UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ADJA CRISTINA LIRA DE MEDEIROS

Parâmetros zootécnicos e perfil de ácidos graxos de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dietas contendo sesamina e ácido alfa-lipoico

Pirassununga

2017

ADJA CRISTINA LIRA DE MEDEIROS

**Parâmetros zootécnicos e perfil de ácidos graxos de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dietas contendo sesamina e ácido alfa-lipoico
(VERSÃO CORRIGIDA)**

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutora em Zootecnia.

Área de concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas.

Pirassununga

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

M488p Medeiros, Adja Cristina Lira de
Parâmetros zootécnicos e perfil de ácidos graxos de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dietas contendo sesamina e ácido alfa-lipoico / Adja Cristina Lira de Medeiros. -- Pirassununga, 2017.
99 f.
Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo. Departamento de Zootecnia.
Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.
Orientadora: Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas.

1. Desempenho 2. Gergelim 3. Linhaga 4. Peixes
5. Poli-insaturados. I. Título.

DEDICATÓRIA

Era uma vez uma menina que amava estudar, mas como sua família não tinha muitos recursos financeiros, tinha que trabalhar para ajudar em casa. Apesar das dificuldades, seu pai sempre incentivou que fosse à escola. Ela só tinha um caderno que deveria servir para vários anos, então, quando necessário, escrevia até na capa e quando já não havia mais espaço, apagava e começava a escrever novamente. Casou aos 19 anos, teve três filhos e parou de estudar para trabalhar. Foi com a profissão de costureira (na arte e no amor) que me ajudou durante todos esses anos de estudo e, mesmo diante das dificuldades, me incentivou a nunca desistir. É com muita ALEGRIA que dedico este trabalho à quem sempre me incentivou a estudar e me ensinou que o melhor “casamento” é com o conhecimento e a independência, à minha mãe, Maria de Fátima Medeiros de Lira. À essa mulher batalhadora e, acima de tudo, FELIZ, que tenho orgulho de chamar de MÃE, por tudo que ela é, por tudo que me ensinou (e continua ensinando), por todos os valores por ela transmitidos e por tudo que ela representa para mim. Espero um dia poder realizar seu maior sonho: voltar a estudar! Dedico também à toda a minha família, que sempre me apoiou durante todos esses anos em que fiquei longe de casa.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Professora Doutora Elisabete Maria Macedo Viegas, por ter me recebido tão carinhosamente para trabalhar com sua equipe. Pela paciência, pela ajuda diante das dificuldades e por contribuir de forma significativa no meu crescimento científico e intelectual.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de doutorado e apoio financeiro para realização desta pesquisa.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP), pela oportunidade de realização do curso de mestrado e doutorado.

À empresa Kailu Ever Brilliance Biotechnology, pela doação da sesamina utilizada como padrão nas análises de determinação da sesamina no óleo de gergelim utilizado na fabricação das rações experimentais, nas amostras das rações e nos filés dos peixes, em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

À Piscicultura Polettini, pela doação dos peixes utilizados nos experimentos.

À Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) e ao Doutor Fábio Sussel, por disponibilizar o espaço para os experimentos e pelo suporte técnico. Bem como ao Seu Jair e ao Seu Cláudio, pela ajuda durante todo o período experimental.

À Deus, por me dar força e determinação nos momentos mais difíceis (foram muitos).

À professora Dra. Roberta Targino Pinto Correia (UFRN), por ter me dado a primeira oportunidade na iniciação científica, durante a graduação, e me direcionado ao mundo da pesquisa. Por ser um exemplo de profissional da área da educação e um ser humano incrível. Fui orientada da melhor forma possível, pois tive a oportunidade de crescer pessoal e profissionalmente. Sempre vou lembrar dessa forma de ensino com muito carinho. E à minha amiga Kátia Cristina, que ilumina a minha vida desde essa época.

À professora Dra. Carmen Sílvia Fávaro-Trindade, por ter disponibilizado o Laboratório de Produtos Funcionais e o equipamento de CLAE para as análises. Pela orientação e suporte durante todo o mestrado e por toda a ajuda durante o doutorado. Também só tenho a agradecer pela paciência que teve comigo e pelas palavras doces que sempre serviam para me ajudar. Obrigada pelos abraços sinceros e carinhosos.

Ao Especialista do Laboratório de Alimentos Funcionais (LAPROF), Marcelo Thomazini, pela ajuda com as análises no equipamento de CLAE, pela paciência e ensinamentos durante o mestrado e doutorado e pela sua amizade.

Ao Professor Doutor José Eurico Possebon Cyrino, por autorizar o uso das instalações do setor de Piscicultura da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) para a elaboração da ração e aos técnicos Sérgio Vanderlei Pena e Ismael Baldessin Júnior, pela ajuda na elaboração das rações experimentais.

Ao técnico e à auxiliar do Laboratório de Aquicultura da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP) e amigos, José Apolinário Ferraz e Daflin Fernanda Mello, pela preciosa e importantíssima colaboração em todas as etapas do doutorado, pelos conselhos e por me ajudar nos momentos mais difíceis desse período. Obrigada por estar sempre presente e pelos conselhos e abraços compartilhados.

Aos meus colegas do Laboratório de Aquicultura: Kátia Rodrigues, Júlio Segura, Joana Marconi, Mariene Natori, Rachel Alves, Sheyla Vargas, Rosa Dulce, Beatriz Antunes, Francine Venturini e Thayssa Costa pelo companheirismo e amizade de todos, que tanto me ajudaram nesse período.

Ao Professor Doutor Ives Cláudio da Silva Bueno e à Flávia, pela ajuda nas análises de energia bruta das rações experimentais. À professora Doutora Catarina Abdalla e as técnicas do laboratório Rose e Rosilda, pela ajuda com as análises de extrato etéreo das rações experimentais e dos filés dos peixes.

Ao Ricardo, pela ajuda com a análise de histologia dos fígados dos peixes.

À Professora Doutora Elyara, pela sua sensibilidade e pelos conselhos fornecidos.

Ao Professor Doutor César Gonçalves de Lima pela contribuição nas análises estatísticas.

À Professora Doutora Giuliana Parisi, pelo carinho e por me ajudar a tentar ir à Itália, pelo Programa Ciências Sem Fronteiras.

Aos funcionários da Pós-Graduação, pelo belo trabalho, pela gentileza que sempre me atenderam e por solucionar problemas que surgiram.

Aos funcionários Layla, Gladson e Tânia, por serem sempre tão gentis comigo e mostrar que são felizes na profissão que exercem.

À minha Mãe, pelo apoio aos estudos desde criança, por acreditar em mim e por dar todo o suporte necessário, tanto financeiro quanto psicológico. Pelas palavras carinhosas e o amor que se fazem presentes na minha vida todos os dias. Por ser o maior motivo do meu anseio pelo conhecimento e de uma vida melhor, para poder retribuir tanto amor e dedicação durante todos esses anos de vida. E que eu consiga dar o suporte necessário para que tenha uma vida confortável.

À tia Juraci e tia Gorete pelo apoio financeiro, pelas palavras de incentivo, pelos abraços carinhosos e por estarem sempre presentes. À toda minha família: Vovó Maria, Vovô Severino, Vovó Cici (que já não estão entre nós), tio Nêgo, tia Gracinha, tio Ribinha, Painho, Branquinha, Lucilene, Anderson, Alane, Kleinner, Joãozinho, Julinha e Benjamin. Obrigada por preencher um grande espaço no meu coração, me proporcionando ótimos momentos de alegria e amor. A família é o bem mais precioso que temos nessa vida!

À minha segunda família, Dona Darquinha, Andrea Rosselini, Seu Júlio e Júlio Formiga, pelo carinho e apoio que eles sempre me deram nesse período.

À primeira cliente da minha mãe, Silvana Mesquita, uma mulher extremamente culta e inteligente, e ao seu marido, Prof. Dr. Uilame Umbelino Gomes, pelas palavras de incentivo e apoio durante todos esses anos, que fizeram grande diferença nos meus anseios aos estudos.

Aos meus amigos Volnei Brito, Thaysa Silva, Hugo Costa, Tiara Gomes, Lucas Arantes, Vítor Garcia, Júlio Dadalt, Paula Okuro, Milla Santos, Talita Comunian, Keila Aracava, Biazinha, Manu e Ruann pelo apoio e compreensão nos momentos difíceis durante todos estes anos de convivência, pela cooperação e pelos muitos sorrisos e abraços compartilhados. Vocês são pessoas muito especiais!!!

Às meninas que moraram comigo, Taíse Toniazzo, Megumi Sawada e Diane De Neef.

Às meninas que dividiram quarto comigo no alojamento, Vitória e Marcele (Chica), por não reclamarem nos dias que ficava escrevendo a tese até tarde, com as luzes acesas, e ao amigo Luquinhas. Obrigada pelos momentos de alegria que me proporcionaram.

À Bruna Karoline (Bruninha), por fornecer moradia em Piracicaba, no período que fomos fazer as rações para os experimentos e que serviu para reforçar ainda mais os nossos laços de amizade.

E a todos aqueles que não foram mencionados, mas que me ajudaram de alguma forma, nesse período.

BIOGRAFIA

ADJA CRISTINA LIRA DE MEDEIROS, filha de Maria de Fátima Medeiros de Lira, costureira, e José Cícero de Medeiros, funcionário de serviços gerais, nasceu no dia 03 de junho de 1985, em Florânia, cidade localizada no estado do Rio Grande do Norte.

Em 2004, concluiu o curso técnico em Controle Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte (IFRN).

Em 2005 realizou estágio na empresa mineradora Vale, em Parauapebas-PA.

Em 2010, concluiu a graduação em Zootecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Durante 4 anos da graduação, a aluna realizou pesquisas direcionadas ao estudo de derivados lácteos, especialmente iogurte. Como trabalho de conclusão de curso (TCC), apresentou o trabalho intitulado “Avaliação da concentração de vitamina A em leite de cabra e derivados”.

Em 2011, ingressou no mestrado na área de Ciências da Engenharia de Alimentos da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP), em Pirassununga-SP, sob orientação da Professora Doutora Carmen Silvia Fávaro-Trindade.

Em 2013, defendeu sua dissertação de mestrado, intitulada “Iogurte caprino probiótico em pó: estudo do processo de secagem, da caracterização do pó e da viabilidade do probiótico”.

Ainda em 2013, ingressou no doutorado na área de Qualidade e produtividade animal, do Programa de pós-graduação de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP), em Pirassununga-SP, sob orientação da Professora Doutora Elisabete Maria Macedo Viegas.

Após a conclusão do doutorado, pretende estudar para concursos e seguir carreira acadêmica.

RESUMO

MEDEIROS, A. C. L. **Parâmetros zootécnicos e perfil de ácidos graxos de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dietas contendo sesamina e ácido alfa-lipoico.** 2017. 99 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2017.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de dois modificadores metabólicos, a sesamina, presente no óleo de gergelim, e ácido alfa-lipoico (na forma pura), sobre desempenho zootécnico, perfil de ácidos graxos, composição química dos filés de pacus e alterações histológicas no fígado. Foram utilizados 480 juvenis de pacu ($3,35 \pm 0,78$ g), distribuídos em 24 caixas de polietileno com volume de 50 litros, sendo estocados 20 peixes em cada unidade. Durante o período experimental de 90 dias, a temperatura média da água permaneceu em 26 °C e os demais parâmetros (amônia, nitrito, pH e oxigênio dissolvido) apresentaram-se dentro dos níveis adequados para o desenvolvimento desta espécie. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, no qual foram avaliados seis tratamentos em esquema fatorial 3x2, sendo três níveis do fator óleo (OS: óleo de soja; OG: óleo de gergelim; OL: óleo de linhaça) e dois níveis do fator ácido alfa-lipoico (AAL) (sem e com), resultando em seis tratamentos: T1: OS (controle); T2: OG+OL; T3: OL; T4: OS+AAL; T5: OG+OL+AAL e T6: OL+AAL. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) e diferenças significativas foram verificadas pelo teste de Tukey (5%). As dietas contendo OL como única fonte lipídica (T3 e T6) proporcionaram melhores índices de peso médio (PM) e ganho de peso individual (GPI) nos juvenis de pacu. Além disso, proporcionaram maiores ($P < 0,05$) teores de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) da família n-3 nos filés, especialmente do ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3). A única variável da composição química dos filés dos juvenis de pacu que apresentou diferença ($P < 0,05$) foi o teor de proteína bruta, sendo maior nos filés dos peixes alimentados com as dietas sem ácido alfa-lipoico (T4, T5 e T6). Os óleos utilizados nas dietas experimentais não causaram alterações nas células dos fígados de juvenis de pacu. Conclui-se que a sesamina, fornecida por meio de óleo de gergelim, não promoveu alterações no desempenho zootécnico dos pacus, nem na composição química e metabolismo de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) dos filés de juvenis de pacu. A presença do ácido alfa-lipoico não afetou o desempenho zootécnico dos animais e sua ausência promoveu maiores teores de proteína bruta e ácidos graxos poli-insaturados nos filés dos pacus.

Palavras-chave: Desempenho. Gergelim. Linhaça. Peixes. Poli-insaturados.

ABSTRACT

MEDEIROS, A. C. L. **Growth performance and fatty acids profile of pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*) fed diets containing sesamin and alfa-lipoic acid.** 2017. 99 p. Ph.D. Thesis – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2017.

The objective of this work was to evaluate the effects of two metabolic modifiers, sesamin, present in sesame oil, and alpha lipoic acid (in pure form), on pacus growth performance, fatty acid profile, chemical composition of pacus fillets and histological alterations in the liver. We used 480 pacu juveniles (3.35 ± 0.78 g), distributed in 24 boxes of polyethylene with volume of 50 liters, being stored 20 fish in each unit. During the experimental period of 90 days, the mean water temperature remained at 26 °C and the other parameters (ammonia, nitrite, pH and dissolved oxygen) were in the appropriate levels for the development of this species. The experimental design was completely randomized, in which six treatments were evaluated in a 3x2 factorial scheme, being three levels of the factor oil (OS: soybean oil, OG: sesame oil, OL: linseed oil) and two levels of the alpha acid factor -lipoic acid (AAL) (without and with), resulting in six treatments: T1: OS (control); T2: OG+OL; T3: OL; T4: OS+AAL; T5: OG+OL+AAL and T6: OL+AAL. Data were analyzed statistically by analysis of variance (ANOVA) and significant differences were verified by the Tukey test (5%). Diets containing OL as the only lipid source (T3 and T6) provided better average weight (PM) and individual weight gain (GPI) in pacu juveniles. In addition, they provided higher ($P < 0.05$) levels of polyunsaturated fatty acids (PUFA) of the n-3 family in fillets, especially eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3). The only variable of the chemical composition of pacu juvenile fillets that presented a difference ($P < 0.05$) was the crude protein content, being higher in the fish fillets fed the diets without alpha-lipoic acid (T4, T5 and T6). The oils used in the experimental diets did not cause changes in the livers cells of pacu juveniles. It was concluded that sesamin, provided by sesame oil, did not promote changes in the growth performance of pacus, nor in the chemical composition and metabolism of polyunsaturated fatty acids (PUFA) of pacu juvenile fillets. The presence of alpha-lipoic acid did not affect the animals growth performance and its absence promoted higher levels of crude protein and polyunsaturated fatty acids in pacus fillets.

Keywords: Growth performance. Sesame. Linseed. Fish. Polyunsaturated.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura molecular da sesamina.....	29
Figura 2 – Estrutura molecular do ácido alfa-lipoico.....	30
Figura 3 – Estrutura molecular do ácido dihidrolipoico, forma reduzida do ácido alfa-lipoico.	30
Figura 4 – (A) Diluição de AAL em óleo de gergelim e óleo de linhaça nas devidas proporções para adicionar na dieta experimental T5 (óleo de gergelim + óleo de linhaça + ácido alfa-lipoico - OG+OL+AAL); (B) Adição da solução de OG+OL+AAL na ração extrusada, homogeneizada com uma betoneira em movimento circular; (C) secagem (24 h) em estufa de ventilação forçada (50 °C); (D) ração à esquerda sem adição da solução de OG+OL+AAL e ração à direita da imagem com adição da solução de OG+OL+AAL.	38
Figura 5 – Coleta, transporte e manejo dos juvenis de pacu. (A) Coleta; (B) Juvenis de pacu em embalagem de polietileno; (C) Adição de NaCl e oxigênio em embalagens de transporte; (D) Adição de NaCl em água para aclimação dos peixes; (E) Aeração da água para aclimação dos peixes; (F) Caixas identificadas onde foram distribuídos os peixes; (G) Detalhe do esconderijo feito e adicionado em cada caixa.	39
Figura 6 – (A) Cromatograma da concentração de sesamina no padrão, na ração T1 (controle), em uma das rações com óleo de gergelim (T5), nos filés dos peixes que receberam a dieta controle e nos filés dos peixes que receberam a dieta T5; (B) Ampliação do cromatograma no tempo de retenção da sesamina (10 min).	55
Figura 7 – (A) Cromatograma da concentração de ácido alfa-lipoico no padrão, na ração T1 (controle), em uma das rações com óleo de gergelim (T5), nos filés dos peixes que receberam a dieta controle e nos filés dos peixes que receberam a dieta T5; (B) Ampliação do cromatograma no tempo de retenção do ácido alfa-lipoico (8,6 min).....	56
Figura 8 – Fotomicrografia (200 µm) de corte histológico de fígados de pacu alimentados com dieta comercial, evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha), sinusoides (seta amarela) e veia porta (seta azul).....	79
Figura 9 – Fotomicrografia (200 µm) de corte histológico de fígados de pacus alimentados com a dieta T1 (OS), evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha) e sinusoides (seta amarela).	80
Figura 10 – Fotomicrografia (200 µm) de corte histológico de fígados de pacus alimentados com a dieta T2 (OG+OL), evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha) e sinusoides (seta amarela).	80

Figura 11 – Fotomicrografia (200 µm) de corte histológico de fígados de pacus alimentados com a dieta T3 (OL), evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha) e sinusoides (seta amarela).	81
Figura 12 – Fotomicrografia (200 µm) de corte histológico de fígados de pacus alimentados com a dieta T4 (OS+AAL), evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha), sinusoides (seta amarela) e congestão vascular (seta rosa).	81
Figura 13 – Fotomicrografia (200 µm) de corte histológico de fígados de pacus alimentados com a dieta T5 (OG+OL+AAL), evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha), sinusoides (seta amarela), veia porta (seta azul) e congestão vascular (seta rosa).	82
Figura 14 – Fotomicrografia (200 µm) de corte histológico de fígados de pacus alimentados com a dieta T6 (OL+AAL), evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha), sinusoides (seta amarela) e congestão vascular (seta rosa).	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Quantidade (em %) das diferentes fontes lipídicas e níveis de AAL nas dietas de juvenis de pacu.	35
Tabela 2 – Composição química (base seca) (média±desvio-padrão) dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais para juvenis de pacu.	36
Tabela 3 – Composição percentual das dietas experimentais para juvenis de pacu.....	37
Tabela 4 – Massa da amostra (g) e volume (mL) do reagente (metanol com 5% de ácido acético) para a extração da sesamina e ácido alfa-lipoico em diferentes amostras.....	42
Tabela 5 – Composição química (base seca) (média±desvio-padrão) das dietas experimentais para juvenis de pacu.	46
Tabela 6 - Parâmetros de qualidade da água do sistema de recirculação, onde os peixes permaneceram durante o período experimental (90 dias).	47
Tabela 7 – Parâmetros de desempenho zootécnico (média±desvio-padrão) de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais, após 90 dias.....	48
Tabela 8 – Quadro da análise de variância (ANOVA) com o p-valor dos tipos de óleo, dos níveis de ácido alfa-lipoico (AAL) e da interação Óleo*AAL, coeficiente de variação e média geral dos parâmetros de desempenho zootécnico de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.	49
Tabela 9 – Valores de peso médio (PM) e ganho de peso individual (GPI) de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais, dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL).....	50
Tabela 10 – Composição química (base úmida) (média±desvio-padrão) dos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.	51
Tabela 11 – Quadro da análise de variância (ANOVA) com o p-valor dos tipos de óleo, dos níveis de ácido alfa-lipoico (AAL) e da interação Óleo*AAL, coeficiente de variação e média geral da composição química (base seca) dos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.....	51
Tabela 12 – Valores médios de proteína bruta (PB) (base úmida) dos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais, dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL).....	52
Tabela 13 – Concentrações (média ± desvio-padrão) de sesamina (SES) e ácido alfa-lipoico (AAL) nos diferentes tipos de óleo utilizados nas dietas, nas dietas experimentais e nos filés dos juvenis de pacu alimentados com as diferentes dietas.	53

Tabela 14 – Composição dos principais ácidos graxos, somatórias e razões de categorias de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) nas dietas experimentais.	57
Tabela 15 – Quadro da análise de variância (ANOVA) com o p-valor dos tipos de óleo, dos níveis de ácido alfa-lipoico (AAL) e da interação Óleo*AAL, coeficiente de variação e média geral da composição de ácidos graxos das dietas experimentais.	60
Tabela 16 – Composição em ácidos graxos, somatórias e razões de categorias de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) nas dietas experimentais, dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL).	61
Tabela 17 – Comparação de médias (% dos ácidos graxos totais) do ácido linolênico (18:3n-3) nas dietas experimentais, que apresentou interação Óleo*AAL significativa ($P<0,05$).	62
Tabela 18 – Composição em ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) nos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.	64
Tabela 19 – Somatórias e razões de categorias de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) e índices de qualidade lipídica de filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.	65
Tabela 20 – Quadro da análise de variância (ANOVA) com o p-valor dos tipos de óleo, dos níveis de ácido alfa-lipoico (AAL) e da interação Óleo*AAL, coeficiente de variação e média geral da composição em ácidos graxos nos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.	69
Tabela 21 – Quadro da análise de variância (ANOVA) com o p-valor dos tipos de óleo, dos níveis de ácido alfa-lipoico (AAL) e da interação Óleo*AAL, coeficiente de variação e média geral das somatórias e razões de categorias de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) e índices de qualidade lipídica de filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.	70
Tabela 22 – Composição em ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) nos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais, dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL).	71
Tabela 23 – Somatórias, razões de categorias de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) e índices de qualidade lipídica de filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.	72
Tabela 24 – Comparação de médias de alguns ácidos graxos e somatória dos ácidos graxos poli-insaturados n-3 (% dos ácidos graxos totais) nos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais, que apresentaram interação Óleo*AAL significativa ($P<0,05$).	74

Tabela 25 – Composição em ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) nos fígados de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.	76
Tabela 26 – Somatórias e razões de categorias de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) em fígados de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.	77

LISTA DE SIGLAS

AA – Ácido Araquidônico
AAL – Ácido Alfa-Lipoico
AGE – Ácido Graxo Essencial
AGM – Ácido Graxo Monoinsaturado
AGPI – Ácido Graxo Poli-Insaturado
AGS – Ácido Graxo Saturado
CA – Conversão Alimentar
CD – Consumo da Dieta
DHA – Ácido Docosahexaenoico
DHLA – Ácido Dihidrolipoico
EB – Energia Bruta
EE – Extrato Etéreo
EPA – Ácido Eicosapentaenoico
GPI – Ganho de Peso Individual
CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
LA – Ácido Linoleico
LNA – Ácido Linolênico
MM – Matéria Mineral
MS – Matéria Seca
OD – Oxigênio Dissolvido
OG – Óleo de Gergelim
OL – Óleo de Linhaça
OS – Óleo de Soja
PB – Proteína Bruta
pH – Potencial Hidrogeniônico
PM – Peso Médio
SES – Sesamina
TCE – Taxa de Crescimento Específico
TEP – Taxa de Eficiência Proteica
TS – Taxa de Sobrevivência

LISTA DE ÁCIDOS GRAXOS

C12:0 – Ácido láurico
C14:0 – Ácido mirístico
C14:1 – Ácido miristoleico
C15:0 – Ácido pentadecílico
C16:0 – Ácido palmítico
C16:1 – Ácido palmitoleico
C17:0 – Ácido margárico
C18:0 – Ácido esteárico
C18:1n-9 – Ácido oleico
C18:2n-6c – Ácido linoleico (LA)
C18:3n-6 – Ácido gama-linolênico
C18:3n-3 – Ácido alfa-linolênico (LNA)
C20:0 – Ácido araquídico
C20:1n-9 Ácido eicosenoico
C20:2 – Ácido cis-eicosadienoico
C20:3n-6 – Ácido dihomogama-linolênico
C20:3n-3 – Ácido eicosatrienoico
C20:4n-6 – Ácido araquidônico (AA)
C20:5n-3 – Ácido eicosapentaenoico (EPA)
C22:0 – Ácido beénico
C22:1n-9 – Ácido erúcico
C22:6n-3 – Ácido docosahexaenoico (DHA)
C23:0 – Ácido tricosaenoico
C24:0 – Ácido lignocérico
C24:1n-9 – Ácido nervônico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1	Pacu.....	20
2.2	Nutrição e metabolismo de peixes	21
2.2.1	Lipídeos e ácidos graxos.....	23
2.2.2	Exigências nutricionais e alimentação do pacu	26
2.3	Óleo de gergelim e ácido alfa-lipoico	28
3	HIPÓTESES, OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA	33
3.1	Hipóteses.....	33
3.2	Objetivo geral	33
3.3	Objetivos específicos	33
3.4	Justificativa	34
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	35
4.1	Delineamento experimental	35
4.2	Dietas experimentais.....	36
4.3	Condições experimentais e peixes	38
4.4	Desempenho zootécnico	40
4.5	Composição química dos filés de pacu	41
4.6	Análise de sesamina e ácido alfa-lipoico	41
4.6.1	Extração sólido-líquido	41
4.6.2	Análise de sesamina.....	42
4.6.3	Análise de ácido alfa-lipoico	43
4.7	Determinação do perfil de ácidos graxos.....	43
4.7.1	Índices de qualidade lipídica	44
4.8	Histologia dos fígados	44
4.9	Análise estatística	45

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1	Dietas experimentais.....	46
5.2	Parâmetros de qualidade da água.....	46
5.3	Desempenho zootécnico	47
5.4	Composição química dos filés de pacu	50
5.5	Análise de sesamina e ácido alfa-lipoico	52
5.6	Determinação do perfil de ácidos graxos.....	57
5.6.1	Composição em ácidos graxos nas dietas experimentais	57
5.6.2	Composição em ácidos graxos nos filés de pacu.....	64
5.6.3	Composição em ácidos graxos nos fígados de pacu.....	76
5.7	Histologia dos fígados de pacu	78
6	CONCLUSÕES	84
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
	REFERÊNCIAS	86
	ANEXO	97

1 INTRODUÇÃO

Um dos aspectos fundamentais na piscicultura de água doce é a escolha da espécie de peixe que vai ser utilizada na produção. Deve ser uma espécie com características zootécnicas de boa adaptação ao ambiente de cultivo, além de apresentar rápido desenvolvimento, aceitar facilmente a alimentação artificial e de aceitação pelo mercado consumidor, garantindo assim a viabilidade econômica da atividade.

Entre as espécies nativas, o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) vem se destacando nos últimos anos como uma espécie de grande interesse econômico no Brasil. Além de apresentar ótimas características de adaptação às condições climáticas, apresenta hábito alimentar onívoro, com tendência a herbívoro, podendo representar menores custos na alimentação. Além disso, é uma espécie que cresce rapidamente, tem carne de excelente qualidade e de boa aceitação no mercado, podendo proporcionar ao produtor retorno econômico em curto intervalo de tempo (DAL PAI et al., 2000).

A alimentação é indispensável para manutenção dos processos fisiológicos dos peixes e representa aproximadamente 70% nos custos de produção. Dessa forma, deve ser planejada e balanceada para cada espécie e de acordo com as exigências para cada fase de desenvolvimento (NRC, 2013).

A adição de lipídeos em dietas de peixes é comum, os quais podem ser de origem vegetal ou animal. Antigamente, na época dos faraós, a fonte lipídica dos alimentos era basicamente de animais terrestres e marinhos, bem como de fontes vegetais, como sementes de gergelim, oriundos da Índia, e soja, da China. A qualidade dos óleos era avaliada através de parâmetros sensoriais, como cor, odor e sabor. Atualmente, a maior parte da produção de óleos é concentrada nos vegetais, especialmente de soja e a qualidade desses produtos é avaliada prioritariamente em relação à qualidade nutricional (DUNFORD, 2004).

Apesar de algumas pessoas associarem gorduras e óleos à alimentos não saudáveis, é necessária a consciência de que eles são necessários para o metabolismo e para o crescimento humano (DUNFORD, 2004). Além de ser importante para a qualidade dos alimentos, os lipídeos são extremamente importantes para os seres vivos em geral (PORTZ; FURUYA, 2013), pois participam da formação e manutenção de diversos tecidos, órgãos e estruturas (SARGENT; TOCHER; BELL, 2003).

Os principais constituintes dos lipídeos são os ácidos graxos, compostos com uma cadeia alifática e um grupo ácido carboxílico (MCCLEMENTS; DECKER, 2010) e podem ser classificados de acordo com o comprimento e o grau de insaturação (quantidade de ligações

duplas) da cadeia de carbonos (GARCIA et al., 2013). Os ácidos graxos essenciais (AGE), são necessários para várias funções metabólicas dos seres vivos, mas como não são produzidos pelo organismo, devem ser fornecidos através da dieta (BHAGAVAN; HA, 2011).

Basicamente, as células podem obter os ácidos graxos através de gorduras ingeridas pela alimentação, de gorduras armazenadas nas células (gotículas gordurosas) ou por meio de gorduras sintetizadas em um órgão para ser exportadas para outro. Alguns organismos conseguem obter os ácidos graxos a partir dessas três fontes citadas, porém alguns organismos só conseguem obtê-los a partir de uma ou duas dessas fontes (LEHNINGER; NELSON; COX, 2006).

O óleo de peixe é uma das principais fontes lipídicas em rações para peixes. Porém, com o aumento do preço desse ingrediente no mercado mundial e as preocupações com a sustentabilidade dos recursos marinhos, várias pesquisas científicas investigaram a sua substituição por óleos vegetais (BELL et al., 2001; REGOST et al., 2003; MONTERO et al., 2008; MONTERO et al., 2010; BELL et al., 2012; SENADHEERA et al., 2012; NG et al., 2013; HIXSON; PARRISH; ANDERSON, 2014; PENG et al., 2014).

Dentre os óleos vegetais que são utilizados na alimentação de peixes pode-se citar o óleo de soja e óleo de linhaça. O óleo de soja, rico em ácido linoleico (MCCLEMENTS; DECKER, 2010), pode ser utilizado como fonte de ácido graxo n-6 e o óleo de linhaça, rico em ácido linolênico (MCCLEMENTS; DECKER, 2010), pode ser utilizado como fonte de ácido graxo n-3 (REGOST et al., 2003). Por meio de processos que envolvem alongamento e dessaturação, pode-se promover o aumento dos níveis de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) de cadeia longa, como o eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) e docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3), nos fígados e músculos dos peixes (REGOST et al., 2003).

O óleo de gergelim é rico em ácidos graxos insaturados e em outros constituintes que são importantes para suas características químicas, como sesamol, sesamina e sesamolina. Trata-se de um óleo com elevada estabilidade oxidativa (GUNSTONE, 2006), devido às propriedades antioxidantes dos seus constituintes, proporcionando assim maior resistência à oxidação, em relação a outros óleos de origem vegetal (BELTRÃO; FREIRE; LIMA, 1994).

Os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa são importantes, pois a sua oxidação em acetil-CoA proporciona liberação de energia para muitos órgãos e tecidos, sendo empregada principalmente na síntese de ATP. Por sua vez, o acetil-CoA também pode ser completamente oxidado até CO₂, resultando assim na conservação de mais energia (LEHNINGER; NELSON; COX, 2006).

Para o bom funcionamento fisiológico dos peixes, são necessários alguns ácidos graxos essenciais, como o ácido araquidônico (ARA, 20:4n-6), ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) e ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3). A maioria das espécies de água doce tem que obter esses ácidos graxos através da dieta, mas algumas espécies conseguem sintetizá-los a partir de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia curta, os precursores. Porém, para que isso seja possível, depende da presença e expressão de várias enzimas (TORSTENSEN; TOCHER, 2010).

Uma vez que os ácidos graxos essenciais não são produzidos pelo organismo, alguns trabalhos avaliaram a capacidade de compostos bioativos, como a sesamina e o ácido alfa-lipoico, promoverem alterações nas cadeias de ácidos graxos, resultando na biossíntese de AGPI, principalmente EPA e DHA (TRATTNER et al., 2007; ALHAZZAA et al., 2012; LEWIS et al., 2013). Considerando que a sesamina e o ácido alfa-lipoico são exemplos de compostos bioativos que exercem influências terapêuticas em alguns grupos de animais e, em alguns casos, promoveram a biossíntese de AGPI, (TRATTNER et al., 2007; ALHAZZAA et al., 2012; LEWIS et al., 2013), o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de dois modificadores metabólicos, a sesamina, presente no óleo de gergelim, e ácido alfa-lipoico (na forma pura), em dietas de juvenis de pacu sobre parâmetros zootécnicos, perfil de ácidos graxos, composição química dos filés dos peixes e alterações histológicas no fígado.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Pacu

O *Piaractus mesopotamicus*, popularmente conhecido como pacu, está distribuído por toda as regiões do Brasil, encontrado originalmente nos rios da Bacia do Prata, onde representa grande importância na pesca comercial (DAL PAI et al., 2000).

O pacu pertence à superordem *Ostariophysi*, ordem *Characiformes*, família *Characidae* e subfamília *Myleinae*. A superordem na qual o pacu pertence é a que tem o maior número de espécies de grande valor comercial para a pesca e para a piscicultura brasileiras. É uma das principais características dos peixes da subfamília *Myleinae* é seu hábito alimentar, sendo onívoros, especialmente frugívoros (FISHBASE, 2017).

O pacu é considerado um peixe onívoro, com forte tendência a herbívoro, podendo se alimentar de frutos, crustáceos, detritos orgânicos, pequenos peixes e moluscos (URBINATI; GONÇALVES; TAKAHASHI, 2005). Devido ao seu hábito alimentar, o pacu é uma espécie com baixa exigência proteica (FURUYA, 2001; RIBEIRO et al., 2012). Levando em consideração que dietas mais proteicas são mais onerosas e poluentes de alto impacto à natureza, devido à utilização de fontes nitrogenadas, a escolha dessa espécie para produção possibilita a utilização de dietas menos proteicas, sendo assim, mais econômicas e sustentáveis, atendendo aos anseios do mercado por pescado de custo acessível e com apelo ecológico, algo tão apreciado pelos consumidores na atualidade.

O pacu é uma espécie que apresenta maturação das gônadas entre os meses de julho e outubro, a fecundação é externa e a desova é total. A reprodução pode ocorrer de outubro a dezembro (estação chuvosa), mas principalmente em novembro. Nas fêmeas, a idade média da primeira maturação gonadal é de 3 anos, quando ela mede aproximadamente 34 cm (comprimento total) (URBINATI; GONÇALVES; TAKAHASHI, 2005).

Para melhor desenvolvimento dos animais, as condições ideais da água são: temperatura em torno de 26 °C e pH ligeiramente ácido. As principais características morfológicas do pacu são: cabeça relativamente pequena, corpo em forma de disco, escamas pequenas e numerosas, e dentes molariformes que podem quebrar pequenos frutos fibrosos e duros (FURUYA, 2001; URBINATI; GONÇALVES; TAKAHASHI, 2005).

2.2 Nutrição e metabolismo de peixes

Todos os organismos vivos necessitam de energia para os processos biológicos envolvidos tanto para manutenção como para produção. Os animais podem obter energia através da oxidação de compostos orgânicos após a digestão e absorção dos alimentos ingeridos ou pela quebra de reservas corporais (proteínas, gorduras e glicogênio) (KAUSHIK; MÉDALE, 1994).

Os alimentos são constituídos por água, proteínas, carboidratos, vitaminas, lipídeos e sais minerais. Para que esses constituintes sirvam de combustíveis para os peixes, devem ser assimilados pelo organismo no trato digestório, através da digestão e absorção. Alguns componentes dos alimentos apresentam resistência à digestão, não são absorvidos pelo organismo e, então, são excretados como material fecal (BUREAU; KAUSHIK; CHO, 2002).

As exigências nutricionais podem variar de acordo com as espécies de peixes, já que a morfologia, a anatomia funcional e a fisiologia digestiva podem variar bastante de acordo com cada espécie (GONÇALVES et al., 2013). Além dos lipídeos serem uma importante fonte de energia para os peixes, são de fundamental importância para economizar proteína, para que seja utilizada para o crescimento do animal, sendo assim, vale ressaltar a importância de que sejam realizados mais estudos à respeito das exigências energéticas de cada espécie de peixe (PORTZ; FURUYA, 2013).

O fígado secreta emulsificadores que são carregados pela bile até o intestino e auxiliam na digestão de lipídeos (WEATHERLEY; GILL, 1987). Nos peixes, esse órgão apresenta funções similares a dos vertebrados superiores, pois é bem desenvolvido, com abundante secreção de bile e anatomia que varia de acordo com o táxon. A exemplo de algumas aves, algumas espécies de peixes apresentam um aumento de tamanho deste órgão, que passa a exercer uma função adipogênica. Histologicamente, em comparação ao fígado de mamíferos, o fígado de peixes não apresenta lóbulos (GUILLAUME; CHOUBERT, 2001).

Destaca-se ainda que o catabolismo das bases nitrogenadas ocorra principalmente no fígado. Somente as purinas são convertidas pelas enzimas guanase e xantina oxidase a ácido úrico e urato de sódio, produtos muito pouco solúveis e, na ausência destas enzimas, não se forma o ácido úrico. Isto contrasta com o metabolismo das bases pirimidínicas que resultam em produtos finais altamente solúveis e são excretadas na forma de amônia, b-alanina e ácido b-aminoisobutírico, não causando problemas (MARTIN JR., 1982).

Segundo Walton (1988), a excreção nitrogenada tem sido vastamente estudada em peixes e foi demonstrado que entre 60 a 90 % do nitrogênio excretado está na forma de amônia,

sendo o fígado o principal órgão de formação. Outros tecidos como rins e músculo têm menor importância na formação de NH_3 . Cerca de 90% desta substância é excretada pelas brânquias, sendo as vias urinárias menos representativas.

Tacon e Cooke (1980) avaliaram os efeitos do fornecimento de extrato de ácido nucleico comparável a diferentes níveis de proteína unicelular na dieta para truta (*O. mykiss*). Não foi observada diferença ($P>0,05$) aparente entre os tratamentos em termos de índice hepatossomático e valor de hematócrito. Foi detectado aumento ($P<0,05$) na concentração de ureia plasmática e atividade da uricase do fígado de trutas que receberam dieta com maior concentração de ácidos nucleicos, comparado com os peixes da dieta controle. A alta digestibilidade aparente das rações suplementadas com ácido nucleico e o aumento concomitante da ureia plasmática e atividade de uricase do fígado levaram os autores a supor que o extrato de ácidos nucleicos estava sendo assimilado e metabolizado pelos peixes a produtos finais de excreção, não resultando em nenhum ganho de nitrogênio aos animais.

O fígado possui estruturas típicas do pâncreas como ductos pancreáticos e ilhotas de Langerhans rodeadas por hepatócitos com tríade portal perfeita. Isso caracteriza o órgão como hepatopâncreas (SUÁREZ et al., 1995). Alguns peixes de água doce possuem hepatopâncreas, como as carpas, tilápias e trutas arco-íris. A área de transição com paredes musculares espessas é delimitada entre dois esfíncteres (WOOTTON, 1990). A comunicação com o ducto pancreático do hepatopâncreas pode ser o ducto coletor do fígado, descrito por Brito (1981), que conduziria as enzimas do hepatopâncreas à área de transição. O esfíncter pilórico impediria o retorno do suco digestivo ao estômago. O epitélio gástrico impede a ação autolítica das proteases. Os extratos obtidos a partir desses órgãos revelam alta atividade hidrolítica das miofibrilas, indicando a presença de enzimas proteolíticas nesses locais.

Vale também descrever a importância do pâncreas, que está diretamente relacionado ao fígado. As secreções enzimáticas liberadas pelo pâncreas extravasam pelo ducto biliar para a luz do intestino. Essas mesmas secreções incluem o bicarbonato, cuja função é neutralizar o quimo ácido e zimogênios, cujas enzimas digerem proteínas, polissacarídeos, lipídeos, quitina e nucleotídeos (GUILLAUME; CHOUBERT, 2001).

Como o pâncreas é a fonte mais provável de produção de enzimas, sua natureza difusa em muitas espécies de teleósteos se torna um problema na localização da fonte precisa destas secreções. Em vertebrados superiores, o trato digestório, o fígado e o pâncreas são considerados os principais órgãos endócrinos. Existem glândulas endócrinas secretoras de colecitoquinina, gastrina, glucagon na parede do trato digestório de peixes, mas como o estudo sobre a

endocrinologia deste grupo é recente, a importância e o papel destas secreções hormonais permanecem pouco elucidados (GUILLAUME; CHOUBERT, 2001).

2.2.1 Lipídeos e ácidos graxos

Os lipídeos exercem importante papel na qualidade dos alimentos, já que contribuem com atributos como textura, sabor e densidade calórica (MCCLEMENTS; DECKER, 2010). São quimicamente diferentes entre si e, por isso, as funções biológicas também são bem diversificadas, mas apresentam uma característica em comum: a insolubilidade ou pouca solubilidade em água (LEHNINGER; NELSON; COX, 2006).

Como a composição e conteúdo dos lipídeos nos alimentos pode variar consideravelmente, alterações podem ser feitas em busca de garantir um alimento de alta qualidade, mas é necessário conhecimento amplo das suas propriedades físicas e químicas. Essas alterações podem modificar a textura do alimento, a composição de ácidos graxos e colesterol, diminuir o conteúdo total de gordura ou até mesmo alterar a sua biodisponibilidade, contribuindo assim para melhor estabilidade do lipídeo diante da oxidação (MCCLEMENTS; DECKER, 2010).

Dependendo do seu estado físico, os lipídeos podem ser considerados como gordura, quando em estado sólido, ou como óleo, quando em estado líquido (MCCLEMENTS; DECKER, 2010). Em diversos organismos, essas são as principais formas de armazenagem de energia (LEHNINGER; NELSON; COX, 2006). Em relação à estrutura, os lipídeos podem ser classificados como: triacilgliceróis, ácidos graxos esterificados, fosfoglicerídeos, esfingolipídeos e esteróis. Todas as classes de lipídeos contêm uma ou mais moléculas de ácidos graxos, em associação química com álcool, aminoácidos, fosfato ou açúcares, com exceção do colesterol, pois não apresenta ácidos graxos na sua estrutura (SARGENT; TOCHER; BELL, 2003).

Os ácidos graxos são compostos que contêm uma cadeia alifática e um grupo ácido carboxílico e são os principais constituintes dos lipídeos. Podem ser encontrados na natureza, em sua maioria na forma linear e apresentando entre 14 e 24 átomos de carbono. Além disso, devido ao processo biológico de alongamento de cadeia, o número de carbonos é par, em sua maioria, já que dois átomos de carbono são adicionados por vez. E sua classificação é de acordo com a existência ou não de ligações duplas, considerados saturados, quando não apresentam ligações duplas ou insaturados quando apresentam (MCCLEMENTS; DECKER, 2010).

Os ácidos graxos podem ser monoinsaturados, quando apresentam apenas uma ligação dupla ou poli-insaturados, quando apresentam duas ou mais ligações duplas. Na maioria dos ácidos graxos poli-insaturados, as ligações duplas são separadas por um carbono metilênico, ou seja, não são conjugadas. Isso faz com que a diferença entre uma ligação dupla da outra seja de três carbonos (p. ex. 9, 12, 15 octadecatrienoico). Diante disso, no sistema de abreviação numérica, costuma-se apresentar apenas a quantidade de ligações duplas e a posição da primeira, já que é possível prever a posição das demais (MCCLEMENTS; DECKER, 2010).

Outro fator importante para a nomenclatura dos ácidos graxos insaturados é a isomeria geométrica “cis-trans” e está relacionada à posição espacial dos átomos de hidrogênio na ligação dupla. Nos ácidos graxos com ligações duplas “cis” os dois átomos de hidrogênio estão no mesmo plano, diferente das ligações duplas “trans”, pois os átomos de hidrogênio encontram-se em lados opostos (MCCLEMENTS; DECKER, 2010).

Devido à disposição dos átomos de hidrogênio no mesmo plano, a configuração dos ácidos graxos “cis” são mais curvadas que os ácidos graxos “trans”, pois diminui o número de interações de Van der Waals entre as cadeias (LEHNINGER; NELSON; COX, 2006). Sendo assim, quanto mais ligações duplas forem adicionadas aos ácidos graxos “cis”, mais fracas ficam as interações de Van der Waals e a sua configuração vai se tornando cada vez mais curvada, diminuindo o seu ponto de fusão e, conseqüentemente, sua estabilidade (MCCLEMENTS; DECKER, 2010). Com menor ponto de fusão, os ácidos graxos “cis” necessitam de aplicação de uma quantidade menor de energia térmica para promover a desorganização desses arranjos de ácidos graxos insaturados (LEHNINGER; NELSON; COX, 2006).

Na natureza, a maioria dos ácidos graxos apresenta ligações duplas “cis”, enquanto que os ácidos graxos “trans” podem ser encontrados em grandes quantidades em gorduras que passaram por processos artificiais. As “gorduras trans”, como são conhecidos esses ácidos graxos, são prejudiciais à saúde, já que estão relacionados com o aumento dos níveis de LDL (colesterol ruim) e diminuição de HDL (colesterol bom) no sangue. Portanto, é recomendável que as pessoas evitem o consumo alimentar exagerado desse tipo de gordura (LEHNINGER; NELSON; COX, 2006).

Os animais podem realizar o alongamento e a dessaturação de cadeias de ácidos graxos saturados (OLSEN, 2009), devido à presença de enzimas capazes de aumentar o número de carbonos (alongases) e o número de ligações duplas (dessaturases), resultando assim na biossíntese de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (TOCHER, 2010).

Porém, os animais não tem a capacidade de sintetizar ligações duplas n-3 e n-6, ou seja, insaturações no 3° e 6° átomo de carbono, também conhecidos como ômega-3 e ômega-6, respectivamente. Sendo assim, eles precisam adquirir esses ácidos graxos por meio da dieta, conhecidos como ácidos graxos essenciais (OLSEN, 2009). Seus metabólitos, AA (ácido araquidônico), EPA (ácido eicosapentanoico) e DHA (ácido docosahexanoico) são extremamente importantes, pois são os precursores das moléculas biologicamente ativas, necessárias para muitos processos fisiológicos (TOCHER, 2010).

Os lipídeos, assim como os carboidratos e as proteínas, são extremamente importantes na dieta dos animais, pois são combustíveis metabólicos utilizados para a obtenção de energia. Para os peixes, os lipídeos constituem a principal fonte de energia, liberando mais energia disponível quando comparados às proteínas e aos carboidratos (GLENCROSS, 2009).

São vários os fatores que podem influenciar no nível ótimo de lipídeos necessário para a dieta dos peixes, como a espécie e condições ambientais a que estão adaptados (água doce ou marinha; temperatura da água), seu hábito alimentar (carnívoro ou onívoro/herbívoro), a fase de desenvolvimento (larvas, juvenis, adultos ou reprodutores), a quantidade de proteínas e carboidratos presentes na dieta, devido às interações entre o metabolismo de lipídeos, carboidratos e proteínas (GARCIA et al., 2013), bem como a fonte lipídica a ser utilizada (ZHOU et al., 2014).

Todos os animais apresentam exigências nutricionais específicas, inclusive quanto ao consumo de ácidos graxos essenciais (AGE) (TOCHER, 2010). Na aquicultura, as exigências de AGE podem variar de acordo com as espécies, bem como, com as condições ambientais que os animais estão adaptados (água doce ou marinha). O consumo desses nutrientes é importante, pois pode influenciar positivamente no crescimento, reprodução, imunidade e, no caso de animais de produção, na qualidade do produto (GLENCROSS, 2009; TOCHER, 2010).

Os ácidos graxos mais importantes para a maioria das espécies da aquicultura são aqueles com ligações duplas no 3° e 6° átomos de carbono da cadeia, o ácido linolênico (LNA, 18:3n-3) e o ácido linoleico (LA, 18:2n-6c), bem como aqueles com cadeia longa (18-C, 20-C ou 22-C), o AA (20:4n-6), o EPA (20:5n-3) e o DHA (22:6n-3) (GLENCROSS, 2009). Nos peixes, o ácido graxo essencial mais importante para a maioria das espécies é o docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3), pois é o principal componente das membranas celulares e tecidos neurais desses animais (OLSEN, 2009).

Muitos estudos ainda precisam ser realizados para o melhor conhecimento das exigências para cada espécie, mas já existem estudos com alguns peixes de água doce, como, carpa comum, tilápia, bagre do canal, carpa capim, carpa prateada e tilápia-do-nilo, onde se

observa que as exigências de LA (18:2n-6c) e LNA (18:3n-3) podem variar de 0,5 a 2,7% dos ácidos graxos totais, (KANAZAWA et al., 1980; SATOH; POE; WILSON, 1989; TAKEUCHI et al., 1991; GLENCROSS, 2009; RODRIGUEZ, LORENZO, MARTÍN, 2009).

2.2.2 Exigências nutricionais e alimentação do pacu

O pacu é um peixe originário da Bacia do Prata, na América do Sul e é de grande interesse econômico, pois cresce muito rápido, mesmo em condições adversas, como variações no pH e teor de oxigênio dissolvido na água, além de ser bem aceito pelo mercado consumidor (DAL PAI et al., 2000; GELMAN et al., 2004). Sua alimentação, na natureza, pode variar de acordo com as condições do ambiente: na época das chuvas é baseada em folhas, sementes, frutos, flores e caules; já na seca, quando esses alimentos encontram-se em menores quantidades, alimentam-se também de insetos, crustáceos, moluscos e outros peixes (GELMAN et al., 2004).

Além da disponibilidade de alimento no ambiente, o hábito alimentar do pacu também é influenciado pelo processo de migração reprodutiva, caracterizando assim, uma espécie com sistema fisiológico-metabólico adaptado para o armazenamento e reaproveitamento de reservas energéticas, pois apresenta comportamento alimentar descontínuo e caracterizado por períodos de alta ingestão de carboidratos (GELMAN et al., 2004).

Vários estudos foram realizados testando diferentes níveis de PB em dietas para juvenis de pacu (FERNANDES; CARNEIRO; SAKOMURA, 2001; ABIMORAD; CARNEIRO, 2007; MUÑOZ-RAMÍREZ; CARNEIRO, 2008; SIGNOR et al., 2010). Porém, existe uma certa controvérsia na definição dos níveis de PB mais adequados para esta espécie, pois existem sugestões de níveis mais elevados, variando de 25 a 38 % de PB (MUÑOZ-RAMÍREZ; CARNEIRO, 2008; BICUDO; SADO; CYRINO, 2010; SIGNOR et al., 2010) ou menores, com dietas contendo 18 e 22% de PB (FERNANDES; CARNEIRO; SAKOMURA, 2001; ABIMORAD; CARNEIRO, 2007).

Em estudo realizado com diferentes fontes (farinha de peixe e farelo de soja) e níveis de proteína bruta (18, 22 e 26%) em dietas para juvenis de pacu, foi observado que as dietas contendo 22% de PB, além de não comprometer a composição corporal dos peixes, atendeu às suas exigências nutricionais, proporcionando assim, bom desempenho zootécnico (FERNANDES; CARNEIRO; SAKOMURA, 2001).

No entanto, ao avaliar diferentes níveis de proteína (22 e 25%), lipídeos (4 e 8%) e carboidratos (41, 46 e 50%) sobre o desempenho zootécnico de juvenis de pacu, Abimorad e

Carneiro (2007) verificaram que as dietas com 25% de PB resultaram em melhores taxas de conversão alimentar, ganho de peso, consumo da dieta e coeficiente de digestibilidade aparente. Sugerem, dessa forma, a utilização de 25% de PB nas dietas para o crescimento ideal de juvenis de pacu, desde que combinadas adequadamente aos níveis de lipídeos e carboidratos.

Muñoz-Ramírez e Carneiro (2008) observaram que juvenis de pacu apresentaram melhor desenvolvimento quando alimentados com dietas contendo 26% de PB e suplementadas com lisina. E Signor et al. (2010), ao avaliarem os efeitos de dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta (25, 30 e 35%) e energia digestível (3.250 e 3.500 kcal.kg⁻¹) sobre o desempenho de juvenis de pacu criados em tanques-rede, observaram que as dietas com 25% de PB e ED de 3.250 kcal.kg⁻¹ atenderam às exigências nutricionais dos animais e os resultados de desempenho não diferiram dos demais tratamentos, não havendo a necessidade de fornecer dietas com maiores níveis de PB.

A fonte energética para esses animais também pode apresentar diferentes níveis de lipídeos, uma vez que essa energia pode ser direcionada para o crescimento dos peixes, evitando o uso da proteína para essa função. Porém, segundo Abimorad e Carneiro (2007), os níveis proteicos não devem ser inferiores a 25% de proteína bruta (PB) ou 23% de proteína digestível (PD).

Bicudo, Sado e Cyrino (2010) determinaram que para o pacu, os melhores resultados para ganho de peso foram obtidos com níveis de 27% de PB na ração. Além disso, deve-se atentar para a relação ED:PB, fundamental para o melhor desempenho de juvenis de pacu, apresentando melhor desempenho em uma relação de 10,8 kcal/g PB.

Diante disso, quando comparado a outras espécies de peixes, o pacu apresenta baixa exigência de proteína na dieta, podendo representar menor custo na produção, já que a proteína é um dos ingredientes de maior custo. Além disso, pode representar menor impacto ambiental, uma vez que menos material nitrogenado será excretado. Porém, vale salientar que as exigências nutricionais do pacu, assim como de várias outras espécies, podem variar de acordo com vários fatores bióticos e ambientais, devendo ser levados em consideração para formular a dieta mais adequada (BICUDO; ABIMORAD; CARNEIRO, 2013).

Apesar do pacu não apresentar alta exigência proteica na dieta, é importante ressaltar que a mistura de aminoácidos deve ser adequadamente balanceada (BICUDO; ABIMORAD; CARNEIRO, 2013). Para juvenis dessa espécie, as dietas à base de proteínas vegetais suplementadas com lisina provocaram redução do catabolismo proteico muscular e maior crescimento (ABIMORAD et al., 2014). A lisina quando associada com a metionina, além de promover crescimento satisfatório dos peixes, proporcionou redução das liberações de

nitrogênio para o ambiente (ABIMORAD et al., 2009). Recomenda-se a utilização de 16,1 g de lisina digestível/kg da ração, pois proporciona melhoria significativa no ganho de peso, taxa de crescimento específico, valor produtivo da proteína, taxa de eficiência proteica e conversão alimentar aparente (ABIMORAD et al., 2010).

A suplementação de vitamina E na dieta melhora o mecanismo de resposta inflamatória em pacus, devido ao aumento da atividade cinética dos macrófagos (BELO et al., 2005) e quando combinada com a vitamina C, contribui para a proteção dos eritrócitos, recomendando-se a suplementação de 500 mg/kg de ração de vitamina C e de 250 mg/kg de ração de vitamina E para juvenis de pacu (GARCIA et al., 2007).

É de fundamental importância o conhecimento do nível de aproveitamento dos ingredientes a serem utilizados na ração, através de estudos de energia e digestibilidade, proporcionando melhores resultados no balanceamento da dieta (ABIMORAD; CARNEIRO, 2004). Além disso, se os níveis de proteína e energia da dieta forem inadequados podem levar ao aumento do custo de produção (BICUDO; SADO; CYRINO, 2010).

2.3 Óleo de gergelim e ácido alfa-lipoico

Por apresentar cerca de 50% de óleo em sua composição, a semente de gergelim (*Sesamum indicum*) é considerada uma importante semente oleaginosa, tanto para a extração de óleo quanto pelas suas propriedades benéficas à saúde humana (SIRATO-YASUMOTO et al., 2001; BEDIGIAN, 2010). Além disso, o óleo de gergelim é conhecido por apresentar elevada estabilidade oxidativa, devido às propriedades antioxidantes dos compostos bioativos em sua composição, como sesamina, tocoferóis e, principalmente, sesamol, sintetizado a partir da sesamolina (KOCHHAR, 2002). As lignanas presentes no óleo de gergelim apresentam em comum o átomo de carbono ligado a dois átomos de oxigênio, por meio de ligações covalentes simples (Figura 1) (NAMIKI, 2007).

Além de ser utilizado como fonte lipídica em diversos alimentos, o óleo de gergelim está sendo muito utilizado em cosméticos, devido às propriedades antioxidantes (BEDIGIAN, 2010).

Figura 1 – Estrutura molecular da sesamina.

Fonte: ÁLVAREZ, J. C. Aislamiento, purificación e identificación de sesamina a partir de lodos de microfiltrado en la fabricación del aceite virgen de *Sesamum indicum* L. (ajonjolí). **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 36, n 1, p. 5-10, 2007.

Quando associada à alimentação rica em alfa-tocoferol, a sesamina provocou a redução da concentração de colesterol ruim no sangue de ratos (ROJI et al., 2011). E quando associada à alimentação rica em fosfolipídeos de soja, a sesamina provocou a redução dos níveis de triacilgliceróis no sangue desses animais (IDE, 2014).

Um estudo realizado com salmão-do-atlântico, alimentados com dietas de diferentes proporções de sesamina [S0: sem sesamina; SL: pouca sesamina (1,16 g/kg da ração); SH: muita sesamina (5,8 g/kg da ração)], visou avaliar o efeito desta substância no perfil metabólico do fígado e do músculo branco nos peixes. Nos peixes de menor peso corporal, alimentados com a dieta SH, ocorreu o aumento dos níveis de alguns metabólitos (glicose, glicogênio, lactato, valina, leucina, creatina), sugerindo que a sesamina pode estar relacionada com o metabolismo energético dos peixes, principalmente no metabolismo do fígado e do músculo branco nesses animais (WAGNER et al., 2014).

Em estudo com peixes juvenis de perca-gigante (*Lates calcarifer*), observou-se um aumento de mais de 25% dos níveis de ômega 3 nos lipídeos totais e uma redução dos níveis de triacilgliceróis nos animais alimentados com dieta rica em sesamina, sugerindo que a sesamina é um modelador em potencial para a biossíntese de AGPI nesses animais (ALHAZZAA et al., 2012).

O ácido alfa-lipoico (AAL), ou 1,2 ditiolano-3-pentanoico, de fórmula molecular $C_8H_{14}O_2S_2$ (Figura 2), é um ácido graxo com dois átomos de enxofre ligados por uma ponte dissulfeto entre os carbonos 6 e 8 (PACKER; WITT; TRITSCHLER, 1995). O AAL pode ser encontrado em folhas verdes (espinafre, brócolis), batata, cevada, germe de trigo, carne vermelha (PORTELA et al., 2014) e é sintetizado por animais e humanos, embora o processo de síntese ainda não seja totalmente conhecido (PACKER; WITT; TRITSCHLER, 1995).

Figura 2 – Estrutura molecular do ácido alfa-lipoico.

Fonte: BOLOGNESI, M. L.; BERGAMINI, C.; FATO, R.; OIRY, J.; VASSEUR, J. J.; SMIETANA, M. Synthesis of New Lipoic Acid Conjugates and Evaluation of Their Free Radical Scavenging and Neuroprotective Activities. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 83, p. 688-696, 2014.

O AAL, bem como a sua forma reduzida, o ácido dihidrolipoico (DHLA) (Figura 3), possuem importantes aplicações terapêuticas, pois apresentam propriedades antioxidantes, neuroprotetoras e anti-inflamatórias (HOLMQUIST et al., 2007).

Figura 3 – Estrutura molecular do ácido dihidrolipoico, forma reduzida do ácido alfa-lipoico.

Fonte: BOLOGNESI, M. L.; BERGAMINI, C.; FATO, R.; OIRY, J.; VASSEUR, J. J.; SMIETANA, M. Synthesis of New Lipoic Acid Conjugates and Evaluation of Their Free Radical Scavenging and Neuroprotective Activities. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 83, p. 688-696, 2014.

O AAL e o DHLA são conhecidos como “antioxidantes universais”, pois, além de ter a capacidade de conservar outros antioxidantes, são capazes de inibir geradores de espécies reativas de oxigênio e eliminar uma variedade de espécies reativas de oxigênio, podendo atuar tanto na membrana como na fase aquosa da célula (PACKER; WITT; TRITSCHLER, 1995). A capacidade antioxidante desses compostos está localizada no grupo tiol (composto organossulfurado que contém um grupo -SH), que reage diretamente com os radicais oxidantes (GONZALEZ-PEREZ; GONZALEZ-CASTANEDA, 2006).

Estudos apontam que a utilização do AAL pode proporcionar benefícios terapêuticos, atuando em diversas doenças, como: intoxicação por metais pesados, doenças neurodegenerativas, danos pela radiação, diabetes, doença hepática gordurosa não-alcoólica, Alzheimer, hiperfenilalaninemia, bem como, prevenção contra doenças cardiovasculares (SMITH et al, 2004; WOLLIN et al., 2004; HOLMQUIST et al., 2007; MACZUREK et al., 2008; YANG et al., 2008; LOBATO et al., 2013; AJITH et al., 2014; BAO et al., 2014; MONSERRAT et al., 2014; MORAES et al., 2014; SHINTO et al., 2014).

A suplementação da dieta de ratos com AAL promoveu redução nos níveis de lipídeos no sangue e melhorou a capacidade antioxidante e a atividade da lipase lipoproteica (YANG et al., 2006). Além disso, induziu a diminuição da peroxidação lipídica, redução do colesterol e de triacilgliceróis no sangue dos animais. Análises de DNA do fígado dos animais mostraram que a ingestão de AAL regulou a expressão de genes relacionados com a β -oxidação (via de oxidação dos ácidos graxos). Sendo assim, o AAL pode prevenir o nível exagerado de lipídeos no sangue pela modulação do metabolismo lipídico, especialmente devido ao aumento da β -oxidação e da redução dos níveis da síntese de colesterol, bem como reduzir o estresse oxidativo (YANG et al., 2008).

Além dos efeitos benéficos proporcionados pelo ácido alfa-lipoico, Cremer et al. (2006) observaram que a suplementação com esse composto em dietas para ratos, durante 4 semanas, nas proporções de 31,6 e 61,9 mg/Kg de peso corporal/dia, não produziram efeitos tóxicos nos animais e não promoveram grandes alterações quando comparado ao grupo de animais alimentado com a dieta controle (0 mg/Kg de peso corporal/dia). Esses tratamentos apresentaram resultados semelhantes em ganho de peso, consumo alimentar, composição química e do sangue, bem como no comportamento dos animais. Porém, quando a suplementação de AAL foi de 121 mg/Kg de peso corporal/dia, verificou-se pequenas alterações no fígado e nas enzimas do fígado (CREMER et al., 2006).

Em juvenis de pacu alimentados com dietas suplementadas com AAL (1000 mg/kg da ração) e/ou ácido ascórbico (500 mg AA/kg da ração) observou-se que os níveis do ácido eicosapentaenoico (20:5n-3, EPA) aumentaram significativamente nos músculos, mas de forma não significativa no cérebro, sugerindo, assim, que o cérebro desses animais é pouco influenciado pela suplementação dessa substância na dieta, fato que pode ser explicado pela possível reação de defesa desses animais a mudanças ambientais (TRATTNER et al., 2007).

A suplementação de ácido alfa-lipoico com vitamina E na nutrição humana pode melhorar o desempenho do coração, mesmo após um ataque cardíaco, além de atuar na prevenção de doenças que tenham o processo oxidativo como principal fonte de danos, tais como: isquemia cardíaca e cerebral, neuropatia diabética, processo de envelhecimento ou doença de Alzheimer. Portanto, dietas ou suplementos comerciais enriquecidos com estes dois antioxidantes específicos podem ser benéficos para pessoas com diabetes, hipertensão, arritmias cardíacas ou isquemia cardíaca, que têm um risco significativo de desenvolver complicações devastadoras relacionadas à superprodução de radicais livres de oxigênio. No entanto, são necessários estudos adicionais para estabelecer o potencial terapêutico dessa combinação em seres humanos (GONZALEZ-PEREZ; GONZALEZ-CASTANEDA, 2006).

Sendo assim, a suplementação com AAL pode ser benéfica e não promover grandes alterações no organismo dos animais, porém, ainda devem ser conduzidos mais estudos para verificar as proporções adequadas e os benefícios proporcionados para cada espécie.

3 HIPÓTESES, OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

3.1 Hipóteses

Para esta tese de doutorado, foram formuladas as seguintes hipóteses:

H₀: Os compostos sesamina e AAL, fornecidos por meio de óleo de gergelim e na forma pura, respectivamente, não promoverão alterações no desempenho dos juvenis de pacu, bem como, no metabolismo de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) e na composição química dos filés dos peixes.

H₁: Os compostos sesamina e AAL, fornecidos por meio de óleo de gergelim e na forma pura, respectivamente, promoverão alterações no desempenho dos juvenis de pacu, bem como, no metabolismo de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) e na composição química dos filés dos peixes.

3.2 Objetivo geral

O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos de dois modificadores metabólicos, a sesamina, presente no óleo de gergelim, e ácido alfa-lipoico (na forma pura), em dietas de juvenis de pacu sobre parâmetros zootécnicos, perfil de ácidos graxos, composição química dos filés dos peixes e alterações histológicas no fígado.

3.3 Objetivos específicos

- Avaliar parâmetros zootécnicos (consumo total da dieta, ganho de peso individual, conversão alimentar, taxa de eficiência proteica, taxa de crescimento específico e taxa de sobrevivência) de juvenis de pacu alimentados por 90 dias com dietas contendo diferentes modificadores metabólicos, sesamina, presente no óleo de gergelim, e ácido alfa-lipoico, na forma pura (pó);
- Determinar o perfil de ácidos graxos nas rações experimentais, nos filés e fígados dos peixes após o período de alimentação;
- Avaliar o efeito da adição da sesamina e AAL sobre a composição química dos filés e histologia dos fígados dos peixes alimentados com as dietas experimentais, por 90 dias.

3.4 Justificativa

A espécie escolhida para a execução do projeto foi o pacu por ser uma espécie nativa e de grande importância na aquicultura brasileira. É um peixe rústico que apresenta ótimas características de adaptação às condições climáticas da região, hábito alimentar onívoro, com forte tendência a herbívoro, podendo representar menores custos na alimentação. Além disso, é uma espécie que cresce rapidamente, com carne de excelente qualidade e de boa aceitação no mercado, sendo assim de grande interesse econômico e de pesquisa para o país.

O ineditismo do trabalho foi avaliar a associação de dois importantes compostos bioativos, sesamina e ácido alfa-lipoico, sobre parâmetros zootécnicos, perfil de ácidos graxos, composição química dos filés de juvenis de pacu e alterações histológicas no fígado. A associação da sesamina com o ácido alfa-lipoico foi proposta devido à verificação de alguns estudos onde tais compostos influenciaram positivamente no perfil de ácidos graxos dos peixes e em outras variáveis, porém de forma separadas. Sendo assim, foi proposto um trabalho no qual esses compostos pudessem ser fornecidos associados em uma mesma dieta.

4 MATERIAL E MÉTODOS

As rações experimentais foram extrusadas no setor de Piscicultura da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP). O experimento de desempenho foi realizado na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA, Pirassununga-SP). As análises de determinação de sesamina e AAL foram realizadas no Laboratório de Produtos Funcionais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, da Universidade de São Paulo (FZEA/USP). As análises de composição química foram realizadas nos Laboratórios de Aquicultura e de Bromatologia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, da Universidade de São Paulo (FZEA/USP). As análises de perfil de ácidos graxos foram realizadas pela empresa CBO Análises Laboratoriais, localizada em Campinas-SP. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEUA) da FZEA (Nº 5451281015) (Anexo A).

4.1 Delineamento experimental

Foi realizado um experimento fatorial (3x2), sendo três fontes de óleo (óleos de soja, linhaça e gergelim), com ou sem ácido alfa-lipoico (0 e 0,1%) e quatro repetições em delineamento experimental inteiramente casualizado, totalizando 6 tratamentos que foram distribuídos em 24 unidades experimentais. Cada tratamento correspondeu a uma dieta experimental conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Quantidade (em %) das diferentes fontes lipídicas e níveis de AAL nas dietas de juvenis de pacu.

Tratamentos	OS	OG	OL	AAL
T1 (OS)	5	0	0	0
T2 (OG/OL)	0	2,5	2,5	0
T3 (OL)	0	0	5	0
T4 (OS/AAL)	5	0	0	0,1
T5 (OG/OL/AAL)	0	2,5	2,5	0,1
T6 (OL/AAL)	0	0	5	0,1

OS: óleo de soja; OG: óleo de gergelim; OL: óleo de linhaça; AAL: ácido alfa-lipoico;

Fonte: Própria autoria.

As dietas experimentais foram formuladas com adição de 5 % de lipídios em sua composição. O óleo de soja foi utilizado como fonte de AGPI n-6, o óleo de gergelim além de ser fonte de AGPI n-6, contém sesamina, lignana de interesse do presente estudo, e o óleo de

linhaça foi utilizado como fonte de AGPI n-3. Com o intuito de avaliar o efeito de dietas com diferentes fontes de AGPI, foram formuladas dietas contendo apenas fonte de AGPI n-6 (T1 e T4), dietas contendo fontes de AGPI n-6 e n-3 (T2 e T5) e dietas contendo apenas fontes de AGPI n-3 (T3 e T6). Além disso, para avaliar o efeito da adição do ácido alfa-lipoico, foram formuladas dietas sem AAL (T1, T2 e T3) e com AAL (T4, T5 e T6), na proporção de 0,1 % de AAL (TRATTNER et al., 2007).

4.2 Dietas experimentais

As análises referentes à composição química dos ingredientes (Tabela 2) e das dietas experimentais (Tabela 3) foram realizadas em triplicata, seguindo a metodologia da *Association of Official Analytical Chemists International* (AOAC, 2000):

- Matéria seca (MS): obtida por secagem a 105 °C em estufa, durante 4 horas;
- Proteína bruta (PB): obtida pelo método de micro-Kjeldahl, após digestão ácida (N x 6,25);
- Extrato etéreo (EE): determinado por extração através do aquecimento do éter de petróleo no aparelho de Soxhlet, durante 6 horas;
- Matéria mineral (MM): obtida por incineração em mufla a 550 °C, durante 4 horas;
- Energia bruta (EB): determinada em bomba calorimétrica.

Tabela 2 – Composição química (base seca) (média±desvio-padrão) dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais para juvenis de pacu.

Ingredientes (g.100 g ⁻¹)	MS	PB	EE	MM
Farelo de Soja	88,93±0,07	50,75±0,77	2,20±0,06	7,79±0,04
Farelo de Trigo	90,29±0,06	18,45±0,13	4,08±0,23	5,54±0,13
Amido de milho	89,47±0,15	0,94±0,03	0,94±0,07	0,42±0,32
Milho moído	89,25±0,14	9,48±0,17	4,56±0,19	1,30±0,07
Protenose	92,17±0,03	73,49±0,52	3,07±0,29	2,17±0,10
Quirera de arroz	89,27±0,17	9,05±0,32	1,34±0,27	0,56±0,14

MS: matéria seca; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; MM: matéria mineral.

Fonte: Própria autoria.

Com os resultados obtidos das análises de composição química dos ingredientes foram formuladas as dietas experimentais isoproteicas (22% de PB) e isoenergéticas (4.200 kcal.kg⁻¹ de EB) usando a matriz do programa “*Solver*” do programa Excel (Tabela 3).

Tabela 3 – Composição percentual das dietas experimentais para juvenis de pacu.

Ingredientes (g.100 g⁻¹)	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Óleo de soja	5	0	0	5	0	0
Óleo de gergelim	0	2,5	0	0	2,5	0
Óleo de linhaça	0	2,5	5	0	2,5	5
Ácido alfa-lipoico	0	0	0	0,10	0,10	0,10
Protenose	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Farelo de Soja	24,65	24,65	24,65	24,65	24,65	24,65
Farelo de Trigo	25,30	25,30	25,30	25,30	25,30	25,30
Quirera de arroz	11,44	11,44	11,44	11,44	11,44	11,44
Milho moído	25,75	25,75	25,75	25,75	25,75	25,75
Fosfato bicálcico	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Premix vitamínico e mineral ¹	1	1	1	1	1	1
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Amido de milho	4,21	4,21	4,21	4,21	4,21	4,21
Lisina	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
Areia (Inerte)	0,10	0,10	0,10	0	0	0

¹Composição do premix vitamínico e mineral: vit. A - 500.000 UI; vit. D3 - 250.000 UI; vit. E - 5.000 mg; vit. K3 - 500 mg; vit. B1 - 1.500 mg; vit. B2 - 1.500 mg; vit. B6 - 1.500 mg; vit. B12 - 4.000 mg; ácido fólico - 500 mg; pantotenato Ca - 4.000 mg; vit. C - 10.000 mg; biotina - 10 mg; Inositol - 1.000; nicotinamida - 7.000; colina - 10.000 mg; Co - 10 mg; Cu - 1.000 mg; Fe - 5.000 mg; I - 200 mg; Mn - 1500 mg; Se - 30 mg; Zn - 9.000 mg³; T1: óleo de soja; T2: óleo de gergelim+óleo de linhaça; T3: óleo de linhaça; T4: óleo de soja+ácido alfa-lipoico; T5: óleo de gergelim+óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico; T6: óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico.

Fonte: Própria autoria.

Para confecção das rações experimentais os ingredientes secos foram moídos, pesados, misturados e submetidos ao processo de extrusão (granulometria de 2 mm) utilizando extrusora com capacidade de processamento de 30 kg/hora (NX 30 Imbramaq, Ribeirão Preto-SP, Brasil), no Laboratório de Piscicultura da ESALQ – USP (Piracicaba-SP).

Após a extrusão, foram adicionados os óleos de soja, de linhaça e de gergelim, bem como o ácido alfa-lipoico nas devidas proporções de cada tratamento e homogeneizados. Nos tratamentos de 1 a 3, que receberam apenas os óleos, sem a adição do AAL, o óleo foi borrifado na ração, com o auxílio de uma pisseta, homogeneizada durante aproximadamente 15 minutos, em uma betoneira. Nos tratamentos de 4 a 6, o AAL foi adicionado e homogeneizado com o óleo de cada tratamento em suas devidas proporções e borrifado da mesma forma que os tratamentos 1 a 3 (Figura 4).

Figura 4 – (A) Diluição de AAL em óleo de gergelim e óleo de linhaça nas devidas proporções para adicionar na dieta experimental T5 (óleo de gergelim + óleo de linhaça + ácido alfa-lipoico - OG+OL+AAL); (B) Adição da solução de OG+OL+AAL na ração extrusada, homogeneizada com uma betoneira em movimento circular; (C) secagem (24 h) em estufa de ventilação forçada (50 °C); (D) ração à esquerda sem adição da solução de OG+OL+AAL e ração à direita da imagem com adição da solução de OG+OL+AAL.

Fonte: Própria autoria.

Após a adição do óleo, as dietas foram mantidas em estufa de ventilação forçada (55 °C por 24 h), para secagem. As dietas foram armazenadas em embalagens de polietileno e estocadas em freezer (-20 °C) até o momento de utilização. Pequenas porções foram distribuídas em recipientes de polietileno identificadas e mantidas sob refrigeração (4 °C) durante todo o período experimental.

4.3 Condições experimentais e peixes

Cerca de 1.200 juvenis de pacu foram doados pela Piscicultura Poletini, localizada no município Mogi Mirim-SP. Os peixes estavam em ótimas condições de saúde e foram acondicionados em embalagens de polietileno com a própria água dos tanques em que estavam adicionado de NaCl (cerca de 0,5%), com o intuito de evitar o estresse excessivo dos animais durante o transporte. Além disso, os funcionários da Piscicultura adicionaram oxigênio às embalagens (Figuras 5A, 5B e 5C).

Os peixes foram aclimatados em caixas de água de 5.000 L por 7 dias. Em seguida, ocorreram a seleção e a distribuição dos animais nas caixas experimentais (24), de forma a constituírem grupos homogêneos de indivíduos. Em cada caixa (57 cm de comprimento x 37 cm de largura x 31 cm altura), foram estocados 20 peixes. O nível da água foi mantido em 24 cm, portanto o volume de água em cada caixa foi de 50 L, com uma densidade de estocagem de 0,4 peixe/L.

Para evitar eventual fuga dos peixes, as caixas foram tampadas com telas. Para o refúgio dos peixes, foi colocado em cada caixa um tipo de esconderijo, feito com um pedaço de tela e faixas elaboradas a partir de embalagens de polietileno pretas. (Figuras 5D, 5E, 5F e 5G).

Figura 5 – Coleta, transporte e manejo dos juvenis de pacu. (A) Coleta; (B) Juvenis de pacu em embalagem de polietileno; (C) Adição de NaCl e oxigênio em embalagens de transporte; (D) Adição de NaCl em água para aclimação dos peixes; (E) Aeração da água para aclimação dos peixes; (F) Caixas identificadas onde foram distribuídos os peixes; (G) Detalhe do esconderijo feito e adicionado em cada caixa.

Fonte: Própria autoria.

O período de adaptação às instalações foi de sete dias, durante o qual foram alimentados com ração comercial (40% PB) até saciedade aparente. Após o período de sete dias de aclimação, os peixes ficaram 24 horas em jejum, para a realização da primeira biometria, antes do início do fornecimento das rações experimentais (Dia 0). Os peixes foram pesados individualmente ($3,35 \pm 0,78$ g) e distribuídos aleatoriamente nas 24 caixas, em sistema de recirculação de água com aquecedores com termostato e filtro biológico. Cada caixa correspondia a uma unidade experimental e periodicamente foram monitorados os seguintes parâmetros da água: amônia, nitrito, pH, temperatura e OD.

Os animais foram alimentados até saciedade aparente duas vezes ao dia (8:00 e 17:00), durante 90 dias (01 de junho a 01 de setembro 2015), com pontos de análise no início (Dia 0) e no final (Dia 90) do experimento. As unidades experimentais e os demais tanques do sistema de recirculação de água foram sifonados a cada dois dias e o material (lã de vidro) que coletava os resíduos físicos das unidades experimentais, lavados com água corrente.

Os parâmetros de qualidade da água avaliados foram: temperatura (T), oxigênio dissolvido (OD), potencial hidrogeniônico (pH), nitrito (NO_2^-) e amônia (NH_3). A temperatura foi avaliada constantemente com termômetro digital (Incoterm, Porto Alegre-RS, Brasil) com

registro de temperaturas mínimas e máximas diárias. Os demais parâmetros da água foram avaliados semanalmente durante todo o período experimental. O oxigênio dissolvido foi avaliado com oxímetro digital (YSI Pro2, Yellow Springs Instruments, Ohio, USA). Já o pH, nitrito e amônia tóxica foram mensurados diariamente através de kits (Labcon Test).

Foram realizadas duas biometrias individuais, uma antes de começar a fornecer as dietas experimentais (Dia 0) e outra no final do período experimental (Dia 90), com o objetivo de mensurar os parâmetros de desempenho dos pacus.

Na primeira biometria, os peixes foram insensibilizados com eugenol (20 mg/L). Na segunda biometria, os peixes foram imersos em dose letal (250 mg/L) de benzocaína (BRASIL, 2013). Foram filetados seis peixes por unidade experimental e os filés de cada peixe foram armazenados congelados separadamente em embalagens de polietileno e estocados em freezer (-20 °C) para análises posteriores.

4.4 Desempenho zootécnico

A alimentação foi fornecida à vontade duas vezes ao dia, até saciedade aparente dos peixes e o consumo da ração foi anotado semanalmente. Com os resultados obtidos, foi possível calcular os seguintes parâmetros zootécnicos: peso médio (PM), ganho de peso individual (GPI), consumo da dieta (CD), conversão alimentar (CA), taxa de eficiência proteica (TEP), taxa de crescimento específico (TCE) e taxa de sobrevivência (TS), conforme fórmulas descritas abaixo (NRC, 2013).

$$PM (g) = \frac{\text{biomassa total}}{\text{número de animais}}$$

$$GPI (g) = \text{peso final} - \text{peso inicial}$$

$$CD (g) = \text{Consumo total da dieta por unidade experimental}$$

$$CA = \frac{\text{Consumo da dieta (CD)}}{\text{Ganho de peso (GP)}}$$

$$TEP (\%) = \frac{\text{Ganho de peso individual (GPI)}}{(\text{CD} * \% \text{ PB da dieta})} * 100$$

$$\text{TCE (\%)} = \frac{(\log \text{ peso final} - \log \text{ peso inicial})}{\text{tempo (dias)}} * 100$$

$$\text{TS (\%)} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ peixes vivos} - \text{N}^\circ \text{ peixes mortos})}{\text{N}^\circ \text{ total de peixes}} * 100$$

4.5 Composição química dos filés de pacu

Para cada unidade experimental foram coletados aleatoriamente 3 peixes, filetados, armazenados em embalagens de polietileno, estocados em freezer (-20 °C) e mantidos congelados até o momento da análise.

As análises referentes à composição química dos filés dos peixes foram realizadas em triplicata, seguindo a metodologia da *Association of Official Analytical Chemists International* (AOAC, 2000):

- a) Umidade (U): obtida por secagem a 105 °C em estufa, durante 4 horas;
- b) Proteína bruta (PB): obtida pelo método de micro-Kjeldahl, após digestão ácida (N x 6,25);
- c) Extrato etéreo (EE): determinado por extração através do aquecimento do éter de petróleo no aparelho de Soxhlet, durante 6 horas;
- d) Matéria mineral (MM): obtida por incineração a 550 °C na mufla, durante 4 horas;

4.6 Análise de sesamina e ácido alfa-lipoico

A sesamina foi quantificada nos óleos de gergelim, de soja e de linhaça, nas rações experimentais e nos filés dos peixes. O ácido alfa-lipoico foi quantificado nas rações experimentais e nos filés dos peixes. As rações foram trituradas (almofariz de porcelana com 150 mm d.i.) e os filés foram finamente fatiados. As análises foram feitas por um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

4.6.1 Extração sólido-líquido

Nos testes preliminares da análise de sesamina e ácido alfa-lipoico, foram adequadas diferentes massas e volumes para cada tipo de amostra (Tabela 4).

Tabela 4 – Massa da amostra (g) e volume (mL) do reagente (metanol com 5% de ácido acético) para a extração da sesamina e ácido alfa-lipoico em diferentes amostras.

Amostra	Massa (g)	Volume (mL)
Óleo de gergelim	0,01	25,0
Óleo de soja	0,10	10,0
Óleo de linhaça	0,10	10,0
Ração	0,30	5,0
Filé de pacu	1,00	5,0

Fonte: Própria autoria.

As amostras foram pesadas em microtubo de 2 mL usando uma balança analítica (Adventurer, Hohaus, EUA). Após a adição da metade do volume do reagente (metanol com 5% de ácido acético), o microtubo foi agitado (AV-2, Gehaka, Brasil) por 20 segundos e mantido em banho ultrassônico (Ultracleaner 1400, Unique, Brasil) por 30 minutos. O microtubo foi centrifugado (5430R, Eppendorf, Alemanha) a 7800 rpm por 5 minutos (10 °C) e 750 microlitros do sobrenadante transferidos para um microtubo novo. A extração com metanol acidificado foi repetida mais uma vez e os sobrenadantes somados foram filtrados em membrana de nylon (13 mm d.i. e 0,45 micrômetros de tamanho de poro) para um frasco de 2 mL com tampa e septo para análise por cromatografia líquida.

4.6.2 Análise de sesamina

A sesamina foi determinada em condições analíticas adaptadas da metodologia descrita por Schwertner e Rios (2012). Foi utilizado um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (Prominence, Shimadzu, Japão) controlado por software LC Solution e equipado com bomba quaternária, degaseificador, injetor automático, compartimento termostatzado para coluna analítica e detector de fluorescência. A coluna analítica com fase estacionária de octadecilsilano (250mm de comprimento x 4,6mm de diâmetro interno e 4,6µm de diâmetro de partícula – Shimadzu, Shim-Pack VP-ODS, Japão) foi mantida a 35°C. Metanol e água ultrapura (Direct-Q UV3, Millipore, EUA) foram usados como fase móvel na proporção respectiva de 70:30 (v/v) com fluxo constante de 1,20 mL.min⁻¹ e 15 minutos de corrida. Injetou-se 10 µL das amostras usando o detector de fluorescência com excitação em 290nm e emissão em 315nm. A identificação foi realizada por comparação com o tempo de retenção (10,0 min) da substância padrão de sesamina (Sigma, Saint Louis, EUA). A quantificação foi realizada por padronização

externa a partir das áreas de diferentes concentrações da substância padrão preparadas entre 0,05 e 0,80 microgramas.mL⁻¹. A equação da regressão linear foi obtida pelo método dos mínimos quadrados com auxílio do software Excel (Windows, EUA). Os resultados foram expressos em microgramas de sesamina por grama de amostra.

4.6.3 Análise de ácido alfa-lipoico

O ácido lipoico foi determinado em condições analíticas adaptadas da metodologia descrita por Durrani et al. (2010). Recorreu-se a um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (Prominence, Shimadzu, Japão) controlado por software LC Solution e equipado com bomba quaternária, degaseificador, injetor automático, compartimento termostatzado para coluna analítica e detector por arranjo de diodos. A coluna analítica com fase estacionária de octadecilsilano (250mm de comprimento x 4,6mm de diâmetro interno e 4,6µm de diâmetro de partícula –Shimadzu, Shim-Pack VP-ODS, Japão) foi mantida a 35°C. Água ultrapura acidificada com ácido fórmico (pH = 3,0) e acetonitrila foram usados como fase móvel na proporção respectiva de 55:45 (v/v) com fluxo constante de 1,00 mL.min⁻¹. Injetou-se 10 µL das amostras com detecção espectrofotométrica em 210nm e tempo total de corrida de 15 minutos. A identificação foi realizada por comparação com o tempo de retenção (8,6 min) da substância padrão do ácido alfa-lipoico (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). A quantificação foi realizada por padronização externa a partir das áreas de seis diferentes concentrações da substância padrão preparadas entre 10,0 e 60,0 microgramas.mL⁻¹. A equação da regressão linear foi obtida pelo método dos mínimos quadrados com auxílio do software Excel (Windows, EUA). Os resultados foram expressos em miligramas de ácido alfa-lipoico por 100 gramas de amostra.

4.7 Determinação do perfil de ácidos graxos

A determinação do perfil de ácidos graxos foi obtida por cromatografia gasosa em laboratório certificado (CBO Análises Laboratoriais, Campinas-SP, Brasil), segundo metodologias da AOAC (2005). As análises foram feitas nas rações experimentais e em filés e fígados dos peixes que receberam os tratamentos. Foram coletados filés e fígados de 3 peixes de cada caixa (24 caixas), totalizando 6 filés e 3 fígados por unidade experimental, e armazenados em freezer a -20 °C, até o momento da análise.

Para cada extração da gordura foram pesados 20 gramas de amostras, de acordo com a metodologia de Bligh e Dyer (1959), seguidas das etapas de saponificação, esterificação e obtenção dos perfis de ácidos graxos, por metodologia da AOAC (2005). O padrão interno utilizado foi o ácido graxo C11:0 e a metilação foi realizada pela reação com trifluoreto de boro (BF₃) em metanol.

Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram analisados em cromatógrafo gasoso (Thermo Scientific Focus GC, Milão, Itália) equipado com detector de ionização de chama (GC-FID) e coluna capilar (SP2560) de 100 m x 0,25 mm. O cromatógrafo foi programado para seguir estas condições: 100 °C durante 4 minutos e a temperatura final (240 °C), à uma taxa de 3 °C por minuto. A temperatura do injetor foi de 225 °C e, do detector, de 285 °C, e o gás de arraste utilizado foi o gás hélio.

4.7.1 Índices de qualidade lipídica

Através dos dados de composição em ácidos graxos, foi determinada a qualidade nutricional da fração lipídica de filés de juvenis de pacu, calculados através de dois índices: aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT). Para tal avaliação, foram utilizados os seguintes cálculos (ULBRICHT; SOUTHGATE, 1991):

a) Índice de Aterogenicidade (IA)

$$IA = \frac{12:0 + (4 \times 14:0) + 16:0}{\sum n6 + \sum n3 + \sum AGM}$$

b) Índice de Trombogenicidade (IT)

$$IT = \frac{14:0 + 16:0 + 18:0}{(0,5 \times \sum AGM) + (0,5 \times \sum n6) + (3 \times \sum n3) + \left(\frac{\sum n3}{\sum n6}\right)}$$

4.8 Histologia dos fígados

Para a análise histológica, foram coletados fígados dos juvenis de pacu após o período de adaptação e antes do período experimental, ou seja, que se alimentaram apenas de ração comercial, para servir de referência para os grupos experimentais. Após o período de

alimentação, foram coletados os fígados de três peixes por unidade experimental e armazenados congelados a -20 °C para posterior análise.

Após o descongelamento, as amostras de tecido foram fixadas em Bouin, por 24 horas e, em seguida, conservadas em álcool 70% até o processamento. Foram feitos os blocos com as amostras em parafina e realizados cortes histológicos através de um micrótomo, com espessura de cinco μm .

Para avaliar a morfologia das estruturas ao microscópio de luz e mensurar a área de mucosa epitelial, os cortes histológicos foram desparafinados, reidratados, segundo métodos histológicos de rotina e submetidos à coloração com hematoxilina e eosina (BANCROFT; GAMBLE, 2008). As lâminas foram fotografadas utilizando-se microscópio óptico de luz (Carl Zeiss, Alemanha) acoplado à câmera digital e analisadas com o auxílio do programa Axio Vision 4.1.

4.9 Análise estatística

Trata-se de experimento fatorial 3x2, com três níveis do fator óleo (OS: óleo de soja; OG: óleo de gergelim; OL: óleo de linhaça) e dois níveis do fator AAL (Sem e Com), em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições para as biometrias, características de desempenho zootécnico e de caracterização química dos filés e duas repetições para as características de perfil de ácidos graxos dos filés, ácidos graxos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA), poli-insaturados (AGPI), ômega 3 (AGPI n-3), ômega 6 (AGPI n-6), razão AGPI n-6/n-3 e índices de qualidade lipídica (aterogenicidade e trombogenicidade).

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando-se o Programa estatístico *Statistic Analysis System* (SAS, 2011), versão 9.3, por análise de variância ANOVA e diferenças significativas foram verificadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Nas análises de variância utilizou-se o proc glm do SAS(R), com posterior uso de contrastes ortogonais para comparar (i) o efeito do óleo de soja versus demais óleos e (ii) o efeito da adição do óleo de gergelim na presença do óleo de linhaça. Todas as pressuposições do modelo estatístico foram verificadas utilizando-se o SAS/LAB do SAS(R). Quando a pressuposição de homogeneidade de variância foi rejeitada, utilizou-se o proc glimmix associando variâncias diferentes a cada tratamento. Quando as pressuposições foram satisfeitas, utilizou-se o proc glm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Dietas experimentais

As dietas experimentais foram formuladas para serem isoproteicas (22% de PB) e isoenergéticas (4.200 kcal.kg⁻¹ de EB) (Tabela 5) e diferiram apenas nas proporções de óleo de soja, óleo de gergelim, óleo de linhaça, ácido alfa-lipoico e areia (material inerte, utilizado nos tratamentos sem ácido alfa-lipoico).

Tabela 5 – Composição química (base seca) (média±desvio-padrão) das dietas experimentais para juvenis de pacu.

Variáveis	T1	T2	T3	T4	T5	T6
MS (%)	90,38±0,08	90,81±0,78	90,43±0,02	90,86±0,73	90,42±0,84	91,14±0,36
PB (%)	22,23±0,56	22,28±0,87	22,15±0,15	22,21±0,29	22,35±0,24	22,20±0,19
EE (%)	5,07±0,17	5,02±0,20	5,02±0,07	5,06±0,30	5,05±0,04	5,02±0,12
MM (%)	4,29±0,21	4,28±0,43	4,32±0,26	4,31±0,05	4,29±0,04	4,30±0,05
EB (kcal.kg ⁻¹)	4.202±0,18	4.201±0,06	4.205±0,01	4.204±0,26	4.202±0,15	4.202±0,43

MS: matéria seca; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; MM: matéria mineral; EB: energia bruta; T1: óleo de soja; T2: óleo de gergelim+óleo de linhaça; T3: óleo de linhaça; T4: óleo de soja+ácido alfa-lipoico; T5: óleo de gergelim+óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico; T6: óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico.
Fonte: Própria autoria.

Os valores de matéria seca das seis dietas experimentais variaram de 90,38 a 91,14%, proteína bruta, de 22,15 a 22,35%, extrato etéreo, de 5,02 a 5,07%, matéria mineral, de 4,28 a 4,32% e energia bruta, de 4.201 a 4.205 kcal.kg⁻¹.

5.2 Parâmetros de qualidade da água

Os valores médios observados para os parâmetros de qualidade da água (temperatura, oxigênio dissolvido, pH, nitrito e amônia tóxica), nas determinações efetuadas durante todo o período experimental (90 dias), não apresentaram variações acentuadas e mantiveram-se dentro dos níveis considerados adequados para o desenvolvimento dos peixes (URBINATI; GONÇALVES; TAKAHASHI, 2005), como pode ser observado na Tabela 6.

Tabela 6 - Parâmetros de qualidade da água do sistema de recirculação, onde os peixes permaneceram durante o período experimental (90 dias).

Variáveis	Mínimo	Máximo	Média	Desvio-padrão
T (°C)	26,0	27,4	26,47	0,30
OD (mg.L ⁻¹)	3,50	6,01	4,33	1,03
pH	6,20	6,80	6,42	0,20
NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹)	0,00	1,00	0,33	0,27
NH ₃ (mg.L ⁻¹)	0,00	1,00	0,37	0,29

T: temperatura; OD: oxigênio dissolvido; pH: potencial hidrogeniônico; NO₂⁻: nitrito; NH₃: amônia;
 Fonte: Própria autoria.

Apesar do experimento ter sido realizado nos meses mais frios da região (01 de junho a 01 de setembro de 2015), a média da temperatura da água das unidades experimentais apresentou-se adequada para os peixes tropicais, variando de 26,0 a 27,4 °C, pois foram utilizados aquecedores com termostato para manter constante a temperatura da água.

O teor médio de oxigênio dissolvido, durante o período experimental (90 dias), foi de 4,33 mg.L⁻¹, variando de 3,50 a 6,01 mg.L⁻¹. A média de oxigênio dissolvido foi diminuindo gradativamente ao longo do período experimental, mas sempre em níveis que atendessem as exigências dos peixes.

A média do potencial hidrogeniônico (pH) foi de 6,4, variando de 6,2 a 6,8 dentro dos limites recomendados para esta espécie. Os níveis de nitrito e amônia tóxica foram mensurados diariamente e o controle dessas substâncias foi feito através da limpeza constante das unidades experimentais e dos demais tanques do sistema de recirculação de água, os quais foram sifonados a cada dois dias e o material (lã de vidro) que coletava os resíduos físicos das unidades experimentais, lavados com água corrente. A média de nitrito e amônia foi de 0,33 e 0,37, respectivamente, variando de 0,00 a 1,00 mg.L⁻¹ durante todo o período experimental.

5.3 Desempenho zootécnico

Os dados de desempenho zootécnico, peso médio (PM), ganho de peso individual (GPI), consumo da dieta (CD), conversão alimentar (CA), taxa de eficiência proteica (TEP), taxa de crescimento específico (TCE) e taxa de sobrevivência (TS) são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Parâmetros de desempenho zootécnico (média±desvio-padrão) de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais, após 90 dias.

Variáveis	T1	T2	T3	T4	T5	T6
PM (g)	50,12±7,09	52,63±3,80	56,84±7,62	48,08±6,60	53,15±6,02	60,65±8,91
GPI (g)	46,85±7,04	49,11±3,67	53,49±7,75	44,72±6,51	49,89±5,92	57,33±8,92
CD (g)	66,84±9,91	71,06±8,08	74,62±8,98	65,78±9,06	68,92±7,55	75,22±9,20
CA	1,43±0,10	1,45±0,11	1,40±0,08	1,47±0,07	1,38±0,08	1,32±0,05
TEP (%)	3,16±0,22	3,12±0,23	3,23±0,19	3,06±0,14	3,24±0,18	3,42±0,13
TCE (%.dia ⁻¹)	1,32±0,07	1,31±0,03	1,37±0,07	1,36±0,13	1,35±0,04	1,40±0,07
TS (%)	88,75±13,15	87,50±11,90	90,00±10,80	88,75±6,29	97,50±2,89	86,25±15,48

PM: peso médio; GPI: ganho de peso individual; CD: consumo da dieta; CA: conversão alimentar; TEP: taxa de eficiência proteica; TCE: taxa de crescimento específico; TS: taxa de sobrevivência;

T1: óleo de soja; T2: óleo de gergelim+óleo de linhaça; T3: óleo de linhaça; T4: óleo de soja+ácido alfa-lipoico; T5: óleo de gergelim+óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico; T6: óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico;

Médias sem letras em mesma linha não diferem entre si (P>0,05);

Fonte: Própria autoria.

O peso médio dos peixes no dia 0 (zero) foi de 3,35±0,78 g. Na biometria realizada após o período de 90 dias, foi observada elevada heterogeneidade entre o peso dos peixes dentro de cada unidade experimental, com peso médio final de 53,58 g, variando de 48,08 g (T4) a 60,65 g (T6).

Os peixes apresentaram ganho de peso médio individual que variaram de 44,72 a 57,33 g. Convém salientar que Fernandes, Carneiro e Sakomura (2001), ao alimentar juvenis de pacu por 100 dias, com dietas contendo 18, 22 e 26% de PB, obtiveram ganho de peso médio entre 39,7 e 48,4 g, ou seja, valores menores que os observados neste estudo. Em outro estudo com pacu, alimentados com dietas contendo 22 e 25% de PB, foram observados valores de GPI semelhantes aos obtidos neste estudo (39,9 a 57,8 g) (ABIMORAD; CARNEIRO, 2007). Nota-se que teores mais baixos de PB nas dietas do pacu promovem ganho de peso aproximadamente iguais a valores maiores, podendo sugerir menores exigências proteicas para esta espécie.

O consumo da dieta dos peixes variou de 65,78 a 75,22 g, em 90 dias. Verifica-se que alguns estudos, com período experimental similar, apresentaram valores bem maiores de consumo da dieta, como Fernandes, Carneiro e Sakomura (2001), variando de 151,6 a 157,9 g e Muñoz-Ramírez e Carneiro (2008), variando de 104, 4 a 129,6 g.

A conversão alimentar dos peixes deste estudo variou de 1,32 a 1,47, valores próximos aos encontrados por Muñoz-Ramírez e Carneiro (2008), que obtiveram resultados entre 1,33 e 1,58. Porém, foram melhores que os encontrados por Fernandes, Carneiro e Sakomura (2001), que obtiveram CA de 3,34 a 4,14, por Abimorad e Carneiro (2007), cujos valores de CA foram de 2,7 a 3,0, por Santos et al. (2009), com resultados entre 3,07 a 3,60, mesmo utilizando dietas

com 28% de PB, e por Signor et al. (2010), que verificaram CA de 2,88 a 3,16, em juvenis de pacu alimentados com dietas contendo níveis de proteínas mais altos (25, 30 e 35%) do que os níveis das dietas utilizadas pelo presente estudo.

A taxa de eficiência proteica foi de 3,06 a 3,42%. Índices mais baixos foram verificados por Fernandes, Carneiro e Sakomura (2001), com TEP de 1,29 a 1,44%, por Abimorad e Carneiro (2007), variando de 1,5 a 1,6% e pelos obtidos por Santos et al. (2009), com valores entre 1,00 e 1,21%.

Seguindo a mesma tendência, a taxa de crescimento específico, foi de aproximadamente 1,40%, melhor que os resultados obtidos por Fernandes, Carneiro e Sakomura (2001), com TCE de 0,31 a 0,34%, por Abimorad e Carneiro (2007), com TCE de 0,76 a 0,80%, por Muñoz-Ramírez e Carneiro (2008), com TCE de 1,76 a 2,27% e por Signor et al. (2010), cujos valores de TCE observados variaram de 0,67 a 0,70%, mesmo com dietas com maiores níveis de PB nas dietas (25, 30 e 35%).

Apesar dos dados de desempenho não apresentarem diferenças entre os tratamentos ($P>0,05$), foi feito o quadro da análise de variância (ANOVA) para verificar se houve diferença dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL) e observa-se que o tipo de óleo utilizado na dieta influenciou ($P<0,05$) os resultados de peso médio e ganho de peso individual (Tabela 8).

Tabela 8 – Quadro da análise de variância (ANOVA) com o p-valor dos tipos de óleo, dos níveis de ácido alfa-lipoico (AAL) e da interação Óleo*AAL, coeficiente de variação e média geral dos parâmetros de desempenho zootécnico de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.

Variáveis	Fontes de variação				
	Óleo	AAL	Óleo*AAL	CV	Média geral
PM (g)	0,04*	0,79 ^{ns}	0,70 ^{ns}	12,79	53,58
GPI (g)	0,04*	0,77 ^{ns}	0,69 ^{ns}	13,60	50,23
CD (g)	0,18 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,95 ^{ns}	12,54	70,41
CA	0,10 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,29 ^{ns}	5,85	1,41
TEP (%)	0,08 ^{ns}	0,37 ^{ns}	0,30 ^{ns}	5,86	3,20
TCE (%.dia ⁻¹)	0,35 ^{ns}	0,24 ^{ns}	1,00 ^{ns}	5,68	1,35
TS (%)	0,69 ^{ns}	0,65 ^{ns}	0,45 ^{ns}	12,19	89,79

PM: peso médio; GPI: ganho de peso individual; CD: consumo da dieta; CA: conversão alimentar; TEP: taxa de eficiência proteica; TCE: taxa de crescimento específico; TS: taxa de sobrevivência; AAL: ácido alfa-lipoico; CV: coeficiente de variação;

^{ns} não significativo ($P>0,05$); * significativo ($P<0,05$);

Fonte: Própria autoria.

Os demais parâmetros de desempenho não apresentaram diferença ($P>0,05$) quando comparados dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL), sendo assim, pode-se dizer que a média de CD foi de 70,41 g, CA de 1,41, TEP de 3,20%, TCE de 1,35% e a taxa de sobrevivência foi de 89,79%. As médias de PM e GPI, dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL) podem ser observadas na Tabela 9.

Tabela 9 – Valores de peso médio (PM) e ganho de peso individual (GPI) de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais, dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL).

Variáveis	Tipos de óleo			P-valor	Níveis de AAL		P-valor
	OS	OG+OL	OL		Sem	Com	
PM (g)	49,10 ^b	52,89 ^{ab}	58,74 ^a	0,04*	53,20	53,96	0,79 ^{ns}
GPI (g)	45,78 ^b	49,50 ^{ab}	55,41 ^a	0,04*	49,81	50,65	0,77 ^{ns}

PM: peso médio; GPI: ganho de peso individual; OS: óleo de soja; OG+OL: óleo de gergelim + óleo de linhaça; OL: óleo de linhaça; AAL: ácido alfa-lipoico;

^{ns} não significativo ($P>0,05$); * significativo ($P<0,05$);

Médias do mesmo fator sem letras não diferem entre si ($P>0,05$);

Médias do mesmo fator seguidas com letras diferentes em mesma linha diferem entre si ($P<0,05$).

Fonte: Própria autoria.

As dietas com OL (T3 e T6) asseguraram melhores índices de peso médio (58,74 g) nos peixes avaliados, enquanto que as dietas com OS, os piores (49,10 g). O ganho de peso individual seguiu a mesma tendência, pois as dietas com OL proporcionaram GPI de 55,41 g, enquanto que as dietas com OS, de 45,78 g.

A presença ou ausência do ácido alfa-lipoico nas dietas, não teve efeito ($P>0,05$) sobre o peso médio final dos animais ($P>0,05$). No entanto, em estudo realizado com juvenis de pacu alimentados com dietas contendo AAL (100 mg.100 g⁻¹) e ácido ascórbico (50 mg.100 g⁻¹), verificou-se a influência ($P<0,05$) desse composto sobre esse parâmetro. Os peixes que receberam dietas com AAL, mas sem ácido ascórbico, apresentaram menores valores de peso médio (51,7 g), mas, em associação com ácido ascórbico, o índice foi melhorado (58,6 g) (TRATTNER et al., 2007).

5.4 Composição química dos filés de pacu

As análises referentes à composição química dos filés dos peixes podem ser observadas na Tabela 10.

Tabela 10 – Composição química (base úmida) (média±desvio-padrão) dos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.

Variáveis	T1	T2	T3	T4	T5	T6
U (g.100 g ⁻¹)	77,43±0,95	77,29±0,44	77,48±0,73	77,93±0,89	77,39±0,59	77,73±1,23
PB (g.100 g ⁻¹)	16,31±0,31	16,58±0,15	16,68±0,46	16,36±0,38	16,06±0,25	16,07±0,17
EE (g.100 g ⁻¹)	5,16±0,53	5,10±0,28	4,81±0,63	4,70±0,67	5,52±0,40	5,25±0,71
MM (g.100 g ⁻¹)	1,11±0,11	1,04±0,06	1,05±0,10	1,03±0,05	1,07±0,04	1,03±0,05

U: umidade; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; MM: matéria mineral;

T1: óleo de soja; T2: óleo de gergelim+óleo de linhaça; T3: óleo de linhaça; T4: óleo de soja+ácido alfa-lipoico; T5: óleo de gergelim+óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico; T6: óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico;

Médias sem letras em mesma linha não diferem entre si (P>0,05);

Fonte: Própria autoria.

Os tratamentos não tiveram efeito (P>0,05) sobre a composição química dos filés dos peixes. Os valores de umidade variaram de 77,29 a 77,93 g.100 g⁻¹, os teores de proteína bruta entre 16,06 e 16,68 g.100 g⁻¹, o extrato etéreo, de 4,70 a 5,52 g.100 g⁻¹ e a matéria mineral, de 1,03 a 1,11 g.100 g⁻¹.

Apesar dos dados de composição química dos filés não apresentarem diferença significativa entre os tratamentos (P>0,05), foi feito o quadro da análise de variância (ANOVA) para verificar se houve diferença dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL) e observa-se que a utilização de AAL nas dietas afetou (P<0,05) os teores de PB dos filés (Tabela 11).

Tabela 11 – Quadro da análise de variância (ANOVA) com o p-valor dos tipos de óleo, dos níveis de ácido alfa-lipoico (AAL) e da interação Óleo*AAL, coeficiente de variação e média geral da composição química (base seca) dos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.

Variáveis	Fontes de variação				Média geral
	Óleo	AAL	Óleo*AAL	CV	
U (g.100 g ⁻¹)	0,50 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,23 ^{ns}	1,09	76,66
PB (g.100 g ⁻¹)	0,93 ^{ns}	0,01*	0,09 ^{ns}	1,89	16,34
EE (g.100 g ⁻¹)	0,42 ^{ns}	0,59 ^{ns}	0,25 ^{ns}	11,50	5,09
MM (g.100 g ⁻¹)	0,41 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,29 ^{ns}	6,54	1,05

U: Umidade; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; MM: matéria mineral; AAL: ácido alfa-lipoico; CV: coeficiente de variação;

^{ns} não significativo (P>0,05); * significativo (P<0,05);

Fonte: Própria autoria.

Os demais parâmetros da composição química dos filés não apresentaram diferença significativa (P>0,05) quando comparados dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL), sendo assim, pode-se dizer que a média de umidade foi de 77,54%, EE de 5,09% e MM de 1,05%. As médias de PB, dentro de cada fator podem ser observadas na Tabela 12.

Tabela 12 – Valores médios de proteína bruta (PB) (base úmida) dos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais, dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL).

Variáveis	Tipos de óleo			P-valor	Níveis de AAL		P-valor
	OS	OG+OL	OL		Sem	Com	
PB (g.100 g ⁻¹)	16,33	16,32	16,38	0,93 ^{ns}	16,52 ^a	16,16 ^b	0,01 [*]

PB: proteína bruta; AAL: ácido alfa-lipoico; OS: óleo de soja; OG+OL: óleo de gergelim + óleo de linhaça; OL: óleo de linhaça;

^{ns} não significativo (P>0,05); * significativo (P<0,05);

Médias do mesmo fator sem letras não diferem entre si (P>0,05);

Médias do mesmo fator seguidas com letras diferentes em mesma linha diferem entre si (P<0,05).

Fonte: Própria autoria.

O tipo de óleo utilizado nas dietas não influenciou (P>0,05) os teores de PB dos filés, mas o AAL provocou diferença significativa (P<0,05) entre as médias e observa-se que os peixes alimentados com dietas sem AAL apresentaram filés com maiores teores de PB. Resultados semelhantes foram encontrados em filés de pacus alimentados com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta (18,5 a 28,3%), por um período experimental de 74 dias, variando de 15,98 a 17,15% (KLEIN et al., 2014), evidenciando que, mesmo alimentados com dietas com maiores teores de PB (28,3%), apresentaram filés com teores similares ao do presente estudo, que utilizou dietas com 22% de PB. Maiores teores de PB foram encontrados em filés de pacu capturados na natureza, 18,89% (RAMOS FILHO et al., 2008) e em filés de pacus alimentados com dietas contendo 27,98% de PB e 3,25% de lipídeos totais, variando de 18,62 a 18,79% (SANTOS et al., 2009).

5.5 Análise de sesamina e ácido alfa-lipoico

As concentrações de sesamina foram analisadas nos diferentes tipos de óleo utilizados na formulação das dietas (óleos de soja – OS, gergelim – OG e linhaça – OL), nas dietas experimentais e nos filés dos juvenis de pacu (Tabela 13).

Tabela 13 – Concentrações (média $\pm$ desvio-padrão) de sesamina (SES) e ácido alfa-lipoico (AAL) nos diferentes tipos de óleo utilizados nas dietas, nas dietas experimentais e nos filés dos juvenis de pacu alimentados com as diferentes dietas.

Amostras	SES ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	AAL (mg.100 g^{-1})
OS	0	-
OG	920,16 $\pm$ 24,93	-
OL	0	-
Ração T1	0	3,77 $\pm$ 0,23
Ração T2	13,74 $\pm$ 0,46	3,71 $\pm$ 0,60
Ração T3	0	3,62 $\pm$ 0,44
Ração T4	0	32,71 $\pm$ 0,59
Ração T5	12,28 $\pm$ 0,63	34,36 $\pm$ 0,43
Ração T6	0	28,89 $\pm$ 0,65
Filé T1	0	1,53 $\pm$ 0,26
Filé T2	0	1,42 $\pm$ 0,40
Filé T3	0	1,34 $\pm$ 0,18
Filé T4	0	1,38 $\pm$ 0,25
Filé T5	0	1,08 $\pm$ 0,09
Filé T6	0	1,37 $\pm$ 0,21

SES: sesamina; AAL: ácido alfa-lipoico; OS: óleo de soja; OG: óleo de gergelim; OL: óleo de linhaça; T1: óleo de soja; T2: óleo de gergelim+óleo de linhaça; T3: óleo de linhaça; T4: óleo de soja+ácido alfa-lipoico; T5: óleo de gergelim+óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico; T6: óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico.

Fonte: Própria autoria.

Verificou-se que foi detectada sesamina no óleo de gergelim e nas rações T2 e T5, as quais continham a mistura de óleo de gergelim e óleo de linhaça (OG+OL). Tais resultados eram esperados, pois entre os ingredientes utilizados nas dietas experimentais, o óleo de gergelim foi o único que apresentava essa lignana.

O óleo de gergelim, por ser uma excelente fonte de sesamina, apresentou elevados níveis da lignana, 920 $\mu\text{g.g}^{-1}$. As dietas apresentaram 13,74 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (T2) e 12,28 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (T5) de sesamina, porém, este composto não foi detectado nos filés.

O AAL, presente nas dietas T4, T5 e T6, foram encontrados em valores que variaram de 28,89 (T6) a 32,71 mg.100 g^{-1} (T4). Apesar das dietas T1, T2 e T3 não apresentarem AAL em sua composição, foram detectadas pequenas quantidades desse componente, variando de 3,62 a 3,77 mg.100 g^{-1} . Tais resultados podem ser explicados pelo fato de todas as dietas conterem quirera de arroz, produto com pequena quantidade desse composto bioativo

(MONTEIRO, 2013). Nos filés dos peixes também foram detectadas pequenas quantidades de AAL, variando de 1,08 (T5) a 1,53 mg.100 g⁻¹ (T1).

Na figura 6, pode-se observar as curvas do padrão da sesamina, da dieta controle (Ração T1), da dieta T5 (OG+OL+AAL), bem como dos filés do T1 e T5, obtidas através da análise no equipamento de CLAE. Foram utilizados o padrão da sesamina, como referência para o seu tempo de retenção (10 minutos); a dieta T1, como referência de uma das dietas que não apresentou a lignana; a dieta T5, como referência de uma das dietas que apresentou sesamina; e seus respectivos filés, que não apresentaram sesamina. As demais curvas não foram utilizadas para não dificultar a análise da imagem.

Na figura 7, as imagens apresentam os cromatogramas das concentrações de sesamina e ácido alfa-lipoico (A) e as ampliações dos cromatogramas nos tempos de retenção de cada componente, 10 minutos para a sesamina e 8,6 minutos para ácido alfa-lipoico (B).

Assim como foi apresentado nas curvas da sesamina, a figura 8 ilustra as curvas do padrão do ácido alfa-lipoico (AAL), da dieta controle (Ração T1), da dieta T5 (OG+OL+AAL), bem como dos filés do T1 e T5, obtidas através da análise no equipamento de CLAE. Foram utilizados o padrão do AAL, como referência para o seu tempo de retenção (8,6 minutos); a dieta T1, como referência de uma das dietas que não apresentou AAL; a dieta T5, como referência de uma das dietas que apresentou AAL; e seus respectivos filés, que não apresentaram AAL. As demais curvas não foram utilizadas para não dificultar a análise da imagem.

Figura 6 – (A) Cromatograma da concentração de sesamina no padrão, na ração T1 (controle), em uma das rações com óleo de gergelim (T5), nos filés dos peixes que receberam a dieta controle e nos filés dos peixes que receberam a dieta T5; (B) Ampliação do cromatograma no tempo de retenção da sesamina (10 min).

Fonte: Própria autoria.

Figura 7 – (A) Cromatograma da concentração de ácido alfa-lipoico no padrão, na ração T1 (controle), em uma das rações com óleo de gergelim (T5), nos filés dos peixes que receberam a dieta controle e nos filés dos peixes que receberam a dieta T5; (B) Ampliação do cromatograma no tempo de retenção do ácido alfa-lipoico (8,6 min).

Fonte: Própria autoria.

5.6 Determinação do perfil de ácidos graxos

5.6.1 Composição em ácidos graxos nas dietas experimentais

A composição em ácidos graxos nas dietas experimentais pode ser observada na Tabela 14.

Tabela 14 – Composição dos principais ácidos graxos, somatórias e razões de categorias de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) nas dietas experimentais.

Ácido graxo	T1	T2	T3	T4	T5	T6
14:0	0,16	0,12	0,12	0,13	0,12	0,12
15:0	0,04	0,05	0,04	0,05	0,04	0,04
16:0	13,30 ^a	12,35 ^b	12,47 ^{ab}	13,08 ^a	12,45 ^b	12,73 ^{ab}
16:1	0,14	0,16	0,16	0,15	0,17	0,14
17:0	0,13	0,10	0,11	0,12	0,10	0,12
18:0	3,69 ^{ab}	3,67 ^b	3,77 ^{ab}	3,58 ^b	3,63 ^b	3,83 ^a
18:1n-9c	24,58 ^b	27,89 ^a	25,53 ^{ab}	24,51 ^b	27,57 ^a	23,06 ^b
18:2n-6c	51,55 ^a	48,26 ^b	48,15 ^b	51,60 ^a	48,34 ^b	47,91 ^b
18:3n-3	4,98 ^c	6,07 ^b	6,27 ^b	5,04 ^c	6,03 ^b	10,41 ^a
20:0	0,40 ^a	0,40 ^a	0,39 ^{ab}	0,39 ^{ab}	0,41 ^a	0,37 ^b
20:1n-9	0,25	0,25	0,25	0,26	0,26	0,26
20:2	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05
22:0	0,39 ^a	0,31 ^b	0,34 ^{ab}	0,39 ^a	0,32 ^b	0,35 ^a
23:0	0,06	0,04	0,06	0,06	0,05	0,06
24:0	0,20	0,19	0,20	0,55	0,37	0,47
Somatória e razão de ácidos graxos						
ΣAGS	18,41 ^a	17,26 ^b	17,53 ^{ab}	18,37 ^a	17,52 ^{ab}	18,13 ^a
ΣAGM	24,97 ^b	28,30 ^a	25,94 ^{ab}	24,94 ^b	28,03 ^a	23,46 ^b
ΣAGPI	56,60 ^a	54,43 ^b	56,50 ^{ab}	56,68 ^a	54,44 ^b	58,39 ^a
Σn-3	4,98 ^b	6,09 ^b	8,28 ^{ab}	5,04 ^b	6,03 ^b	10,42 ^a
Σn-6	51,55 ^a	48,27 ^b	48,16 ^b	51,60 ^a	48,34 ^b	47,92 ^b
AGPI/AGS	3,07	3,15	3,22	3,08	3,11	3,22
n-6/n-3	10,36 ^a	7,92 ^{ab}	6,24 ^b	10,25 ^a	8,01 ^{ab}	4,60 ^b

T1: óleo de soja; T2: óleo de gergelim+óleo de linhaça; T3: óleo de linhaça; T4: óleo de soja+ácido alfa-lipoico; T5: óleo de gergelim+óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico; T6: óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico; ΣAGS: somatória dos ácidos graxos saturados; ΣAGM: somatória dos ácidos graxos monoinsaturados; ΣAGPI: somatória dos ácidos graxos poli-insaturados; Σn-3: somatória dos ácidos graxos n-3; Σn-6: somatória dos ácidos graxos n-6; AGPI/AGS: razão entre os ácidos graxos poli-insaturados e insaturados; n-6/n-3: razão entre os ácidos graxos n-6 e n-3; ^{ns} não significativo (P>0,05); * significativo (P<0,05);

Médias sem letras em mesma linha não diferem entre si (P>0,05);

Médias com letras diferentes em mesma linha diferem entre si (P<0,05).

Fonte: Própria autoria.

A análise de composição em ácidos graxos evidenciou que as dietas apresentaram aproximadamente 20 ácidos graxos, nos quais o ácido linoleico (18:2n-6c) foi o mais abundante, seguido do oleico (18:1n-9c), palmítico (16:0) e, em menores proporções, do linolênico (18:3n-3) e esteárico (18:0). Tendência similar de composição de ácidos graxos foi verificada por Santos et al. (2009), que utilizaram dietas com maior predominância de 18:2n-6c, mas com valores inferiores aos encontrados no presente estudo, variando de 21,19 a 35,19%, seguido do 18:1n-9 (28,89 a 29,43%) e do 16:0 (15,54 a 16,95%).

Entre os ácidos graxos saturados, o 16:0 foi o mais abundante, sendo encontrado em maiores concentrações nas dietas contendo óleo de soja, fato já esperado, uma vez que este óleo é mais rico em 16:0, quando comparado ao óleo de gergelim (TANGO; CARVALHO; SOARES, 2004) e ao óleo de linhaça (ISEO, 2016). O óleo de soja pode conter de 9,3 a 12,5% de 16:0, enquanto que o óleo de gergelim pode apresentar de 8,4 a 10% (TANGO; CARVALHO; SOARES, 2004) e o óleo de linhaça, cerca de 5% (ISEO, 2016).

As dietas com óleo de linhaça apresentaram maiores ($P<0,05$) teores de 18:0, mas de acordo com o *Institute of Shortening and Edible Oils* (ISEO, 2016), a concentração deste ácido é igual entre o óleo de linhaça e o óleo de soja (4%). Enquanto que no óleo de gergelim, essa concentração pode variar de 5 a 7% (TANGO; CARVALHO; SOARES, 2004).

As maiores ($P<0,05$) concentrações de 18:1n-9 foram encontradas nas dietas com a mistura de óleo de gergelim e óleo de linhaça (T2 e T5). Esses resultados podem ser explicados porque o óleo de gergelim contém maiores teores (31 a 48%) deste ácido graxo, quando comparado ao óleo de soja (19,9 a 25%) (TANGO; CARVALHO; SOARES, 2004) e ao óleo de linhaça (20%) (ISEO, 2016).

As dietas com óleo de soja (T1 e T4) apresentaram maiores ($P<0,05$) concentrações de ácido linoleico (LA, 18:2n-6c) e menores proporções de ácido linolênico (LNA, 18:3n-3). Tais resultados são coerentes, já que o óleo de soja apresenta elevados teores de LA (51 a 54%) (TURCHINI; TORSTENSEN; NG, 2009; ISEO, 2016) e baixas concentrações de LNA (7%) (ISEO, 2016).

As dietas com óleo de linhaça apresentaram maiores teores de LNA e menores de LA, seguindo a mesma tendência apresentada no OL, que apresenta cerca de 53% de LNA e teores de LA que podem variar de 12,7 a 17% (TURCHINI; TORSTENSEN; NG, 2009; ISEO, 2016).

Em estudo realizado com dietas contendo óleo de linhaça (3,75%) e girassol (1,25%), as rações apresentaram menor concentração de LA (32,30%) e índice mais elevado de LNA (24,24%) (VISENTAINER et al., 2003), quando comparados aos resultados observados no presente estudo.

Apesar de não serem conhecidas as exigências de ácidos graxos essenciais para pacu, em alguns peixes de água doce, como salmão, carpa comum, tilápia, truta arco-íris, entre outros, pode variar de 0,5 a 2% (NRC, 2013). Sendo assim, as proporções de LA (49,30%) e LNA (6,47%) nas dietas do presente estudo foram maiores do que as que os peixes de água doce citados necessitam.

Em relação à percentagem da dieta (base seca), essa proporção pode variar de 0,5 a 2,0%. A tilápia, por exemplo, necessita de 0,5 a 1,0% de LA e a carpa comum, 1,0% de LA e entre 0,5 e 1,0% de LNA (NRC, 2013). Quando os resultados encontrados no presente estudo foram convertidos para percentagem da dieta (base seca), observou-se que todas as dietas atenderam às exigências dos peixes de água doce citados, com valores médios de 3,07% de LA e 5,87% de LNA.

As dietas apresentaram mesma tendência observada nos óleos de soja, gergelim e linhaça, com maiores concentrações de ácidos graxos insaturados e predominância dos poli-insaturados (TANGO; CARVALHO; SOARES, 2004; ISEO, 2016).

As dietas contendo OS apresentaram maiores índices de ácidos graxos saturados, entre eles, os ácidos palmítico (16:0), margárico (17:0) e beénico (22:0), e, entre os ácidos graxos poli-insaturados, apresentaram maiores concentrações de ácido linoleico (18:2n-6c). Já as dietas contendo a mistura de OG+OL, apresentaram maiores quantidades de ácidos graxos monoinsaturados, entre eles, o 18:1n-7, porém, foram as dietas com menores proporções de ácidos graxos poli-insaturados.

Os ácidos graxos poli-insaturados n-3 foram encontrados em maiores proporções nas dietas com óleo de linhaça, seguidas das dietas com a mistura de óleo de gergelim e óleo de linhaça e, em menores concentrações, nas dietas com óleo de soja. Enquanto que, em relação aos ácidos graxos poli-insaturados n-6, os maiores teores foram encontrados nas dietas com óleo de soja e os menores nas dietas com óleo de linhaça. Tais resultados são coerentes, já que a composição em ácidos graxos dos óleos apresenta a mesma tendência, com maiores teores de n-3 no óleo de linhaça e de n-6 no óleo de soja (ISEO, 2016).

Os valores médios da razão entre os ácidos graxos poli-insaturados e saturados não apresentaram diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos e foram menores que os encontrados nas dietas contendo 3% de óleo de linhaça (3,56), porém foram similares aos das dietas com a mistura de 1,5% de óleo de gergelim e 1,5% de óleo de linhaça (3,10) e das dietas contendo 3% de óleo de soja (2,98) (NATORI, 2015).

A razão entre os ácidos graxos poli-insaturados n-6 e n-3 foi maior ($P < 0,05$) nas dietas com óleo de soja, seguido das dietas com a mistura de óleo de gergelim e linhaça e menor nas

dietas com óleo de linhaça. Os valores médios obtidos no presente estudo foram maiores que os observados por Natori (2015) com pacu, que variou de 0,62 (dietas com OL) a 8,56 (dietas com OS) e por Segura (2016) com pacu, com razões variando de 0,33 (dietas com OL) a 2,83 (dietas com OS+OL). Isto pode ser explicado porque as dietas utilizadas nos estudos de Natori (2015) e Segura (2016) apresentaram maiores teores de n-3 que os encontrados no presente trabalho. Por outro lado, Tonial et al. (2011), ao alimentar tilápias com dietas contendo 7% de óleo de soja, obtiveram razões n-6/n-3 maiores (13,85) que as obtidas no presente estudo, devido à utilização de maiores proporções do óleo de soja, rico em AGPI n-6 (ISEO, 2016).

Para verificar se houve diferença entre as médias dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL), o quadro da análise de variância (ANOVA) pode ser observado na Tabela 15.

Tabela 15 – Quadro da análise de variância (ANOVA) com o p-valor dos tipos de óleo, dos níveis de ácido alfa-lipoico (AAL) e da interação Óleo*AAL, coeficiente de variação e média geral da composição de ácidos graxos das dietas experimentais.

Ácido graxo	Fontes de variação				
	Óleo	AAL	Óleo*AAL	CV	Média geral
14:0	0,10 ^{ns}	0,39 ^{ns}	0,64 ^{ns}	12,19	0,13
15:0	0,30 ^{ns}	0,45 ^{ns}	0,63 ^{ns}	16,32	0,04
16:0	<0,01*	0,68 ^{ns}	0,22 ^{ns}	1,63	12,73
16:1	0,32 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,64 ^{ns}	13,31	0,15
17:0	<0,01*	1,00 ^{ns}	0,60 ^{ns}	8,17	0,11
18:0	0,01*	0,54 ^{ns}	0,34 ^{ns}	2,15	3,69
18:1n-9c	<0,01*	0,26 ^{ns}	0,53 ^{ns}	5,20	25,52
18:2n-6c	<0,01*	0,84 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,60	49,30
18:3n-3	<0,01*	<0,01*	<0,01*	1,75	6,47
20:0	0,03*	0,61 ^{ns}	0,14 ^{ns}	2,75	0,39
20:1n-9	0,70 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,70 ^{ns}	3,58	0,25
20:2	0,82 ^{ns}	0,55 ^{ns}	0,42 ^{ns}	19,56	0,05
22:0	<0,01*	1,00 ^{ns}	0,81 ^{ns}	4,34	0,35
23:0	0,11 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,95 ^{ns}	19,22	0,06
24:0	0,59 ^{ns}	<0,01*	0,60 ^{ns}	29,61	0,33
Somatória e razão de ácidos graxos					
ΣAGS	<0,01*	0,13 ^{ns}	0,36 ^{ns}	1,51	17,87
ΣAGM	<0,01*	0,27 ^{ns}	0,54 ^{ns}	5,13	25,94
ΣAGPI	<0,01*	0,36 ^{ns}	0,64 ^{ns}	2,03	56,18
Σn-3	<0,01*	0,36 ^{ns}	0,46 ^{ns}	18,10	6,81
Σn-6	<0,01*	0,80 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,61	49,31
n-6/n-3	<0,01*	0,35 ^{ns}	0,42	12,03	7,90
AGPI/AGS	0,02*	0,69 ^{ns}	0,64 ^{ns}	1,56	3,14

AAL: ácido alfa-lipoico; CV: coeficiente de variação; Σ AGS: somatória dos ácidos graxos saturados; Σ AGM: somatória dos ácidos graxos monoinsaturados; Σ AGPI: somatória dos ácidos graxos poli-insaturados; Σ n-3: somatória dos ácidos graxos n-3; Σ n-6: somatória dos ácidos graxos n-6; n-6/n-3: razão entre os ácidos graxos n-6 e n-3; AGPI/AGS: razão entre os ácidos graxos poli-insaturados e insaturados; ^{ns} não significativo ($P>0,05$); * significativo ($P<0,05$); Fonte: Própria autoria.

Observa-se que o tipo de óleo utilizado foi o fator que mais influenciou ($P<0,05$) a composição de ácidos graxos nas dietas. Os ácidos graxos que não foram afetados ($P>0,05$) por nenhum fator (tipo de óleo e níveis de AAL) e suas respectivas médias, foram: 14:0 (0,13%), 15:0 (0,04%), 16:1 (0,15%), 20:1n-9 (0,25%), 20:2 (0,05%) e 23:0 (0,06%). Os ácidos graxos, somatórias e razões de categorias de ácidos graxos que apresentaram diferenças ($P<0,05$) entre as médias em pelo menos algum fator podem ser observados na Tabela 16.

Tabela 16 – Composição em ácidos graxos, somatórias e razões de categorias de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) nas dietas experimentais, dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL).

Ácido graxo	Tipos de óleo			P-valor	Níveis de AAL		P-valor
	OS	OG+OL	OL		Sem	Com	
16:0	13,19 ^a	12,40 ^b	12,60 ^b	<0,01 [*]	12,70	12,76	0,68 ^{ns}
17:0	0,12 ^a	0,10 ^b	0,11 ^a	<0,01 [*]	0,11	0,11	1,00 ^{ns}
18:0	3,63 ^b	3,65 ^b	3,80 ^a	0,01	3,71	3,68	0,54 ^{ns}
18:1n-9c	24,54 ^b	27,73 ^a	24,31 ^b	<0,01 [*]	26,01	25,05	0,26 ^{ns}
18:2n-6c	51,57 ^a	48,30 ^b	48,03 ^b	<0,01 [*]	49,32	49,28	0,84 ^{ns}
20:0	0,40 ^{ab}	0,41 ^a	0,38 ^b	0,03 [*]	0,40	0,39	0,61 ^{ns}
22:0	0,39 ^a	0,32 ^b	0,35 ^b	<0,01 [*]	0,35	0,35	1,00 ^{ns}
24:0	0,37	0,28	0,34	0,59 ^{ns}	0,20 ^b	0,47 ^a	<0,01 [*]
Somatória e razão de ácidos graxos							
Σ AGS	18,39 ^a	17,39 ^b	17,83 ^{ab}	<0,01 [*]	17,74	18,01	0,13 ^{ns}
Σ AGM	24,95 ^b	28,16 ^a	24,70 ^b	<0,01 [*]	26,40	25,47	0,27 ^{ns}
Σ AGPI	56,64 ^a	54,44 ^b	57,44 ^a	<0,01 [*]	55,85	56,50	0,36 ^{ns}
Σ n-3	5,01 ^c	6,06 ^b	9,35 ^a	<0,01 [*]	6,45	7,16	0,36 ^{ns}
Σ n-6	51,57 ^a	48,30 ^b	48,04 ^b	<0,01 [*]	49,33	49,28	0,80 ^{ns}
AGPI/AGS	3,08 ^b	3,13 ^b	3,22 ^a	0,02 [*]	3,15	3,14	0,69 ^{ns}
n-6/n-3	10,30 ^a	7,97 ^b	5,42 ^c	<0,01 [*]	8,17	7,62	0,35 ^{ns}

OS: óleo de soja; OG+OL: óleo de gergelim + óleo de linhaça; OL: óleo de linhaça; AAL: ácido alfa-lipoico; Σ AGS: somatória dos ácidos graxos saturados; Σ AGM: somatória dos ácidos graxos monoinsaturados; Σ AGPI: somatória dos ácidos graxos poli-insaturados; Σ n-3: somatória dos ácidos graxos n-3; Σ n-6: somatória dos ácidos graxos n-6; n-6/n-3: razão entre os ácidos graxos n-6 e n-3; AGPI/AGS: razão entre os ácidos graxos poli-insaturados e insaturados;

^{ns} não significativo ($P>0,05$); * significativo ($P<0,05$);

Médias do mesmo fator sem letras em mesma linha não diferem entre si ($P>0,05$);

Médias do mesmo fator seguidas com letras diferentes em mesma linha diferem entre si ($P<0,05$).

Fonte: Própria autoria.

Essa análise evidencia que o tipo de óleo utilizado nas dietas afetou ($P<0,05$) as concentrações de alguns ácidos graxos saturados (16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 22:0 e 24:0), no monoinsaturado 18:1n-9 e no poli-insaturado 18:2n-6c. Além disso, afetou as somatórias dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados, incluindo n-3 e n-6, bem como nas razões n-6/n-3 e AGPI/AGS.

O óleo de soja promoveu maiores concentrações ($P<0,05$) de ácidos graxos saturados, entre eles o 16:0, 17:0 e 22:0, bem como de poli-insaturados n-6, com maiores teores de 18:2n-6c. O óleo de gergelim afetou a somatória de ácidos graxos monoinsaturados, com maiores proporções de 18:1n-9c. E o óleo de linhaça afetou as dietas em relação às proporções de ácidos graxos poli-insaturados n-3, apresentando também menor média na razão n-6/n-3.

A razão entre ácidos graxos poli-insaturados e saturados foi afetada ($P<0,05$) pelo tipo de óleo utilizado nas dietas, sendo maior nas dietas com óleo de linhaça, seguido das dietas com óleo de gergelim e linhaça e, menor, nas dietas com óleo de soja. Apesar de apresentar os menores resultados na relação entre AGPI e AGS, as dietas contendo óleo de soja do presente estudo apresentaram valores médios maiores que os observados por Tonial et al. (2011), que foi de 2,17, em rações suplementadas com 7% de óleo de soja para tilápias.

O tipo de óleo utilizado nas dietas também influenciou ($P<0,05$) a razão entre os ácidos graxos poli-insaturados n-6 e n-3, a qual foi maior nas dietas com óleo de soja, seguido das dietas com a mistura de óleo de gergelim e óleo de linhaça e menor nas dietas com óleo de linhaça. Tais resultados são coerentes devido à alta concentração de n-6 presente no óleo de soja e de n-3 no óleo de linhaça (ISEO, 2016).

Os níveis de AAL afetaram ($P<0,05$) apenas os teores de 24:0, resultando em menor teor nas rações sem AAL (0,20%) e maior nas rações com AAL (0,47%). Entre os ácidos graxos analisados nas dietas, o único que apresentou interação significativa ($P<0,05$) foi o linolênico (18:3n-3) e suas médias podem ser observadas na Tabela 17.

Tabela 17 – Comparação de médias (% dos ácidos graxos totais) do ácido linolênico (18:3n-3) nas dietas experimentais, que apresentou interação Óleo*AAL significativa ($P<0,05$).

Ácido graxo	AAL	OS	OG+OL	OL	P-valor*
18:3n-3	Sem	4,98 ^{cB}	6,07 ^{bA}	6,27 ^{aB}	<0,01*
	Com	5,04 ^{cA}	6,03 ^{bA}	10,41 ^{aA}	

* P-valor da interação Óleo*AAL;

AAL: ácido alfa-lipoico; OS: óleo de soja; OG+OL: óleo de gergelim + óleo de linhaça; OL: óleo de linhaça; EP: erro padrão;

Médias do fator óleo em cada nível de AAL, para cada variável, seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Médias do fator AAL em cada nível de Óleo, para cada variável, seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste F (5%).

Fonte: Própria autoria.

A maior concentração de ácido linolênico (LNA, 18:3n-3) foi observada na dieta com OL+AAL (T6) e menor nas dietas com OS (T1 e T4). Estas diferenças ($P < 0,05$) são devido à composição do óleo de soja, com baixa percentagem de LNA, e do óleo de linhaça, com elevadas concentrações deste ácido (ISEO, 2016). O óleo de linhaça apresenta aproximadamente 53% de LNA, cerca de sete vezes mais quando comparado ao óleo de soja, com apenas 7% deste ácido (ISEO, 2016).

5.6.2 Composição em ácidos graxos nos filés de pacu

Os perfis de ácidos graxos dos filés de juvenis de pacu e os índices de qualidade lipídica (índice de aterogenicidade – IA e de trombogenicidade – IT) podem ser observados nas Tabelas 18 e 19, respectivamente.

Tabela 18 – Composição em ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) nos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.

Ácido graxo	T1	T2	T3	T4	T5	T6
12:0	0,07	0,05	0,05	0,06	0,06	0,06
14:0	3,27	3,16	3,15	3,40	3,41	3,39
14:1	0,34	0,34	0,35	0,38	0,38	0,36
15:0	0,05	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07
16:0	21,98 ^{ab}	21,21 ^b	21,32 ^b	22,90 ^a	22,33 ^{ab}	23,25 ^a
16:1	6,70	6,71	7,02	7,39	7,27	7,37
17:0	0,08	0,08	0,09	0,10	0,10	0,10
18:0	8,01 ^{ab}	7,69 ^b	7,90 ^b	8,11 ^{ab}	7,94 ^b	8,53 ^a
18:1n-9c	36,58 ^b	37,73 ^b	37,63 ^b	38,24 ^{ab}	39,18 ^a	39,16 ^a
18:1n-9t	0,08	0,08	0,08	0,11	0,08	0,09
18:2n-6c	16,96 ^a	16,80 ^a	15,64 ^{ab}	15,10 ^{ab}	14,67 ^b	13,23 ^c
18:3n-6	0,45 ^a	0,41 ^{ab}	0,38 ^{bc}	0,38 ^{bc}	0,39 ^{abc}	0,27 ^c
18:3n-3	1,32 ^c	1,71 ^b	2,53 ^a	1,05 ^d	1,30 ^c	1,76 ^b
20:0	0,09	0,10	0,10	0,11	0,10	0,11
20:1n-9	0,37 ^a	0,36 ^{ab}	0,34 ^b	0,35 ^{ab}	0,34 ^b	0,35 ^{ab}
20:2	0,47 ^a	0,45 ^a	0,42 ^{ab}	0,37 ^{abc}	0,35 ^{bc}	0,33 ^c
20:3n-6	0,97	0,88	0,86	0,77	0,87	0,74
20:3n-3	0,06 ^{bc}	0,08 ^b	0,11 ^a	0,04 ^c	0,05 ^c	0,07 ^b
20:4n-6	1,58 ^a	1,48 ^a	1,24 ^a	0,89 ^{ab}	0,95 ^a	0,58 ^b
20:5n-3	0,12 ^b	0,14 ^{ab}	0,20 ^a	0,07 ^c	0,10 ^{bc}	0,08 ^c
22:0	0,07 ^{ab}	0,06 ^b	0,07 ^{ab}	0,08 ^a	0,06 ^b	0,07 ^{ab}
22:1n-9	0,03 ^{ab}	0,02 ^{ab}	0,01 ^{ab}	0,03 ^a	0,01 ^b	0,02 ^{ab}
22:6n-3	0,25 ^a	0,30 ^a	0,36 ^a	0 ^b	0 ^b	0 ^b
24:0	0,06 ^a	0,04 ^a	0,03 ^a	0 ^b	0 ^b	0 ^b
24:1n-9	0,01 ^{ab}	0,03 ^{ab}	0,04 ^a	0 ^b	0 ^b	0 ^b

T1: óleo de soja; T2: óleo de gergelim+óleo de linhaça; T3: óleo de linhaça; T4: óleo de soja+ácido alfa-lipoico; T5: óleo de gergelim+óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico; T6: óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico;

Médias sem letras em mesma linha não diferem entre si ($P>0,05$);

Médias com letras diferentes em mesma linha diferem entre si ($P<0,05$).

Fonte: Própria autoria.

Tabela 19 – Somatórias e razões de categorias de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) e índices de qualidade lipídica de filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.

Somatória, razão e índice	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Σ AGS	33,72 ^{ab}	32,47 ^b	32,78 ^b	34,84 ^a	34,07 ^{ab}	35,59 ^a
Σ AGM	45,04 ^b	46,10 ^b	46,28 ^b	47,24 ^{ab}	48,12 ^a	48,06 ^a
Σ AGPI	21,24 ^a	21,40 ^a	20,90 ^a	17,92 ^{ab}	17,81 ^b	16,35 ^b
Σ n-3	1,75 ^{bc}	2,22 ^b	3,20 ^a	1,15 ^d	1,44 ^{cd}	1,92 ^b
Σ n-6	19,95 ^a	19,57 ^a	18,12 ^a	17,14 ^{ab}	16,87 ^b	14,81 ^b
AGPI/AGS	0,63 ^a	0,66 ^a	0,64 ^a	0,51 ^{ab}	0,52 ^{ab}	0,46 ^b
n-6/n-3	11,39 ^b	8,83 ^c	5,66 ^d	14,84 ^a	11,71 ^b	7,73 ^c
IA	0,53 ^{ab}	0,50 ^b	0,50 ^b	0,56 ^{ab}	0,54 ^{ab}	0,57 ^a
IT	0,88 ^{abc}	0,81 ^{bc}	0,77 ^c	0,96 ^a	0,91 ^{ab}	0,94 ^a

T1: óleo de soja; T2: óleo de gergelim+óleo de linhaça; T3: óleo de linhaça; T4: óleo de soja+ácido alfa-lipoico; T5: óleo de gergelim+óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico; T6: óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico; Σ AGS: somatória dos ácidos graxos saturados; Σ AGM: somatória dos ácidos graxos monoinsaturados; Σ AGPI: somatória dos ácidos graxos poli-insaturados; Σ n-3: somatória dos ácidos graxos n-3; Σ n-6: somatória dos ácidos graxos n-6; AGPI/AGS: razão entre os ácidos graxos poli-insaturados e insaturados; n-6/n-3: razão entre os ácidos graxos n-6 e n-3; IA: índice de aterogenicidade; IT: índice de trombogenicidade;

Médias com letras diferentes em mesma linha diferem entre si (P<0,05).

Fonte: Própria autoria.

A análise de composição em ácidos graxos evidenciou que, diferente do que foi observado na composição das dietas, foi detectado maior número de ácidos graxos (25) nos filés e o mais abundante foi o 18:1n-9c, enquanto que nas dietas, foi o 18:2n-6c. Os outros ácidos graxos em maior quantidade nos filés foram: palmítico (16:0), linoleico (18:2n-6c), esteárico (18:0), palmitoleico (16:1) e, em menores proporções, mirístico (14:0), linolênico (18:3n-3) e araquidônico (20:4n-6).

Tendência similar de composição em ácidos graxos foi verificada em filés de pacu encontrados na natureza, com maiores concentrações do 18:1n-9 (37,25% da área relativa), seguido do 16:0 (19,96% da área relativa) (RAMOS FILHO et al., 2008) e no corpo inteiro de juvenis de pacu alimentados com dietas contendo diferentes proporções de óleo de soja e linhaça, contendo mais 18:1n-9c (27% dos ácidos graxos totais) e 16:0 (18%) (SEGURA, 2016). Em filés de tilápias alimentadas com dietas contendo 7% de óleo de soja, também foi identificado como ácido graxo majoritário o 18:1n-9 (34,23% da área relativa) e 16:0 (23,48% da área relativa) (TONIAL et al., 2011).

Os ácidos graxos presentes em maior quantidade nos filés de pacu, o oleico (18:1n-9c) e o palmítico (16:0), foram depositados em teores mais elevados nos filés dos peixes alimentados com dietas contendo ácido alfa-lipoico (T5 e T6). Enquanto que o

docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3), foi incorporado em maiores concentrações nos filés dos peixes que não receberam as dietas suplementadas com AAL (T1, T2 e T3).

As concentrações de 14:0 (3,30%) e 16:1 (7,08%) detectadas nos filés foram maiores que as encontradas nas dietas, que foram em torno de 0,13 e 0,15%, respectivamente. Os teores de 18:0 também foram detectados em maior quantidade nos filés que nas dietas, sendo os filés de T6 os que apresentaram maiores concentrações deste ácido.

Os ácidos graxos essenciais linoleico (18:2n-6c) e linolênico (18:3n-3) foram detectados em maior quantidade nas dietas, quando comparado aos filés. Enquanto que seus metabólitos, os ácidos graxos da família n-6, gama-linolênico (18:3n-6), eicosatrienoico (20:3n-6), araquidônico (20:4n-6), bem como os da família n-3, eicosapentaenoico (20:5n-3) e docosahexaenoico (22:6n-3), não foram detectados nas dietas, mas estavam presentes nos filés. Embora não tenha sido possível fazer análise da atividade de enzimas, é possível que o aparecimento destes ácidos graxos nos filés seja resultado dos processos de alongamento e dessaturação a partir dos seus precursores (18:2n-6c e 18:3n-3) (OLSEN, 2009).

Diferente do que foi observado nas dietas do presente trabalho, os ácidos graxos majoritários detectados nos filés foram os monoinsaturados, seguido dos saturados e, em menores concentrações, os poli-insaturados. Em estudo realizado com quatro espécies de peixes capturados em rio do Mato Grosso do Sul, Ramos Filho et al. (2008) verificaram mesma tendência na composição em ácidos graxos nos filés de todas as espécies analisadas.

Os ácidos graxos poli-insaturados foram detectados em menor quantidade nos filés, quando comparados às dietas experimentais. No entanto, destaca-se que, assim como foi observado nas dietas, foi detectada maior quantidade de AGPI n-6 do que AGPI n-3 nos filés.

As razões n-6/n-3 encontradas nos filés de juvenis de pacu foram maiores que as encontradas nas dietas, com exceção dos filés dos peixes alimentados com a dieta T3, mas apresentaram mesma tendência, com maiores valores nas dietas e filés dos tratamentos T1 e T4, com óleo de soja, e menores nos tratamentos T3 e T6, com óleo de linhaça. É importante salientar que a única dieta capaz de reduzir a razão n-6/n-3 nos filés foi a dieta T3.

Considerando-se que a relação n-6/n-3 na dieta é essencial no metabolismo do organismo humano, pois auxilia na prevenção de doenças cardiovasculares e degenerativas e melhora a saúde mental, recomenda-se que essa razão seja entre 5 e 10 (SIMOPOULOS, 1991; NOVELO; FRANCESCHINI; QUINTILIANO, 2008), pois quanto maior a proporção de ácidos graxos n-6/n-3 encontrada nos alimentos, maior a taxa de mortalidade por doença cardiovascular (SIMOPOULOS, 2002). Sendo assim, os filés dos peixes que apresentaram razões dentro do recomendado para a alimentação humana são dos tratamentos T2 (OG+OL),

T3 (OL) e T6 (OL+AAL). Maia e Rodríguez-Amaya (1992) encontraram razão de 9,8 para tambaqui (*Colossoma macropomum*), Maia, Rodríguez-Amaya e Hotta (1995), de 14,1 para pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Moreira et al. (2001), de 8,79 para matrinxã (*Brycon sp*) e Tonial et al. (2011) encontraram razões que variaram de 7,90 a 13,98, para tilápias alimentadas com rações contendo óleo de soja.

Os filés dos pacus de todos os tratamentos apresentaram concentrações de LA (18:2n-6c), LNA (18:3n-3) e AA (20:4n-6) maiores que os valores mínimos recomendados para crianças, sendo de 10% de LA, 1,50% de LNA e 0,50% de AA. Os filés dos peixes que receberam as dietas com óleo de linhaça (T3) foram os únicos com teores de DHA acima do mínimo (0,35%) recomendado para dietas de crianças. Quanto às proporções de EPA, os filés dos peixes que receberam a suplementação com AAL (T4, T5 e T6), foram os que apresentaram os teores recomendados para a dieta de crianças, menor que 0,10%, pois, em maior quantidade, pode interferir no seu crescimento (SIMOPOULOS; LEAF; SALEM JR, 1999).

O índice de aterogenicidade (IA) indica a relação entre os ácidos graxos pro-aterogênicos (quando favorecem a adesão de lipídeos a células dos sistemas imunológico e circulatório) e os anti-aterogênicos (quando inibem a agregação plaquetária e diminuem os níveis de ácidos graxos esterificados, colesterol e fosfolipídeos) (TURAN; SÖNMEZ; KAYA, 2007). De acordo com a equação sugerida por Ulbricht e Southgate (1991), observa-se que os pro-aterogênicos são os ácidos graxos saturados láurico (12:0), mirístico (14:0) e palmítico (16:0), sendo o mirístico quatro vezes mais potente que os demais. Enquanto que os anti-aterogênicos são os ácidos graxos insaturados, considerados igualmente eficazes na diminuição da aterogenicidade (TURAN; SÖNMEZ; KAYA, 2007).

Neste estudo, os maiores ($P < 0,05$) valores de IA foram observados nos filés dos peixes alimentados com a dieta OL+AAL, enquanto que os peixes alimentados com OG+OL e OL, sem a suplementação com o AAL, foram os que apresentaram os filés com menores índices de aterogenicidade. Resultados semelhantes foram encontrados em filés de tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas suplementadas com 7% de óleo de soja, após o período de 90 dias (0,49) (TONIAL et al., 2011).

O índice de trombogenicidade (IT), por sua vez, indica a relação entre os ácidos graxos pro-trombogênicos e os anti-trombogênicos, indicando assim a tendência para formar ou não coágulos nos vasos sanguíneos (SENSO et al., 2007). Os pro-trombogênicos são os ácidos graxos saturados mirístico (14:0), palmítico (16:0) e esteárico (18:0). E os anti-trombogênicos são os ácidos graxos insaturados, com diferentes capacidades de diminuição da

trombogenicidade, onde os AGPI n-3 são os mais eficazes (ULBRICHT; SOUTHGATE, 1991).

Os filés dos peixes alimentados com as dietas com OS+AAL e OL+AAL apresentaram maiores ($P<0,05$) índices de trombogenicidade e os que apresentaram valores mais baixos entre todos os tratamentos foram os filés dos peixes que receberam a dieta com OL, sem AAL. Em estudo realizado com filés de tilápias alimentadas com dietas contendo óleo de soja, os resultados de IT (0,90) foram semelhantes aos encontrados nos filés dos peixes deste estudo que receberam as dietas com a mesma fonte lipídica (TONIAL et al., 2011).

É importante salientar que os índices de aterogenicidade e trombogenicidade avaliam os diferentes efeitos dos ácidos graxos na saúde humana e, apesar de não haver valores recomendados conhecidos para IA e IT, considera-se que valores mais baixos expressem uma relação de ácidos graxos mais saudáveis (ASSUNÇÃO, 2007).

Sendo assim, é interessante buscar alimentos mais ricos em ácidos graxos insaturados, pois apresentam caráter anti-aterogênico e anti-trombogênico, podendo ajudar na prevenção contra o aparecimento de doenças micro e macrocoronárias (TURAN; SÖNMEZ; KAYA, 2007).

Para verificar se houve diferença estatística dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL), os quadros da análise de variância (ANOVA) da composição em ácidos graxos, bem como das somatórias, razões de categorias de ácidos graxos e índices de qualidade lipídica dos filés, podem ser observados nas Tabelas 20 e 21, respectivamente.

Tabela 20 – Quadro da análise de variância (ANOVA) com o p-valor dos tipos de óleo, dos níveis de ácido alfa-lipoico (AAL) e da interação Óleo*AAL, coeficiente de variação e média geral da composição em ácidos graxos nos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.

Ácido graxo	Fontes de variação				
	Óleo	AAL	Óleo*AAL	CV	Média geral
12:0	0,40 ^{ns}	0,65 ^{ns}	0,40 ^{ns}	21,00	0,06
14:0	0,79 ^{ns}	0,04 [*]	0,79 ^{ns}	4,27	3,30
14:1	0,70 ^{ns}	0,03 [*]	0,25 ^{ns}	4,75	0,36
15:0	0,78 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,90 ^{ns}	16,62	0,06
16:0	0,16 ^{ns}	0,01 [*]	0,21 ^{ns}	2,56	22,17
16:1	0,26 ^{ns}	<0,01 [*]	0,44 ^{ns}	3,00	7,08
17:0	0,79 ^{ns}	0,02 [*]	0,79 ^{ns}	7,11	0,09
18:0	0,01 [*]	0,01 [*]	0,04 [*]	1,82	8,03
18:1n-9c	0,03 [*]	<0,01 [*]	0,90 ^{ns}	0,94	38,08
18:1n-9t	0,35 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,35 ^{ns}	20,46	0,09
18:2n-6c	<0,01 [*]	<0,01 [*]	0,62 ^{ns}	2,96	15,40
18:3n-6	<0,01 [*]	<0,01 [*]	0,10 ^{ns}	5,65	0,38
18:3n-3	<0,01 [*]	<0,01 [*]	<0,01 [*]	3,60	1,61
20:0	0,91 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,36 ^{ns}	13,10	0,10
20:1n-9	0,24 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,07 ^{ns}	2,82	0,35
20:2	0,11 ^{ns}	<0,01 [*]	0,81 ^{ns}	5,26	0,40
20:3n-6	0,77 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,73 ^{ns}	19,91	0,85
20:3n-3	<0,01 [*]	<0,01 [*]	0,07 ^{ns}	8,66	0,07
20:4n-6	<0,01 [*]	<0,01 [*]	0,58 ^{ns}	12,93	1,12
20:5n-3	<0,01 [*]	<0,01 [*]	<0,01 [*]	13,68	0,12
22:0	0,01 [*]	0,09 ^{ns}	0,08 ^{ns}	8,66	0,07
22:1n-9	0,06 ^{ns}	0,75 ^{ns}	0,32 ^{ns}	45,19	0,02
22:6n-3	0,11 ^{ns}	<0,01 [*]	0,11 ^{ns}	24,82	0,15
24:0	0,05 ^{ns}	<0,01 [*]	0,05 ^{ns}	24,00	0,02
24:1n-9	0,48 ^{ns}	0,01 [*]	0,48 ^{ns}	81,01	0,01

AAL: ácido alfa-lipoico; CV: coeficiente de variação; ^{ns} não significativo (P>0,05); ^{*} significativo (P<0,05);
 Fonte: Própria autoria.

Tabela 21 – Quadro da análise de variância (ANOVA) com o p-valor dos tipos de óleo, dos níveis de ácido alfa-lipoico (AAL) e da interação Óleo*AAL, coeficiente de variação e média geral das somatórias e razões de categorias de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) e índices de qualidade lipídica de filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.

Somatória, razão e índice	Fontes de variação				
	Óleo	AAL	Óleo*AAL	CV	Média geral
Σ AGS	0,14 ^{ns}	0,01*	0,20 ^{ns}	2,38	33,91
Σ AGM	0,03*	<0,01*	0,29 ^{ns}	0,75	46,81
Σ AGPI	0,06 ^{ns}	<0,01*	0,30 ^{ns}	3,72	19,27
Σ n-3	<0,01*	<0,01*	<0,01*	5,45	1,95
Σ n-6	<0,01*	<0,01*	0,64 ^{ns}	3,93	17,74
AGPI/AGS	0,16 ^{ns}	<0,01*	0,30 ^{ns}	6,27	0,57
n-6/n-3	<0,01*	<0,01*	0,06 ^{ns}	3,81	10,03
IA	0,47 ^{ns}	0,01*	0,32 ^{ns}	3,87	0,53
IT	0,11 ^{ns}	<0,01*	0,13 ^{ns}	4,07	0,88

AAL: ácido alfa-lipoico; CV: coeficiente de variação; Σ AGS: somatória dos ácidos graxos saturados; Σ AGM: somatória dos ácidos graxos monoinsaturados; Σ AGPI: somatória dos ácidos graxos poli-insaturados; Σ n-3: somatória dos ácidos graxos n-3; Σ n-6: somatória dos ácidos graxos n-6; AGPI/AGS: razão entre os ácidos graxos poli-insaturados e insaturados; n-6/n-3: razão entre os ácidos graxos n-6 e n-3; IA: índice de aterogenicidade; IT: índice de trombogenicidade;

^{ns} não significativo (P>0,05); * significativo (P<0,05);

Fonte: Própria autoria.

Observa-se que a utilização de AAL teve efeito (P<0,05) sobre os resultados das somatórias de AGS, AGM, AGPI, n-3, n-6, nas razões entre os AGPI n-6/n-3, AGPI/AGS e DHA/EPA, bem como nos índices que avaliam a qualidade lipídica (IA e IT). O tipo de óleo utilizado nas dietas apresentou diferença (P<0,05) em quase todas as somatórias, com exceção dos índices de AGS e AGPI, mas não afetou (P>0,05) as razões n-6/n-3, AGPI/AGS e DHA/EPA, nem os índices de qualidade lipídica (IA e IT).

Vários ácidos graxos apresentaram diferença significativa (P<0,05) dentro de algum fator (tipos de óleo ou níveis de AAL) ou interação óleo*AAL significativa (P<0,05). Os resultados de composição em ácidos graxos, bem como das somatórias e razões de categorias de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) e dos índices de qualidade lipídica dos filés de pacu que apresentaram diferenças dentro de algum fator podem ser observados nas Tabelas 22 e 23, respectivamente.

Tabela 22 – Composição em ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) nos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais, dentro de cada fator (tipos de óleo e níveis de AAL).

Ácido graxo	Tipos de óleo			P-valor	Níveis de AAL		P-valor
	OS	OG+OL	OL		Sem	Com	
14:0	3,33	3,29	3,27	0,79 ^{ns}	3,19 ^b	3,40 ^a	0,04 [*]
14:1	0,36	0,36	0,35	0,70 ^{ns}	0,34 ^b	0,37 ^a	0,03 [*]
16:0	22,44	21,77	22,28	0,16 ^{ns}	21,50 ^b	22,83 ^a	0,01 [*]
16:1	7,04	6,99	7,19	0,26 ^{ns}	6,81 ^b	7,34 ^a	<0,01 [*]
17:0	0,09	0,09	0,09	0,79 ^{ns}	0,08 ^b	0,10 ^a	0,02 [*]
18:1n-9c	37,41 ^b	38,45 ^a	38,39 ^a	0,03 [*]	37,31 ^b	38,86 ^a	<0,01 [*]
18:2n-6c	16,03 ^a	15,73 ^a	14,43 ^b	<0,01 [*]	16,46 ^a	14,33 ^b	<0,01 [*]
18:3n-6	0,41 ^a	0,40 ^a	0,33 ^b	<0,01 [*]	0,41 ^a	0,34 ^b	<0,01 [*]
20:2	0,42	0,40	0,38	0,11 ^{ns}	0,45 ^a	0,35 ^b	<0,01 [*]
20:3n-3	0,05 ^b	0,06 ^b	0,09 ^a	<0,01 [*]	0,08 ^a	0,05 ^b	<0,01 [*]
20:4n-6	1,24 ^a	1,21 ^a	0,90 ^b	<0,01 [*]	1,43 ^a	0,81 ^b	<0,01 [*]
22:0	0,08 ^a	0,06 ^b	0,07 ^{ab}	0,01 [*]	0,06	0,07	0,09 ^{ns}
22:6n-3	0,12	0,15	0,18	0,11 ^{ns}	0,30 ^a	0 ^b	<0,01 [*]
24:0	0,03	0,02	0,02	0,05 ^{ns}	0,04 ^a	0 ^b	<0,01 [*]
24:1n-9	0,01	0,01	0,02	0,48 ^{ns}	0,03 ^a	0 ^b	0,01 [*]

OS: óleo de soja; OG+OL: óleo de gergelim + óleo de linhaça; OL: óleo de linhaça; AAL: ácido alfa-lipoico;
^{ns} não significativo (P>0,05); * significativo (P<0,05);

Médias do mesmo fator sem letras em mesma linha não diferem entre si (P>0,05);

Médias do mesmo fator seguidas com letras diferentes em mesma linha diferem entre si (P<0,05).

Fonte: Própria autoria.

Tabela 23 – Somatórias, razões de categorias de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) e índices de qualidade lipídica de filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.

Somatória, razão e índices	Tipos de óleo			P-valor	Níveis de AAL		P-valor
	OS	OG+OL	OL		Sem	Com	
ΣAGS	34,27	33,27	34,18	0,14 ^{ns}	32,99 ^b	34,83 ^a	0,01 [*]
ΣAGM	46,14 ^b	47,11 ^a	47,17 ^a	0,03 [*]	45,81 ^b	47,81 ^a	<0,01 [*]
ΣAGPI	19,58	19,61	18,63	0,06 ^{ns}	21,18 ^a	17,36 ^b	<0,01 [*]
Σn-6	18,54 ^a	18,22 ^a	16,46 ^b	<0,01 [*]	19,21 ^a	16,27 ^b	<0,01 [*]
AGPI/AGS	0,57	0,59	0,55	0,16 ^{ns}	0,64 ^a	0,50 ^b	<0,01 [*]
n-6/n-3	13,12 ^a	10,27 ^b	6,70 ^c	<0,01 [*]	8,63 ^b	11,43 ^a	<0,01 [*]
IA	0,54	0,52	0,53	0,47 ^{ns}	0,51 ^b	0,56 ^a	0,01 [*]
IT	0,92	0,86	0,85	0,11 ^{ns}	0,82 ^b	0,94 ^a	<0,01 [*]

OS: óleo de soja; OG+OL: óleo de gergelim + óleo de linhaça; OL: óleo de linhaça; AAL: ácido alfa-lipoico; ΣAGS: somatória dos ácidos graxos saturados; ΣAGM: somatória dos ácidos graxos monoinsaturados; ΣAGPI: somatória dos ácidos graxos poli-insaturados; Σn-6: somatória dos ácidos graxos n-6; AGPI/AGS: razão entre os ácidos graxos poli-insaturados e insaturados; n-6/n-3: razão entre os ácidos graxos n-6 e n-3; IA: índice de aterogenicidade; IT: índice de trombogenicidade;

^{ns} não significativo (P>0,05); ^{*} significativo (P<0,05);

Médias do mesmo fator sem letras em mesma linha não diferem entre si (P>0,05);

Médias do mesmo fator seguidas com letras diferentes em mesma linha diferem entre si (P<0,05).

Fonte: Própria autoria.

Nos filés dos peixes alimentados com dietas contendo ácido alfa-lipoico foram detectados maiores concentrações dos seguintes ácidos graxos: 14:0, 14:1, 16:0, 16:1, 17:0 e 18:1n-9. Nos filés dos peixes que não receberam a suplementação com AAL, verificou-se que os ácidos graxos presentes em maiores concentrações foram: 18:2n-6c, 18:3n-6, 20:2, 20:3n-3, 20:4n-6, 22:6n-3, 24:0 e 24:1n-9.

Trattner et al. (2008), com o objetivo de avaliar os efeitos fisiológicos da inclusão da sesamina na composição de ácidos graxos de trutas arco-íris alimentadas com dietas à base de óleos vegetais, observaram o aumento significativo (P<0,05) do ácido docosaheptaenoico (DHA, 22:6n-3) no músculo branco dos peixes. Por outro lado, Vestergren et al. (2013), ao avaliarem o efeito da combinação de óleo de linhaça à sesamina sobre a composição de ácidos graxos no músculo branco de trutas arco-íris, observaram que a sesamina não promoveu alterações significativas (P>0,05) nos resultados.

Neste trabalho, o ácido graxo encontrado em maiores proporções nos filés do pacu, o 18:1n-9c, foi detectado em maiores concentrações nos filés dos peixes alimentados com as dietas contendo OG+OL e OL. Os ácidos graxos poli-insaturados 18:2n-6c, 18:3n-6 e 20:4n-6, foram encontrados em maiores concentrações nos filés dos peixes que receberam as dietas com OS e OG+OL, sendo também os filés com maiores teores de n-6.

Tais resultados refletem mesma tendência observada nas dietas experimentais, com exceção dos AGPI n-6, que foram detectados em maior quantidade apenas nas dietas com OS, enquanto que, nos filés, foram encontrados em maiores proporções nos que receberam as dietas com OS e OG+OL. Os resultados podem estar relacionados com a composição em ácidos graxos dos óleos utilizados nas dietas, com maiores teores de n-6 no óleo de soja (ISEO, 2016).

Além disso, o tipo de óleo utilizado nas dietas também afetou ($P<0,05$) a concentração do ácido graxo 20:3n-3, com maiores teores nos filés dos peixes alimentados com óleo de linhaça, óleo mais rico em ácidos graxos da família n-3, quando comparado aos outros óleos (soja e gergelim) (TANGO; CARVALHO; SOARES, 2004; ISEO, 2016) utilizados no presente estudo.

Os ácidos graxos saturados foram encontrados em maior ($P<0,05$) quantidade nos filés dos peixes que receberam as dietas com AAL e, em menor concentração, nos que receberam as dietas sem AAL. Em filés de juvenis de pacu alimentados com dietas contendo ou não AAL, não foi observado diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos, com valores médios de 28,8 a 32,4% de AGS (TRATTNER et al., 2007).

Os peixes que receberam as dietas com a mistura de óleo de gergelim e linhaça e apenas óleo de linhaça apresentaram filés com maiores ($P<0,05$) teores de ácidos graxos monoinsaturados, bem como nas dietas com ácido alfa-lipoico. Em estudo realizado com suplementação de AAL e ácido ascórbico, Trattner et al. (2007) observaram o oposto, ou seja, os filés dos peixes que receberam as dietas contendo AAL apresentaram menores teores (34,9 e 35,1%) de ácidos graxos monoinsaturados do que aqueles que não receberam (37,5 e 37,6%).

Os ácidos graxos poli-insaturados foram detectados em maiores proporções nos filés dos peixes que receberam as dietas com ácido alfa-lipoico, mesmo resultado obtido por Trattner et al. (2007), em juvenis de pacu alimentados com dietas suplementadas com AAL. No entanto, as razões entre os ácidos graxos poli-insaturados e saturados foram maiores ($P<0,05$) nos filés dos peixes que receberam as dietas sem ácido alfa-lipoico e, entre os filés dos peixes que receberam a suplementação com AAL, foram menores nos filés do tratamento com OL.

As relações n-6/n-3 dos filés mantiveram a mesma tendência que nas dietas, as quais foram maiores nos tratamentos com OS, seguidos dos que receberam a mistura de OG+OL e menores nos grupos alimentados com OL, evidenciando claramente o vínculo entre o perfil de ácidos graxos das dietas e dos filés dos peixes. Por outro lado, diferente do que foi observado nas dietas, as razões n-6/n-3 foram afetadas ($P<0,05$) pela suplementação com ácido alfa-lipoico nas dietas, sendo menores nos filés dos peixes que não receberam a suplementação.

A suplementação com ácido alfa-lipoico nas dietas também influenciou ($P<0,05$) os resultados dos índices de aterogenicidade e trombogenicidade nos filés dos peixes. Apesar de não haver valores recomendados de IA e IT e sabendo-se que quanto menor esses valores, maior a quantidade de ácidos anti-aterogênicos e anti-trombogênicos, recomenda-se o consumo dos filés dos peixes que não receberam a suplementação com AAL, pois apresentaram menores valores médios de IA e IT e, portanto, melhor qualidade lipídica. Os valores médios dos índices de aterogenicidade e de trombogenicidade dos filés de pacu obtidos no presente estudo são similares aos encontrados em filés de tilápias-do-nilo (0,49 e 0,90, respectivamente) alimentadas com dietas contendo óleo de soja (TONIAL et al., 2011).

As médias que apresentaram interação significativa ($P<0,05$) entre os fatores avaliados (tipos de óleo e níveis de AAL) podem ser observadas na Tabela 24.

Tabela 24 – Comparação de médias de alguns ácidos graxos e somatória dos ácidos graxos poli-insaturados n-3 (% dos ácidos graxos totais) nos filés de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais, que apresentaram interação Óleo*AAL significativa ($P<0,05$).

Ácido graxo	AAL	OS	OG+OL	OL	P-valor*
18:0	Sem	8,01 ^{aB}	7,69 ^{bB}	7,90 ^{abB}	0,04
	Com	8,11 ^{bA}	7,94 ^{aB}	8,53 ^{aA}	
18:3n-3	Sem	1,33 ^{cA}	1,71 ^{bA}	2,53 ^{aA}	<0,01
	Com	1,05 ^{cB}	1,30 ^{bB}	1,77 ^{bA}	
20:5n-3	Sem	0,12 ^{bA}	0,15 ^{bA}	0,20 ^{aA}	<0,01
	Com	0,07 ^{aB}	0,10 ^{aA}	0,08 ^{bA}	
Σ n-3	Sem	1,76 ^{cA}	2,22 ^{bA}	3,20 ^{aA}	<0,01
	Com	1,15 ^{cB}	1,44 ^{bB}	1,92 ^{bA}	

* P-valor da interação Óleo*AAL;

AAL: ácido alfa-lipoico; OS: óleo de soja; OG+OL: óleo de gergelim + óleo de linhaça; OL: óleo de linhaça; EP: erro padrão; Σ n-3: somatória dos ácidos graxos n-3;

Médias do fator óleo em cada nível de AAL, para cada variável, seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (5%)

Médias do fator AAL em cada nível de Óleo, para cada variável, seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste F (5%).

Fonte: Própria autoria.

As dietas com óleo de linhaça, suplementadas com ácido alfa-lipoico promoveram maiores ($P<0,05$) concentrações de 18:0 nos filés. No entanto, os filés dos peixes alimentados com dietas contendo apenas óleo de linhaça, apresentaram maiores proporções de 18:3n-3, 20:5n-3, resultando assim em maiores valores médios de AGPI n-3. Tais resultados são coerentes, já que o óleo de linhaça é o óleo mais rico em ácidos graxos da família n-3, quando

comparado aos óleos de soja e gergelim (TANGO; CARVALHO; SOARES, 2004; ISEO, 2016), utilizados na composição das outras dietas experimentais.

Resultados semelhantes foram encontrados por Kim et al. (2012), que, ao avaliar os efeitos de diferentes fontes lipídicas sobre a composição em ácidos graxos em filés de linguado (*Paralichthys olivaceus*), observaram que as dietas tiveram efeito no perfil de ácidos graxos dos filés. Verificou-se que os peixes alimentados com as dietas com óleo de soja apresentaram maiores teores de ácido linoleico (LA, 18:2n-6c) e os que receberam as dietas contendo óleo de linhaça, maiores de ácido linolênico (LNA, 18:3n-3).

Ao contrário do que foi obtido no presente estudo, Trattner et al. (2007) observaram que a suplementação com ácido alfa-lipoico nas dietas para juvenis de pacu promoveu a obtenção de filés com maiores concentrações ($P < 0,05$) de ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3).

Ao analisar a composição em ácidos graxos de corpo eviscerado de lambaris alimentados com dietas contendo diferentes fontes lipídicas (óleos de soja, linhaça, gergelim e de resíduo de peixe), também verificou-se maiores concentrações desses ácidos graxos nos peixes alimentados com as dietas contendo apenas óleo de linhaça (6,00% de 18:3n-3; 0,76% de 20:5n-3) e com as dietas com óleo de gergelim e óleo de linhaça (3,31% de 18:3n-3; 0,62% de 20:5n-3) (NATORI, 2015).

Com o intuito de avaliar a composição de ácidos graxos de pacu e pintado, cultivados ou selvagens, Matsushita, Zio de Souza e Visentainer (2008) observaram que os animais que se alimentaram de dietas deficientes em ácido linolênico (LNA, 18:3n-3), precursor de ácidos graxos poli-insaturados n-3, apresentaram baixas concentrações de AGPI n-3 no músculo branco. Além disso, os animais selvagens, tanto pacu quanto pintado, apresentaram maiores níveis de 20:5n-3 (EPA) e 22:6n-3 (DHA), quando comparados aos animais cultivados, nas quais as diferenças mais discrepantes foram encontradas entre os animais da espécie pacu. Concluíram, dessa forma, que alterando a composição das dietas fornecidas para os peixes cultivados, pode-se aumentar o seu valor nutricional.

5.6.3 Composição em ácidos graxos nos fígados de pacu

Os resultados de composição, somatórias e razões de categorias de ácidos graxos nos fígados de juvenis de pacu podem ser observados nas Tabela 25 e 26, respectivamente.

Tabela 25 – Composição em ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) nos fígados de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.

Ácido graxo	T1	T2	T3	T4	T5	T6
12:0	0,07	0,07	0,06	0,06	0,06	0,09
14:0	4,11	4,45	3,44	4,21	4,39	4,48
14:1	0,47	0,51	0,41	0,50	0,51	0,53
15:0	0,05	0,05	0,05	0,03	0,04	0,05
16:0	21,49	21,63	19,89	21,55	22,04	21,22
16:1	7,76	8,14	7,27	8,61	8,64	8,28
17:0	0,09	0,07	0,10	0,08	0,08	0,07
18:0	11,25	10,91	11,39	11,46	11,36	11,66
18:1n-9c	39,57	40,55	40,52	42,08	43,40	41,21
18:1n-9t	0,16	0,20	0,16	0,21	0,17	0,20
18:2n-6c	6,71	5,93	6,08	4,63	4,27	4,58
18:3n-6	0,38	0,32	0,34	0,35	0,27	0,28
18:3n-3	0,33	0,46	0,53	0,20	0,21	0,35
20:0	0,06	0,07	0,07	0,05	0,05	0,06
20:1n-9	0,51	0,51	0,50	0,45	0,41	0,49
20:2	0,55	0,49	0,61	0,44	0,34	0,46
20:3n-6	1,01	0,81	1,18	0,79	0,64	0,86
20:3n-3	0,03	0,05	0,07	0,02	0,03	0,04
20:4n-6	3,70	2,98	4,07	3,00	2,09	3,00
20:5n-3	0,09	0,09	0,24	0,08	0,06	0,15
22:0	0,18	0,19	0,26	0,11	0,09	0,15
22:6n-3	0,83	0,76	1,89	0,67	0,48	1,20
23:0	0,13	0,12	0,17	0,08	0,08	0,12
24:0	0,33	0,35	0,50	0,24	0,20	0,31
24:1n-9	0,14	0,17	0,19	0,08	0,09	0,14

T1: óleo de soja; T2: óleo de gergelim+óleo de linhaça; T3: óleo de linhaça; T4: óleo de soja+ácido alfa-lipoico; T5: óleo de gergelim+óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico; T6: óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico;

Fonte: Própria autoria.

Tabela 26 – Somatórias e razões de categorias de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) em fígados de juvenis de pacu alimentados com diferentes dietas experimentais.

Somatória e razão de ácidos graxos	T1	T2	T3	T4	T5	T6
ΣAGS	37,77	37,91	35,94	37,88	38,40	38,22
ΣAGM	49,47	50,72	50,04	52,65	53,77	51,56
ΣAGPI	12,62	11,20	13,83	9,39	7,75	10,08
Σn-3	1,27	1,35	2,74	0,97	0,77	1,75
Σn-6	11,80	10,04	11,66	8,76	7,27	8,72
AGPI/AGS	0,33	0,30	0,38	0,25	0,20	0,26
n-6/n-3	9,27	7,42	4,26	9,02	9,38	4,99

T1: óleo de soja; T2: óleo de gergelim+óleo de linhaça; T3: óleo de linhaça; T4: óleo de soja+ácido alfa-lipoico; T5: óleo de gergelim+óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico; T6: óleo de linhaça+ácido alfa-lipoico; ΣAGS: somatória dos ácidos graxos saturados; ΣAGM: somatória dos ácidos graxos monoinsaturados; ΣAGPI: somatória dos ácidos graxos poli-insaturados; Σn-3: somatória dos ácidos graxos n-3; Σn-6: somatória dos ácidos graxos n-6; AGPI/AGS: razão entre os ácidos graxos poli-insaturados e insaturados; n-6/n-3: razão entre os ácidos graxos n-6 e n-3;

Fonte: Própria autoria.

Embora não tenha sido possível fazer a análise de perfil de ácidos graxos com repetição, obteve-se o perfil de ácidos graxos, que nos permite uma visualização geral. Foram detectados nos fígados, quase todos os ácidos graxos presentes nos filés dos peixes, com exceção do 22:1n-9, presente nos filés, mas não detectado nos fígados. No entanto, o ácido 23:0 foi encontrado nos fígados, mas não estava presente nos filés.

Os ácidos graxos majoritários identificados nos fígados foram os ácidos oleico (18:1n-9c), palmítico (16:0), esteárico (18:0), palmitoleico (16:1), linoleico (18:2n-6c) e, em menores proporções, os ácidos mirístico (14:0) e araquidônico (20:4n-6). Esses ácidos graxos também foram observados em maiores proporções nos filés dos peixes, seguindo a mesma tendência observada nos fígados, com predominância do ácido oleico.

Foram detectados maiores teores de ácidos graxos monoinsaturados nos fígados dos peixes, seguidos dos saturados e, em menores proporções, os poli-insaturados. Foram encontrados mais ácidos graxos poli-insaturados n-6 do que n-3, seguindo a mesma tendência encontrada no perfil de ácidos graxos das dietas e dos filés.

Em fígados de pacu alimentados com suplementação de ácido linoleico conjugado, foi observado teor de 20,39% de n-6 e 5,39% de n-3 (SANTOS et al., 2009), valores maiores que os encontrados no presente trabalho. O ácido graxo em maior proporção nos fígados dos peixes foi o oleico (18:1n-9), variando de 39,57 a 43,40% dos ácidos graxos totais, seguido do 16:0 (19,89 a 22,04%), 18:0 (10,91 a 11,46%), 18:2n-6c (4,27 a 6,08%), 14:0 (3,44 a 4,48%) e 20:4n-6 (2,09 a 4,07%). A mesma tendência foi observada por Santos et al. (2009), cujos fígados

apresentaram em torno de 30% de 18:1n-9, 20% de 16:0, 14% de 18:0, 10% de 18:2n-6c, 3% de 20:4n-6 e 2% de 14:0.

Nos fígados, a relação entre os ácidos graxos poli-insaturados e saturados variou de 0,20 a 0,38 e, apesar de não ter sido realizada a análise estatística dos dados, é maior nos tratamentos que não receberam a suplementação com ácido alfa-lipoico. E a razão n-6/n-3 nos fígados apresentou a mesma tendência observada nas dietas e nos filés, com maiores valores médios nos tratamentos com OS, seguido do OG+OL e menor nos tratamentos com OL.

5.7 Histologia dos fígados de pacu

Os fígados coletados dos juvenis de pacu apresentaram coloração marrom claro, típico de peixes herbívoros (BERNET et al., 2004). A forma e constituição observada nos fígados dos peixes foram as mesmas descritas para várias espécies de peixes teleósteos já estudadas (HINTON; NIPES; KENDALL, 1972; HINTON; POOL, 1976; ROCHA; MONTEIRO; PEREIRA, 1994; BRUSLÉ; ANADON, 1996; ROCHA; MONTEIRO; PEREIRA, 1997; VICENTINI et al., 2005; FUJIMOTO; CRUZ, MORAES, 2008), não havendo nenhum tipo de característica particular entre os tratamentos.

A partir da análise da histologia dos fígados dos peixes que receberam a dieta comercial, observou-se que os hepatócitos apresentaram formato poliédrico e disposição normal do núcleo, nucléolo e citoplasma, com núcleo arredondado e central (podendo estar deslocado para a periferia da célula, em alguns casos), nucléolo bem evidente e citoplasma claro (Figura 8), assim como observado por Souza et al. (2001) e Fujimoto, Cruz e Moraes (2008) em seus grupos controle. Pode-se observar também a veia porta, responsável por drenar sangue para o fígado, o arranjo cordonal dos hepatócitos e os sinusoides (revestidos por células endoteliais), que encontram-se distribuídos irregularmente entre os hepatócitos (Figura 8).

Apesar da estrutura do fígado variar de acordo com a espécie, sexo, idade, alimentação ou até mesmo com as condições ambientais (GENTEN; TERWINGHE; DANGUY, 2009), algumas alterações observadas através da análise histológica podem ser um indicativo de estresse do animal ou nutrição inadequada.

Em estudo realizado com juvenis de pacu, alimentados com dietas com diferentes níveis de cromo trivalente e em diferentes densidades de estocagem, os fígados apresentaram alterações como: presença de congestão sanguínea (6 mg de cromo/kg de ração na maior densidade de estocagem); fusão celular dos hepatócitos e aumento do volume celular com deslocamento do núcleo para periferia (18 mg de cromo/kg de ração na menor densidade de

estocagem); bem como, ocorrência de necrose e desarranjo da estrutura cordonal (18 mg de cromo/kg de ração na maior densidade de estocagem) (FUJIMOTO; CRUZ; MORAES, 2008).

Figura 8 – Fotomicrografia (200 μ m) de corte histológico de fígados de pacu alimentados com dieta comercial, evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha), sinusoides (seta amarela) e veia porta (seta azul).

Fonte: Própria autoria.

As fotomicrografias referentes à análise histológica dos fígados dos peixes que receberam as dietas experimentais podem ser observadas nas figuras abaixo (Figuras 9, 10, 11, 12, 13 e 14).

Figura 9 – Fotomicrografia (200 μm) de corte histológico de fígados de pacus alimentados com a dieta T1 (OS), evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha) e sinusoides (seta amarela).

Fonte: Própria autoria.

Figura 10 – Fotomicrografia (200 μm) de corte histológico de fígados de pacus alimentados com a dieta T2 (OG+OL), evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha) e sinusoides (seta amarela).

Fonte: Própria autoria.

Figura 11 – Fotomicrografia (200 μm) de corte histológico de fígados de pacus alimentados com a dieta T3 (OL), evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha) e sinusoides (seta amarela).

Fonte: Própria autoria.

Figura 12 – Fotomicrografia (200 μm) de corte histológico de fígados de pacus alimentados com a dieta T4 (OS+AAL), evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha), sinusoides (seta amarela) e congestão vascular (seta rosa).

Fonte: Própria autoria.

Figura 13 – Fotomicrografia (200 μm) de corte histológico de fígados de pacus alimentados com a dieta T5 (OG+OL+AAL), evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha), sinusoides (seta amarela), veia porta (seta azul) e congestão vascular (seta rosa).

Fonte: Própria autoria.

Figura 14 – Fotomicrografia (200 μm) de corte histológico de fígados de pacus alimentados com a dieta T6 (OL+AAL), evidenciando hepatócito (seta preta), arranjo cordonal dos hepatócitos (seta vermelha), sinusoides (seta amarela) e congestão vascular (seta rosa).

Fonte: Própria autoria.

Foi observado, na histologia dos fígados dos peixes que receberam as dietas suplementadas com ácido alfa-lipoico (T4, T5 e T6), a presença de congestão sanguínea em alguns pontos. Porém, é importante salientar que melhores condições de saúde para os animais não se caracteriza pela ausência completa de alterações histopatológicas, sendo, portanto, normal a verificação de algumas alterações, como reações inflamatórias leves, pequenas modificações estruturais (BERNET et al., 2004) ou até mesmo o aparecimento de congestão sanguínea de forma moderada, como foi observado no presente estudo.

O núcleo dos hepatócitos em todos os grupos de peixes analisados encontram-se centralizados, indicativo de que a célula está com a atividade metabólica normal. A presença de vacuolizações citoplasmáticas aumenta o volume dos hepatócitos, deslocando o núcleo para a periferia da célula e indica a existência de regiões com provável concentração de lipídeos e glicogênio, ou a combinação de agentes tóxicos com lipídeos intracitoplasmáticos (SANTOS et al., 2004).

Levando em consideração que a alimentação pode influenciar a estrutura do fígado e que, dependendo da qualidade do alimento, pode provocar lesões no tecido hepático (ROCHA et al., 2010), evidenciou-se que as dietas experimentais neste trabalho não provocaram grandes alterações na histologia dos fígados dos peixes alimentados com diferentes fontes lipídicas e níveis de ácido alfa-lipoico.

Em casos de nutrição inadequada, pode-se observar algumas características na histologia dos fígados, como alteração das estruturas básicas, com núcleos localizados nas periferias dos hepatócitos, vacuolização citoplasmática e necrose das células (RAŠKOVIĆ et al., 2011). Levando em consideração que não foram observadas alterações significativas nos fígados dos peixes, pode-se afirmar que as dietas experimentais foram nutricionalmente adequadas, além de não promoverem danos à saúde dos peixes.

6 CONCLUSÕES

O óleo de linhaça adicionado às dietas melhora o peso médio e ganho de peso individual de pacus, além de alterar o perfil de ácidos graxos nos filés, aumentando a concentração de ácidos graxos poli-insaturados n-3, principalmente os ácidos linolênico e eicosapentaenoico.

A sesamina, fornecida por meio de óleo de gergelim, não promoveu alterações no desempenho zootécnico e nem na composição química e metabolismo de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) dos filés de juvenis de pacu.

A adição de ácido alfa-lipoico nas dietas não altera o desempenho zootécnico dos animais e na sua ausência, os filés de pacu acumulam maiores teores de proteína bruta e ácidos graxos poli-insaturados. Além disso, os peixes que não receberam a suplementação com ácido alfa-lipoico, apresentaram filés com menores índices de aterogenicidade e de trombogenicidade, conferindo assim melhor qualidade lipídica aos filés.

Nenhum tipo de óleo (soja, gergelim e linhaça) testado nas dietas de pacu causou alterações importantes nas células dos fígados de juvenis de pacu, embora a adição do ácido alfa-lipoico tenha promovido pequenas alterações.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A dieta contendo óleo de linhaça sem a suplementação com ácido alfa-lipoico promoveu melhores resultados de peso médio e ganho de peso individual, bem como de perfis de ácidos graxos nos filés. Os filés deste tratamento apresentaram: menores proporções de 18:0, um ácido graxo saturado considerado como pro-trombogênico; maiores teores de ácidos graxos poli-insaturados n-3, principalmente os ácidos linolênico e eicosapentaenoico e; relação n-6/n-3 dentro da faixa recomendada para alimentação humana. Além disso, a única dieta capaz de reduzir a razão n-6/n-3 nos filés foi a dieta T3.

Os filés dos peixes que não foram suplementados com ácido alfa-lipoico apresentaram maiores concentrações de proteína bruta e ácidos graxos poli-insaturados, principalmente do ácido docosahexaenoico e menores valores médios dos índices de aterogenicidade e trombogenicidade e, portanto, melhor qualidade lipídica. Além disso, as dietas sem ácido alfa-lipoico não promoveram alterações na histologia dos fígados.

Sendo assim, entre os seis tratamentos avaliados no presente estudo, recomenda-se a utilização da dieta com óleo de linhaça sem a suplementação com ácido alfa-lipoico (T3) para obter bons resultados de desempenho zootécnico para pacus e de perfis de ácidos graxos nos filés. No entanto, é necessário que continuem as investigações com outros tipos de óleos associados ao ácido alfa-lipoico, para que seja melhor elucidado o comportamento desse composto bioativo nesta espécie. Também será importante avaliar a economicidade da adição do óleo de linhaça frente às outras fontes de óleo em dietas para pacu.

Estudos devem ser realizados, para avaliar o custo-benefício das dietas; avaliar o uso das dietas na fase de terminação (90 dias antes do abate) dos peixes; avaliar o ácido alfa-lipoico em associação com vitamina C e/ou vitamina E; analisar o sangue dos peixes alimentados com as dietas experimentais contendo diferentes fontes de óleo e ácido alfa-lipoico.

REFERÊNCIAS

- ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J. Métodos de Coleta de Fezes e Determinação dos Coeficientes de Digestibilidade da Fração Protéica e da Energia de Alimentos para o Pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 1101-1109, 2004.
- ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J. Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles — fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture Nutrition**, v. 13, p. 1-9, 2007.
- ABIMORAD, E. G.; SQUASSONI, G. H.; CARNEIRO, D. J. Apparent digestibility of protein, energy, and amino acids in some selected feed ingredients for pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture nutrition**, v. 14, n. 4, p. 374-380, 2008.
- ABIMORAD, E. G. et al. Dietary supplementation of lysine and/or methionine on performance, nitrogen retention and excretion in pacu *Piaractus mesopotamicus* reared in cages. **Aquaculture**, v. 295, n. 3, p. 266-270, 2009.
- ABIMORAD, E. G. et al. Dietary digestible lysine requirement and essential amino acid to lysine ratio for pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, p. 370-377, 2010.
- ABIMORAD, E. G. et al. The use of stable isotopes to investigate the effects of supplemental lysine and methionine on protein turnover and amino acid utilization in pacu, *Piaractus mesopotamicus*, juveniles. **Aquaculture**, v. 433, n. 20, p. 119–124, 2014.
- ALHAZZAA, R. et al. Sesamin modulation of lipid class and fatty acid profile in early juvenile teleost, *Lates calcarifer*, fed different dietary oils. **Food Chemistry**, v. 134, p. 2057–2065, 2012.
- AJITH, T. A. et al. Effect of Palladium alfa-Lipoic Acid Complex on Energy in the Brain Mitochondria of Aged Rats. **Alternative Therapies**, v. 20, p. 27-35, 2014.
- ÁLVAREZ, J. C. Aislamiento, purificación e identificación de sesamina a partir de lodos de microfiltrado en la fabricación del aceite virgen de *Sesamum indicum* L. (ajonjolí). **Revista Colombiana de Ciencias Químico–Farmacéuticas**, v. 36, n. 1, p. 5-10, 2007.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists International. **Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists**, 17th edition. AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA. 2000.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists International. **Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists**. 18. edition., method 996. 6 p. 20-25, 2005.
- ASSUNÇÃO, J. M. P. **Contribuição para o estudo da composição lipídica e do valor nutricional de leites e produtos lácteos dos Açores**. 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2007.

BANCROFT, J. D.; GAMBLE, M. **Theory and practice of histological techniques**, 6th edn. Churchill Livingstone, UK. 2008.

BAO, X. H. et al. Alleviation of podocyte injury: the possible pathway implicated in anti-inflammation of alpha-lipoic acid in type 2 diabetics. **Aging Clinical and Experimental Research**, DOI 10.1007/s40520-014-0207-1, 2014.

BEDIGIAN, D. (Ed.). **Sesame: the genus Sesamum**. CRC Press, 2010.

BELL, J. G. et al. Replacement of Fish Oil with Rapeseed Oil in Diets of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Affects Tissue Lipid Compositions and Hepatocyte Fatty Acid Metabolism. **The Journal of Nutrition**, v. 131, p. 1535-1543, 2001.

BELL, J. G. et al. Complete replacement of fish oil with a blend of vegetable oils affects dioxin, dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in 3 Atlantic salmon (*Salmo salar*) families differing in flesh adiposity. **Aquaculture**, v. 324-325, p. 118-126, 2012.

BELO, M. A. A. et al. Effect of Dietary Supplementation with Vitamin E and Stocking Density on Macrophage Recruitment and Giant Cell Formation in the Teleost Fish, *Piaractus mesopotamicus*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 133, p. 146-154, 2005.

BELTRÃO, N. E. M.; FREIRE, E. C.; LIMA, E. F. **Gergelimcultura no trópico semi-árido nordestino**. Campina Grande: Embrapa Algodão. 52 p. (Embrapa Algodão. Circular Técnica, 18). 1994.

BERNET, D. et al. Evaluation of two monitoring approaches to assess effects of waste water disposal on histological alterations in fish. **Hydrobiologia**, v. 524, n. 1, p. 53-66, 2004.

BHAGAVAN, N. V.; HA, C-E. Lipids I: Fatty Acids and Eicosanoids. In: BHAGAVAN, N. V. HA, C-E. **Essentials of Medical Biochemistry: With Clinical Cases**. 1 ed. California: Harcourt, Cap. 16, p. 191-207, 2011.

BICUDO, A. J. A.; SADO, R. Y.; CYRINO, J. E. P. Growth performance and body composition of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) in response to dietary protein and energy levels. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, n. 2, p. 213-222, 2010.

BICUDO, A. J. A.; ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J. Exigências Nutricionais e Alimentação do Pacu. In: FRACALOSS, D. M.; CYRINO, J. E. P. **Nutriaqua – Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. First edition. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Cap. 10, p. 217-229, 2013.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911-917, 1959.

BOLOGNESI, M. L. et al. Synthesis of New Lipoic Acid Conjugates and Evaluation of Their Free Radical Scavenging and Neuroprotective Activities. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 83, p. 688-696, 2014.

BORGHETTI, J. R.; CANZI, C. The effect of water temperature and feeding rate on the growth rate of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) raised in cages. **Aquaculture**, v. 114, n. 1, p. 93-101, 1993.

BRASIL. Instrução Normativa nº 13, de 26 de setembro de 2013. Disciplina as Diretrizes da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 set. 2013. ISSN 1677-7042, n. 187, Seção 1, p. 5. 2013. Disponível em: <http://www.lex.com.br/legis_24876874_RESOLUCAO_NORMATIVA_N_13_DE_20_DE_SETEMBRO_DE_2013.aspx>. Acesso em: 11 nov. 2016.

BRITO, A. L. **Aspectos anatômicos e considerações sobre os hábitos de *Pterygoplichtys multiradiatus* (Hancock, 1828) do bolsão do januacá: Amazonas, Brasil (*Osteichthyes, Siluriformes, Loricaridae*)**. 1981. 102 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, INPA/FUA, 1981.

BRUSLÉ, J.; ANADON, G. G. The structure and function of fish liver. In: MUNSHI, J. S. D.; DUTTA, H. M. (Eds). **Fish Morphology- Horizon of New Research**. New Delhi, Calcutta, India. Oxford, IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., p. 77-78, 1996.

BUREAU, D. P.; KAUSHIK, S. J.; CHO, C. Y. **Fish Nutrition**. Edited by John E. Halver and Ronald W. Hardy. Elsevier Science, Third edition, 824 p., 2002.

CREMER, D. R. et al. Safety evaluation of α -lipoic acid (ALA). **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 46, n. 1, p. 29-41, 2006.

DAL PAI, V. et al. Morphological, Histochemical and Morphometric Study of the Myotomal Muscle Tissue of the Pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei). **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 29, p. 283-289, 2000.

DUNFORD, N. T. Oil- and Oilseed-Based Bioactive Compounds and Their Health Effects. In: DUNFORD H.B.; DUNFORD, N.T. **Nutritionally Enhanced Edible Oil Processing**. Dunford-Dunford, Oklahoma, p. 1-24, 2004.

DURRANI, A. I. et al. Determination of free α -lipoic acid in foodstuffs by HPLC coupled with CEAD and ESI-MS. **Food Chemistry**, v. 120 (4), p. 1143-1148, 2010.

FERNANDES, J. B. K.; CARNEIRO, D. J.; SAKOMURA, N. K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 617-626, 2001.

FISHBASE. 2017. *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). Disponível em: <<http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?id=55383&lang=english>>. Acesso em: 06 fev. 2017.

FUJIMOTO, R. Y.; CRUZ, C.; MORAES, F. R. Análise de efluente e histologia da pele, fígado e rim de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) suplementados com cromo trivalente. **Boletim do Instituto de Pesca**. São Paulo: Inst Pesca, v. 34, n. 1, p. 117-124, 2008. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/3080>>. Acesso em: 13 set. 2016.

FURUYA, W. M. Espécies nativas. In: MOREIRA, H. L. M. **Fundamentos da Moderna Aquicultura**. ULBRA, Canoas, Brasil, p. 83-90, 2001.

GARCIA, F. et al. Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture**, v. 271, p. 39–46, 2007.

GARCIA, A. S. et al. Lipídios. In: FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. **Nutriaqua – Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. First edition. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Cap. 5, p. 79-99, 2013.

GELMAN, A. et al. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) a New Fish Species in Israeli Aquaculture: Possibility of Utilization. **Developments in Food Science**, v. 42, p. 75-83, 2004.

GENTEN, F.; TERWINGHE, E.; DANGUY, A. **Atlas of fish histology**. CRC Press Taylor & Francis Group, Florida, United States, 224p, 2009.

GLENCROSS, B. D. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. **Reviews in Aquaculture**, v. 1, p. 71–124, 2009.

GONÇALVES, L. U. et al. Morfologia e Fisiologia do Sistema Digestório de Peixes. In: FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. **Nutriaqua – Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. First edition. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Cap. 2, p. 9-36, 2013.

GONZALEZ-PEREZ, O.; GONZALEZ-CASTANEDA, R. E. Therapeutic perspectives on the combination of α -lipoic acid and vitamin E. **Nutrition Research**, v. 26, n. 1, p. 1-5, 2006.

GUILLAUME J. CHOUBERT G. Digestive physiology and nutrient digestibility in fishes. In: GUILLAUME, J. et al. (eds) **Nutrition and feeding of fish and crustaceans**. Springer, Chichester, p. 27–58, 2001.

GUNSTONE, F. D. **Modified Oils**. Nutraceutical and Specialty Lipids and their Co-Products. p. 313-327, 2006.

HINTON, D. E.; SNIPES, R. L.; KENDALL, M. W. Morphology and enzyme histochemistry of the liver of Micropterus salmoides. **Journal of Fish Physiology and Biochemistry**, v. 60, n. 2, p. 531-536, 1972.

HINTON, D. E.; POOL, C. R. Ultrastructure of the liver in channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). **Journal of Fish Biology**, v. 8, n. 3, p. 209-219, 1976.

HIXSON, S. M.; PARRISH, C. C.; ANDERSON, D. M. Use of camelina oil to replace fish oil in diets for farmed salmonids and Atlantic cod. **Aquaculture**, 2014.

HOLMQUIST, L. et al. Lipoic acid as a novel treatment for Alzheimer's disease and related dementias. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 113, p. 154–164, 2007.

IDE, T. Combined effect of sesamin and soybean phospholipid on hepatic fatty acid metabolism in rats. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 54, p. 210-218, 2014.

ISEO – Institute of Shortening and Edible Oils. Inc. **Food fats and oils**. Washington, DC: Institute of Shortening and Edible Oils, Inc, 2016. Disponível em: <<http://www.iseo.org/httpdocs/FoodFatsOils2016.pdf>>. Acesso em: 31 out. 2016.

KANAZAWA, A. et al. Requirement of *Tilapia zillii* for essential fatty acids. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 33, p. 47-55, 1980.

KAUSHIK, S. J.; MÉDALE, F. Energy requirements, utilization and dietary supply to salmonids. **Aquaculture**, v. 124, p. 81-97, 1994.

KIM, D. K. et al. Effects of dietary lipid source and level on growth performance, blood parameters and flesh quality of sub-adult olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 25, n. 6, p. 869, 2012.

KLEIN, S. et al. Levels of crude protein in diets for pacu (*Piaractus mesopotamicus*) from 150 to 400g reared in cages. **Archivos de zootecnia**, v. 63, n. 244, p. 599-610, 2014.

KOCHHAR, S.P. Minor and Speciality Oils. In: GUNSTONE, F.D. **Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses**. Wiley-Blackell, Oxford. p. 291-342, 2002.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lipídios - Princípios de bioquímica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, São Paulo: Sarvier, 2006.

LEWIS, M. J. et al. Targeted dietary micronutrient fortification modulates n-3 LC-PUFA pathway activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 412-413, p. 215-222, 2013.

LOBATO, R. O. et al. The role of lipoic acid in the protection against of metallic pollutant effects in the shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 165, p. 491-497, 2013.

MACZUREK, A. et al. Lipoic acid as an anti-inflammatory and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p. 1463-1470, 2008.

MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Fatty acid composition of the total, neutral and phospholipids of the Brazilian freshwater fish *Colossoma macropomum*. **Food Science and Human Nutrition** (G. Charalambous, Ed.), v. 29, p. 633-42, 1992.

MAIA, E. L.; RODRÍGUEZ-AMAYA, D. B.; HOTTA, L. K. Fatty acids composition of the total, neutral and phospholipids of pond-raised Brazilian *Piaractus mesopotamicus*. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 30, p. 591-597, 1995.

MARTIN JR., D.W. Metabolismo dos nucleotídeos purínicos e pirimidínicos. In: HARPER, H. A., RODWELL, V. W., MAYES, P. A. **Manual de Química Fisiológica**. São Paulo: Atheneu, p.458-78, 1982.

MATSUSHITA, M.; ZIO DE SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Research Paper Fatty acid composition in wild and cultivated pacu and pintado fish. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 110, p. 1-5, 2008.

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Lipídeos. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, p. 131–178, 2010.

MONSERRAT, J. M. et al. Antioxidant, phase II and III responses induced by lipoic acid in the fish *Jenynsia multidentata* (Anablápidae) and its influence on endosulfan accumulation and toxicity. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 108, p. 8–15, 2014.

MONTERO, D. et al. Total substitution of fish oil by vegetable oils in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: Effects on hepatic Mx expression and some immune parameters. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 24, p. 147-155, 2008.

MONTERO, D. et al. Replacement of dietary fish oil by vegetable oils affects humoral immunity and expression of pro-inflammatory cytokines genes in gilthead sea bream *Sparus aurata*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 29, p. 1073-1081, 2010.

MONTEIRO, L. **Ácido alfa-lipoico – Benefícios para a Saúde**. 2013. Disponível em: <<http://www.i-legumes.net/beneficios-saude/acido-alfa-lipoico-beneficios-para-a-saude>>. Acesso em: 04 nov. 2016.

MORAES, T. B. et al. Glutathione metabolism enzymes in brain and liver of hyperphenylalaninemic rats and the effect of lipoic acid treatment. **Metabolic Brain Disease**, DOI 10.1007/s11011-014-9491-x, 2014.

MOREIRA, A. B. et al. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian brycon freshwater fishes. **Journal of Food Composition and Analysis**. Anal., v. 14, p. 565-574, 2001.

MUÑOZ-RAMÍREZ, A. P.; CARNEIRO, D. J. Suplementação de lisina e metionina em dietas com baixo nível protéico para o crescimento inicial do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 24, p. 909-916, 2008.

NAMIKI, M. Nutraceutical Functions of Sesame: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, p. 651-673, 2007.

NATORI, M. M. **Inclusão de óleo de gergelim em dietas para lambari *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000): avaliação sobre o desempenho zootécnico, perfil lipídico e a qualidade de carne**. 2015. 114 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

NOVELO, D.; FRANCESCHINI, P.; QUINTILIANO, D. A. A importância dos ácidos graxos ω -3 e ω -6 para a prevenção de doenças e na saúde humana. **Revista Salus**, Guarapuava-PR, v. 2, n. 1, p. 77-87, 2008.

NRC - National Research Council. Committee on Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. National academies press, 2013.

NG, W-K. et al. Effects of dietary fish and vegetable oils on the growth, tissue fatty acid composition, oxidative stability and vitamin E content of red hybrid tilapia and efficacy of using fish oil finishing diets. **Aquaculture**, v. 372-375, p. 97-110, 2013.

OLSEN, Y. Lipids. In: LIKENS, G. E. **Encyclopedia of Inland Waters**. 1 ed. Nova York: Cary Institute of Ecosystem Studies, v. 1, p. 774-782, 2009.

PACKER, L.; WITT, E. H.; TRITSCHLER, H. J. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 19, p. 227-250, 1995.

PENG, M. et al. Growth performance, lipid deposition and hepatic lipid metabolism related gene expression in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) fed diets with various fish oil substitution levels by soybean oil. **Aquaculture**, v. 433, p. 442-449, 2014.

PORTELA, A. S. et al. Estatinas x ácido lipoico na prevenção e tratamento das doenças cardiovasculares. Revista de **Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, p. 09-15, 2014.

PORTZ, L.; FURUYA, W. M. Energia, Proteína e Aminoácidos. In: FRACALOSSI, D. M.; CYRINO, J. E. P. **Nutriaqua – Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. First edition. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Cap. 4, p. 65-77, 2013.

RAMOS FILHO, M. M. et al. Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira de Mato Grosso do Sul. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 361-365, 2008.

RAŠKOVIĆ, B. S. et al. Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 56, n. 1, p. 87-100, 2011.

REGOST, C. et al. Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*) 1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism. **Aquaculture**, v. 217, p. 465-482, 2003.

RIBEIRO, P. A. P. et al. **Manejo nutricional e alimentar de peixes de água doce**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 92 p. 2012 Disponível em: <<http://www.vet.ufmg.br/ARQUIVOS/EDITORIA/20131002140549.pdf>>. Acesso em: 13 set. 2016.

ROCHA, E.; MONTEIRO, R. A.; PEREIRA, C.A. The liver of the brown trout, *Salmo trutta* fario: a light and electron microscope study. **Journal of Anatomy**, v. 185, n. 2, p. 241, 1994.

ROCHA, E.; MONTEIRO, R. A.; PEREIRA, C.A. Liver of the brown trout, *Salmo trutta* (Teleostei, Salmonidae): a stereological study at light and electron microscopic levels. *The Anatomical Record*, v. 247, n. 3, p. 317-328, 1997.

ROCHA, R. M. et al. Avaliação histopatológica do fígado de *Brachyplatystoma rousseauxii* (Castelnau, 1855) da Baía do Guajará, Belém, Pará. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 101-109, 2010.

RODRIGUEZ, C.; LORENZO, A.; MARTÍN, V. Nutrición Lipídica. In: SANZ, F. **La Nutrición y Alimentación en Piscicultura**, Madrid, p. 153-274, 2009.

ROJI, T. et al. The Mechanism Underlying the Synergetic Hypocholesterolemic Effect of Sesamin and alfa-Tocopherol in Rats Fed a High-Cholesterol Diet. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 115, p. 408-416, 2011.

SANTOS, A. A. et al. Análise histopatológica de fígado de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 30, n. 2, p. 141-145, 2004.

SANTOS, L. D. et al. Ácido linoléico conjugado em dietas para pacu: tempo de deposição, desempenho e perfil de ácidos graxos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 6, p. 980-988, 2009.

SARGENT, J. R.; TOCHER, D. R.; BELL, J. G. The Lipids. In: HALVER, J. E.; HAI, R. W. **Fish Nutrition**. 3 ed. Nova York: Academic Press New York, Cap. 4, p. 181-257, 2003.

SAS Institute Inc. 2011. **SAS/STAT® 9.3 User's Guide**. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2011.

SATOH, S.; POE, W. E.; WILSON, R. P. Effect of dietary n-3 fatty acids on weight gain and liver polar lipid fatty acid composition of fingerling channel catfish. **The Journal of nutrition**, v. 119, n. 1, p. 23-28, 1989.

SCHWERTNER, H. A.; RIOS, D. C. Analysis of Sesamin, Asarinin, and Sesamolin by HPLC with Photodiode and Fluorescent Detection and by GC/MS: Application to Sesame Oil and Serum Samples. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, p. 1943-1950, 2012.

SEGURA, J. G. **Influência da relação 18:3n3/18:2n6 de rações exclusivamente vegetais sobre o metabolismo de ácidos graxos de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. 2016. 100 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

SENADHEERA, S. D. et al. Effects of dietary iron supplementation on growth performance, fatty acid composition and fatty acid metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed vegetable oil based diets. **Aquaculture**, v. 342-343, p. 80-88, 2012.

SENSO, L. et al. On the possible effects of harvesting season and chilled storage on the fatty acid profile of the fillet of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 298-307, 2007.

SHINTO, L. et al. Randomized Placebo-Controlled Pilot Trial of Omega-3 Fatty Acids and Alpha Lipoic Acid in Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 38, p. 111-120, 2014.

SIGNOR, A. A. et al. Proteína e energia na alimentação de pacus criados em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 11, p. 2336-2341, 2010.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. **The American journal of clinical nutrition**, v. 54, n. 3, p. 438-463, 1991.

SIMOPOULOS, A. P.; LEAF, A.; SALEM JR, N. Essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 43, n. 2, p. 127-130, 1999.

SIMOPOULOS, Artemis P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 56, n. 8, p. 365-379, 2002.

SIRATO-YASUMOTO, S. et al. Effect of Sesame Seeds Rich in Sesamin and Sesamolin on Fatty Acid Oxidation in Rat Liver. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2647-2651, 2001.

SMITH, A. R. et al. Lipoic Acid as a Potential Therapy for Chronic Diseases Associated with Oxidative Stress. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 1135-1146, 2004.

SOUZA, V. L. et al. Morphometric alterations in hepatocytes and ultrastructural distribution of liver glycogen in pacu (*Piaractus mesopotamicus* HOLMBERG, 1887) during food restriction and refeeding. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v. 18 (1), p. 15-20, 2001.

SUÁREZ, M. D., Influence of the relative proportions of the energy yielding nutrients on the liver intermediary metabolisms of the European eel. **Comparative Biochemistry and Physiology – Part A**. v. 111, p. 421–428, 1995.

TACON, A. G. J.; COOKE, D. J. The nutritional value of dietary nucleic acids to trout. **Nutrition reports international**, Stoneham, v. 22, p. 631-40, 1980.

TAKEUCHI, T. et al. Essential fatty acids of grass carp *Ctenopharyngodon idella*. **Nippon Suisan Gakkaishi**, n. 57, p. 467-473, 1991.

TANGO, J. S.; CARVALHO, C. R. L.; SOARES, N. B. Caracterização física e química de frutos de abacate visando a seu potencial para extração de óleo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 17-23, 2004.

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

TONIAL, I. B. et al. Qualidade nutricional dos lipídios de tilápias (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração suplementada com óleo de soja. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 22, n. 1, p. 103-112, 2011.

TORSTENSEN, B. E.; TOCHER, D. R. The Effects of Fish Oil Replacement on Lipid Metabolism of Fish. In: TURCHINI, G. M.; NG, W.-K.; TOCHER, D. R. (Eds.). **Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds**. 1. Ed. Taylor & Francis, p. 405-437, 2010.

TRATTNER, S. et al. Effects of alfa-lipoic and ascorbic acid on the muscle and brain fatty acids and antioxidant profile of the South American pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture**, v. 273, p. 158-164, 2007.

TRATTNER, S. et al. Sesamin supplementation increases white muscle docosahexaenoic acid (DHA) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed high alpha-linolenic acid (ALA) containing vegetable oil: metabolic actions. **Lipids**, v. 43, n. 11, p. 989-997, 2008.

TURAN, H.; SÖNMEZ, G.; KAYA, Y. Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. **Journal of Fisheries Sciences**, v. 1, n. 2, p. 97-103, 2007.

TURCHINI, G. M.; TORSTENSEN, B. E.; NG, W.-K. Fish oil replacement in finfish nutrition. **Reviews in Aquaculture**, v. 1, n. 1, p. 10-57, 2009.

ULBRICHT, T. L. V.; SOUTHGATE, D. A. T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **The Lancet**, v. 338, n. 8773, p. 985-992, 1991.

URBINATI, E. C.; GONÇALVES, F. D.; TAKAHASHI, L. S. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**, v. 2, p. 205-244, 2005.

VESTERGREN, A. L. S. et al. The effect of combining linseed oil and sesamin on the fatty acid composition in white muscle and on expression of lipid-related genes in white muscle and liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture International**, v. 21, n. 4, p. 843-859, 2013.

VICENTINI, C. A. et al. Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. **International Journal of Morphology**, v. 23, n. 3, p. 211-216, 2005.

VISENTAINER, J. V. et al. Efeito do tempo de fornecimento de ração suplementada com óleo de linhaça sobre a composição físico-química e de ácidos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 478-484, 2003.

WAGNER, L. et al. ¹H NMR-based metabolomics studies on the effect of sesamin in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Food Chemistry**, v. 147, p. 98-105, 2014.

WALTON, M. J. Aspects of amino acid metabolism in teleost fish. In: COWEY, C. B., MACKIE, A. M., BELL, J. G. **Nutrition and Feeding in Fish**. New York: Academic Press, p. 47-67, 1988.

WEATHERLEY, A. H.; GILL, H. S. **The Biology of Fish Growth**. Academic Press, London, p. 14-21, 1987.

WOLLIN, S. D. et al. Effects of a medium chain triglyceride oil mixture and alfa-lipoic acid diet on body composition, antioxidant status, and plasma lipid levels in the Golden Syrian hamster. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 15, p. 402-410, 2004.

WOOTTON, R. J. Ecology of Teleost Fishes. 1st Edn. **Chapman and Hall**, London, United Kingdom, ISBN-13: 9780412317200, p. 404, 1990.

YANG, R. et al. Effect of antioxidant capacity on blood lipid metabolism and lipoprotein lipase activity of rats fed a high-fat diet. **Nutrition**, v. 22, p. 1185-1191, 2006.

YANG, R. L. et al. Lipoic acid prevents high-fat diet–induced dyslipidemia and oxidative stress: A microarray analysis. **Nutrition**, v. 24, n. 6, p. 582-588, 2008.

ZHOU, J. C. et al. Compared to fish oil alone, a corn and fish oil mixture decreases the lipid requirement of a freshwater fish species, *Carassius auratus gibelio*. **Aquaculture**, v. 428-429, p. 272-279, 2014.

ANEXO

ANEXO A – Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais FZEA.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
Comitê de Ética em Pesquisa da FZEA

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Parâmetros zootécnicos e perfil de ácidos graxos de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dietas contendo sesamina e ácido alfa-lipóico", protocolada sob o CEUA nº 5451281015, sob a responsabilidade de **Adja Cristina Lira de Medeiros** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo - FZEA/USP (CEUA/FZEA) na reunião de 09/12/2015.

We certify that the proposal "Performance parameters and fatty acids profile of pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*) fed diets containing sesamin and 7-lipoic acid", utilizing 480 Fishes (males and females), protocol number CEUA 5451281015, under the responsibility of **Adja Cristina Lira de Medeiros** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Animal Science and Food Engineering - (São Paulo University) (CEUA/FZEA) in the meeting of 12/09/2015.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **03/2013** a **03/2016** Área: **Zootecnia**

Origem: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Peixes**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **2 a 2 semanas**

N: **480**

Linhagem: **Pacu**

Peso: **3 a 4 g**

Resumo: Introdução: Os lipídios são fontes de ácidos graxos essenciais (EFA), componentes imprescindíveis para várias funções metabólicas e que não são produzidos pelo organismo. Alguns compostos bioativos, como a sesamina e o ácido 7-lipóico (AAL) foram capazes de promover a biossíntese de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LC-PUFA) em alguns grupos de animais, bem como exerceram influências terapêuticas. Objetivos: O objetivo deste projeto é avaliar os efeitos de dois modificadores metabólicos, a sesamina e o ácido 7-lipóico, em dietas de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) sobre parâmetros zootécnicos, perfil de ácidos graxos, características químicas e bioquímicas e alterações histológicas no fígado. Materiais e Métodos: O experimento apresenta esquema fatorial 3x2, com três fontes de óleo (óleos de soja, linhaça e gergelim), com ou sem ácido 7-lipóico (0 e 0,1%) e quatro repetições em delineamento experimental inteiramente casualizado, totalizando 6 tratamentos. Sendo assim, foram distribuídos 480 juvenis de pacu ($3,35 \pm 0,76$ g), em 24 caixas (20 peixes/caixa). Os peixes receberão as dietas experimentais por 90 dias. Os seguintes parâmetros zootécnicos serão avaliados: consumo total da dieta, ganho de peso individual, conversão alimentar, taxas de eficiência proteica, de crescimento específico e de sobrevivência. A determinação de sesamina no óleo de gergelim será por cromatografia líquida e as análises da composição centesimal dos ingredientes, das dietas experimentais e da composição corporal dos peixes serão realizadas de acordo com metodologias da AOAC (1990). O perfil de ácidos graxos será determinado por cromatografia gasosa e a análise histológica será realizada em amostras do fígado. Os dados obtidos serão analisados estatisticamente utilizando-se o Programa estatístico SAS (Statistic Analysis System), versão 8.02, por análise de variância ANOVA e teste de Tukey, ao nível de 5%. Resultados Esperados: Espera-se que os compostos sesamina e AAL, fornecidos por meio de óleo de gergelim e na forma pura, respectivamente, promovam alterações no metabolismo de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), bem como nas características químicas e bioquímicas dos juvenis de pacu. Considerações Finais: Os animais podem sintetizar ácidos graxos saturados e realizar o alongamento e a dessaturação de cadeias (OLSEN, 2009), resultando assim na biossíntese de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (LC-PUFA) (TOCHER, 2010). Porém, os animais não tem a capacidade de sintetizar duplas ligações n-3 e n-6, também conhecidos como ômega-3 e ômega-6. Eles precisam adquirir esses ácidos graxos através da dieta (OLSEN, 2009). Seus metabólitos são extremamente importantes, pois são os precursores das moléculas biologicamente ativas, necessárias para muitos processos fisiológicos (TOCHER, 2010). Sendo assim, espera-se que a adição dos compostos bioativos nas dietas, consiga promover a biossíntese desses metabólitos no organismo dos juvenis de pacu.

Local do experimento: Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA)

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
Comitê de Ética em Pesquisa da FZEA

Pirassununga, 12 de setembro de 2016

Profa. Dra. Daniele dos Santos Martins
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo - FZEA/USP

Profa. Dra. Cristiane Gonçalves Titto
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo - FZEA/USP

Av. Duque de Caxias Norte, 225 - CEP 13635-900 Pirassununga/SP - tel: 55 (19) 3565 4254 / fax:
Horário de atendimento: 2ª a 6ª das 8h às 17h : e-mail: cepfzea@usp.br
CEUA N [5451281015](#)

Fonte: Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (CEUA/FZEA).