UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

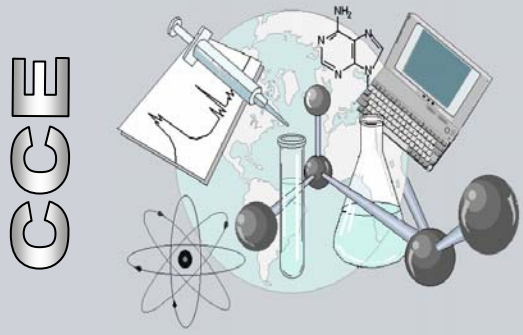
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Manipulação da composição de ácidos graxos ômega-3 e 6 em tilápias (Oreochromis niloticus) em função do tempo da dieta com óleo de linhaça

Tese apresentada por ***Ivane Benedetti Tonial*** ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Maringá como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências.



MARINGÁ, DEZEMBRO/2007

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

T665m

Tonial, Ivane Benedetti
Manipulação da composição de ácidos graxos ômega-3 e 6 em tilápias (Oreochromis niloticus) em função do tempo da dieta com óleo de linhaça / Ivane Benedetti Tonial. -- Maringá : [s.n.], 2007.
112 f. : il. color., tabs.

Orientador : Prof. Dr. Jesuí Vergílio Visentainer.
Tese (doutorado em Ciências) - Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-graduação em Química, 2007.

1. Química analítica. 2. Ômega 3 - Tilápia. 3. Óleo de linhaça - Tilápia. 4. Cromatografia gasosa. I. Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-graduação em Química.

Cdd 21.ed. 543.85

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

"Manipulação da composição de ácidos graxos ômega-3 e 6 em tilápias *(Oreochromis niloticus)* em função do tempo da dieta com óleo de linhaça"

Tese apresentada por ***Ivane Benedetti Tonial*** ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Maringá como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Dr. Jesuí Vergílio Visentainer
Co-orientador: Dr. Makoto Matsushita

MARINGÁ, DEZEMBRO/2007.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jesuí Vergílio Visentainer
(Presidente – DQI - UEM)

Prof. Dr. Makoto Matsushita
(Membro – DQI - UEM)

Prof[a]. Dr[a]. Helena Shizuko Nakatami
(Membro – DQI - UEM)

Prof. Dr. Massami Shimokomaki
(Membro – TAM - UEL)

Prof. Dr. Marcelo Alexandre Prado
(Membro – FEA - UNICAMP)

À Deus pelo norteamento da minha vida...

Aos meus pais, porque deles recebi o Dom mais precioso do universo...

... A VIDA ...

...e abriram as portas do meu futuro, iluminando o meu caminho com a luz mais brilhante que puderam encontrar .... *O ESTUDO.*

Ao meu esposo Márcio pelo incentivo e apoio.

A minha filha Gabrielly Mylena, razão primeira e meta maior de todas as minhas caminhadas.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus por permitir o dom da vida e a graça de poder desfrutá-la com gratidão, amor, esperança e responsabilidade;

Ao meu orientador Professor Dr. Jesuí Vergílio Visentainer pela oportunidade, orientação, profissionalismo, competência, objetividade, dedicação e, sobretudo amizade;

Ao professor Dr. Makoto Matsushita pela atenção, confiança, amizade, sabedoria, dedicação e auxílios prestados ao longo da realização do trabalho;

Ao professor Dr. Nilson Evelázio de Souza pelos ensinamentos, esclarecimentos, convívio e amizade;

Ao prof. Dr. Wilsom Furuya pelo desenvolvimento e fornecimento das amostras;

Aos amigos doutorandos Cristina, Ricardo, Aylei, Rubia e Juliana pelo pelos conhecimentos compartilhados;

À aluna de iniciação científica Fernanda pela ajuda e amizade;

Aos ex-companheiros de laboratório Adriana, Alberto, Walber, Roseli, Clayton e Vanessa pelos conhecimentos divididos, convívio e amizade;

Aos técnicos de laboratório Dirceu, André, Airton pela ajuda e amizade.

À UEM, especialmente ao Departamento de Química (Pós-graduação em Química), pela oportunidade;

A todos que de alguma maneira contribuíram na elaboração e execução deste projeto....

Obrigada!!!!!!!!!!!!

“De nada nos valerá o conhecimento de todas as ciências do mundo, de tudo o que está fora de nós, se não conhecermos a nós mesmos”

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi manipular a composição de ácidos graxos ômega-3 e 6 em tilápias (*Oreochromis niloticus*) que receberam dietas contendo óleo de soja e linhaça por 90 dias com a finalidade de melhorar o potencial nutritivo do filé de tilápia, principalmente em termos da composição dos ácidos graxos n-3. Ainda, as frações de lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL) foram separadas dos lipídios totais (LT) e os ácidos graxos alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3), linoléico (LA, 18:2n-6), cervônico (DHA, 22:6n-3), timnodônico (EPA, 20:5n-3) e araquidônico (AA, 20:4n-6) foram quantificados usando o éster metílico do ácido tricosanóico (23:0) como padrão interno. O experimento foi realizado em duas gaiolas metálicas, contendo 100 tilápias cada, inseridas em curso de água natural localizado no município de Guaíra-PR. Para amostragem, foram coletados sete indivíduos de cada gaiola antes do início do tratamento e a cada 15 dias até o total de 90 dias. As amostras de peixe foram abatidas, evisceradas, filetadas, acondicionadas em atmosfera de nitrogênio e congeladas. Após, as amostras foram descongeladas e trituradas para posterior análise química. As análises de umidade, cinzas e proteína bruta foram realizadas conforme os métodos recomendados pela AOAC. Os lipídios totais foram extraídos utilizando-se o método de Bligh & Dyer e a preparação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos e sua quantificação foram realizadas pelo método proposto por Joseph & Ackman. A composição de ácidos graxos nos lipídios totais, fosfolipídios e lipídios neutros, bem como a quantificação dos ácidos graxos foram realizados utilizando cromatógrafo gasoso equipado com coluna capilar de sílica fundida e detector de ionização de chama. A identificação de ácidos graxos foi feita comparando-se os tempos de retenção relativo dos picos de EMAG das amostras com os dos padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma), por co-eluição e valores do comprimento equivalente de cadeia (CEC). Foi observada considerável incorporação de gordura no tecido muscular das tilápias, principalmente nos primeiros 45 dias, enquanto os níveis de umidade, cinzas e proteína diminuíram no período, sem alteração no sabor da carne. A incorporação de ácidos graxos poliinsaturados n-3 (AGPI n-3), foi mais efetiva nos peixes que receberam ração com óleo de linhaça, melhorando vários aspectos da carne, tais como: aumento dos teores de LNA, DHA no decorrer do tratamento; aumento do somatório de AGPI n-3; redução do somatório de AGPI n-6; aumento das

razões AGPI/AGS e redução das razões n-6/n-3. Os mesmos efeitos foram observados nos conteúdos de LN e FL.

Palavras-chave: Ácidos Graxos n-3 e n-6; Tilápias (*Oreochromis niloticos*); óleo de linhaça; cromatografia gasosa.

ABSTRACT

The aim of the is work was to manipulate the composition of omega-3 and 6 fatty acids in tilapia (*Oreochromis niloticus*) that were supplied with diet containing soy and linseed oil during 90 days in order to improve the nutrition potential of Nile tilapia filet, mainly considering the n-3 fatty acid composition. In addition, the neutral lipids (NL) and phospholipids (PL) fractions were separated from the total lipids and, the alpha-linolenic (ALA, 18:3n-3), linoleic (LA, 18:2n-6), cervonic (DHA, 22:6n-3), timnodonic (EPA, 20:5n-3) and arachidonic (AA, 20:4n-6) fatty acids were quantified by using the methyl ester of tricosanoic acid (23:0) as internal standard. The experiment was carried out in two metallic cages, each containing 100 tilapias, placed into a natural water course localized in the Guaíra city - PR. Both groups were fed twice a day with ration enriched with 7 % of soybean (group I) or linseed oil (group II). Seven individuals of each cage were collected at the initial time (before the treatment onset) and each 15 days during 90 days. Fish samples were slaughtered, eviscerated, cut into filets, conditioned into nitrogen, and frozen. Then, samples were defrosted and triturated for subsequent chemical analysis. Moisture, ash and total protein were determined following the AOAC methods. Total lipids were extracted by using Bligh & Dyer's method and the preparation of fatty acid methyl esters and their quantification were carried out by using Joseph & Ackman's method. Fatty acid composition of total lipids, phospholipids and neutral lipids were quantified by using gas chromatography equipped with a capillary column of fused silica and a flame ionization detector. The identification of fatty acids was carried out by using the relative retention times of the peaks of standard of methyl ester of fatty acids (FAME) from Sigma, co-elution and equivalent chain length (ECL) values. It was observed a considerable incorporation of fat into the tilapia muscular tissue, mainly in the first 45 days, whereas the moisture, ash and protein levels decreased in the period, without alterations in the meat flavor. The polyunsaturated fatty acids n-3 (PUFA n-3) incorporation, was more effective in the fishes fed with linseed oil, improving several aspects of the meat, such as: increasing of LNA and DHA contents during treatment; increasing of PUFA n-3 sum; reduction of PUFA n-6 sum; increasing the ration PUFA/SFA (saturated fatty acids) and reducing the n-6/n-3 ratios. The same effect was observed to LN and PL contents.

Key-words: n-3 and n-6 fatty acids; Tilapias (*Oreochromis niloticos*). Linseed oil; Gas chromatography.

SUMÁRIO

RESUMO **v**

ABSTRACT **vii**

INTRODUÇÃO GERAL **01**

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **03**

CAPÍTULO I **05**

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA **05**

1.1 Situação dos Recursos Pesqueiros no Mundo e no Brasil 05

1.2 A espécie de estudo: Tilápia *(Oreochromis niloticus)* 06

1.3 A alimentação e a criação da Tilápia 07

1.4 Peixes: Fonte de ácidos Graxos Essenciais 10

1.5 O papel dos Ácidos Poliinsaturados na saúde 13

1.6 Análise de Ácidos Graxos: Cromatografia Gasosa 16

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **18**

CAPÍTULO II **28**

COMPOSIÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NOS LIPÍDIOS TOTAIS DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDAS À DIETA ENRIQUECIDA COM ÓLEO DE LINHAÇA E ANÁLISE SENSORIAL DO TECIDO MUSCULAR

1. INTRODUÇÃO **28**

2. MATERIAIS E MÉTODOS **31**

2.1 Amostragem 31

2.2 Umidade, Cinzas e Proteínas 32

2.3 Lipídios Totais 33

2.4 Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos 33

2.5 Análise Cromtográfica dos Ésteres Metílicos 33

2.6 Avaliação das Condições de Resposta do Detector 33

2.7 Quantificação dos Ácidos Graxos LNA, EPA, DHA, LA e AA 35

2.8 Análise sensorial 36

2.9 Análise Estatística 36
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 37
3.1 Composição de ácidos Graxos das Rações 37
3.2 Peso dos peixes, Lipídios Totais, Umidade, Cinzas e Proteína dos filés de Tilápias 38
3.3 Composição de Ácidos Graxos dos Lipídios Totais do Controle e tratamento com Óleo de Linhaça 40
3.4 Composição Quantitativa de Ácidos Graxos dos Lipídios Totais do Controle e tratamento com Óleo de Linhaça 46
3.5 Análise sensorial 48
4. CONCLUSÕES PARCIAIS **49**
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **49**

CAPÍTULO III **55**

ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NAS FRAÇÕES DE LIPÍDIOS NEUTROS E FOSFOLIPÍDIOS DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus)* SUBMETIDAS AO TRATAMENTO COM ÓLEO DE LINHAÇA.

1. INTRODUÇÃO **55**
2. MATERIAIS E MÉTODOS **59**
2.1 Fracionamento de Lipídios Totais em classes de Lipídios Neutros e Fosfolipídios 59
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO **59**
3.1 Composição Centesimal de Umidade, Lipídios Totais (LT), lipídios Neutros (LN) e Fosfolipídios (FL) 59
3.2 Composição em Ácidos Graxos nas frações de Lipídios Neutros (LN) e Fosfolipídios (FL) 62
4. CONCLUSÕES PARCIAIS **68**
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **69**
6. CONCLUSÃO GERAL **74**
ANEXOS **75**
ANEXO I. Métodos de análises dos teores de umidade, cinzas, proteínas bruta e Lipídios Totais**.** **76**

I.1. UMIDADE **76**

I.2. CINZA OU MINERAIS **77**

I.3. PROTEÍNA BRUTA **78**

ANEXO II. Valores de comprimento equivalente de cadeia, calculados a partir do tempo de retenção corrigido (ECL') de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de tilápias e literatura **83**

ANEXO III. Cromatogramas característicos de ésteres metílicos de ácidos graxos **85**

ANEXO IV. Gráfico representando o peso das tilápias submetidas aos tratamentos com óleo de soja e linhaça. **107**

ANEXO V. Gráfico representando o somatório de Ácidos Graxos dos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de soja. **107**

ANEXO VI. Gráfico representando o somatório de Ácidos Graxos dos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de linhaça. **108**

ANEXO VII. Gráfico representando as razões de Ácidos Graxos n-6/n-3 dos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de soja e linhaça. **108**

ANEXO VIII. Gráfico representando o percentual de Lipídios Neutros (LN) e Fosfolipídios (FL) nos lipídios Totais de filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de soja. **109**

ANEXO IX. Gráfico representando o percentual de Lipídios Neutros (LN) e Fosfolipídios (FL) nos lipídios Totais de filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de Linhaça. **109**

ANEXO X. Gráfico representando as razões AGPI/AGS e n-6/n-3 da fração de Lipídios Neutros (LN) nos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de soja. **110**

ANEXO XI. Gráfico representando as razões AGPI/AGS e n-6/n-3 da fração de Lipídios Neutros (LN) nos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de linhaça. **110**

ANEXO XII. Gráfico representando as razões AGPI/AGS e n-6/n-3 da fração de Fosfolipídios (FL) nos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de Soja. **111**

ANEXO XIII. Gráfico representando as razões AGPI/AGS e n-6/n-3 da fração de Fosfolipídios (FL) nos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de Linhaça. **111**

ANEXO XIV. Gráfico representando a concentração em mg/g de Lipídios Totais dos ácidos LNA, EPA, DHA, AA e LA em filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de Soja. **112**

ANEXO XV. Gráfico representando a concentração em mg/g de Lipídios Totais dos ácidos LNA, EPA, DHA, AA e LA em filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de Linhaça. **112**

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Valores recomendados para a razão entre os ácidos graxos n-6 e n-3 na dieta. **12**

Tabela 2. Recomendações do consumo de ácidos graxos ômega-6 e ômega-3 para Adultos **13**

Tabela 3. Composição em ingredientes básicos, ingredientes adicionados e análises químicas das rações utilizadas no experimento. **32**

Tabela 4. Fatores de correção teórico, experimental e de Erro. **34**

Tabela 5. Fatores de correção teóricos e fatores de conversão de ésteres metílicos para ácidos graxos do LNA, EPA, DHA, LA e AA. **36**

Tabela 6. Composição percentual, somatório e razões de ácidos graxos das rações utilizadas no experimento. **37**

Tabela 7. Peso dos peixes e composição química dos filés de tilápia submetidas ao tratamento com as rações I (soja). **38**

Tabela 8. Peso dos peixes e composição química dos filés de tilápia submetidas ao tratamento com as rações II (Linhaça). **39**

Tabela 9. Composição de Ácidos Graxos dos filés de tilápia submetidas ao tratamento com ração enriquecida com óleo de soja. **41**

Tabela 10. Composição de Ácidos Graxos dos filés de tilápia submetidas ao tratamento com ração enriquecida com óleo de linhaça. **42**

Tabela 11. Composição quantitativa de LNA, EPA, DHA, LA, e AA em mg/g de lipídios totais em filés de tilápias submetidas ao tratamento com ração enriquecida com óleo de soja. **46**

Tabela 12. Composição quantitativa de LNA, EPA, DHA, LA, e AA em mg/g de lipídios totais em filés de tilápias submetidas ao tratamento com ração enriquecida com óleo de linhaça. **47**

Tabela 13. Peso dos peixes, teores de umidade, lipídios totais (LT), lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL), no tecido muscular de tilápias alimentadas com ração à base de óleo de soja. **60**

Tabela 14. Peso dos peixes, teores de umidade, lipídios totais (LT), lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL), no tecido muscular de tilápias alimentadas com ração à base de óleo de linhaça. **60**

Tabela 15. Composição em Ácidos Graxos (percentagem de área relativa) nos

Lipídios Neutros do tecido muscular de tilápia (*Oreochromis niloticus)* submetida ao tratamento com ração diferenciada a base de óleo de Soja. **63**

Tabela 16. Composição em Ácidos Graxos (percentagem de área relativa) nos fosfolipídios do tecido muscular de tilápia (*Oreochromis niloticus)* submetida ao tratamento com ração diferenciada a base de óleo de Soja. **64**

Tabela 17. Composição em Ácidos Graxos (percentagem de área relativa) nos Lipídios Neutros do tecido muscular de tilápia (*Oreochromis niloticus)* submetida ao tratamento com ração diferenciada a base de óleo de Linhaça. **65**

Tabela 18. Composição em Ácidos Graxos (percentagem de área relativa) nos Fosfolipídios do tecido muscular de tilápia (*Oreochromis niloticus)* submetida ao tratamento com ração diferenciada a base de óleo de Linhaça. **66**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Competição metabólica entre as séries n-6 e n-3 **11**

Figura 2. Ficha de aplicação para Avaliação Sensorial **36**

INTRODUÇÃO GERAL

Em países do mundo todo, a cultura de peixes tem adquirido grande importância como fonte alternativa de proteína animal e também como fonte de ácidos graxos essenciais para o consumo humano. Os ácidos graxos essenciais são assim denominados por não serem biossintetizados por animais, inclusive o homem e são representados pelos ácidos linoléico (LA, 18:2n-6) e alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3), (Hornstra, 2001).

Os ácidos graxos LA e LNA são precursores dos ácidos graxos poliinsaturados n-6 e n-3 (AGPI n-6 e n-3) de cadeia mais longa, respectivamente. O LA pode ser metabolizado em outros ácidos n-6, como o ácido araquidônico (AA, 20:4n-6). O ácido LNA é metabolizado em outros da série n-3, entre eles os ácidos cervônico (DHA, 22:6n-3) e timnodônico (EPA, 20:5n-3). Este processo metabólico é mediado pelas enzimas chamadas elongases e dessaturases, as quais participam na formação dos AGPI n-6 e n-3, resultando em uma competição metabólica entre os dois grupos (Salem, 1999). Neste sentido, é recomendada a redução dos n-6 mesmo quando os n-3 são aumentados na dieta, para que o sistema cardivascular e cerebral funcionem adequadamente (Simopoulos et al., 1999).

O AA está fortemente relacionado com o desenvolvimento do cérebro e da retina durante o período gestacional e os primeiros anos de vida. Embora seja encontrado no cérebro em quantidades menores que o DHA, os fosfolipídios associados aos neurônios são altamente enriquecidos com este ácido graxo, o que tem sugerido o seu envolvimento na transmissão sináptica (Youdim et al., 2000).

O DHA atua influenciando as propriedades físicas das membranas cerebrais, as características dos seus receptores, as interações celulares e a atividade enzimática (Yehuda et al., 2002).

Os ácidos AA e EPA são precursores para biossintese de eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos) que influenciam inúmeras funções celulares que controlam mecanismos fisiológicos e patológicos no organismo (Smith, 1992; Hunter & Roberts, 2000; Visentainer et al., 2000).

Os ácidos LA e LNA estão presentes tanto em espécies vegetais como animais, especialmente os peixes empregados na alimentação humana. Entre os peixes, os de origem marinha, geralmente apresentam quantidades maiores de EPA e DHA que os peixes oriundos de águas continentais (Martin et al., 2006). Isso ocorre,

devido à expressiva quantidade desses ácidos graxos no fitoplâncton, que provê a sua distribuição ao longo da cadeia alimentar marinha.

O ácido LNA e os AGPI n-3 estão presentes em alimentos de origem animal, como peixes, sendo as suas quantidades muito dependentes da dieta a que esses animais foram submetidos (Simopoulos, 2002; Simopoulos, 2004). Porém, nos alimentos provenientes de animais, que não foram submetidos a dietas com fontes adicionais de LNA, geralmente não se observa a presença de EPA e DHA. (Martin et al., 2006).

Entre as espécies de peixes cultivadas o grupo das tilápias é o segundo em volume de produção no mundo (Naylor et al., 2000), e a terceira em geração de renda (Borghetti et al., 2003), e apresenta rusticidade ao manejo (Boscolo et al., 2002), fácil manipulação de sexo, crescimento rápido e carne de ótima qualidade (Boscolo, 2003). É uma espécie apropriada para a indústria de filetagem, tendo ampla aceitação pelo mercado consumidor pela inexistência de espinhos em forma de "Y" no seu filé (Hildsorf, 1995), tornando-se uma espécie de grande interesse para a piscicultura.

As tilápias ingerem uma grande variedade de alimentos naturais, incluindo plâncton, folhas verdes, organismos bênticos, invertebrados aquáticos, larvas de peixes, detritos e matéria orgânica em decomposição (Popma & Lovshin, 1996). No entanto, as tilápias do Nilo aceitam e desenvolvem-se bem se alimentando de ração (Meurer et al., 2002).

Pesquisas realizadas no Brasil têm demonstrado que rações comerciais apresentam baixos níveis de ácidos graxos n-3 e altos níveis de n-6 (Maia, 1992; Moreira et al., 2001). A alimentação ofertada aos peixes apresenta influência tanto na composição química como na composição de ácidos graxos da carne (Henderson & Tocher, 1987).

O óleo se linhaça, obtido a partir da semente de linho, é considerado uma das maiores fontes de LNA contendo cerca de 44,6 a 51,5%, deste ácido graxo (Wanasundara & Shahidi, 1994; Ceoto, 2000), um importante precursor de AGPI n-3 (Hendersom, 1996).

Desta forma, realizou-se um experimento com o objetivo de avaliar a manipulação da composição de ácidos graxos ômega-3 e 6 em tilápias (*Oreochromis niloticus*) em função do tempo de fornecimento de dietas com óleo de linhaça, a fim de melhorar o valor nutricional do tecido muscular, principalmente com relação à composição dos ácidos graxos n-3. Além disso, objetivou-se também, avaliar a

composição dos ácidos graxos nas frações de lipídios neutros e fosfolipídios e quantificar os ácidos LNA, EPA, DHA, LA e AA em mg/g de lipídios totais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Borghetti, N. R. B.; Ostrensky, A.; Borghetti, J. R. (2003). Aqüicultura: Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo. Curitiba: **Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais**, 128 p.

Boscolo, W. R.; Hayashi, C.; Meurer, F. (2002). Digestibilidade Aparente da Energia e Nutrientes de Alimentos Convencionais e Alternativos para a Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, 13, 539-545.

Boscolo, W. R. (2003). Farinha de resíduos da industria de filetagem de tilápia na alimentação da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus.* 83 f. **Tese** (Doutorado em zootecnia)-Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

Ceoto, B. (2000). O que é que a linhaça tem. Dentro das sementes da planta que dá origem ao linho há componentes que equilibram os hormônios femininos e reforçam as defesas do corpo. **Revista da Saúde**, 37-40.

Henderson, R. J. (1996). Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. **Archives of Animal Nutrition**, 49, 5–22.

Henderson, R. J., & Tocher, D. R. (1987). The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. Progress Lipid Research, 26, 281– 347.

Hildsorf, A. W. S. (1995). Genética e cultivo de tilápiasvermelhas, uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, 22, 73-78.

Hornstra, G. (2001). Importance of polyunsaturated fatty acids of the n-6 and n-3 families for early human development. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, 103, 379-389.

Hunter, B. J., & Roberts, D. C. K. (2000). Potential impact of the fat composition of farmed fish on human health. **Nutrition Research**, 20, 1047–1058.

Maia, E. L. (1992). Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídicos e determinação em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce. **Tese**, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

Martin, A. C.; Almeida, V. V.; Ruiz, M. R.; Visentainer, J. E. L.; Matshushita, M. Souza, N. E.; Visentainer, J. V. (2006). Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, nov/dez., Campinas, 19, 761-770.

Meurer, F.; Hayashi, C.; Boscolo, W.R.; Soares, C. M. (2002). Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.566-573,

Moreira, A. B., Visentainer, J. V., Souza, N. E., & Matsushita, M. (2001). Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian brycon freshwater fishes. **Journal of Food Composition and Analysis**, 14, 565–574.

Naylor, R. L.; Goldburg, R. J.; Primavera, J. H.; Kautsky, N.; Beveridge, M. C. M.; Clay, J.; Folke, C.; Lubchenco, J.; Mooney, H.; Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. **Nature**, London, 405, 1017-1024.

Popma, T. J.; Lovshin, L. (1996). *Wordwide Prospects for Commercial Production Of Tilápia,* Internacional Center for Aquaculture and Aquatic Environments. Auburn: Auburn University, Alabama. **Research and Development**. Series 41, 23 p.

Salem Jr., N. (1999). Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Backgrounder**, 3, 1-8.

Simopoulos, A. P., Leaf, A., Salem, N. (1999). Essentiality and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. **Annals of Nutrition and Metabolism**, 43, 127-30.

Simopoulos A. P. (2002). Omega-3 fatty acids in wild plants, nuts and seeds. Asia **Pacific Journal Clininical of Nutrition,** 11, S163-73.

Simopoulos A. P. (2004). Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. **Food Revew International,** 20, 77-90.

Smith, W. L. (1992). Prostanoid biosynthesis and mechanism of action. **American Journal Physiological and Renal Physiological,** 263, 181-91.

Visentainer, J. V., Carvalho, P. O., Ikegaki, M., & Park, Y. K. (2000). Concentracão de ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA) em peixes marinhos da costa brasileira. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, 20(1), 90–93.

Wanasundara, J. P. D., & Shahidi, F. (1994). Alkanol-ammonia-water/hexane extraction of flaxseed. **Food Chemistry**, 49, 39–44.

Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL, Mostofsky DI. (2002). The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. **Neurobiology of Aging**, 23(5):843-53.

Youndim, K. A., Martin, A. Joseph, J. A. (2000). Essential fatty acids and the brain: possible health implications. **International Journal Development**. Neurosis, 18, 383-99.

CAPÍTULO I

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 - Situação dos Recursos Pesqueiros no Mundo e no Brasil

Por duas décadas a partir de 1950, a produção mundial da pesca cresceu a uma taxa de 6% ao ano. Nesse período, a pesca mundial triplicou de produção, passando de 18 milhões de toneladas em 1950 para 56 milhões de toneladas em 1969. Nas duas décadas seguintes, de 70 e 80, a taxa média de crescimento da produção caiu para 2% ao ano, chegando a quase zero na década de 90 (FAO, 2000).

Para o ano de 2001, a produção pesqueira mundial foi mais de 49 milhões de toneladas e em 2002, a produção cresceu e alcançou 51,4 milhões de toneladas, sendo que 57,7% deste total representam o cultivo de água doce (FAO, 2003b).

Em 2004, a produção pesqueira mundial foi em torno de 140,5 milhões de toneladas, sendo que a produção proveniente da aqüicultura foi de 45,5 milhões de toneladas, onde o cultivo continental representou 26% e o marinho 74%, sendo a China o maior produtor mundial com cerca 34% da quantidade total capturada anualmente (FAO, 2006).

No Brasil, a produção de pescado no ano 2000 foi de aproximadamente 176.530 toneladas e em 2003 de 278.128 toneladas, um aumento considerável de 57%. Este aumento deve-se a grande disponibilidade de recursos hídricos de qualidade existentes no país (Bozano, 2002; Kubitza, 2003) e ao clima favorável que juntos favoreceram o desenvolvimento da aqüicultura brasileira (Lovshin, 1997). Hoje, o Brasil ocupa o 9° (nono) lugar na produção mundial de pescado (FAO, 2003a).

A região sul do Brasil tem uma importante participação na produção nacional contribuindo com 40% na produção de peixes de cativeiro, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor com 48% da produção regional (IBAMA, 2004). No Paraná, a piscicultura é uma atividade em ascensão dentro do setor agropecuário do Estado por constituir-se uma importante alternativa para a pequena propriedade, aumentando desta forma o número de pesqueiros e o consumo de peixes (Barboza de Andrade et al., 2005).

Dentre as espécies, a tilápia é considerada de grande importância na aqüicultura mundial, indicada para o cultivo intensivo, cuja produção está estimada em 1.500.000 toneladas para 2010 (Fitzsimmons, 2000). Este destaque para a produção de tilápia ocorre devido algumas características da espécie que são apreciadas pelos piscicultores, entre elas citam-se o crescimento rápido, a fácil adaptação e a rusticidade (Hayashi et al., 1999). Dentre as diversas espécies de tilápia existentes, a tilápia-do-Nilo é atualmente a mais cultivada e consumida no mundo (FAO, 2003b).

1.2 - A espécie de estudo: Tilápia *(Oreochromis niloticus)*

As tilápias são naturais da África, Israel e Jordânia e devido a seu potencial para a aqüicultura, tiveram sua distribuição expandida nos últimos cinqüenta anos. Pelo fato de ser uma espécie apropriada para a piscicultura de subsistência, nos países em desenvolvimento (Lovishin, 1997), e devido à sua importância na aqüicultura, muitos aspectos da nutrição desta espécie são estudados (Degani & Revach, 1991).

Apesar de cultivadas há vários séculos, somente entre a década de 20-50 passaram a ser cultivadas de forma intensiva e disseminaram-se por todos os continentes, inclusive na América Latina. No Brasil foram introduzidas a partir de 1952 (Tilápia do Congo, herbívora) (Ribeiro et al., 1995).

A tilápia do Nilo foi introduzida no Brasil em 1971 (Lovshin, 2000), e em 2004 apresentou produção de 69.078 toneladas, ocupando o 7° (sétimo) lugar dentre os maiores produtores mundiais (FAO, 2004). Esta se constitui o terceiro grupo de peixes de maior importância na aqüicultura mundial (Borghetti et al., 2003), sendo de fácil adaptação ao confinamento, resistente a baixa concentração de oxigênio na água, resistente a doenças (Ribeiro et al., 1995), de baixo nível trófico (onívora) e utiliza eficientemente os carboidratos da dieta (Barros et al., 2002; Pezzato et al., 2002). As tilápias destacam-se, também, em cultivos por apresentar crescimento rápido, rusticidade (Hayashi et al., 2000), fácil reprodução e a capacidade de manipulação de sexo (Hildsorf, 1995).

A carne da tilápia possui boas características organolépticas. Este peixe apresenta a carne sem espinhos intramusculares, de cor branca, textura firme, aspecto suculento e de sabor apreciável (Hildsorf, 1995). Apresenta ainda, boa aceitação no mercado consumidor, sendo a mais apropriada para a indústria de filetagem

apresentando um rendimento de 33% e a comercialização é feita quando os espécimes atingem 350g e até 1000g (Tachibana, 2002), tornando-a uma espécie de grande interesse para a piscicultura. No Brasil, segundo Castagnolli (1992) o peso comercial da tilápia está entre 400 e 500g, o que pode ser alcançado com 6 a 8 meses de criação.

1.3 - A alimentação e a criação da Tilápia

A tilápia do Nilo é uma espécie que apresenta excelente desempenho em diferentes regimes de criação. Pode ser criada desde o sistema extensivo até os mais modernos sistemas superintensivos, em tanques, viveiros, gaiolas ou tanques rede (Bacconi, 2003).

Para a criação em cativeiro, é desejável que se tenha populações de tilápias somente com machos, pois estes crescem mais rápido e alcançam peso maior que o das fêmeas e melhores índices de conversão alimentar. Por essas vantagens realiza-se a reversão sexual, que visa à transformação de fêmeas em machos fenotípicos através do uso de hormônios masculinizantes (Lovshin, 1997; Popman & Lovshin, 1996). O modo mais eficiente de administração é a adição do hormônio à ração das larvas e a 17-α-metiltestosterona é o hormônio mais utilizado (Leonhardt, 1997). Segundo Popma & Green (1990), 60 mg/kg de l7-α-metiltestosterona na dieta por períodos de 21 a 28 dias é capaz de reverter para machos 97 a l00 %, de larvas de tilápia do Nilo, com comprimento inferior a 14,0 mm.

O sistema de criação de peixes em gaiolas e tanques-rede apresenta como vantagens uma menor variação dos parâmetros físico-químicos da água durante a criação; facilidade de retirada dos peixes; menor investimento; facilidade de movimentação e relocação dos peixes; intensificação da produção; facilidade de observação dos peixes melhorando o manejo e diminuição dos custos com tratamentos de doenças (Schmittou, 1997; Bozano & Ferraz de Lima, 1994). Apresenta também algumas desvantagens, entre elas, risco de rompimento da tela da gaiola e perda de toda a produção, alteração do curso das correntes, aumento do assoreamento dos reservatórios (Masser, 1992).

Tilápias do Nilo criadas em tanques-rede ou gaiolas tem atingido produtividades que variam de 70 Kg/m^3 a 300 Kg/m^3, com uso de rações completas e gaiolas de pequeno volume (Schmittou, 1997; Lovshin, 1997).

Como o alimento é o componente mais oneroso da produção de peixes (Lutz, 1995; Boscolo et al., 2001) é importante avaliar as exigências energéticas e nutricionais das espécies, visando obtenção de animais com qualidade para a produção.

Os peixes cultivados, de modo geral, requerem proteínas, lipídios, energia, vitaminas e minerais para que possam crescer e desempenhar normalmente suas funções biológicas (Silva & Siqueira, 1997).

A nutrição tem como principal objetivo obter um rápido ganho de peso de forma economicamente viável (Ribeiro et al., 1995), assim sendo, a relação energia:proteína e a disponibilidade de nutrientes devem ser adequadas às exigências da espécie para que os peixes apresentem boas taxas de crescimento (Meurer et al., 2002; Boscolo et al., 2004).

Os óleos e gorduras são fontes energéticas facilmente encontradas no mercado e apresentam altas taxas de energia e considerável quantidade de ácidos graxos essenciais (Steffens, 1987; Meurer et al., 2002), de modo que o perfil corporal de ácidos graxos reflete o da dieta (Lee et al., 2003; Bendiksen et al., 2003; Boscolo et al., 2005). A utilização de lipídios como fonte de energia varia conforme a espécie de peixe, dependendo de seu hábito alimentar, sendo que geralmente rações para peixes carnívoros podem ter níveis mais elevados de lipídios que aquelas para onívoros e herbívoros (Wilson, 1998). Além dos níveis adequados de lipídios, é fundamental o perfil de ácidos graxos essenciais na dieta para a promoção de bom desempenho dos peixes (Sanches, 2004).

A Tilápia do Nilo é basicamente fitoplanctófaga, utilizando de forma eficiente os organismos planctônicos presentes no meio aquático. No entanto aceita bem os alimentos artificiais nas diferentes formas, farelada, peletizada e extrusada, com bom resultado no desempenho, sendo a forma extrusada mais ultilizada para peixes juvenis e adultos (Kubitza, 1997; Booth et al., 2000).

As tilápias não utilizam eficientemente o lipídio como fonte de energia (El-Dahhar & El-Shazly, 1993), também, não utilizam a energia suplementar proveniente do lipídio (acima de 5% na ração), para o crescimento (Chou & Shiau, 1996; Meurer et al., 2002), aumentando, desta forma, a deposição de gordura corporal. Por outro lado, na alimentação para peixes de clima quente é indicado a inclusão de um teor lipídico que pode variar de 5 a 10% (Wilson, 1998). No entanto, pesquisadores (Chou & Shiau, 1996), encontraram o valor de 12% de lipídios na ração como nível de melhor ganho de peso para tilápias juvenis.

Em sistemas comerciais de criação de tilápias, nos quais o alimento natural é restrito, é absolutamente necessário utilizar rações completas de alta qualidade (Bacconi, 2003). As proteínas de origem vegetal utilizadas na composição de rações comerciais são mais baratas que aquelas de origem animal (Fitzsimmons, 2000). Por outro lado, as fontes protéicas dietéticas de origem animal, mesmo que em menores percentagens, garantem e melhoram o valor nutritivo das dietas (Pezzato, 2002).

Nas rações convencionais, utilizam-se como ingrediente tanto os constituintes de origem vegetal (farelos, óleos, etc.) como os de origem animal, farinhas de carne, de sangue, de ossos, etc. (Ribeiro et al., 1995). Rações formuladas com estes ingredientes possivelmente apresentam elevado teor do ácido LA e baixo teor de LNA, que pode até ser inexistente (Visentainer, 2003). Em estudos feitos por Maia (1992) e Moreira et al., (2001), sobre a composição de ácidos graxos em rações para peixes, foram encontrados elevados valores de LA e baixos valores de LNA, sendo que os demais ácidos graxos da série n-3 foram encontrados com baixos teores ou não foram detectados.

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

Estudos realizados com peixes de água doce (cativeiro e habitat natural) mostraram que a carne dos peixes de habitat natural (alimentados com alimentos do meio) apresentaram melhor potencial nutritivo do que os peixes cultivados (alimentados com ração) (Inhamus & Franco, 2001; Silva, 2000; Oliveira, 2000).

Tanto nas espécies marinhas como nas de água doce os requerimentos de ácidos graxos essenciais para essas espécies encontram-se entre 0,5% e 2% da dieta (Lee et al., 2003).

Para peixes de água doce, a ração é a principal fonte de alimento utilizada nos cultivos. O fornecimento de lipídios, fonte de energia em dietas para peixes melhora a conversão alimentar (Martinho et al., 2002), possui custo acessível e alto nível energético (Jauncey, 2000), também pode influenciar o consumo de alimento (Lee et al., 2003; Boscolo et al., 2005) e melhorar a digestibilidade de alimentos vegetais (Bellal & Assem, 1995).

Os óleos de origem vegetal são boas fontes de energia para peixes de clima tropical (Wilson, 1995). Hayashi et al. (2000) concluíram que os óleos de soja, canola, girassol, arroz, milho e linhaça, proporcionaram desempenho equivalente para alevinos de tilápia do Nilo.

A linhaça é uma das sementes oleaginosas tradicionais, devido não só, a utilização de suas fibras em produtos têxteis, mas, também pela obtenção de óleo com propriedades secantes devido ao alto teor de ácido alfa-linolênico e pelas tortas obtidas que podem ser utilizadas para balanceamento de ração animal (Turatti, 2000).

A produção mundial se encontra entre 2.3 e 2.5 milhões de toneladas anuais, sendo o Canadá o principal produtor. Na América do Sul, o maior produtor é a Argentina, com cerca de 80 ton/ano. O Brasil apresenta uma baixa produção, cerca de 21 ton/ano (Aceites & Grasas, 2000).

A semente de linho além de ser produzida no Brasil, possui uma variação aproximada de 32 a 38% de óleo, o qual apresenta uma média de 44,6 a 51,5% de ácido alfa-linolênico, constituindo uma das maiores fontes desse ácido (Ceotto, 2000; Carter, 1993).

Particularmente os peixes de água doce apresentam enzimas capazes de dessaturar e alongar os ácidos LNA (precursor da série n-3) e LA (precursor da série n-6) em outros ácidos graxos. Portanto, ministrando para estes peixes alimentos com o LNA, serão produzidos ácidos graxos da série n-3 de importante valor nutricional como EPA e DHA. Por outro lado, o fornecimento de LA, produzirá ácidos graxos de série n-6 (Visentainer, 2003).

1.4 - Peixes: Fonte de ácidos Graxos Essenciais

As duas séries de ácidos graxos poliinsaturados considerados essenciais: a série ômega-6 e a série ômega-3 são sintetizadas pelos vegetais, porém, os animais, inclusive o homem, não possuem esta capacidade, tornando necessária a sua obtenção através da dieta (Badolato et al., 1994; Hornstra, 2001).

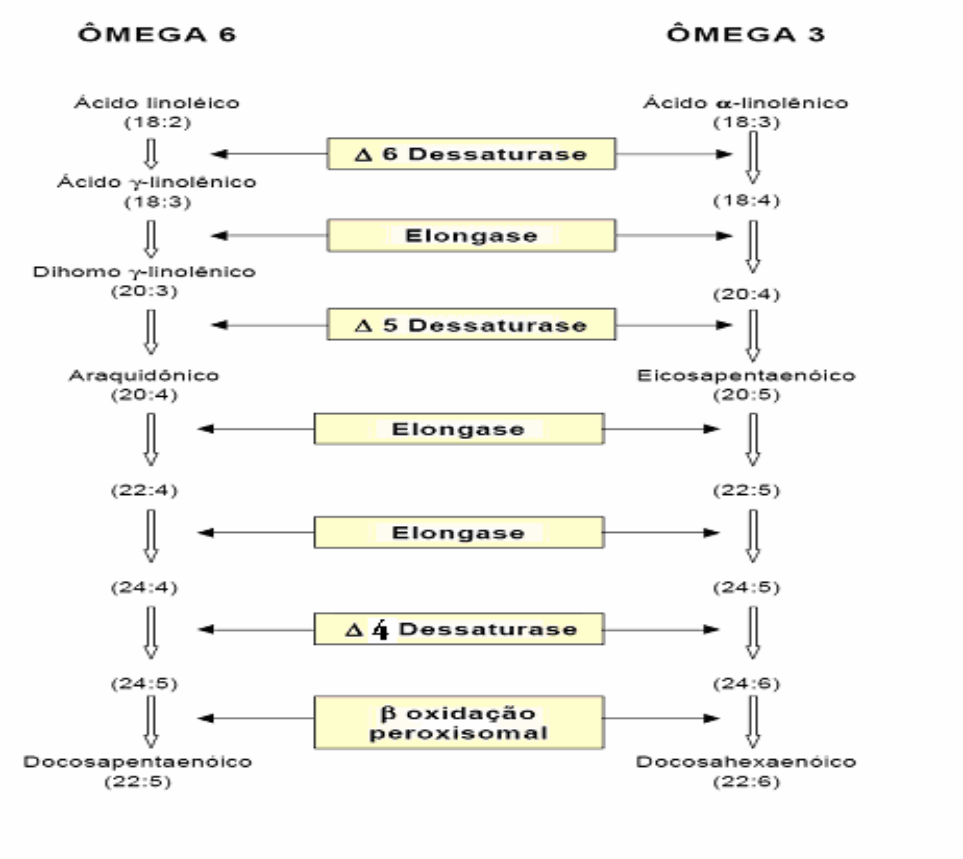
Os ácidos graxos da série ômega-3 (n-3) são denominações utilizadas para os ácidos graxos poliinsaturados que possuem a primeira dupla ligação na posição 3 (contando-se a partir do grupo metil terminal). Seu principal representante é o ácido alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3). Os ácidos graxos da série ômega-6 (n-6) tem sua

primeira dupla ligação entre o sexto e sétimo átomo de carbono (Turatti, 2000), sendo seu principal representante o ácidos linoléico (LA, 18:2n-6).

Os animais, incluindo o homem e os peixes, diferentemente dos vegetais não estão habilitados para formar os ácidos linoléico (18:2n-6) e alfa-linolêncio (18:3n-3) a partir do ácido oléico (18:1n-9) (González & Silva, 2003), isso porque não possuem as enzimas Δ12 e Δ15 dessaturase. Em conseqüência disto, devem obter estes ácidos da dieta e endogenamente sintetizar pelo processo de elongação e dessaturação os ácidos graxos de cadeia longa (mais de 20 átomos de carbono) pertencentes à série (Innis, 2003).

O LA e o LNA competem metabolicamente pelas mesmas enzimas (elongase e dessaturase) para biossíntese de outros AGPI n-3 e n-6 (Cho et al., 1999; Salem, 1999), (**Figura 1).** A enzima Δ6 dessaturase tem uma maior preferência pelo LNA (Fagundes, 2002), porém, a disponibilidade do LA em maior quantidade reverte esta preferência para si (Hornstra, 2001; Madsem et al., 1999). Portanto, é necessário um equilíbrio entre o aporte dos dois ácidos graxos através da dieta.

Figura 1. Competição metabólica entre as séries n-6 e n-3.



Fonte: Salem (1999).

Um balanço da proporção de n-6/n-3 na dieta é essencial no metabolismo do organismo humano, levando a prevenção de doenças cardiovasculares, degenerativas e também a uma melhor saúde mental (Simopoulos, 2000). Assim, no informe de um comitê internacional de Especialistas realizado em Maryland (1999), Simopoulos et. al., (1999), destacam uma recomendação na importância de reduzir os AGPI n-6 na dieta de adultos e recém-nascidos visando a saúde, funcionamento mental e cardiovascular adequados. Portanto, acrescentando na dieta AGPI ômega-3 e diminuindo certos óleos vegetais com alto conteúdo de LA, pode se obter uma melhora na proporção n-6/n-3 (Harris, 1999).

Neste sentido, alguns autores e órgão de saúde, em diferentes países, recomendam as melhores razões para n-6/n-3, para ingestão alimentar como mostra a **Tabela 1**.

Tabela 1. Valores recomendados para a razão entre os ácidos graxos n-6 e n-3 na dieta.

País ou Instituição	n-6/n-3	Referências
Canadá	4:1 – 10:1	Scientific Review Committe (1990)
EUA	2:1 – 3:1	Simopoulos, (1999)
EUA	4:1	Schaefer, (2002)
França	5:1	Chardgny et al., (2001)
Japão	2:1 – 4:1	Kris-Etherton et al., (2000).
Suécia	5:1	Nordic Council of Ministers, (1996).
WHO/FAO	5:1 – 10:1	World Health Organization/Food and Agriculture, (1995)

Fonte: Martin et al., (2006).

As razões de 2:1 a 3:1 tem sido recomendado por alguns autores, por possibilitar uma maior conversão do ácido LNA em DHA, que alcança o seu valor máximo em torno de 2,3:1 (Masters, 1996). Por outro lado, dietas baseadas em razões n-6/n-3 inferiores a 1:1 não são recomendadas, por inibirem a transformação do ácido linoléico em ácidos graxos poliinsaturados de cadeia muito longa (AGPI-CML), (Martin et al., 2006).

Simopoulos et al., (1999), sugere ainda, a ingestão diária em gramas para os ácidos LA, LNA, EPA, DHA e AA (**Tabela 2**).

Tabela 2. Recomendações do consumo de ácidos graxos ômega-6 e ômega-3 para adultos.

	Consumo Adequado Adultos
Ácido Graxo	**Gramas/dia (dieta de 2.000Kcal)**
LA	4,44
LNA	2,22
DHA	Mínimo: 0,22
EPA	Mínimo: 0,22
DHA+EPA	0,65
AA	-

Fonte: Simopoulos, et al., (1999).

As recomendações citadas são para indivíduos adultos e foram baseados numa dieta de 2000Kcal. No entanto, durante a gravidez e fase de amamentação é sugerida uma ingestão de 300mg/dia de DHA. (Gómez, 2003).

A relação entre as séries de ácidos graxos n-6 e n-3 em peixes marinhos localiza-se entre 0,21 e 0,07, enquanto que em peixes de água doce esta relação é maior, oscilando entre 2,00 e 0,26 (Steffens, 1997). Este fato deve-se fundamentalmente a diferença na dieta; enquanto peixes marinhos possuem organismos fitoplantónicos ricos em ácidos graxos da série n-3 na base de sua cadeioa trófica (Olsen, 1998) os segundos se alimentam fundamentalmente de zooplancton, insetos e crutáceos com altos níveis da série n-6 (Bell et al*.,* 2003).

Assim sendo, a investigação da composição química, particularmente com relação à composição de ácidos graxos no conteúdo lipídico de peixes, tem sido freqüentemente objetivada pela comunidade científica mundial, por estar relacionada à saúde humana (Uauy & Valenzula, 2000; Hunter et al., 2000; Harris, 1999).

1.5 - O papel dos Ácidos Poliinsaturados na saúde

Estudos antropológicos têm mostrado que a mudança da dieta durante a evolução do homem passou de uma relação de ácidos graxos n-6/n-3 de 2/1 para uma relação de 10 a 20/1 na chamada dieta urbana ocidental (Lajolo, 2002).

A essencialidade dos AGPI, descrita pela primeira vez em 1929 e confirmada por inúmeros trabalhos de investigação, decorre da impossibilidade dos animais sintetizarem estes ácidos graxos a partir de precursores mais simples. Dessa forma, o consumo inadequado em quantidade e qualidade de ácidos graxos essenciais (AGE)

na dieta conduz à transformação do crescimento, modificação da pele, alterações imunológicas, neurológicas e de conduta (Valenzuela, 2001).

O desequilíbrio na ingestão de AGPI n-6 para n-3, constitui preocupação nutricional de saúde. Os esforços concentram-se para alcançar relação conforme as recomendadas pela World Health Organization (WHO, 2003) que pode variar de 5:1 até 10:1 para n-6/n-3. Assim, os ácidos graxos essenciais são utilizados em diversos países para a prevenção e tratamento de diversos distúrbios na saúde humana, estão sendo empregados em suplementos nutricionais, alimentos medicinais e funcionais e sua indicação tem sido cada vez mais freqüente (Pacchioni, 1999).

Os ácidos graxos n-6 e n-3 influenciam no metabolismo dos eicosanóides, na expressão genética e na comunicação intercelular. A composição dos AGPI das membranas celulares depende, em grande dimensão, da quantidade ingerida. Neste sentido, é importante considerar as recomendações das quantidades apropriadas para o consumo diário destes ácidos graxos, bem como o balanço da proporção de n-6/n-3 que é essencial no metabolismo humano, levando a prevenção de doenças cardivasculares e crônicas degenerativas e também a uma melhor saúde mental (Simopoulos, 2000).

O ácido LA, é precursor do ácido araquidônico (AA, 20:4n-6), um ácido graxo importante no crescimento fetal, participando juntamente com o DHA no desenvolvimento do cérebro e da retina (Schmidt, 2000; Innis, 2003; Lima et al., 2004).

O ácido LNA é o precursor dos ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 (n-3) de cadeia longa gerados por alongamento e dessaturação da cadeia carbônica. Dentre estes ácidos graxos, estão os ácidos eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e docosaexaenóico (DHA, 22:6n-3) que tem recebido atenção especial por estarem diretamente envolvidos na redução de fatores de riscos associados a doenças cardivasculares (Von Schacky, 2000; Haglund et al., 1998), psoriase (Mayser et al., 1998), depressão, depressão pós-parto, diabetes (Horrocks & Yeo, 1999; Sanderson et al., 2002; Fagundes, 2003), artrite (Ewin, 1997) e câncer (Kimura et al., 2001). Além disso, o EPA é precursor das prostaglandinas, que protegem o organismo de inflamação, evita agregação plaquetária e possuem efeitos a nível vascular sobre as ações antitrombóticas e antiinflamatória (Schmidt, 2000). Pesquisas revelam a necessidade do DHA para as membranas biológicas, desenvolvimento do sistema nervoso (porção fosfolipídica das células receptoras), retina (Schmidt, 2000), e ainda como precursor de eicosanóides (Turatti, 2000). Durante o crescimento do cérebro, há

uma grande incorporação deste ácido que parece ter um papel importante no funcionamento da membrana do sistema nervoso central (Lauritzen et al., 2001). A diminuição dos níveis desse ácido graxo está associada, em recém-nascidos, com anormalidades no desenvolvimento do sistema visual, e em adultos, com a diminuição da acuidade visual (SanGiovanni & Chew, 2005).

Os peixes são um importante constituinte da dieta humana de inúmeros grupos populacionais, já que são fonte de diversos componentes, com significativo valor nutricional, como proteínas de alta qualidade, vitaminas, sais minerais e lipídios, além de serem a maior reserva de ácidos graxos poliinsaturados (Belda & Pourchet-Campos, 1991; Minazzi-Rodrigues & Penteado, 1991; Badolato et al., 1994).

O óleo de pescado, apresentando alto teor de AGPI n-3 aproximadamente 30%, sendo 18% de EPA e 12% de DHA (Pacchioni, 1999), tem conferido a esses óleos uma notável importância e sugerem seu emprego para propósitos farmacêuticos.

Diante da insuficiência de dados experimentais sobre efeitos benéficos e colaterais devidos a ingestão dos ácidos graxos n-3, o ¨Food and Drug Administration¨ (FDA) proibiu a comercialização de óleos de peixe como medicamento nos Estados Unidos, enquadrando-os na categoria de suplemento alimentar (Badolato et al., 1991).

No Brasil, há oferta no comércio de suplementos alimentares a base de óleo de peixe, contendo EPA e DHA encapsulados. O óleo, geralmente da sardinha, é importado da Inglaterra e submetido ao encapsulamento no Brasil. A fórmula convencional garante que o produto contém 180mg de EPA e 120 mg de DHA por grama. (Badolato et al., 1991).

Diversos estudos têm oferecido forte evidência que um aumento no consumo de ácidos graxos n-3, diminui substancialmente o risco de problemas cardiovasculares (Hu et al., 2001).

Neste efeito benéfico dos AGPI n-3, a linhaça, oleaginosa tradicional, rica fonte de LNA pode, também ser recomendada e incorporada numa dieta saudável (Connor, 1999; Turatti, 2000). Na atualidade, há um grande interesse em promover um maior consumo de linhaça através da dieta pelo seu potencial benéfico na saúde, especificamente por seu efeito anticarcinogênico (Bennett,1998; Thompson, 1996) e antiaterogênico (Prasad, 1997; Prasad et al., 1998), vinculados ao conteúdo de ácidos graxos n-3 (Yuan et al., 1999). Além disso, os altos teores de LNA, da fibra solúvel e dos constituintes não protéicos presentes na semente da linhaça, podem atuar na

redução de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), as quais são um fator de risco de doenças cardiovasculares (Arjmandi et al., 1998).

Atualmente a linhaça é usada como componente de mistura de cereais matinais e também em rações, de forma que os produtos para consumo humano como a carne, ovos, leite, possam estar enriquecidos com ácidos graxos n-3. Na área de cosméticos, o óleo de linhaça é empregado em tratamentos dermatológicos (eczemas, acne, pele seca), além de ser usado na formulação de sabonetes líquidos (Turatti, 2000).

O mercado de produtos naturais oferece o óleo de linhaça prensado a frio, encapsulado. Além disso, existe o uso medicinal da semente de linhaça em distúrbios gástricos, indigestão, úlceras duodenais e atua também como laxante suave (Turatti, 2000).

1.6 - Análise de Ácidos Graxos: Cromatografia Gasosa

As análises de ácidos graxos podem ser realizadas em cromatografia de camada delgada (CCD), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e por cromatografia gasosa. A cromatografia gasosa (CG) ocupa um lugar de destaque entre os métodos de análise de ácidos graxos devido à facilidade em efetuar a separação, identificação e a quantificação dos ácidos graxos (Jeyashoke et al., 1998; Seppänen-Laakso et al., 2002).

A cromatografia gasosa é uma ferramenta analítica amplamente utilizada para análise de ácidos graxos em óleos, gorduras e tecidos animais. No entanto, são necessárias duas etapas de preparo da amostra: uma de extração dos lipídios totais dos tecidos vegetais ou animais e outra de esterificação dos ácidos a fim de aumentar a volatilidade dessas substâncias. A maneira mais usada para aumentar a volatilidade é converter os ácidos graxos em derivados de ésteres metílicos (Eder, 1995; Ulberth & Schrammel, 1995; Jeyashoke et al., 1998; Seppänen-Laakso et al., 2002).

Em cromatografia gasosa, geralmente são utilizadas colunas capilares de 50 a 100 m de comprimento para que o número de pratos teóricos seja suficiente para promover resolução cromatográfica adequada para separar misturas complexas de ésteres metílicos de ácidos graxos, permitindo a aplicação da técnica analítica em análises de rotina em laboratórios de cromatografia (Ackman, 1972). A separação dos ésteres metílicos de ácidos graxos pode ser realizada em três diferentes tipos de

coluna, com fase estacionária apolar, polar e muito polar (Christie, 1989). No entanto, para análise de alimentos as colunas, polar e muito polar são as mais utilizadas porque evitam a co-eluição dos ésteres metílicos de ácidos graxos polinsaturados.

Nas análises de compostos orgânicos, o detector de ionização de chama (DIC) é o mais conveniente e usado para detecção de compostos orgânicos, em especial para análise de alimentos devido à quantidade mínima detectável (10^{-12}g), resposta quase universal, faixa de linearidade e resposta rápida. Apesar de responder a propriedades do soluto, este é sensível ao fluxo de massa que passa por ele. No entanto, a resposta do detector de ionização de chama é diferencial, ou seja, a magnitude do sinal é proporcional ao número de carbono ativo, logo ésteres metílicos com diferentes cadeias carbônicas apresentarão diferentes respostas no do detector de ionização de chama (Collins et al., 2006; Visentainer & Bueno Franco, 2006).

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação e não de identificação, necessita-se, portanto, de algumas técnicas de identificação dos compostos. Entre as técnicas comumente utilizadas, cita-se o tempo de retenção que não é conclusivo, pois componentes diferentes podem ter o mesmo tempo de retenção (Mc Nair & Bonelli, 1968; Ettre, 1964; Visentainer & Bueno Franco, 2006). A co-eluição (*spiking*) é outra técnica utilizada, onde se adiciona uma quantidade de padrão na amostra e depois verifica-se o aumento do pico. Se o pico aumentar o presuntivo é positivo. Porém, este método também não é conclusivo necessitando de outras técnicas de identificação mais precisas (Christie, 1994). O Comprimento Equivalente de Cadeia (ECL-Equivalente Chain Lenght), é uma técnica que se destaca e apesar de não ser conclusivo é uma metodologia auxiliar importante na identificação. Esta técnica baseia-se nos princípios do índice de retenção de Kovats. Este método baseia-se numa relação linear entre o log do tempo de retenção corrigido (log tr') de derivados de metil ésteres de uma série homologa de ácidos graxos saturados e o número de átomos de carbono de uma série homóloga destes metil ésteres (Christie, 1994; Visentainer & Bueno Franco, 2006). Os índices de Kovats são definidos para separação cromatográfica isotérmica (Mc Nair & Bonelli, 1968; Bannon et al., 1988). Nos cálculos de ECL recomenda-se utilizar o tempo de retenção corrigido, pois, os resultados são mais reprodutíveis (Bannon et al., 1988; Visentainer & Bueno Franco, 2006).

Na análise por cromatografia gasosa equipado com do detector de ionização de chama, o método da normalização é muito utilizado, porém, apresenta limitações como: a necessidade de eluição e detecção de todos os componentes injetados, o que nem

sempre ocorre devido à discriminação ou retenção irreversível de algum componente e a consideração de que a resposta do detector de ionização de chama apresenta resposta diferencial. O uso de adição de um padrão interno tem sido muito empregado na análise de ácidos graxos, pois possibilita expressar os resultados em massa. Este método é menos sensível a erros, uma vez que o padrão interno e a amostra são injetados juntos e, através da utilização de fatores de correção é possível expressar os resultados em massa de ácidos graxos e não de ésteres metílicos de ácidos graxos (Ackman & Sipos, 1964; Visentainer & Bueno Franco, 2006). O padrão interno a ser empregado na quantificação dos ácidos graxos deve apresentar alguns requisitos básicos como: não estar presente na amostra, ter alto grau de pureza, estabilidade, ser acessível, de baixo custo, eluir separadamente e próximo dos componentes da amostra entre outros (Eder, 1995; Brondz, 2002).

Para uma identificação mais precisa pode-se, ainda, utilizar a cromatografia gasosa associada a um espectrômetro de massa, que fornece abundância relativa dos íons individuias com cargas diferentes massa/carga geradas por um composto em condições específicas, porém, este equipamento tem custo elevado e nem sempre é disponível nos laboratórios.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aceites & Grasas (2000). Lino, uma oleaginosa com historia. Aceites & Grasas, 38, 59-72. Apud: TURATTI, J. M. Óleos vegetais como fonte de alimento funcionais. **Óleos e Grãos**, São Caetano do Sul, 56, 20-27.

Ackman, R.G. & Sipos, J.C. (1964). Application of specific response factors in the gas chromatography analysis of methyl esters of fatty acids with flame ionozation detectors. **Journal American Oil Chemical Society**, 41, 377-378.

Ackman, R.G. (1972). The analysis of fatty acids and related materials by gas-liquid chromatography. **Progress in the Chemistry of fats and other lipids**, 167-269.

Arjmandi, B.H.; Khan, D.A.; Juma, S.; Drum, M.L.; Venkatesh, S.; Sohn, E.; Wei, L.; Derman, R. (1998). Whole flaxseed consumption lowers serumLDL - cholestero and lipoprotein concentrations in postmenopausal women. **Nutrition Research**, New York, 18, 1203-1214.

Bacconi, D.F. (2003). Exigência Nutricional de vitamina A para alevino de tilápia do Nilo *(Oreochromis niloticus)*. **Dissertação de Mestrado** – Universidade de São Paulo. Piracicaba/SP.

Badolato, E.S.G.; Carvalho, J.B.; Tavares, M.; Aued-Pimentel, S. (1991). Determination of eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA)acids in Brazilian Sardine

(*Sardinella brasiliensis)* oil and in ecapsulated sardine oil supplements. In: **International Meeting on Fats Oils Technology.** Proceeding. 189-192.

Badolato, E.S.G.; Carvalho, J.B.; Amaral Mello, M.R.P.; Aued-Pimentel, S. (1994). Composição centesimal de ácidos graxos e valor calórico de cinco espécies de peixes marinhos nas diferentes estações do ano. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 54, v.1, 27-35.

Bannon, C.D.; Craske, J.D.; Norman, L.M. (1988). Effect of overloaded of capillary gas-liquid chromatographic columns ont the equivalent chain lengths of C18 unsaturated fatty acid methyl esters. **Journal of Chromatography**, 44, 392-396.

Barboza de Andrade, R.L.; Wagner, R.L.; Mahl I.; Martins, R.S. (2005). Custos de produção de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em um modelo de propriedade da região oeste do Estado do Paraná, Brasil, **Ciência Rural**, 35, Santa Maria Jan./Feb.

Barros, M.M.; Pezzato, L.E.; Kleemann, G.K.; Hisano, H.; Rosa, G.J.M. (2002). Níveis de vitamina C e ferro para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia,** 31, 3447-3455.

Belda, M.C.R. & Pouchet-Campos, M.A., (1991). Ácidos Graxos essenciais em nutrição: Uma visão atualizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v. 11, n.1, p. 5-35.

Bellal, J.E.H. & Assem, H. (1995). Substution of soybean meal and oil for fish meal in pratical diets fed to channel catfish, *Ictalurus punctatus* (rafinesque): effects on body composition. **Aquaculture Research**, 26, 141-145.

Bell, J.G.; Tocher, D.R.; Henderson, R.J.; Dick, J.R.; Crampton, V.O. (2003). Altered fatty acid compositions in Atlantic salmon *(Salmo salar)* fed diets containing linseed and rapeseed oil can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet. **Journal Nutrition,** Philadelphia, v.133, p.2793-2801.

Bennett, M. (1998). The flaxseed revolution: natur´s sourse of omega-3, ligninas e fibra. Califórnia: Optimal Healthspan Publications, 88p.

Bendikesen, E.A.; Arnesen, A.M.; Jobing, M. (2003). Effects of dietary fatty acid profile and fat content on smolting and seawater performance in Atlantic salmon (*Salmo salar, L.).* **Aquaculture,** 225, 149-163.

Booth, M.A.; Allan, G.L.; Warner-Smith, R. (2000). Effects of grinding, steam conditioning and extrusion of a practical diet on digestibility and weight gain of silver perch, *Bidyanus bidyanus*. **Aquaculture**, 182, 287-299.

Borghetti, N.R.B.; Ostrensky, A.; Borghetti, J.R. (2003). **Aqüicultura**: uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo. Curitiba: Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais, 128p.

Boscolo, W.R.; Hayashi, C.; Meurer, F., Feidem, A., Bom Bardelli, R.A., (2004). Digestibilidade aparente da energia e proteína das farinhas de resíduo da filetagem da tilápia do Nilo *(Oreochromis niloticus)* e da corvina *(Plagioscion squamosissimus)*

e farinha integral do camarão canela *(Macrobrachium amazonicum)* para tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia,** 33, 8-13.

Boscolo, W.R.; Signor, A.; Feiden, A. Bombardelli, R.A., Signor, A.A., Reidel, A. (2005). Energia digestível para larvas de tilápia-do-nilo *Oreochromis niloticus* na fase de reversão sexual. **Revista Brasileira de zootecnia**, 34, 1813-1818.

Boscolo, W.R.; Hayashi, C.; Soares, C.M.; furuya, W.M.; Meurer, F. (2001). Desempenho e características de carcaça de machos revertidis de tilápias do Nilo*(Oreochromis niloticus)*, linhagens tailandesas e comuns, nas fases iniciais e de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 30, 1391-1396.

Bozano, G.L.N. & Ferraz de Lima, J.A. (1994). Avaliação do crescimento do pacu (*Piaractua mesopotamicus)* Holmbeg, 1887, em gaiolas com diferentes espaços de confinamento. In: **Simpósio Brasileiro de Aquacultura**, 8; Piracicaba. RESUMOS. Piracicaba; Fealq. 4p.

Bozano, G.L.N. (2002). Viabilidade técnica da criação de peixes em tanques rede. **In: Simpósio Brasileiro de Aqüicultura,** 12.2002, Goiânia: ABRAq. 107-111.

Brondz, I. (2002). Development of fatty acid analysis by high-performance liquid chromatography, gas chromatography, and related techniques. **Analytica Chimica Acta,** 465, 1-37.

Carter, J.F. (1993). Potencial of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. **Cereal Food World**, v.38, p. 753-59.

Castagnolli, N. (1992). **Piscicultura de água doce***.* Jaboticabal: FUNEP, 189 p.

Ceotto, B. (2000). O que é que a linhaça tem. Dentro das sementes da planta que dá origem ao linho há componentes que equilibram os hormônios femininos e reforçam as defesas do corpo. **Revista da Saúde**, p.37-40.

Cho, H.P.; Nakamura, M.T.; Clarke, S.D. (1999). Cloning, expression and nutritional regulation of the mammalian delta-6 dessaturase. **Journal Biological Chemistry,** Bethesda, 274, 471-477.

Chou, B.S. & Shiau, S.Y. (1996). Optinal dietary lipid level for growth of juvenile hibrid tilápia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis niloticus aureus*. **Aquaculture**, v.143, n.2, p.185-195.

Christie, W.W. (1989). **Gas chromatography and Lipids***: A practical guide*. Dundee: The oily Press Ltd.

Christie, W.W. (1994). Gas chromatography and lipids – A pratical guide, 1 Ed. **The oil press Ltda Dundee** – Scotland, 307.

Collins, C.H.; Braga, G.L. & Bonato, P.S. (2006). Fundamentos de Cromatografia. Campinas-SP: Editora Unicamp.

Connor, W.E. (1999). A-linolenic acid in health and disease. Am. **Journal Clinical and Nutrition,** Bethesda, 69, 827-828.

Degani, G. & Revach, A. (1991). Digestive capabilities of three commensal fish species: carp, *Cyprinus carpio* L., tilapia, *Oreochromis aureus X O. niloticus,* and African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchel 1822). **Aquaculture Fish Management**, v.22, p.397-403.

Eder, K. (1995). Gas chromatography analysis of fatty acid methyl esters. **Journal of chromatography** B, 671, 113-131.

El-Danhhar, A.A. & El-Shazly, K. (1993). Effsct of essential amino acids (methionine and lysine) and treated oil in fish diet on growth performace and feed utilization of Nile tilapia, *Tilapia nilotica* (L.) **Aquaculture and Fishieries Managenent**, v.24, n.6, p.731-739.

Ettre, L. S., (1964). **Analytical Chemistry**, 36, 31 A.

Ewin, J. (1997). O Lado Sadio das Gorduras. Trad. De Ana Beatriz Rodrigues. Editora Campus Ltda, Rio de Janeiro, 162p.

Fagundes, L.A. (2002). Ômega-3 & Ômega-6: o equilíbrio dos ácidos gordurosos essenciais na prevenção de doenças. Porto Alegre: **Fundação de Radioterapia do Rio Grande do Sul**, p.111.

Fagundes, L.A. (2003). **Guia de alimentação natural**: alimentos que nos ajudam a viver melhor. Poo Alegre. 133p.

FAO. (2000) – **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Estatísticas da Pesca, Roma, 91, 141p.

FAO. (2003a) **– Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disposition of world fishery production, disponível:
http://ftp.fao.org/fi/stat/overview/overview.pdf. Acessado m outubro de 2006.

FAO (2006). **Fisheries Resources: Trends in production, utilization and trade.** World review of Fisheries and aquaculture. Disponível em:
http://www.fao.org/docrep/009/A0699e/A0699e00.htm. Acesso em:16/10/2004.

FAO. (2003b) – **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Feeding pigs in the tropics. FAO Animal Production and Health, n.132 http://ftp.fao.org.. Acessado em outubro de 2006.

FAO (2004). **Fisheries Circular C100.** Global aquaculture outlook: a analysis of global aquaculture production forecasts to 2020. Rome. Disponível em http://www.fao.org/fi/website/FIRetrieveAction.do?dom=topic&fid=13540#container. Acesso em:16/04/2007.

Fitzsimmons, K. (2000).Tilapia: the most important aquaculture species of the 21st century. In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5., 2000, Rio de Janeiro. **Proceedings...** Rio de Janeiro: DPA/MA, 3-8.

Gómez, M.E.D.B. (2003). Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinha poedeiras, através da dieta. I. estabilidade oxidativa. **Tese (Doutorado).** Universidade de São Paulo. São Paulo/SP.

Gonzáles, F.H.D. & Silva, S.C. (2003). Introdução à bioquímica clinica veterinária. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 66p.

Greene, D.H.S. & Selivonchick, D.P. (1987). Lipid metabolism in fish. **Program Lipid Research,** v.26, p.53-85.

Fitzsimmouns, K. (2000). Tilapia: The most importante aquaculture species of the 21st century. In: International Symposium of tilapia **Aquaculture 5**, Rio de Janeiro. Panorama da Aqüicultura, 1, 3-8.

Haglund, O.; Wallin, R.; Wretling, S.; Hultberg,B.; Saldeen,T. (1998). Effects of fish oil alone and combined with long chain (n-6) fatty acids on some coronary risk factors in male subjects. **Journal Nutrition Biochemistry**, v.9, p.629-35.

Harris, W. S. (1999). Nonpharmacologic treatment of hypertriglyceridemia: focus on fish oils. **Clinical Cardiology**, v. 22, (suppl. II): p. 40-3.

Hayashi, C.; Boscolo, W.R.; Soares, C. M.; Boscolo, V.R.; Galdioli, E.M. (1999). Uso de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas para a tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus L.) na fase de crescimento. **Acta Scientiarum**, Maringá, 21,733-737.

Hayashi, C.; Soares, C.M.; Meurer, F. Boscolo, W.R. (2000). Uso de diferentes óleos vegetais em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.), na fase inicial. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37. Viçosa. **Anais.** Viçosa**: Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2000. (CD ROM)

Hildsorf, A.W.S. (1995). Genética e cultivo de tilápias vermelhas, uma revisão. **Boletim Instituto de Pesca**, 22, 73-78.

Hornstra, G. (2001). Importance of polyunsaturated fatty acids of the n-6 and n-3 families for early human development. **European Journal of Science and Technology**, Weinheim, 103, 379-389.

Horrocks, L.A. & Yeo, Y.K. (1999). Health benefits of docosahexaenoic acid DHA. **Pharmacological Rearch**, Oxford, 40, 211-225.

Hu, F.B.; Manson, J.E.; Willett, W.C. (2001). Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. **Journal American Coll Nutr.,** New York, 20, 5-19.

Hunter, B.J. & Roberts, D.C.K. (2000). Potential impact of the fat composition of farmed fish on human health. **Nutrition Research**, v.20, p.1047-58.

IBAMA, (2004) – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Produção brasileira da aqüicultura de água doce, por estado e espécie, para o ano de 2003. Disponível em http://www.presidencia.gov.br/seap/ Acessado em 26 de setembro de 2006.

Inhamuns, A.J. & Franco, M.R.B. (2001). Composition of total, neutral and phosphoipids in mapará (*Hypophthalmus sp.)*from the Brasilian Amazonian area. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 49, p.4859-63.

Innis, S.H. (2003). Perinatal biochemistry and physiology of log-chain polyunsaturated fatty acids. **Journal of the pediatrics,** 143 (4 Suppl):S1-8.

Jauncey, K. (2000). Nutritional requirements. In: BEVERIDGE, M. C. M.; McANDRW, B. J. (Eds.) Tilápias: biology and exploitation. Great Britain: **Kluwer Academic Publishers**, 327-375.

Jeyashoke, N.; Krisnangkura, K.; Chen, S. (1998). Microwave induced rapid transmethylation of fatt acids for analysis of food oil. **Journal of Chromatography** A, 818, 133-137.

Kimura, Y.; Takaku, T.; Nakajima, S.; Okuda, H. (2001). Effects of carp and tuna oils on 5-fluorouracil-induced antitumor activity and side effects in sarcoma 180-bearing mice. **Lipids**, v.36, p.353-59.

Kubitza, F. (1997). **Nutrição e alimentação dos peixes.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 74p.

Kubitza, F. (2003). Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões. 1.ed. Jundiaí: F. Kubitza. 229p.

Lajolo F.M. (2002). Alimentos Funcionais. Uma Visão Geral. In: De Angelis RC. Importância de alimentos vegetais na proteção da saúde. São Paulo: Atheneu, 173-79.

Lauritzen, L.; Hansen, H.S.; Jorgesen, M.H.; Michaelsen, K.F. (2001). The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relacion to development and function of the brain and retina. **Program Lipid Research**, Oxford, 40, 1-94.

Lee, S.M.; Lee, J.H.; Kim, K.D. (2003). Effects of dietary essential fatty acidson groth, body composition, and blood chemistry of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus).* **Aquaculture**, Amsterdam, 225, 269-281.

Leonhardt, J.H. (1997). Efeito da Reversão Sexual em Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). **Tese de Doutorado** – UNESP, JABOTICABAL – SP, 141p.

Lima, M.F.; Henriques, C.A.; Santos, F.D.; Andrade, P.M.M.; Tavares-do-Carmo, M.G. (2004). Ácido graxo ômega 3 docosahexaenóico (DHA: C22:6n-3) e desenvolvimento neonatal: aspectos relacionados a sua essenciabilidade e suplementação. Nutrire ver. Soc. Brás. Aliment Nutr, 28, 65-77.

Lovshin, L.L. (1997). Tilapia farming: a growing worldwide aquaculture industry. In Simpósio sobre manejo e nutrição de peixes: Piracicaba: **Fundação de Estudos Agrários** "Luís de Queiroz". 137-164

Lovshin, L.L. (2000). Tilapia Aquaculture in Brazil. In: COSTA-PIERCE, B.A.; RAKOCY, J.E. (Ed.). Tilapia aquaculture in the Americas 2. baton Rouge: **The World Aquaculture Society**, 133-140.

Lutz, C. G. (1995). Production economics and potential competitive dynamics of commercial tilapia culture n the Americas. In: COSTA-PIERCE, B. A.; RAKOY, J. E. (Eds.) Tilapia aquaculture in the Americas, Baton Rouge: **The World Aquaculture Society**, 2, 119-132.

Madsen, L.; Rustan, A. C.; Vaagenes, H.; Berge, K.; Dyroy, E.; Berge, R. K. (1999). Eicosapenatenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to abstrate preference**. Lipids**, Champaing, 34, 951-963.

Maia. E.L. (1992). Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídicos e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce. Campinas (**Tese de doutorado** – Universidade Estadual de campinas).

Masters C. (1996). n-3 Fatty acids and the peroxissome. Mol Cell Biochem.; Scientific Review Committee. **Nutrition,** 165, 83-93.

Mayser, P.; Mrowietz, U.; Arenberger, P.; Bartak, P.; Buchvald, J.; Christophers, E.; Jablonska, S.; Salmhofer, W.; Schill, W. B. (1998). Ômega-3 fatty acid-based lipid infusion in patients with chronic plaque psoriasis: result of a double-blind, randomized, placebo-controlled, multicenter trial. **Journal American Academi Dermatology**, v.38, p.421.

Martinho, C.R.; Cyrino, J.E.P.; Portz, L.; Trugo, L.C. (2002). Effect of dietary lipid level on nutricional performance of surubim *(Pseudoplatistoma corruscans).* **Aquaculture**, 209, 209-218.

Martin, C.A.; Almeida, V.V.; Ruiz, M.R.; Visentainer, J.E.L.; Matshushita, M.; Souza, N. E.; Visentainer, V.V. (2006). Ácidos Graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos.Campinas, **Revista de Nutrição,** 19, 761-770

Masser, M.P. (1992). What is cage cultura. Auburn: **Southerm Regional Aquaculture Center**, 1v. (SRAC Publication, 160).

Mc Nair, H.M. & Bonelli, E.J. (1968). **Basic Gas Chromatigraphy**. 4 edição. Varian, Berkeley, Califórnia.

Meurer, F.; Hayashi, C.; Boscolo, W.R.; Soares, C.M. (2002). Lipídeos na alimentação de alevitos de tilápia do Nilo *(Oreochromis niloticus L.).* **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, 31, 566-573.

Minazzi-Rodrigues, R.S. & Penteado, M.V.C. (1991). Importância dos óleos de peixe em fisiologia e nutrição humana. **Caderno de Nutrição**. N.3, p. 41-97.

Moreira, A.B.; Visentainer, J.V.; Souza, N.E.; Matsushita, M. (2001). Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brasilian *brycon* freshwater fishes. **Journal Food Composition and Analysis,** vol. 14, p. 565-74.

Oliveira, E. R. N. (2000). Composição química geral e de ácidos graxos da fração lipídica de peixes do reservatório de Itaipu, Paraná-Brasil: Relação com variáveis biológicas e período de coleta. Maringá. (**tese de doutorado** – Universidade Estadual de Maringá).

Olsen, Y (1998). Lipids and Essential and fatty Acids in Aquatic Foods Webs: What Can Freshwater Ecologists Learn from Mariculture. In: **Lipids in Freshwater Ecosystems,** New York, p. 161-202.

Pacchioni, V.M. (1999). ácidos Graxos essenciais Omega 3 e Omega 6 e sua utilização em alimentos funcionais. **Food Ingredients**, 1, 24-25.

Pezzato, L.E.; Miranda, E.C.; Barros, L.; Quintero Pinto, L.G.; Furuya, W.M.; Pezzato, A.C. (2002). Digestibillidade aparente de ingredients pela tilapia do Nilo *(Oreochromis niloticus).* **Revista Brasileira de Zootecnia**, 31, 1595-1604.

Popma, T.J.; Green, B.W. (1990). Sex reversal of tilápia in earthen ponds: Aquacultural Production Manual. Auburn: Auburn University, Alabama. **Research and Development**. Séries 35, 15 p.

Popman, T.J. & Lovshin, L.L. (1996). Wordwide prospects for commercial production of tilapia. Alabama: **International Center for aquaculture and Aquatic Environments,** 23p. (Research and Development Series 41).

Prasad, K. (1997). Dietary flax seed in prevention of hypercholesterolemic atherosclerosis. **Atherosclerosis**, Shannon, 132, 69-72.

Prasad, K.; Mantha, S.V.; Muir, A.D.; Westcott, N.D. (1998). Reduction of hypercholesterolemic atherosclerodsis by CDC-flaxseed with very low alpha-linolenic acid. **Atherosclerosis**, Shannon, 136, 367-375.

Ribeiro, R.P.; Haiashi, C.; Furuya, W.M. (1995). Curso de piscicultura – criação racional de tilápias. **FADEC** – Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 23p.

Salem, Jr., N. (1999). Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Backgrounder**, 3, 1-8.

Sanches, L.E.F. (2004). Substituição do óleo de soja por óleo de tilápia e óleo de vísceras de aves em rações para alevinos de tilápia do Nilo *(Oreochromis niloticus)*. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 79p. Tese **(Doutorado em Zootecnia**) – Universidade Estadual de Maringá.

Sanderson, P.; Finnegan, Y.E.; Williams, C.M.; Calder, P.C.; Burdge, G.C.; Wotton, S.A.; Griffin, B.A.; Millward, D.J.; Pegge, N.C.; Bemelmans, W.J.E. (2002). UK Food Standards Agency α-linolenic acid workshop report. British **Journal of Nutrition,** Cambridge, 88, 573-579.

SanGiovani, J.P. & Chew, E.Y. (2005). The role of omega-3 log chain polyunsaturated fatty acids in heath and disease of the retina. **Progr. Retin. Eye Res**., 24, 87-138.

Schmidt, M.A. (2000). Gorduras inteligentes. Tradução de Dirceu Henrique Pereira, São Paulo – SP. editora Roca LTDA, p. 221.

Schmittou, H.R. (1997). Produção de peixes em alta densidade em tanques-rede de pequeno volume. Campinas: Mogiana**. Alimentos e Associação Americana de soja**, 78p.

Seppanen-Laakso, T.; Laakso, I.; Hiltunen, R. (2002). Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition. Analytica Chimica Acta, 465, 39-62.

Silva, A.L.N.; Siqueira, A.T. (1997). Piscicultura em tanques-redes. SUDENE/FADURP-UFRPE. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 71p.

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

Simopoulos, A.P. (2000). Symposium: role of poultry products in enriching the human diet with n-3 PUFA: human requirement for n-3 polyinsaturated fatty acids. **Poultry Science,** savoy, 79, 961-970.

Simopoulos, A.P.; Leaf, A.; Salem Jr., N. (1999). Eseentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. **Ann. Nutrition Metabolism,** Basel, 43, 127-130.

Steffens, W. (1987). Princípios fundamentales de la alimentación de los peces. Madri: Acribia, 275p.

Steffens, W. (1997). Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. **Aquaculture,** Amsterdam, v.151, p.97-119.

Tachibana, L. (2002). Desempenho inicial e digestibilidade aparente de nutrirntes de diferentes linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus)*. Jaboticabal, 46p. Dissertação (Mestrado) – **Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista** ¨Júlio de Mesquita Filho".

Thompson, I.U.; Rickard, S.E.; Orcheson, L.J.; Seidl, M.M. (1996). Flaxseed and its lignan and components reduce mammary tumor growth at a late stage of carcinogenesis. **Carcinogenesis**, Oxford, 17,1337-1376.

Turatti, J.M. (2000). Óleos vegetais como fonte de alimentos funcionais. **Food Ingredients**, n.9 p. 56-57.

Uauy, R. & Valenzuela, A. (2000). Marine oils: The health benefits of n-3 fatty acids**. Nutrition**, v.16, p. 680-84.

Ulberth, F. & Schrammel, F. (1995). Accurate quantitation of short, medium, and long-chain fatty acid methyl esters by split-injection capillary gas-liquid chromatography. Journal of Chromatography A, 704, 455-463.

Valenzuela A. (2001). Ácidos graxos ômega-6 e ômega-3 na nutrição e saúde humana. In: Angelis RA: Importância de alimentos vegetais na proteção da saúde. São Paulo: Atheneu; 42, 235-44.

Visentainer, J.V. (2003). Compposição de ácidos graxos e quantificação dos ácidos garxos LNA, EPA e DHA no tecido muscular de tilápias (Oreochromis niloticus), submetidas a diferentes tratamentos com óleo de linhaça. **Tese de doutorado**. FEA/Unicamp, Campinas, SP.

Visentainer, J.V. & Bueno Franco, M.R. (2006). Ácidos graxos em óleos e gorduras: Identificação e Quantificação. São Paulo: Varela. 36-117.

Von Schacky, C. (2000). N-3 fatty acid and the prevention of coronary atherosclerosis**. Americam Journal Nutrition**, v.16, p.71 (supl):p. 224S-7S.

Zenebe, T.; Ahlgren, G.; Gustafsson, I. B. (1998). Fatty acid and lipid content or *Oreochromis niloticus* L. in Ethiopian lakes – dietary effects of phytoplankton. Ecology of Freshwater Fish**. Journal of Fish Biology**, 7, 146-58.

Wilson, R.P. (1998). State of art of warmwalter fish nuttrition. In: Aquicultura Brasil 98, 1,1998, Recife. **Anais.** Recife: Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, p.375-380.

WHO. World Health Organization (WHO). (2003). Diet, Nutrition and The prevention of chronic diseases, Geneva, 56p.

Yuan, Y.V.; Richard, S.E.; Thompson, L.U. (1999). Short-term feeding of flaxseed or its lignan has minor influence on *in vivo* hepatic antioxidant status in young rats. Nutrition Research, New York, 19, 1233-1243.

CAPÍTULO II

COMPOSIÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NOS LIPÍDIOS TOTAIS DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDAS À DIETA ENRIQUECIDA COM ÓLEO DE LINHAÇA E ANÁLISE SENSORIAL DO TECIDO MUSCULAR

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo) é originária da África e foi introduzida no Brasil em 1971 (Lovshin, 2000). A sustentabilidade ambiental, prolificidade e rusticidade da espécie são características que favorecem sua criação em todo mundo. Trata-se de uma espécie que apresenta bom índice de crescimento e alta resistência a doenças (Bacconi, 2003).

A tilapicultura vem se mostrando uma ótima alternativa para a piscicultura de água doce e estuarina (Meurer et al., 2003).

No Brasil em 2004 a tilápia do Nilo apresentou produção de 69.078 toneladas, colocando o país em 7° (sétimo) lugar dentre os maiores produtores mundiais (FAO, 2004).

A tilápia do Nilo é criada desde o sistema extensivo até sistemas superintensivos (Bacconi, 2003), é uma espécie basicamente fitoplanctófaga, mas, aceita bem os alimentos artificiais apresentando bom resultado no desempenho (Ribeiro et al., 1995).

Em sistemas comerciais de criação de tilápias, nos quais o alimento natural é restrito, é absolutamente necessário utilizar rações completas de alta qualidade. As proteínas de origem vegetal utilizadas na composição de rações comerciais são mais baratas que as de origem animal (Fitzsimmons, 2000).

Criadores de tilápias de todo mundo utilizam produtos regionais, ou mesmo subprodutos de suas plantações, para alimentar as criações (Adesulu & Mustapha, 2000). A elaboração deste tipo de dieta é possível devido à grande variedade de alimentos que as tilápias são capazes de digerir, diminuindo o custo de produção. Por outro lado este tipo de dieta não garante o balanço de nutrientes exigido para um bom desempenho em criações intensivas (Bacconi, 2003).

Rações formuladas com estes ingredientes possivelmente apresentam elevado teor do ácido linoléico (LA, 18:2n-6) e baixo teor de ácido alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3)

que pode até ser inexistente (Visentainer, 2003). Em estudos feitos por Maia (1992) e Moreira et al., (2001), sobre a composição de ácidos graxos em rações para peixes, foram encontrados elevados valores de LA e baixos valores de LNA, sendo que os demais ácidos graxos da série n-3 foram encontrados com baixos teores ou não foram detectados.

Para peixes de água doce, a ração é a principal fonte de alimento utilizada nos cultivos. A fonte de lipídios utilizada na ração pode influenciar significativamente no crescimento e conversão alimentar dos peixes (Stickney & McGeachin, 1983).

Os lipídios são considerados uma importante fonte de energia que pode ser utilizada na alimentação dos peixes (Wilson, 1998), pois é uma fonte de alimento facilmente encontrada no mercado, e fornece além da energia, uma quantidade considerável de ácidos graxos essenciais (Steffens, 1997).

Os óleos de origem vegetal são boas fontes de energia para peixes de clima tropical (Wilson, 1995). Hayashi et al. (2000) concluíram que os óleos de soja, canola, girassol, linhaça, arroz e milho proporcionaram bom desempenho para alevinos de tilápia-do-Nilo.

A semente de linho (*Linum usitatissimum*) é produzida no Brasil e possui uma variação aproximada de 32 a 38% de óleo, que é constituído da seguinte composição em percentagem relativa de ácidos graxos: palmítico (16:0), 4,6 a 6,3%; esteárico (18:0), 3,3 a 6,1 %; oléico (18:1n-9). 19,3 a 29,4%; linoléico (18:2n-6), 14,0 a 18,2% e alfa-linolênico (18:3n-3), 44,6 a 51,5%, constituindo uma das maiores fontes de LNA (Ceotto, 2000; Carter, 1993).

Peixes de água doce apresentam enzimas capazes de dessaturar e elongar os ácidos LNA (precursor da série n-3) e LA (precursor da série n-6) em outros ácidos graxos. Portanto, ministrando para estes peixes alimentos com LNA, serão produzidos ácidos graxos da série n-3 de importante valor nutricional como ácido cervônico (DHA, 22:6n-3) e ácido timnodônico (EPA, 20:5n-3). Por outro lado, o fornecimento de LA, produzirá ácidos graxos de série n-6, como o ácido araquidônico (AA, 20:4n-6) (Visentainer, 2003).

As duas séries de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) considerados essenciais, a série n-6 e a série n-3, são sintetizadas pelos vegetais. Porém, os animais, inclusive o homem, não possuem esta capacidade, tornando necessária a sua obtenção através da dieta (Badolato et al., 1994; Hornstra, 2000; Martin et al., 2006).

Os ácidos graxos essenciais são indispensáveis para a síntese de ácidos graxos de cadeia longa (20-22 átomos de carbono) através de elongação e dessaturação. Este processo metabólico é mediado por enzimas e ocorre principalmente no fígado (Scrimgeor et al., 2001). O LA e o LNA competem metabolicamente pelas mesmas enzimas (elongase e dessaturase) para biossíntese de outros AGPI n-3 e n-6 (Cho et al., 1999; Salem, 1999). A enzima Δ6 dessaturase tem uma maior preferência pelo LNA, porém a disponibilidade do LA em maior quantidade reverte esta preferência para si (Hornstra, 2001; Madsem et al., 1999). Portanto, é necessário um equilíbrio entre o aporte dos dois ácidos graxos através da dieta.

Um balanço da proporção de n-6/n-3 na dieta é essencial no metabolismo do organismo humano, levando à prevenção de doenças cardiovasculares, degenerativas e também a uma melhor saúde mental (Simopoulos, 2000). Portanto, acrescentando na dieta, ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 (AGPI n-3) e diminuindo certos óleos vegetais com alto conteúdo de LA, pode-se obter uma melhor relação n-6/n-3 (Harris, 1997).

Neste efeito benéfico dos AGPI n-3, a linhaça, oleaginosa tradicional, rica fonte de LNA, pode ser recomendada e incorporada numa dieta saudável (Connor, 1999; Turatti, 2000).

A análise de ácidos graxos em óleos, gorduras e tecidos animais é realizada atualmente utilizando-se a cromatografia gasosa (Ratnayake, 1998) em que ácidos graxos são determinados como ésteres metílicos. E, em se tratando de uma técnica de separação, necessita-se de algumas técnicas de identificação dos compostos. As técnicas comumente utilizadas na identificação de compostos são: o tempo de retenção (Mc Nair & Bonelli, 1968; Ettre, 1964), a co-eluição, (Christie, 1994) e o Comprimento Equivalente de Cadeia (CEC) (Visentainer & Bueno Franco, 2006).

A composição em ácidos graxos é dada geralmente em termos de porcentagem de área relativa, e para se obter resultados em termos de miligramas de ácidos graxos por gramas de lipídios totais empregam-se técnicas de quantificação. O uso desta técnica de quantificação, ou seja, técnica que permite a expressão da concentração em termos de quantidade de ácidos graxos por quantidade de matéria alimentícia ou conteúdo lipídico, permite melhores comparações quantitativas e aplicações nutricionais do conteúdo lipídico de um determinado alimento (Visentainer et al., 2005).

Desta forma, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a composição de ácidos graxos ômega-3 e 6 em tilápias (*Oreochromis niloticus*) em função do tempo de fornecimento de dietas com óleo de linhaça, a fim de melhorar o potencial nutritivo do tecido muscular, principalmente com relação à composição dos ácidos graxos n-3, bem como quantificar em mg/g de lipídios totais os ácidos LNA, LA, DHA, EPA e AA. Também foi realizada, neste experimento, uma avaliação sensorial com o objetivo de verificar a possível influencia do óleo de linhaça no sabor do tecido muscular destes peixes.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - Amostragem

O experimento foi realizado na Fazenda 4 (quatro) Irmãos, no Distrito de Rancho Alegre, município de Guaíra-PR (lat. 24°04'; lon. 54°15'), em tanque escavado de 4.800 m^2, e profundidade média de 1,2 m. Foram utilizadas duas gaiolas metálicas de 1m^3 cada, sendo distribuídas 100 tilápias (*Oreochromis niloticus)* em cada gaiola, com peso inicial médio de 151 ± 38 g (controle) e 148 ± 44 g (tratamento). Os peixes foram alimentados duas vezes por dia (8 e 17 horas), sete dias por semana. O primeiro grupo recebeu ração enriquecida com óleo de soja (Ração I) e o segundo com óleo de linhaça (Ração II), na proporção de 7,0% dos respectivos óleos. As rações foram formuladas adicionando óleo de soja e linhaça na ração comercial (elaborada com base em milho e farelo de soja como principais fontes protéicas e energéticas), que foram aspergidos por sobre as rações e homogeneizadas em balde de 10 L.

A composição em ingredientes da ração extrusadas, de diâmetro médio de 8 mm comercial (descrita no rótulo), dos ingredientes adicionados (óleo de soja e de linhaça) e a composição centesimal das rações utilizadas no tratamento são mostradas na **Tabela 3.**

Tabela 3. Composição em ingredientes básicos, ingredientes adicionados e análises químicas das rações utilizadas no experimento.

Ingredientes Básicos*	Ração I (soja)	Ração II (linhaça)
Fibra Bruta (%)	3,2	3,2
Fósforo (%)	1,2	1,2
Cálcio (%)	1,8	1,8
Carboidratos (%)	40,0	40,0
Energia (Kcal/Kg)**	2.800	2.800
Ingredientes Adicionados	**Ração I**	**Ração II**
Óleo de soja (%)	7,0	0,0
Óleo de linhaça (%)	0,0	7,0
Composição centesimal	**Ração I**	**Ração II**
Umidade (%)	9,98 ± 0,09	9,95 ± 0,06
Cinzas (%)	8,44 ± 0,34	8,41 ± 0,10
Proteína (%)	27,04 ± 0,55	27,08 ± 0,10
Lipídios Totais (%)	8,18 ± 0,48	8,20 ± 0,52

*Ingredientes básicos (descritos no rótulo); Energia**: Kcal de energia digestível/kg de ração.

As amostras dos dois grupos de peixes foram coletadas a cada 15 dias até o período 90 dias. Foram coletados sete indivíduos por tanque iniciando-se no tempo zero (antes de iniciar os tratamentos).

A cada coleta os peixes foram abatidos, eviscerados, filetados, acondicionados em atmosfera de nitrogênio e congelados a -18°C até o início das análises, quando estes foram descongelados até a temperatura ambiente e em seguida, triturados em multi-processador de alimentos e devidamente homogeneizados. Todas as análises químicas foram realizadas em triplicata.

2.2 - Umidade, Cinzas e Proteínas

As análises de umidade, cinzas e proteínas bruta foram realizadas conforme as técnicas da AOAC (Cunniff, 1998). **(ANEXO I)**

2.3 - Lipídios Totais

Na extração dos lipídios totais, foi empregado o método de Bligh & Dyer (1959). Os lipídios totais foram armazenados em frascos âmbar, para posterior análise de ácidos graxos.

2.4 - Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos

A preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos foi efetuada conforme método proposto por Joseph & Ackman (1992), utilizando BF_3/metanol como agente esterificante.

2.5 - Análise Cromatográfica dos Ésteres Metílicos

Os ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG) foram separados utilizando um cromatógrafo gasoso 14-A (Shimadzu, Japão), equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida CP Sil-88 (100m, 0,25mm e 0,25μm de cianopropil polisiloxano). A temperatura da coluna foi de 165°C por 15 minutos, sendo então elevada para 225°C a uma taxa de 15°C/min, permanecendo nesta temperatura por 10 minutos. As temperaturas do injetor e detector foram 220°C e 230°C, respectivamente. Os fluxos dos gases (White Martins), foram de 1,2 mL/min para o gás de arraste (H_2); 30 mL/min para o gás auxiliar (N_2) e 30 mL/min e 300 mL/min para o H_2 e para o ar sintético da chama, respectivamente. A razão de divisão da amostra (split) foi de 1/100. As injeções foram realizadas em seis replicatas e o volume de injeção foi de 1,5μL. As áreas de picos foram determinadas utilizando-se um Integrador-Processador CG-300 (CG Instrumentos Científicos, Brasil). A identificação de ácidos graxos foi baseada na comparação dos tempos de retenção relativo dos picos de (EMAG) de amostras com padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma), por co-eluição e valores do comprimento equivalente de cadeia (CEC).

2.6 - Avaliação das Condições de Resposta do Detector

Para avaliar as respostas do detector de ionização de chama, o fator de correção teórico (F_{CT}) para os ésteres metílicos dos ácidos graxos saturados 14:0; 15:0; 16:0; 17:0; 18:0; 20:0; 21:0; 22:0 e 24:0 foi calculado em relação ao triocosanoato de metila (23:0), conforme método proposto por Ackman e Sipos (1964).

Em seguida, determinaram-se os fatores de correção experimental (F_{CE}) para os ésteres metílicos saturados citados acima mediante a análise de uma mistura padrão (Sigma) em relação ao triocosanoato de metila (23:0). O uso de padrões de ácidos graxos saturados é uma maneira de verificar a otimização do instrumento, uma vez que os ácidos graxos saturados apresentam menor grau de instabilidade em relação aos poliinsaturados (Visentainer, 2003). Os valores dos fatores de correção teórico (F_{CT}), experimental (F_{CE}) e de erro (F_E) encontrados são mostrados na **Tabela 4.**

Tabela 4. Fatores de correção teórico, experimental e de Erro.

Fatores de correção	14:0	15:0	16:0	17:0	18:0	20:0	21:0	22:0	24:0
F_{CT}	1,080	1,066	1,054	1,044	1,034	1,018	1,011	1,005	0,995
F_{CE}	1,060	1,042	1,036	1,069	1,025	0,969	0,989	0,994	0,987
F_E	0,980	0,977	0,983	1,023	0,991	0,952	0,978	0,990	0,992

F_{CT}: Fator de Correção Teórico; **F_{CE}:** Fator de Correção Experimental; **F_E:** Fator de Erro.

Os valores dos fatores de correção experimental foram obtidos a partir da média de seis repetições através da **equação 1** e os fatores de erro através da **equação 2:**

Equação 1:

$$F_{CE} = \frac{M_X \mathbf{x} A_P}{M_P \mathbf{x} A_X}$$

Onde:

F_{CE}: Fator de correção experimental; **M_X**: Massa do éster metílico X; **A_X**: Área do éster metílico X; **M_P**: Massa do padrão; **A_P**: Área do padrão.

Equação 2:

$$F_E = F_{CE} / F_{CT}$$

Onde:

F_{CE}: Fator de Correção Experimental; **F_{CT}:** Fator de Correção Teórico; **F_E:** Fator de Erro.

Valores do Fator de Erro próximos à unidade caracterizam que os resultados obtidos apresentam concordância entre os fatores de resposta teórico e experimental.

Após a verificação da concordância entre os fatores de resposta, foi realizada a quantificação (em miligrama) dos ésteres metílicos dos ácidos graxos LNA, EPA, DHA, LA e AA por grama de lipídios totais das amostras.

2.7 - Quantificação dos Ácidos Graxos LNA, EPA, DHA, LA e AA

A quantificação dos ácidos graxos, em mg/g de lipídios totais, foi efetuada em relação ao padrão interno, tricosanoato de metila (23:0). Antes da análise cromatográfica, foi adicionado 500µL da solução do padrão interno (0, 1 mg/mL) em todas as amostras, e o solvente foi evaporado sob fluxo de N_2.

A quantificação dos ácidos graxos foi realizada após a verificação da concordância entre os fatores de resposta teórico e experimental. Os cálculos da concentração dos ácidos graxos foram realizados de acordo com a metodologia proposta por Joseph & Ackman (1992), conforme a equação:

$$M_X = \frac{A_X \mathbf{x} M_P \mathbf{x} F_{CT}}{A_P \mathbf{x} F_{CEA} \mathbf{x} M_A}$$

Onde:

A_X : Área dos ésteres metílicos de ácidos graxos (LNA, EPA, DHA, LA, AA);

A_P : Área do padrão interno (23:0);

M_P : Massa do padrão interno adicionado à amostra (em miligramas);

M_A : Massa da amostra de lipídios totais (em gramas);

F_{CT} : Fator de correção teórico (detector) dos ácidos LNA, EPA, DHA, LA, AA;

F_{CEA} : fator de conversão éster metílico para ácido graxo (expressa os resultados em mg de ácido graxo/g de lipídios totais).

A **Tabela 5** mostra os fatores de correção teóricos e os fatores de conversão de éster metílicos para ácidos graxos LNA, EPA, DHA, LA e AA.

Tabela 5. Fatores de correção teóricos e fatores de conversão de ésteres metílicos para ácidos graxos do LNA, EPA, DHA, LA e AA.

Fatores	LNA	EPA	DHA	LA	AA
F_{CT}	1,014	0,987	0,971	1,021	0,994
F_{CEA}	1,050	1,044	1,044	1,052	1,048

F_{CT} : Fator de correção teórico (detector); **F_{CEA} :** fator de conversão ésteres metílicos para ácidos graxos; **LNA:** ácido alfa-linolênico; **EPA:** ácido timnodônico; **DHA:** ácido cervônico; **AA:** ácido araquidônico; **LA:** ácido linoléico.

2.8 - Análise sensorial

A avaliação sensorial foi realizada entre filés de tilápias *(Oreochromis niloticus)* submetidas aos tratamentos com as rações I (óleo de soja) e ração II (óleo de linhaça) ao término dos 90 dias de tratamento. Para realização da análise sensorial amostras representativas do filé de ambos os tratamentos foram descongeladas e temperadas com a mesma quantidade de sal de cozinha e foram grelhadas em grelha elétrica por aproximadamente 30 minutos.

Utilizou-se na análise sensorial o método da diferença simples-triangular, segundo Chaves (1980).

Participou da avaliação um total de 49 provadores não treinados. Cada provador experimentou três amostras codificadas, sendo duas iguais e uma diferente. Na seqüência foi solicitado ao provador identificar a amostra diferente e preencher a ficha de aplicação, mostrada abaixo.

Figura 2. Ficha de aplicação para Avaliação Sensorial.

FICHA DE APLICAÇÃO

NOME:.....DATA:.....

Por favor, prove as amostras codificadas de peixe grelhado da esquerda para a direita para sabor. Duas amostras são iguais e uma é diferente. Indique com um círculo a amostra diferente.

_____ _____ _____

2.9 - Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey, através do software Statistica, versão 5.0, (Statistica, 2005).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Composição de Ácidos Graxos das Rações

As dietas deste experimento foram formuladas de acordo com as exigências para a espécie, partindo-se de ração comercial, sendo a mesma isocálcica, isofosfórica, isocalórica e isoproteica. A esta ração foram adicionados 7,0% de óleo de soja (Ração I - controle) e 7,0% de óleo de linhaça (Ração II), conforme mostrou a **Tabela 3.**

A composição percentual de ácidos graxos, somatório e razões de ácidos graxos presentes nas rações utilizadas no experimento são mostrados na **Tabela 6**.

Tabela 6. Composição percentual, somatórios e razões de ácidos graxos das rações utilizadas no experimento.

Ácidos Graxos	**Ração I (Óleo de Soja)** (Percentagem ± d.p)	**Ração II (Óleo de Linhaça)** (Percentagem ± d.p)
14:0	0,51 ± 0,02	0,44 ± 0,01
14:1n-5	nd	0,06 ± 0,01
15:0	0,11 ± 0,01	0,08 ± 0,01
16:0	14,67 ± 0,14	10,03 ± 0,09
16:1n-7	0,11 ± 0,01	0,34 ± 0,01
17:0	0,25 ± 0,02	0,24 ± 0,01
17:1n-7	0,13 ± 0,01	0,10 ± 0,01
18:0	6,46 ± 0,04	7,57 ± 0,03
18:1n-11	0,52 ± 0,02	nd
18:1n-9	26,05 ± 0,14	22,43 ± 0,13
18:1n-7	2,08 ± 0,10	2,19 ± 0,01
18:2n-6	44,16 ± 0,06	18,01 ± 0,02
t,t-18:2n-6	0,22 ± 0,01	nd
18:3n-6	0,25 ± 0,01	0,16 ± 0,01
19:0	0,33 ± 0,01	0,11 ± 0,01
18:3n-3	3,27 ± 0,02	37,84 ± 0,27
20:4n-6	0,26 ± 0,01	0,08 ± 0,01
20:5n-3	nd	0,19 ± 0,01
22:4n-6	0,62 ± 0,10	0,13 ± 0,01
Somatórios		
AGS	22,33 ± 0,14	18,47 ± 0,97
AGMI	28,89 ± 0,17	25,12 ± 0,14
AGPI	48,56 ± 0,06	56,41 ± 0,02
Trans	0,22 ± 0,10	nd
n-6	45,29 ± 0,06	18,38 ± 0,03
n-3	3,27 ± 0,02	38,03 ± 0,27
Razões		
AGPI/AGS	2,17 ± 0,01	3,05 ± 0,1
n-6/n-3	13,85 ± 0,09	0,48 ± 0,01

Os resultados são médias de seis repetições expressas em percentagem de área relativa. Abreviaturas: **AGS**: ácidos graxos saturados; **AGMI**: ácidos graxos monoinsaturados; **AGPI**: ácidos graxos polinsaturados (insaturação igual ≥2); **n-6:** ácidos graxos ômega-6; **n-3:** ácidos graxos ômega-3; ***Trans***: ácidos graxos *trans*; **AGPI/AGS**: razões entre ácidos graxos polinsaturados/saturados; **n-6/n-3:** razões entre ácidos graxos ômega-6/ômega-3.

Os ácidos graxos majoritários encontrados na ração I (soja) foram os ácidos linoléico (LA, 18:2n-6), 44,16%, oléico (18:1n-9), 26,05% e palmítico (16:0), 14,67%, bem como elevados valores de n-6. Os predominantes encontrados na ração II (linhaça) foram os ácidos: alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3), 37,84%; oléico (18:1n-9), 22,43%, linoléico (LA, 18:2n-6), 18,01% e palmítico (16:0), 10,03% e elevados percentuais de n-3.

A composição de ácidos graxos das rações utilizadas neste experimento foi fortemente influenciada pela fonte dos óleos adicionados à dieta. Assim, a dieta que contem óleo de soja apresentou elevados teores de LA e elevadas razões n-6/n-3, enquanto que a dieta com óleo de linhaça apresentou elevados teores de LNA, de AGPI e menores razões de n-6/n-3.

O óleo de linhaça tem sido também, incluído na ração de outras espécies animais como: suínos, ovinos e bovinos (Wood et al., 2003; Raes et al., 2004), com a finalidade de incrementar a razão n-6/n-3 na carne e obter produtos mais saudáveis.

3.2 - Peso dos peixes, Lipídios Totais, Umidade, Cinzas e Proteínas dos Filés de Tilápias

As **Tabelas 7** e **8** mostram, respectivamente, o peso dos peixes e a composição percentual de umidade, cinzas, proteínas e lipídios totais dos filés de tilápia (*Oreochromis niloticus)* submetidas ao tratamento com as rações I e II respectivamente.

Tabela 7. Peso dos peixes e composição química dos filés de tilápia submetidas ao tratamento com a ração I (óleo de Soja).

Composição	Ração I (Óleo de Soja) – Tempo em número de dias						
	0 dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
Peso (g)	151±34a	360±36b	470±55c	540±44d	670±55e	800±41f	975±87g
Umidade (%)	79,23±0,26a	77,43±0,47b	75,53±0,37c	72,94±0,44d	72,01±0,27d	71,88±0,26d	71,84±0,62d
Cinzas (%)	1,70±0,13	1,59±0,10	1,58±0,06	1,53±0,05	1,59±0,09	1,57±0,15	1,53±0,12
Proteína (%)	16,55±0,33	16,21±0,48	16,31±0,41	16,27±0,42	16,58±0,30	16,61±0,13	16,58±0,30
LT (%)	2,33±0,24a	4,68±0,29b	6,48±0,47c	9,12±0,69d	9,68±0,37d	9,75±0,64d	9,88±0,48d

Os resultados são médias com estimativas dos desvios padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p<0,05$) pelo teste de Tukey. **LT:** Lipídios Totais.

Tabela 8. Peso dos peixes e composição química dos filés de tilápia submetidas ao tratamento com a ração II (Linhaça).

Composição	Ração II (Óleo de Linhaça) – Tempo em número de dias						
	0 dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
Peso (g)	157,8±33a	380±36b	420±51c	532±38d	627±52e	760±62f	942±92g
Umidade (%)	79,30±0,41a	76,34±0,02b	74,28±0,38c	72,26±0,26d	71,89±0,07d	71,31±0,68d	71,28±0,63d
Cinzas (%)	1,83±0,02a	1,81±0,02a	1,79±0,04a	1,77±0,21a	1,74±0,05a	1,68±0,07a	1,56±0,10b
Proteína (%)	15,91±0,06a	17,44±0,03b	17,41±1,03b	16,40±0,31ab	16,39±0,56ab	16,39±0,02ab	16,37±0,45ab
LT (%)	2,36±0,11a	4,07±0,03b	6,28±,05c	9,41±0,31d	9,60±0,42d	9,93±0,35d	10,03±0,01d

Os resultados são médias com estimativas dos desvios padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p<0,05$) pelo teste de Tukey. **LT:** Lipídios Totais.

Os percentuais de umidade, cinzas, proteínas e lipídios totais variaram de (71,84 - 79,23%); (1,53 - 1,70%); (16,21 - 16,61 %) e (2,33 - 9,88%) no tratamento com a ração I (óleo de soja). Os valores de umidade e lipídios totais apresentaram diferença ($p<0,05$) até o 45° dia de tratamento, enquanto que os valores de cinzas e proteínas não apresentaram diferenças ($p>0,05$) ao longo do tempo.

No tratamento com a ração II (óleo de linhaça) os valores variaram de (71,28 - 79,30%); (1,56 -1,83%); (15,91 - 17,44%) e (2,36 -10,03%), para os teores de umidade, cinzas, proteínas e lipídios totais, respectivamente. Souza et al. (2004), Visentainer (2003) e Puwastien et al. (1999) obtiveram valores intermediários de 76,8%, 77,91% e 78,1% respectivamente, para umidade. Justi et al. (2003) e Souza et al. (2004) encontraram valores inferiores de 1,36 e 1,04% para cinza, respectivamente, em filés de tilápia. De acordo com Contreras-Guzman (1994), o teor de cinzas de peixes de água doce apresenta variações em quantidades que vão desde 0,90 a 3,39%. Justi et al. (2003) e Izquierdo et al. (2000) obtiveram valores superiores de 18,72 e 18,0% para proteínas, respectivamente.

Com relação aos teores de lipídios totais, valores inferiores foram encontrados por Souza et al. (2004) de 2,3% e Izquierdo et al. (2000) de 2,2%. No entanto, destaca-se neste experimento, o elevado peso e idade dos peixes em ambos os tratamentos apresentando ao término do tratamento cerca de 975 e 942 g o que representa um ganho em peso diário de aproximadamente 9,1 e 8,7g para os tratamentos com a ração I (óleo de soja) e II (óleo de linhaça), respectivamente.

No presente estudo os teores de umidade, proteínas e lipídios totais apresentaram diferença significativa ($p<0,05$) até o 45° dia de tratamento, e os valores dos teores de cinzas não apresentaram diferença significativa até o 90° dia de

tratamento. Contreras-Guzman (1994) discutiram a composição química dos peixes do mar no Brasil, e mostraram que o conteúdo de umidade foi inversamente proporcional ao conteúdo lipídico. Este fato pode também ser observado no presente estudo, com a tilápia.

Os lipídios utilizados na alimentação de peixes representam uma fonte rica de energia e refletem nos lipídios incorporados nos tecidos dos peixes, dependem do ingerido, ou seja, do conteúdo dos alimentos consumidos (Pezzato, 1999). Neste sentido, observa-se que por estarem confinadas e recebendo rações enriquecidas com óleos (soja e linhaça) (8,20% de lipídios totais), as tilápias (*Oreochromis niloticus)* armazenaram ao longo do tratamento alto teor de gordura, para ambos os tratamentos.

Ackman (1989) classificou peixes em quatro categorias de acordo com o conteúdo lipídico: magros (menos de 2% de gordura), de baixo teor (2 a 4%), mediamente gordos (4 a 8%) e altamente gordos com mais de 8% de gordura.

No decorrer deste experimento, as tilápias passaram de baixo teor de gordura (início do experimento, com 2,33 - 2,36% de gordura) a altamente gordas (final do experimento com 9,88% - 10,03% de gordura), para os tratamentos com as Rações I e II respectivamente.

3.3 - Composição de Ácidos Graxos dos Lipídios Totais do Controle e Tratamento com Óleo de Linhaça

A composição em ácidos graxos, os somatórios de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), monoinsaturados (AGMI) e saturados (AGS); as razões entre AGPI/AGS e n-6/n-3, encontrado nos filés de tilápia (*Oreochromis niloticus)* submetidas aos tratamentos com rações I e II são mostrados nas **Tabelas 9** e **10** respectivamente.

Tabela 9. Composição de Ácidos Graxos dos filés de tilápia submetidas ao tratamento com ração enriquecida com óleo de soja.

Ácidos Graxos	Ração I (Óleo de Soja) – Tempo em número de dias						
	0 dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
14:0	3,00±0,04a	2,44±0,03b	2,38±0,06bc	2,17±0,01d	2,18±0,08d	2,34±0,09c	2,24±0,04d
15:0	0,30±0,03a	0,13±0,01b	0,09±0,01c	0,07±0,01cd	0,06±0,01d	0,06±0,01d	0,05±0,01d
16:0	28,30±0,05a	27,72±0,23a	26,88±0,32b	25,71±0,29c	25,23 ±0,39c	24,58±0,36d	23,48±0,27d
17:0	0,17±0,01a	0,14±0,01b	0,11±0,01c	0,10±0,01c	0,10±0,01c	0,11±0,01c	0,16±0,02a
18:0	6,45±0,24[a]	6,17 ±0,11b	5,81 ±0,07c	6,96±0,08d	7,52 ±0,07e	6,86±0,25d	6,97±0,10d
19:0	0,24±0,01ab	0,24±0,01ab	0,23±0,01ac	0,26±0,02b	0,26±0,02b	0,23±0,02ac	0,23±0,01ac
21:0	0,35±0,02a	0,28±0,01b	0,30±0,02b	0,26±0,02bcd	0,23±0,03cd	0,25±0,03bd	0,27±0,02b
22:0	0,84±0,04	0,77±0,02	0,81±0,06	0,76±0,06	0,66±0,04	0,76±0,10	0,80±0,01
AGS	**39,65±0,53a**	**37,90 ±0,23b**	**36,61±0,37c**	**36,29±0,29c**	**36,23 ±0,40c**	**34,98±0,41d**	**34,11 ±0,27e**
14:1n-5	0,08±0,01a	0,06±0,01b	0,06±0,01b	0,04±0,01c	0,04±0,01c	0,06±0,01cd	0,07±0,01cd
16:1n-9	0,58±0,03a	0,47±0,01b	0,44±0,01b	0,38±0,01c	0,33±0,02d	0,36±0,03cd	0,38±0,04c
16:1n-7	5,81±0,21a	5,19±0,04b	4,89±0,08c	3,77±0,03d	3,66 ±0,09de	3,95±0,19df	3,90±0,04df
17:1n-11	0,14±0,01a	0,06±0,01b	0,04±0,01c	0,03±0,01c	0,03±0,01c	0,05±0,01b	0,06±0,01b
17:1n-9	0,15±0,02a	0,11±0,01b	0,06±0,01c	0,03±0,01d	0,07±0,01c	0,10±0,01b	0,12±0,01b
17:1n-7	0,22±0,02a	0,10±0,01b	0,10±0,01bc	0,08±0,01c	0,04±0,01d	0,05±0,01d	0,05±0,01d
18:1n-11	0,16±0,01a	0,14±0,01b	0,19±0,01c	0,15±0,01ab	0,15±0,01ab	0,23±0,02d	0,14±0,01b
18:1n-9	31,11±0,58a	32,39±0,22b	32,94±0,34b	32,89±0,12b	33,20 ±0,35b	32,93±0,44b	34,23±0,36b
18:1n-7	4,16±0,38a	3,81 ±0,05ab	3,61 ±0,16b	3,60±0,16b	3,49 ±0,16b	4,09±0,29ac	3,75±0,04bc
18:1n-4	0,25±0,03	0,26±0,01	0,27±0,01	0,28±0,05	0,27±0,03	0,28±0,05	0,26±0,03
20:1n-9	1,85±0,06a	1,41 ±0,02b	1,31±0,04b	1,43±0,15b	1,49 ±0,17b	1,70±0,17a	1,69±0,04a
20:1n-7	0,17±0,03a	0,15±0,01ab	0,13±0,01b	0,14±0,02b	0,16±0,02ab	0,07±0,01c	0,07±0,01c
AGMI	**44,68±0,77a**	**44,15±0,25a**	**44,03±0,39a**	**42,84±0,26b**	**42,94±0,42b**	**44,07±0,60a**	**44,63±0,38a**
18:2n-6	8,75±0,19a	10,42±0,14b	11,70±0,27c	13,21±0,16d	13,23 ±0,25d	13,40±0,14d	13,52±0,18d
18:3n-6	0,40±0,03a	0,51±0,01b	0,54±0,01bc	0,54±0,02bc	0,55±0,04bc	0,55±0,01c	0,56±0,01bc
18:3n-3	0,38±0,05a	0,73±0,01b	0,74±0,05b	0,77±0,03c	0,76±0,06bc	0,76±0,02bc	0,76±0,11bc
20:2n-6	0,62±0,13a	0,61 ±0,02ab	0,64±0,05bc	0,72±0,05bc	0,73±0,03bc	0,71±0,07b	0,77±0,03bc
20:3n-6	0,22±0,01	0,24±0,03	0,26±0,03	0,27±0,08	0,27 ±0,04	0,27±0,09	0,29±0,01
20:4n-3	0,04±0,01a	0,04±0,01a	0,05±0,01ab	0,04±0,01a	0,06±0,01b	0,05±0,01ab	0,05±0,01a
20:4n-6	1,88±0,16a	2,29±0,59ab	2,36±0,45b	2,42±0,41c	2,45±0,16bc	2,45±0,40bc	2,50±0,06c
20:5n-3	0,14±0,02a	0,14±0,01a	0,14±0,01a	0,11±0,01b	0,11±0,02b	0,10±0,01b	0,11±0,01b
22:4n-6	0,71±0,07a	0,71±0,03[a]	0,72±0,07ab	0,73±0,02ab	0,74±0,04b	0,74±0,02b	0,76±0,04b
22:5n-6	1,17±0,09a	1,26±0,44ab	1,27±0,51ab	1,29±0,05b	1,30±0,34b	1,30±0,25b	1,32±0,14b
22:5n-3	0,31±0,03a	0,24±0,01b	0,22±0,02b	0,23±0,03b	0,18±0,01c	0,18±0,01c	0,17±0,01c
22:6n-3	0,87±0,04a	0,59±0,05b	0,54±0,04b	0,37±0,01c	0,34±0,05c	0,32±0,02c	0,32±0,01c
AGPI	**15,49±0,24a**	**17,78±0,15b**	**19,18±0,27c**	**20,71±0,17d**	**20,73±0,25d**	**20,83±0,16d**	**21,13±0,18d**
X1	0,10±0,01a	0,10±0,01a	0,11±0,01a	0,09±0,01a	0,05±0,01b	0,04±0,01b	0,04±0,01b
X2	0,08±0,01ac	0,07±0,01a	0,07±0,01a	0,07±0,01ac	0,05±0,01b	0,08±0,01ac	0,09±0,01c
X	**0,18±0,03[a]**	**0,17±0,02ab**	**0,18±0,02a**	**0,16±0,02ab**	**0,10±0,02b**	**0,12±0,01b**	**0,13±0,01b**
n-6	13,75±0,70a	16,04±0,64b	17,49±0,22c	19,19±0,46d	19,28±0,29d	19,40±0,58d	19,72±0,38d
n-3	1,74±0,38a	1,74±0,06a	1,69±0,16a	1,52±0,16b	1,45±0,16b	1,43±0,29b	1,41±0,04b
AGPI/AGS	**0,39±0,07a**	**0,47 ±0,05b**	**0,52±0,06c**	**0,57±0,07d**	**0,57±0,11d**	**0,60±0,04de**	**0,62 ±0,05e**
n-6/n-3	**7,90±0,13a**	**9,22±0,05b**	**10,35±0,12c**	**12,63±0,08d**	**13,30±0,13de**	**13,57±0,20de**	**13,98±0,12e**

Resultados são médias de 6 replicatas com as respectivas estimativas dos desvios padrões. Os resultados são expressos em porcentagem de área relativa. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey. Abreviaturas: **AGS**:ácidos graxos saturados; **AGMI**: ácido graxos monoinsaturados; **AGPI**: ácidos graxos polinsaturados (insaturação ≥ 2); **Trans:** ácidos graxos *trans*; **X**: ácidos graxos não identificados; **n-6:** ácidos graxos ômega-6; **n-3:** ácidos graxos ômega-3; **AGPI/AGS**: razões entre ácidos graxos polinsaturados/ saturados; **n-6/n-3:** razões entre ácidos graxos ômega-6/ômega-3.

Tabela 10. Composição de Ácidos Graxos dos filés de tilápia submetidas ao tratamento com ração enriquecida com óleo de linhaça.

Ácidos Graxos	Ração II (Óleo de Linhaça) – Tempo em número de dias						
	0 dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
14:0	2,94±0,12a	2,43±0,08b	2,22±0,06c	2,26±0,14c	2,18±0,08c	2,18±0,02c	2,15±0,05c
15:0	0,21±0,02a	0,12±0,01b	0,10±0,01c	0,08±0,01d	0,07±0,01d	0,07±0,01d	0,06±0,01d
16:0	27,54 ±0,23a	26,53±0,21b	25,44±0,35c	24,38±0,42d	23,49±0,30e	23,16±0,23ef	22,82±0,22f
17:0	0,17±0,01a	0,12±0,01b	0,11±0,01bc	0,10±0,01c	0,10±0,02c	0,10±0,01c	0,10±0,01c
18:0	6,02±0,20a	5,91±0,16a	5,90±0,11a	6,65±0,12b	6,82±0,08bc	6,90±0,12cd	7,12±0,05d
19:0	0,24±0,01a	0,21±0,01b	0,22±0,01ab	0,23±0,03ab	0,21±0,01b	0,21±0,01b	0,21±0,01b
21:0	0,40±0,03a	0,20±0,02b	0,19±0,01b	0,21±0,01b	0,19±0,01b	0,19±0,01b	0,19±0,01b
22:0	0,82±0,07a	0,58±0,01b	0,53±0,04bc	0,52±0,01c	0,52±0,04c	0,52±0,02c	0,52±0,01c
AGS	**38,33±0,27a**	**36,10 ±0,17b**	**34,71±0,15c**	**34,42±0,13c**	**33,58±0,18d**	**33,32±0,30d**	**33,17±0,08d**
14:1n-5	0,08±0,01a	0,07±0,01[a]	0,06±0,01b	0,05±0,01b	0,05±0,01b	0,05±0,01b	0,05±0,01b
16:1n-9	0,65±0,03a	0,44±0,04b	0,38±0,01c	0,32±0,01d	0,31±0,02d	0,31±0,01d	0,31±0,01d
16:1n-7	6,11 ±0,13a	5,48±0,08b	4,90±0,10c	4,17±0,06d	3,92±0,08e	3,93±0,05e	3,90±0,10e
17:1n-11	0,10±0,01a	0,05±0,01bc	0,06±0,01b	0,03±0,01c	0,04±0,01bc	0,03±0,01c	0,03±0,01c
17:1n-9	0,13±0,02a	0,10±0,01b	0,09±0,01b	0,10±0,01b	0,09±0,01b	0,10±0,01b	0,10±0,01b
17:1n-7	0,19±0,01a	0,10±0,01b	0,08±0,01c	0,05±0,01d	0,04±0,01de	0,05±0,01d	0,04±0,01de
18:1n-11	0,16±0,02a	0,14±0,01a	0,14±0,01a	0,14±0,01a	0,14±0,01a	0,10±0,01b	0,09±0,01b
18:1n-9	32,07±0,40a	31,43±0,08b	32,89±0,16c	34,04±0,28d	35,10±0,28e	35,40±0,35e	35,52±0,24e
18:1n-7	4,05±0,14a	3,70±0,27b	3,52±0,16bc	3,55±0,13bc	3,50±0,07bc	3,45±0,03bc	3,44±0,04c
18:1n-4	0,26±0,01a	0,25±0,01b	0,23±0,01c	0,21±0,01d	0,19±0,02d	0,18±0,01d	0,18±0,01d
20:1n-9	1,94±0,04a	1,39±0,10b	1,32±0,11b	1,29±0,12b	1,32±0,15b	1,32±0,05b	1,34±0,08b
20:1n-7	0,16±0,02	0,16±0,01	0,16±0,01	0,16±0,02	0,16±0,01	0,16±0,01	0,17±0,01
AGMI	**45,91±0,46a**	**43,32±0,29b**	**43,83±0,26c**	**44,10±0,32c**	**44,91±0,31d**	**45,10±0,35d**	**45,17±0,26d**
18:2n-6	8,74±0,08a	9,89±0,10b	9,98±0,17b	9,61±0,11c	9,55±0,16c	9,51±0,09c	9,52±0,11c
18:3n-6	0,43±0,01a	0,38±0,01b	0,37±0,01bc	0,35±0,02cd	0,33±0,01d	0,33±0,01d	0,31±0,01e
18:3n-3	0,39±0,01a	4,86±0,05b	5,95±0,09c	6,30±0,06d	6,48±0,16d	6,52±0,27d	6,62±0,05d
20:2n-6	0,59±0,05a	0,25±0,02b	0,25±0,04b	0,25±0,02b	0,21±0,01b	0,21±0,02b	0,21±0,02b
20:3n-6	0,33±0,02a	0,42±0,01b	0,47±0,03c	0,45±0,03bc	0,45±0,02bc	0,45±0,03bc	0,45±0,02bc
20:4n-3	0,06±0,01a	0,11±0,01b	0,11±0,01b	0,11±0,01b	0,10±0,01b	0,11±0,01b	0,11±0,01b
20:3n-3	Nd	0,55±0,02[a]	0,66±0,03b	1,28±0,02c	1,43±0,10d	1,47±0,04d	1,47±0,03d
20:4n-6	1,91 ±0,03a	1,09±0,03b	0,86±0,03b	0,16±0,02c	0,13±0,01c	0,13±0,01c	0,14±0,01c
20:5n-3	0,11±0,01	0,11±0,01	0,10±0,01	0,11±0,01	0,11±0,01	0,12±0,01	0,11±0,01
22:4n-6	0,69±0,09a	0,46±0,01b	0,36±0,02c	0,36±0,03c	0,31±0,02cd	0,31±0,05cd	0,30±0,01d
22:5n-6	1,15±0,18a	0,63±0,01b	0,48±0,02c	0,41±0,04d	0,32±0,02e	0,32±0,01e	0,32±0,03e
22:5n-3	0,30±0,01a	0,67±0,01b	0,69±0,02b	0,81±0,02c	0,82±0,07c	0,82±0,06c	0,80±0,02c
22:6n-3	0,87±0,04a	1,02±0,01ab	1,03±0,05ab	1,15±0,04b	1,16±0,10b	1,17±0,24b	1,18±0,05b
AGPI	**15,57±0,07a**	**20,44±0,06b**	**21,31 ±0,15c**	**21,35±0,12cd**	**21,40±0,17cd**	**21,47±0,09cd**	**21,54±0,11d**
X1	0,11±0,01a	0,09±0,01b	0,07±0,01c	0,07±0,01c	0,05±0,01d	0,05±0,01d	0,05±0,01d
X2	0,08±0,01a	0,06±0,01b	0,08±0,01a	0,06±0,01b	0,06±0,01b	0,06±0,01b	0,07±0,01b
X	**0,19±0,02[a]**	**0,14±0,02b**	**0,15±0,01b**	**0,13±0,01bc**	**0,11±0,02c**	**0,11±0,02c**	**0,12±0,01bc**
n-6	13,84±0,47a	13,12±0,28b	12,76±0,17c	11,59±0,14d	11,30±0,08d	11,26±0,04d	11,25±0,05d
n-3	1,73±0,14a	7,32±0,15b	8,55±0,11c	9,76±0,12d	10,10±0,09d	10,21±0,13d	10,29±0,05d
AGPI/AGS	**0,41±0,04a**	**0,57±0,09b**	**0,61±0,05c**	**0,62±0,06cd**	**0,64±0,11de**	**0,64±0,09de**	**0,65±0,08e**
n-6/n-3	**8,00±0,10a**	**1,79±0,01b**	**1,49±0,01c**	**1,19±0,01d**	**1,12±0,01d**	**1,10±0,01d**	**1,09±0,01d**

Resultados são médias de 6 replicatas com as respectivas estimativas dos desvios padrões. Os resultados são expressos em porcentagem de área relativa. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey. Abreviaturas: **AGS**: ácidos graxos saturados; **AGMI**: ácido graxos monoinsaturados; **AGPI**: ácidos graxos polinsaturados (insaturação ≥ 2); **Trans:** ácidos graxos *trans*; **X**: ácidos graxos não identificados; **n-6:** ácidos graxos ômega-6; **n-3:** ácidos graxos ômega-3; **AGPI/AGS**: razões entre ácidos graxos polinsaturados/ saturados; **n-6/n-3:** razões entre ácidos graxos ômega-6/ômega-3.

A influência da dieta na composição de ácidos graxos dos peixes é um fato já estabelecido (Mourente et al., 2005), deste modo, variações nas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 (n-3) e ômega-6 (n-6) foram nitidamente percebidos entre os tratamentos com as rações I e II.

Observa-se (**Tabela 9 e Tabela 10**) que o fornecimento de ração II (óleo de linhaça) resultou na incorporação do ácido LNA no filé de tilápia (*Oreochromis niloticus)* e, conseqüentemente no total de ácidos graxos poliinsaturados n-3, e que este está diretamente relacionada com o tempo de fornecimento da ração. Este aumento ficou bem estabelecido uma vez que os valores variaram de 0,39% (zero dia) a 6,62% (90 dias), apresentando diferença ($p<0,05$) até o 45° dia de tratamento. No tratamento com a ração I, o teor de LNA variou de 0,38 a 0,76%, não apresentando diferença a partir do 60° dia de tratamento.

O LNA é um precursor da série de ácidos graxos ômega-3, sendo convertido por elongação e dessaturação em EPA e DHA. Neste experimento, parte do LNA não foi convertido, mas, estocado no tecido muscular das tilápias. Estes ácidos graxos são considerados de grande importância fisiológica e nutricional e ao longo de 90 dias de tratamento os teores de LNA e DHA foram aumentados, enquanto que os valores de EPA mantiveram-se constantes. Isto se deve ao fato de que o EPA além de ser um precursor de DHA também é precursor de leucotrienos (Youndim, et al., 2000; Albertazzi & Coupland, 2002). Os leucotrienos são compostos que influenciam inúmeras funções celulares que controlam mecanismos fisiológicos e patológicos no organismo (Smith, 1992).

A capacidade de elongar e dessaturar ácidos graxos como o LNA ficou comprovada pelos aumentos nos teores da maioria dos ácidos graxos em tilápias que consumiram a ração enriquecida com óleo de linhaça.

Valores superiores aos encontrados neste experimento de LNA (10,64%), EPA (0,45%) e DHA (5,05%) foram encontrados por Visentainer (2003) em filés de tilápias (*Oreochromis niloticus)* cultivadas e alimentadas com ração apresentando 5% de óleo de linhaça, por 5 meses de tratamento. Maia (1992) encontrou valores de LNA (0,4%), EPA (traços) e DHA (1,1%) em tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus)* cultivadas e alimentadas com ração formulada com ingredientes vegetais.

O ácido linoléico (LA), precursor da série n-6 (especialmente o AA), componente majoritário da ração I e um dos predominantes na ração II **(Tabela 6)**, foi transferido para os tecidos musculares, onde também foi encontrado como um dos

predominantes. Ao longo do tempo de tratamento com a ração II, o LA apresentou teores que variaram de 8,74% a 9,98% para 0 (zero) e 30 dias respectivamente, não apresentando diferença ($p>0,05$) a partir do 45° dia de tratamento. Os teores de AA variaram de 0,13% no período de 60 e 75 dias a 1,91% (início do tratamento), sem diferença ($p>0,05$) a partir do 45° dia de tratamento. A redução nos valores de AA pode ser explicada pela presença de elevadas concentrações de AGPI n-3 que poderiam ter inibido o metabolismo da série n-6 (Horrobin, 1991). A composição do tecido muscular de tilápias alimentadas com a Ração I (**Tabela 9**) apresentou valores médios de LA que variaram de 8,75% (início do tratamento) a 13,52% ao término dos 90 dias, não apresentando diferença ($p>0,05$) a partir do 45° dia de tratamento. Os valores de AA variaram de 1,88% no início a 2,50% aos 90 dias de tratamento, apresentando diferença ($p<0,05$) até o período de 45 dias. O AA é um precursor específico de eicosanóides (tromboxanos, leucotrienos e prostaglandinas), que apresentam funções de mediar processos fisiológicos (Funk, 2001; Kitajka et al., 2004), tais como, a contração de músculos lisos, inflamação, percepção da dor (Harborne & Williams, 2000; Silva et al., 2002) e a regulação do fluxo sanguíneo (Calder & Field, 2002).

Os somatórios de (AGPI) em tecido muscular de tilápias alimentadas com a Ração II variaram de 15,57 a 21,54% e as alimentadas com a ração I variaram de 15,49 % a 21,13% para zero e 90 dias, respectivamente.

Os AGS variaram de 38,33 - 33,17% (ração II) e 39,65 a 34,11% (ração I) para zero e 90 dias, respectivamente, mantendo-se em ordem decrescente no decorrer do tempo. Valores superiores foram encontrados por Maia (1992), 41,00%. Valores próximos em outras espécies de peixes cultivados foram encontrados por Moreira et al., (2001) espécie de *Brycon* (33,63 a 38,83%) e valores inferiores foram encontrados por Justi et al., (2003), 15,2% em amostras de tilápia alimentadas com ração contendo 5% de óleo de linhaça.

Do ponto de vista nutricional, a ingestão de ácidos graxos saturados aumenta o nível de colesterol sérico em humanos (Ewin, 1997), entretanto, os níveis de colesterol total no plasma diminuem quando a ingestão de ácidos graxos saturados são substituídos por monoinsaturados (*Department of Health*, 1994).

Os valores das razões de AGPI/AGS em tilápias alimentadas com a Ração II variaram de 0,41 a 0,65 e para as tilápias alimentadas com a ração I variaram de 0,39 a 0,62. Ambas as razões apresentaram diferença ($p<0,05$) ao longo do período. Visentainer (2003) encontrou valores de 2,13 para tilápias da mesma espécie

alimentadas com ração apresentando 5% de óleo de linhaça. Moreira et al., (2001) e Maia et al., (1995) encontraram razão de 0,37 para matrinxã (tanque) e pacu (tanque), respectivamente e Maia & Rodriguez-Amaya (1992) encontraram 0,3 para tambaqui (tanque), todos alimentados com ração comercial. De acordo com *Departament of Health and Social Security* (HMSO, 1984) as dietas que apresentam razão AGPI/AGS superior a 0,45 são consideradas saudáveis sob o ponto de vista nutricional para humanos.

Os AGMI apresentaram no tratamento com ração I uma variação de 42,84% a 44,68% com diferenças ($p<0,05$) ao longo do período e no tratamento com a ração II a variação foi de 43,32% a 45,91%, não apresentando diferença ($p>0,05$) entre os períodos de 30 e 45 dias e de 60 a 90 dias de tratamento.

O total de ácidos graxos n-6 e n-3 variaram de (n-6: 13,84 -11,25% e n-3: 1,73 -10,29%) quando alimentados com a ração II e variação de (n-6: 13,75 -19,72% e n-3: 1,74 -1,41%) quando alimentados com a ração I. Estes somatórios não apresentaram diferença a partir de 45 dias de tratamento. Observa-se nos somatórios de n-6 e n-3 uma redução gradativa de AGPI n-6 e um aumento de AGPI n-3 em tilápias alimentadas com ração II, isto pode ser justificado pelo incremento (adição de 7%) de óleo de linhaça na Ração II.

As razões n-6/n-3 encontrados neste trabalho apresentaram redução com variações de 8,00 a 1,09 para tilápias alimentadas com a ração II e variações de 7,90 a 13,98 para tilápias alimentadas com a ração I. Visentainer (2003) encontrou valores de 1,40 para tilápias da mesma espécie alimentadas (por 5 meses) com ração apresentando 5% de óleo de linhaça. Moreira et al. (2001) encontrou valores de 8,79 para matrinxã, Maia et al. (1995) encontraram razão de 14,1 para pacu e Maia & Rodriguez-Amaya (1992) encontraram 9,8 para tambaqui.

O *Department of Health* (1994) da Inglaterra recomenda valor de no máximo 4, para as razões n-6/n-3, enquanto Simopoulos (1991) recomenda um intervalo de 5 a 10 e Schmidt (2000) e Simopoulos et al., (1999) consideram ideal a razão de 1 a 2.

No tratamento com óleo de linhaça, os valores de n-6/n-3 decresceram significativamente ($p<0,05$) até o 45° dia (**Tabela 10),** após este período houve estabilidade e ao final de 90 dias de tratamento apresentou valor de 1,09, estando dentro da faixa considerada ideal, conforme descrito por Schmidt (2000) e Simopoulos et al., (1999).

3.4 - Composição Quantitativa de Ácidos Graxos dos Lipídios Totais do Controle e tratamento com Óleo de Linhaça

A composição quantitativa de LNA, EPA, DHA, LA e AA em mg/g de lipídios totais dos filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) submetidas ao tratamento com as rações I e II é mostrada nas **Tabelas 11** e **12**.

Tabela 11. Composição quantitativa de LNA, EPA, DHA, LA, e AA em mg/g de lipídios totais em filés de tilápias submetidas ao tratamento com ração enriquecida com óleo de soja.

Ácidos Graxos	Ração I (Óleo de Soja) – Tempo em número de dias						
	0 dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
LNA	3,26±0,27a	3,93±0,14b	3,97±0,15bc	4,31±0,29cd	4,28±0,14cd	4,39±0,35cd	4,44±0,18d
EPA	0,74±0,03a	0,62±0,05b	0,61±0,05b	0,61±0,01b	0,54±0,01b	0,53±0,10b	0,54±0,07b
DHA	6,67±0,87a	3,66±0,15b	3,37±0,18b	2,03±0,10c	1,85±0,06c	1,75±0,12c	1,72±0,18c
LA	73,98±1,67a	90,99±1,73b	92,16±2,32b	99,63±1,38c	101,52±2,40c	101,75±2,70c	102,14 ±2,03c
AA	15,90±1,54	16,35±0,53	17,05±0,68	17,35±0,27	17,41±1,06	17,54 ±0,87	17,58±0,37

Os resultados são médias de seis replicatas com estimativas do desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey. **Controle*:** Corresponde à média das replicatas do tratamento com a ração I (Óleo de soja) para os períodos de 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias**.** Abreviaturas: **LNA:** ácido alfa-linolênico; **EPA:** ácido timnodônico; **DHA:** ácido cervônico; **AA:** ácido araquidônico; **LA:** ácido linoléico. Os resultados são expressos em miligramas/grama de lipídios totais. **(mg/g de Lipídios Totais).**

Os ácidos graxos da dieta são transferidos para os peixes por meio da alimentação e podem ser utilizados no seu metabolismo e/ou transformados em outros ácidos (Zenebe et al., 1998; Henderson, 1996). Na dieta controle (ração I), observa-se altas concentrações para o LA e AA com 102,14 e 17,58 mg/g de LT, respectivamente e baixas concentrações de LNA (4,44 mg/g de LT) e DHA (1,72 mg/g de LT) ao término do tratamento, quando comparados à dieta com óleo de linhaça. A alta concentração de ácidos graxos n-6 deve-se ao fato de que a dieta destes peixes mediante fornecimento da ração I (á base de óleo de soja) apresenta baixos teores de AGPI n-3 e altos teores de AGPI n-6 resultando uma menor concentração de AGPI n-3 no filé das tilápias deste tratamento.

A baixa concentração de DHA, pode também ser explicada pelo fato de parte deste ácido graxo ter sido metabolicamente convertido em eicosanóides (Turatti, 2000), que abrangem as tromboxanas, prostaglandinas e que são responsáveis pela inibição de doenças cardiovasculares (Turatti et al., 2002).

Tabela 12. Composição quantitativa de LNA, EPA, DHA, LA, e AA em mg/g de lipídios totais em filés de tilápias submetidas ao tratamento com ração enriquecida com óleo de linhaça.

Ácidos Graxos	Ração II (Óleo de Linhaça) – Tempo em número de dias						
	0 dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
LNA	3,20±0,13a	39,61±0,41b	43,29±0,89c	51,22±0,65d	53,97±0,47d	55,58±1,07d	56,89±1,97d
EPA	0,75±0,06	0,87±0,06	0,83±0,13	0,83±0,07	0,83±0,02	0,87±0,12	0,90 ± 0,05
DHA	6,68±0,35a	7,26±0,40ab	7,71±0,52ab	8,47±0,27b	8,62±0,60b	8,73±0,52b	9,07±0,44b
LA	73,60±0,36a	71,75±0,99ab	70,41±1,18ab	67,52±0,71b	66,32±1,60b	65,89±1,76b	64,97±1,84b
AA	15,02±0,62a	8,76±0,23b	4,52±0,22c	1,10±0,61d	1,00±0,03d	1,00±0,08d	0,93±0,12d

Os resultados são médias de seis replicatas com estimativas do desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey. **Controle*:** Corresponde à média das replicatas do tratamento com a ração I (Óleo de soja) para os períodos de 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias**.** Abreviaturas: **LNA:** ácido alfa-linolênico; **EPA:** ácido timnodônico; **DHA:** ácido cervônico; **AA:** ácido araquidônico; **LA:** ácido linoléico. Os resultados são expressos em miligramas/grama de lipídios totais. **(mg/g de Lipídios Totais).**

A semente de linho é considerada uma das maiores fontes de LNA (44,6 a 51,5%) e devido a este fato tem sido bastante prestigiada nos últimos anos (Ceotto, 2000). Com o fornecimento da ração II houve um aumento significativo e crescente nas concentrações dos ácidos LNA e DHA. A concentração (mg/g de lipídios totais) de LNA variou de 3,20 (zero dia) a 56,89 (90 dias de tratamento) não apresentando diferença significativa (p<0,05) a partir de 45 dias de tratamento. A concentração de DHA também apresentou aumento ao longo do período, com variações de 6,68 a 9,07(mg/g de lipídios totais) para zero e 90 dias respectivamente, não apresentando diferença após o 45° dia de tratamento. O EPA não apresentou diferença significativa (p>0,05) em sua concentração ao longo do período de tratamento. Peixes de água doce, como a tilápia apresentam enzimas capazes de alongar e dessaturar os ácidos LNA (precursor da família n-3) e LA (precursor da família n-6) em outros ácidos graxos. Portanto, ministrando para estes peixes alimentos como ácido LNA, serão produzidos ácidos graxos da família n-3 de importante valor nutricional como o DHA e EPA (Visentainer, 2003). A alta concentração de LNA (56,89 mg/g de Lipídios Totais) ao término do tratamento indica que não só foi convertido a DHA e EPA, mas também foi estocado no tecido muscular das tilápias. O EPA por sua vez, manteve-se constante não somente pelo fato de ser convertido em DHA, mas também por ser convertido em compostos que reduzem o risco de doenças cardíacas, os leucotrienos (Nestel, 2000; Schacki, 2000).

Alguns autores como Gerster (1997) e Kris-Etherton et al., (2000) sugerem que a ingestão diária de (EPA + DHA) pelo homem deve ser de 1,25g e 0,65g, respectivamente, apesar destes valores não estarem definitivamente estabelecidos. No

entanto, o *Department of health* (1994) sugere a ingestão diária de 0,2g de AGPI n-3 de cadeia longa, para prevenção de doenças cardiovasculares e inflamatórias.

Desta forma, considerando o peixe como única fonte de AGPI n-3 de cadeia longa (EPA e DHA), a ingestão de 200g de filés de tilápia do tratamento com óleo de linhaça (após 90 dias de tratamento), diariamente, poderá suprir as exigências nutricionais.

Com relação às concentrações de LA e AA, observa-se uma redução ao longo do período de tratamento, ambos apresentando diferença significativa ($p<0,05$) até o 45° dia de tratamento. Como as enzimas envolvidas são comuns na via da elongação e dessaturação (Cho et al., 1999) dos ácidos LNA e LA e devido ao fornecimento de LNA houve uma maior conversão de n-3, especialmente DHA, aumentando sua concentração no tecido muscular das tilápias.

De modo geral, a ingestão de ácidos graxos n-3 e n-6 e seus precursores por humanos, tem sido muito divulgada no mundo todo através de inúmeros estudos. Estes estudos destacam a importância destes ácidos graxos na fase gestacional (Hornstra, 2000; Sanders, 1999), nos primeiros meses após o nascimento (Hornstra, 2000; SanGiovanni et al., 2000; Uauy et al., 2001), na terceira idade (Yehuda et al., 2002; Albertazzi & Coupland, 2002) e em diversas doenças (Youdim et al., 2000; Yehuda et al., 2002), principalmente degenerativas. Fica deste modo evidenciado que o fornecimento de um precursor n-3 pode aumentar o potencial nutritivo de tilápias, principalmente em termos de ácidos graxos n-3, podendo desta forma, suprir as necessidades nutricionais destes ácidos em humanos.

3.5 - Análise sensorial

De um total de 49 provadores 14 (28,57%) fizeram à identificação correta, ou seja, identificaram através do paladar as amostras de filés de tilápia submetidas ao tratamento com óleo de linhaça e 35 (71,43%) fizeram à identificação incorreta, ou seja, não diferenciaram as amostras tratadas com óleo de soja e óleo de linhaça. Assim sendo, ficou estabelecido que o fornecimento da ração enriquecida com óleo de linhaça não altera consideravelmente o sabor da carne (filé) de tilápia.

4. CONCLUSÕES

Com o fornecimento de ração com óleo de linhaça para tilápias (*Oreochromis niloticus)* cultivadas, na fase final de criação, ocorre incorporação e síntese de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 (AGPI n-3), no tecido muscular (filés) das mesmas, melhorando o potencial nutritivo do conteúdo lipídico destes peixes, em diversos aspectos: aumentando os teores de LNA, DHA no decorrer do tratamento; aumentando o somatório de AGPI n-3; aumentando as razões AGPI/AGS e reduzindo as razões n-6/n-3.

Ficou bem estabelecido quantitativamente (em mg/g de LT) o potencial nutritivo (em termos de conteúdo lipídico) da carne (filé) destas tilápias de acordo com tempo de fornecimento de rações enriquecidas com óleo de linhaça, não alterando seu sabor.

Também, ficou evidenciado que o fornecimento desta ração até o período de aproximadamente de 45 dias é suficiente para uma boa incorporação de AGPI n-3, sendo desnecessários os 90 dias de tratamento, desta forma o custo com a alimentação será reduzido.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ackman, R.G. (1989). Nutritional composition of fats in seafood. **Progress of Food and Nutrition Science**, 13, 161-241.

Ackman, R.G. & Sipos, J.C. (1964). Application of specific response factors in the gas chromatography analysis of methyl esters of fatty acids with flame ionozation detectors. **Journal American Oil Chemical Society**, 41, 377-378.

Adesulu, E. A.; Mustapha, a. K. (2000). Use of housefly maggots as a fishmeal replacer in the tilapia cultive: A recent vogue in the Nigeria in: International Symposium of tilapia aquaculture, Rio de Janeiro. **Panorama da Aqüicultura**, 1, 138-143.

Albertazzi, P. & Coupland, K. (2002). Polyunsaturated fatty acids. Is there a role in postmenopausal osteoporosis prevention. **Maturitas.** 42, 3-22.

Bacconi, D. F. (2003). Exigência Nutricional de vitamina A para alevino de tilápia do Nilo *(Oreochromis niloticus)*. **Dissertação de Mestrado** – Universidade de São Paulo. Piracicaba/SP.

Badolato, E. S. G.; Carvalho, J. B.; Amaral Mello, M. R. P.; Tavares, M.; Campos, N. C.; Aued-Pimentel, S.; Moraes, C. (1994). Composição centesimal de ácidos graxos e valor calórico de cinco espécies de peixes marinhos nas diferentes estações do ano**. Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 1, 27-35.

Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, 37, 911-7.

Calder, P.C. & Field, C.J. (2002). Fatty acids and the immune system, in: P.C. Calder, C.J. Field, H.S. Gill (Eds.), **Nutrition and the Immune System**, CABI, New York, 57–92.

Carter, J. F. (1993). Potential of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. **Cereal Food World**, 38, 753-59.

Chaves, J.B.P. (1980). **Avaliação sensorial de alimentos** – Métodos de análises, Viçosa. Editora da Universidade Federal de Viçosa, 69p.

Ceotto, B. (2000). O que é que a linhaça tem. Dentro das sementes da planta que dá origem ao linho há componentes que equilibram os hormônios femininos e reforçam as defesas do corpo. **Revista Saúde**, 37-40.

Chaves, J.B.P. (1980). Avaliação sensorial de alimentos – Métodos de análises. Viçosa. Editora da Universidade Federal de Viçosa. 69p.

Cho, H.P.; Nakamura, M.T.; Clarke, S.D. (1999). Cloning, expression and nutritional regulation of the mammalian delta-6 dessaturase. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, 274, 471-477.

Connor, W. E. (1999). A-linolenic acid in health and disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, 69, 827-828.

Contreras-Guzman, E. S. (1994). **Bioquímica de Pescados e Derivados**. Ed. FUNDEP. Jaboticabal/SP, 409pp.

Christie, W. W. (1994). Gas chromatography and lipids – A pratical guide, 1 Ed. **The oil press Ltda Dundee** – Scotland, 307.

Cunniff, P. A. (Ed.). (1998). **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists.

Department of Health, (1994). Report in health and Social subjects, n° 46. Nutritional aspects of cardiovascular Disease. **HMSO**, London, 178.

Departament of Health and Social Security, (1984). Report on Health and Social Subjects n° 28, Diet and cardiovascular Disease, **HMSO**, London.

Ettre, L. S., (1964). **Analytical Chemistry**, 36, 31 A.

Ewin, J. (1997). **O Lado Sadio das Gorduras**. Tradução de Ana Beatriz Rodrigues. Editora Campus Ltda, Rio de Janeiro, 162p.

FAO (2004). **Fisheries Circular C100.** Global aquaculture outlook: a analysis of global aquaculture production forecasts to 2020. Rome. Disponível em http://www.fao.org/fi/website/FIRetrieveAction.do?dom=topic&fid=13540#container. Acesso em:16/04/2007.

Fitzsimmons, K. (2000).Tilapia: the most important aquaculture species of the 21st century. In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5., 2000, Rio de Janeiro. **Proceedings...** Rio de Janeiro: DPA/MA, 3-8.

Funk, C.D. (2001). **Science.** 294**,** 1871–1875.

Gerster, H. (1997). Can adults adequaly convert alfa-linolenic (18:3n-3) to eicosapentaenoic acid (20:5n-3) and docosahexaenoic acid (22:6n-3). **International Journal of Vitamin and Nutrition Research**, 68, 159-73.

Harborne J.B. & Williams C.A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry** 55, 481-504.

Harris, W.S. (1997). Fish oils, omega-3 polyunsaturated fatty acids, and coronary heart disease. **Backgrounder,** 2, 1-8.

Hayashi, C.; Soares, C.M.; Meurer, F. Boscolo, W.R. (2000). Uso de diferentes óleos vegetais em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.), na fase inicial. In: Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 37. Viçosa. **Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2000.

Henderson, R.J. (1996). Fatty acid metabolism in freshwater fish with particulas reference to polyunsaturated fatty acids. **Archives of Animal Nutrition**, 49, 5-22

Hornstra, G. (2001). Importance of polyunsaturated fatty acids of the n-6 and n-3 families for early human development. **European Journal of Science and Technology**, Weinheim, 103, 379-389.

Hornstra, G. (2000). Essential fatty acids in mothers and their neonates. **American Journal of Clinical Nutrition**, 71 (5Suppl); 1262S-9.

Horrobin, D. F. (1991). Interactions between n-3 and n-6 essential fatty acids (EFAs) in the regulation of cardiovascular disorders and inflammation. **Prostaglandins, Leukot Essential Fatty Acid**s, 44, 127-131

Izquierdo, P.C.; Ferrari, G.T.; Martinez, Y.B.; Salas, E.M.; Cagnasso, M.A. (2000). Análisis proximas, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela. **Archive Latino Americano de Nutrition**, 50, 187-194.

Joseph, J.D. & Ackman, R.G. (1992). Capillary column gas chromatography method for analysis of encapsulated fish oil and fish oil ethyl esters: collaborative study. **Journal of AOAC International**, 488-506.

Justi, K.C.; Hayashi, C.; Visentainer, J.V.; Souza, N.E.; Matsushita, M. (2003). The influence of feed supple time on the fatty acid profile of Nile tilapia. (*Oreochromis niloticus*) fed on a diet enriched with n-3 fatty acids. **Food Chemistry**, 80, 489-493.

Kitajka, K.; Sinclair, A.J.; Weisinger, R.S.; Weisinger, H.S.; Mathai, M.; Jayasooriya, A. P.; Halver, J.E.; Puska´ L.G. (2004). Effects of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids on brain gene expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS),** 101, 10931–10936.

Kris-Etherton, P. M.; Taylor, D.S.; Yu-Pot, S.; Huth, P.; Moriarty, K.; Fishell, V.; Hargrove R.L.; Zhao G.; Etherton T.D. (2000). Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. American **Journal of Clinical and Nutrition**, 71, 179S-88S.

Lovshin, L.L. (2000). Tilapia Aquaculture in Brazil. In: COSTA-PIERCE, B.A.; RAKOCY, J.E. (Ed.). Tilapia aquaculture in the Americas 2. baton Rouge: **The World Aquaculture Society**, 133-140.

Madsen, L.; Rustan, A.C.; Vaagenes, H.; Berge, K.; Dyroy, E.; Berge, R.K. (1999). Eicosapenatenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to abstract preference. **Lipids**, Champaing, 34, 951-963.

Maia. E.L. (1992). Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídicos e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce. Campinas (**Tese de doutorado** – Universidade Estadual de campinas).

Maia, E.L. & Rodriguez-Amaya, D. B. (1992). Fatty acid composition of the total, neutral and phospholipids of the Brazilian freshwater fish *Colossoma macropomum.* In: **Food Science and Human Nutrition**. G. Charalambous (Ed), 633-42.

Maia, E.L.; Rodríguez-Amaya, D.B.; Hotta, L.K. (1995). Fatty acids composition of the total, neutral and phospholipids of pond-raised Brazilian piaractus mesopotamicus. **International Journal of Food Science and Technology**, 30, 591-97.

Martin, A.C.; Almeida, V.V.; Ruiz, M.R.; Visentainer, J.E.L.; Matshushita, M. Souza, N.E.; Visentainer, J.V. (2006). Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, nov/dez., Campinas, 19, 761-770.

Mc Nair, H.M. & Bonelli, E.J., (1968). **Basic Gas Chromatography**. 4 edição. Varian, Berkeley, Califórnia.

Meurer F.; Hayashi C.; Boscolo W.R. (2003). Influência do Processamento da Ração no Desempenho e Sobrevivência da Tilápia do Nilo Durante a Reversão Sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 32, 262-267.

Moreira, A.B.; Visentainer, J.V.; Souza, N.E.; Matsushita, M. (2001). Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brasilian *brycon* freshwater fishes. **Journal Food Composition and Analysis**, 14, 565-74.

Mourente, G.; Good, J.E.; Bell, J.G. (2005). Partial substitution of fish oil with rapeseed, linseed and olive oils in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): effects on flesh fatty acids composition, plasma, prostaglandins E_2 F_{2alfa}, immune function and effectiveness of a fish oil finishing diet. **Aquaculture Nutrition**, Berger, 11, 25-40.

Nestel, P. (2000). Fish oil and cardiovascular disease: lipids and arterial function. **American Journal of Clincal Nutrition**, 71(Suppl.), 228S-231S.

Pezzato, L.E. (1999). Alimentação de peixes – relação custo e benefício. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 36, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 107-118.

Puwastien, P.; Judprasong, K.; Kcttwan, E.; Vasanachitt, K.; Nakngamanong, Y.; Bhattacharjcc, L. (1999). Proximate composition of raw and cooked Thai freshwater and marine fish. **Journal of Food Composition and Analysis,** 12, 9-16.

Raes, K.; de Smet, S.; Demeyer, D. (2004). Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linolenic acid in lamb, beef

and pork meat: a review. **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, 113, 199-221.

Ratnayake, W.M.N.; Pelletier, G.; Hollywood, R.; Baclers, S.; Leite, D. (1998). *Trans* fatty acids in Canadian margarine: Recent trends. **Journal of the American Oil Chemists Society,** Champagn, 75, 1587-1594.

Ribeiro, R.P.; Haiashi, C.; Furuya, W.M**. (**1995). **Curso de piscicultura** – criação racional de tilápias. FADEC – Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 23.

Salem, Jr., N. (1999). Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Backgrounder**, 3, 1-8.

Sanders, T.A.B. (1999). Essential fatty acid requirements of vegetarians in pregnancy, lactation and infancy. **American Journal of Clinical Nutrition,** 70 (3Suppl.): 555S-9.

SanGiovanni, J.P.; Berkey, C.S.; Dwyer, J.T.; Colditz, G.A. (2000). Dietary essential fatty acids, lon-chain polyunsaturated fatty acids, and visual resolution acuity in healthy full term infants: a systematic review. **Early Human Development.** 3, 165-88.

Schacki, C.V. (2000). N-3 Fatty acids and the prevention of coronary atherosclerosis. **American Journal of Clinical Nutrition**, 71(Suppl.), 2245-2275.

Schmidt, M.A. (2000). **Gorduras inteligentes**. Trad. De Dirceu Henrique Pereira. São Paulo-SP. Editora Roca LTDA, 231p.

Scrimgeor, C.M.; Macuean, A,A.; Fernie, C.E.; Sebédio, J.L.; Riemersma, R.A.; (2001). Dietary trans α-linolenic acid does not inhibit Δ5 and Δ6 desaturation of linoleic acid in man. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, 103, 341-349.

Simopoulos, A.P. (2000). Symposium: role of poultry products in enriching the human diet with n-3 PUFA: human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. **Poultry Science,** savoy, 79, 961-970.

Simopoulos, A.P. (1991). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development, **American Journal of Clinical Nutrition**, 54, 438-63.

Simopoulos, A. P., Leaf, A., Salem, N. (1999). Essentiality and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. **Annals of Nutrition and Metabolism**, 43, 127-30.

Smith, W.L. (1992). Prostanoid biosynthesis and mechanism of action. **American Journal Physiological and Renal Physiological,** 263, 181-91.

Souza, M.L.R.; Baccarin, A. E*.;* Macedoviegas, E.M*.;* Kronka*,* S.N. (2004). Defumação de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) inteira eviscerada e filé: Aspectos referentes as características organolépticas, composição centesimal e perdas ocorridas no processamento. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, 23, 27-36.

Statistica, (2005). ***Statistica 5.0*** *Software*. StaSoft, Tucksa.

Steffens, W. (1997). Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. **Aquaculture,** Amsterdam, 151, 97-119.

Stickney, R.R.; Mcgeachin, R.B. (1983). Effects of dietary lipid quality on growth and food convertion of tilápia. Proc. Annu. Conf. Southeast. **Association Fish and Wildlife Agencies**, 37, 352-357.

Turatti, J.M. (2000). Óleos vegetais como fonte de alimentos funcionais. **Food Ingredients,** 9, 56-57.

Turatti, J.M.; Gomes, R.A.R.; Athié, I. (2002). **LIPÍDEOS: Aspectos funcionais e novas tendências.** Campinas: ITAL. 78p.

Uauy, R.; Hoffman, D.R.; Peirano, P., Birch, D.G., Birch, E.E. (2001). Essential fatty acids in visual and brain development. **Lipids**, 36, 885-95.

Visentainer, J.V. (2003). Composição de ácidos graxos e quantificação dos ácidos graxos LNA, EPA e DHA no tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*), submetidas a diferentes tratamentos com óleo de linhaça. **Tese de doutorado**. FEA/Unicamp, Campinas, SP.

Visentainer, J.V.; Souza, N.E.; Matsushita, M.; Hayashi, C.; Franco, M.R.B., (2005). Influence of diets enriched with flaxseed oil on the alfa-linolenic (LNA), eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) fatty acid in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)**. Food Chemistry**, 90, 557-560.

Visentainer, J.V.; Bueno Franco, M.R. (2006). **Ácidos Graxos em óleos e gorduras: Identificação e Quantificação**. São Paulo: Varela, 120p.

Wilson, R.P. (1995). Lipid nutrition of finfish. Nutrition and utilization technology In: Aquaculture. **AOAC** Press, Champain, 74-81.

Wilson, R.P. (1998). State of art of warm Walter fish nutrition. In: AQUICULTURA BRASIL 98, 1,1998, Recife. **Anais.** Recife: Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, 375-380.

Wood, J.D.; Richardson, R.I.; Nute, G.R.; Fisher, A.V.; Campo, M.M.; Kasapidou, E.; Sheard, P.R.; Enser, M. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat Science**, Loughborough, 63, 1-12.

Yehuda, S.; Rabinovitz, S.; Carasso, R.L.; Mostofsky, D.I. (2002). The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. **Neurobiology of Aging,** 23, 843-53.

Youndim, K.A.; Martin, A.; Joseph, J.A. (2000). Essential fatty acids and the brain: possible health implications. **International Journal Development**. Neurosis, 18, 383-99.

Zenebe, T.; Ahlgren, G.; Gustafsson, I.B. (1998). Fatty acid and lipid content or *Oreochromis niloticus* L. in Ethiopian lakes – dietary effects of phytoplankton. Ecology of Freshwater Fish**. Journal of Fish Biology**, 7, 146-58.

CAPÍTULO III

ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NAS FRAÇÕES DE LIPÍDIOS NEUTROS E FOSFOLIPÍDIOS DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus)* SUBMETIDAS AO TRATAMENTO COM ÓLEO DE LINHAÇA.

1. INTRODUÇÃO

O pescado é considerado um alimento de extrema importância na dieta por sua riqueza de nutrientes, alto conteúdo protéico e lipídios de excelente qualidade. Está bem estabelecido que o aumento na ingestão de ácidos graxos de cadeia longa, particularmente os da série n-3 reduz o rico de doenças cardíacas (Inhamuns e Bueno Franco, 2001).

Os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa não são sintetizados pelos mamíferos e são considerados essenciais para o bom desempenho dos organismos, por essa razão, esses ácidos graxos devem ser incluídos na dieta alimentar (Martino & Takahashi, 2001). Os ácidos graxos essenciais para a alimentação humana são o ácido linoléico (LA, 18:2n-6), pertencente à série n-6 (AGPI n-6) e o ácido alfa linolênico (LNA, 18:3n-3) que pertence série n-3 (AGPI n-3), (Hornstra, 2001; Calder, 2001). O primeiro está presente em grande quantidade na maioria dos óleos vegetais, como o de milho, girassol e soja, enquanto o segundo é encontrado em vegetais de folhas verdes principalmente no óleo de linhaça *(Linum usitatissimum)* com teores que variam de 44,6 a 51,5% de LNA (Ceoto, 2000).

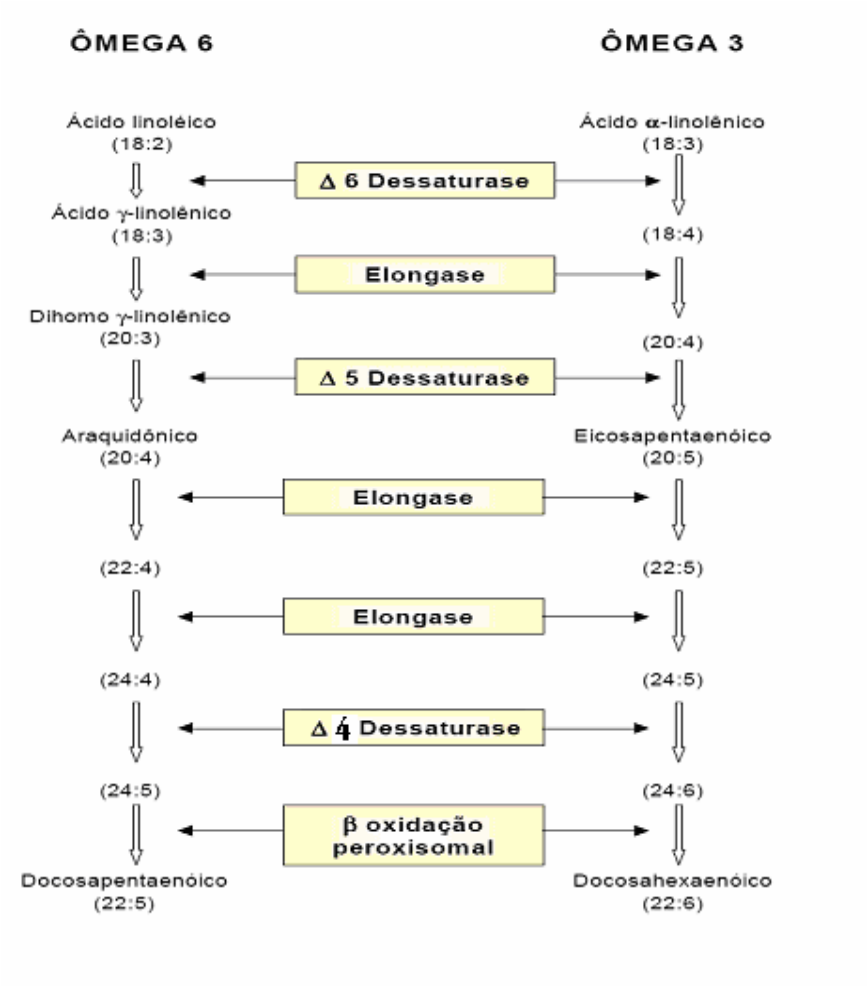
Metabolicamente, o ácido alfa-linolênico (18:3n-3, LNA) pode ser convertido nos ácidos cervônico (DHA, 22:6n-3) e timinodônico (EPA, 20:5n-3) **(Figura 1)** e o ácido linoleico (18:2n-6, LA) pode ser convertido em ácido arquidônico (AA, 20:4n-6) (Cho, et al., 1999).

Na espécie humana, os tecidos que têm a capacidade de biossintetizar EPA e DHA são: o fígado, as gônadas, e em menor escala, o cérebro e o tecido adiposo (Innis, 2000), e o fazem a partir do precursor ácido alfa-linolênico, através de sistemas enzimáticos de alongamento e dessaturação (**Figura 1**). A velocidade desta

transformação é muito lenta, principalmente quando a dieta é rica em ácido linoléico (LA), que compete pelas mesmas enzimas (Haag, 2003).

A necessidade adicional de ácidos graxos de cadeia longa n-3 (DHA e EPA) na dieta está sendo discutida e recomendada (Byrne, 1994; Brum et al., 2002) devido a seus efeitos benéficos para a saúde humana (Holub, 2002). Estes ácidos também estão relacionados na prevenção de doenças como artrite reumática (Darlington, 1988), depressão (Edwards et al., 1998), depressão pós-parto, câncer, diabetes mellitus (McManus, et al., 1996) entre outros (Horrocks & Yeo, 1999; Sanderson et al., 2002; Fagundes, 2003).

A **Figura 1** mostra a competição metabólica entre as séries n-6 e n-3.



Fonte: Salem (1999).

Os ácidos graxos n-3 e n-6, (especialmente o AA), são incorporados preferencialmente nos fosfolipídios das membranas celulares e membrana celular das organelas (Wang, 1990; Guyton & Hall, 1997), exercendo funções vitais, mas não se

encontram disponíveis como fonte de reserva de energia (Henderson & Tocher, 1987). Os fosfolipídios também, são requeridos para o crescimento e manutenção das células, onde desempenham papel estrutural e funcional, são precursores de eicosanóides e ainda são requeridos na expressão genética e na comunicação intercelular (Hunter & Roberts, 2000; Simopoulos, 2000).

A composição dos AGPI das membranas celulares depende, em grande dimensão da quantidade ingerida na dieta. As duas séries de AGPI (n-3 e n-6) devem ser bem diferenciadas, pois são metabolicamente diferentes e possuem fisiológicas opostas, deste modo o equilíbrio nutricional é importante para se conseguir a homeostase e desenvolvimento normal do organismo. Um balanço da proporção de n-6/n-3 na dieta é essencial no metabolismo do organismo humano, levando a prevenção de doenças cardiovasculares e crônicas degenerativas e também a uma melhor saúde mental (Simopoulos, 2000).

Em busca de uma alimentação saudável e a fim de suprir as quantidades adequadas de AGPI n-3 na dieta, a produção e o consumo de peixes têm aumentado consideravelmente nos últimos anos. Neste crescimento, destacam-se espécies como a tilápia que apresenta boa aceitação pelo consumidor (Visentainer et al., 2003) e ser propícia à indústria de filetagem, devido à ausência de espinhos em "y" (Hilsdorf, 1995).

A tilápia do Nilo é uma espécie da África, pertencente à família *Cichlidae* e seu cultivo vem ganhando potencialidade em muitas regiões do mundo (El-Sayed, 1999), constituindo, atualmente, um importante grupo de peixes cultivados (El-Sayed, 1998) representando a terceira espécie de maior importância econômica na aqüicultura mundial (Borghetti et al., 2003).

O destaque alcançado por esta espécie advém de suas qualidades, como rusticidade (Hayashi, 1995), respostas às condições ambientais adversas como baixo nível de oxigênio e altos níveis de amônia dissolvidos na água (Alceste & Jorry, 1998), rápido crescimento, boa conversão alimentar e consumo de ração artificial desde a fase larval (Meurer et al., 2000).

Os peixes de modo geral são considerados boas fontes de ácidos graxos essenciais, porém os de água doce geralmente contêm baixas proporções de ácidos graxos poliinsaturados n-3, em relação a peixes marinhos (Vlieg & Body, 1988). Por outro lado, os peixes de águas doces e frias contêm quantidades relativamente grandes de AGPI n-3 (Puustinen et al., 1985), e a temperatura da água é um fator

importante para isso. Outros fatores, além da temperatura da água, contribuem para a grande variação na composição da parte comestível dos peixes, como a espécie, o sexo e grau de maturidade sexual, o tamanho, o local de captura, a natureza da alimentação e a estação do ano (Armstrong et al., 1991; Badolato et al., 1994).

Quando peixes são analisados para fins de consumo na dieta humana, pesquisas primeiramente enfocam a composição de seus filés. O tecido muscular de peixes constitui uma excelente fonte de aminoácidos, nutrientes e proteína de fácil digestibilidade (Venugopal et al., 1996; Kristinsson & Rasco, 2000).

Nos lipídios totais do tecido muscular de peixes, pode existir uma grande variedade de substâncias orgânicas lipossolúveis, que são distribuídas em três classes principais: lipídios neutros (LN), fosfolipídios (FL) e glicolipídios (GL) (Visentainer, 2003).

Os lipídios neutros são essencialmente constituídos por triacilgliceróis (mais que 90%), enquanto outros glicerídios perfazem em torno de 5%, esteróis como colesterol e colesterol esterificado (menos que 1%) (Garcia-Regueiro, et al., 1997; Ruiz et al., 2004).

Os triacilgliceróis localizam-se sob a pele e entre os músculos, em peixes, estando mais susceptíveis para reações do que os fosfolipídios. (Visentainer, 2003).

Os fosfolipídios incluem compostos graxos que contém o ácido fosfórico, como: os glicerofosfolipídios e esfingomielina, enquanto os glicolipídios caracterizam-se por conter uma ou mais moléculas de monossacarídeos, unidas por ligação glicosídica e uma parte lipídica, englobando os glicerolipídios e alguns esfingolipídios (Christie, 1994), sendo mais abundantes em plantas do que em animais (Guzmán, 1994).

Fósforo é um importante constituinte do endoesqueleto dos peixes e mais de um terço do fósforo é encontrado nos fosfolipídios, ácidos nucléicos, membranas celulares e compostos ricos em energia (Kaushik, 2001).

A separação de lipídios em classes é importante para se obter a real composição de ácidos graxos de cada fração, pois a concentração dos ácidos graxos é muito diferente de uma classe para outra (Muriel et al., 2002). Neste sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar a composição de ácidos graxos das frações de lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL) do conteúdo lipídico do tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus)* criadas em sistema de cativeiro e alimentadas com ração enriquecida com 7% de óleo de linhaça.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A realização do experimento, amostragem, composição das rações, determinações físico-químicas, análise e identificação de ácidos graxos e análise estatística foram descritos no **CAPÍTULO II** em materiais e métodos.

2.1 - Fracionamento de Lipídios Totais em Classes de Lipídios Neutros e Fosfolipídios

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

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

Os solventes das eluições foram evaporados em evaporador rotativo com banho de água à temperatura de 32 - 34°C sob vácuo e, posteriormente, com fluxo de gás nitrogênio para completar a remoção do solvente. O concentrado de cada eluição foi transferido para frasco tipo âmbar de 7 mL de capacidade, sob atmosfera de N_2 gasoso e congelado a -18°C para posterior análise.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Composição Centesimal, Lipídios Neutros (LN) e Fosfolipídios (FL)

Nas **Tabelas 13 e 14** são apresentados os pesos (gramas) dos peixes e os percentuais de umidade, lipídios totais (LT), lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL) no tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus)* submetidas ao tratamento com ração diferenciada (Raçao I – 7% óleo de soja) e (Ração II – 7% de óleo de linhaça).

Os teores de umidade do tecido muscular das tilápias variaram de 71,84 – 79,23% para o tratamento com a Ração I e de 71,28 – 79,30% para o tratamento com a Ração II. Estes valores concordam com os valores encontrados por Serrão, (1997) que foi de 79,74%; Justi et al., (2003) que encontrou 79% de umidade; Puwastien et al.,

(1999) cujo valor encontrado foi de 78,1% e Izquierdo et al., (2000) que constatou um teor de 72,4% de umidade.

Com relação ao teor de lipídios totais (LT), as tilápias alimentadas com a Ração I apresentaram variações de 2,33 – 9,88% e as tilápias alimentadas com a Ração II variaram de 2,36 – 10,03%. A maior quantidade de lipídios totais na composição corporal no decorrer de 90 dias 9,88% (tratamento com a Ração I) e 10,03 % (tratamento com a Ração II), pode ser explicada pelo tempo de confinamento e fornecimento de rações apresentando alto conteúdo lipídico, os quais foram armazenados no tecido muscular dos peixes. De acordo com a classificação de Ackman (1989) as tilápias submetidas ao confinamento, passaram da categoria de baixo teor de gordura (2 - 4% de gordura) para altamente gordos (>8% de gordura).

A relação inversa entre os conteúdos de umidade e lipídios observadas em diversos peixes analisados por Kinsella et al., (1977), Maia & Rodriguez-Amaya (1992) e Maia et al., (1983) também pode ser notada entre as amostras de tilápias.

Tabela 13. Peso dos peixes, teores de umidade, lipídios totais (LT), lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL), no tecido muscular de tilápias alimentadas com ração à base de óleo de soja.

Composição	Ração I (Óleo de Soja) – Tempo em número de dias						
	0 dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
Peso (g)	151±34a	360±36b	470±55c	540±44d	670±55e	800±41f	975±87g
Umidade (%)	79,23±0,26a	77,43±0,47b	75,53±0,37c	72,94±0,44d	72,01±0,27d	71,88±0,26d	71,84±0,62d
LT (%)	2,33±0,24a	4,68±0,29b	6,48±0,47c	9,12±0,69d	9,68±0,37d	9,75±0,64d	9,88±0,48d
LN (%)	77,77±0,68a	80,38±0,30b	79,48±0,84bc	80,36±0,23b	80,78±0,62b	81,30±0,49bd	80,64±0,52b
FL (%)	21,29±0,24a	18,99±0,79ab	18,68±0,74ab	18,88±0,40ab	18,17±0,93ab	17,61±0,19b	18,56±0,15ab

Os resultados são médias com estimativas dos desvio-padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey. **LT** (Lipídios Totais); **LN** (Lipídios Neutros); **FL** (Fosfolipídios).

Tabela 14. Peso dos peixes, teores de umidade, lipídios totais (LT), lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL), no tecido muscular de tilápias alimentadas com ração à base de óleo de linhaça.

Composição	Ração II (Óleo de Linhaça) – Tempo em número de dias						
	0 dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
Peso (g)	157,8±33a	380±36b	420±51c	532±38d	627±52e	760±62f	942±92g
Umidade (%)	79,30±0,41a	76,34±0,02b	74,28±0,38c	72,26±0,2d	71,89±0,07d	71,31±0,68d	71,28±0,63d
LT (%)	2,36±0,11a	4,07±0,03b	6,28±,05c	9,41±0,31d	9,60±0,42d	9,93±0,35d	10,03±0,01d
LN (%)	76,08±0,36a	78,01±0,40b	80,87±0,49c	80,48±0,36c	79,96±0,91c	79,84±0,52c	79,92±0,83c
FL (%)	22,91±0,49a	20,80±0,24b	17,26±0,16c	17,77±0,75c	19,32±0,48d	19,02±0,36d	18,44±0,38cd

Os resultados são médias com estimativas dos desvio-padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey. **LT** (Lipídios Totais); **LN** (Lipídios Neutros); **FL** (Fosfolipídios).

O fracionamento dos lipídios totais nas classes de lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL) mostraram que os LN foram sempre à classe majoritária, contribuindo com uma média que variou de 77,77 a 81,30% para o tratamento com a Ração I (controle) e 76,08 a 80,87% para o tratamento com a ração enriquecida com óleo de linhaça. Os fosfolipídios (FL) apresentaram percentuais que variaram de 17,61 a 21,29% e 17,26 a 22,91% para os tratamentos com as rações I e II respectivamente, a classe de glicolipídios não foi detectada. Em trabalho realizado por Maia et al., (1994), com curimbatá (*P. scrofa*) capturado encontraram valores de 88,1% para LN, 11,8% para FL e a classe de glicolipídios não foi detectada.

De acordo com Maia et al., (1999), existem controvérsias sobre a presença de glicolipídios nos tecidos musculares comestíveis de peixes, pois são poucas as pesquisas que registraram a presença desta classe lipídica em peixes, especialmente nos de água doce.

Valores próximos para os teores de LN foram encontrados por Maia et al., (1994) em filés de curimbatá (*Prochilodus scrofa)* entre os períodos de 04/1990 a 06/1990. Estes valores variaram de 86,5 a 90,7%, no entanto, valores diferentes para os teores de FL (8,4 a 13,8%). Valores inferiores de LN foram encontrados por Varljen et al. (2003) no tecido muscular de espécies marinhas *Diplodus vulgaris* (71,9%) e *Conger conger* (84,5%) e valores intermediários para FL (*Conger conger* -15,5%) e superior para (*Diplodus vulgaris* - 28,1%).

Perdas podem ocorrer durante o processo de separação cromatográfica, não tendo uma recuperação de 100% e nesta perspectiva, sabe-se, que os FL são os constituintes mais susceptíveis à hidrólise enzimática e autoxidação durante o manuseio (Ackman, 1967; Lovern, 1962), estocagem do peixe em gelo (Lovern, 1959) ou congelada (Gibson & Worthington, 1977). A autoxidação consiste em uma série de reações em cadeia resultando em inúmeros compostos tais como álcoois, cetonas, hidrocarbonetos, ácidos, entre outros, os quais conferem sabores e odores de ranço (khayat & Schwall, 1983). Além disso, a redução na recuperação pode estar associada com a retenção na coluna de produtos mais ácidos, de ácidos graxos livres ou alguns produtos derivados da oxidação de lipídios (Maia et al., 1999; Lambertsen, 1972).

3.2 - Composição em ácidos Graxos nas Frações de Lipídios Neutros (LN) e Fosfolipídios (FL)

Frações de lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL) presentes nos lipídios totais do tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*) foram separados como descrito em materiais e métodos (**CAPÍTULO II**) e a composição de ácidos graxos foi determinada. As concentrações dos ácidos graxos presentes nas classes lipídicas são expressos em porcentagens de área relativa.

Os resultados da composição em ácidos graxos presentes nas classes de LN e FL do tecido muscular de tilápias submetidas ao tratamento com ração diferenciada a base de óleo de soja (Ração I) e linhaça (Ração II) são apresentados nas **Tabelas 15 e 16, 17 e 18** respectivamente.

Tabela 15. Composição em Ácidos Graxos (percentagem de área relativa) nos Lipídios Neutros do tecido muscular de tilápia (*Oreochromis niloticus)* submetida ao tratamento com ração diferenciada a base de óleo de Soja.

Ácidos Graxos	Ração I (Óleo de Soja) – Tempo em número de dias						
	0 dias	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
14:0	3,40±0,17[a]	2,63±0,07b	2,51±0,10bd	2,30 ±0,04c	2,42±0,11cd	2,52±0,04bd	2,49±0,02bd
15:0	0,09±0,01a	0,07±0,01ab	0,07±0,01ab	0,05±0,01c	0,06±0,01bc	0,06±0,01bc	0,07±0,01ab
16:0	28,78±0,10a	28,46±0,36a	27,23±0,40b	26,55±0,21bc	25,65±0,51cd	25,10±0,33cde	24,40±0,20e
17:0	0,18±0,01a	0,14±0,02b	0,12±0,01b	0,13±0,01b	0,13±0,01b	0,13±0,02b	0,13±0,01b
18:0	6,06±0,21a	6,23±0,26a	5,89±0,09a	7,40±0,08b	7,70±0,08c	7,01±0,11d	7,07±0,05d
19:0	0,26±0,02a	0,26±0,01a	0,29±0,03c	0,24±0,01ab	0,23±0,01ab	0,23±0,01ab	0,22±0,02d
21:0	0,40±0,02a	0,30±0,02b	0,36±0,04a	0,28±0,03bc	0,26±0,04c	0,29±0,03b	0,27±0,02bc
22:0	0,51±0,10a	0,67±0,02b	0,82±0,11c	0,83±0,11c	0,69 ±0,04b	0,76±0,05bc	0,69±0,02b
AGS	**39,68±0,13a**	**38,76±0,45a**	**37,29±0,43b**	**37,78±0,27b**	**37,13±0,53b**	**36,12±0,36c**	**35,33±0,21c**
14:1n-5	0,09±0,01a	0,07±0,01b	0,06±0,01c	0,05±0,01c	0,06±0,01bc	0,07±0,01b	0,09±0,01a
16:1n-9	0,65±0,03a	0,47±0,03b	0,42±0,03b	0,38±0,06bc	0,30±0,11c	0,39±0,08bc	0,45±0,06b
16:1n-7	6,45±0,18a	5,46±0,10b	5,35±0,52b	4,05±0,06c	4,09±0,21c	4,08±0,11c	4,09±0,17c
17:1n-7	0,13±0,01a	0,10±0,01b	0,10±0,01bc	0,10±0,01b	0,11±0,01ab	0,10±0,01b	0,13±0,01a
18:1n-11	0,21±0,10a	0,31±0,03b	0,17±0,01ac	0,14±0,01d	0,15±0,01acd	0,15±0,01acd	0,15±0,01acd
18:1n-9	33,33±0,78a	34,16±0,58ab	33,99±0,53ab	34,39±0,68b	32,94±0,21ac	33,50±0,19abc	34,22±0,24ab
18:1n-7	4,25±0,10a	3,97±0,36ab	3,59 ±0,15b	3,87±0,50ab	3,97±0,08ab	4,00±0,03ab	4,09±0,03a
18:1n-4	0,26±0,03a	0,26±0,01ab	0,36±0,02b	0,37±0,08b	0,38 ±0,04c	0,38±0,05c	0,36±0,09b
20:1n-9	2,16±0,28a	1,65±0,14b	1,48±0,13c	1,80 ±0,14ab	1,65±0,12b	1,71±0,14b	1,61±0,07b
20:1n-7	0,13±0,05a	0,09±0,01b	0,22±0,03c	0,07±0,01b	0,07±0,02b	0,07±0,01b	0,07±0,01b
22:1n-9	0,17±0,01a	0,15±0,01ab	0,16±0,03ac	0,12±0,01cd	0,10±0,01c	0,13±0,02bcd	0,13±0,01bc
AGMI	**47,83±0,86a**	**46,69±0,70b**	**45,90±0,69bc**	**45,34±0,86c**	**43,82±0,32d**	**44,58±0,28cd**	**45,39±0,31bcd**
18:2n-6	8,68±0,18a	10,07±0,17b	11,63±0,35c	11,82±0,20c	13,82±0,52d	14,04±0,27d	14,10±0,22d
18:3n-6	0,43±0,05a	0,50±0,02b	0,55±0,02c	0,56±0,01cd	0,57±0,04d	0,57±0,01d	0,56±0,02cd
18:3n-3	0,50±0,08a	0,68±0,05b	0,84±0,11bc	0,87 ±0,07bc	0,88±0,06c	0,87±0,13bc	0,88 ±0,06c
20:2n-6	0,50±0,05a	0,60±0,09a	0,78±0,09ab	0,80±0,07ab	0,83±0,06b	0,83±0,08b	0,82±0,08b
20:3n-6	0,15±0,01a	0,16±0,01a	0,20±0,02ab	0,22±0,06ab	0,25±0,11b	0,24±0,06b	0,23±0,09ab
20:4n-6	0,66±0,13a	0,72±0,07ab	0,88±0,09c	0,67±0,02ab	0,76±0,08abc	0,80±0,11abc	0,81±0,06abc
20:5n-3	0,11±0,02a	0,10±0,01a	0,15±0,04b	0,16±0,01b	0,15±0,03ac	0,11±0,01ad	0,09±0,01ad
22:4n-6	0,39±0,04a	0,55±0,04b	0,57±0,09bc	0,68±0,03cd	0,71±0,08d	0,70±0,06d	0,69±0,06d
22:5n-6	0,38±0,04a	0,46±0,04ab	0,51±0,07b	0,51±0,04b	0,56±0,10b	0,57±0,07c	0,57±0,04c
22:5n-3	0,19±0,01a	0,19±0,02a	0,17±0,04b	0,17±0,01b	0,17±0,03b	0,17±0,02b	0,17±0,01b
22:6n-3	0,35±0,04a	0,33±0,03c	0,33±0,05[a]	0,30 ±0,01ab	0,26±0,02bc	0,25±0,03bc	0,24±0,02c
AGPI	**12,34±0,18a**	**14,36±0,20b**	**16,61±0,36c**	**16,76±0,22c**	**18,96 ±0,28d**	**19,15±0,24d**	**19,16±0,38d**
X1	0,09±0,04a	0,10±0,01a	0,14±0,02b	0,03±0,01c	0,04±0,01c	0,04±0,01c	0,04±0,01c
X2	0,06±0,02a	0,08±0,01ab	0,07±0,01a	0,09±0,01ab	0,06±0,01[a]	0,12±0,03b	0,08±0,01ab
X	**0,15±0,07a**	**0,19±0,01ab**	**0,20±0,03b**	**0,12±0,01ac**	**0,09±0,02d**	**0,15±0,03d**	**0,12±0,01ac**
n-6	11,19±0,85a	13,06±0,60a	15,12±0,67b	15,26±0,70b	17,50±0,31c	17,75±0,28c	17,78±0,32c
n-3	1,15±0,13a	1,30±0,57ac	1,49 ±0,69b	1,50 ±0,57b	1,46±0,48b	1,40±0,37bc	1,38±0,26bc
AGPI/AGS	**0,31±0,13a**	**0,37±0,03b**	**0,45±0,07c**	**0,44±0,04c**	**0,51±0,13d**	**0,53 ±0,11de**	**0,54±0,04e**
n-6/n-3	**9,73±0,19a**	**10,05±0,16ab**	**10,14±0,16ab**	**10,17±0,2b**	**11,98±0,10c**	**12,68±0,08c**	**12,88±0,09c**

Resultados são médias de 6 repetições com as respectivas estimativas dos desvios padrões. Os resultados são expressos em porcentagem de ácidos graxos totais. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey. **AGS:** Ácidos Graxos Saturados; **AGMI:** Ácidos Graxos Monoisaturados; **AGPI:** Ácidos Graxos Poliinsaturados; **n-6:** Ácidos Graxos Ômega-6; **n-3:** Ácidos Graxos ômega-3; **AGPI/AGS:** Razão de Ácidos Graxos poliinsaturados/saturados; **n-6/n-3:** razão de Ácidos Graxos ômega-6/ômega-3; **X:** Ácidos Graxos não identificados.

Tabela 16. Composição em Ácidos Graxos (percentagem de área relativa) nos fosfolipídios do tecido muscular de tilápia (*Oreochromis niloticus)* submetida ao tratamento com ração diferenciada a base de óleo de Soja.

Ácidos Graxos	Ração I (Óleo de Soja) – Tempo em número de dias						
	0 dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
14:0	0,73±0,07a	0,55±0,03b	0,60±0,04b	0,56±0,07b	0,57±0,04b	0,53±0,01b	0,41±0,03c
15:0	2,34±0,35a	2,32 ±0,02a	1,95±0,07b	2,11±0,11abc	2,38 ±0,42ac	2,15±0,01abc	1,91±0,07d
16:0	20,01±0,50a	19,74±0,35b	18,61±0,42bc	18,73±0,23bc	18,69 ±0,38bc	17,90±0,06cd	17,12±0,77d
17:0	0,14±0,01a	0,14±0,02a	0,22±0,01b	0,12±0,03acd	0,11±0,02acd	0,10±0,01d	0,10±0,02d
18:0	9,32±0,55a	8,74±0,08a	6,57 ±0,10bc	7,51 ±0,25bcd	8,19±0,12ad	7,57 ±0,04bcd	7,01±0,20bc
19:0	0,27±0,70	0,17±0,01	0,17±0,01	0,15±0,02	0,13±0,01	0,17±0,01	0,37±0,01
21:0	0,21±0,05a	0,20±0,03a	0,19±0,02ab	0,17±0,02abc	0,13±0,02c	0,15±0,01bc	0,16±0,04abc
22:0	2,05±0,19a	2,09 ±0,15ab	2,22±0,06ab	2,32±0,17bc	2,51±0,09c	2,46 ±0,03bc	2,82±0,18d
24:0	0,22±0,03a	0,16±0,02b	0,06±0,01c	0,05±0,01cd	0,05±0,01cd	0,03±0,01d	0,05±0,01cd
AGS	**36,29 ±0,90a**	**34,11±0,38b**	**30,60±0,44c**	**31,70±0,53d**	**33,28±0,76e**	**31,06 ±0,10cd**	**29,94±0,63c**
16:1n-9	0,26±0,05a	0,20±0,04ab	0,24±0,03ab	0,23±0,04ab	0,22±0,02ab	0,25±0,01ab	0,20±0,01b
16:1n-7	1,92±0,13a	2,03±0,12a	2,32±0,08b	1,49 ±0,09c	1,17±0,03d	1,53±0,01c	1,20±0,05d
17:1n-9	0,98±0,25a	0,90±0,02ac	0,65±0,03b	0,67±0,02b	0,85±0,03a	0,73±0,01abc	0,59 ±0,02bc
17:1n-7	1,23±0,62a	1,66 ±0,03b	1,31±0,06a	1,39 ±0,04a	1,45±0,05a	1,46±0,01a	1,11±0,08b
18:1n-9	16,05±0,90a	17,86±0,26b	20,09±0,08c	20,09 ±0,23c	18,69±0,19b	19,65±0,14c	22,19 ±0,54d
18:1n-7	3,18±0,11a	3,08±0,08ab	3,37±0,20ac	3,55 ±0,14c	3,57±0,14c	3,87±0,11d	3,68±0,24cd
18:1n-4	0,17±0,02	0,17±0,01	0,23±0,01	0,24±0,05	0,24±0,07	0,25±0,01	0,25±0,10
20:1n-9	0,74±0,02a	0,75±0,01a	0,72±0,02a	0,96±0,07b	0,99±0,03b	1,10±0,18b	1,02±0,10b
22:1n-9	0,29±0,01a	0,19 ±0,03b	0,13±0,01c	0,12±0,01cd	0,10±0,01d	0,10±0,01d	0,10±0,01d
AGMI	**24,82±0,90a**	**26,80±0,29d**	**29,07±0,26c**	**28,74±0,39c**	**27,28±0,25b**	**28,94±0,26c**	**30,34±0,54d**
18:2n-6	9,11±0,72a	11,04±0,15b	11,55±0,03bc	11,62±0,53bc	11,85±0,31cd	12,21±0,35cd	12,23±0,41cd
18:3n-6	0,32±0,05a	0,33±0,01a	0,46±0,01b	0,47±0,04b	0,46 ±0,04b	0,51 ±0,03b	0,55±0,05b
18:3n-3	0,34±0,04a	0,45±0,01a	0,57±0,01b	0,56±0,04b	0,57±0,08b	0,57±0,01b	0,57±0,04b
20:2n-6	0,73±0,07a	0,77 ±0,06ab	0,75±0,06a	0,91±0,03ab	1,02±0,02b	1,05±0,27b	1,06±0,22b
20:3n-9	0,63±0,06a	0,59 ±0,07ab	0,54±0,02b	0,42±0,02c	0,36±0,01c	0,36±0,01c	0,41±0,06c
20:3n-6	0,18±0,05a	0,25±0,07ab	0,28±0,04b	0,27±0,03b	0,28±0,02b	0,28±0,05b	0,27±0,06b
20:4n-6	10,25±0,83a	11,42±0,11b	12,05±0,10bc	12,14±0,50bc	12,20±0,37cd	12,44±0,08cd	12,44±0,39cd
20:5n-3	0,12±0,03a	0,24±0,07b	0,17±0,02ac	0,13±0,01acd	0,10±0,01ade	0,10±0,01ade	0,10±0,01e
22:2n-6	0,15±0,01a	0,21±0,03b	0,15±0,03[a]	0,20±0,05b	0,20±0,04b	0,22±0,02b	0,25±0,02b
22:4n-6	2,81±0,10	2,90±0,19	2,99±0,07	3,04 ±0,14	3,01±0,04	3,02±0,12	3,03±0,31
22:5n-6	6,65±0,31a	5,58 ±0,11b	5,65 ±0,13b	5,66 ±0,23b	5,66±0,17b	5,71±0,10b	5,72 ±0,09b
22:5n-3	1,38±0,05a	1,05±0,03b	0,96±0,05b	0,85±0,07c	0,83±0,05c	0,83±0,03c	0,81±0,10c
22:6n-3	5,94±0,40a	4,13±0,13b	4,11±0,09b	3,17±0,32c	2,80±0,11cd	2,61±0,03de	2,18±0,22e
AGPI	**38,61±0,72a**	**38,96±0,17ac**	**40,23±0,12b**	**39,44±0,54abc**	**39,34±0,50b**	**39,91±0,09bc**	**39,62±0,42abc**
X1	0,28±0,45	0,13±0,01	0,10±0,01	0,12±0,02	0,10±0,02	0,09±0,01	0,10±0,02
X	**0,28±0,09**	**0,13±0,07**	**0,10 ±0,07**	**0,12±0,06**	**0,10±0,04**	**0,09±0,02**	**0,10±0,09**
n-6	30,20±0,62a	32,50±0,33b	33,88±0,18c	34,31±0,33c	34,68±0,50d	35,44±0,25d	35,55±0,48d
n-3	7,78±0,83a	5,87±0,40b	5,81±0,49b	4,71±0,54c	4,30±0,63cd	4,11±0,16cde	3,66±0,65e
AGPI/AGS	**1,06±0,33a**	**1,14±0,79b**	**1,31±0,72c**	**1,24±0,59d**	**1,18±0,87d**	**1,28±0,27cde**	**1,32±0,85ce**
n-6/n-3	**3,88±0,31a**	**5,54 ±0,07b**	**5,83±0,05b**	**7,28±0,10c**	**8,06±0,08d**	**8,62±0,07d**	**9,71±0,16e**

Resultados são médias de 6 repetições com as respectivas estimativas dos desvios padrões. Os resultados são expressos em porcentagem de ácidos graxos totais. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey. **AGS:** Ácidos Graxos Saturados; **AGMI**: Ácidos Graxos Monoisaturados; **AGPI:** Ácidos Graxos Poliinsaturados; **n-6:** Ácidos Graxos Ômega-6; **n-3:** Ácidos Graxos ômega-3; **AGPI/AGS**: Razão de Ácidos Graxos poliinsaturados/saturados; **n-6/n-3**: razão de Ácidos Graxos ômega-6/ômega-3; **X:** Ácidos Graxos não identificados.

Tabela 17. Composição em Ácidos Graxos (percentagem de área relativa) nos Lipídios Neutros do tecido muscular de tilápia (*Oreochromis niloticus)* submetida ao tratamento com ração diferenciada a base de óleo de Linhaça.

Ácidos	Ração II (Óleo de Linhaça) – Tempo em número de dias						
Graxos	0 dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
14:0	3,36±0,16a	2,71±0,04b	2,46±0,05c	2,47±0,28bc	2,37±0,05c	2,33±0,12c	2,34±0,02c
15:0	0,08±0,01a	0,06±0,01b	0,06±0,01b	0,06±0,01b	0,06±0,01b	0,06±0,01b	0,07±0,01ab
16:0	28,32±0,25a	27,6 3±0,24b	26,56±0,27c	24,64±0,48d	23,94 ±0,60e	23,84 ±0,29ef	23,23±0,34f
17:0	0,17±0,01a	0,11±0,01b	0,11±0,01b	0,13±0,01bd	0,12±0,01bc	0,11±0,01b	0,12±0,01bc
18:0	5,53±0,11a	5,59±0,09[a]	6,04±0,07b	7,01±0,13ce	7,25 ±0,07dc	6,89±0,22e	6,90±0,22e
19:0	0,23±0,01a	0,22±0,01[a]	0,23±0,01a	0,23±0,01a	0,20±0,01b	0,20±0,01b	0,19±0,01b
21:0	0,41±0,01a	0,25±0,01b	0,21±0,01c	0,27±0,02bd	0,24±0,02bcd	0,25±0,02bd	0,34±0,04e
22:0	0,54±0,01a	0,45±0,01b	0,43±0,01b	0,51 ±0,04a	0,44±0,03b	0,45±0,02b	0,50±0,05[a]
AGS	**38,66 ±0,32a**	**37,02±0,09b**	**36,10±0,12c**	**35,30±0,15d**	**34,61±0,13de**	**34,14±0,12e**	**33,69±0,28e**
14:1n-5	0,10±0,01a	0,06±0,01b	0,06±0,01b	0,06±0,01b	0,07±0,01bc	0,08±0,01c	0,08±0,01c
16:1n-9	0,68±0,02a	0,43±0,01b	0,39±0,01b	0,34±0,03bc	0,40±0,05b	0,33±0,02c	0,34±0,04cd
16:1n-7	6,78±0,14a	5,85±0,04b	5,23±0,10c	4,30±0,13d	4,19±0,24d	4,59±0,44d	5,11±0,49e
17:1n-7	0,14±0,01a	0,11±0,01b	0,11±0,01b	0,12±0,01bc	0,11±0,01b	0,13±0,01c	0,13±0,01ac
18:1n-11	0,23±0,02a	0,15±0,01b	0,19±0,02c	0,15±0,01b	0,13±0,01b	0,16±0,02cb	0,15±0,01b
18:1n-9	34,11±0,23a	33,14±0,36b	34,24±0,15a	35,34±0,53c	36,12±0,60d	36,17±0,24d	35,87±0,53cd
18:1n-7	4,32±0,02a	3,64±0,30b	3,48±0,22bd	3,26±0,33bcd	3,34±0,21bcd	3,15±0,23cd	3,06±0,05c
18:1n-4	0,28±0,01a	0,24±0,01bc	0,23±0,01cd	0,22±0,01cd	0,21±0,01d	0,21 ±0,04d	0,20±0,01d
20:1n-9	2,06±0,08a	1,42±0,08b	1,29±0,09bc	1,47±0,06bd	1,48±0,09bd	1,67±0,06e	1,73±0,18e
20:1n-7	0,17±0,01a	0,13±0,01b	0,12±0,01b	0,06±0,01c	0,05±0,01c	0,05±0,01c	0,06±0,01c
22:1n-9	0,20±0,01a	0,12±0,01b	0,09±0,01c	0,09±0,01c	0,06±0,01d	0,07±0,01d	0,09±0,01c
AGMI	**49,07 ±0,28a**	**45,29 ±0,17b**	**45,43±0,09b**	**45,41±0,6 2b**	**46,16±0,56bc**	**46,61±0,17c**	**46,82±0,13c**
18:2n-6	8,59±0,09a	8,45±0,17ab	8,34±0,09ab	8,10±0,16b	8,02±0,23c	7,96±0,17c	7,97±0,13c
18:3n-6	0,43±0,01a	0,38±0,01b	0,38±0,01b	0,37±0,04bc	0,34±0,02c	0,34±0,01c	0,32±0,01cd
18:3n-3	0,37±0,03a	5,11 ±0,10b	5,78 ±0,28c	6,40±0,17d	6,41±0,37d	6,43±0,29d	6,45±0,28d
20:2n-6	0,46±0,03a	0,42±0,02ab	0,40 ±0,05ab	0,39±0,04b	0,40±0,04ab	0,40±0,06ab	0,41±0,09ab
20:3n-6	0,17±0,01a	0,12±0,01ab	0,12±0,02ab	0,12±0,03ab	0,10±0,01b	0,10±0,01b	0,11±0,01b
20:4n-6	0,67±0,09a	0,59±0,06ab	0,56±0,12ab	0,50 ±0,10b	0,49±0,05b	0,45±0,05b	0,45±0,08b
20:3n-3	nd	0,18±0,01a	0,29±0,06ab	0,41±0,10bc	0,55±0,04cd	0,60±0,03d	0,65±0,17d
20:5n-3	0,15±0,01a	0,40±0,02b	0,44 ±0,04b	0,47±0,05c	0,48±0,05c	0,54±0,04cd	0,59±0,06de
22:4n-6	0,39±0,04a	0,30±0,02b	0,28±0,01b	0,28±0,03b	0,28±0,01b	0,28±0,03b	0,28 ±0,03b
22:5n-6	0,39±0,01a	0,31±0,01ab	0,30 ±0,02ab	0,30±0,02ab	0,29±0,01b	0,29±0,02b	0,30±0,05ab
22:5n-3	0,15±0,01a	0,53±0,01b	0,58±0,01b	0,72±0,05c	0,72±0,05c	0,72±0,04c	0,72±0,07c
22:6n-3	0,31±0,01a	0,62±0,02b	0,68±0,01c	0,82±0,01d	0,81±0,03d	0,81±0,05d	0,81±0,05d
AGPI	**12,08±0,10a**	**17,41±0,48b**	**18,15±0,28bc**	**18,88±0,56cd**	**18,89±0,49cd**	**18,92±0,61cd**	**19,06±0,67d**
X1	0,12±0,01a	0,18±0,01b	0,19±0,01c	0,27±0,02d	0,20±0,01e	0,20±0,01cd	0,23±0,01e
X2	0,07±0,01a	0,11±0,01a	0,12±0,01b	0,14±0,03b	0,14±0,01b	0,13±0,01b	0,20±0,02c
X	**0,19±0,02a**	**0,28±0,27b**	**0,32±0,37c**	**0,41±0,52d**	**0,34±0,71c**	**0,33±0,43c**	**0,43±0,46d**
n-6	11,10±0,27a	10,57±0,40b	10,38±0,17bc	10,06±0,45bc	9,92±0,44c	9,82±0,40c	9,84±0,55c
n-3	0,98±0,31a	6,84±0,31b	7,77±0,25c	8,82±0,38d	8,97±0,33de	9,10±0,52e	9,22±0,55e
AGPI/AGS	**0,31±0,03a**	**0,47 ±0,09b**	**0,50±0,09bc**	**0,53 ±0,15c**	**0,55±0,12c**	**0,55±0,23c**	**0,57±0,29c**
n-6/n-3	**11,32±0,07a**	**1,55 ±0,41b**	**1,34 ±0,33b**	**1,14±0,48c**	**1,11±0,54c**	**1,08±0,50c**	**1,07±0,58c**

Resultados são médias de 6 repetições com as respectivas estimativas dos desvios padrões. Os resultados são expressos em porcentagem de ácidos graxos totais. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey. **AGS:** Ácidos Graxos Saturados; **AGMI:** Ácidos Graxos Monoisaturados; **AGPI:** Ácidos Graxos Poliinsaturados; **n-6:** Ácidos Graxos Ômega-6; **n-3:** Ácidos Graxos ômega-3; **AGPI/AGS**: Razão de Ácidos Graxos poliinsaturados/saturados; **n-6/n-3:** razão de Ácidos Graxos õmega-6/ômega-3; **X:** Ácidos Graxos não identificados.

Tabela 18. Composição em Ácidos Graxos (percentagem de área relativa) nos Fosfolipídios do tecido muscular de tilápia (*Oreochromis niloticus)* submetida ao tratamento com ração diferenciada a base de óleo de Linhaça.

Ácidos Graxos	Ração II (Óleo de Linhaça) – Tempo em número de dias						
	0 dia	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
14:0	0,64 ±0,03a	0,66±0,04ac	0,62±0,04abc	0,58±0,03ac	0,55±0,06b	0,56±0,04b	0,61 ±0,02abc
15:0	2,16±0,11	2,32±0,14	1,93 ±0,09	2,00±0,11	2,05±0,09	2,02±0,18	2,03±0,05
16:0	22,46±0,37a	20,71±0,61ab	20,55 ±0,42ab	18,65 ±0,60b	18,73 ±0,42b	16,08 ±0,49c	16,35 ±0,39bc
17:0	0,13±0,02a	0,13±0,01ab	0,14±0,01a	0,13±0,01a	0,08±0,01bc	0,10±0,01bc	0,12±0,02ab
18:0	8,83±0,50a	8,27±0,28a	7,22±0,24b	8,61±0,80ac	8,41±0,11ac	9,87±0,45d	10,12±0,22d
19:0	0,17±0,01	0,17±0,01	0,17±0,01	0,17±0,02	0,16±0,01	0,16±0,01	0,17±0,01
21:0	0,19±0,02a	0,14±0,01b	0,14±0,01b	0,15±0,01b	0,17±0,02ab	0,30 ±0,02c	0,23±0,02d
22:0	2,16±0,03a	1,79±0,07b	1,57±0,10b	1,57±0,10b	1,55±0,03b	2,64±0,29c	2,14±0,11[a]
24:0	0,25±0,02a	0,19±0,02b	0,20±0,01bc	0,22±0,02bc	0,20±0,02bc	0,23±0,02ac	0,21 ±0,01bc
AGS	**37,00±0,55a**	**34,38±0,51b**	**32,54±0,62bc**	**32,09±0,60bc**	**31,92±0,21c**	**31,96±0,47c**	**31,96±0,30c**
16:1n-9	0,27±0,02a	0,24±0,01bc	0,22±0,02bc	0,22±0,03bc	0,24±0,02abc	0,26±0,02ab	0,24±0,01bc
16:1n-7	1,82±0,08a	2,59±0,14b	2,81±0,23b	2,28±0,20c	1,79±0,04a	1,44±0,06d	1,63±0,02ad
17:1n-9	0,86±0,06adf	0,82±0,06aef	0,65±0,06b	0,55±0,07c	0,75±0,02ef	0,91±0,06ad	0,79 ±0,02ef
17:1n-7	1,63±0,11ab	1,54±0,11ab	1,45±0,14a	1,53±0,20ab	1,59±0,06ab	1,69±0,17b	1,57±0,05ab
18:1n-9	16,51±0,20a	18,66±0,30a	23,37 ±0,56b	24,50 ±0,57b	24,68 ±0,16c	23,03±0,34c	23,6 4 ±0,28b
18:1n-7	3,63±0,21ac	3,30±0,18a	3,69 ±0,29ac	4,11±0,31bc	4,12±0,25bc	4,28±0,16b	3,86±0,22ac
18:1n-4	0,16 ±0,01a	0,12±0,02a	0,10±0,01ab	0,07 ±0,01b	0,06±0,06b	0,05 ±0,06c	0,05 ±0,05c
20:1n-9	0,75±0,02a	0,70 ±0,03a	0,85±0,06[a]	1,26±0,09b	1,16±0,08b	1,63±0,19c	1,20±0,05b
22:1n-9	0,26±0,02a	0,43±0,01b	0,50 ±0,05c	0,47±0,03bc	0,49±0,03c	0,58±0,04d	0,53 ±0,01cd
AGMI	**25,90±0,59a**	**28,39±0,53b**	**33,58±0,63bc**	**34,98±0,90c**	**34,88±0,46c**	**33,88 ±0,30c**	**33,49±0,66c**
18:2n-6	9,44±0,15a	8,11±0,13b	7,30±0,58bc	6,23±0,41c	6,06 ±0,15c	6,04±0,32c	6,06±0,36c
18:3n-6	0,32±0,02a	0,31±0,01ab	0,33±0,01a	0,34±0,01ac	0,28±0,01d	0,29±0,03bd	0,25±0,01d
18:3n-3	0,33±0,01a	2,72±0,06b	3,75±0,10bc	4,90±0,52c	5,31±0,23d	5,35±0,37d	5,53±0,31d
20:2n-6	0,76±0,04a	0,71±0,03ab	0,64±0,02ab	0,62±0,03ab	0,56±0,09b	0,61 ±0,12ab	0,60 ±0,07b
20:3n-9	0,56±0,02a	0,53±0,01a	0,43±0,02b	0,43±0,03b	0,41±0,01b	0,51±0,05a	0,44±0,04b
20:3n-6	0,19±0,02a	0,15±0,01b	0,15±0,01b	0,16±0,01ab	0,15±0,01b	0,16±0,02ab	0,17±0,02ab
20:4n-6	10,23±0,37a	8,70±0,48b	6,83±0,10c	6,05±0,84c	5,90±0,07c	5,82±0,46c	5,80±0,44c
20:3n-3	nd	0,18±0,01a	0,26±0,02b	0,27±0,03b	0,37±0,01c	0,40 ±0,02c	0,40 ±0,01c
20:5n-3	0,13±0,01a	0,42±0,01ab	0,55±0,01ab	0,69±0,04b	0,78 ±0,01b	0,76 ±0,03b	0,77±0,01b
22:2n-6	0,15±0,01a	0,12±0,01b	0,11±0,01b	0,09±0,01c	0,09±0,01c	0,12±0,01b	0,09±0,01c
22:4n-6	2,64±0,11a	2,47±0,15a	1,78±0,06b	1,51 ±0,08c	1,48±0,09c	1,51±0,25c	1,52±0,16c
22:5n-6	6,16±0,12a	4,58±0,27b	2,93 ±0,08c	2,03±0,17d	2,04±0,03[a]	2,00±0,28d	2,00±0,29d
22:5n-3	1,21±0,04a	2,30 ±0,12b	2,33±0,16bc	2,37±0,33bc	2,48±0,04bcd	2,71 ±0,23cd	2,80±0,11d
22:6n-3	4,85±0,11a	5,60±0,04ab	6,15±0,41b	6,91±0,56c	6,94±0,05c	7,48±0,59c	7,74 ±0,33c
AGPI	**36,97±0,15a**	**36,90 ±0,02a**	**33,54±0,02bc**	**32,60 ±0,02c**	**32,85 ±0,02c**	**33,76±0,05bc**	**34,17±0,01ab**
X1	0,13±0,02a	0,13±0,01ab	0,13±0,01a	0,13±0,01a	0,15±0,01ac	0,07±0,01d	0,12±0,01ae
X2	nd	0,20±0,01a	0,214±0,01a	0,20 ±0,02a	0,20 ±0,01a	0,33±0,04b	0,26±0,01c
X	**0,13±0,05a**	**0,33±0,01b**	**0,34±0,03b**	**0,33±0,03b**	**0,35±0,02ce**	**0,40 ±0,06d**	**0,38±0,05de**
n-6	29,89±0,25a	25,15±0,53b	20,07±0,27bc	17,03±0,38c	16,56±0,19c	16,55±0,65c	16,49±0,47c
n-3	6,52±0,58a	11,22±0,35b	13,04±0,68bc	15,14±0,62c	15,88±0,52cd	16,70±0,71d	17,24±0,54de
AGPI/AGS	**1,00±0,34a**	**1,08±0,31b**	**1,03±0,09a**	**1,02±0,10a**	**1,03±0,05a**	**1,06±0,08b**	**1,07±0,12b**
n-6/n-3	**4,58±0,11a**	**2,24±0,12b**	**1,54±0,07c**	**1,12±0,16d**	**1,04±0,06d**	**0,99±0,10d**	**0,96±0,09d**

Resultados são médias de 6 repetições com as respectivas estimativas dos desvios padrões. Os resultados são expressos em porcentagem de ácidos graxos totais. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey. **AGS:** Ácidos Graxos Saturados; **AGMI:** Ácidos Graxos Monoisaturados; **AGPI:** Ácidos Graxos Poliinsaturados; **n-6:** Ácidos Graxos Ômega-6; **n-3:** Ácidos Graxos ômega-3; **AGPI/AGS:** Razão de Ácidos Graxos poliinsaturados/saturados; **n-6/n-3:** razão de Ácidos Graxos ômega-6/ômega-3; **X:** Ácidos Graxos não identificados.

Na composição de ácidos graxos nas frações de lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL) os que se destacaram em ambas as frações foram os ácidos oléico (18:1n-9), palmítico (16:0), linoléico (18:2n-6) e esteárico (18:0) para ambos os tratamentos.

Na fração dos lipídios neutros, tanto para o tratamento com a Ração I quanto para o tratamento com a Ração II constatam-se maiores teores para os ácidos graxos saturados (AGS) e monoinsaturados (AGMI), bem como um percentual maior do ácido linoléico (LA) e alfa-linolênico (LNA) quando comparados à composição fosfolipídica. O LNA é um ácido graxo de cadeia menor e com menor número de insaturações quando relacionados ao EPA, DHA e AA podendo, desta forma, ser armazenado nos triacilgliceróis, um dos principais componentes dos LN (Visentainer, 2003). Na fração de fosfolipídios (FL), os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) apresentaram-se com maiores percentuais, especialmente os ácidos araquidônico (AA), timnodônico (EPA) e cervônico (DHA). Os AGPI também foram dominantes na fração fosfolipídica do Mapará (*Hypophthalmus sp*) em pesquisa realizada por Inhamuns & Bueno Franco (2001). De acordo com alguns autores (Ackman, 1980; Sasaki et al., 1989; Satoh et al., 1984; Maia & Rodrigues-Amaya, 1992), os fosfolipídios são tipicamente ricos em AGPI e isto tem sido relatado tanto em peixes marinhos quanto em espécies de água doce.

As razões de AGPI/AGS no tratamento com a ração II apresentaram valores menores na classe de lipídios neutros com variações de (0,31 - 0,57) quando comparados à fração de fosfolipídios, que apresentaram variações de 1,00 a 1,07. Este fato pode ser explicado pela alta concentração de AGPI presente na fração fosfolipídica. Por outro lado, as razões n-6/n-3 foram maiores nas frações de lipídios neutros (11,32 -1,07) para os períodos de 0 e 90 dias respectivamente, quando comparados aos valores encontrados na fração fosfolipídica, cuja variação foi de 4,58 (0 dia) a 0,96 (90 dias). A redução nestas razões ao longo do período de tratamento deve-se a incorporação de AGPI n-3, especilamente os ácidos clupanodônico (DPA – 22:5n-3) e cervônico (DHA – 22:6n-3) no tecido muscular das tilápias. (Visentainer, 2003) encontrou valores de AGPI/AGS e n-6/n-3 que variaram de (1,95 - 2,18) e (15,34 – 1,54) na fração de LN e (1,91 - 2,00) e (7,68 -1,40) na fração de PL, respectivamente em experimento realizado com tilápias alimentadas com ração diferenciada, sendo adicionado 0,00 e 5,00% de óleo de linhaça sequencialmente**.** As razões de n-6/n-3 encontradas neste estudo, tanto na classe de LN quanto na classe de FL apresentaram diferenças ($p<0,05$) até o período de 45 dias de tratamento.

No tratamento com a ração I as razões de AGPI/AGS variaram de 0,31 – 0,54 e 1,06 – 1,32 para as classes de LN e FL respectivamente, sempre com aumento nos valores e com diferenças ($p<0,05$) ao longo do período. Para as razões de n-6/n-3, os valores variaram de (9,73 – 12,88, LN) e (3,88 – 9,71, PL), valores estes superiores aos encontrados por Maia et al., (1994), sendo, 0,58 para fração de LN e 0,70 para FL em amostras de curimbatá (*Prochilodus scrofa*). As diferenças dos valores nas razões de n-6/n-3 entre as classes de LN e FL, deve-se ao aumento de AGPI na classe de fosfolipídios.

4. CONCLUSÕES

Considerando que a tilápia é uma espécie de peixe bastante apreciada e consumida pela população, o uso de ração diferenciada, a base de óleo de linhaça, melhorou o potencial nutritivo da carne. Os resultados obtidos no fracionamento de LT em LN e FL mostraram que a classe majoritária para ambos os tratamentos foi à classe de lipídios neutros. Também foi observada uma considerável quantidade de ácidos graxos poliinsaturados na fração de FL e uma grande porção de ácidos graxos saturados e monoinsaturados na fração de LN.

Com relação aos ácidos LA e LNA teores maiores foram detectados na classe de Lipídios Neutros, enquanto que os ácidos AA, EPA e DHA foram superiores na classe de Fosfolipídios.

As concentrações de AGPI n-3 apresentaram-se sempre em crescimento durante o período de 90 dias de tratamento, enquanto os AGPI n-6 mostraram-se em decréscimo nas amostras de tilápia submetidas ao tratamento com óleo de linhaça, melhorando desta forma as razões n-6/n-3 do conteúdo lipídico.

Desta forma, o acréscimo deste óleo na dieta alimentar de peixes pode ser considerado uma excelente opção para melhoramento nutritivo da carne de peixes de água doce.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ackman, R.G. (1989). Nutritional composition of fats in seafood. **Progress of Food and Nutrition Science**, 13, 161-241.

Ackman, R.G. (1980). Fish lipids. In: **Advances in Fish Science and Tecnology** (J. J. Connel, Ed.). Finishing News (Books) Ltda., London, 86-103.

Alceste, C. & Jorry, D. (1998). Análisis de las tendencias actuales em comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norte América y la Union Europea. In: CONGRESSO SULAMERICANO DE AQUICULTURA, 1, 1998, Recife. **Anais...** Recife: SIMBRAQ, p.349.

Armstrong, S.G.; Wyllie, S.G.; Leach, D.N. (1991). Nutritional evaluation of lipids in fish from low temperature Australian waters. **Journal of Food Science,** Chicago, 56 (4): 1.111-1.112.

Badolato, E.S.G.; Carvalho, J.B.; Amaral Mello, M.R.P.; Tavares, M.; Campos, N.C.; Aued-Pimentel, S.; Moraes, S. (1994). Composição centesimal de ácidos graxos e valor calórico de cinco espécies de peixes marinhos nas diferentes estações do ano. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 54, v.1, 27-35.

Borghetti, N.R.B.; Ostrensky, A.; Borghetti, J.R. (2003). **Aqüicultura**: uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo. Curitiba: Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais, 128p.

Brum, A.A.S.; Oetterer, M.; Regitano D'arce, M.A.B. (2002). Óleo de Pescado com o Suplemento Dietético. Fish Oil as Dietetic Suplement**. Revista de Ciência & Tecnologia**. 10, 71-78

Byrne, M. (1994). Nutraceuticals: food fad or future trend. **Chilton's Food Engineering International,** Chilton, 19, 42-43.

Calder, P.C. (2001). N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and Immunity: pouring oil on troubled waters or another fishy tale? **Nutrition Research,** 21, 309-341.

Ceoto, B. (2000). O que é que a linhaça tem. Dentro das sementes da planta que dá origem ao linho há componentes que equilibram os hormônios femininos e reforçam as defesas do corpo. **Revista Saúde**, 37-40.

Cho, H.P.; Nakamura, M.T.; Clarke, S.D. (1999). Cloning expression and nutritional regulation of the mammalian delta-6 dessaturase. **Journal of Biological Chemistry,** Bethesda, 274, 471-477.

Christie, W.W. (1994). **Lipid analysis**, Oxford, England. Pergamon Press, 307p.

Darlington, L.G. (1988). **Annals of the Rheumatic Diseasis**, 47, 169-172.

Edwards, R.; Peet, M.; Shay, J.; Horrobi, D. (1998). **Journal of Affective Disorders**, 48, 149-155.

El-Sayed, A.F.M. (1999). Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis niloticus* spp. **Aquaculture Research**, 179, 149-168.

El-Sayed, A.F.M. (1998). Total replacement of fish meal with animal protein sources in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L), feeds. **Aquaculture Research**, 29, 275-280.

Fagundes, L.A. (2003). **Guia de alimentação natural**: alimentos que nos ajudam a viver melhor. Porto Alegre. 133p.

Garcia-Regueiro, G.J. & Diaz, I. (1997). **Journal of Chromatographic**, A667, 225.

Gibson, T.A. & Worthington, R.E. (1977). Lipid Changes in Frozen Stored Channel Catfish Grown by Tank Culture: Effects of dietary fat, freezing method, and storage temperature. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 2, p. 355-358.

Guzmán, E. S. C. (1994). **Bioquímica de pescado e derivados**. Editora funep-Universidade de São Paulo, jaboticabal. 409p.

Guyton Ac & Hall Je, (1997). Tratado de fisiologia médica. 9a ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1014 p.

Haag, M. (2003). Essential Fatty Acids and the Brain. **Canadian Journal of Psychiatry,** 48, 195-203.

Hayashi, C. (1995). Breves considerações sobre as tilápias. In: RIBEIRO, R.P.; Hayashi, C; Furuya, W.M. (Eds.). **Curso de piscicultura – criação racional de tilápias.** 1.ed. Maringá, p.4.

Henderson, R.J. & Tocher, D.R. (1987). The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. **Progress Lipid Research**, 26, 281-347.

Hilsdorf, A.W.S. (1995). Genética e cultivo de tilápias vermelhas - uma revisão*.* **Boletim do Instituto de Pesca**, 22, 73-84.

Holub, B. (2002). Omega-3 fatty acids in cardiovascular care, **Journal Clinical Nutrition,** Guelph, 4, 608-615.

Hornstra, G. (2001). Importance of polyunsaturated fatty acids of the n-6 and n-3 families for early human development. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, 103, 379-389.

Horrocks, L.A. & Yeo, Y.K. (1999). Health benefits of docosahexaenoic acid DHA. **Pharmacological Rearch**, Oxford, 40, 211-225.

Hunter, B.J. & Roberts, D.C.K. (2000). Potential impact of the fat composition of farmed fish on human health. **Nutrition Research**, 20, 1047-58.

Inhamuns, A.J. & Bueno Franco, M.G., (2001). Composition of Total, Neutral, and Phospholipids in Mapará (Hypophthalmus sp.) from the Brazilian Amazonian Area. **Journal of Agricultural and food chemistry,** 49, 4859-4863.

Innis, S.M. (2000). Essential fatty acids in infant nutrition: lessons and limitations from animal studies in relation to studies on infant fatty acid requirement. **American Journal of Clinical Nutrition**, 71(suppl), 238SS-44S.

Izquierdo, P.C.; Ferrari, G.T.; Martinez, Y.B., Salas, E.B., Cagnasso, M,A., (2000). Análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de

minerals en doce especies de pescado de importancia commercial en Venezuela. **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, 50, 187-194.

Johnston, J.J.; Ghanbari, H.A.; Wheeler, W.B.; Kirk, J.R. (1983). Characterization of shrimp lipids. **Journal Food Science**, 48, 33-5.

Justi, K. C.; Hayashi, C.; Visentainer, J. V.; Souza, N. E.; Matsushita, M. (2003). 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 Chemistry**, 80, 489-493.

Kaushik, S. J. (2001). Mineral nutrition. **In**: Guillaume, J., Kaushik, S. J., Bergot, P., Méailler, R. (Eds.), nutrition and Feeding of fish and Crustaceans. **Praxiz Publishing**, Chichester, UK, 169-181.

Khayat A., Schwall D. (1983). Lipid oxidation in seafood. **Food Technology**, 37, 130-140.

Kinsella, J. E.; Shimp, J. L.; Mai, J.; Weihrauch, J. (1977). Sterol, Phospholipid, Mineral Content and Proximate Composition of Fillets of Select Freshwater Fish Species. **Journal of Food Biochemistry**, 1, 131-140.

Kristinsson, H.G. & Rasco, B.A., (2000). Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition.** 40, 143– 181.

Lambertsen, G. (1972). Lipids in fish Fillet and Liver – A comparison of fatty acid compositions. **Fiskeridirektoratets Skrifter Serie Tecnologiske Undersokelser,** 15, 3-15.

Lovern, J.A.; Olley, J.; Watson, H.A. (1959). Changes in the Lipids of Cod During Storage in Ice. **Journal of Science and Food Agricultural**, v. 10, n. 6, p. 327-337.

Lovern, J.A. (1962).The Lipids of Fish and Changes Occurring in them During Processing and Storage. **In**: HEEN, E.; KREUZER, R. (Eds.), **Fish in Nutrition.** London: Fishing News, 86-111.

Maia, E.L.; Oliveira, C.C.S.; Santiago, F.E.A.; Cunha, F.C.A.F.; Holanda, J.A.S. (1999). Composição Química e Classes de Lipídios em Peixe deágua doce Curimatã comum, *Prochilodus cearensis*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 19, 433-437.

Maia, E.L. & Rodrigues-Amaya, D.B. (1992). Fatty Acid Composition of the Total, Neutral and Phospholipids of the Brazilian Freshwater Fish *Colossoma macropomum*. In: Charalambous, G. (Ed.), **Food Science and Human Nutrition.** Amsterdam: Elsevier Science, 633-642)

Maia, E.L., Rodrigues-Amaya, D.B., Franco, M.R.B. (1994). Fatty Acids of the Total, Neutral, and Phospholipids of the Brazilian Freshwater Fish *Prochilodus scrota.* **Journal of Food Composition and Analysis**, 7, 240-251.

Maia, E.L.; Rodrigues-Amaya, D.B.; Amaya-Farfán, J. (1983). Proximate, fatty acid and Amino Acid Composition of the Brazilian Freshwater Fish *Prochilodus scrofa*. **Food Chemistry**, 12, 275-286.

Martino, R.C. & Takahashi, N.S. (2001). A importância da adição de lipídios em rações para aqüicultura. **Revista Óleos & Grãos**, São Caetano do Sul, 58, 32-37.

Mcmanus, R.M.; Jumpson, J.; Finegood, D.T.; Clandinin, M.T.; Ryan, E.A. (1996). **Diabetes Care**, 19, 463-467.

Meurer, F.; Hayashi, C.; Soares, C.M.; Boscolo, W. R. (2000). Utilização de levedura *spray dried* na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **Acta Scientiarum**, 22, 479-484.

Muriel, E.; Ruiz, J. Ventanas, T.; Antequera, T. (2002). **Food chemistry,** 78, 219.

Puustinen, T. & Punnonen, K. (1985).The fatty acid composition of 12 North-European fish species. **Acta Medicine Scandinavia**, Stockholm, 218, 59-62.

Puwastien, P.; Judprasong, K.; Kettwan, E.; Vasanachitt, K.; Nakngamanong, Y.; Battacharjee, L. (1999). Proximate composition of raw and cooked that freshwater and marine fish. **Journal of Food Composition and Analysis**, 12, 9-16.

Ruiz, J.; Antequera, T.; Andres, A.I.; Petron, M.J.; Muriel E. (2004). Improvement of a solid phase extraction method for analysis of lipid fractions in muscle foods. **Analytica Chemical Acta,** 520, 201–205.

Salem Jr., N. (1999). Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Backgrounder**, 3, 1-8.

Serrão, L. H. C. (1997). Lipídios totais e colesterol em produtos pesqueiros frescos e processados. João Pessoa. 90p. **Dissertação** (Mestre em Tecnologia de Alimentos). Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba.

Salem, Jr., N. (1999). Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Backgrounder**, 3, 1-8.

Sanderson, P.; Finnegan, Y.E.; Williams, C.M.; Calder, P.C.; Burdge, G.C.; Wotton, S.A.; Griffin, B.A.; Millward, D.J.; Pegge, N.C.; Bemelmans, W.J.E. (2002). UK Food Standards Agency α-linolenic acid workshop report. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, 88, 573-579.

Sasaki, S.; Ota, T.; Takagi, T. (1989). Composition of fatty acids in the lipids of masu salmon and pink salmon, and alter canned fish. **Nippon Suisan, Gakkaishi**, 55, 1655-1660.

Satoh, S.; Takeuchi, T.; Watanabe, T. (1984). Effects of starvation and environmental temperature on proximate and fatty acid compositions of Tilapia nilotica**. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**. 50, 79-84.

Simopoulos, A.P. (2000). Symposium: role of poultry products in enriching the human diet with n-3 PUFA: human requirement for n-3 polyinsaturated fatty acids. **Poultry Science**, Savoy, 79, 961-970.

Varljen, J., Sulic, S., Brmalj, J., Baticic, V.O., Kapovic, M. (2003). Lipid Classes and Composition of *Diplodus vulgaris* and *Conger conger* Originating from the Adriatic Sea, **Food Technology and Biotechnology**, 2, 149-156.

Venugopal, V., Chawla, S.P., Nair, P.M., (1996). Spray dried protein powder from threadfin beam: preparation properties and comparison with FPC type-B. J. **Muscle Foods** 7, 55.

Visentainer, J.V.; Gomes, S.T.M.; Hayashi, C.; Santos-Júnior, O.O.; Silva, A.B.M.; Justi, K.C.; Souza, N.E.; Matsushita, M. (2003). Efeito do tempo de fornecimento de ração suplementada com óleo de linhaça sobre a composição Físico-química e de ácidos graxos em cabeças de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência e tecnologia de Alimentos**, 23, 478-484.

Visentainer, J.V. (2003). Compposição de ácidos graxos e quantificação dos ácidos garxos LNA, EPA e DHA no tecido muscular de tilápias (Oreochromis niloticus), submetidas a diferentes tratamentos com óleo de linhaça. **Tese de doutorado**. FEA/Unicamp, Campinas, SP.

Vlieg, P. & Body, D.B. (1988). Lipid contents and fatty acid composition of some New Zealand freshwater finfish and marine finfish, shelfish and roes. **New Zealand Journal Marine Freshwater Research**, 22, 151-155.

Wang, Y.J.; Miller, L.A.; Peren, M.; Addis, P.B. (1990). Omega-3 fatty acids in Lake Superior fish. **Journal of Food Science**, 55, 71-73.

CONCLUSÃO GERAL

Este estudo mostrou que a composição em ácidos graxos das dietas, foram refletidas diretamente na composição de ácidos graxos no conteúdo lipídico do tecido muscular das tilápias (*Oreochromis niloticus*). Também ficou comprovado que o fornecimento de rações enriquecidas com 7% óleo de linhaça por um período de 45 dias é suficiente para uma boa incorporação de AGPI n-3.

O fracionamento dos lipídios totais em classes de lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (FL) mostrou que nas frações de LN houve maior concentração de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, enquanto que na fração de FL houve maior concentração de ácidos graxos poliinsaturados.

A análise sensorial mostrou que não houve alteração no sabor dos filés de tilápias que receberam a ração enriquecida com 7% de óleo de linhaça.

A quantificação permitiu avaliar a composição em ácidos graxos em mg/g de lipídios totais comprovando a incorporação de AGPI n-3. Desta forma, ficou bem estabelecido quantitativamente (em mg/g de LT) o potencial nutritivo (em termos de conteúdo lipídico) da carne (filé) destas tilápias de acordo com tempo de fornecimento de rações enriquecidas com 7% óleo de linhaça.

ANEXOS

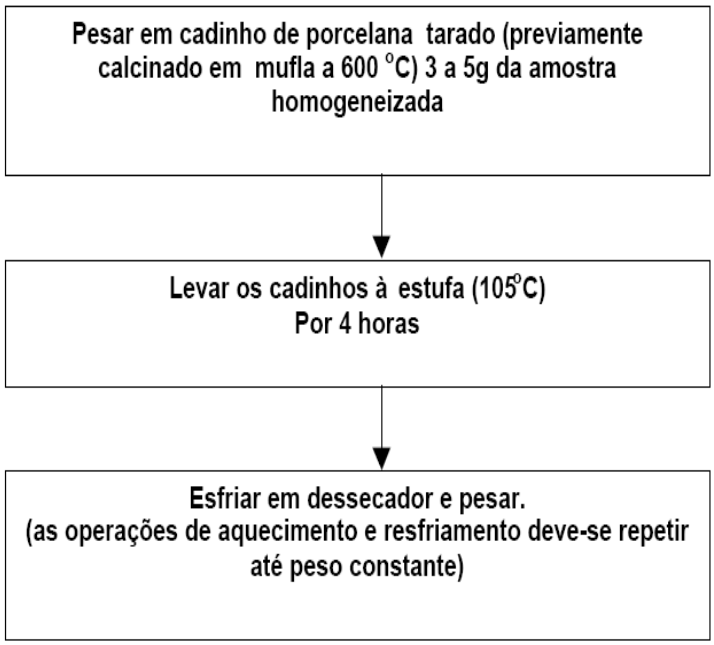
ANEXO I. Métodos de análises dos teores de umidade, cinzas, proteínas bruta e Lipídios Totais.

I.1. UMIDADE

Materiais e equipamentos

- cadinhos de porcelana
- estufa
- garra
- dessecador
- Balança analítica

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

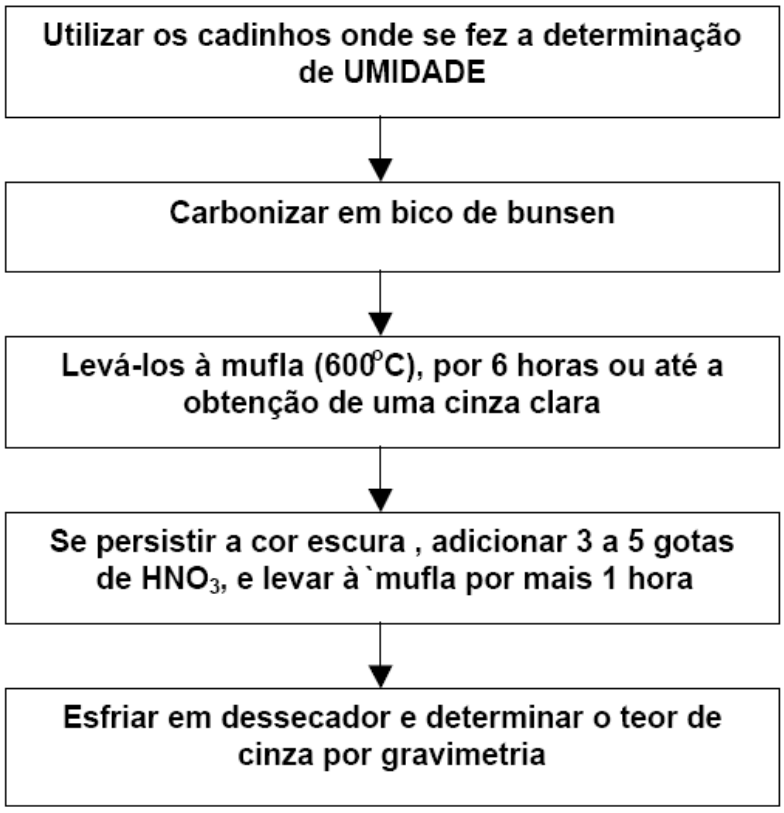


I.2. CINZA OU MINERAIS

Materiais e equipamentos:

- cadinhos de porcelana
- mufla
- garra
- dessecador
- Balança analítica

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL



I.3. PROTEÍNA BRUTA

MATERIAIS

· Tubos especiais para digestão e destilação
· Estante para suporte dos tubos
· Papel manteiga
· Espátula de vidro
· Erlenmeyer de 250mL

EQUIPAMENTOS

· Balança Analítica
· Equipamento para digestão Büchi
· Equipamento para destilação Büchi
· Bureta automática Metrohm

REAGENTES

· Mistura Catalítica
· Ácido sulfúrico concentrado
· Água destilada
· Solução de NaOH 40%
· Solução de ácido bórico 4%
· Indicador (vermelho de metila + verde de bromocresol)
· Solução de HCl 0,1mol.L-1 (padrão)

MÉTODO

O método para a determinação do nitrogênio total consiste de três etapas: a **digestão** das amostras, onde o nitrogênio orgânico é transformado em amônia e os compostos orgânicos são convertidos em CO2, H2O, etc., a **destilação**, onde a amônia é separada e recolhida em uma solução receptora e a **titulação**, que é a determinação quantitativa da amônia contida na solução receptora.

1ª Etapa - Digestão da Amostra

Pesar um pedaço de papel manteiga pequeno, que tem quantidade de nitrogênio despresível (anotar a massa)

↓

Sobre o mesmo pesar, por diferença, de 100 a 300 mg de amostra (se a amostra for líquida, medir em pipeta volumétrica, 5-10 mL).

↓

Enbrulhar a amostra e coloca-lá em um tubo para digestão

↓

Adicionar 1 a 2 gramas de mistura catalítica (aproximadamente 2 espátulas de vidro cheias) e 10 mL de $H_2SO_{4(CONC)}$ (ocorre um aumento no ponto de ebulição para 400°C)

↓

Acoplar os tubos ao aperelho para digestão Büchi

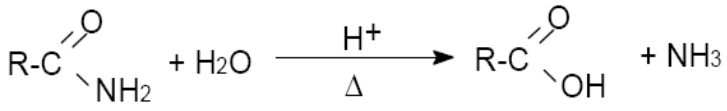
↓

iniciar a digestão elevando a temperatura aos poucos para que não ocorra perdas (ao final da digestão o material ficará totalmente claro).

Reações observadas no processo de digestão

$$\text{Mat. orgânica} \xrightarrow[\Delta]{H_2SO_4} SO_2 + CO_2 + H_2O + R\text{-}NH_2$$

$$R\text{-}NH_2 + H_2O \xrightarrow[\Delta]{H_2SO_4} R\text{-}OH + NH_3$$



$$2NH_3 + H_2SO_4 \longrightarrow (NH_4)_2SO_4$$

2ª e 3ª Etapas – Neutralização e Destilação do Nitrogênio

Retirar os tubos do digestor Büchi, e deixar resfriar (temperatura ambiente)

↓

Para a neutralização adicinar 40mL de NaOH lentamente

↓

Levar os tubos com a amostra ao destilador e recolher o nitrogênio em um erlenmeyer contendo 30mL de ácido bórico 4% e cinco gotas do indicador para proteína

↓

Retirar o erlenmeyer do destilador com cuidado para que não haja perda da amônia contida na solução receptora e iniciar a etapa de titulação

Reações observadas no processo de destilação

$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \xrightarrow{\Delta} 2NH_4OH + Na_2SO_4$$

$$NH_4OH \xrightarrow{\Delta} NH_3 + H_2O$$

$$NH_3 + H_3BO_3 \longrightarrow NH_4H_2BO_3$$

4ª Etapa - Titulação da Amônia

Levar o erlenmeyer para ser titulado com solução de HCl (0,1N), com fator de correção conhecido, sob agitação

↓

Realizar a titulação até o ponto de viragem (rosa claro) e anotar o volume gasto

↓

Calcular o teor de nitrogênio com o auxílio da equação 1

↓

Calcular o teor de proteína bruta (%) através da equação 2

Reação observada no processo de titulação

$$NH_4 + H_2BO_3 + HCl \longrightarrow H_3BO_3 + NH_4Cl$$

Equação 1:

$$\%N = \frac{V \times N \times f \times 14 \times 100}{m}$$

onde: %N = porcentagem de nitrogênio total na amostra;
V = volume de HCl gasto na titulação (mL);
N = concentração (mol/L) do padrão (HCl);
f = fator de correção do padrão;
m = massa da amostra (mg)

Equação 2:

$$\%PB = \%N \times FE$$

onde: %PB = porcentagem de proteína bruta contida na amostra;
FE = fator específico (diferente para cada tipo de alimento);

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

Ácidos Graxos	VALORES DE ECL					
	Amostras±d.p. A	Literatura				
		1	2	3	4	5
14:0	14,01±0,02	14,00	14,00	14,00	14,0000	14,000
14:1n-5	14,47±0,02	14,45	14,42	14,39	14,4328	14,420
15:0	15,01±0,02	14,98	14,99	14,98	15,0000	15,000
16:0	16,01±0,01	16,00	16,00	16,00	16,0000	16,000
16:1n-9	16,25±0,02	16,24	16,24	16,21		16,167
16:1n-7	16,31±0,01	16,31	16,30	16,26	16,31	16,310
17:0	17,00±0,01	16,99	16,99	16,98	17,0000	17,000
17:1n-11	17,15±0,01			17,14	17,2131	
17:1n-9	17,31±0,01	17,27	17,26	17,23	17,2507	
17:1n-7	17,43±0,01	17,47			17,3035	
18:0	18,01±0,01	18,00	18,00	18,00	18,0000	18,000
18:1n-11	18,14±0,01	18,16	18,15	18,13	18,2000	
18:1n-9	18,23±0,01	18,26	18,24	18,21	18,2334	18,236
18:1n-7	18,30±0,01	18,32	18,31	18,26	18,3028	18,301
18:1n-4	18,57±0,02	18,52		18,51		
18:2n-6	18,71±0,01	18,74	18,72	18,64	18,7093	18,699
t,t-18:2n-6	18,76±0,02	18,77			18,7208	
18:3n-6	19,04±0,01	19,05	19,04	18,92	19,0252	19,015
19:0	19,06±0,02	19,07	18,99	19,00	19,0000	19,000
18:3n-3	19,37±0,01	18,38	19,38	19,25	19,3598	19,347
20:1n-9	20,21±0,01	20,22	20,22	20,19	20,2157	20,215
20:1n-7	20,32±0,01		20,31	20,33	20,3001	20,292
X1	20,35±0,00					
20:2n-6	20,71±0,01	20,72	20,71	20,62	20,6980	20,686
20:3n-9	20,77±0,00	20,78		20,65		
20:3n-6	20,96±0,01	21,00	20,96	20,88	20,9744	20,959
21:0	21,00±0,02		21,00		21,0000	21,000
20:4n-6	21,23±0,00	21,24	21,24	21,09	21,2014	21,185
20:3n-3	21,34±0,00	21,38	21,38	21,24	21,3528	21,337
20:4n-3	21,60±0,00	21,66	21,66	21,49	21,6255	21,605
20:5n-3	21,80±0,00	21,90	21,89	21,70	21,8541	21,838
22:0	22,00±0,00	22,00	22,00	22,00	22,0000	22,000
X2	23,13±0,01					
22:1n-9	22,20±0,02	22,22	22,22	22,15	22,2066	22,200
22:2n-6	22,70±0,02	22,71	22,70		22,6943	22,681
22:4n-6	23,23±0,01	23,24	23,23		23,2002	23,180
22:5n-6	23,56±0,00	23,53	23,52		23,4801	23,458
22:5n-3	23,85±0,00	23,90	23,89		23,8563	23,832
24:0	24,01±0,01	24,00	24,00		24,0000	24,000
22:6n-3	24,15±0,01	24,13	24,16		24,1375	24,198

A – Coluna Carbowax 20M – 50m x 0,25mm x 0,25µm; 200°C/isotérmica.

1 – Visentainer (2003) – (Coluna DB-wax 20M - 30m x 0,247mm x 0,25µm; 200°C/isotérmica).

2 – Silva (2000) – (Coluna DB-wax 20M - 30m x 0,247mm x 0,25µm; 200 °C/isotérmica).
3 – Maia (1992) - (Coluna DB-wax 20M - 50m x 0,22mm x 0,25µm; 200 °C/isotérmica).
4 – Stránky (1997) - (Coluna DB-wax 20M - 30m x 0,247mm x 0,25µm; 200°C/isotérmica).
5 – Thompson (1996) - (Coluna Carbowax 20M - 60m x 0,25mm x 0,25µm; 200°C/isotérmica).

ANEXO III - Cromatogramas característicos de ésteres metílicos de ácidos graxos:

- Das rações utilizadas no experimento:

Figura 1 - Ração enriquecida com 7% de óleo de soja (Ração I).

Figura 2 - Ração enriquecida com 7% de óleo de linhaça (ração II).

- Dos lipídios Totais do tecido muscular das tilápias:

Figura 3 – Tempo de zero dia – Tratamento com a ração II.

Figura 4 – Tempo de 15 dias – Tratamento com a ração II.

Figura 5 – Tempo de 45 dias – Tratamento com a ração II.

Figura 6 – Tempo de 90 dias – Tratamento com a ração II.

Figura 7 – Tempo de 15 dias – Tratamento com a ração I.

Figura 8 – Tempo de 45 dias – Tratamento com a ração I.

Figura 9 – Tempo de 90 dias – Tratamento com a ração I.

- Da fração Fosfolipídica do tecido muscular das tilápias:

Figura 10 – Tempo de 0 dia – Tratamento com a ração II.

Figura 11 – Tempo de 45 dias – Tratamento com a ração II.

Figura 12 – Tempo de 90 dias – Tratamento com a ração II.

Figura 13 – Tempo de 90 dias – Tratamento com a ração I.

Figura 14 – Tempo de 90 dias – Tratamento com a ração I.

Figura 15 – Tempo de 90 dias – Tratamento com a ração I.

- Da fração de Lipídios Neutros do tecido muscular das tilápias:

Figura 16 – Tempo de 0 dia – Tratamento com a ração II.

Figura 17 – Tempo de 45 dias – Tratamento com a ração II.

Figura 18 – Tempo de 90 dias – Tratamento com a ração II.

Figura 19 – Tempo de 90 dias – Tratamento com a ração I.

Figura 20 – Tempo de 90 dias – Tratamento com a ração I.

Figura 21 – Tempo de 90 dias – Tratamento com a ração I.

Figura 1 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos de Lipídios Totais da ração enriquecida com 7% de óleo de soja (Ração I).

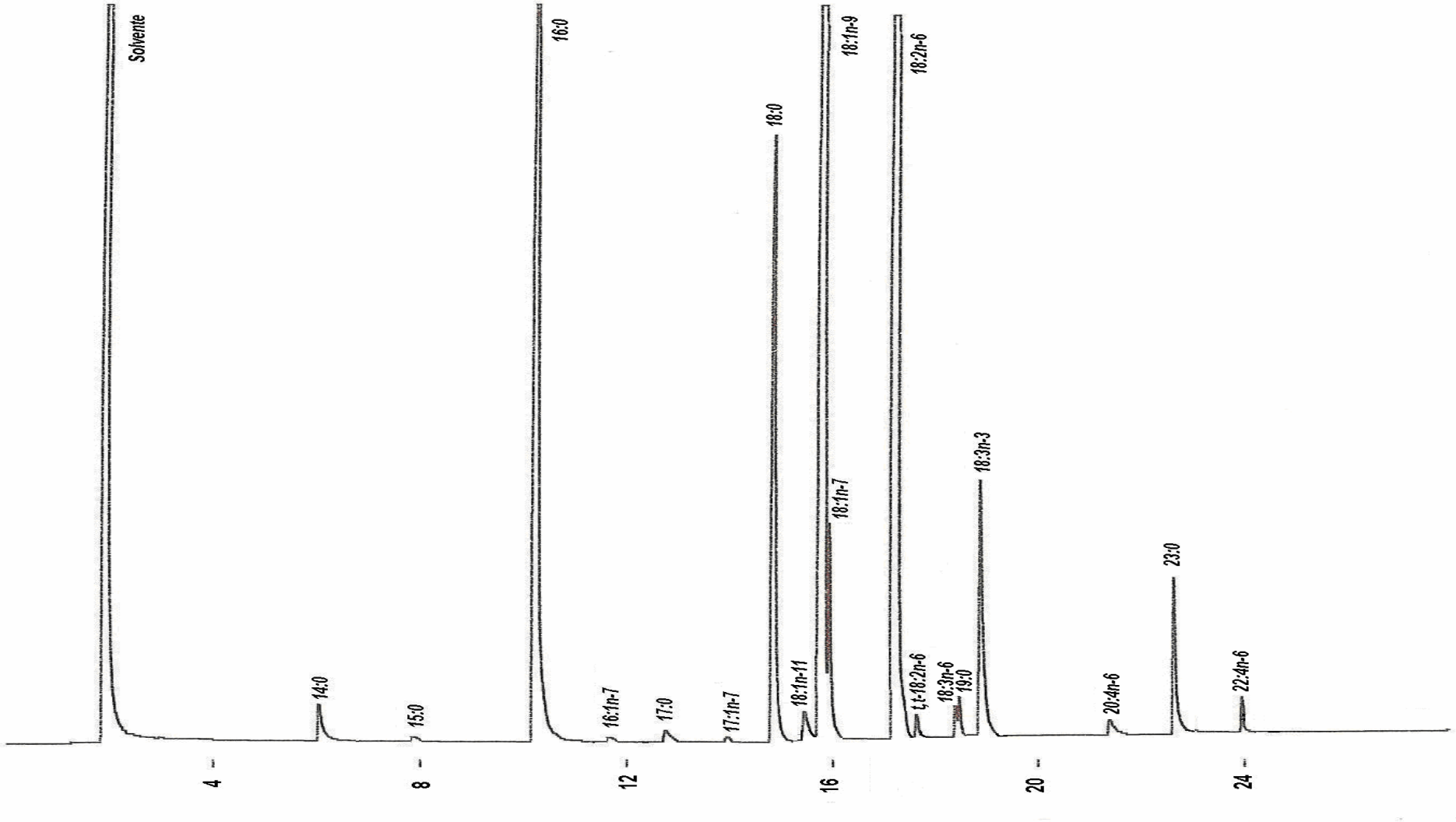


Figura 2 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos de Lipídios Totais da ração enriquecida com 7% de óleo de linhaça (Ração II).

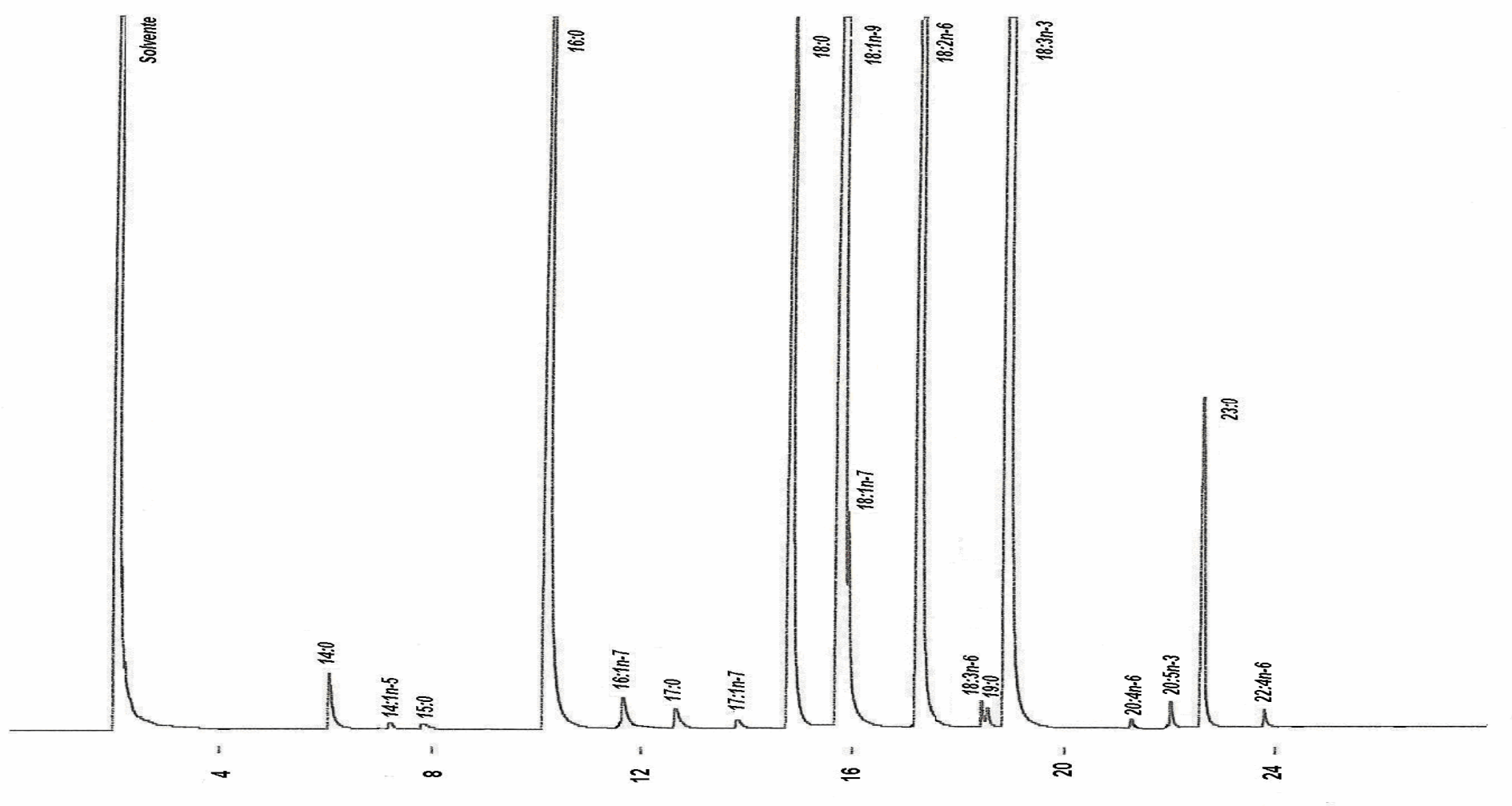


Figura 3 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos de Lipídios Totais do tecido muscular de tilápias no tempo de zero dia com o tratamento com a ração II (Óleo de Linhaça).

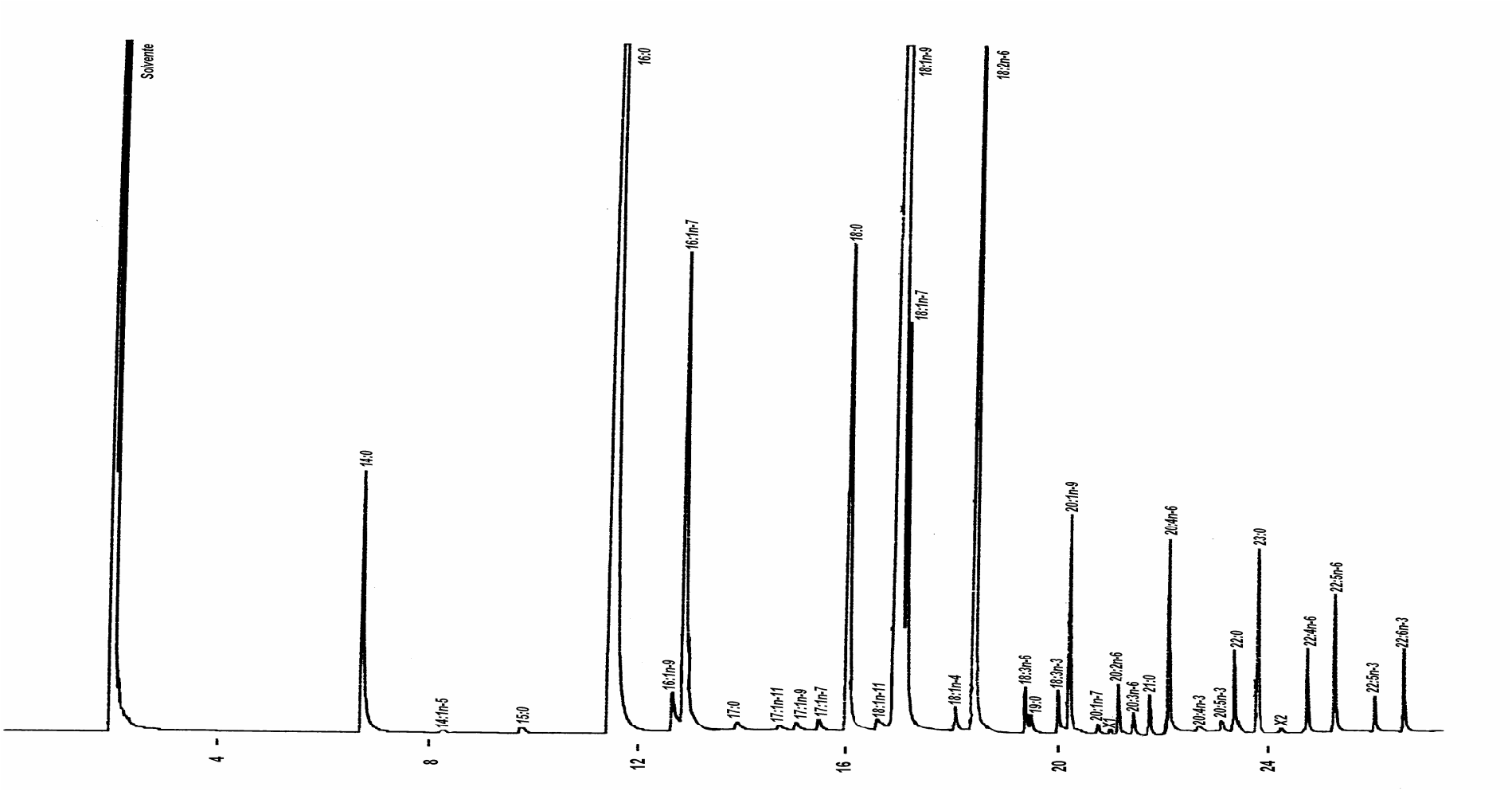


Figura 4 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos de Lipídios Totais do tecido muscular de tilápias no tempo de 15 dias com o tratamento com a ração II (Óleo de Linhaça).

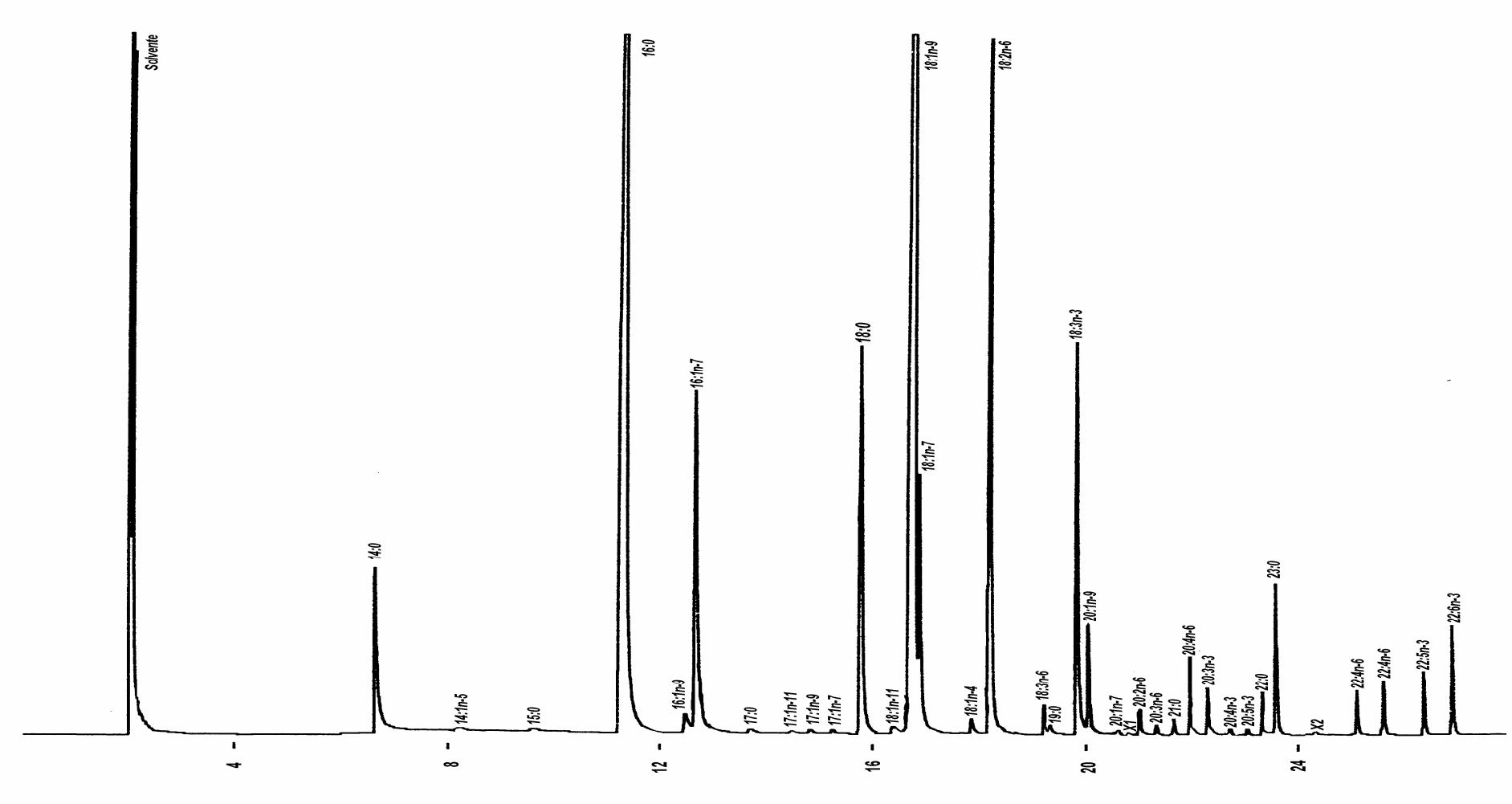


Figura 5 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos de Lipídios Totais do tecido muscular de tilápias no tempo de 45 dias com o tratamento com a ração II (Óleo de Linhaça).

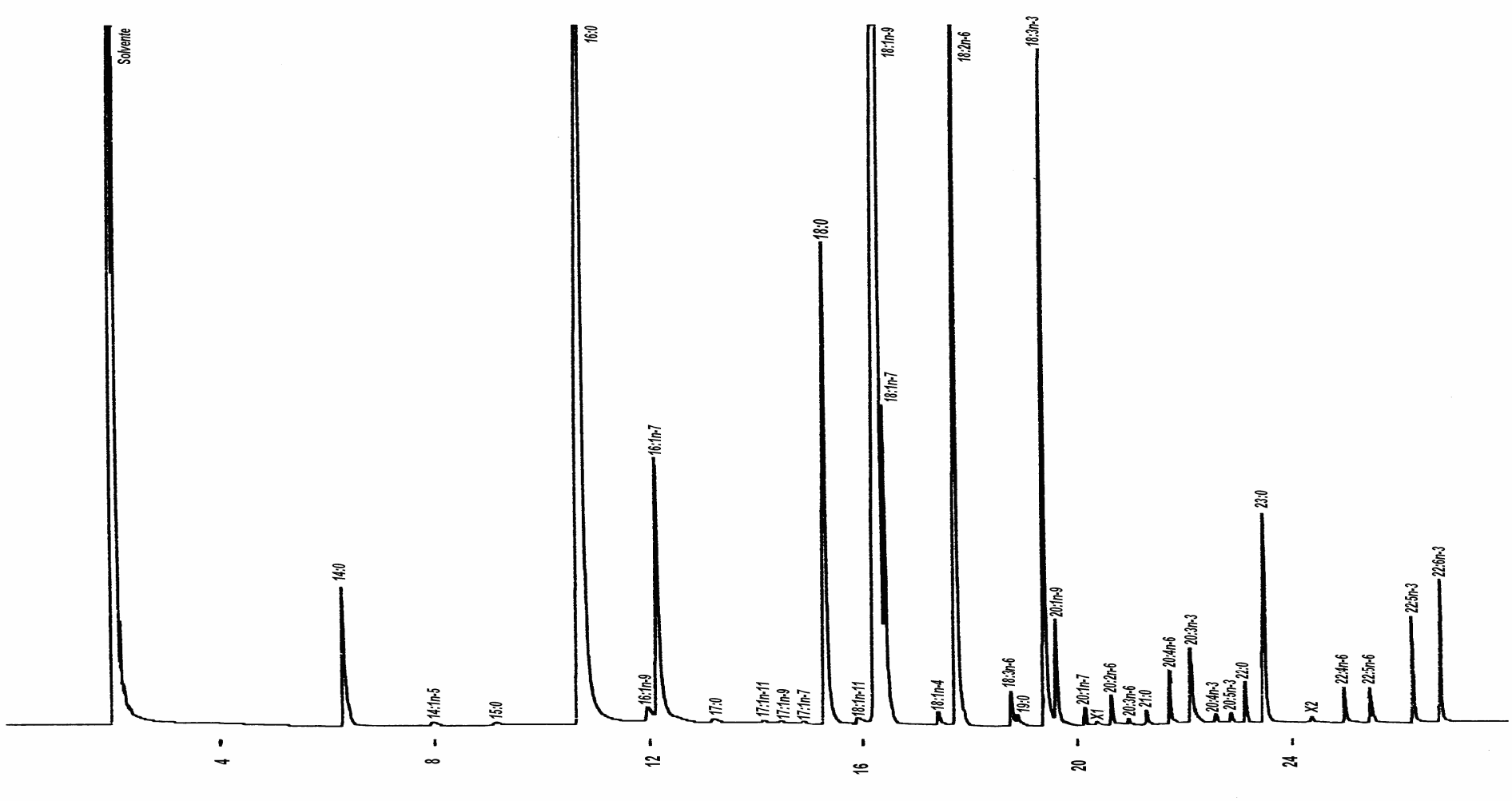


Figura 6 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos de Lipídios Totais do tecido muscular de tilápias no tempo de 90 dias com o tratamento com a ração II (Óleo de Linhaça).

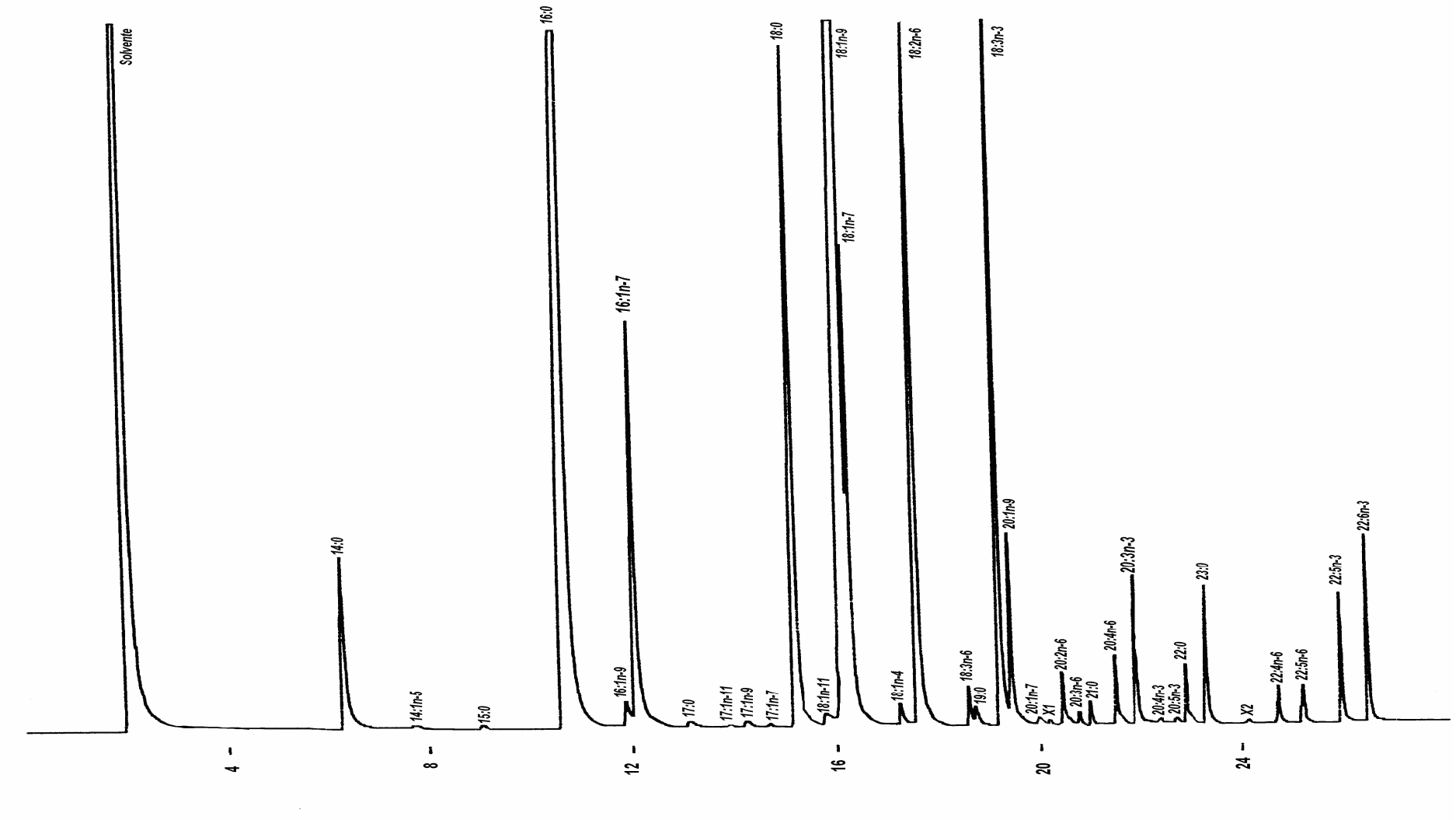


Figura 7 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos de Lipídios Totais do tecido muscular de tilápias no tempo de 15 dias com o tratamento com a ração I (Óleo de Soja).

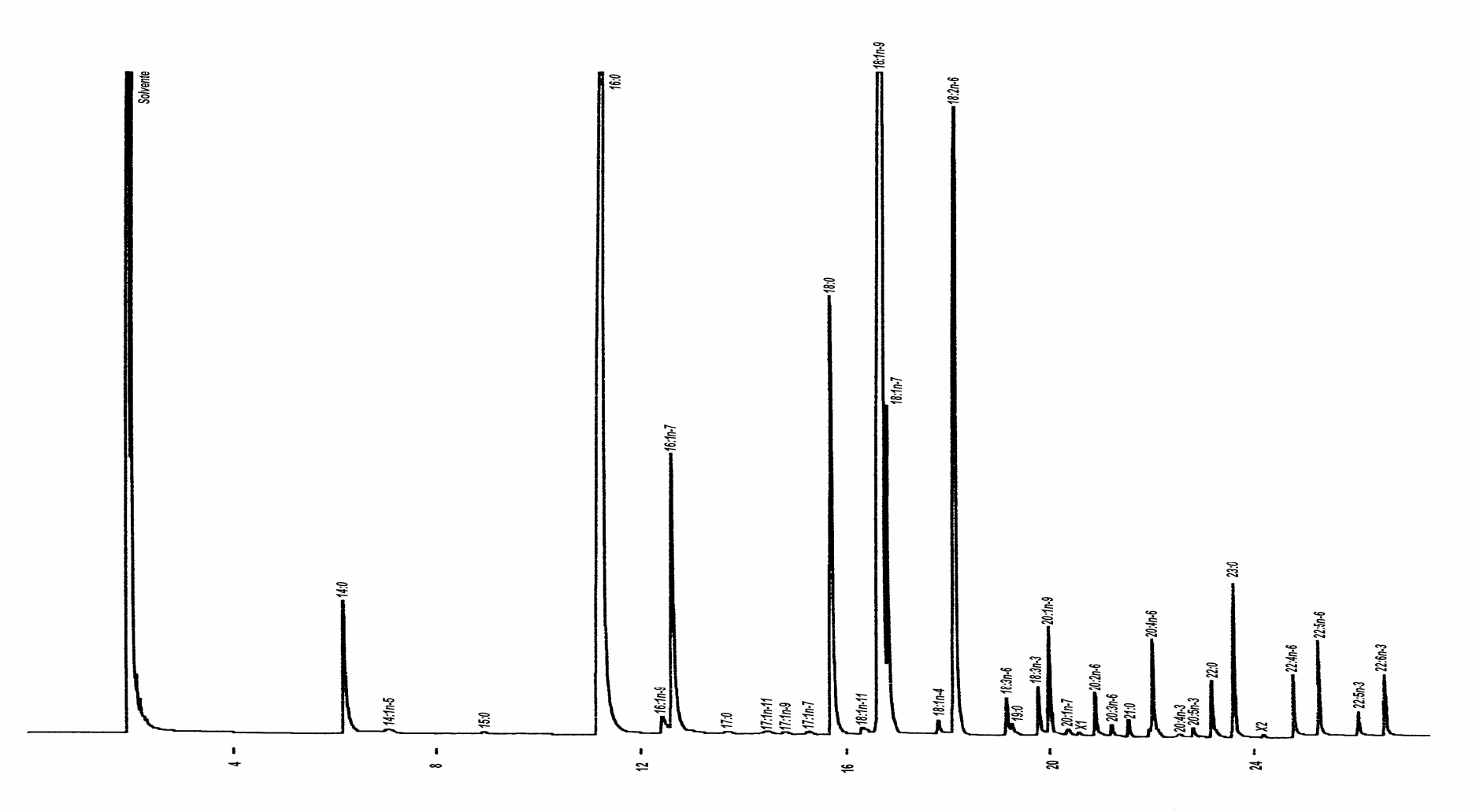


Figura 8 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos de Lipídios Totais do tecido muscular de tilápias no tempo de 45 dias com o tratamento com a ração I (Óleo de Soja).

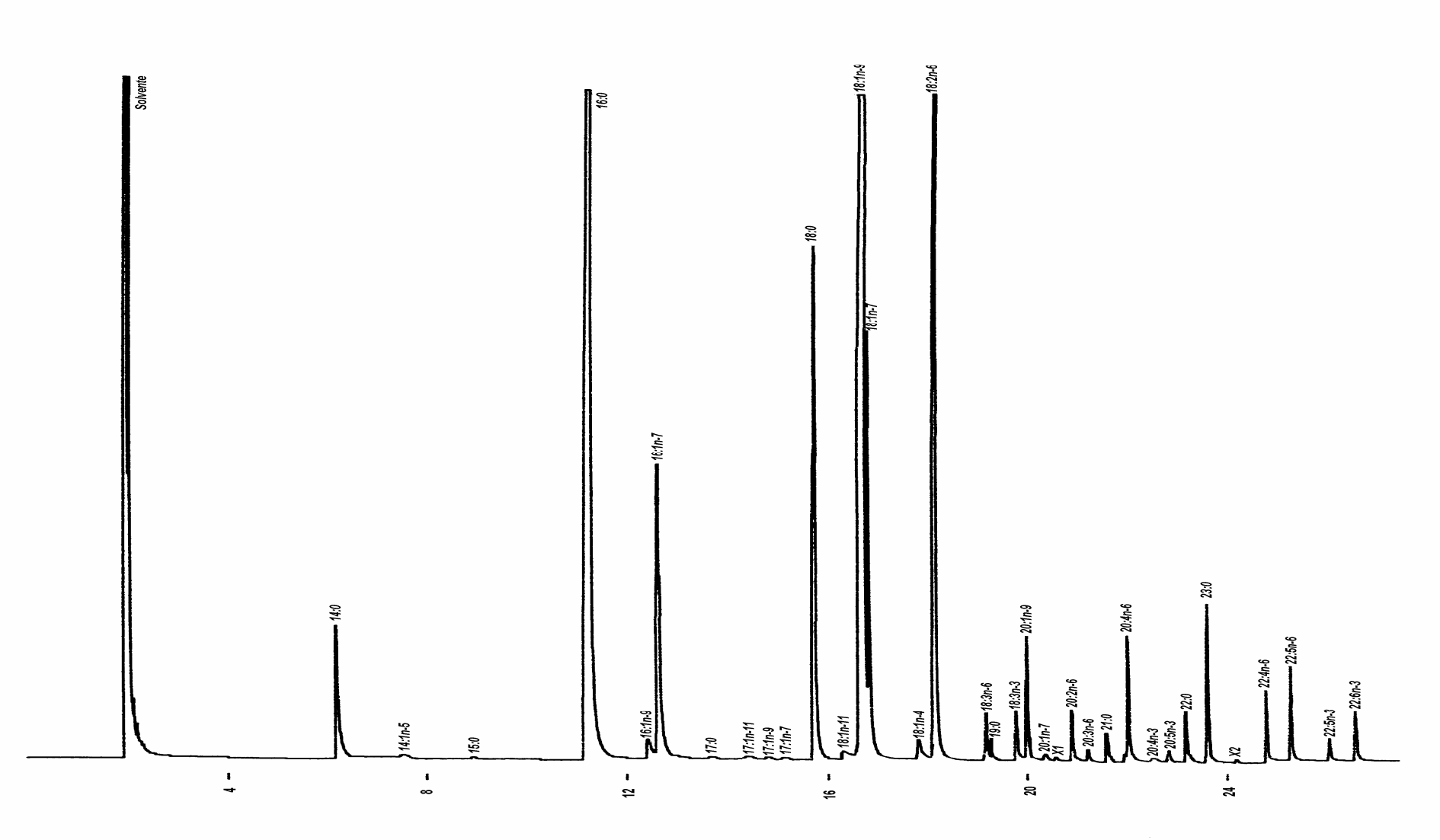


Figura 9 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos de Lipídios Totais do tecido muscular de tilápias no tempo de 90 dias com o tratamento com a ração I (Óleo de Soja).

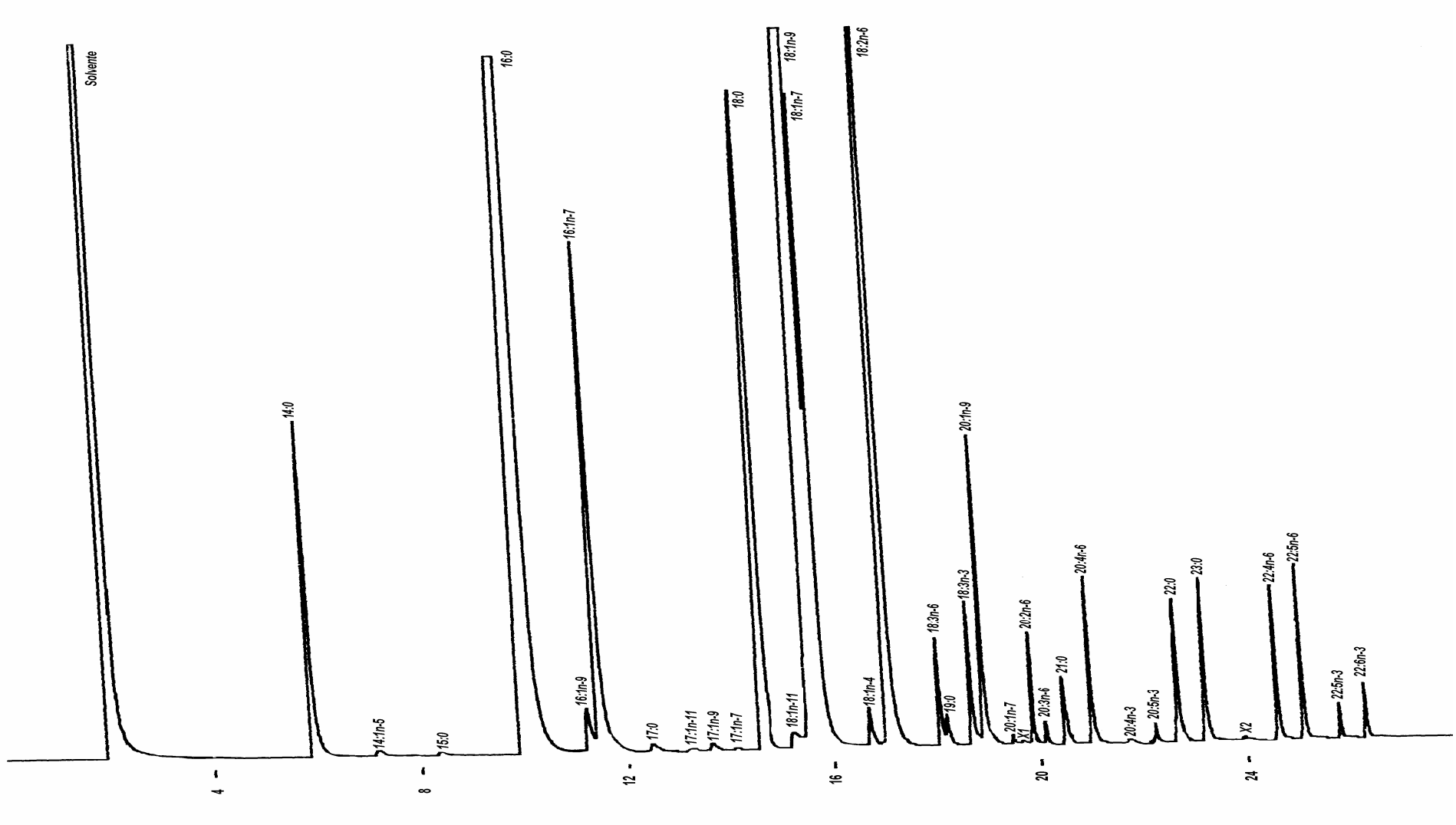


Figura 10 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos da fração de Fosfolipídios do tecido muscular de tilápias no tempo de 0 dia submetidas ao tratamento com a ração II (Óleo de Linhaça).

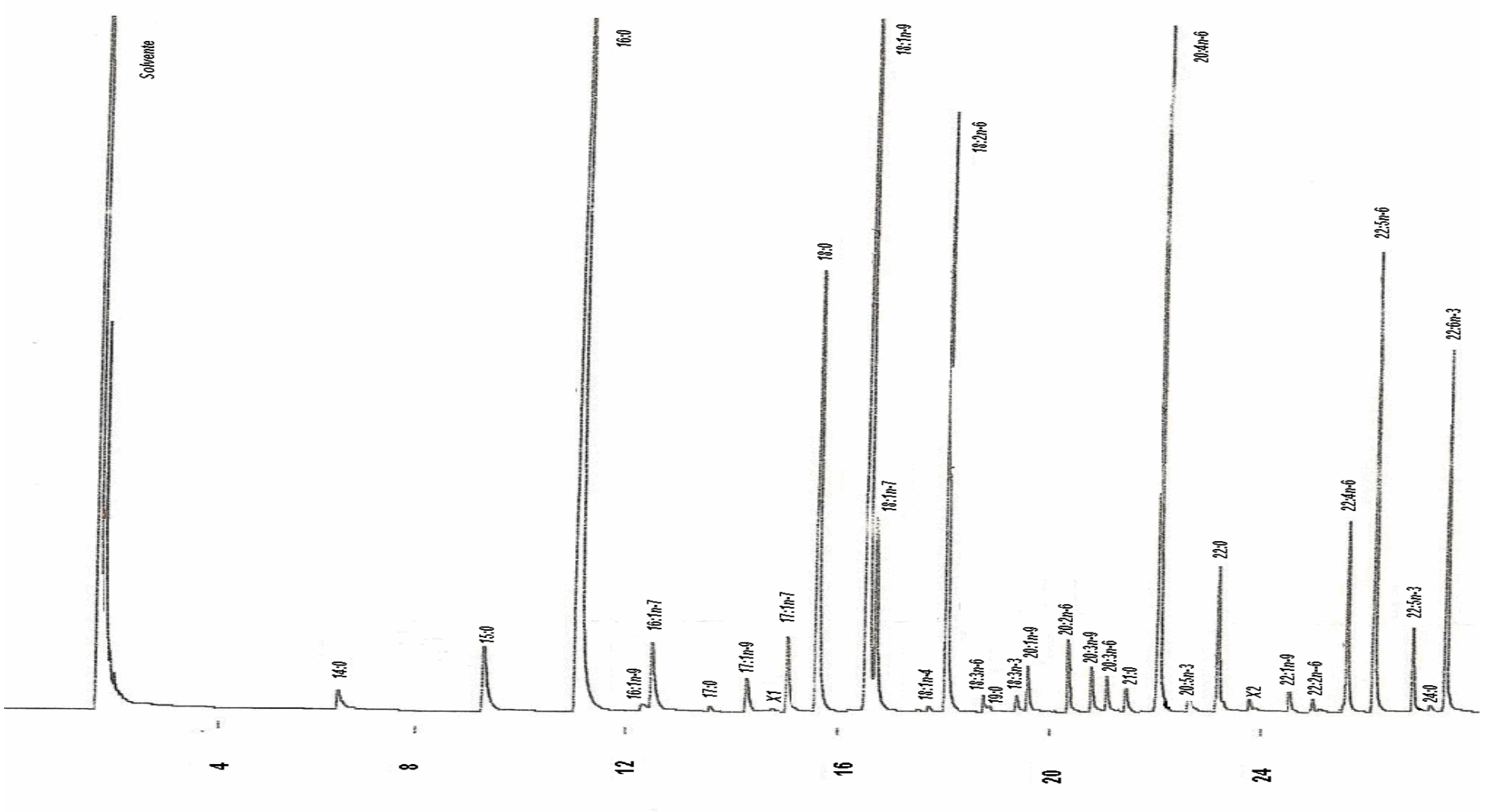


Figura 11 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos da fração de Fosfolipídios do tecido muscular de tilápias no tempo de 45 dias submetidas ao tratamento com a ração II (Óleo de Linhaça).

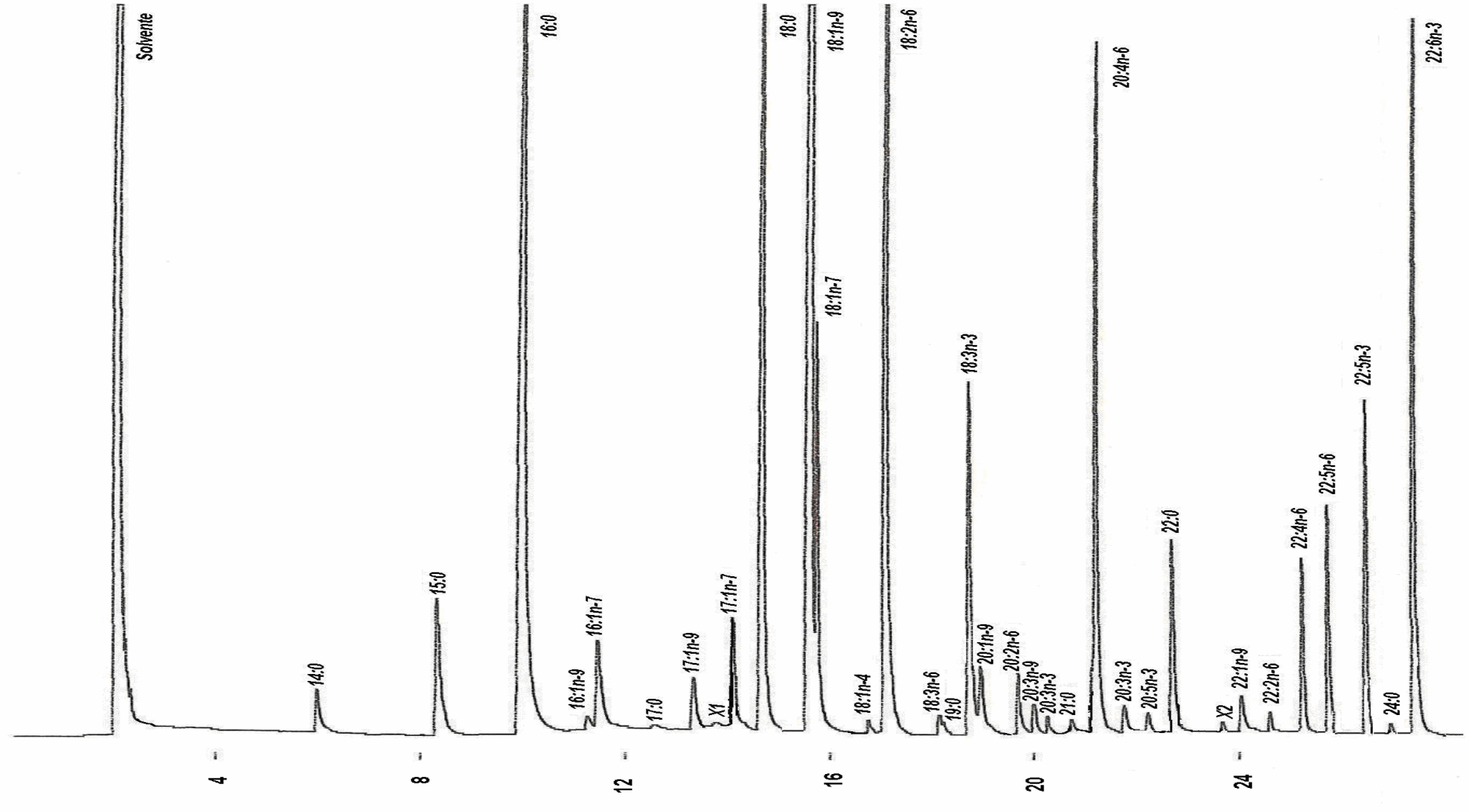


Figura 12 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos da fração de Fosfolipídios do tecido muscular de tilápias no tempo de 90 dias submetidas ao tratamento com a ração II (Óleo de Linhaça).

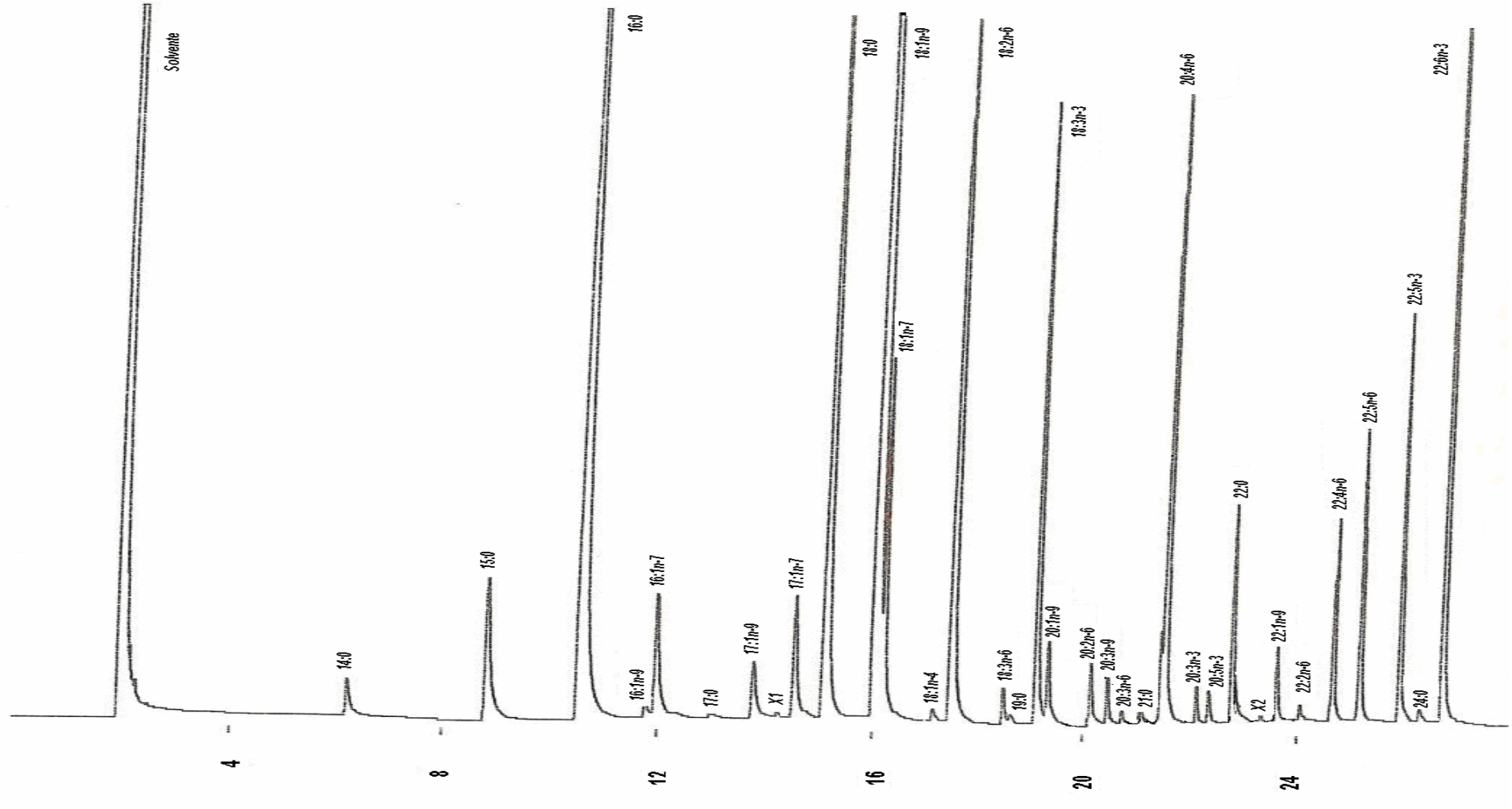


Figura 13 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos da fração de Lipídios Neutros do tecido muscular de tilápias no tempo de zero dia submetidas ao tratamento com a ração II (Óleo de Linhaça).

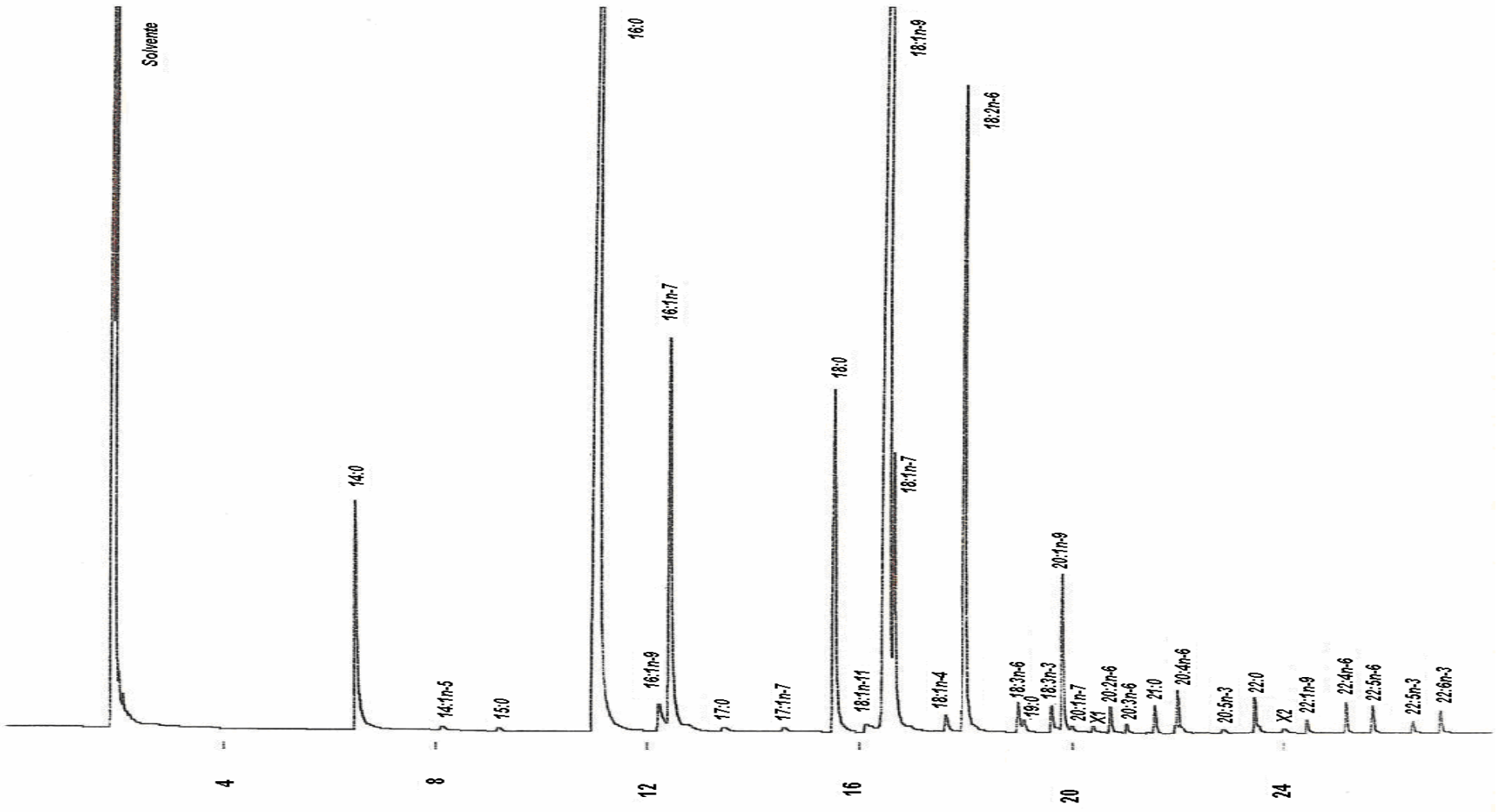


Figura 14 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos da fração de Lipídios Neutros do tecido muscular de tilápias no tempo de 45 dias submetidas ao tratamento com a ração II (Óleo de Linhaça).

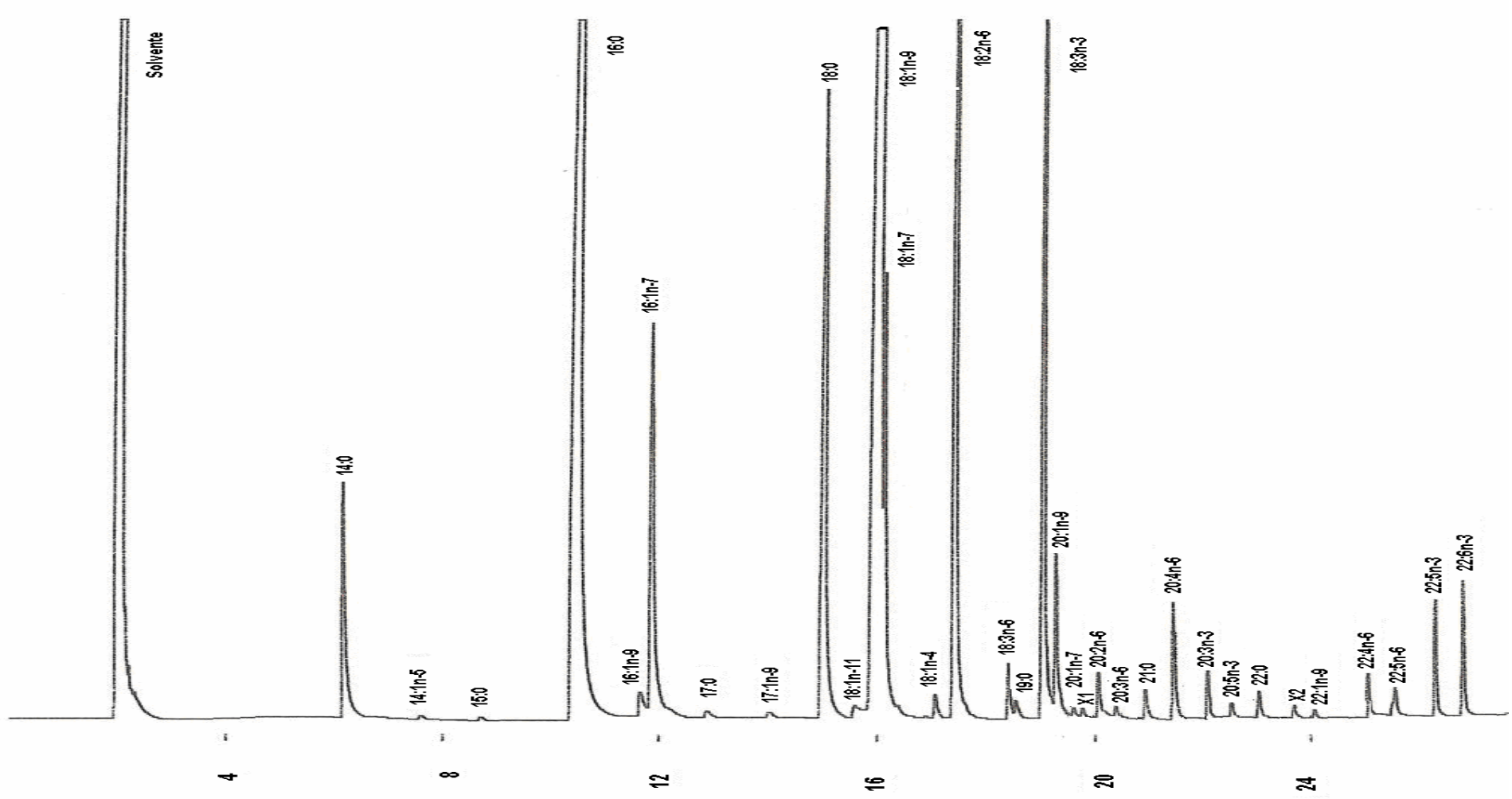


Figura 15 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos da fração de Lipídios Neutros do tecido muscular de tilápias no tempo de 90 dias submetidas ao tratamento com a ração II (Óleo de Linhaça).

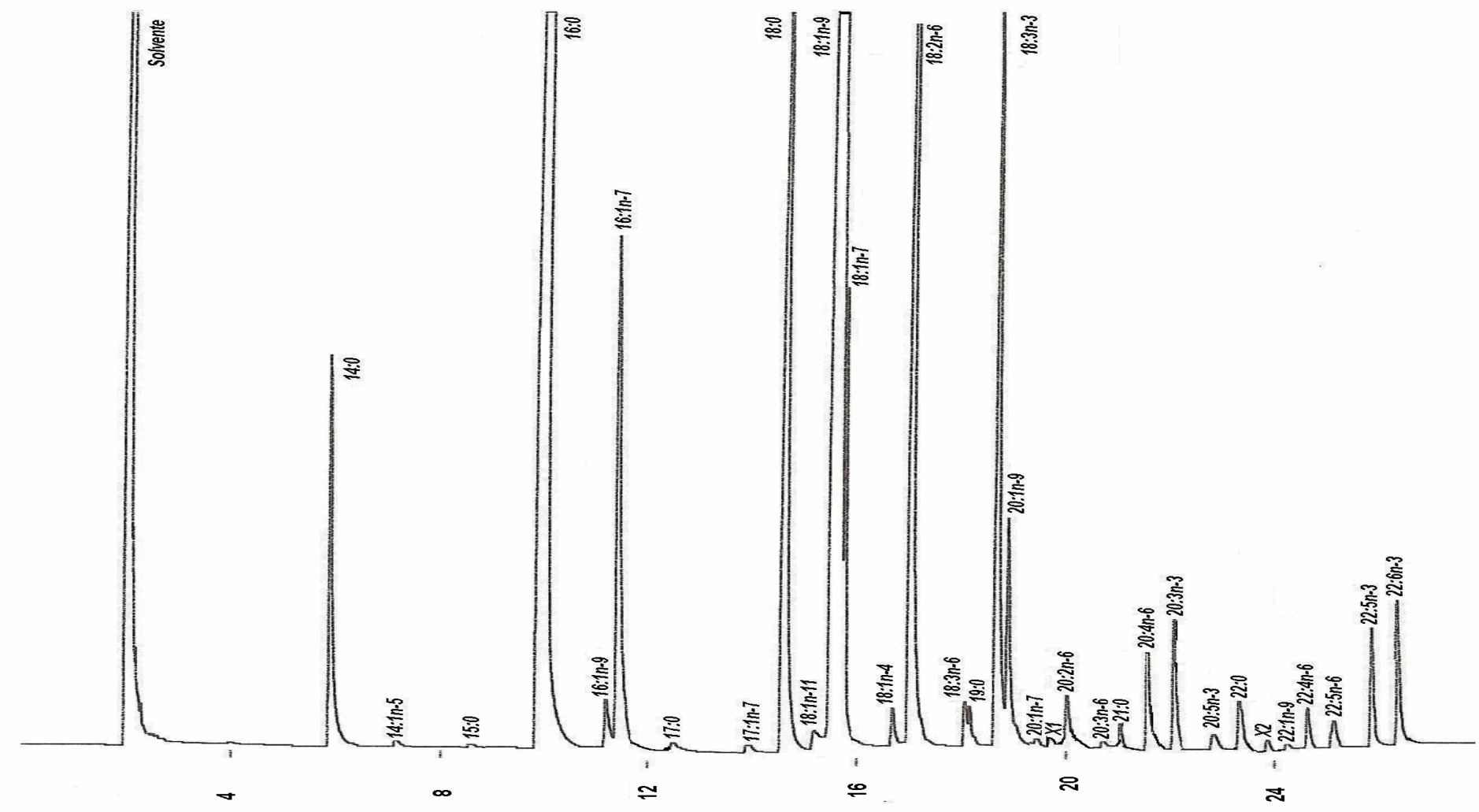


Figura 16 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos da fração de Fosfolipídios do tecido muscular de tilápias no tempo de 0 dia submetidas ao tratamento com a ração I (Óleo de Soja).

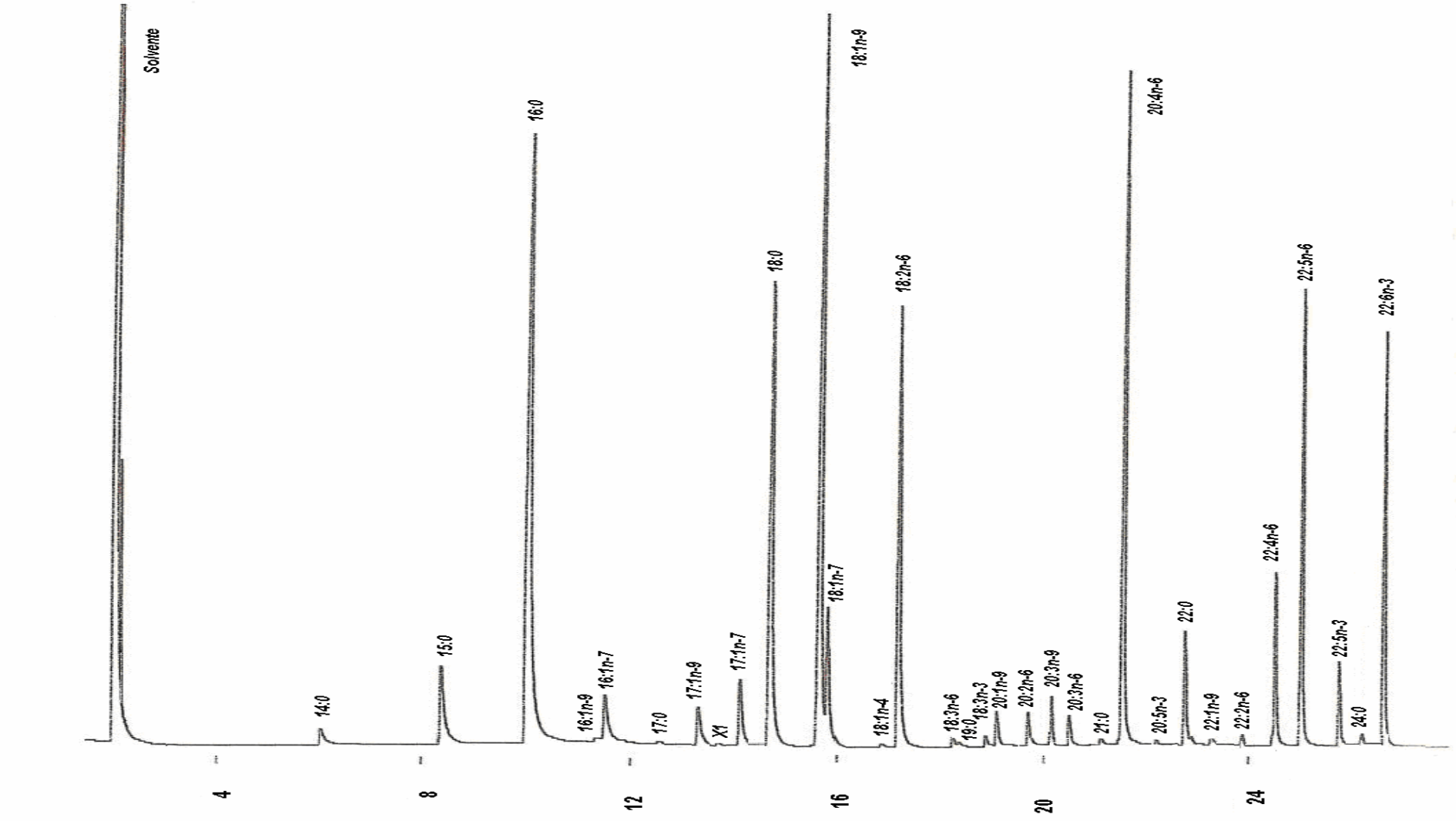


Figura 17 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos da fração de Fosfolipídios do tecido muscular de tilápias no tempo de 45 dias submetidas ao tratamento com a ração I (Óleo de Soja).

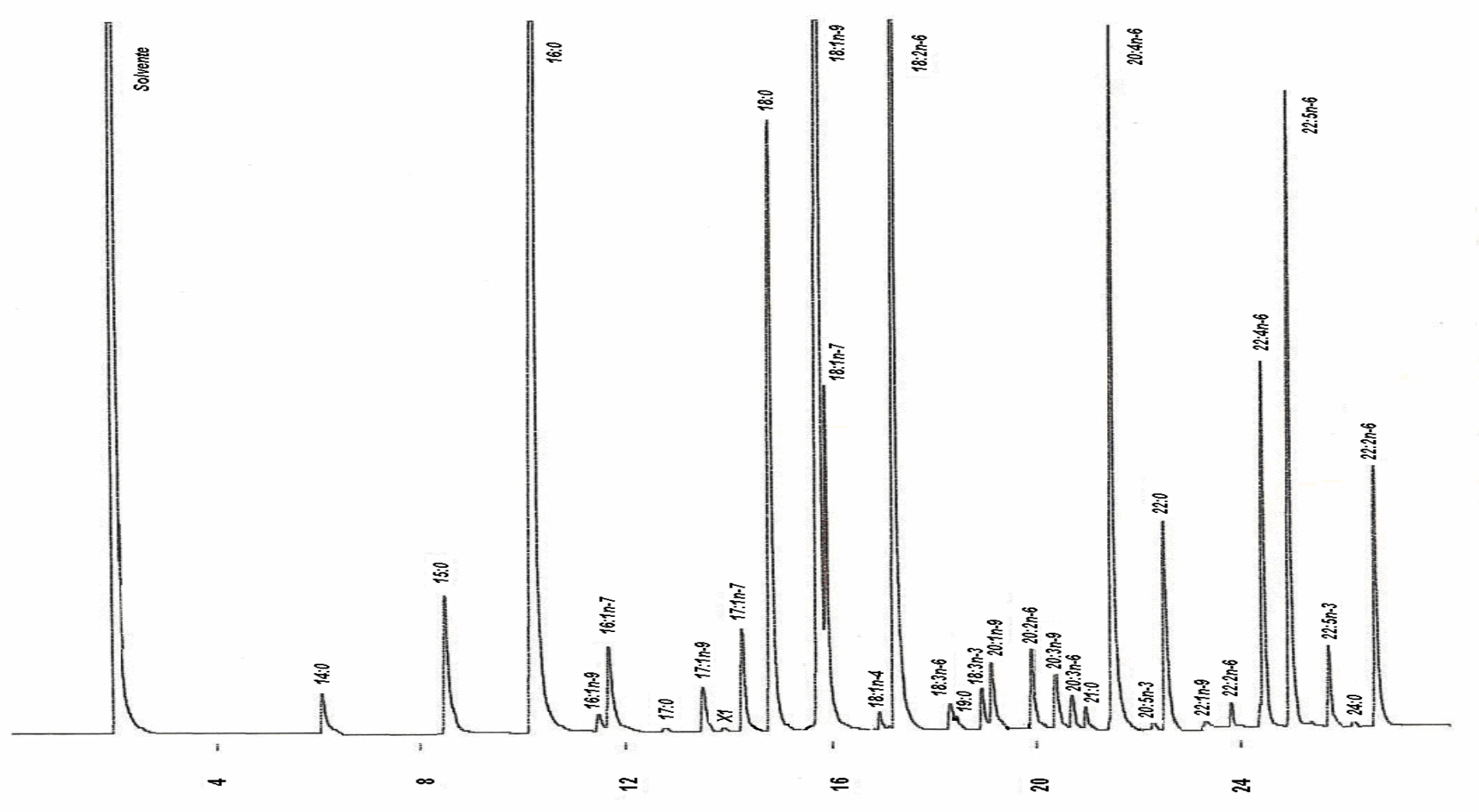


Figura 18 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos da fração de Fosfolipídios do tecido muscular de tilápias no tempo de 90 dias submetidas ao tratamento com a ração I (Óleo de Soja).

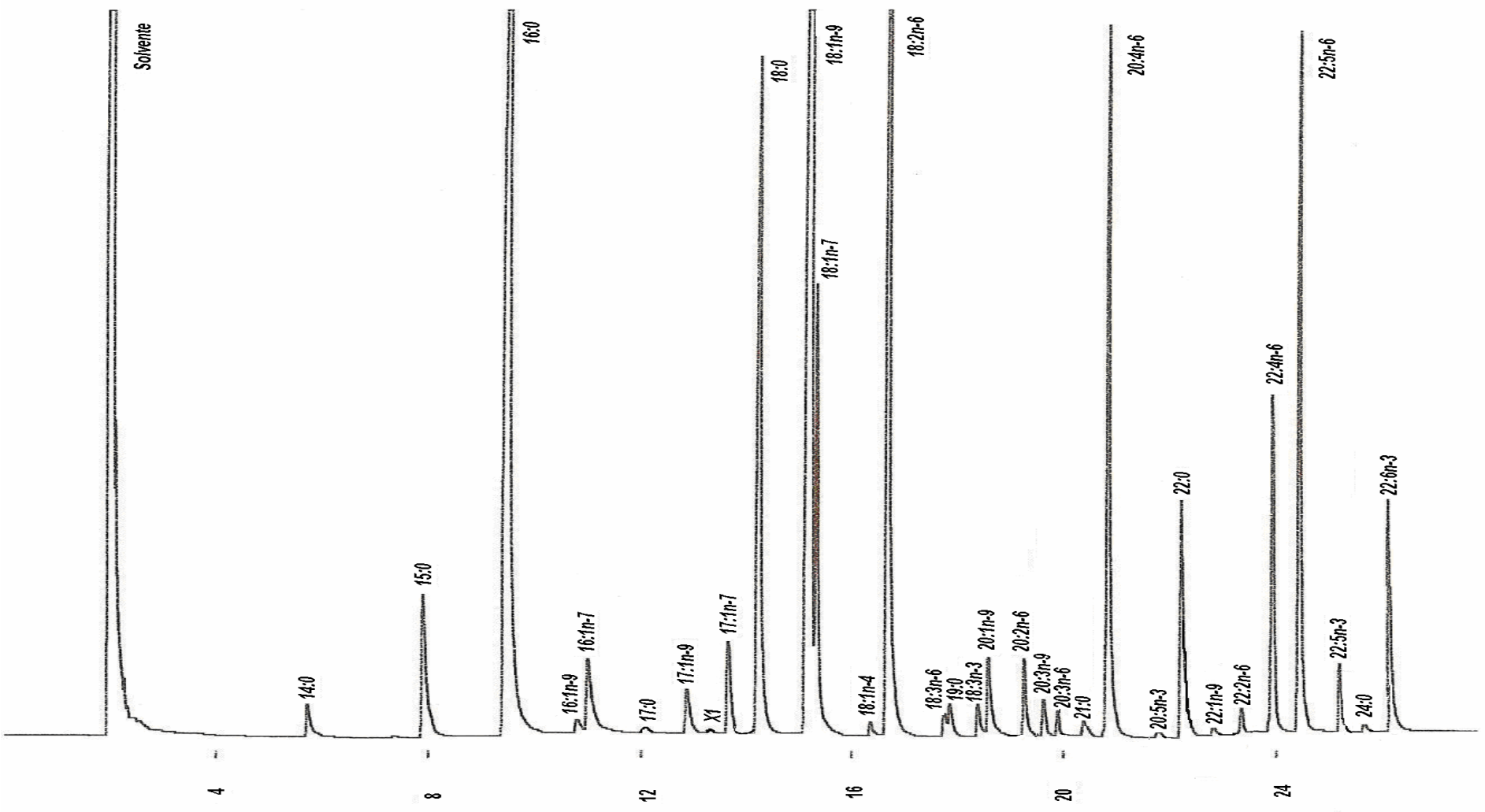


Figura 19 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos da fração de Lipídios Neutros do tecido muscular de tilápias no tempo de 0 dia submetidas ao tratamento com a ração I (Óleo de Soja).

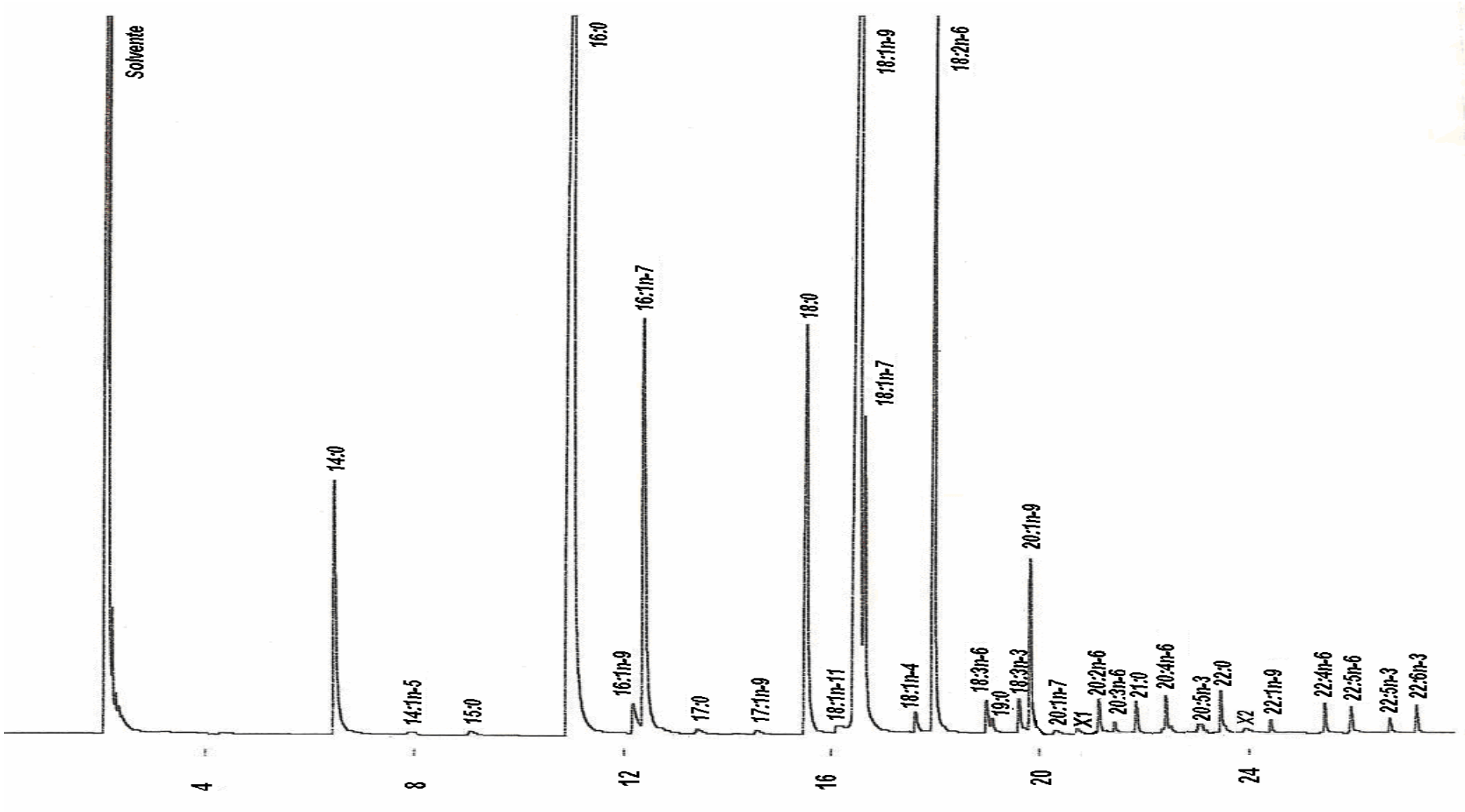


Figura 20 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos da fração de Lipídios Neutros do tecido muscular de tilápias no tempo de 45 dias submetidas ao tratamento com a ração I (Óleo de Soja).

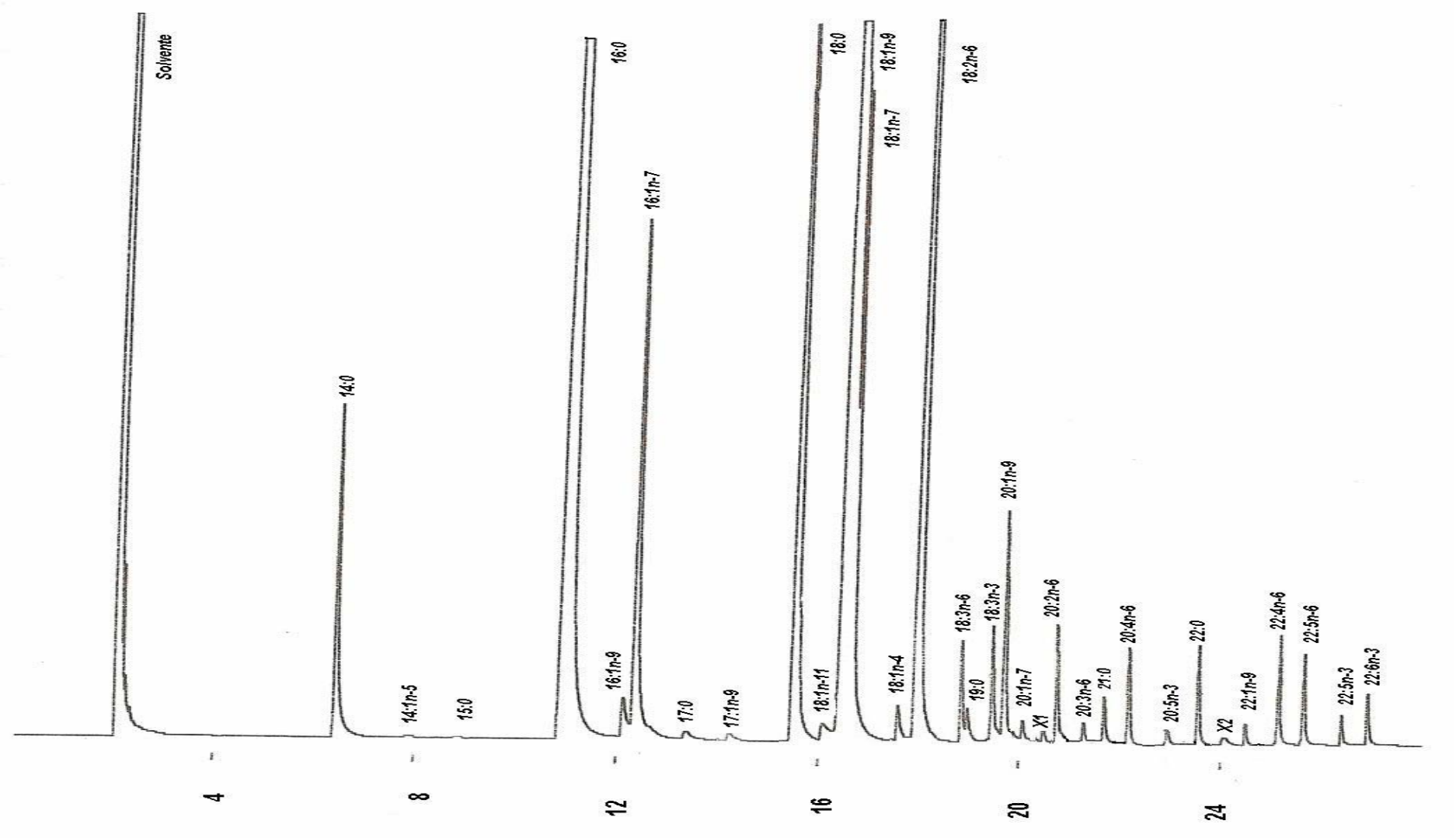
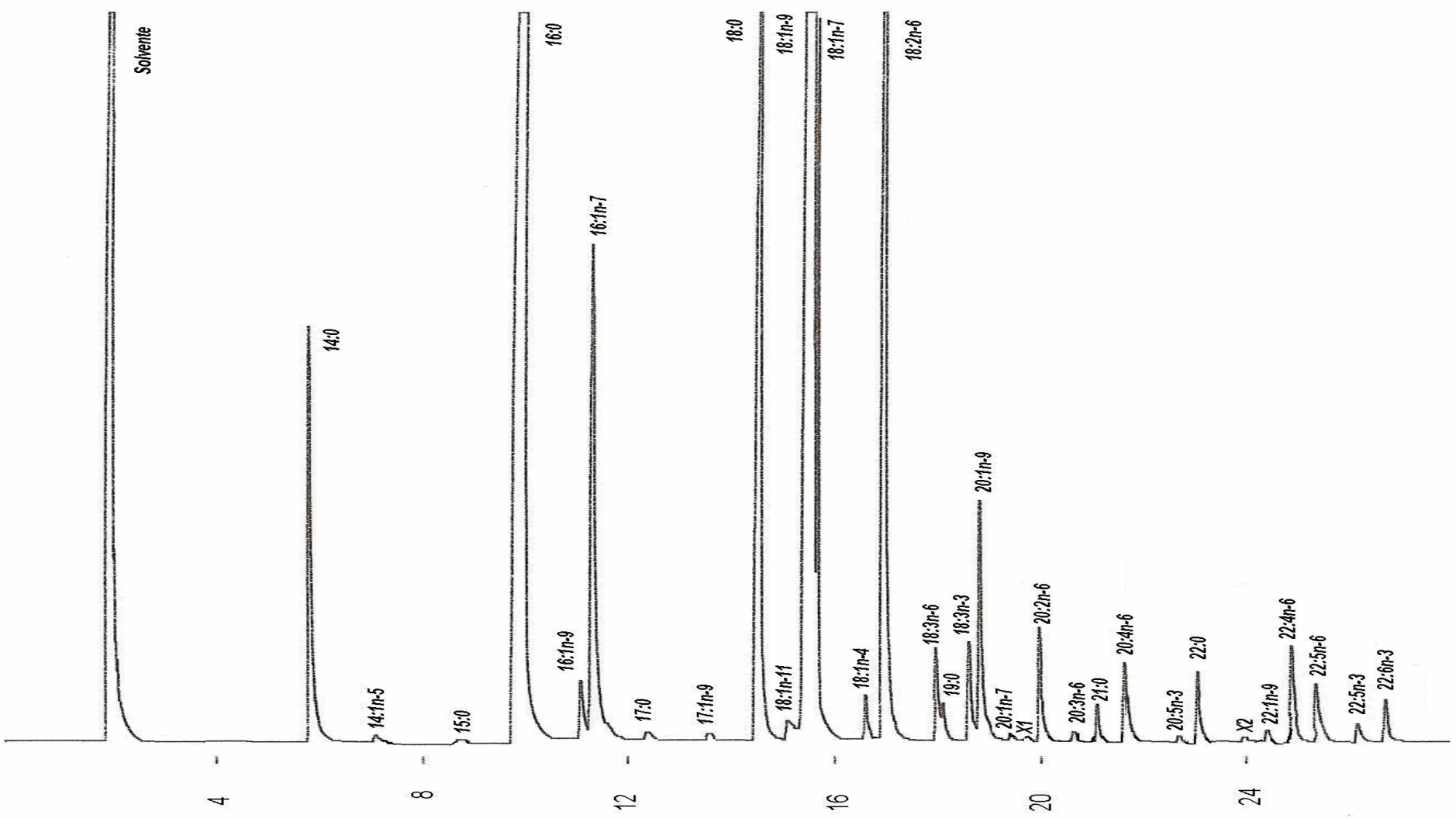
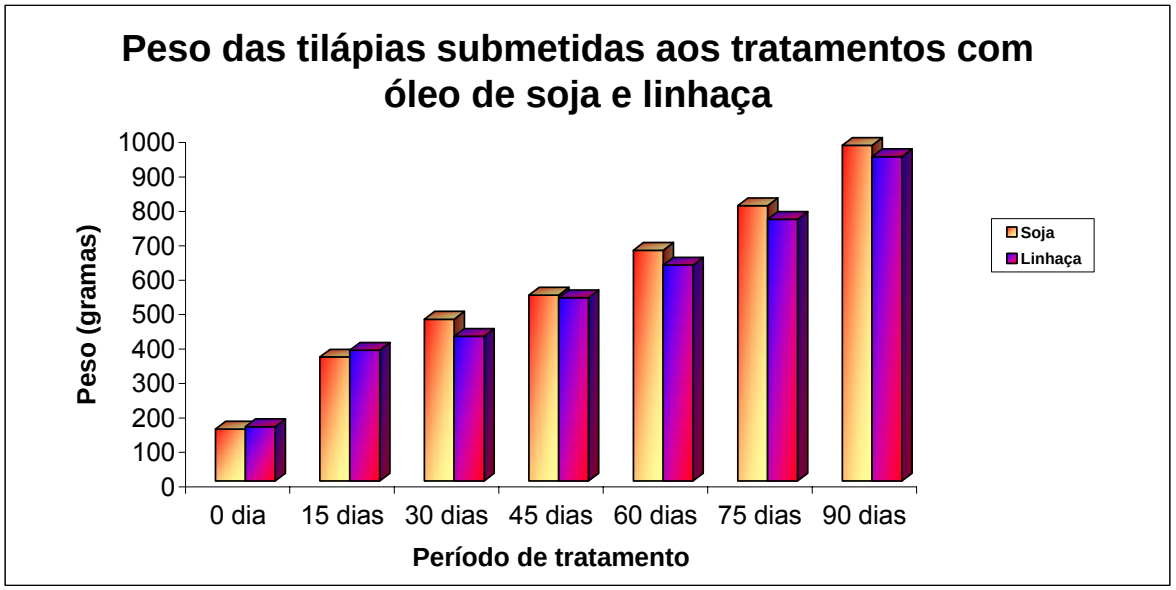


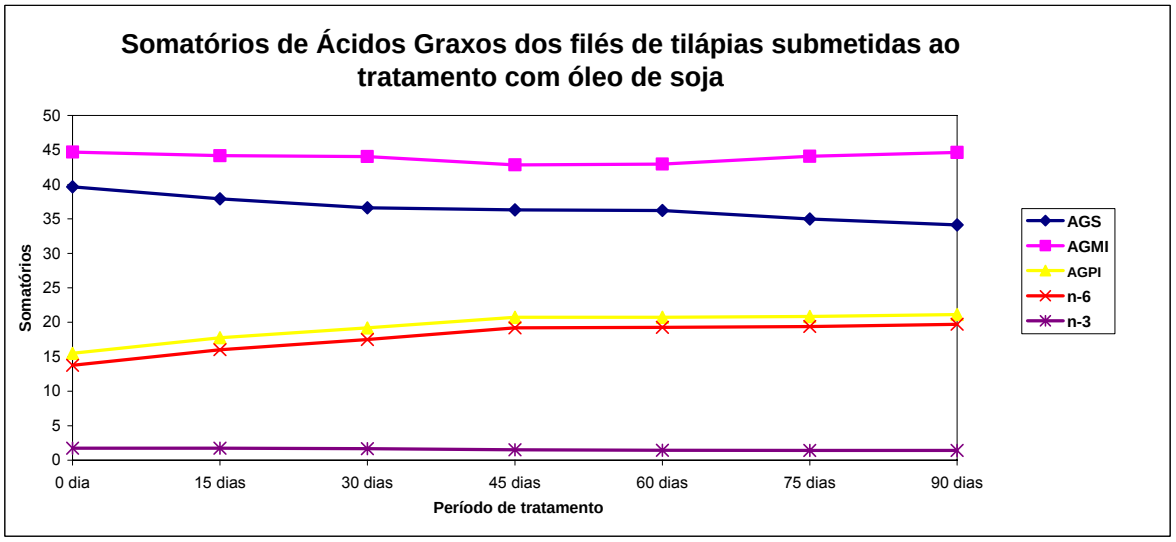
Figura 21 – Cromatograma de ésteres metílicos dos ácidos graxos da fração de Lipídios Neutros do tecido muscular de tilápias no tempo de 90 dias submetidas ao tratamento com a ração I (Óleo de Soja).



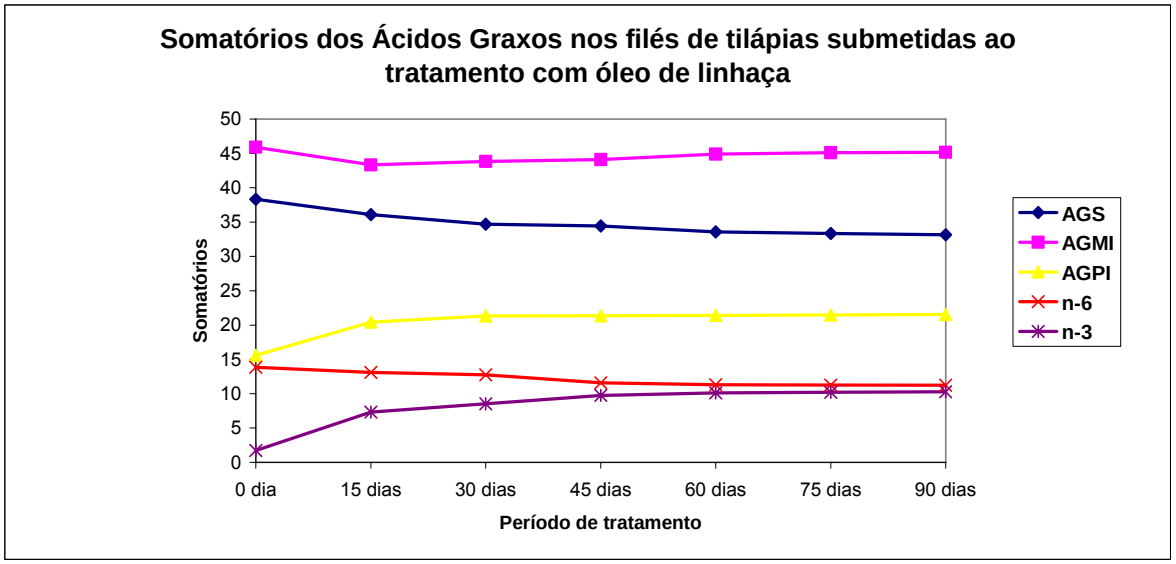
ANEXO IV – Gráfico representando o peso das tilápias submetidas aos tratamentos com óleo de soja e linhaça.



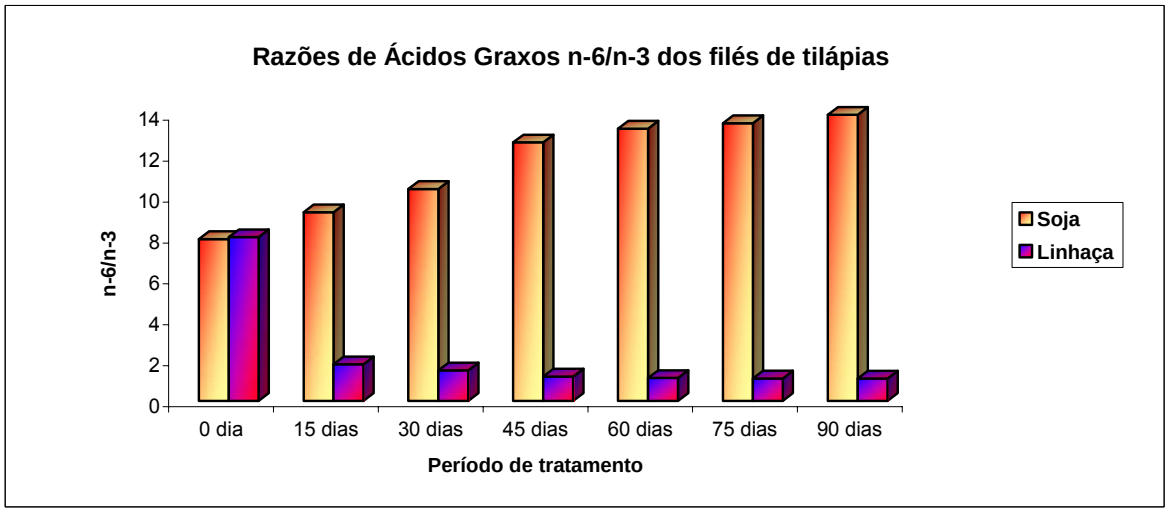
ANEXO V – Gráfico representando o somatório de Ácidos Graxos dos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de soja.



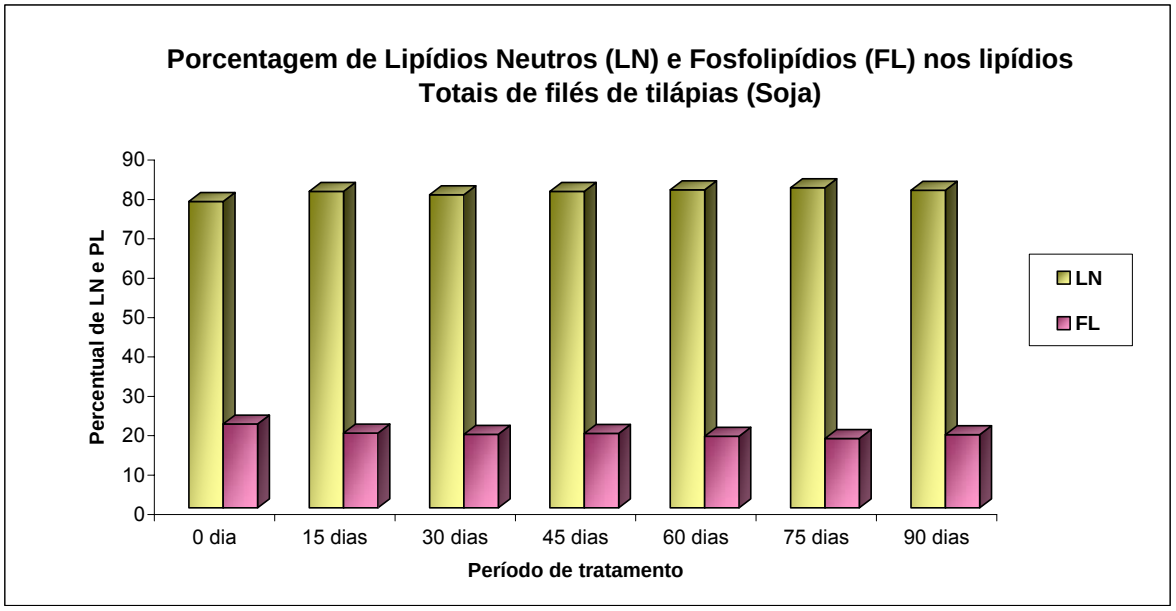
ANEXO VI – Gráfico representando o somatório de Ácidos Graxos dos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de linhaça.



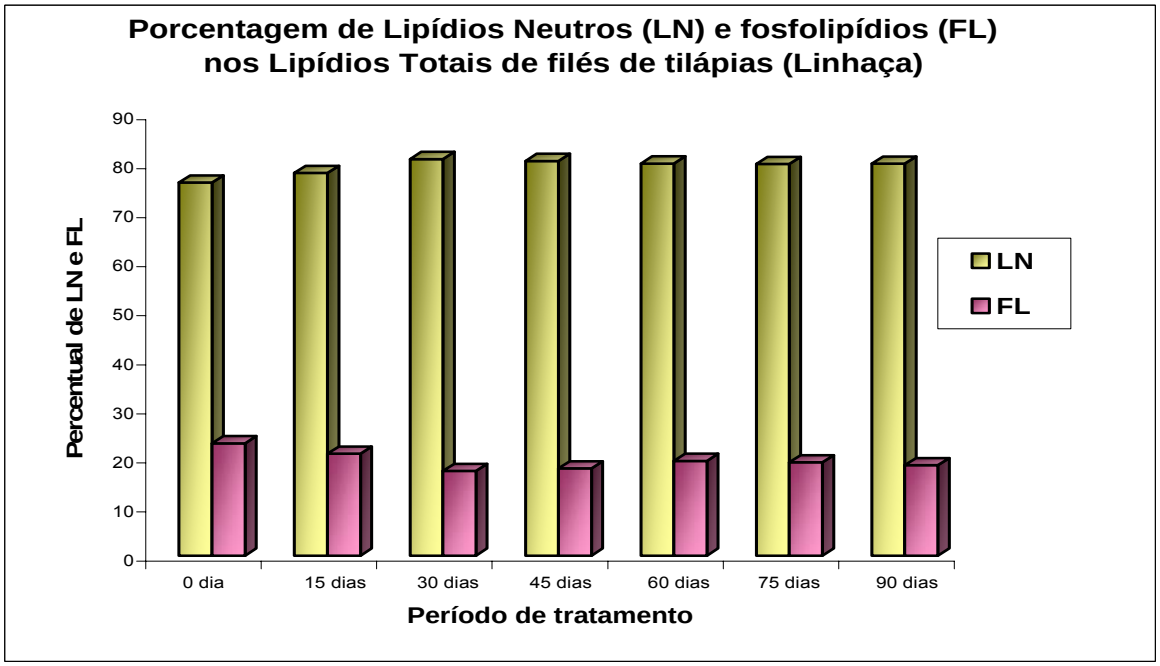
ANEXO VII – Gráfico representando as razões de Ácidos Graxos n-6/n-3 dos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de soja e linhaça.



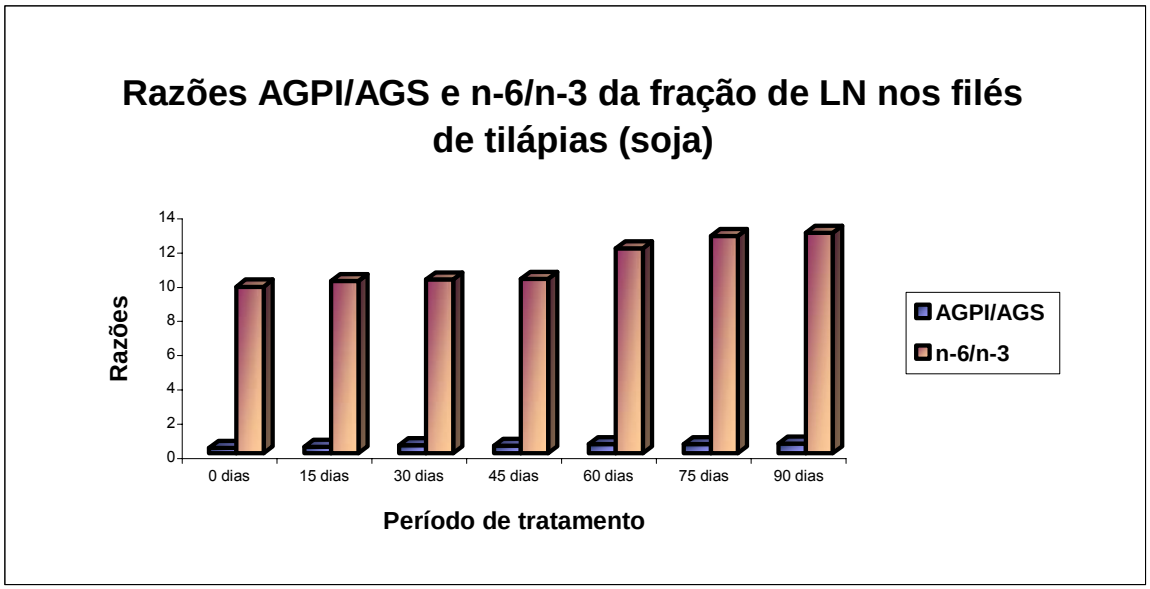
ANEXO VIII – Gráfico representando o percentual de Lipídios Neutros (LN) e Fosfolipídios (FL) nos lipídios Totais de filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de soja.



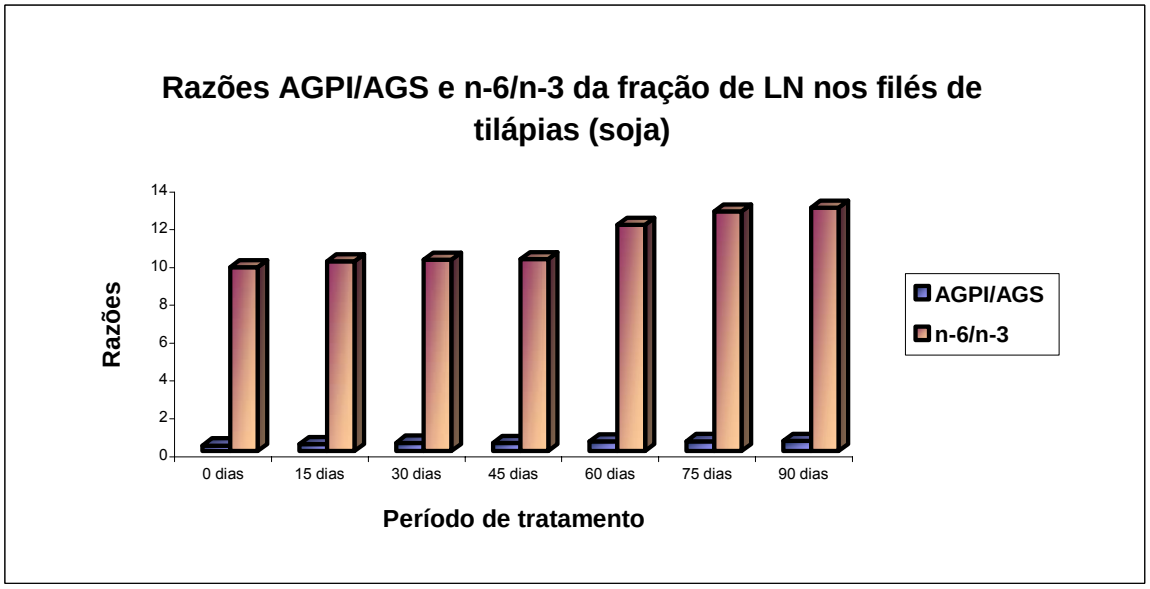
ANEXO IX – Gráfico representando o percentual de Lipídios Neutros (LN) e Fosfolipídios (FL) nos lipídios Totais de filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de Linhaça.



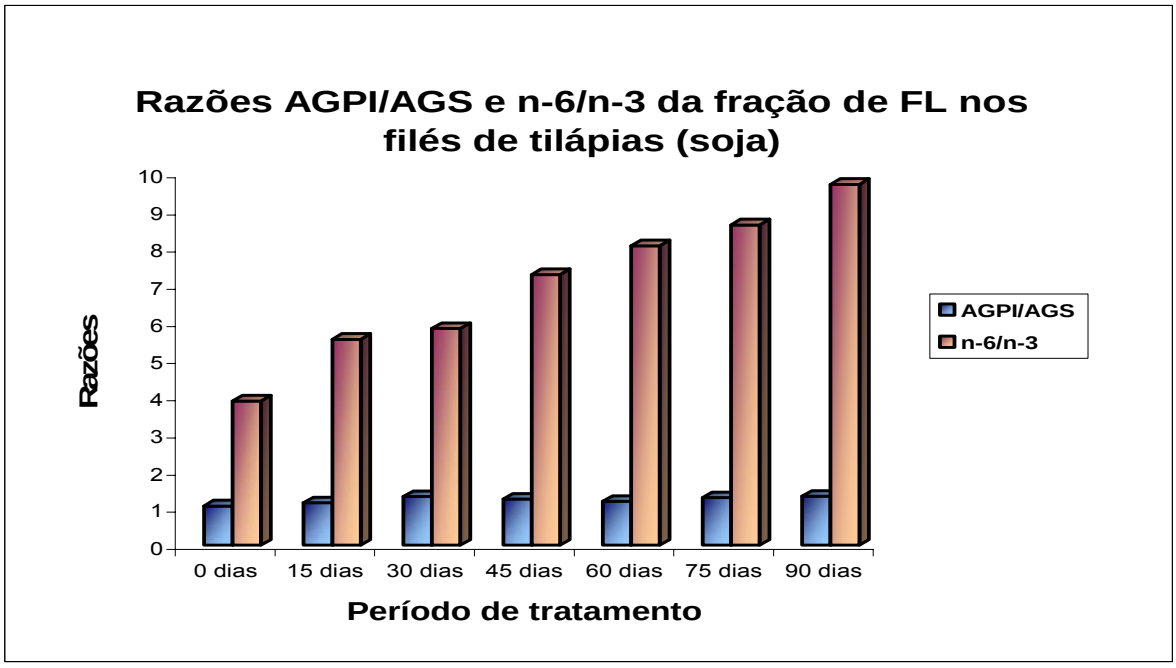
ANEXO X – Gráfico representando as razões AGPI/AGS e n-6/n-3 da fração de Lipídios Neutros (LN) nos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de soja.



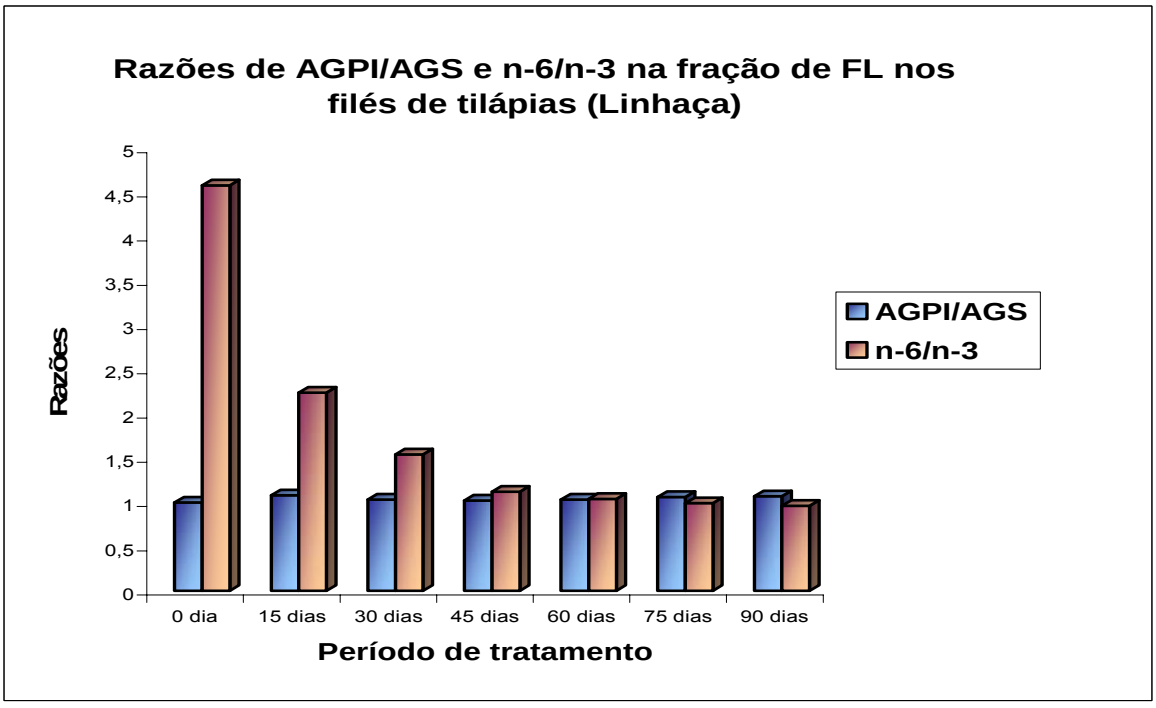
ANEXO XI – Gráfico representando as razões AGPI/AGS e n-6/n-3 da fração de Lipídios Neutros (LN) nos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de Linhaça.



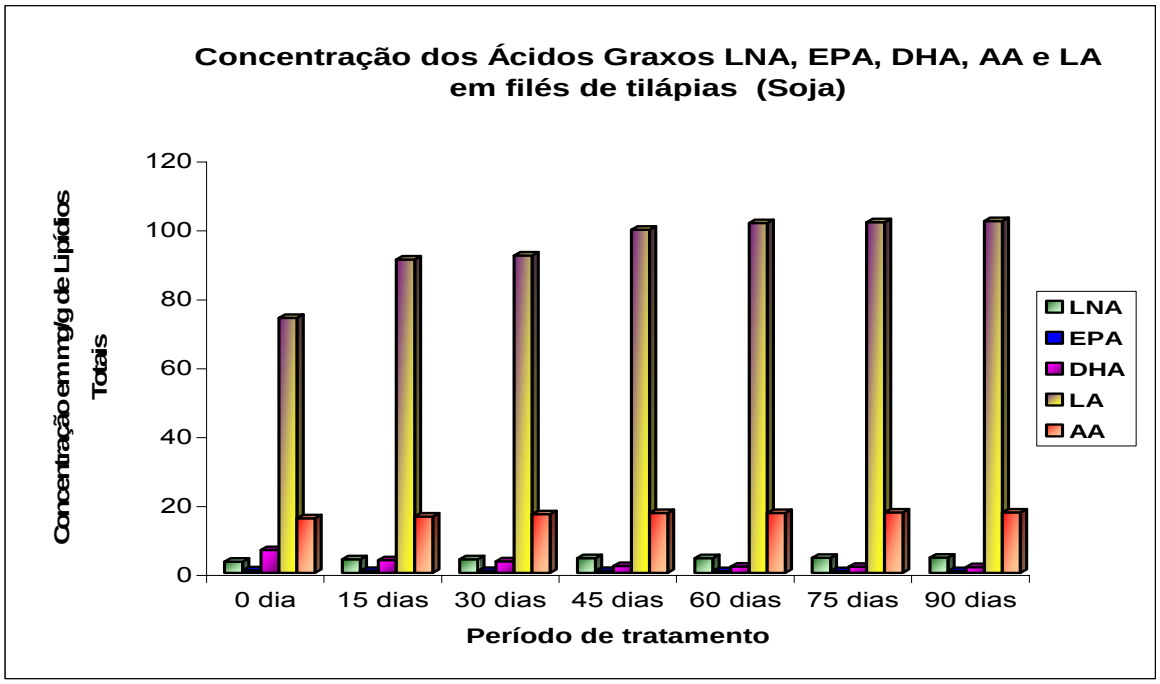
ANEXO XII – Gráfico representando as razões AGPI/AGS e n-6/n-3 da fração de Fosfolipídios (FL) nos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de Soja.



ANEXO XIII – Gráfico representando as razões AGPI/AGS e n-6/n-3 da fração de Fosfolipídios (FL) nos filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de Linhaça.



ANEXO XIV – Gráfico representando a concentração em mg/g de Lipídios Totais dos ácidos LNA, EPA, DHA, AA e LA em filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de Soja.



ANEXO XV – Gráfico representando a concentração em mg/g de Lipídios Totais dos ácidos LNA, EPA, DHA, AA e LA em filés de tilápias submetidas ao tratamento com óleo de Linhaça.