

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
CURSO DE ENGENHARIA DE AQUICULTURA**

MICHELE CRISTINA VIEIRA

**IMPLICAÇÕES DAS DIFERENTES RELAÇÕES DE
ÁCIDOS GRAXOS n3/n6 NA DIETA PARA TILÁPIA-DO-NILO
(*Oreochromis niloticus*)**

FLORIANÓPOLIS

2018

Michele Cristina Vieira

**IMPLICAÇÕES DAS DIFERENTES RELAÇÕES
DE ÁCIDOS GRAXOS n3/n6 NA DIETA PARA TILÁPIA-
DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)**

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido ao curso de Graduação de
Engenharia de Aquicultura da
Universidade Federal de Santa
Catarina para obtenção do Título de
Engenheira de Aquicultura.

Orientadora: Dr^a. Prof^a. Débora Machado Fracalossi

Florianópolis
2018

Michele Cristina Vieira

**IMPLICAÇÕES DAS DIFERENTES RELAÇÕES DE ÁCIDOS
GRAXOS n3/n6 NA DIETA PARA TILÁPIA-DO-NILO**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para a obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Aquicultura, e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 21 de Novembro de 2018.

Prof^a, Dr. Anita Rademaker Valença

Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof^a, Dr. Débora Machado Fracalossi
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

M. SC., Eng^a de Aquicultura Renata Oselame Nóbrega
Universidade Federal de Santa Catarina

Dr. Bruna Mattioni
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Queria agradecer ao meu pai Celso Vieira e principalmente minha mãe Marlene Soligo, pelo sacrifício e esforço que tiveram em conceber a mim a oportunidade de estudar, são exemplos de simplicidade e persistência na vida. Ao meu irmão Makson, meu orgulho em dedicação aos estudos, que mesmo longe, assim como meus pais e minha irmã Jabes, sempre esteve presente no meu coração, me dando forças nos momentos de aperto para não desistir e seguir em frente. Ao meu grande amigo Gabriel Serrato, sempre pronto a ajudar, à grande amiga e irmã Wellen Cruz, é uma honra compartilhar um espaço com você, onde chamamos de nosso lar. Rosana Oliveira, Jorge Edson, Ingo Scarpatti, Clara de Bem e Douglas Cadorin, pelos cafés, longas conversas e risadas. As minhas grandes companheiras de vida Dandara, Anamaria B., Samira Freitas, Susan, Cristina Nakatani, Tarcyan Mello, Patrícia D'Aquino, Patricia Setoguchi e Flávia Mindel, que mesmo quando longe, são presentes, me dando força e me apoiando, são a certeza de uma amizade verdadeira pra vida toda.

Agradeço também a todos os professores que me acompanharam durante a graduação, em especial a Prof^a. Débora, por ter me acolhido na sua família LabNutri. À Prof^a Anita, pela sensibilidade e carisma para com nós alunos. À Jussara e Valmor pela assistência e amizade ao longo dos anos frequentando o CCA-UFSC. Aos colegas e amigos do LAPAD e LABNUTRI. À Maria Fernanda por acolher a todos os estagiários, sempre com carinho e entusiasmo. Por último e não menos importante, meus sinceros agradecimentos a Renata Oselame, um grande exemplo de inteligência e dedicação à pesquisa. Sou grata por todo empenho em tornar esse trabalho possível, por todos os ensinamentos e principalmente por acreditar em mim. Bruna Mattioni, sempre uma honra aprender com uma grande cientista como você, obrigada de coração pelo companheirismo, paciência e amizade. E “Gracias” Liziane M. Muffato, por permitir que este trabalho fosse elaborado a partir

dos dados provenientes da sua dissertação, agradeço pelos bons momentos, parceria e conhecimento transmitido.

“Até que o Sol não brilhe, acendamos uma vela na
escuridão.”
(Confúcio)

RESUMO

Uma dieta basal com ingredientes semi-purificados foi formulada para avaliar a taxa de retenção corporal aparente de proteína e de ácidos graxos na tilápia-do-nylo alimentada com diferentes relações dietética dos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) da série n-3/n-6. As dietas experimentais diferiram quanto às relações de PUFA da série n-3/n-6, sendo estas: 2,9; 1,3; 0,8; 0,5 e 0,2. Manteve-se constante um total de 5% de lipídios, dos quais 1,3% eram PUFA. Diferentes quantidades de óleo de fígado de bacalhau e quatro óleos vegetais (linhaça, soja, canola e palma), foram misturados para atingir os diferentes índices n-3/n-6. Os juvenis de tilápia ($70,49 \pm 1,43$ g) foram alimentados com as dietas experimentais duas vezes ao dia até saciedade aparente, e mantidos em temperatura de 28°C, durante 56 dias. A taxa de retenção proteica aparente nos juvenis de tilápia-do-nylo não foi influenciada pelas diferentes relações de PUFA n-3/n-6 nas dietas, com taxas similares em todos os tratamentos. Logo, taxa de retenção corporal aparente de ácidos graxos foi influenciada pelas diferentes relações de PUFA n-3/n-6 das dietas. Houve aumento na retenção corporal de PUFA n-6 conforme reduziu a relação de PUFA n-3/n-6 nas dietas. A taxa de retenção corporal de ácido linolênico (LOA, 18:2n-6) nos peixes se comportou de forma similar ao total de PUFA n-6. Já para o ácido linoleico (α -LNA, 18:3n-3), não houve diferença significativa na taxa de retenção corporal quando alimentados com diferentes relações de PUFA n-3/n-6. No entanto, apesar de todas as dietas conterem um total de PUFA de 1,30%, a retenção corporal de PUFA foi maior nos peixes alimentados com as dietas que possuem as menores relações n-3/n-6. Resultado similar também foram observados para a retenção corporal de PUFA da série n-3 e n-6. O resultado do presente trabalho ressalta a importância de estudar as relações de ácidos graxos n-3/n-6 dietéticos para tilápia, sendo que esses podem influenciar diretamente na taxa de retenção corporal.

Palavras-chave: *Nutrição, retenção de ácidos graxos, PUFA n-3, Oreochromis niloticus*

ABSTRACT

A basal diet with semi-purified ingredients, was formulated to evaluate the apparent body retention rate of protein and fatty acids in Nile tilapia fed with different dietary relations of polyunsaturated fatty acids (PUFA) of the n-3/n-6. Experimental diets differed in relation to PUFA of the n3/n6 series, being these: 2.9 1.3; 0.8; 0.5 and 0.2 %. A total of 5% lipids were maintained constant, of which 1.3% were PUFAs. Different amounts of cod liver oil and four vegetable oils (flaxseed, soybean, canola and palm) were mixed to reach the different n-3/n-6 indices. Tilapia juveniles (70.49 ± 1.43 g) were fed the experimental diets twice daily until apparent satiation and maintained at temperature of 28 °C for 56 days. The apparent protein retention rate in juvenile Nile tilapia was not influenced by the different relations of n-3/n-6 PUFA in the diets, with similar rates in all treatments. The apparent body retention rate of fatty acids was influenced by the different relations of n-3/n-6 PUFA of the diets. There was an increase in the body retention of n-6 PUFA as it reduced the relations of n-3/n-6 PUFA in diets. The body retention rate of linolenic acid (LOA, 18:2n-6) in fish behaved similarly to total n-6 PUFA. For linoleic acid (α -LNA, 18:3n-3), there was no significant difference in body retention rate when fed with different n-3/n-6 PUFA relations. However, although all diets contained a total PUFA of 1.30%, PUFA body retention was higher in fish fed diets with the lowest n-3/n-6 ratios. Simulated outcome were also observed for the body retention of PUFA from the n-3 and n-6 series. The result of the present work, it is important to study the relationships of dietary n-3/n-6 fatty acids for tilapia, and these can directly influence the rate of body retention.

Palavras-chave: *Nutrition, retention of fatty acids, PUFA n-3, Oreochromis niloticus*

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Taxa de retenção aparente do LOA, PUFA n-3 e PUFA em juvenis de tilápia-do-nylo alimentados com dietas contendo diferentes taxas n-3/n-6. | 31 |
|--|----|

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 Estudos sobre a exigência de ácidos graxos essenciais em tilápias. | 16 |
| Tabela 2. Formulação e composição das dietas experimentais (% em base seca)..... | 24 |
| Tabela 3. Taxa de retenção proteica aparente e retenção de ácidos graxos essenciais para juvenis de tilápia. | 23 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
AOAC = Association of Official Analytical Chemists
FAO = Food and Agriculture Organization of United Nations
NRC = National Research Council
SFA = ácidos graxos saturados
MUFA = ácidos graxos monoinsaturados
PUFA = ácidos graxos poli-insaturados
LC-PUFA = ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa
OLA (18:1n-9) = ácido oleico
LOA (18:2n-6) = ácido linoleico
 α -LNA (18:3n-3) = ácido α - linolênico
ARA (20:4n-3) = ácido araquidônico
EPA (20:5n-3) = ácido eicosapentaenóico
DPA (22:5n-3) = ácido docosapentaenóico
DHA (22:6n-3) = ácido docosahexaenóico
n-3 = ácidos graxos da série n-3
n-6 = ácidos graxos da série n-6
GIFT = Genetically Improved Farmed Tilapia

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 13 |
| 1.1 | Tilápia-do-nilo | 13 |
| 1.2 | Ácidos graxos..... | 12 |
| 1.3 | Pescado na alimentação humana | 12 |
| 1.4 | Ácidos graxos na nutrição peixes..... | 12 |
| 2 | OBJETIVOS..... | 13 |
| 2.1 | Objetivo geral | 13 |
| 2.2 | Objetivos específicos | 13 |
| 3 | JUSTIFICATIVA..... | 15 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 17 |
| 4.1 | Formulação de dietas..... | 17 |
| 4.2 | Peixes e Condições Experimentais..... | 19 |
| 4.3 | Coleta de Amostras | 19 |
| 4.4 | Análises físico-químicas | 19 |
| 4.5 | Análise do perfil de ácidos graxos corporal e das dietas..... | 20 |
| 4.6 | Taxa de retenção corporal aparente..... | 20 |
| 4.7 | Análise estatística..... | 21 |
| 5 | RESULTADOS..... | 23 |
| 6 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 27 |

1 INTRODUÇÃO

No segmento de produção animal a aquicultura, a qual abrange o cultivo de diferentes animais aquáticos, demonstra estar aumentando cada vez mais. Dados divulgados na versão 2018 do relatório *State of The World Fisheries and Aquaculture* (SOFIA), publicado a cada dois anos pela *Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação* (FAO/ONU), relatam em 2016, a produção de 73,8 milhões de toneladas, sendo 44% oriundas da pesca e aquicultura.

O pescado em geral, é a carne com maior demanda mundial (SIDONIO *et al.*, 2012) e a de maior valor de mercado. Quando se soma peixes capturados e peixes produzidos em aquicultura, essa proteína representa um aumento considerado bem acima das outras como a proteína mais produzida nas duas últimas décadas, e deverá permanecer assim até 2025, segundo uma projeção de previsões agrícolas, *Agricultural Outlook 2025*, da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE)-Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2017).

1.1 Tilápia-do-nilo

De acordo com o livro *Aquicultura Experiências Brasileiras* (2004), a Tilápia-do-Nilo, de nome científico *Oreochromis niloticus*, é uma das espécies do gênero *Oreochromis* (porque os ovos são incubados na boca da fêmea). Em geral, as espécies desse gênero apresentam um hábito alimentar onívoro macrófago, possuem rastros branquiais bem desenvolvidos, possibilitando a filtragem da água para retirada do plâncton e outros alimentos em suspensão. As tilápias são consideradas peixes de regiões tropicais, em sistemas de cultivo, para obter um bom rendimento na produção, as temperaturas associadas ao conforto térmico das tilápias, levando em consideração um melhor consumo do alimento, está entre 27 a 32°C (POPMA & LOVSHIN, 1995).

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies mais importantes para a piscicultura devido a sua alta taxa de crescimento, adaptabilidade em diversas condições e criação, além de boa aceitação pelo consumidor (KUBITZA, 2000). De acordo com o Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura (2011/MPA), o Brasil foi responsável por aproximadamente 254 mil toneladas de tilápias cultivadas, e sua contribuição para aquicultura mundial foi com 3,93 milhões de toneladas de peixes (FAO, 2015).

1.2 Ácidos graxos.

Gorduras e óleos são essenciais, na alimentação humana e animal, são a principal fonte de energia metabólica e de ácidos graxos. Os ácidos graxos são responsáveis principalmente pela produção de energia, têm função estrutural nas membranas celulares e atuam também como precursores de hormônios e outras moléculas bioativas (GLENCROSS, 2009; NRC 2011).

Os ácidos graxos são componente lipídicos, constituídos de uma cadeia de hidrocarbonetos, que varia de tamanho e número de insaturações (ligações duplas), que está ligada a um grupo metil inicial e um grupo carboxila terminal (NRC, 2011). São classificados em grupos químicos de acordo com o número de duplas ligações na cadeia de hidrocarbonetos, referindo-se aos ácidos graxos que não possuem ligações insaturadas como ácidos graxos saturados (SFA, do inglês *saturated fatty acids*), aos ácidos graxos com apenas uma ligação insaturada na sua cadeia, chamados de monoinsaturados (MUFA, *fatty acids monounsaturated*), e aos ácidos graxos com duas ou mais ligações insaturadas, referidos como ácidos graxos poliinsaturados (PUFA, *polyunsaturated fatty acids*). Ainda os PUFA, quando possuírem 20 a 22 carbonos e 4 a 6 insaturações em sua cadeia, podem ser classificados como LC-PUFA (*long chain polynsaturated fatty acids*) (GLENCROSS, 2009).

A literatura compreende duas famílias de PUFA, cada qual representada por um ácido essencial: o ácido linoléico (18:2 n-6, LOA) e o ácido α -linolênico (18:3 n-3, α -LNA) que, por sua vez, dão origem a outros ácidos essenciais de cadeias mais longas, chamados de LC-PUFA (PUFA de cadeia longa), essenciais para a saúde e bem estar humano (NRC, 2011).

1.3 Pescado na alimentação humana

A carne de peixes possui excelente valor nutricional, atentando para isso, a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a ingestão de 12 kg de pescado por habitante/ano (OMS). Segundo o State of the World Fisheries and Aquaculture (SOFIA, 2018), publicação bialnal da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO/ONU) para 2016, o consumo de pescado chegou a 20 kg em 2014, demonstrando assim aumento da ingestão de pescado em relação a 2012 em que o consumo era de 19,2 kg per capita.

Além de o pescado conter grandes quantidades de proteínas, aminoácidos essenciais, vitaminas lipossolúveis (A e D), minerais como cálcio, fósforo, ferro, cobre, selênio e iodo em peixes de água salgada, a carne do pescado merece uma atenção quanto a sua composição lipídica. Há evidências que, ácidos graxos insaturados presentes em algumas espécies trazem vários benefícios para a saúde humana, como a diminuição da incidência de doenças cardiovasculares e por possuir propriedades anti-inflamatórias (SISCOVICK et al., 2000; RUXTON et al., 2005; NRC, 2011; FAO, 2016).

Segundo Glencross (2009), ácidos graxos essenciais são aqueles que, quando adicionados a uma dieta, provoquem o crescimento ou a qualquer outra resposta biológica do animal, sendo os mesmos não sintetizados pelo peixe, ou sintetizados a uma taxa que não permita desenvolvimento significativo para o animal. Portanto o estudo sobre fontes alternativas de ácidos graxos para formulação de ração para peixes, não se limita ao fornecimento de quantias adequadas para o desenvolvimento dos peixes, mas também ao seu efeito na composição de ácidos graxos depositados nos tecidos destes peixes, que implicam no consumo e importante fonte de LC-PUFA na alimentação humana.

1.4 Ácidos graxos na nutrição de peixes

Cinco ácidos graxos são considerados essenciais para a maioria das espécies de peixes: ácido linoleico (LOA, 18:2 n-6), ácido araquidônico (ARA, 20:4 n-6), ácido alfa-linolênico (α -LNA, 18:3 n-3), ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) e ácido docosaexaenoico (DHA, 22:6 n-3). Em geral, as espécies de peixes de água doce possuem maior expressão e atividade das enzimas chamadas dessaturases e elongases, que são responsáveis pela biossíntese PUFA para LC-PUFA a partir dos seus precursores (LOA e α -LNA) presentes na dieta (GLENCROSS, 2009), pois evoluíram em habitat com pouca disponibilidade de alimentos ricos em LC-PUFA. Diferente das espécies marinhas, que apesar de terem enzimas dessaturases e elongases, a atividade é menor, o que faz necessária a presença de LC-PUFA na dieta (GLENCROSS, 2009; TURCHINI, NG e TOCHER, 2010). No entanto, a eficiência deste mecanismo pode variar com a fase de vida, temperatura, salinidade, relação entre os ácidos graxos na dieta, entre outros (TURCHINI, NG e TOCHER, 2010).

Nobrega et al. (2017), relata que em temperatura de 22 °C, juvenis de tilápia-do-Nilo apresentaram exigência nutricional de α -LNA da dieta em torno de 0,70%, já no trabalho de Chen et al. (2013),

observaram que, em temperatura em torno de 27°C, a tilápia-do-nylo demonstrou exigência de α -LNA de 0,45-0,64%. Também para Tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*), a exigência de LOA relatada por Takeuchiet et al. (1983) foi de 0,50% com temperatura de 25°C. E para a Tilápia-de-barriga-vermelha (*Tilápia zillii*), a exigência para LOA encontrada nos trabalhos de Kanazawa et al. (1980) é de 1%. Chou e Shiau (1999), demonstraram que para um bom desenvolvimento em juvenis de tilápia híbrida (*O. niloticus* x *O. aureus*), os ácidos graxos da série n-3 e n-6 são de mesma importância. Chou et al. (2001) descreve a exigência de LC-PUFA n-3 e n-6, em temperaturas entre 25 e 27°C, em 0,2 a 0,8 % da dieta seca para a Tilápia híbrida (*O. niloticus* x *O. aureus*).

Tocher (2010) classificou as tilápias em espécies de água quente com exigência principalmente em ácido graxo linoleico (18:2n-6, LOA). A tilápia-do-Nilo sendo uma espécie onívora tropical de água doce, inicialmente não seria afetada pela substituição da farinha e óleo de peixes ou de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LC-PUFA), por óleos vegetais com ácidos graxos de cadeia mais curta. Porém estudos em temperaturas entre 25 e 32°C de criação, indicam que os LC-PUFA podem promover efeitos benéficos na produção de tilápias (CHOU e SHIAU, 1999; CHOU et al., 2001). Estudos indicam que a presença de precursores destes ácidos graxos na dieta, tais como LOA e α -LNA, podem suprir as necessidades da espécie (AL-SOUTI, 2012; CHEN et al., 2013; LI et al., 2013).

Em detrimento de inúmeras pesquisas, a produção de tilápia-do-Nilo dispõe de um pacote tecnológico bastante avançado. Apesar disto, ainda existem muitas dúvidas a serem sanadas quanto à exigência em ácidos graxos essenciais, principalmente no que diz respeito a utilização de fontes lipídicas alternativas e possíveis consequências deste uso sobre o metabolismo e composição corporal das tilápias (GLENCROSS, 2009). Além disso, é necessário estudos para responder ainda outras dúvidas, como qual é a melhor relação entre os ácidos graxos n-3/n-6 dietéticos para aperfeiçoar os níveis de retenção corporal de nutrientes nos peixes, visando deixar o produto mais nutritivo para o consumo humano.

Tabela 1 Estudos sobre a exigência de ácidos graxos essenciais em tilápias.

| Espécie | Temperatura (C°) | Ácidos graxos essenciais ¹ | Exigência PUFA (% ²) | Referências |
|---------|------------------|---------------------------------------|----------------------------------|-------------|
|---------|------------------|---------------------------------------|----------------------------------|-------------|

| | | | | |
|---------------------------------|---------|-------------------|--------------|------------------------|
| <i>Oreochromis niloticus</i> | 22 | α -LNA | 0,68-0,71 | Nobrega et al. (2017) |
| <i>Oreochromis niloticus</i> | 27,4 | α -LNA | 0,45-0,64+68 | Chen et al. (2013) |
| <i>Tilápia zillii</i> | 27 - 28 | LOA | 1,00% | Kanazawa et al. (1980) |
| <i>Oreochromis niloticus</i> | 25 | LOA | 0,50 | Takeuchiet al. (1983) |
| <i>O. niloticus x O. aureus</i> | 25 - 27 | LC-PUFA n-3 e n-6 | 0,2-0,8 | Chou et al. (2001) |

¹ LOA : ácido linoleico (18:2n-6); α -LNA: ácido alfa-linolênico (18:3n-3); LC-PUFA: ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa (20 a 22 carbonos).

² Expressa em porcentagem da matéria seca.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a melhor relação dietética de ácidos graxos n-3/n-6 para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), em temperatura ótima, que apresente melhor taxa de retenção corporal aparente de proteína e ácidos graxos.

2.2 Objetivos específicos

Estudar o impacto de dietas com diferentes relações de ácidos graxos n-3/n-6 na retenção corporal de ácidos graxos em juvenis de tilápia-do-nilo, em temperatura ótima de crescimento.

3 JUSTIFICATIVA

Devido à importância econômica da produção brasileira e mundial da tilápia-do-nilo, e apesar de muitas das exigências nutricionais já serem conhecidas, ainda há lacunas em relação à exigência em ácidos graxos essenciais. Atualmente o crescimento da aquicultura mundial e a estagnação da pesca extrativista gerou um novo desafio de encontrar substitutos para a farinha e óleo de peixe utilizados nas dietas e avaliar o efeito dos mesmos sobre os animais. Esta substituição sendo estudada leva a conhecer melhor principalmente o perfil de ácidos graxos corporal dos peixes, e possíveis implicações que tal acarreta. Assim, pesquisas nesta área possibilitarão a formulação de dietas mais eficientes, que contribuirão tanto para melhorar o desempenho zootécnico, como na composição corporal de nutrientes nos peixes destinado a consumo humano.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi elaborado a partir dos dados provenientes da dissertação da Aluna Liziane Maciel Mufatto, que tem como título: relação dietética dos ácidos graxos n-3/n-6 para tilápia-do-nylo, em temperatura ótima e em simulação de entrada de inverno.

Partes dos dados da aluna não foram utilizados na escrita da dissertação e foram usados para os cálculos que derão origem a esse trabalho de conclusão de curso.

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas (LABNUTRI) e Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD), ambos vinculados ao Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Santa Catarina.

4.1 Formulação de dietas

Foi formulada uma dieta basal com ingredientes semi-purificados, atendendo às exigências nutricionais de juvenis de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) segundo o NRC (2011). Foram formuladas cinco dietas experimentais, contendo 5% de lipídeos, dos quais 1,3 (g 100 g⁻¹ da matéria seca) eram ácidos graxos poli-insaturados (PUFA). As dietas experimentais diferiram quanto às relações de PUFA n-3/n-6, onde o somatório de ácidos graxos da série n-3 foi dividido pelo somatório de ácidos graxos da série n-6, presente em cada dieta. Assim foram obtidas as seguintes relações para as dietas: 2,9; 1,3; 0,8; 0,5 e 0,2 (Tabela 2). Diferentes quantidades de óleo de fígado de bacalhau e quatro óleos vegetais (linhaça, soja, canola e palma), foram utilizados para atingir os diferentes índices n-3/n-6. Foi utilizado o óleo de fígado de bacalhau, pois este é rico em LC-PUFA da série n-3 e também possui alto conteúdo de MUFA. O óleo de linhaça, pois é fonte de PUFA da série n-3. O óleo de canola e soja, ricos em MUFA e PUFA da série n-6, porém o óleo de canola possui um pouco mais de α -LNA que o óleo de soja. O óleo de palma rico em SFA e MUFA. Foram utilizados todos esses óleos para manter a proporção de SFA e monoinsaturados MUFA e variando somente a relação de PUFA n-3/n-6.

Todos os ingredientes, com exceção dos óleos, foram pesados e corrigidos para o valor de 100 % de matéria seca, em seguida foram homogeneizados e a umidade ajustada a 25 % (Determinador de umidade MB45, modelo HS11113005, OHASUS). A extrusão se deu

em extrusora a 100 °C, foram feitos peletes de 4 mm, e este secos à 55 °C em estufa de circulação de ar forçada durante 4 h. Os óleos usados no experimento foram adicionados após a secagem por meio de aspersão seguida de vácuo, para que assim não ocorresse perdas de ácidos graxos essenciais por aquecimento durante a extrusão. Esta ração feita por armazenada em uma refrigeração de -20 °C até seu fornecimento aos peixes.

Tabela 2. Formulação e composição das dietas experimentais (% , em base seca).

| Ingredientes ¹ | Relação n-3/n-6 | | | | |
|----------------------------------|-----------------|-------|-------|-------|-------|
| | 2,9 | 1,3 | 0,8 | 0,5 | 0,2 |
| Óleo de peixe | 2,78 | 1,84 | 1,02 | 0,53 | - |
| Óleo de linhaça | 0,80 | 0,74 | 0,65 | 0,45 | 0,23 |
| Óleo de soja | - | 0,33 | 0,67 | 1,08 | 1,55 |
| Óleo de canola | 0,19 | 0,64 | 1,10 | 1,38 | 1,66 |
| Óleo de palma | 1,23 | 1,45 | 1,56 | 1,56 | 1,56 |
| Outros ingredientes ² | 95,00 | 95,00 | 95,00 | 95,00 | 95,00 |
| Composição | | | | | |
| Matéria seca | 89,77 | 89,59 | 90,10 | 90,12 | 89,56 |
| Proteína bruta | 38,23 | 38,75 | 38,39 | 38,77 | 38,41 |
| Extrato etéreo | 5,53 | 5,56 | 5,52 | 5,46 | 5,47 |
| Matéria mineral | 3,62 | 3,91 | 4,64 | 4,08 | 3,65 |
| OLA | 1,10 | 1,47 | 1,71 | 1,74 | 1,73 |
| LOA | 0,28 | 0,54 | 0,69 | 0,83 | 1,03 |
| α -LNA | 0,40 | 0,40 | 0,37 | 0,32 | 0,25 |
| Σ PUFA n-3 | 0,96 | 0,73 | 0,58 | 0,43 | 0,26 |
| Σ PUFA n-6 | 0,33 | 0,57 | 0,72 | 0,86 | 1,05 |
| Σ PUFA n-3 e n-6 | 1,29 | 1,30 | 1,30 | 1,29 | 1,31 |
| n-3/n-6 | 2,91 | 1,28 | 0,81 | 0,50 | 0,25 |

¹ Óleo de fígado de bacalhau: Berg Lipidtech, Aalesund, Noruega; óleo de linhaça: Vital Atman Ltda, Uchoa, SP, Brasil; óleos de soja e canola: Bunge Alimentos AS, Gaspar, SC, Brasil; óleo de palma: grupo Agropalma, Belém, PA, Brasil.

² Dieta basal: caseína 300 mg g⁻¹, amido de milho 400 mg g⁻¹, celulose 113,5 mg g⁻¹, gelatina 80 mg g⁻¹, fosfato bicálcico 20 mg g⁻¹, premix macro mineral 20 mg g⁻¹, premix micromineral e vitamínico 10 mg g⁻¹, carboximetilcelulose 5 mg g⁻¹, cloreto de colina 0,1 mg g⁻¹, butil-hidroxitolueno (BHT) 0,5 mg g⁻¹.

4.2 Peixes e Condições Experimentais

Os juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) foram adquiridos da piscicultura ACQUA SUL (Ihota, SC, Brasil), da linhagem GIFT e invertidos sexualmente para machos. Os peixes foram aclimatados às condições experimentais por 14 dias onde foram alimentados com a dieta basal, sem adição de óleo, e mantidos em temperatura de 28 °C. Após o período de aclimação, os peixes de peso inicial $70,49 \pm 1,43$ g e comprimento inicial de $15,34 \pm 3,00$ cm, foram estocados em 15 tanques experimentais de formato circular e capacidade de 100 litros por tanque, por um período de 56 dias a uma temperatura para esta espécie de 28 °C. A dieta foi aleatoriamente distribuída em três grupos de 25 peixes, e durante todo o período os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (08:00 h e 16:00 h), até a saciedade aparente. O fotoperíodo foi ajustado para 12 h e durante o período experimental as variáveis de indicadores da qualidade da água como temperatura, pH e concentração de oxigênio dissolvido, foram registradas diariamente, com auxílio de uma sonda multiparâmetros YSI Professional Plus® (Yellow Springs, OH, USA). Já as concentrações de amônia, nitrito e nitrato foram monitorados semanalmente com auxílio de kits colorimétricos. Ao término deste período, foi realizada uma biometria onde foram realizadas também as amostragens para as análises posteriores.

4.3 Coleta de Amostras

Para acompanhar o crescimento e o desempenho dos peixes, foram realizadas biometrias a cada 20 dias. Para isso os peixes eram mantidos em jejum por 24h antecedentes a biometria, e então anestesiados com 100 mg L⁻¹ de Eugenol® (Asfer Indústria Química Ltda, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil). Utilizou-se o ictiômetro (precisão 0,1 cm) para obter o comprimento total dos animais e, para obter o peso individual utilizou-se de uma balança semianalítica (precisão 0,01 g). Também foram quantificados os números de mortalidade e consumo das dietas diariamente. Para análise da composição centesimal e perfil de ácidos graxos, foram coletados 20 peixes no início do experimento, e três peixes por unidade experimental após 56 dias de experimento em temperatura de 28 °C.

4.4 Análises físico-químicas

A composição centesimal dos ingredientes e dietas foi determinada de acordo com métodos da AOAC (1999): proteína bruta (Kjeldahl, fator de correção 6,25, método 945.01), lipídeos (SOXTHLET, método 920.39C), e matéria seca (105°C até peso constante, método 950.01).

4.5 Análise do perfil de ácidos graxos corporal e das dietas

O perfil de ácidos graxos foi determinado nas dietas experimentais e antes da confecção das dietas, todos os ingredientes também foram analisados quanto ao perfil de ácidos graxos. As análises de ácidos graxos foram realizadas no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquícolas (LABNUTRI, UFSC), em parceria com o Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal (LMBV, UFSC). Brevemente, os lipídios das amostras (ingredientes, dietas, corpo inteiro e músculo) foram extraídos a frio e quantificados pelo método de Folch et al. (1957), modificado por Ways e Hanahan (1964). Em seguida, os ácidos graxos foram esterificados usando o método de O' Fallon et al. (2007) e separados por cromatografia gasosa com coluna capilar (GC-2014, Shimadzu, Kyoto, Japan) equipado com coluna capilar (RTX[®] 2330, 105 m × 0.25 mm ID, 0.20-µm film thickness; Restek[®], Bellefont, USA). Para a identificação e quantificação, os tempos de retenção e áreas dos ácidos graxos foram comparados com padrões externos (37 Component FAME Mix e PUFA No.3 - from menhaden oil, Supelco, Bellefonte) e o padrão interno 23:0 (Tricosanoic acid, Sigma, Saint Louis). As áreas dos picos foram corrigidas pelo fator de correção teórico do detector de ionização em chama (VISENTAINER & FRANCO, 2006).

4.6 Taxa de retenção corporal aparente

Foram calculadas as taxas de retenção corporal aparente de proteína e ácidos graxos, seguindo metodologia proposta por Glencross et al. (2003) de acordo com a equação abaixo:

$$TRA = \frac{(Pf \times AC_f) - (Pi \times AC_i)}{IA} \times 100$$

Onde:

Pf: peso final (g)

Pi: peso inicial (g)

AC: ácido graxo ou proteico corporal inicial ou final (g 100g⁻¹)

IA : ingestão total do ácido graxo ou proteico (g)

4.7 Análise estatística

Todos os dados obtidos foram testados quanto à independência, normalidade e homocedasticidade. Para avaliar o efeito das relações dietéticas de ácidos graxos n-3/n-6 na dieta e a taxa de retenção corporal aparente proteica, foi utilizada a análise de regressão. O nível de significância adotado foi de 5% para todos os testes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de retenção proteica (TRP) aparente nos juvenis de tilápia-do-nilo não foi influenciada pelas diferentes relações de PUFA n-3/n-6 nas dietas, pois foram similares em todos os tratamentos. Por outro lado, a taxa de retenção corporal aparente dos ácidos graxos foi influenciada pelas diferentes relações de PUFA n-3/n-6 das dietas. Houve aumento na retenção corporal de PUFA n-6 conforme reduziu a relação de PUFA n-3/n-6 nas dietas. A taxa de retenção corporal de ácido linolênico (LOA, 18:2n-6) nos peixes se comportou de forma similar ao total de PUFA n-6. Já para o ácido linoleico (α -LNA, 18:3n-3), não houve diferença significativa na taxa de retenção corporal quando alimentados com diferentes relações de PUFA n-3/n-6. No entanto, apesar de todas as dietas conterem um total de PUFA de 1,30% na dieta, a retenção corporal de PUFA foi maior nos peixes alimentados com as dietas que possuem as menores relações n-3/n-6. Resultado similar também observado para a retenção corporal de PUFA da série n-3 e n-6.

Tabela 3. Taxa de retenção proteica aparente e retenção de ácidos graxos essenciais para juvenis de tilápia.

| Taxa de retenção ¹ | Relação n3/n6 | | | | | R ² | P ² |
|-------------------------------|---------------|-------------|------------|-------------|-------------|----------------|-----------------|
| | 2,90 | 1,30 | 0,80 | 0,50 | 0,20 | | |
| TRP | 41,43±0,60 | 40,34±1,49 | 40,46±0,94 | 41,31±1,15 | 43,12±0,80 | 0,37 | NS ³ |
| OLA | 101,96±1,71 | 94,08±3,69 | 88,51±4,95 | 81,44±2,59 | 103,10±0,87 | 0,32 | NS |
| LOA | 0,88±0,07 | 15,26±0,10 | 56,35±0,07 | 87,71±0,02 | 70,46±0,15 | 0,84 | <0,001 |
| α -LNA | 63,80±2,70 | 53,66±1,73 | 47,45±1,84 | 62,13±2,57 | 59,09±0,64 | 0,47 | NS |
| PUFA | 75,70±1,41 | 64,90±0,83 | 79,03±3,89 | 107,69±1,17 | 106,23±2,69 | 0,85 | <0,001 |
| PUFA n-3 | 96,20±3,48 | 88,25 ±2,12 | 76,16±3,74 | 102,67±0,41 | 107,75±1,89 | 0,55 | 0,003 |
| PUFA n-6 | 3,59±0,32 | 31,66 ±2,77 | 66,86±7,18 | 105,08±2,28 | 96,99±3,67 | 0,90 | <0,001 |

¹ SFA= ácidos graxos saturados; MUFA= ácidos graxos monoinsaturados; PUFA = ácidos graxos poli-insaturados; OLA (18:1n-9) = ácido oleico; LOA (18:2n-6) = ácido linolênico; α -LNA (18:3n-3) = ácido linolênico. Taxa de retenção de ácidos graxos (%) = [(ácidos graxos corporal final – ácidos graxos corporal inicial) / ingestão total de ácidos graxos] Taxa de retenção de proteína (%) = [(proteína corporal final – proteína corporal inicial) / ingestão total de proteína].

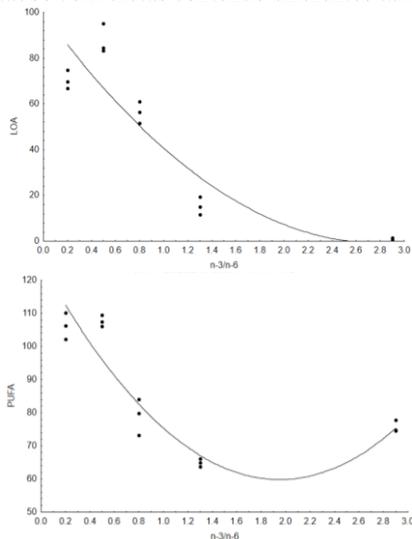
² Regressão polinomial foi significativa para todas as variáveis.

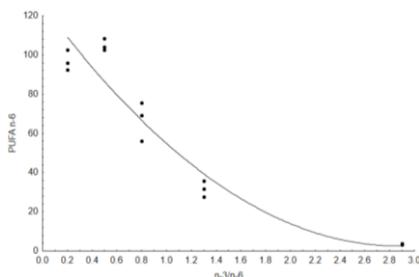
³ Não significativo.

Quanto menor a relação n-3/n-6, menor a concentração de óleo de peixe e linhaça e maior a concentração dos óleos de soja, canola e palma. A retenção de PUFA n-6 seguiu essa tendência, a dieta com mais

ácidos graxos da série n-6 na dieta, também foi maior seu acúmulo. A tilápia sendo uma espécie de água quente necessita principalmente de PUFA n-6 na dieta (TOCHER, 2010), justificando este acúmulo de lipídio corporal nos peixes que receberam dietas ricas em n-6 (menor relação PUFA n-3/n-6). Apesar de o ácido graxo docosaexaenoico (DHA, 22:6n-3) estar presente no óleo de peixe, sua retenção não foi significativa. Brignol (2017), relatou retenção significativa desse ácido graxo, mas usando concentrações crescentes da farinha de *Schizochytrium* sp. All-G-Rich® (Alltech, EUA) (rico em DHA) na dieta da tilápia-do-nylo, além de um tratamento com óleo de fígado de bacalhau (OFB). O All-G-Rich® foi testado em quatro níveis (0,5; 1,0; 2,0 e 4,0% da dieta na matéria seca), além de uma dieta sem inclusão de farinha de *Schizochytrium* sp. (0% de All-G-Rich®). A taxa de retenção corporal aparente de ácidos graxos nos juvenis de tilápia-do-nylo foi influenciada pelos níveis de inclusão de All-G-Rich® na dieta e aumento das taxas de retenção corporal de LOA com a inclusão de All-G-Rich® na dieta.

Figura 1. Taxa de retenção aparente do LOA, PUFA n-6 e PUFA em juvenis de tilápia-do-nylo alimentados com dietas contendo diferentes taxas n-3/n-6.





Legenda: LOA (18:2n-6) = ácido linolêico; PUFA = ácidos graxos poli-insaturados.

Regressão polinomial foi significativa para todas as variáveis e geraram as seguintes equações: taxa de retenção LOA: $y = 99,815 - 72,032x + 12,889x^2$;

taxa de retenção PUFA: $y = 125,232 - 67,031x + 17,177x^2$;

taxa de retenção PUFA n-6: $y = 125,6241 - 85,6863x + 14,9112x^2$;

A utilização de blends de óleos vegetais como substituto de óleo de peixe para juvenis de tilápia-do-nilo influenciou a retenção de ácidos graxos corporais. O presente trabalho reforça evidências na influência da dieta sobre a composição de ácidos graxos em tilápia-do-Nilo, corroborando os resultados relatados anteriormente por Corrêa et al. (2017), Ribeiro et al. (2008), Tocher (2015), Glencross et al. (2003) e Brignol (2017), onde concluem que a fonte dietética é a única opção viável para manter níveis elevados de LC-PUFA n-3 em tecidos de peixes de criação.

Neste trabalho, a taxa de retenção corporal aparente de LOA, PUFA e PUFA n-6 pela tilápia aumentou com a diminuição da relação n-3/n-6, ou seja, quanto menor a relação n-3/n-6, quanto maior a inclusão de n-6 na dieta, maior a retenção destes. A dieta influenciou diretamente na taxa de retenção corporal, em virtude disso, ainda são necessários estudos adicionais para um melhor entendimento da síntese e metabolismo dos ácidos graxos da série-n-3 e da série n-6 na tilápia-do-Nilo.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-SOUTI, A., AL-SABAHI, J., SOUSSI, B. & GODDARD, S. (2012) The effects of fish oil-enriched diets on growth, feed conversion and fatty acid content of red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp. *Food Chem.*, 133, 723-727.
- A.O.A.C. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists** (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg. 1999.
- BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011**. Brasília: MPA, 2011. 60p.
- BRIGNOL, Fernando Dutra. Farinha de Schizochytrium sp. como fonte de DHA na suplementação dietética para tilápia-do-nilo: retenção perfil de ácidos graxos. 2017. 71 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2017. Disponível em: www.bu.ufsc.br/teses/PAQI0490-D.pdf>
- CHEN, C.; SUN, B.; LI, X.; LI, P.; WUTAI, G.; BI, Y.; PAN, Q. N-3 essential fatty acids in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: quantification of optimum requirement of dietary linolenic acid in juvenile fish. **Aquaculture**, v.417, p.99-104, 2013.
- CHOU, B. S. & SHIAU, S. Y.: Both n-6 and n-3 fatty acids are required for maximal growth of juvenile hybrid tilapia. **North American Journal of Aquaculture**, v.61, p.13-20, 1999.
- CHOU, B. S.; SHIAU, S. Y.; HUNG, S. S. O. Effect of dietary cod liver oil on growth and fatty acids of juvenile hybrid tilapia. **North American Journal of Aquaculture**, v. 63, p. 277-284, 2001.
- FAO, 2015. Fishery Statistical Collections: Global Aquaculture Production. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/en> (acessado em: 06/11/2018)

- FAO. 2016. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2016**. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp.
- FOLCH, J. M., Lees, M., Sloane-Stanley, G. H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**. 226, 497–509.
- GLENCROSS, B. D. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. **Reviews in Aquaculture**, v. 1, p.71-124, 2009.
- GLENCROSS, B. D., Hawkins, W.E., Curnow, J.G., 2003. Restoration of the fatty acid composition of red seabream (*Pagrus auratus*) after grow-out on plant oil based diets. **Aquaculture Nutrition** 9, 409–418.
- GLENCROSS, B. D., Hawkins, W.E., Curnow, J.G., 2003. Restoration of the fatty acid composition of red seabream (*Pagrus auratus*) after grow-out on plant oil based diets. **Aquaculture Nutrition** 9, 409–418.
- KUBITZA, F. Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial. Ed. **Acqua & Imagem Jundiáí**, p. 289, 2000.
- LI, E.; LIM, C.; KLESIUS, P.H.; WELKER, T.L. Growth, body fatty acid composition, immune response, and resistance to *streptococcus iniae* of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*×*Oreochromis aureus*, fed diets containing various levels of linoleic and linolenic acids. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.44, n.1, p.42-55, 2013.
- NÓBREGA, Renata Oselame. **Exigência do ácido graxo alfa-linolênico para Tilápia-do-nilo em temperatura sub-ótima**. 2015. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.
- NRC (National Research Council). **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington, DC.: National Academic Press, 2011, 360 p.

- OCDE/FAO (2017), **OCDE-FAO** *Perspectivas Agrícolas 2017-2016*, Éditions OCDE, Paris. Disponível em http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2017-es (acessado em 04/11/2018).
- O'Fallon, J.V., Busboom, J.R., Nelson, M.L., Gaskins, C. T. A., 2007. Direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wetmeat tissues, oils, and feedstuffs. **Journal of Animal Science**. 85,1511-1521.
- OMS Organização Mundial da Saúde (OMS). World Health Organization. Protein and aminoacid requirements in human nutrition. Report of a joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation, United Nations University. Technical Report Series, 935. WHO; 2007.
- POLI, Carlos Rogério et al. **AQUICULTURA: experiências Brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa Editora Ltda, 2004.
- POPMA, T.J. and LOVSHIN, L.L., 1995. Worldwide prospects of commercial production of tilapia. Auburn University, AL, USA.
- RIBEIRO, P. A. P., Logato, P. V. R., Paula, D. A. J., Costa, A. C., Murgas, L. D. S., Freitas, R. T. F., 2008. Effect of different oils in the diet on lipogenesis, the lipid profile of Nile tilapias. **Revista Brasileira de Zootecnia** 37, 1331-1337.
- Ruxton, C. H. S., Calder, P. C., Reed, S. C., Simpson, M. J. A., 2005. The impact of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids on human health. **Nutrition Research Reviews** 18, 113-129.
- SIDONIO, L.; CAVALCANTI, I.; CAPANEMA, L.; MORCH, R.; MAGALHÃES, G.; LIMA, J.; BURNS, V.; ALVES JÚNIOR, A.J.; MUNGIOLI, R. Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. **BNDES Setorial**, v.35, p.421-463, 2012.
- SISCOVICK, D. S.; RAGHUNATHAN, T.; KING, I.; WEINMANN, S.; BOVBJERG V. E.; KUSHI L.; COBB L. A.; COPASS M.; PSATY, B. M.; LEMAITRE, R.; RETZLAFF, B.; KNOPP, R. H. Dietary intake of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and

the risk of primary cardiac arrest. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p.208-212, 2000.

TAKEUCHI, T., SATOH, S., WATANABE, T., 1983. Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**. 49, 1127-1134.

TOCHER, D.R., 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine, freshwater fish. **Aquaculture Research** 41, 717-732.

TURCHINI, G. M., Ng, W. K., Tocher, D. R. (Eds.), 2010. **Fish Oil Replacement, Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds**. 1. Ed. New York: CRC Press, 2010, 551p.

VISENTAINER, J.V., Franco, M.R.B., 2006. In: Visentainer, J.V., Franco, M.R.B. (Eds.), **Ácidos graxos em óleos e gorduras: identificação e quantificação**. Varela, São Paulo (120 p).

WAYS, P. e Hanahan, D. J., 1964. Characterization and quantification of red cell lipids in normal man. **Journal of Lipid Research**. 5, 318-328.

WAYS, P. e Hanahan, D. J., 1964. Characterization and quantification of red cell lipids in normal man. **Journal of Lipid Research**. 5, 318-328.