do percentual de C14:1 (ácido miristoléico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	147
TABELA 48B. Análise de variância do percentual de C16:0 (ácido palmítico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	147
TABELA 49B. Análise de variância do percentual de C16:1 (ácido palmitoléico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	147

TABELA 50B. Análise de variância do percentual de C17:0 no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	148
TABELA 51B. Análise de variância do percentual de C17:1 no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	148
TABELA 52B. Análise de variância do percentual de C18:0 (ácido esteárico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	148
TABELA 53B. Análise de variância do percentual de C18:1 n-9 (ácido oléico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	149
TABELA 54B. Análise de variância do percentual de C18:2 n-6 (ácido linoléico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	149
TABELA 55B. Análise de variância do percentual de C18:3 n-3 (ácido $\alpha$ -linolênico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	149



TABELA 56B. Análise de variância do percentual de C20:1 n-9 no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	150
TABELA 57B. Análise de variância do percentual de C20:2 n-6 no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	150
TABELA 58B. Análise de variância do percentual de C20:3 n-6 no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	150
TABELA 59B. Análise de variância do percentual de C20:4 n-6 (ácido araquidônico) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	151
TABELA 60B. Análise de variância do percentual de C20:5 n-3 (ácido eicosapentaenóico ou EPA) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	151
TABELA 61B. Análise de variância do percentual de C22:6 n-3 (ácido docosahexaenóico ou DHA) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	151

TABELA 62B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos saturados no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	152
TABELA 63B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos monoinsaturados no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	152
TABELA 64B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos poliinsaturados no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	152
TABELA 65B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-3 (n-3) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	153
TABELA 66B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-6 (n-6) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	153
TABELA 67B. Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-9 (n-9) no músculo de tilápia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	153

TABELA 68B. Análise de variância da relação entre os ácidos graxos das séries ômega-3 e ômega-6 (n-3/n-6) no músculo de tilápia nilótica ( <i>O. niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	154
TABELA 69B. Análise de variância da atividade da enzima málica no fígado de tilápia nilótica ( <i>O. niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	154
TABELA 70B. Análise de variância da atividade de glicose-6-P desidrogenase no fígado de tilápia nilótica ( <i>O. niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	154
TABELA 71B. Análise de variância da atividade da enzima málica no fígado de tilápia nilótica ( <i>O. niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	155
TABELA 72B. Análise de variância da atividade de glicose-6-P desidrogenase no fígado de tilápia nilótica ( <i>O. niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	155
TABELA 73B. Análise de variância do percentual de umidade no músculo de tilápias nilóticas ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	155

TABELA 74B. Análise de variância do percentual de cinzas no músculo de tilápias nilóticas ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	156
TABELA 75B. Análise de variância do percentual de lipídios no músculo de tilápias nilóticas ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	156
TABELA 76B. Análise de variância do percentual de proteína no músculo de tilápias nilóticas ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento I.....	156
TABELA 77B. Análise de variância do percentual de umidade no músculo de tilápias nilóticas ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	157
TABELA 78B. Análise de variância do percentual de cinzas no músculo de tilápias nilóticas ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	157

TABELA 79B. Análise de variância do percentual de lipídios no músculo de tilápias nilóticas ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	157
TABELA 80B. Análise de variância do percentual de proteína no músculo de tilápias nilóticas ( <i>Oreochromis niloticus</i> ), em função da dieta fornecida no experimento II.....	158

#### ANEXO C

	<b>Página</b>
PROTOCOLO 1C. Ensaio cinético para determinação da atividade de enzima málica (E.C. 1.1.1.40).....	159
PROTOCOLO 2C. Ensaio cinético para determinação da atividade de glicose-6-P desidrogenase (E.C. 1.1.1.49).....	161

## ANEXO A

**TABELA 1A.** Valores médios dos parâmetros limnológicos das caixas de metabolismo para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).

Dia	Parâmetros limnológicos		
	pH	NO <sub>2</sub> (mg/L)	NH <sub>3</sub> (mg/L)
04/10/2005	7,2	0,2	0
11/10/2005	7,2	0,2	0
17/10/2005	7,0	0,2	0
24/10/2005	7,0	0,2	0
02/11/2005	6,2	0,2	0
09/11/2005	6,2	0,2	0
16/11/2005	6,8	0,2	0
24/11/2005	6,8	0,2	0
30/11/2005	6,9	0,2	0
06/12/2005	6,8	0,2	0
12/12/2005	7,0	0,2	0

**TABELA 2A.** Valores médios dos parâmetros limnológicos das caixas de metabolismo para tilápia (*O. niloticus*), no experimento I.

Tratamento	Nº caixa	Parâmetro limnológico		
		Temper. (°C)	DO <sub>2</sub> (mg/L)	pH
A – Óleo de oliva	02	19,9	5,92	7,0
	10	21,2	5,55	6,9
	15	21,1	5,78	7,0
B – Óleo de milho	05	20,9	5,28	7,0
	07	21,1	5,85	7,0
	08	21,1	5,79	7,1
C - Óleo de soja	04	21,1	5,38	6,9
	09	21,2	5,68	7,1
	12	21,0	5,64	6,9
D - Óleo de linhaça	06	21,4	5,67	7,1
	11	20,8	5,61	6,8
	14	21,2	5,60	7,1
E – Óleo de peixe	01	19,2	5,79	6,9
	03	20,8	5,49	6,9
	13	20,9	5,56	6,9

**TABELA 3A.** Valores médios dos parâmetros limnológicos das caixas de metabolismo para tilápia (*O. niloticus*), no experimento II.

Tratamento	Nº caixa	Parâmetro limnológico		
		Temper. (°C)	DO <sub>2</sub> (mg/L)	pH
A- Óleo de oliva	1	24,3	4,75	7,1
B - Óleo de milho	2	24,9	4,90	7,2
C - Óleo de soja	3	24,8	4,71	7,1
D - Óleo de linhaça	4	24,7	4,79	7,1
E - Óleo de peixe	5	24,6	4,71	7,1

**TABELA 4A** Porcentagem e perfil de ácidos graxos do tecido muscular de tilápia nilótica (*O. niloticus*), no experimento I, e efeito dos tratamentos nestes percentuais.

<sup>1</sup> Ácido graxo	TRATAMENTOS				
	A Óleo de oliva	B Óleo de milho	C Óleo de soja	D Óleo de linhaça	E Óleo de peixe
C14:0	1,90±0,57 a	2,27±0,31 a	2,01±0,24 a	1,64±0,93 a	1,90±0,94 a
C14:1	0,05±0,03 a	0,06±0,03 a	0,08±0,03 a	0,10±0,03 a	0,11±0,02 a
C16:0	21,01±0,70 b	20,68±0,44 b	21,56±0,89 a	22,06±0,90 a	20,36±0,70 b
C16:1	3,88±0,18 a	4,13±0,52 a	3,83±0,13 a	3,25±0,14 a	4,23±0,47 a
C17:0	0,35±0,05 a	0,32±0,05 a	0,33±0,06 a	0,38±0,07 a	0,36±0,06 a
C17:1	0,37±0,16 a	0,49±0,04 a	0,56±0,05 a	0,46±0,12 a	0,38±0,06 a
C18:0	9,81±0,95 b	19,92±0,53 a	14,61±1,31 a	10,20±1,89 b	11,04±1,34 b
C18:1 n9	16,16±0,69 a	14,35±2,22 a	14,58±1,67 a	14,51±0,97 a	8,54±1,20 b
C18:2 n6	12,95±0,99 a	13,26±0,77 a	13,95±0,88 a	12,52±1,31 a	13,99±0,55 a
C18:3 n3	1,13±0,43 a	1,22±0,59 a	1,13±0,44 a	0,87±0,17 a	1,62±0,35 a
C20:1 n9	1,36±0,10 a	1,52±0,13 a	1,12±0,17 a	1,15±0,55 a	1,68±0,50 a
C20:2 n6	1,47±0,24 a	1,42±0,14 a	1,46±0,07 a	1,37±0,11 a	1,42±0,05 a
C20:3 n6	1,69±0,30 a	1,55±0,15 a	1,67±0,29 a	1,66±0,31 a	1,53±0,12 a
C20:4 n6	7,69±1,18 a	5,98±1,16 a	6,26±1,55 a	7,20±1,41 a	5,81±1,24 a
C20:5 n3	0,54±0,09 a	0,55±0,04 a	1,28±0,08 a	1,32±0,18 a	1,36±0,24 a
C22:6 n3	4,18±0,92 a	5,05±0,88 a	5,28±1,42 a	5,89±1,28 a	5,56±0,92 a
<b>TOTAIS</b>					
n3	7,23±0,91 a	6,82±1,34 a	7,69±1,67 a	8,12±1,31 a	7,12±0,83 a
n6	23,79±1,97 a	22,20±1,01 a	23,33±1,81 a	22,74±2,18 a	22,75±1,27 a
n9	17,54±0,77 a	10,22±1,56 b	15,70±1,57 a	15,66±0,97 a	15,87±2,10 a
Satur.	33,07±1,75 b	43,20±1,17 a	38,51±1,21 a	34,28±1,00 b	33,66±1,69 b
Monoins.	21,84±1,59 a	20,54±2,40 a	20,17±1,54 a	19,46±2,09 a	14,94±1,41 b
Poliins.	31,02±2,65 a	29,01±1,92 a	31,01±2,23 a	30,86±2,37 a	29,87±2,08 a
n3/n6	0,31±0,03 a	0,31±0,05 a	0,33±0,05 a	0,35±0,07 a	0,31±0,02 a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (P>0,05).



**TABELA 5A** Porcentagem e perfil de ácidos graxos do tecido muscular de tilápia nilótica (*O. niloticus*), no experimento II, e efeito dos tratamentos nestes percentuais.

<sup>1</sup> Ácido graxo	TRATAMENTOS				
	A Óleo de oliva	B Óleo de milho	C Óleo de soja	D Óleo de linhça	E Óleo de peixe
C14:0	2,51±0,09 a	1,10±0,44 b	1,12±0,49 b	2,51±0,13 a	1,92±0,35
C14:1	0,06±0,03 a	0,07±0,03 a	0,05±0,02 a	0,02±0,01 a	0,04±0,01 a
C16:0	25,96±1,54 a	20,84±2,08 b	21,11±1,60 b	21,69±1,57 b	18,43±1,35 b
C16:1	3,65±0,99 a	2,13±1,23 b	2,52±1,01 b	4,26±1,25 a	4,32±1,53 a
C17:0	0,42±0,13 a	0,40±0,07 a	0,36±0,07 a	0,38±0,10 a	0,33±0,13 a
C17:1	0,43±0,20 a	0,51±0,18 a	0,42±0,22 a	0,40±0,08 a	0,41±0,07 a
C18:0	9,25±1,52 a	8,40±0,85 a	8,52±0,82 a	10,54±2,01 a	6,48±1,46 a
C18:1 n9	17,06±3,80 a	14,12±2,43 a	15,22±3,08 a	16,28±2,91 a	16,62±3,16 a
C18:2 n6	11,66±1,83 a	12,82±0,95 a	12,72±1,09 a	12,56±0,65 a	11,74±1,09 a
C18:3 n3	0,69±0,08 b	0,60±0,20 b	0,57±0,10 b	1,07±0,15 a	0,53±0,17 b
C20:1 n9	0,98±0,37 a	0,85±0,21 a	0,91±0,40 a	1,28±0,72 a	0,78±0,37 a
C20:2 n6	1,24±0,29 a	1,33±0,52 a	1,58±0,31 a	1,28±0,18 a	0,98±0,28 a
C20:3 n6	1,40±0,29 b	1,74±0,37 a	1,74±0,22 a	1,39±0,26 b	1,17±0,47 b
C20:4 n6	6,58±1,48 b	8,15±0,95 a	9,28±1,15 a	6,19±1,71 b	5,81±1,16 b
C20:5 n3	0,83±0,31 b	0,58±0,19 b	0,75±0,56 b	1,10±0,59 b	1,75±0,42 a
C22:6 n3	4,58±0,75 a	5,30±1,53 a	6,95±1,99 a	5,43±1,87 a	7,25±1,51 a
<b>TOTAIS</b>					
n3	6,09±1,02 a	6,48±1,72 a	8,27±1,95 a	7,60±1,66 a	9,53±1,96 a
n6	20,87±1,75 b	24,04±1,34 a	25,33±1,23 a	21,42±1,47 b	19,71±1,64 b
n9	18,04±2,39 a	14,97±2,62 a	16,13±3,43 a	17,56±3,54 a	17,40±3,90 a
Satur.	38,14±3,37 a	30,74±2,71 b	31,12±1,73 b	35,12±3,09 a	27,16±3,39 b
Monoins.	22,18±3,85 a	17,69±3,72 a	19,13±4,09 a	22,24±3,67 a	22,16±3,28 a
Poliins.	26,98±2,28 b	30,52±1,87 a	33,60±2,05 a	29,02±3,85 b	29,23±2,95 b
n3/n6	0,29±0,04 a	0,27±0,08 a	0,33±0,08 a	0,35±0,10 a	0,48±0,18 a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (P>0,05).

**TABELA 6A.** Perfil de ácidos graxos dos óleos utilizados no preparo das dietas experimentais.

ÁCIDO GRAXO (%)	ÓLEOS				
	Oliva	Milho	Soja	Linhaça	Peixe
C14:0	nd	0,05	0,07	0,05	0,71
C14:1 n-5	nd	nd	nd	nd	4,06
C16:0	12,00	14,20	11,84	7,75	14,09
C16:1 n-7	0,97	nd	nd	nd	4,20
C17:0	0,04	0,06	0,07	0,05	0,80
C17:1 n-7	0,12	0,07	0,06	0,05	0,47
C18:0	11,97	28,60	19,39	15,87	11,63
C18:1 n-9	54,31	16,97	10,76	10,64	10,37
C18:2 n-6	16,01	35,56	46,07	23,66	12,54
C18:3 n-3	0,85	1,10	7,26	38,24	4,25
C20:0	nd	nd	nd	nd	nd
C20:1 n-9	0,45	0,79	0,42	0,27	nd
C20:2 n-6	nd	nd	nd	nd	0,80
C20:3 n-6	nd	0,02	0,09	0,08	0,28
C20:4 n-6	0,09	0,01	0,13	0,01	0,81
C20:5 n-3	0,05	0,01	0,15	0,04	1,06
C22:6 n-3	0,03	0,03	0,01	0,31	3,83
<b>TOTAIS</b>					
n-3	0,93	1,14	7,42	38,59	9,14
n-6	16,1	35,59	46,29	23,75	14,43
n-9	54,76	17,76	11,18	10,91	10,37
Saturados	24,01	42,91	31,37	23,72	27,23
Monoinsaturados	55,85	17,83	11,24	10,96	19,1
Poliinsaturados	17,03	36,73	53,71	62,34	23,57
n-3/n-6	0,06	0,03	0,16	1,62	0,63

nd – não detectado

## ANEXO B

**TABELA 1B.** Análise de variância do percentual de C18:2 n-6 (ácido linoléico) no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	25,9200	25,9200	12,153	0,0045
Tempo (T)	2	17,5315	8,7658	4,110	0,0437
D*T	2	9,3857	4,6929	2,200	0,1534
Resíduo	12	25,5931	2,1328		
Total	17	78,4304			

CV = 35,03%

**TABELA 2B.** Análise de variância do percentual de C20:3 n-6 no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	1,8304	1,8304	46,941	0,0000
Tempo (T)	2	0,0344	0,0172	0,441	0,6533
D*T	2	0,2289	0,1144	2,935	0,0917
Resíduo	12	0,4679	0,0390		
Total	17	2,5616			

CV = 39,06%

**TABELA 3B.** Análise de variância do percentual de C20:4 n-6 (ácido araquidônico) no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
Dieta (D)	1	2,0537	2,0537	30,808	0,0001
Tempo (T)	2	1,5662	0,7831	11,748	0,0015
D*T	2	0,2583	0,1292	1,938	0,1865
Resíduo	12	0,7999	0,0667		
Total	17	4,6782			

CV = 23,98%

**TABELA 4B.** Análise de variância do percentual de C18:3 n-3 (ácido  $\alpha$ -linolênico) no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
Dieta (D)	1	34,9727	34,9727	127,622	0,0000
Tempo (T)	2	11,0797	5,5398	20,216	0,0001
D*T	2	4,6007	2,3004	8,394	0,0052
Resíduo	12	3,2884	0,2740		
Total	17	53,9415			

CV = 22,19%

**TABELA 5B.** Análise de variância do percentual de C20:3 n-3 no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) conforme a dieta e o tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	1,3230	1,3230	65,968	0,0000
Tempo (T)	2	0,2428	0,1214	6,053	0,0152
D*T	2	0,0539	0,0269	1,344	0,2974
Resíduo	12	0,2407	0,0201		
Total	17	1,8604			

CV = 39,34%

**TABELA 6B.** Análise de variância do percentual de C20:5 n-3 (ácido eicosapentaenóico ou EPA) no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	19,9501	19,9501	20,413	0,0007
Tempo (T)	2	4,8835	2,4417	2,498	0,1238
D*T	2	0,6994	0,3497	0,358	0,7064
Resíduo	12	11,7277	0,9773		
Total	17	37,2608			

CV = 24,61%

**TABELA 7B.** Análise de variância do percentual de C22:6 n-3 (ácido docosahexaenóico ou DHA) no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	304,2222	304,2222	16,689	0,0015
Tempo (T)	2	163,2476	81,6238	4,478	0,0353
D*T	2	182,1179	91,0589	4,995	0,0264
Resíduo	12	218,7474	18,2289		
Total	17	868,3352			

CV = 18,61%

**TABELA 8B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos saturados no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	61,3094	61,3094	3,677	0,0793
Tempo (T)	2	123,8469	61,9235	3,713	0,0555
D*T	2	34,0810	17,0405	1,022	0,3892
Resíduo	12	200,1086	16,6757		
Total	17	419,3459			

CV = 13,75%

**TABELA 9B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos monoinsaturados no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	1103,8734	1103,8734	58,343	0,0000
Tempo (T)	2	235,0100	117,5050	6,210	0,0141
D*T	2	254,4009	127,2004	6,723	0,0110
Resíduo	12	227,0463	18,9205		
Total	17	1820,3306			

CV = 13,55%

**TABELA 10B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos poliinsaturados no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	1685,4818	1685,4818	53,853	0,0000
Tempo (T)	2	516,7934	258,3967	8,256	0,0056
D*T	2	414,7225	207,3612	6,625	0,0115
Resíduo	12	375,5721	31,2977		
Total	17	2992,5698			

CV = 14,64%

**TABELA 11B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-3 (n-3) no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	1006,9576	1006,9576	36,640	0,0001
Tempo (T)	2	276,9551	138,4775	5,039	0,0258
D*T	2	280,5193	140,2597	5,104	0,0249
Resíduo	12	329,7896	27,4825		
Total	17	1894,2216			

CV = 16,66%

**TABELA 12B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-6 (n-6) no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	86,7684	86,7684	31,943	0,0001
Tempo (T)	2	39,2218	19,6109	7,220	0,0087
D*T	2	13,1161	6,5580	2,414	0,1315
Resíduo	12	32,5963	2,7164		
Total	17	171,7025			

CV = 24,50%



**TABELA 13B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-9 (n-9) no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	239,9510	239,9510	25,276	0,0003
Tempo (T)	2	44,2990	22,1495	2,333	0,1393
D*T	2	86,8024	43,4012	4,572	0,0334
Resíduo	12	113,9197	9,4933		
Total	17	484,9722			

CV = 14,07%

**TABELA 14B.** Análise de variância da relação entre os ácidos graxos das séries ômega-3 e ômega-6 (n-3/n-6) no músculo de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	21,1250	21,1250	4,457	0,0564
Tempo (T)	2	15,5808	7,7904	1,644	0,2339
D*T	2	7,8316	3,9158	0,826	0,4611
Resíduo	12	56,8727	4,7394		
Total	17	101,4102			

CV = 39,45%

**TABELA 15B.** Análise de variância do percentual de umidade corporal de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	0,6385	0,6385	1,056	0,3244
Tempo (T)	2	0,7810	0,3905	0,646	0,5415
D*T	2	0,2842	0,1421	0,235	0,7941
Resíduo	12	7,2559	0,6047		
Total	17	8,9596			

CV = 1,01%

**TABELA 16B.** Análise de variância do percentual de proteína corporal de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	0,6272	0,6272	0,988	0,3399
Tempo (T)	2	0,7244	0,3622	0,570	0,5799
D*T	2	0,0520	0,0260	0,041	0,9600
Resíduo	12	7,6205	0,6350		
Total	17	9,0242			

CV = 3,84%

**TABELA 17B.** Análise de variância do percentual de lipídios corporais de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	0,3814	0,3814	0,950	0,3490
Tempo (T)	2	0,5406	0,2703	0,673	0,5283
D*T	2	0,1847	0,0924	0,230	0,7979
Resíduo	12	4,8173	0,4014		
Total	17	5,9240			

CV = 36,86%

**TABELA 18B.** Análise de variância do percentual de cinzas corporais de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta das amostras.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	0,0035	0,0035	0,636	0,4407
Tempo (T)	2	0,0492	0,0246	4,506	0,0347
D*T	2	0,0062	0,0031	0,569	0,5808
Resíduo	12	0,0655	0,0055		
Total	17	0,1244			

CV = 6,09%

**TABELA 19B.** Análise de variância do percentual de radioatividade recuperada no processo de dessaturação/elongação do [1-<sup>14</sup>C]18:3 n-3 a C18:4 n-3 em hepatócitos de trutas arco-íris (*O. mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	732,9344	732,9344	2,298	0,1555
Tempo (T)	2	1096,4750	548,2375	1,719	0,2206
D*T	2	1100,1431	550,0716	1,724	0,2197
Resíduo	12	3828,1474	319,0123		
Total	17	6757,7000			

CV = 48,47%

**TABELA 20B.** Análise de variância do percentual de radioatividade recuperada no processo de dessaturação/elongação do [1-<sup>14</sup>C]18:3 n-3 a C20:5 n-3 em hepatócitos de trutas arco-íris (*O. mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	45,8244	45,8244	1,978	0,1850
Tempo (T)	2	59,8656	29,9328	1,292	0,3103
D*T	2	48,2363	24,1182	1,041	0,3829
Resíduo	12	278,0231	23,1686		
Total	17	431,9494			

CV = 26,09%

**TABELA 21B.** Análise de variância do percentual de radioatividade recuperada no processo de dessaturação/elongação do [1-<sup>14</sup>C]18:3 n-3 a C22:5 n-3 em hepatócitos de trutas arco-íris (*O. mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	0,8581	0,8581	0,071	0,7939
Tempo (T)	2	222,5092	111,2546	9,251	0,0037
D*T	2	37,9575	18,9788	1,578	0,2464
Resíduo	12	144,3207	12,0267		
Total	17	405,6455			

CV = 47,91%

**TABELA 22B.** Análise de variância do percentual de radioatividade recuperada no processo de dessaturação/elongação do [1-<sup>14</sup>C]18:3 n-3 a C22:6 n-3 em hepatócitos de trutas arco-íris (*O. mykiss*), em função da dieta e do tempo de coleta.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta (D)	1	1208,8445	1208,8445	2,496	0,1401
Tempo (T)	2	123,8992	61,9496	0,128	0,8811
D*T	2	1457,0005	728,5003	1,504	0,2613
Resíduo	12	5812,6590	484,3882		
Total	17	8602,4032			

CV = 29,08%

**TABELA 23B.** Análise de variância do percentual de C14:0 (ácido mirístico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
Dieta	4	0,8531	0,2133	0,478	0,7517
Resíduo	15	6,6974	0,4465		
Total	19	7,5505			

CV = 34,33%

**TABELA 24B.** Análise de variância do percentual de C14:1 (ácido miristoléico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
Dieta	4	0,0099	0,0025	1,225	0,3419
Resíduo	15	0,0302	0,0020		
Total	19	0,0401			

CV = 54,46%

**TABELA 25B.** Análise de variância do percentual de C16:0 (ácido palmítico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
Dieta	4	7,4827	1,8707	3,379	0,0368
Resíduo	15	8,3035	0,5536		
Total	19	15,7862			

CV = 3,52%

**TABELA 26B.** Análise de variância do percentual de C16:1 (ácido palmitoléico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	2,3515	0,5879	0,651	0,6347
Resíduo	15	13,5360	0,9024		
Total	19	15,8875			

CV = 24,60%

**TABELA 27B.** Análise de variância do percentual de C17:0 no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,0102	0,0026	0,660	0,6294
Resíduo	15	0,0581	0,0039		
Total	19	0,0683			

CV = 17,88%

**TABELA 28B.** Análise de variância do percentual de C17:1 no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,1009	0,0252	2,463	0,0901
Resíduo	15	0,1535	0,0102		
Total	19	0,2544			

CV = 22,48%

**TABELA 29B.** Análise de variância do percentual de C18:0 (ácido esteárico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
Dieta	4	289,1404	72,2851	8,912	0,0007
Resíduo	15	121,6660	8,1111		
Total	19	410,8064			

CV = 21,71%

**TABELA 30B.** Análise de variância do percentual de C18:1 n-9 (ácido oléico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
Dieta	4	138,4092	34,6023	16,267	0,0000
Resíduo	15	31,9062	2,1271		
Total	19	170,3154			

CV = 10,70%

**TABELA 31B.** Análise de variância do percentual de C18:2 n-6 (ácido linoléico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
Dieta	4	6,4992	1,6248	1,853	1,1713
Resíduo	15	13,1537	0,8769		
Total	19	19,6529			

CV = 7,02%



**TABELA 32B.** Análise de variância do percentual de C18:3 n-9 (ácido  $\alpha$ -linolênico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	1,1757	0,2939	1,330	0,3040
Resíduo	15	3,3141	0,2209		
Total	19	4,4898			

CV = 39,38%

**TABELA 33B.** Análise de variância do percentual de C20:1 n-9 no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,9330	0,2333	1,885	0,1655
Resíduo	15	1,8567	0,1238		
Total	19	2,7897			

CV = 25,76%

**TABELA 34B.** Análise de variância do percentual de C20:2 n-6 no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,0283	0,0071	0,355	0,8366
Resíduo	15	0,2986	0,0199		
Total	19	0,3269			

CV = 9,90%

**TABELA 35B.** Análise de variância do percentual de C20:3 n-6 no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,0834	0,0208	0,328	0,8547
Resíduo	15	0,9525	0,0635		
Total	19	1,0359			

CV = 15,56%

**TABELA 36B.** Análise de variância do percentual de C20:4 n-6 (ácido araquidônico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	10,6891	2,6723	0,839	0,5217
Resíduo	15	47,7904	3,1860		
Total	19	58,4795			

CV = 27,11%

**TABELA 37B.** Análise de variância do percentual de C20:5 n-3 (ácido eicosapentaenóico ou EPA) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	2,8929	0,7232	2,593	0,0790
Resíduo	15	4,1843	0,2789		
Total	19	7,0772			

CV = 22,29%

**TABELA 38B.** Análise de variância do percentual de C22:6 n-3 (ácido docosahexaenóico ou DHA) no músculo de tilápia nilótica (*O. niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	6,6953	1,6738	0,859	0,5103
Resíduo	15	29,2155	1,9477		
Total	19	35,9108			

CV = 26,88%

**TABELA 39B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos saturados no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	294,6812	73,6703	5,104	0,0085
Resíduo	15	216,5172	14,4344		
Total	19				

CV = 10,40%

**TABELA 40B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos monoinsaturados no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	111,0121	27,7530	8,103	0,0011
Resíduo	15	51,3741	3,4249		
Total	19	162,3862			

CV = 9,55%

**TABELA 41B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos poliinsaturados no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	12,6411	3,1603	0,354	0,8374
Resíduo	15	133,9737	8,9316		
Total	19	146,6148			

CV = 9,84%

**TABELA 42B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-3 (n-3) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	4,2024	1,0506	0,457	0,7660
Resíduo	15	34,4821	2,2988		
Total	19	38,6845			

CV = 20,50%

**TABELA 43B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-6 (n-6) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	5,9658	1,4915	0,513	0,7276
Resíduo	15	43,6453	2,9097		
Total	19	49,6111			

CV = 7,43%

**TABELA 44B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-9 (n-9) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	123,8352	30,9588	14,289	0,0001
Resíduo	15	32,4994	2,1663		
Total	19	156,3346			

CV = 9,82%

**TABELA 45B.** Análise de variância da relação entre os ácidos graxos das séries ômega-3 e ômega-6 (n-3/n-6) no músculo de tilápia nilótica (*O. niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,0064	0,0016	0,584	0,6793
Resíduo	15	0,0409	0,0027		
Total	19	0,0473			

CV = 16,30%

**TABELA 46B.** Análise de variância do percentual de C14:0 (ácido mirístico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	13,8409	3,4602	5,132	0,0028
Resíduo	30	20,2262	0,6742		
Total	34	34,0671			

CV = 44,84%

**TABELA 47B.** Análise de variância do percentual de C14:1 n-9 (ácido miristoléico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,0124	0,0031	2,459	0,0669
Resíduo	30	0,0377	0,0013		
Total	34	0,0501			

CV = 12,63%

**TABELA 48B.** Análise de variância do percentual de C16:0 (ácido palmítico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	209,3050	52,3262	6,244	0,0009
Resíduo	30	251,3961	8,3799		
Total	34	460,7011			

CV = 13,40%

**TABELA 49B.** Análise de variância do percentual de C16:1 (ácido palmitoléico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	28,2610	7,0652	4,734	0,0044
Resíduo	30	44,7769	1,4926		
Total	34	73,0379			

CV = 36,18 %

**TABELA 50B.** Análise de variância do percentual de C17:0 no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,0308	0,0077	0,695	0,6016
Resíduo	30	0,3328	0,0111		
Total	34	0,3636			

CV = 27,67%

**TABELA 51B.** Análise de variância do percentual de C17:1 no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,0588	0,0147	0,397	0,8094
Resíduo	30	0,1128	0,0371		
Total	34	1,1716			

CV = 44,41%

**TABELA 52B.** Análise de variância do percentual de C18:0 (ácido esteárico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	61,0039	15,2509	2,749	0,0464
Resíduo	30	166,4604	5,5487		
Total	34	227,4643			

CV = 27,26%

**TABELA 53B.** Análise de variância do percentual de C18:1 n-9 (ácido oléico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	39,2974	9,8243	0,755	0,5629
Resíduo	30	390,5948	13,0198		
Total	34	429,8922			

CV = 22,75%

**TABELA 54B.** Análise de variância do percentual de C18:2 n-6 (ácido linoléico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	8,6157	2,1539	1,521	0,2211
Resíduo	30	42,4756	1,4158		
Total	34	51,0913			

CV = 9,67%

**TABELA 55B.** Análise de variância do percentual de C18:3 n-3 (ácido  $\alpha$ -linolênico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	1,3331	0,3332	6,513	0,0007
Resíduo	30	1,5352	0,0512		
Total	34	2,8683			

CV = 32,81%



**TABELA 56B.** Análise de variância do percentual de C20:1 n-9 no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	1,0561	0,2640	1,288	0,2970
Resíduo	30	6,1516	0,2051		
Total	34	7,2077			

CV = 47,18%

**TABELA 57B.** Análise de variância do percentual de C20:2 n-6 no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	1,3005	0,3251	2,851	0,0409
Resíduo	30	3,4208	0,1140		
Total	34	4,7213			

CV = 26,36%

**TABELA 58B.** Análise de variância do percentual de C20:3 n-6 no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	1,7243	0,4311	3,772	0,0133
Resíduo	30	3,4282	0,1143		
Total	34	5,1525			

CV = 22,68%

**TABELA 59B.** Análise de variância do percentual de C20:4 n-6 (ácido araquidônico) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	60,0302	15,0075	6,220	0,0009
Resíduo	30	72,3844	2,4128		
Total	34	132,4146			

CV = 21,56%

**TABELA 60B.** Análise de variância do percentual de C20:5 n-3 (ácido eicosapentaenóico ou EPA) no músculo de tilápia nilótica (*O. niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	5,9089	1,4772	3,032	0,0326
Resíduo	30	14,6144	0,4871		
Total	34	20,5233			

CV = 9,66%

**TABELA 61B.** Análise de variância do percentual de C22:6 n-3 (ácido docosahexaenóico ou DHA) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	36,6982	9,1745	2,008	0,1187
Resíduo	30	137,0854	4,5695		
Total	34	173,7836			

CV = 36,21%

**TABELA 62B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos saturados no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	505,5098	126,3774	10,486	0,0000
Resíduo	30	361,5567	12,0519		
Total	34	867,0665			

CV = 10,70%

**TABELA 63B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos monoinsaturados no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	127,8804	31,9700	1,392	0,2604
Resíduo	30	688,8718	22,9624		
Total	34	816,7522			

CV = 23,17%

**TABELA 64B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos poliinsaturados no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	359,5037	89,8759	7,104	0,0004
Resíduo	30	379,5495	12,6516		
Total	34	739,0532			

CV = 11,91%

**TABELA 65B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-3 (n-3) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	56,9006	14,2251	2,321	0,0796
Resíduo	30	183,8732	6,1291		
Total	34	240,7738			

CV = 32,60%

**TABELA 66B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-6 (n-6) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	152,1214	38,0303	12,202	0,0000
Resíduo	30	93,5052	3,1168		
Total	34	245,6266			

CV = 7,93%

**TABELA 67B.** Análise de variância do percentual de ácidos graxos da série ômega-9 (n-9) no músculo de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	43,8281	10,9570	0,725	0,5815
Resíduo	30	453,0846	15,1028		
Total	34	796,9127			

CV = 23,10%

**TABELA 68B.** Análise de variância da relação entre os ácidos graxos das séries ômega-3 e ômega-6 (n-3/n-6) no músculo de tilápia nilótica (*O. niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,0460	0,0115	0,966	0,4405
Resíduo	30	0,3571	0,0119		
Total	34	0,4031			

CV = 32,36%

**TABELA 69B.** Análise de variância da atividade da enzima málica no fígado de tilápia nilótica (*O. niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,0111	0,0028	81,828	0,0000
Resíduo	15	0,0005	0,0000		
Total	19	0,0116			

CV = 11,42%

**TABELA 70B.** Análise de variância da atividade de glicose-6-P desidrogenase no fígado de tilápia nilótica (*O. niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,1333	0,0333	59,429	0,0000
Resíduo	15	0,0084	0,0006		
Total	19	0,1417			

CV = 12,29%

**TABELA 71B.** Análise de variância da atividade da enzima málica no fígado de tilápia nilótica (*O. niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,0028	0,0007	44,782	0,0000
Resíduo	15	0,0002	0,0000		
Total	19	0,0030			

CV = 11,97%

**TABELA 72B.** Análise de variância da atividade de glicose-6-P desidrogenase no fígado de tilápia nilótica (*O. niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,0945	0,0236	86,802	0,0000
Resíduo	15	0,0041	0,0003		
Total	19	0,0986			

CV = 8,39%

**TABELA 73B.** Análise de variância do percentual de umidade no músculo de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	13,5523	3,3881	0,811	0,5373
Resíduo	15	62,6485	4,1766		
Total	19	76,2008			

CV = 12,63%

**TABELA 74B.** Análise de variância do percentual de cinzas no músculo de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	0,8084	0,2021	0,609	0,6624
Resíduo	15	4,9777	0,3318		
Total	19	5,7861			

CV = 11,22%

**TABELA 75B.** Análise de variância do percentual de lipídios no músculo de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	255,8169	63,9542	178,248	0,0000
Resíduo	15	5,3819	0,3588		
Total	19	261,1988			

CV = 4,69%

**TABELA 76B.** Análise de variância do percentual de proteína no músculo de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento I.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	408,9608	102,2402	13,093	0,0001
Resíduo	15	117,1293	7,8086		
Total	19	526,0901			

CV = 5,05%

**TABELA 77B.** Análise de variância do percentual de umidade no músculo de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	43,9162	10,9791	1,619	0,1954
Resíduo	30	203,5004	6,7833		
Total	34	247,4166			

CV = 3,36%

**TABELA 78B.** Análise de variância do percentual de cinzas no músculo de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	1,5808	0,3952	0,539	0,7082
Resíduo	30	21,9981	0,7333		
Total	34	23,5789			

CV = 15,58%

**TABELA 79B.** Análise de variância do percentual de lipídios no músculo de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Dieta	4	286,8427	71,7107	61,549	0,0000
Resíduo	30	34,9528	1,1651		
Total	34	321,7955			

CV = 8,55%



**TABELA 80B.** Análise de variância do percentual de proteína no músculo de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*), em função da dieta fornecida no experimento II.

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
Dieta	4	1801,4710	450,3678	42,940	0,0000
Resíduo	30	314,6499	10,4883		
Total	34	2116,1209			

CV = 5,73%

## ANEXO C

### PROTOCOLO 1C. Ensaio cinético para determinação da atividade de enzima málica (E.C. 1.1.1.40)

Conditions: T = 25°C, pH = 7,4, A 340nm, Light path = 1 cm

Method: Continuous Spectrophotometric Rate Determination

Reagents:

- A. 100 mM Triethanolamine HCl Buffer, pH 7.4 at 25°C (Prepare 100 ml in deionized water using Triethanolamine, Hydrochloride, Adjust to pH 7.4 at 25°C with 1 M NaOH);
- B. 100 mM L-Malic Acid Solution (Malic Acid) (Prepare 5 ml in deionized water using L(-)Malic Acid, Free Acid);
- C. 20 mM b-Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, Oxidized Form, Solution (NADP) (Prepare 2 ml in deionized water using b-Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, Sodium Salt or b-Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, Sodium Salt);
- D. 20 mM Manganese Chloride Solution (MnCl<sub>2</sub>);  
(Prepare 25 ml in deionized water using Manganese Chloride, Tetrahydrate)
- E. Malic Enzyme Solution (Immediately before use, prepare a solution containing 0.25 - 0.50 unit/ml of Malic Enzyme in cold deionized water).

Enzymatic Assay:

Pipette (in milliliters) the following reagents into suitable cuvettes:

	Test	Blank
Reagent A (Buffer)	2,00	2,00
Reagent B (Malic Acid)	0,10	0,10
Reagent C (NADP)	0,05	0,05
Reagent D (MnCl <sub>2</sub> )	0,75	0,75

Mix by inversion and equilibrate to 25°C. Monitor the A340nm until constant, using a suitably thermostatted spectrophotometer. Then add:

	Test	Blank
Reagent E (Enzyme Solution)	0,10	-----
Deionized Water	-----	0,10

Immediately mix by inversion and monitor the increase in A340nm for approximately 5-10 minutes.

Obtain the DA340nm/minute using the maximum linear rate for both the Test and Blank.

Calculations:

$$\text{Units/ml enzyme} = [(\Delta A_{340\text{nm}}/\text{min Test} - \Delta A_{340\text{nm}}/\text{min Blank})(3)(\text{df})]/(6.22)(0.1)$$

3 = total volume (in milliliters) of assay

df = Dilution factor

6.22 = Millimolar extinction coefficient of b-NADPH at 340 nm

0.1 = Volume (in milliliter) of enzyme used

$$\text{Units/mg solid} = [\text{units/ml enzyme}]/\text{mg solid/ml enzyme}$$

$$\text{Units/mg protein} = [\text{units/ml enzyme}]/\text{mg protein/ml enzyme}$$

Referência: SPINA, J.; BRIGHT, H.J.; ROSENBLOOM, J. Purification and properties of L-malic enzyme from *Escherichia coli*. **Biochemistry**, v.9, p.29-39, 1966.

**PROTOCOLO 2C.** Ensaio cinético para determinação da atividade de glicose-6-P desidrogenase (E.C. 1.1.1.49)

Conditions: T = 25°C, pH = 7.4, A340nm, Light path = 1 cm

Method: Continuous Spectrophotometric Rate Determination

Reagents:

- A. 250 mM Glycylglycine Buffer pH 7,4 (Prepare 100 ml in deionized water using Glycylglycine, Free Base, adjust pH with 1 M NaOH);
- B. 60 mM D-Glucose 6-Phosphate Solution (G 6-P) (Prepare 2 ml in deionized water using D-Glucose-6-Phosphate, Monosodium Salt);
- C. 20 mM  $\beta$ -Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Solution ( $\beta$ -NADP) (Prepare 2 ml in deionized water using  $\beta$ -Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, Sodium Salt);
- D. 300 mM Magnesium Chloride Solution ( $MgCl_2$ ) (Prepare 2 ml in deionized water using Magnesium Chloride Hexahydrate);
- E. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Enzyme Solution (Immediately before use, prepare a solution containing 0.3-0.6 unit/ml of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase in cold Reagent A).

Enzymatic Assay:

Prepare a reaction cocktail by pipetting (in milliliters) the following reagents into a suitable container:

	Test	Blank
Deionized Water	2,10	2,10
Reagent A(Buffer)	0,50	0,50
Reagent B (G-6-P)	0,10	0,10
Reagent C (NADP)	0,10	0,10
Reagent D ( $MgCl_2$ )	0,10	0,10

Mix by inversion and equilibrate to 25°C. Monitor the A340nm until constant, using a suitably thermostatted spectrophotometer. Then add:

	Test	Blank
Reagent A (Buffer)	-----	0,10
Reagent E (enzyme solution)	0,10	-----

Immediately mix by inversion and monitor the increase in A340nm for approximately 5-10 minutes.

Obtain the DA340nm/minute using the maximum linear rate for both the Test and Blank.

Calculations:

$$\text{Units/ml enzyme} = [(\Delta A_{340\text{nm}}/\text{min Test} - \Delta A_{340\text{nm}}/\text{min Blank})(3)(\text{df})]/(6.22)(0.1)$$

3 = total volume (in milliliters) of assay

df = Dilution factor

6.22 = Millimolar extinction coefficient of b-NADPH at 340 nm

0.1 = Volume (in milliliter) of enzyme used

$$\text{Units/mg solid} = [\text{units/ml enzyme}]/\text{mg solid/ml enzyme}$$

$$\text{Units/mg protein} = [\text{units/ml enzyme}]/\text{mg protein/ml enzyme}$$

Referência: GRAEVE, K. Purification, characterization and cDNA sequence of glucose-6-phosphate dehydrogenase from potato (*Solanum tuberosum* L.). **Plant Journal**, v.5, n.3, p.353-361, 1994.