UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MARIENE MIYOKO NATORI

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

Pirassununga-SP

2015

MARIENE MIYOKO NATORI

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

VERSÃO CORRIGIDA

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção de título de Doutor em Ciências do programa de pós-graduação em Zootecnia.

Área de concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientadora: Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas

Pirassununga – SP

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

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

N279i	<p>Natori, Mariene Miyoko</p> <p>Inclusão de óleo de gergelim em dietas para lambari <i>Astyanax altiparanae</i> (Garutti & Bristski, 2000): avaliação sobre o desempenho zootécnico, perfil lipídico e a qualidade de carne / Mariene Miyoko Natori. -- Pirassununga, 2015. 101 f.</p> <p>Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo. Departamento de Zootecnia.</p> <p>Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.</p> <p>Orientadora: Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas.</p> <p>1. Ácidos graxos 2. Lipídeos 3. Nutrição 4. Peixes</p> <p>5. Salga. I. Título.</p>
-------	---

Agradecimentos

Agradeço aos familiares Michiomi Natori, Yumiko Natori, Juliana Yuko Natori e Alexandre Yoichi Natori; e Thiago de Campos Previero.

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelas concessões de bolsa de estudos (doutorado e doutorado sanduíche).

Agradeço a profa. Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas, pela oportunidade do trabalho, conhecimento adquirido e orientação. À Rachel C. Prehl Alves, à Daflin Fernanda Melo, ao José Apolinário Ferraz, ao Ricardo Henrique Franco de Oliveira e à Ana Beatriz de Oliveira por terem conduzido o trabalho por mim enquanto estava no exterior. Ao Dr. Fabio Rosa Sussel, Dr. Giovani Sampaio, Júlio Guerra Segura, Katia Rodrigues, Adja Medeiros, Adriana Bordignon, Paulo Roberto C. Oliveira Filho, Guilherme Telli, Raissa Bartoncellos, Eliana Oshiro, Manoel Ribeiro, Ana Carolina Garcia, Henrique Hanazaki, Stephanie Gonçalves, pelas colaborações no projeto. À Profa. Associada Giuliana Parisi, ao Dr. Antonio Bonelli, por terem colaborado nas análises na Itália. À Profa Paola Lupi, Valeria Iaconisi, Rita Pupino, Giulia Secci, Doria Bienvenuti, Antonio Pezzati, Matteo Campostrini, Roberto Tocci, Eleonora Pippi, por terem me recebido em Florença.

Agradeço à profa Dra Elyara Silva, profa Dra. Mariza Pires Melo, profa. Celia Carrer, por literalmente terem emprestado os laboratórios para a condução das análises. Ao prof. Titular Paulo Sobral, prof. Titular Marcus Antonio Zanetti, ao prof. Titular Douglas Emydio, profa Dra. Judite Lapa Guimarães, Silvana Piccoli, Dra. Roseli Lacerda, Ana Monica Bitante, Vanessa Nakagi, Roberta Santana, José Aparecido da Cunha, pela colaboração nas análises. Ao Reginaldo Resende, Fabio Gallo, Keila Aracava, Rosilda Loura, pela companhia na hora do almoço. Ao Milton e Adriana, pelos almoços na cantina. Aos amigos, Alice Deleo Rogrigues, Cristina Tschorny Moncau, Ágatha Pinho, Bruna Pacheco, Amanda Caniatto, Leonardo Tachibana, Danielle de Carla Dias.

Enfim, não me lembro de todas as pessoas que me acolheram, mas saibam que lembro de cada gesto de carinho, de atenção e de paciência que tiveram comigo. Agradeço a todas as pessoas que passaram pelo meu caminho e seguiram me apoiando em todos os momentos e se eu não caí foi porque estiveram sempre do meu lado me fazendo sorrir.

Seito aqui duas canções quicá representam a minha história na **FZEA**.

brigada a todos,

Mariene Miyoko Atori

Ai san san to

Composição: Ryuchi Kawamura

*Ame san san' to kono mi ni ochite
Wazuka bakari no un'no warusa wo
Urandari shite
Hito wa kanashii kanashii mono desune
Sorede mo kako tachi wa
Yasashiku matsuge ni ikou
Jinseitte fushigina mono desune

Kaze san zan' to kono mi ni arete
Omoi doori ni naranai yume wo
Nakushi tari shite
Hito wa kayowai kayowai mono desune
Sorede mo mirai tachi wa
Hito machi gao shite hohoemu
Jinseitte ureshii mono desune

Ai san san' to kono mi ni futte
Kokoro hisokana ureshii namida wo
Nagashitari shite
Hito wa kawaii kawaii mono desune
Ah Ah kako tachi wa
Yasashiku matsuge ni ikou
Jinseitte fushigina mono desune

Ah Ah mirai tachi wa
Hito machi gao shite hohoemu
Jinseitte ureshii mono desune*

Non ti scordar di me

**Composição: Domenico Furnò e
Eugenio De Curtis**

*Partirono le rondini dal mio paese
freddo e senza sole,
cercando primavera di viole,
nidi d'amore e di felicità.
La mia piccola rondine parti
senza lasciarmi un bacio,
senza un addio parti.

Non ti scordar di me:
la vita mia legata e a te.
Io t'amo sempre piu,
nel sogno mio rimani tu.

Non ti scordar di me:
la vita mia legata e a te.
C'e sempre un nido nel mio cor per te.
Non ti scordar di me!

Non ti scordar di me!*

RESUMO

NATORI, M.M. **Inclusão de óleo de gergelim em dietas para lambari *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000): Avaliação sobre o desempenho zootécnico, o perfil lipídico e a qualidade de carne.** 2015, 101p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2015.

O objetivo desta pesquisa foi verificar o efeito da adição do óleo de gergelim, associado ao óleo de soja, óleo de linhaça e óleo resíduo de peixe de água doce e suplementação de ácido pantotênico e de biotina na dieta sobre o desempenho zootécnico, a composição química e a qualidade da carne *in natura* e processado de lambaris *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000). O estudo seguiu delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x2), três tipos diferentes de óleo: óleo de soja – OS, óleo de linhaça - OL e óleo de resíduo de peixe de água doce – ORP associados ou não ao óleo de gergelim (OG), e quatro repetições. Adicionalmente, foram testados dois níveis de suplementação de ácido pantotênico e de biotina. No primeiro experimento, avaliaram-se o desempenho zootécnico, a composição química corporal, o perfil lipídico e as possíveis alterações fisiológicas de peixes alimentados com as dietas experimentais suplementadas com ácido pantotênico a 50 mg.kg⁻¹ e de biotina a 1 mg.kg⁻¹. No segundo experimento, os mesmos procedimentos foram realizados em peixes que receberam dietas experimentais suplementadas com ácido pantotênico a 100 mg.kg⁻¹ e de biotina a 2 mg.kg⁻¹, analisando-se também a qualidade da carne *in natura* e pós salga. A inclusão de OG associado aos óleos OS, OL e ORP não interferiu no desempenho zootécnico de peixes e não alterou a estrutura hepática. A adição de OL demonstrou ser mais eficaz em melhorar o perfil de ácidos graxos e a qualidade lipídica do peixe. No entanto, a taxa de dessaturação de LNA em ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) n-3 foi superior em peixes que receberam OG. Durante a salga, a associação de OG à OS e OL, diminuiu a peroxidação lipídica dos filés. Conclui-se que a inclusão de OG promove a estabilidade oxidativa em lambaris e conserva a sua qualidade lipídica, contribuindo para o tempo de prateleira do produto final.

Palavras-chave: ácidos graxos, lipídeos, nutrição, peixes, salga

ABSTRACT

NATORI, M.M. **Inclusion of sesame oil in diets for lambari *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000): Evaluation of growth performance, lipid profile and flesh quality.** 2015, 101 p. Thesis (Doctorate) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2015.

The objective of this research was to evaluate the effect of sesame oil (OG) association soy oil, linseed oil and freshwater fish residue oil and pantothenic acid and biotin supplementation in diets on growth performance, chemical composition and flesh quality of lambaris *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000) *in natura* and processed. The experiment was completely randomized in a factorial arrangement (3x2), three different types of oil: soybean-OS, linseed oil-OL and freshwater fish residue oil – ORP combined or not to sesame oil (OG), and four replications. Additionally, two different pantothenic acid and biotin levels were tested. In the first experiment, were evaluated the growth performance, the corporal chemical composition, lipid profile and possible physiological alterations of fish fed by experimental diets and supplementation of 50 mg.kg⁻¹ of pantothenic acid and 1 mg.kg⁻¹ of biotin. In second experiment, the same variables were evaluated in fishes fed by experimental diets with supplementation of 100 mg.kg⁻¹ of pantothenic acid and two mg.kg⁻¹ of biotin, and flesh quality of lambari *in natura* and after salting were analyzed. The OG inclusion didn't interfered on fish growth performance and no histopathological changes were observed in liver tissue. The OL addition promoted better fatty acid profile and improved fish lipid quality. However, HUFA n-3 desaturation rate were higher on those received OG. During salting period, the combination OG to OS and OL provoked less fillet's lipid peroxidation. In conclusion, the inclusion of OG promoted oxidative stability and maintain lipid quality of lambaris, contributing to longer shelf life of final product.

Keywords: fatty acids, fish, nutrition, lipid, salting

OBJETIVOS GERAIS E HIPÓTESE

O objetivo deste trabalho foi avaliar a inclusão do óleo de gergelim associada a diferentes fontes (óleo de soja, óleo de linhaça e óleo de resíduo de peixes de água doce) e a suplementação de ácido pantotênico e de biotina em dietas para lambaris *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristiski (2003) sobre o desempenho zootécnico, características químicas e bioquímicas, possíveis alterações fisiológicas, a qualidade da carne *in natura* e processada. Foram realizados dois experimentos com os seguintes objetivos específicos:

1º experimento

- Avaliar o desempenho zootécnico, a composição química corporal, perfil lipídico, possíveis alterações fisiológicas de peixes alimentados com dietas contendo diferentes tipos óleo (de soja, de linhaça ou resíduo de peixe de água doce) associados ou não ao óleo de gergelim, mantendo os níveis de vitaminas ácido pantotênico e de biotina em 50 mg.Kg⁻¹ e 1 mg.Kg⁻¹, respectivamente.

2º experimento

- Avaliar o desempenho zootécnico, a composição química corporal, perfil lipídico, possíveis alterações fisiológicas, a qualidade da carne *in natura* e processada de peixes alimentados com dietas contendo diferentes tipos óleo (de soja, de linhaça ou resíduo de peixe de água doce) associados ou não ao óleo de gergelim, mantendo os níveis de vitaminas ácido pantotênico e de biotina em 100 mg.Kg⁻¹ e 2 mg.Kg⁻¹, respectivamente.

3.3. Hipóteses

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

- H_0 : O óleo de gergelim e a adição de vitaminas, conjuntamente com os óleos de soja, de linhaça ou resíduo de peixes de água doce não promoveram alterações significativas no desempenho zootécnico dos lambaris, bem como no perfil de ácidos graxos, assim como, as características bioquímicas durante o processamento e a estocagem de um produto de pescado (lambari em salga mista).

- H_1 : O óleo de gergelim e a adição de vitaminas, conjuntamente com os óleos de soja, de linhaça ou resíduo de peixes de água doce promoveram alterações significativas no desempenho zootécnico dos lambaris, bem como no perfil de ácidos graxos, assim como, as características bioquímicas durante o processamento e a estocagem de um produto de pescado (lambari em salga mista).

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Elongação e dessaturação de ácidos graxos série n-6 (TOCHER, 2003)	5
Figura 2 Elongação e dessaturação de ácidos graxos de série n-3 (TOCHER, 2003)	5
Figura 3 Extrusão das dietas experimentais	15
Figura 4 Secagem das dietas experimentais	15
Figura 5 Disposição dos tanques- rede (viveiro 1).....	19
Figura 6 Disposição dos tanques-rede	19
Figura 7 Tecido hepático - tratamento OS (HE).....	31
Figura 8 Tecido hepático - tratamento OS/OG (HE).	31
Figura 9 Tecido hepático - tratamento OL (HE).	31
Figura 10 Tecido hepático - tratamento OL/OG (HE).	31
Figura 11 Tecido hepático - tratamento ORP (HE).	31
Figura 12 Tecido hepático - tratamento ORP/OG (HE).	31
Figura 13 Tecido hepático de peixes OS - HE.....	65
Figura 14 Tecido hepático de peixes OS/OG -HE	65
Figura 15 Tecido hepático de peixes OL - HE	65
Figura 16 Tecido hepático de peixes OL/OG.....	65
Figura 17 Tecido hepático de peixes ORP - HE	65
Figura 18 Tecido hepático de peixes ORP/OG,.....	65
Figura 19 Estimativas e tendências da variável pH apresentadas pelos tratamentos ao longo do tempo (0 a 120 dias).	81
Figura 20 Estimativas e tendências e Aw, ao longo do tempo (0 a 90 dias).	82
Figura 21 Estimativas e tendências para variável teor de sal, ao longo do tempo (0 a 120 dias)	84
Figura 22 Estimativas e tendências de UM, apresentados pelos tratamentos OS e OS/OG.....	85
Figura 23 Estimativas e tendências de UM, apresentados pelos tratamentos OL e OL/OG.	86
Figura 24 Estimativas e tendências de UM, apresentados pelos tratamentos ORP e ORP/OG.	86
Figura 25 Estimativas e tendências de TBARS, apresentados pelos tratamentos OS e OS/OG.	89
Figura 26 Estimativas e tendências de TBARS, apresentados pelos tratamentos OL e OL/OG.	89
Figura 27 Estimativas e tendências de TBARS, apresentados pelos tratamentos ORP e ORP/OG.	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Ingredientes, formulação e composição das dietas experimentais.	16
Tabela 2 Perfis de ácidos graxos de óleos, expressos em g.100g ⁻¹ de ácidos graxos totais.	17
Tabela 3 Perfis de ácidos graxos de dietas experimentais, expressos em g.100g ⁻¹ de ácidos graxos totais.	18
Tabela 4 Valores médios referentes ao desempenho zootécnico de lambaris.	23
Tabela 5 Valores médios de composição química corporal de lambaris inteiros.	24
Tabela 6 Perfis de ácidos graxos de peixes eviscerados, expressos em g.100g ⁻¹ de ácidos graxos totais.	27
Tabela 7 Somatório de categorias de ácidos graxos e índices, expressos em g.100g ⁻¹ de ácidos graxos totais.	28
Tabela 8 Resultados das variáveis utilizadas para avaliação do estado fisiológico dos lambaris submetidos às dietas experimentais.	29
Tabela 9 Ingredientes, formulação e composição das dietas experimentais dos lambaris.	40
Tabela 10 Perfis de ácidos graxos das dietas experimentais, expressos em g.100g ⁻¹ de ácidos graxos totais.	41
Tabela 11 Valores médios referentes às variáveis de desempenho zootécnico de lambaris.	50
Tabela 12 Composição química de peixes inteiros e eviscerados.	51
Tabela 13 Perfis lipídicos da fração total com os principais ácidos graxos, expressos em g.100g ⁻¹ de ácidos graxos totais.	54
Tabela 14 Somatório e índices referentes aos ácidos graxos de lipídeos totais.	55
Tabela 15 Perfis lipídicos com os principais ácidos graxos da fração neutra, expressos em g.100g ⁻¹ de ácidos graxos totais.	56
Tabela 16 Somatório e índices referentes aos ácidos graxos da fração neutra.	57
Tabela 17 Perfis lipídicos com os principais ácidos graxos da fração polar, expressos em g.100g ⁻¹	57
Tabela 18 Somatório e índices referentes aos ácidos graxos da fração polar.	58
Tabela 19 Índices referentes à qualidade lipídica, quantidades de lipídeos (fração total, neutra e polar) e de colesterol.	59
Tabela 20 Valores médios referentes às variáveis de qualidade da carne.	60
Tabela 21 Valores médios referentes às variáveis relacionadas ao estado fisiológico do animal.	62
Tabela 22 Valores médios de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT), expressos em mg N. 100g ⁻¹ de amostra.	80
Tabela 23 Valores médios de pH de peixes, durante 120 dias de processamento (p<0,05).	81
Tabela 24 Valores médios de atividade de água (Aw) de peixes, de ponto 0 a 90 dias (p<0,05).	82
Tabela 25 Quantidades de sal de peixes processados, expressos em g.100g ⁻¹ de amostra fresca (p<0,05).	84

Tabela 26 Valores médios de umidade (UM) de peixes, expressos em g.100g ⁻¹ de amostra fresca, durante o processamento (p<0,05)	85
Tabela 27 Valores médios de substâncias reativas ao ácido tiobarbiturico (TBARS) de peixes, durante 120 dias de processamento, expressos em mg malonaldeído (MDA).kg ⁻¹ amostra (p<0,05).	88
Tabela 28 Coeficientes de correlação entre as variáveis de qualidade da carne de lambaris submetidos ao processo de salga, no período de 120 dias (p<0,05).	92
Tabela 29 Valores médios referentes a variáveis de qualidade da carne, aos 150 dias.	93
Tabela 30 Valores médios de composição química de peixes processados (ponto 150 dias), expressos em g.100g ⁻¹	94
Tabela 31 Perfis de ácidos graxos de filés de peixes em salga, expressos em g.100g ⁻¹ de ácidos graxos totais.	95
Tabela 32 Somatório referentes aos ácidos graxos de filés de peixe em salga.....	95
Tabela 33 Coeficientes de correlação entre as variáveis de qualidade da carne, composição química e de perfil de ácidos graxos de filés de peixe, aos 150 dias (p<0,05).	96

LISTA DE SIGLAS

Ácido araquidônico (AA)	Glicogênio Muscular (GM)
Ácido docosahexaenoico (DHA)	Glutathione redutase (GR)
Ácido eicosapentaenoico (EPA)	Índice hepatossomático (IHS)
Ácido graxo essencial (EFA)	Índices Aterogênicos (IA)
Ácido linoleico (LA)	Índices Trombogênicos (IT)
Ácido linolênico (LNA)	Hipocolesterolemia/Hipercolesterolemia (HH)
Ácido tiobarbitúrico (TBA)	Lactato desidrogenase (LDH)
Ácido tricloroacético (TCA)	Lipídeos (LIP)
Ácidos graxos altamente insaturados (HUFA)	Malonaldeído (MDA)
Ácidos graxos monoinsaturados (MUFA)	Matéria mineral (MM)
Ácidos graxos poli-insaturados (PUFA)	Matéria seca (MS)
Ácidos graxos saturados (SFA)	Óleo de gergelim (OG)
Bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT)	Óleo de linhaça (OL)
Catalase (CAT)	Óleo de resíduo de peixes (ORP)
Colesterol (COL)	Óleo de Soja (OS)
Consumo de dieta (CD)	Peroxidação lipídica (TBARS)
Conversão Alimentar (CA)	Proteína bruta (PB)
Energia Bruta (EB)	Taxa de crescimento específico (TCE)
Espécies reativas ao oxigênio (ROS)	Taxa de eficiência proteica (TEP)
Ganho de peso (GP)	Umidade (UM)
Glicogênio hepático (GH)	

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 Revisão de literatura	3
1.1.1 Lipídeos.....	3
1.1.3 Vitaminas: Ácido Pantotênico e Biotina	7
1.3 Referências Bibliográficas	8
2 CAPÍTULO 1 Óleo de gergelim associados a outros óleos em dietas: Efeitos sobre o desempenho zootécnico, composição química corporal e alterações fisiológicas de Lambaris <i>Astyanax altiparanae</i> (Garutti & Bristski, 2000).....	12
2.1 Introdução	13
2.2 Material e Métodos.....	14
2.2.1 Delineamento Experimental.....	14
2.2.2 Dietas Experimentais	15
2.2.3 Condições experimentais e peixes	18
2.2.4 Desempenho Zootécnico	19
2.2.5 Análise de composição química corporal	20
2.2.6 Determinação de perfil de ácidos graxos de peixes eviscerados.....	20
2.2.7 Determinação de níveis de glicemia; de glicogênio hepático e muscular	20
2.2.8 Determinação de compostos oriundos da peroxidação lipídica (TBARS) do tecido hepático.....	21
2.2.9 Histologia de tecido hepático.....	22
2.2.10. Análise estatísticas	22
2.3 Resultados e Discussão.....	22
2.4. Conclusão	31
2.5 Referências Bibliográficas	32
3 CAPÍTULO 2. Óleo de gergelim associados a diferentes óleos, ácido pantotênico e biotina nas dietas para lambaris <i>Astyanax altiparanae</i> (Garutti & Bristski, 2000): Efeitos sobre o desempenho zootécnico, composição química, qualidade da carne e alterações fisiológicas.....	35
3.1 Introdução	37
3.2 Material e Métodos.....	39

3.2.1 Delineamento experimental	39
3.2.2 Dietas experimentais.....	39
3.2.3 Condições experimentais e peixes	41
3.2.4 Desempenho Zootécnico	42
3.2.5 Análise de composição química corporal	42
3.2.6 Determinação de níveis de colesterol em tecidos.....	44
3.2.7 Análise da qualidade da carne	44
3.2.8 Determinação de níveis de glicose sanguínea; de glicogênio hepático e muscular.	45
3.2.9 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em fígados.....	46
3.2.10 Histologia de tecido hepático.....	46
3.2.11 Atividade enzimática	46
3.2.11.1 Atividade de catalase	47
3.2.11.2 Atividade de glutathione redutase	47
3.2.11.3 Lactato desidrogenase	48
3.2.12 Análises estatísticas	48
3.3 Resultados e Discussão.....	48
3.4 Conclusão	65
3.5 Referências Bibliográficas	66
4 CAPITULO 3. Óleo de gergelim associados a outras fontes lipídicas em dietas: Efeitos sobre a qualidade da carne de <i>Lambaris Astyanax altiparanae</i> (Garutti & Bristski, 2000) processados em salga mista	73
4.1 Introdução	74
4.2 Material e Métodos.....	75
4.2.1. Delineamento Experimental.....	75
4.2.2. Processamento: Salga mista.....	76
4.2.3 Análises de qualidade da carne	76
4.2.3.1 Bases nitrogenadas voláteis (BNVT)	76
4.2.3.2 pH	77
4.2.3.4 Atividade de Água (Aw).....	77

4.2.3.4 Análise de teor de sal (cloretos)	77
4.2.3.5 Umidade	78
4.2.3.6 Peroxidação Lipídica (TBARS)	78
4.2.4. Determinação de perfil de ácidos graxos	78
4.2.5. Análise de composição química.....	79
4.2.6. Análises estatísticas.....	79
4.3 Resultados e Discussão.....	79
4.4 Conclusão.....	96
4.5 Referências Bibliográficas	96
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	101

1 INTRODUÇÃO GERAL

O lambari do rabo amarelo (*Astyanax altiparanae*) é uma espécie de peixe de água doce que possui como características básicas, o pequeno porte, podendo atingir até 15 cm de comprimento e peso de até 60 gramas (PORTO-FORESTI et al., 2013). O gênero *Astyanax* compreende várias espécies e de ampla distribuição geográfica, e esta espécie era anteriormente denominado como *Astyanax bimaculatus* (FERNANDES; MARTINS-SANTOS, 2004; GARUTTI, 2003). Devido a sua taxonomia e ao seu tamanho, poderia se tornar um modelo biológico experimentos com peixes nativos (GONÇALVES et al., 2014).

O lambari destaca-se principalmente por seu rápido crescimento, capacidade em se adaptar aos sistemas de produção, além de apresentar mercado promissor inclusive para o consumo em forma de petisco. No entanto, existem poucos estudos relacionadas a sua nutrição, fisiologia entre outros (ABIMORAD; CASTELLANI, 2011).

Em geral, peixes cultivados incorporam ácidos graxos fornecidos pelas dietas e a adição de alta porcentagem de óleos vegetais causam alterações indesejáveis como o aumento de PUFA's de carbono 18 e família n-6 (ácido linoleico) e redução de EPA e DHA (NG et al., 2013).

O óleo de gergelim contém aproximadamente 82% de ácidos graxos insaturados, principalmente o ácido linoleico e ácido oleico em sua composição (KOCHHAR, 2002). Em gergelim, foram determinados compostos bioativos denominados lignanos que são lipossolúveis e presentes em óleo. Dentre estes, a sesamina (nomenclatura IUPAC: 5,5'-(1S,3aR,4S,6aR)-tetrahydro-1H,3H-furo[3,4-c]furan-1,4-diylbis(1,3-benzodioxole)) é um lignano tipo furofurano e possui efeitos benéficos ao ser humano relacionados com o metabolismo lipídico e de glicose, hipertensão e redução na formação de radicais livres (DAR; ARUMUGAM, 2013).

Em peixes, a sua utilização associada ao óleo de linhaça e de girassol provocou modificações significativas no metabolismo de lipídeos, aumentando a quantidade de DHA em músculo branco de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e em hepatócitos cultivados *in vitro* de salmão do atlântico (*Salmo salar* L.)(TRATTNER et al., 2008a, 2008b).

As vitaminas são compostos orgânicos que são necessários para manter funções metabólicas e o crescimento normal, a reprodução entre outros (OLIVATELES, 2012). Dentre estas, o ácido pantotênico e a biotina fazem parte das vitaminas do complexo B que participam do metabolismo lipídico, na formação de alguns ácidos graxos e são componentes da coenzima A (CoA). As deficiências destas vitaminas podem causar a redução de crescimento e de ganho de peso, entre outros problemas (LIN; LIN; SHIAU, 2012; YOSSA et al., 2013).

Considerando os possíveis benefícios da adição de OG e de vitaminas em dietas para peixes, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da inclusão do óleo de gergelim, associado a diferentes óleos e a suplementação de ácido pantotênico e de biotina nas dietas sobre o desempenho zootécnico, o perfil lipídico e a qualidade da carne *in natura* e processada de lambaris *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000).

A tese foi dividida em três capítulos, em forma de artigos.

No primeiro capítulo, o estudo teve como objetivo avaliar a inclusão de OG associada aos óleos OS, OL, ORP nas dietas sobre o desempenho zootécnico, a composição química corporal e as possíveis alterações fisiológicas do lambari. As dietas continham ácido pantotênico a 50 mg.kg⁻¹ e biotina a 1 mg.kg⁻¹.

No segundo capítulo, objetivou-se avaliar a inclusão de OG associada aos óleos OS, OL, ORP com suplementação de ácido pantotênico a 100 mg.kg⁻¹ e biotina a 2 mg.kg⁻¹ em dietas sobre o desempenho zootécnico, a composição química corporal, qualidade da carne *in natura* e possíveis alterações fisiológicas do lambari.

No terceiro capítulo, foram observadas as possíveis alterações geradas pela adição de OG sobre a qualidade da carne de lambari, durante a salga.

Este trabalho seguiu as normas e recomendações da Resolução nº 592 de junho de 1992, do Conselho Federal de Medicina veterinária e preceitos de Princípios Éticos da Experimentação Animal e foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

Este projeto foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e a bolsa de estudos pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

1.1 Revisão de literatura

1.1.1 Lipídeos

O aumento do uso de lipídeos na nutrição de peixes e camarões foi impulsionado pela capacidade deste nutriente em fornecer energia de forma eficiente, destinando a proteína dietética para a função de síntese de tecidos e carne. No entanto, a relação ótima de inclusão de lipídeos e proteínas não está claramente conhecida para muitas espécies de peixes criadas em cativeiro. Consequentemente, as formulações de dietas com nível máximo de lipídeos que podem elevar a deposição lipídica e de ácidos graxos saturados (SFA) (LEAVER et al., 2008).

As diferenças entre as composições de peixes cultivados e selvagens estão intrinsecamente relacionadas ao tipo de alimentação e de sistema de produção, pois na mesma espécie, observaram-se teores lipídicos variáveis e níveis inferiores de ácidos graxos n-3, provocando o aumento da relação n-6/n-3 para peixes de cativeiro (TANAMATI et al., 2009). Os perfis apresentados assemelham-se com as dietas comerciais e a forma adequada do fornecimento deste nutriente supre as necessidades relacionadas aos ácidos graxos essenciais (EFA), além de melhorar o perfil lipídico dos produtos aquícolas (CRAIG; HELFRICH, 2002).

A utilização de óleos de resíduos de tilápia e de salmão em dietas para lambaris promoveu o aumento de quantidades de DHA, devido à composição das dietas experimentais, uma vez que, a incorporação de ácidos graxos depende em parte do seu fornecimento na alimentação (GONÇALVES; FERROLI; VIEGAS, 2012). Os ácidos graxos exercem funções necessárias para a manutenção da fisiologia e da saúde. Os SFAs participam na produção de energia, na estocagem e no transporte de lipídeos, na síntese de fosfolipídios e de esfingolipídios necessários para a formação de membrana e na modificação de proteínas regulatórias (SPECTOR, 1999).

Os ácidos graxos monoinsaturados (MUFA), além destas funções, são responsáveis pela fluidez da membrana e os ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) influenciam nas propriedades físicas e estruturais, na formação dos compostos eicosanoides (20 carbonos) (ex. prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanas, lipoxinas), na transdução de sinais, na ativação e transcrição nuclear. Logo, estes componentes são importantes para vários sistemas e funcionamento do corpo (SPECTOR, 1999).

Os ácidos graxos essenciais (EFA) necessariamente devem ser fornecidos na alimentação, visto que os peixes, assim como outros vertebrados, não conseguem sintetizá-los naturalmente, devido à falta de fatores como as desaturases ($\Delta 12$ e $\Delta 15$), impossibilitando a conversão de ácido oleico (C18:1n-9) para ácido linoleico (LA) (C18:2n-6) e para o ácido linolênico (LNA) (C18:3n-3). O conteúdo lipídico das dietas ter estes precursores para a formação de ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) como ácido araquidônico (AA), ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) (TOCHER, 2003; TURCHINI; FRANCIS, 2009) .

O AA (C20:4n-6) deriva-se de LA, ao passo que, o EPA (C20:5n-3) e DHA (C22:6n-3) tem como precursor o LNA. Os peixes marinhos possuem concentrações mais elevadas de DHA e EPA e inferiores de AA. As espécies de água doce possuem a capacidade em converter LNA para EPA e DHA; e LA para AA (TOCHER, 2003; TURCHINI; TORSTENSEN; NG, 2009).

A síntese de HUFA depende de etapas que envolvem a elongação e a desaturação, descritas na **Figura 1 e 2**.

Figura 1 Elongação e dessaturação de ácidos graxos série n-6 (TOCHER, 2003)

Figura 2 Elongação e dessaturação de ácidos graxos de série n-3 (TOCHER, 2003)

As reações de HUFAs, demonstradas nas **Figuras 1 e 2**, ocorrem geralmente na fração microssomal do fígado, e as mesmas enzimas atuam sobre os ácidos graxos das séries n-3, n-6 e n-9. No entanto, existe maior afinidade das dessaturases e elongases, mostradas acima, em atuar na formação de HUFA n-3 seguido de HUFA n-6 (TOCHER, 2003).

A atuação dessas enzimas sobre os ácidos graxos n-9 demonstra a deficiência dietária dos ácidos graxos essenciais. A formação de DHA não ocorre de forma direta, como no caso de EPA e a sua síntese depende da elongação de EPA para o ácido graxo C24:5n-3 e posterior conversão para ácido graxo C24:6n-3, e em seguida, ser encurtada para DHA, através da β -oxidação ocorrida em peroxissomos (HENDERSON, 1996)

O AA é principal precursor dos eicosanoides, e aqueles formados a partir do EPA são menos ativos biologicamente. A semelhança química entre estes compostos (AA, EPA e DHA) resulta-se em interações competitivas por sítios ativos, em reações bioquímicas e fisiológicas, tanto para os seus precursores, quanto pelos seus produtos (SARGENT et al., 1999).

1.1.2 Óleo de gergelim

O gergelim é considerado uma importante semente oleaginosa não somente pela extração de óleo, mas também, como alimento nutritivo e benéfico para o ser humano e apresenta 14% de ácidos graxos saturados (SFA), 39% de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e 46% de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA)(KOCHHAR, 2002). A sua produção é centrada principalmente em países asiáticos como a Índia, Myanmar e China, detendo cerca de 52% da produção mundial que foi estimada em 3,60 milhões de toneladas em 2009(EMBRAPA, [s.d.]).

Dentre as suas características apresenta a estabilidade oxidativa frente ao aquecimento, devido a presença de compostos bioativos como os lignanos, os quais foram identificados 16 tipos em gergelim, dentre estes encontram-se os de tipo furfuranos como a sesamina, e os tocoferóis (DAR; ARUMUGAM, 2013; TASHIRO; FUKUDA; NAMIKI, 1986). Em ratos, a inclusão de óleo de gergelim provocou efeitos benéficos relacionados à saúde animal como exemplo o combate à fibrose hepática, reduzindo os efeitos inflamatórios e o estresse

oxidativo (PERIASAMY et al., 2014). Em peixes como a truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss*), a adição combinada deste óleo e com o de peixe e de linhaça não reduziu o ganho de peso, e indivíduos que receberam esta dieta apresentaram valores mais altos de dessaturação de LNA em HUFA n-3 (KÖSE; YILDIZ, 2013).

A sesamina é um composto lipossolúvel denominado lignano tipo furfurano, encontrado no gergelim (concentração de 2,50%), e possui vários efeitos no metabolismo lipídico (TRATTNER et al., 2008a). Em plantas, esta substância, assim como a episamina e sesamolina, exerce importantes papéis como potentes antioxidantes, inseticidas entre outros. Além destes, este componente aumenta a desintoxicação hepática de substâncias químicas, reduzindo a incidência de tumores gerados por estes compostos, protege a células nervosas do estresse oxidativo, além de exercer funções como anti-hipertensivo, anti-inflamatório, e antialérgico (JENG; HOU, 2005).

Estudos com hepatócitos de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) cultivados *in vitro* demonstraram que o uso da sesamina provocou efeitos sobre o metabolismo de ácidos graxos. As células hepáticas, incubadas com ácido linolênico não radioativo e com sesamina, apresentaram o aumento de percentagem de DHA e índice de dessaturação, ao passo que, níveis de ácidos graxos saturados decaíram. A diminuição dos teores de ácido linolênico e o EPA pode ser relacionada pelo aumento da atividade do $\Delta 6$ dessaturase e a β oxidação provocada pela sesamina. O aumento de DHA, o qual corresponde ao decréscimo de percentagem de ácido linolênico, demonstra as atividades de dessaturação e a elongação (TRATTNER et al., 2008b).

1.1.3 Vitaminas: Ácido Pantotênico e Biotina

As vitaminas são os compostos orgânicos essenciais para o crescimento, saúde, reprodução e manutenção de animais, exigidas em pequenas quantidades. Ao considerar que peixes não sintetizam ou o fazem de forma insuficiente, faz-se necessária a inclusão destas em dietas. Em comparação com os animais terrestres, amplamente produzidos e comercializados, faltam as informações referentes às exigências de maioria destas substâncias em peixes (SHIAU; LIN, 2006).

A suplementação destes componentes em peixes, considerando as suas necessidades, era baseada em prevenção de doenças provocadas por deficiências para várias espécies e ambientes, diferentemente de outros animais domésticos o qual o fornecimento era de acordo com os exigências mínimas para a maximização do desempenho zootécnico (BARROWS et al., 2008).

As vitaminas do complexo B possuem papel fundamental para o metabolismo, fisiologia e crescimento. O ácido pantotênico faz parte da acetil-coenzima A, na qual participa de diversos processos enzimáticos que envolvem os compostos de carbono. Entre elas, a acetilação de aminas aromáticas e colina, reações de condensação da síntese de acetato, ácidos graxos e citrato, além da oxidação do piruvato para acetaldeído. É essencial para o desenvolvimento do sistema nervoso e sua deficiência, em tilápia (*Oreochromis niloticus*), causa a diminuição do crescimento, hemorragias, alta mortalidade, anemia (SHIAU; LIN, 2006).

A função da biotina está relacionada às reações de carboxilação e descarboxilação. Esta faz parte de coenzima para as enzimas que tem como utilidade fixar o gás carbônico, como o propionil coenzima A (formação de ácido propiônico), além de se envolver na síntese de purina, e na elongação dos ácidos graxos, A sua deficiência gera a perda de apetite, lesões no cólon, coloração da pele e atrofia muscular, entre outros (YOSSA et al., 2015)

Em espécies como a zebrafish (*Danio rerio*), essa vitamina é necessária para o crescimento, sobrevivência, e consumo alimentar. O fornecimento de substâncias antagônicas como no caso da avidina em animais, promoveu crescimento retardado em relação aos que recebiam somente a biotina (YOSSA et al., 2011).

1.3 Referências Bibliográficas

ABIMORAD, E. G.; CASTELLANI, D. exigências nutricionais de aminoácidos para o lambari-do-rabo-amarelo baseadas na composição da carcaça e do músculo. **boletim instituto de pesca**, v. 37, n. 1, p. 31–38, 2011.

BARROWS, F. T. et al. The effect of vitamin premix in extruded plant-based and fish meal based diets on growth efficiency and health of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 283, p. 148–155, 2008.

CRAIG, S.; HELFRICH, L. A. Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding. **Virginia Cooperative Extension**, p. 1–18, 2002.

DAR, A. A.; ARUMUGAM, N. Lignans of sesame: Purification methods, biological activities and biosynthesis - A review. **Bioorganic Chemistry**, v. 50, p. 1–10, 2013.

EMBRAPA. **Estatísticas da produção**. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/gergelim/arvore/CONT000gjwsa9vn02wx5ok06wjwcxhkk9zb0.html>>. Acesso em: 22 set. 2015.

FERNANDES, C. A.; MARTINS-SANTOS, I. C. Cytogenetic studies in two populations of *Astyanax altiparanae* (pisces, characiformes). **Hereditas**, v. 141, n. 3, p. 328–332, 2004.

GARUTTI, V. Revalidação de *Astyanax rupununi* Fowler, 1914 (Teleostei, Characidae) e descrição de duas espécies novas para o gênero. **Papéis avulsos de Zoologia**, v. 43, n. lii, p. 1–9, 2003.

GONÇALVES, L. U. et al. The fatty acid compositions of total, neutral and polar lipids in wild and farmed lambari (*Astyanax altiparanae*) (Garutti & Britski, 2000) broodstock. **Aquaculture Research**, v. 45, n. 2014, p. 195–203, 2014.

GONÇALVES, L. U.; FERROLI, F.; VIEGAS, E. M. M. Effect of the inclusion of fish residue oils in diets on the fatty acid profile of muscles of males and females lambari (*astyanax altiparanae*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 1967–1974, 2012.

HENDERSON, R. J. Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. **Archiv für Tierernaehrung**, v. 49, n. 731776419, p. 5–22, 1996.

JENG, K. C. G.; HOU, R. C. W. Sesamin and Sesamol : Nature ' s Therapeutic Lignans. **Enzyme**, p. 11–20, 2005.

KOCHHAR, S. P. Sesame, rice-bran and flaxseed oils. In: GUNSTONE, F. D. (Ed.). **Vegetable oils in food technology: Composition, Properties and Uses**. [s.l.] Blackwell, 2002. p. 297–326.

KÖSE, I.; YILDIZ, M. Effect of diets containing sesame oil on growth and fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 29, p. 1318–1324, 2013.

LEAVER, M. J. et al. Towards Fish Lipid Nutrigenomics: Current State and Prospects for Fin-Fish Aquaculture. **Reviews in Fisheries Science**, v. 16, n. February 2012, p. 73–94, 2008.

LIN, Y. H.; LIN, H. Y.; SHIAU, S. Y. Estimation of dietary pantothenic acid requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus* according to physiological and biochemical parameters. **Aquaculture**, v. 324-325, p. 92–96, 2012.

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.

OLIVA-TELES, A. Nutrition and health of aquaculture fish. **Journal of Fish Diseases**, v. 35, p. 83–108, 2012.

PERIASAMY, S. et al. Sesame oil mitigates nutritional steatohepatitis via attenuation of oxidative stress and inflammation: A tale of two-hit hypothesis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n. 2, p. 232–240, 2014.

PORTO-FORESTI, F. et al. Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). In: BALDISSEROTTO, B.; DE CARVALHO GOMES, L. (Eds.). . **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2. ed. Santa Maria: editora ufsm, 2013. p. 101–116.

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

SHIAU, S.; LIN, Y. Vitamin Requirements of Tilapia – A Review. **Avances en Nutrición Acuicola VIII**, p. 129–138, 2006.

SPECTOR, A A. Essentiality of fatty acids. **Lipids**, v. 34 Suppl, p. S1–S3, 1999.

TANAMATI, A. et al. Fatty acid composition in wild and cultivated pacu and pintado fish. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, p. 183–187, 2009.

TASHIRO, T.; FUKUDA, Y.; NAMIKI, M. Oil and Minor Components of Sesame (*Sesamum indicum* L.) Strains. **JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 67, n. 8, p. 508–511, 1986.

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

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, p. 989–997, 2008a.

TRATTNER, S. et al. Sesamin increases alpha-linolenic acid conversion to docosahexaenoic acid in atlantic salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes: Role of altered gene expression. **Lipids**, v. 43, p. 999–1008, 2008b.

TURCHINI, G. M.; FRANCIS, D. S. Fatty acid metabolism (desaturation, elongation and beta-oxidation) in rainbow trout fed fish oil- or linseed oil-based diets. **The British journal of nutrition**, v. 102, n. 2009, p. 69–81, 2009.

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

YOSSA, R. et al. Effects of dietary biotin and avidin on growth, survival, feed conversion, biotin status and gene expression of zebrafish *Danio rerio*. **Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology**, v. 160, n. 4, p. 150–158, 2011.

YOSSA, R. et al. Dietary biotin requirement for growth of juvenile zebrafish *Danio rerio* (Hamilton-Buchanan). **Aquaculture Research**, p. 1–11, 2013.

YOSSA, R. et al. Current knowledge on biotin nutrition in fish and research perspectives. **Reviews in Aquaculture**, v. 7, p. 59–73, 2015.

2 CAPÍTULO 1 Óleo de gergelim associados a outros óleos em dietas: Efeitos sobre o desempenho zootécnico, composição química corporal e alterações fisiológicas de Lambaris *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000)

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inclusão de óleo de gergelim associada ao óleo de soja, óleo de linhaça e de óleo de resíduo de peixes nas dietas sobre o desempenho zootécnico, a composição química corporal e as possíveis alterações fisiológicas de lambari *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000). O experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x2), três tipos de óleo (de soja -OS, de linhaça - OL e de resíduo de peixe-ORP), associados ou não ao óleo de gergelim (OG), e quatro repetições. Foram utilizados 4224 peixes (peso médio de 2,35 g $\pm$ 0,62 g e comprimento médio de 5,25 cm $\pm$ 0,68 cm) distribuídos em 24 tanques-redes (densidade de 252 peixes.m⁻³). Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, com dietas isoprotéicas (PB 29 g. 100⁻¹g) e isoenergéticas (EB 4383 kcal.100g⁻¹), com 3 % de adição de óleo e com suplementação de 50 mg.kg⁻¹ de ácido pantotênico e 1 mg.kg⁻¹ de biotina. Após 75 dias, os peixes foram pesados e coletaram-se as amostras para as análises de composição química corporal, de perfil de ácidos graxos, de glicemia, de glicogênio hepático (GH) e muscular (GM), espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e histologia do tecido hepático. Houve a influência da inclusão de OG aos OS, OL e ORP sobre os perfis de ácidos graxos, no índice hepatossomático, na glicemia e no TBARS. A adição de OG aumentou a taxa de dessaturação de LNA em HUFA n-3, e reduziu a oxidação de lipídeos do tecido hepático, somente para indivíduos que receberam OL. A presença de OG não provocou a formação de esteatose hepática e lesões e não foi verificada redução no desempenho. A inclusão de OG é possível de ser realizada uma vez que melhora o perfil de ácidos graxos e a estabilidade, sem provocar problemas relacionados à saúde dos peixes.

Palavras chaves: ácidos graxos nutrição, oxidação, peixes.

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the addition of sesame oil associated to soybean oil, linseed and fish residue in the diets on the growth performance, body composition and possible physiological changes of Lambaris (*Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski 2000)). The experiment followed by

casual randomized design with factorial scheme (3x2), 3 type of oil tested (soy (SO), linseed (LO) and fish residue (FRO)), combined or not to sesame oil (SEO) and four replications. Total of 4,224 fishes (mean weight $2.35 \text{ g} \pm 0.62 \text{ g}$ and mean length $5.25 \text{ cm} \pm 0.68 \text{ cm}$) were distributed in 24 cages (0.70 m^3) (density $252 \text{ fishes.m}^{-3}$). The fishes were fed twice a day (9:00 and 16:00 hs) with diets that were isoproteic (GP $29 \text{ g. } 100^{-1}\text{g}$) and isoenergetic diets (GE $4383 \text{ kcal. } 100\text{g}^{-1}$) containing 3 % of oil, and 50 mg.kg^{-1} of pantothenic acid and 1 mg.kg^{-1} of biotin. After 75 days, the fish were weighed and samples were collected to analyze chemical composition, fatty acid profile, glycaemia, liver (GH) and muscle glycogen (GM) levels, thiobarbituric acid reactive species (TBARS) and histology of liver tissue. The results showed the effect of OG inclusion with OS, OL and ORP on fatty acids profile, on IHS, on glycemia and TBARS. The addition OG increased the LNA desaturation rate to HUFA n-3, and reduced the hepatic lipid peroxidation only in individuals who received OL, a source of linolenic acid (LNA). The presence of OG did not cause hepatic steatosis and lesions and no reduction was observed on growth performance. The inclusion of the OG improves the fatty acid profile and oxidative stability, without causing damages on fish's health.

Keywords: fatty acids, fish, oxidation, nutrition.

2.1 Introdução

A elevação de custo das dietas ocasionado pela inclusão de óleo e farinha de peixe direcionou as pesquisas para testes com fontes lipídicas alternativas, como os óleos vegetais (NAYLOR et al., 2000). No entanto, em algumas espécies de peixes marinhos, a substituição de farinha e óleo de peixe pode afetar o crescimento, o metabolismo dos peixes, e consequentemente, a homeostase oxidativa, podendo promover o aumento de geração de espécies reativas ao oxigênio (ROS) (OLSVIK et al., 2011).

Em peixes tropicais como a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), a inclusão de ácido linolênico (LNA) em dietas demonstrou a capacidade de conversão de DHA a partir deste EFA. O aumento de níveis de LNA provocou a diminuição da dessaturação de ácido linoleico em HUFA n-6, devido a maior

afinidade das enzimas envolvidas na dessaturação e alongação em relação aos ácidos graxos n-3 (CHEN et al., 2013).

Assim como a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), o lambari (*Astyanax altiparanae*) possui a capacidade em converter o ácido linolênico e o linoleico em ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) como o EPA, DHA e ARA, respectivamente (CAMPELO et al., 2014; GONÇALVES; FERROLI; VIEGAS, 2012).

O óleo de gergelim possui propriedades terapêuticas pois a sua adição em dietas de ratos promove a redução de níveis de glicose sanguínea, colesterol e triglicérides, assim como a diminuição de formação de esteatose hepática, sepse renal causada por intoxicação a LPS (parede celular bacteriana) (GUIMARÃES; MACEDO, 2013; HSU et al., 2005; PERIASAMY et al., 2014).

Além disso, óleo de gergelim é capaz de promover em peixes a formação de ácidos graxos como DHA, a partir da dessaturação e alongação do ácido linolênico, devido a presença de lignanos como a sesamina, episamina e sesamolina (KÖSE; YILDIZ, 2013; TRATTNER et al., 2008b).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a inclusão de óleo de gergelim (OG) associada aos óleos de soja (OS), óleo de linhaça (OL) e óleo de resíduo de peixe de água doce (ORP) nas dietas sobre o desempenho zootécnico, composição química corporal e possíveis alterações fisiológicas do lambari (*Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000).

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em fatorial com 3 tipos de óleos: óleo de soja-OS (Cargill, São Paulo, Brasil), óleo de linhaça -OL (Cisbra, Rio Grande do Sul, Brasil) e óleo de resíduo de peixe de água doce - ORP (doada pela truticultura Nosso Recanto, Minas Gerais, Brasil) e combinações com óleo de gergelim - OG (Sum Sum Hong, São Paulo, Brasil) totalizando seis tratamentos e quatro repetições para cada tratamento (24 unidades experimentais).

2.2.2 Dietas Experimentais

As dietas experimentais continham 29 g.100g⁻¹ de proteína bruta, 2955 kcal.kg⁻¹ de energia digestível, 3,00 g.100g⁻¹ de óleo. Para as dietas contendo OG, foi adicionado 1,50 g.100g⁻¹ e 1,50 g.(estimado para conter 37,50 mg.100g⁻¹ de sesamina / episamina)(TRATTNER et al., 2008b).

A composição das dietas (A.O.A.C, 1990) e os perfis de ácido graxos de dietas (A.O.A.C, 2005) estão apresentados nas **Tabelas 1 e 2**, respectivamente. As dietas foram extrusadas em uma extrusora (Ferraz, Brasil) (**Figura 3**) e secas em estufas (**Figura 4**). A adição dos óleos foi feita com uso de um misturador após a etapa de secagem.

Figura 3 Extrusão das dietas experimentais

Figura 4 Secagem das dietas experimentais

Tabela 1 Ingredientes, formulação e composição das dietas experimentais.

Ingredientes (g.100g ⁻¹)	OS	OL	ORP	OS/OG	OL/OG	ORP/OG
Milho	26,71	26,71	26,71	26,71	26,71	26,71
Farinha de vísceras	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Farelo de Soja	13,73	13,73	13,73	13,73	13,73	13,73
Farelo de Trigo	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00
Levedura de cana	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Quirera de arroz	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Farinha de Carne	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Farinha de peixe	5,50	5,50	5,50	5,50	5,50	5,50
Fosfato bicálcico	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Óleo de soja (OS)	3,00	-	-	1,50	-	-
Óleo de linhaça (OL)	-	3,00	-	-	1,50	-
Óleo de resíduo de peixe (ORP)	-	-	3,00	-	-	1,50
Óleo de gergelim (OG)	-	-	-	1,50	1,50	1,50
Cloreto de colina	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
L-Lisina	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
DL-Metionina	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13
Antioxidante	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Antifúngico	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento vitamínico mineral ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Composição química	Unidade (g.100g ⁻¹)					
Matéria seca ²	94,19	94,35	95,70	95,54	94,78	94,06
Proteína bruta ²	29,39	29,65	29,09	29,92	29,29	29,28
Proteína digestível	24,07	24,28	23,82	24,50	23,98	23,97
Energia bruta ²	4375	4365	4395	4365	4385	4414
Lipídeos ²	9,17	9,24	9,13	9,20	9,29	9,24
Fibra bruta	6,52	6,52	6,52	6,52	6,52	6,52
Matéria mineral ²	10,18	10,35	10,15	10,02	10,00	10,18
Cálcio	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Fósforo total	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31
Fósforo disponível	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74
Amido	31,38	31,38	31,38	31,38	31,38	31,38
Arginina	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58
Lisina total	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
Metionina + Cistina total	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93
Treonina	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94
Triptofano	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
Metionina total	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
Ácido Pantotênico (mg.kg ⁻¹)	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Biotina (mg.kg ⁻¹)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

¹Suplemento vitamínico e mineral (0,50g.100g⁻¹): vitamina A, 12.000 UI.; vitamina D3, 3.000 UI; Vitamina E, 150 mg; Vitamina K3, 15 mg; Vitamina B2, 20 mg; Vitamina B6, 17,50 mg; Vitamina B12, 40 mcg; Vitamina C, 300 mg; Ácido Nicotínico, 100 mg; Pantotenato de Cálcio, 50 mg; Biotina, 1,00mg; Ácido Fólico, 6 mg; Sulfato de Cobre, 17,50 mg; Sulfato de Ferro, 100 mg; Sulfato de Manganês, 50 mg; Sulfato de Zinco, 120mg; Iodeto de Cálcio, 0,80mg; Sulfato de Sódio, 0,50 mg; Sulfato de Cobalto, 0,40mg; Inositol, 125 mg; Cloreto de Colina, 500 mg; veículo. ²Analisadas em laboratório. ³ Calculados com base na literatura (TRATTNER et al., 2008a)

OS = óleo de soja, OL=óleo de linhaça, ORP=óleo de resíduo de peixe de água doce, OG = óleo de gergelim.

Tabela 2 Perfis de ácidos graxos de óleos, expressos em g.100g⁻¹ de ácidos graxos totais.

Ácidos graxos	Tipos de óleo			
	OS	OL	ORP	OG
C12:0	0,00	0,00	0,03	0,00
C14:0	0,07	0,04	1,18	0,01
C15:0	0,01	0,02	0,09	0,00
C16:0	11,19	6,17	19,09	9,64
C16:1	0,08	0,00	7,69	0,10
C17:0	0,08	0,06	0,11	0,05
C18:0	3,28	5,52	5,3	6,54
C18:1-n9(cis+trans)	23,90	19,26	37,82	40,55
C18:2n-6 (cis+trans)	54,43	14,54	19,57	41,80
C18:3n-6	0,01	0,01	0,74	0,01
C18:3n-3	5,62	53,59	0,65	0,25
C20:0	0,34	0,23	0,14	0,62
C20:2n-6	0,03	0,01	1,46	0,01
C20:3n-6	0,00	0,00	1,25	0,00
C20:4n-6	0,00	0,00	1,36	0,00
C20:3n-3	0,00	0,03	0,04	0,00
C20:5n-3	0,00	0,00	0,05	0,00
C22:0	0,47	0,16	0,07	0,12
C22:1n-9	0,00	0,02	0,19	0,00
C22:2n-6	0,00	0,00	0,12	0,00
C24:0	0,17	0,09	0,01	0,08
C22:6n-3	0,00	0,00	0,78	0,00
SFA	15,7	12,31	26,05	17,09
MUFA	24,42	19,4	47,89	40,81
PUFA (total)	60,09	68,18	26,00	42,07
PUFA (n -6)	54,44	14,55	23,04	41,81
PUFA (n-3)	5,62	53,62	1,52	0,25
PUFA (n-6/n-3)	9,69	0,27	15,16	167,24

*SFA: ácidos graxos saturados, MUFA: ácidos graxos monoinsaturados, PUFA: ácidos graxos poli-insaturados.

OS = óleo de soja, OL=óleo de linhaça, ORP=óleo de resíduo de peixe de água doce, OG = óleo de gergelim.

Tabela 3 Perfis de ácidos graxos de dietas experimentais, expressos em g.100g⁻¹ de ácidos graxos totais.

Ácidos graxos	Tratamentos					
	OS	OL	ORP	OS/OG	OL/OG	ORP/OG
C12:0	0,00	0,06	0,01	0,00	0,00	0,00
C14:0	0,67	0,50	1,29	0,56	0,52	0,97
C14:1	0,05	0,04	0,13	0,07	0,06	0,27
C15:0	0,00	0,09	0,14	0,11	0,13	0,14
C16:0	13,97	10,89	19,78	13,68	11,62	16,07
C16:1	1,42	1,19	5,70	1,15	1,06	3,69
C17:0	0,18	0,27	0,21	0,14	0,14	0,16
C18:0	3,51	4,81	5,65	4,77	4,7	5,21
C18:1-n9(cis+trans)	24,40	21,30	33,41	29,90	26,91	33,50
C18:2n-6	49,20	22,69	26,37	45,06	31,64	35,15
C18:3n-6	0,00	0,03	0,51	0,00	0,00	0,28
C18:3n-3	5,39	36,79	1,83	3,15	21,89	1,55
C20:0	0,16	0,15	0,16	0,28	0,22	0,29
C20:2n-6	0,00	0,05	0,72	0,00	0,00	0,35
C20:3n-6	0,00	0,04	0,68	0,00	0,00	0,32
C20:4n-6	0,26	0,23	0,98	0,22	0,21	0,59
C20:5n-3	0,19	0,12	0,15	0,15	0,13	0,20
C22:0	0,04	0,09	0,09	0,16	0,10	0,12
C22:1n-9	0,00	0,01	0,11	0,00	0,00	0,00
C22:2n-6	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
C24:0	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00
C22:6n-3	0,20	0,20	0,64	0,25	0,25	0,48
ΣSFA*	18,53	16,91	27,33	19,70	17,43	22,96
ΣMUFA*	25,87	22,54	39,35	31,12	28,03	37,46
ΣPUFA*	55,24	60,15	31,93	48,83	54,12	38,92
PUFA _{n-6}	49,46	23,04	29,31	45,28	31,85	36,69
PUFA _{n-3}	5,78	37,11	2,62	3,55	22,27	2,23
PUFA _{n-6/n-3}	8,56	0,62	11,19	12,75	1,43	16,45

*SFA: ácidos graxos saturados, MUFA: ácidos graxos monoinsaturados, PUFA: ácidos graxos poli-insaturados.

OS = óleo de soja, OL=óleo de linhaça, ORP=óleo de resíduo de peixe de água doce, OG = óleo de gergelim.

2.2.3 Condições experimentais e peixes

Para este experimento, foram utilizados 4224 peixes (peso médio de 2,35 g ± 0,62 g e comprimento médio de 5,25 cm ± 0,68 cm), distribuídos em 24 tanques-redes com volume útil de 0,70 m³ (densidade de 251 peixes.m⁻³) que foram distribuídos de forma que houvesse circulação de água, demonstrados pelas **Figuras 5 e 6**. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (às 9:00

e às 16:00 hs) até a aparente saciedade. A qualidade da água foi monitorada em dias alternados, avaliando-se a temperatura, a taxa de oxigênio dissolvido e o pH, por meio do equipamento Horiba U-10 e os níveis de amônia e nitrito foram determinados por meio de medidores (Hanna Instruments, Estados Unidos).

Figura 5 Disposição dos tanques- rede (viveiro 1).

Figura 6 Disposição dos tanques-rede (Viveiro 2).

Os peixes foram pesados aos 0, 35 e 75 dias e posteriormente e foram anestesiados com óleo de cravo (50 mg.L⁻¹ de água) (PEREIRA-DA-SILVA et al., 2009) e abatidos por perfuração craniana. A coleta de amostras foi feita em peixes que foram mantidos em jejum por 24 horas.

2.2.4 Desempenho Zootécnico

A determinação das variáveis consumo da dieta (CD), conversão alimentar (CA), ganho de peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE) e taxa de eficiência proteica (TEP) foi realizada através das fórmulas descritas abaixo.

$$CD = \frac{\text{Consumo total da dieta por unidade experimental}}{n^{\circ} \text{ indivíduos}}$$

$$CA = \frac{CD}{GP}$$

$$GP = \text{Peso final individual} - \text{Peso inicial individual}$$

$$TEP = \frac{GP}{(CD * \% PB \text{ da dieta})}$$

$$TCE(\%) = (\ln \text{ peso corporal final} - \ln \text{ peso corporal inicial}) / \text{tempo (dias)} * 100$$

$$IHS(\%) = \text{peso do fígado} / \text{peso total} * 100$$

2.2.5 Análise de composição química corporal

A análise de composição química de peixes inteiros foi realizada pela metodologia descrita por A.O.A.C.(1990). Para cada tanque-rede, coletaram-se 30 animais os quais foram triturados, formando uma amostra única (pool). Foram determinados os teores de matéria seca (MS), por secagem em estufa; proteína bruta (PB), pelo método Semi Microkjedhal; matéria mineral (MM), pela utilização de uma mufla; de lipídeos (LIP), pelo método de Soxhlet e de energia bruta (EB), com uso de bomba calorimétrica.

2.2.6 Determinação de perfil de ácidos graxos de peixes eviscerados

Para esta análise, foram coletados 25 peixes por unidade experimental e conservados a -20°C. Para cada extração, foram pesados 20 gramas de amostras, seguindo a metodologia de Bligh & Dyer (1959) seguidas das etapas de saponificação, esterificação e obtenção dos perfis de ácidos graxos, por metodologia da A.O.A.C. (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 equipado com detector de ionização de chama (GC-FID) e coluna capilar (SP2560) de 100 m x 0,25mm. O cromatógrafo foi programado para seguir estas condições: 100°C durante 4 minuto e a temperatura final (240°C), à velocidade 3°C por minuto. A temperatura do injetor foi de 225°C, e do detector, de 285°C, e o gás de arraste foi o gás hélio.

2.2.7 Determinação de níveis de glicemia; de glicogênio hepático e muscular

Os níveis de glicemia dos peixes (n=10 por tratamento) foram avaliados em cinco μL de sangue coletados por meio de seringa de insulina na região da veia caudal e medidos por glicosímetro portátil com fitas específicas (Accu-chek, Brasil). O Índice Hepatossomático (IHS) foi calculado através de dados de pesagem dos peixes e seus respectivos fígados.

A quantificação de glicogênio foi realizada de acordo com a metodologia de Dubois et al.(1956) citada por BIDINOTTO; MORAES; SOUZA (1997). Foram pesadas 10 mg de amostras de fígado (n= 14 por tratamento) e 100 mg de músculo (n= quatro por tratamento), transferidos para tubos contendo 1 mL de KOH (6N), permanecendo cinco minutos em banho maria, a 100 °C, até a dissolução completa. Em seguida, alíquotas de 122,5 μL foram transferidas para microtubos de centrifuga contendo 1,50 mL de etanol a 95 % e em seguida homogeneizadas. Acrescentaram-se a cada microtubo, 100 μL de sulfato de potássio, formando precipitado branco nebuloso. Estes foram levados a centrifuga por três minutos à 3.000 rpm. Após descarte do sobrenadante, os precipitados obtidos foram homogeneizados com 1,25 mL de água destilada.

Em 1 mL da solução obtida, foram adicionados 25 μL de fenol a 80%, e 2,5 mL de ácido sulfúrico. Os tubos com as amostras e os reagentes foram agitados em homogeneizador tipo vortex e incubados em banho Maria a 25-30 °C por 10 minutos. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro a $\lambda = 480 \text{ nm}$. O valor obtido da leitura foi utilizado para o cálculo de quantidade de glicogênio, através da equação obtida pela curva padrão de glicose.

2.2.8 Determinação de compostos oriundos da peroxidação lipídica (TBARS) do tecido hepático

A determinação de compostos oriundos da peroxidação lipídica (TBARS) foi baseada em Vyncke (1970) adaptado para leitor de microplacas, modificando-se as proporções descritas por este autor. Foram analisados fígados de peixes (n= seis por tratamento). As extrações foram realizadas pela adição de ácido tricloroacético (TCA) (Sigma Aldrich, St. Louis, Estados Unidos), e homogeneizadas em homogeneizador tipo Potter (Tecnal, Brasil) por 60 segundos. As soluções compostas pelas amostras e o TCA foram centrifugadas, a 10.000 rpm por cinco minutos, retirando-se o sobrenadante para o qual foram

acrescidas a solução de TBA ácido tiobarbitúrico (TBA) (Merck, Alemanha) e posteriormente incubadas em banho-maria a 100°C por 40 minutos. Após o resfriamento, as soluções obtidas foram pipetadas em pocinhos de microplaca e foram feitas leituras em leitor de microplacas, a absorbância de 540 nm.

2.2.9 Histologia de tecido hepático

As amostras de fígado de lambaris (n= 10 por tratamento) foram fixadas em formol, e, em seguida, emblocadas em parafina. Foram realizados cortes histológicos através de um micrótomo, com espessura de cinco μm . As lâminas foram desparafinizadas e coradas em Hematoxilina-Eosina (HE) (Synth, Brasil). A leitura das lâminas histológicas e captura de imagens foram realizadas com o uso do microscópio Zeiss e programa Axion Vision 4.1 (Carl Zeiss, Alemanha).

2.2.10. Análise estatísticas

Os dados foram avaliados pelo teste de variância (ANOVA) (procedimento GLM), considerando os dois fatores: tipos de óleo e presença de OG e a sua interação, por meio de um software estatístico SAS (2002). Diferenças significativas entre os fatores foram verificados pelo teste F. Os dados de GH e de TBARS foram previamente tratados pelo comando SAS/LAB.

2.3 Resultados e Discussão

Os parâmetros de qualidade da água (temperatura, oxigênio dissolvido, pH, amônia e nitrito) mantiveram em 23,42 - 27,07°C; 3,62 - 6,45 mg.L^{-1} e 6,63-7,23; 0,34 e 0,41 mg.L^{-1} respectivamente.

Os resultados de desempenho dos lambaris encontram-se na **Tabela 4**. Não foram verificadas diferenças significativas ($p < 0,05$), em relação ao uso de OS, OL e ORP, e a associação com OG, sobre as variáveis de desempenho. Não houve interação entre diferentes fontes de óleo e a presença ou não de OG.

Em geral, o lambari possui a capacidade em se adaptar a diversos ingredientes de origem vegetal e animal, por ser uma espécie onívora. A substituição de ingredientes de origem animal por vegetal em sua dieta é

possível de ser realizada uma vez que não foi verificada diferença significativa para ganho de peso, conversão alimentar e taxa de sobrevivência (SUSSEL et al., 2014).

O índice hepatossomático (IHS) de peixes submetidos às dietas contendo OG apresentaram porcentagens mais altas demonstrando que houve o efeito da presença de OG sobre esta variável. Em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), o aumento de níveis de inclusão de LNA reduziu as porcentagens de IHS (CHEN et al., 2013). No entanto, em lambari, não foi verificado diferença significativa para OL, o qual é uma fonte de LNA.

Tabela 4 Valores médios referentes ao desempenho zootécnico de lambaris.

Variáveis	Efeito Tipos de óleo				Efeito Inclusão de OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD ¹
CD ² (g)	6,96	6,84	7,43	0,17	7,02	7,13	0,68	0,62
GP ² (g)	4,14	4,18	4,86	0,12	4,44	4,34	0,73	0,74
CA ²	1,58	1,59	1,49	0,20	1,55	1,55	0,84	0,11
TEP ²	2,01	2,06	2,25	0,30	2,15	2,06	0,47	0,31
TCE ² (% Dia ⁻¹)	1,35	1,35	1,50	0,14	1,40	1,39	0,76	0,15
IHS ² (%)	1,17	1,15	1,07	0,51	1,03 ^B	1,23 ^A	0,01	0,17

¹ Desvio padrão residual (RSD)

* Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (P<0,05)

²CD = Consumo da dieta; GP=ganho de peso, CA = conversão alimentar; TEP= taxa de eficiência proteica, TCE=taxa de crescimento específico, IHS = índice hepatossomático.

O uso de óleos provenientes de resíduos de peixes não afetou o desempenho zootécnico dos animais, proporcionando resultados positivos em relação a possível condição de substituto do óleo de peixe convencional. Assim como neste trabalho, a adição de óleo de soja, de tilápia e de salmão em dietas para lambari do rabo amarelo (*Astyanax altiparanae*) não afetou o desempenho zootécnico (GONÇALVES; FERROLI; VIEGAS, 2012).

O OG também pode ser utilizado como fonte lipídica sem que ocorra redução no crescimento dos animais, obtendo resultados similares à adição de óleo de soja, comumente usada para a substituição do óleo de peixe (NAYLOR et al., 2009). A associação deste óleo com óleo de girassol, de linhaça e de peixe

em dietas para trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), não afetou o ganho de peso, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica (KÖSE; YILDIZ, 2013).

A sesamina, um composto encontrado em OG, adicionada aos óleos de linhaça em combinação com de girassol não reduziu o ganho de peso e de crescimento em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (TRATTNER et al., 2008b) e em carpas (*Cyprinus carpio*) (MRAZ et al., 2010). No entanto, para espécie marinha *Lates calcarifer*, verificou-se o decréscimo do peso final, ganho de peso, conversão alimentar e taxa de crescimento específico (ALHAZZAA et al., 2012).

Para a composição química corporal, não foram verificadas diferenças significativas entre os fatores (**Tabela 5**). Desta forma, não houve efeito de interação entre os tipos de fontes de óleo e a adição de óleo de gergelim.

Assim como neste trabalho, os níveis crescentes de CLA (ácido linoleico conjugado) em dietas para lambaris não provocou alterações na composição química (CAMPELO et al., 2014). No entanto, a utilização de óleos de soja, de tilápia e de salmão em dietas para lambari afetou o seu teor de lipídeos e de proteínas. Os níveis mais altos de proteína foram verificados em machos que receberam dietas contendo óleo de soja e de salmão e para os lipídeos, o óleo de soja diferiu-se em relação aos outros tratamentos (GONÇALVES; FERROLI; VIEGAS, 2012).

Tabela 5 Valores médios de composição química corporal de lambaris inteiros.

Variáveis	Efeito Tipos de óleo				Efeito Inclusão de OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD ¹
MS (g.100g ⁻¹) ²	35,12	35,46	35,53	0,58	35,28	35,46	0,60	0,82
PB (g.100g ⁻¹) ²	16,87	16,82	16,58	0,52	16,64	16,89	0,28	0,53
MM (g.100g ⁻¹) ²	3,74	3,89	3,86	0,22	3,86	3,81	0,47	0,18
LIP (g.100g ⁻¹) ²	14,52	14,52	14,55	1,00	14,73	14,34	0,21	0,70
EN ² (kcal.100g ⁻¹)	229,18	229,92	229,86	0,98	229,12	230,19	0,72	7,26

¹ Desvio padrão residual (RSD)

* Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (P<0,05)

² MS=matéria seca, PB= proteína bruta, MM=matéria mineral, LIP=lipídeos, EM=energia.

A inclusão de óleos alternativos em dietas alterou perfis de ácidos graxos de carcaças dos lambaris. Foram verificados efeitos da inclusão de diferentes óleos (OS, OL e ORP), a combinação destes com o OG e a interação entre estes dois fatores (**Tabela 6 e 7**).

Os lambaris apresentaram altos níveis de ácidos graxos C16:0; C18:1n-9 (cis), pertencentes ao grupo SFA, MUFA respectivamente. Observou-se a influência das características dos óleos(**Tabela 2**) sobre os ácidos graxos de lambaris, interferindo nas quantidades de SFAs, MUFAs e PUFA's (**Tabela 7**) e em particular, o C14:0, C16:0, C16:1, o ácido oleico (C18:1n-9), LA (C18:2n-6), LNA (C18:3n-3), AA (C20:4n-6), EPA (C20:5n-3) e DHA (C22:6n-3) (**Tabela 6**).

As diferenças encontradas neste experimento, podem estar relacionadas à capacidade desta espécie em converter LA em AA e LNA em EPA e DHA, assimilando o perfil de ácidos graxos provenientes das dietas experimentais (GONÇALVES; FERROLI; VIEGAS, 2012).

O ORP ocasionou a elevação de quantidades de C16:0 e de C18:1n-9, assim proporcionando o aumento dos níveis de SFA e de MUFA, respectivamente, como era esperado. Além disso, aumentou a taxa de dessaturação de LA em HUFA n-6.

O OL provocou o aumento de LNA e consequente elevação de níveis de PUFA n-3, em particular o EPA e DHA, melhorando o perfil lipídico do peixe. A adição de OS em dietas aumentou as quantidades de LA e de PUFA n-6 em lambaris, mas não igualou os níveis de AA como o ORP, que continha este ácido graxo em maior quantidade.

A adição de OG aumentou os níveis de MUFA em peixes que receberam as dietas contendo OS e OL em sua composição. Este óleo é considerado como uma fonte de MUFA, contendo cerca de 46% em seu perfil lipídico (KOCHHAR, 2002). No entanto, o mesmo não foi verificado em indivíduos alimentados com dietas ORP e ORP/OG, porque estas possuíam níveis semelhantes de MUFA em sua composição.

A inclusão de OS/OG e OL/OG nas dietas diminuiu os valores de Σ PUFA e de PUFA n-3 em comparação a OL e OS; e ORP e ORP/OG mantiveram-se semelhantes. Para PUFA n-6, houve o seu aumento em animais alimentados com dietas OS, OL/OG e ORP/OG em relação à OS/OG, OL e ORP. As estas

variações de tendências observadas em somatório de ácidos graxos devem-se aos perfis lipídicos dos óleos e das dietas experimentais (**Tabela 2 e 3**).

O aumento da taxa de dessaturação de LNA em HUFA n-3 foi verificada em indivíduos que receberam dietas ORP, os quais continham baixas quantidades deste ácido graxo e inclusão de OG potencializou este efeito (**Tabela 7**). Ao comparar os valores de DHA, verificou-se a eficiência de OG em promover a conversão, principalmente em peixes que receberam baixos níveis de LNA. A conversão de LNA em DHA pode ser evidenciada pelos valores semelhantes apresentados por indivíduos que receberam OG com os demais (**Tabela 6**).

O provável aumento da taxa de dessaturação de LNA para HUFA n-3 e a formação de DHA podem estar relacionados à presença de compostos bioativos em OG. A sesamina é um composto solúvel em óleo encontrado em semente e óleo de gergelim. Durante o processamento desses produtos é obtida a episamina a partir da sesamina (IDE et al., 2004). A sua utilização associada ao óleo linhaça e girassol provocou modificações significativas no metabolismo de lipídeos e aumentou a quantidade de DHA em músculo branco de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e em hepatócitos cultivados *in vitro* de salmão atlântico (*Salmo salar* L.) (TRATTNER et al., 2008a, 2008b).

Estes compostos aumentaram as atividades de enzimas ligadas a β oxidação mitocondrial e peroxissomal, através da ativação dos receptores *peroxissome proliferator activated receptor α* (PPAR α), em ratos e em peixes como a truta arco-íris e *Lates calcarifer* (ALHAZZAA et al., 2012; ASHAKUMARY et al., 1999; TRATTNER et al., 2008b).

Os receptores PPAR α participam da ativação de enzimas relacionadas a oxidação como a acylCoA oxidase e a carnitina palmitoiltransferase e se correlaciona positivamente ao aumento da atividade da dessaturase $\Delta 6$, responsável pelo início da dessaturação LA e LNA em C18:3n-6 e 18:4n-3, respectivamente (NAKAMURA et al., 2001). As enzimas relacionadas a dessaturação preferencialmente participam da conversão de LNA em HUFA n-3 (TOCHER, 2003).

Tabela 6 Perfis de ácidos graxos de peixes eviscerados, expressos em g.100g⁻¹ de ácidos graxos totais.

Ácidos graxos	Efeito Tipos de óleo				Efeito OG			
	OS	OL	ORP	P- value	SEM	COM	P- value	RSD ¹
C12:0	0,08	0,05	0,06	0,53	0,07	0,06	0,72	0,06
C16:0	20,03 ^B	19,45 ^B	21,12 ^A	0,001	20,38	20,01	0,11	0,34
C18:0	8,15	7,89	7,99	0,23	7,94	8,09	0,23	0,19
C18:1-n9(trans)	0,06	0,09	0,11	0,53	0,10	0,08	0,51	0,05
C18:3n-6	0,25 ^{AB}	0,19 ^B	0,31 ^A	0,023	0,26	0,25	0,80	0,04
C20:0	0,13	0,13	0,11	0,48	0,11	0,14	0,09	0,024
C20:1	0,5 ^{AB}	0,46 ^B	0,55 ^A	0,01	0,50	0,51	0,46	0,02
C20:2n-6	0,19	0,22	0,28	0,06	0,23	0,23	0,94	0,04
C20:3n-3	0,00 ^B	0,12 ^A	0,00 ^B	0,002	0,05	0,03	0,35	0,03
C22:6n-3 (DHA)²	0,69 ^B	1,00 ^A	0,73 ^B	0,02	0,85	0,77	0,25	0,12

Efeito Tipos de óleo * OG								
Ácidos graxos	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD ¹
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
C14:0	1,15 ^A	0,97 ^B	1,02 ^A	1,07 ^A	1,24 ^A	1,15 ^A	0,048	0,051
C18:1-n9(cis)	44,19 ^B	46,91 ^A	43,93 ^A	45,74 ^A	46,76 ^A	46,80 ^A	0,007	0,392
C18:2n-6 (LA)²	17,84 ^A	16,61 ^B	14,31 ^B	15,50 ^A	13,48 ^B	15,02 ^A	<0,0001	0,189
C18:3n-3 (LNA)²	1,45 ^A	0,90 ^B	7,06 ^A	3,35 ^B	0,88 ^A	0,79 ^A	<0,0001	0,152
C20:3n-6	0,55 ^A	0,55 ^A	0,31 ^B	0,48 ^A	0,60 ^A	0,56 ^A	0,003	0,027
C20:4n-6 (AA)²	0,77 ^A	0,65 ^B	0,37 ^B	0,51 ^A	0,85 ^A	0,81 ^A	0,004	0,033
C20:5n-3 (EPA)²	0,20 ^A	0,16 ^A	0,46 ^A	0,32 ^B	0,14 ^A	0,16 ^A	0,03	0,03

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

²LA=ácido linoleico, LNA=ácido linolênico, AA=ácido araquidônico, EPA=ácido eicosapentaenoico, DHA=ácido docosahexaenoico.

Tabela 7 Somatório de categorias de ácidos graxos e índices, expressos em g.100g⁻¹ de ácidos graxos totais.

Ácidos graxos	Efeito Tipos de óleo			P value	Efeito Inclusão de OG			RSD ¹
	OS	OL	ORP		SEM	COM	P value	
Σ SFA²	29,95 ^B	28,94 ^C	30,88 ^A	0,003	30,07	29,78	0,31	0,46
PUFAn-6/PUFA n-3	9,55 ^B	2,62 ^A	9,26 ^B	<0,0001	6,15 ^B	8,14 ^A	0,003	0,71
HUFA² n-3/LNA	0,75 ^B	0,32 ^C	1,07 ^A	<0,0001	0,64 ^B	0,80 ^A	0,03	0,09
Efeito Tipo de óleo * OG								
Ácidos graxos	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD ¹
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
Σ MUFA²	47,79 ^B	50,16 ^A	47,11 ^A	49,18 ^A	51,32 ^A	50,90 ^A	0,003	0,37
Σ PUFA²	22,05 ^A	19,92 ^B	24,12 ^A	21,68 ^B	17,32 ^B	18,67 ^A	0,003	0,33
PUFA n -6	19,40 ^A	18,09 ^B	15,21 ^B	16,68 ^A	15,27 ^B	16,69 ^A	<0,0001	0,25
PUFA n-3	2,46 ^A	1,63 ^A	8,70 ^A	4,75 ^B	1,75 ^A	1,71 ^A	<0,0001	0,20
HUFA²n-6/ LA	0,08 ^A	0,09 ^A	0,06 ^A	0,07 ^A	0,13 ^A	0,11 ^B	0,01	0,09

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

²SFA= ácidos graxos saturados, MUFA=ácidos graxos monoinsaturados, PUFA= ácidos graxos poli-insaturados, HUFA=ácidos graxos altamente insaturados.

A conversão de LNA é regulada pela quantidade HUFA n-3 presente em dietas e por esta razão, não foi verificado o efeito da sesamina em carpas (*Cyprinus carpio*), devido alta porcentagem de DHA presente na dieta (MRAZ et al., 2010). Sendo assim, a baixa concentração de DHA encontradas nas dietas experimentais (< 1,00 g.100g⁻¹ de ácidos graxos totais) provavelmente interferiu na ação deste lignano em lambaris.

A avaliação de possíveis alterações fisiológicas demonstrou o efeito da combinação de óleos com OG sobre a glicemia, a peroxidação lipídica do tecido hepático (TBARS) (**Tabela 8**).

Independente dos tratamentos, os níveis glicêmicos dos peixes acima de 49 mg. DL⁻¹ (PEREIRA-DA-SILVA; DE OLIVEIRA; NERO, 2014) demonstraram que os peixes sofreram estresse de manejo e de captura no momento das coletas (BARTON, 2002), e comparando-se os valores de OL e OL/OG, a inclusão de OG elevou de forma inexplicável os níveis glicêmicos de peixes estressados.

Teores de GH foram superiores a GM devido a função do fígado sintetizar reservas deste carboidrato e mobilizá-lo, dependendo da necessidade e estado do animal, mantendo-se a homeostase da glicose plasmática. A relação glicólise e glicogênese depende do estado nutricional do animal, nas quais enzimas atuam conforme o momento do animal, alimentados ou em jejum (METÓN; FERNÁNDEZ; BAANANTE, 2003; VIEGAS et al., 2012).

Em lambaris, não foi verificada a influência de fontes lipídicas sobre GH e GM. No entanto, alguns ácidos graxos poderiam ter interferido na formação do glicogênio, como o exemplo, o ácido oleico, o qual interfere nas atividades de enzimas envolvidas no metabolismo da glicose e de formação de reservas no fígado em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (LIBRÁN-PÉREZ et al., 2013).

Tabela 8 Resultados das variáveis utilizadas para avaliação do estado fisiológico dos lambaris submetidos às dietas experimentais.

Variáveis	Efeito Tipos de óleo				Efeito Inclusão de OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD ¹
GH² (mg glicosil. g⁻¹ amostra)	130	125	108	0,17^{ns}	130	112	0,85^{ns}	73,23
GM² (mg glicosil. g⁻¹ amostra)	6,58	5,87	7,54	0,25^{ns}	6,67	6,66	0,99^{ns}	1,77
Efeito Tipo de óleo * OG								
Variáveis	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res.Peixe		P value	RSD ¹
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
Glicemia (mg. DL⁻¹)	104,20 ^A	97,80 ^A	90,10 ^B	105,80 ^A	99,80 ^A	100,20 ^A	0,03	13,09
TBARS² (μmol.g⁻¹ de amostra)	7,53 ^A	14,79 ^A	30,57 ^A	10,93 ^B	6,62 ^A	5,91 ^A	0,035	12,12

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

² GH= glicogênio hepático, GM=glicogênio muscular, TBARS=espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico,

A alta taxa de peroxidação lipídica verificada em animais alimentados com a dieta OL pode ser explicada pela provável alta quantidade de PUFA n-3 presente no tecido hepático. O fornecimento dietas com quantidade reduzida de PUFA n-3 diminui a suscetibilidade do peixe à peroxidação lipídica, comprovado em seabass (*Lateolabrax japonicus*), nos quais indivíduos que foram

alimentados com dietas contendo óleo de palma em associação com óleo de peixe apresentaram valores mais baixos de malonaldeído (MDA) (GAO et al., 2012).

Os PUFA's ingeridos são estocados no fígado e são facilmente peroxidados, devido a ativação de receptores de PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor), formando H₂O₂ entre outros compostos secundários, que podem causar efeitos deletérios aos tecidos. Sendo assim, o fígado é o primeiro órgão a ser atingido pelo estresse oxidativo, e consequentemente a peroxidação lipídica (TAKAHASHI et al., 2002). Neste trabalho, verificou-se que a associação de OL e OG apresentou valor reduzido de TBARS em relação ao controle (OL).

Apesar do aumento da peroxidação lipídica em OL, não foram verificados problemas relacionados a lesões, formação de fibras colágenas (fibrose) e formação de vacúolos de lipídeos (esteatose hepática) previamente descritos por Caballero et al., (2002), independente dos tratamentos. Os hepatócitos de lambaris visivelmente apresentaram a disposição normal do núcleo e do citoplasma e as imagens condizem com a descrição prévia do tecido hepático e a disposição de hepatócitos (retangular), em arranjo cordão de lambaris (**Figura 7 a 12**) descritos por Chehade et al.(2014).

Figura 7 Tecido hepático - tratamento OS (HE).

Figura 8 Tecido hepático - tratamento OS/OG (HE).

Figura 9 Tecido hepático - tratamento OL (HE).

Figura 10 Tecido hepático - tratamento OL/OG (HE).

Figura 11 Tecido hepático - tratamento ORP (HE).

Figura 12 Tecido hepático - tratamento ORP/OG (HE).

2.4. Conclusão

A inclusão de OG aumenta os níveis de DHA através do aumento da taxa de dessaturação de LNA em HUFAn-3, e conseqüentemente melhora a

qualidade lipídica dos peixes, além de promover estabilidade oxidativa do tecido hepático, sem alterar o desempenho zootécnico e comprometer a saúde do animal.

2.5 Referências Bibliográficas

A.O.A.C. **Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists**. 12. ed. Washington, 1990.

A.O.A.C. **Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists**. 18. ed. Washington: [s.n.].

ALHAZZAA, R. et al. Sesamin modulation of lipid class and fatty acid profile in early juvenile teleost, *Lates calcarifer*, fed different dietary oils National Centre for Marine Conservation and Resource Sustainability, University of CSIRO Food Futures Flagship, Division of **Food Chemistry**, v. 134, p. 2057–2065, 2012.

ASHAKUMARY, L. et al. Sesamin, a sesame lignan, is a potent inducer of hepatic fatty acid oxidation in the rat. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 48, n. 10, p. 1303–1313, 1999.

BARTON, B. A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and comparative biology**, v. 42, p. 517–525, 2002.

BIDINOTTO, M.; MORAES, G.; SOUZA, R. H. S. Hepatic glycogen and glucose in eight tropical fresh-water teleost fish for field determination of micro-samples. **Boletim Tecnológico do Centro de Pesquisa e Treinamento em Aquicultura (CEPTA)**, v. 10, p. 53–70, 1997.

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.

CABALLERO, M. . et al. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 214, p. 253–271, 2002.

CAMPELO, D. A. V. et al. Conjugated linoleic acid in diets for lambari (*Astyanax altiparanae*) (Garutti & Britski, 2000). **Aquaculture Nutrition**, p. n/a–n/a, 2014.

CHEHADE, C. et al. Morphologic study of the liver of lambari (*Astyanax altiparanae*) with emphasis on the distribution of cytokeratin. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 40, p. 571–576, 2014.

CHEN, C. et al. N-3 essential fatty acids in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: Quantification of optimum requirement of dietary linolenic acid in juvenile fish. **Aquaculture**, v. 416-417, p. 99–104, 2013.

GAO, J. et al. Effects of dietary palm oil supplements with oxidized and non-oxidized fish oil on growth performances and fatty acid compositions of juvenile Japanese sea bass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**, v. 324-325, p. 97–103, 2012.

GONÇALVES, L. U.; FERROLI, F.; VIEGAS, E. M. M. Effect of the inclusion of fish residue oils in diets on the fatty acid profile of muscles of males and females lambari (*astyanax altiparanae*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 1967–1974, 2012.

GUIMARÃES, R.; MACEDO, M. Sesame and flaxseed oil: nutritional quality and effects on serum lipids and glucose in rats. **Food Science and technology**, v. 33, n. 1, p. 209–217, 2013.

HELRICK, K. **Official methods of the analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. washington: [s.n.].

HSU, D.-Z. et al. Effect of sesame oil on oxidative-stress-associated renal injury in endotoxemic rats: involvement of nitric oxide and proinflammatory cytokines. **Shock (Augusta, Ga.)**, v. 24, n. 3, p. 276–280, 2005.

IDE, T. et al. Interaction of dietary fat types and sesamin on hepatic fatty acid oxidation in rats. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1682, p. 80–91, 2004.

KOCHHAR, S. P. Sesame, rice-bran and flaxseed oils. In: GUNSTONE, F. D. (Ed.). **Vegetable oils in food technology: Composition, Properties and Uses**. [s.l.] Blackwell, 2002. p. 297–326.

KÖSE, I.; YILDIZ, M. Effect of diets containing sesame oil on growth and fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 29, p. 1318–1324, 2013.

LIBRÁN-PÉREZ, M. et al. Response of hepatic lipid and glucose metabolism to a mixture or single fatty acids: Possible presence of fatty acid-sensing mechanisms. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 164, n. 1, p. 241–248, 2013.

METÓN, I.; FERNÁNDEZ, F.; BAANANTE, I. V. Short- and long-term effects of refeeding on key enzyme activities in glycolysis–gluconeogenesis in the liver of gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, v. 225, n. 1-4, p. 99–107, 2003.

MRAZ, J. et al. Sesamin as a potential modulator of fatty acid composition in common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture Research**, v. 41, p. e851–e861, 2010.

NAKAMURA, M. T. et al. Metabolism and functions of highly unsaturated fatty acids: an update. **Lipids**, v. 36, n. 9, p. 961–964, 2001.

NAYLOR, R. L. et al. Effect of aquaculture on world fish supplies. **Nature**, v. 405, p. 1017–1024, 2000.

NAYLOR, R. L. et al. Feeding aquaculture in an era of finite resources. **pnas**, v. 106, n. 42, p. 15103–15110, 2009.

OLSVIK, P. A. et al. Hepatic oxidative stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) transferred from a diet based on marine feed ingredients to a diet based on plant ingredients. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, 2011.

PEREIRA-DA-SILVA, E. M.; DE OLIVEIRA, R. H. F.; NERO, B. DEL. Menthol as anaesthetic for lambari *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski 2000): attenuation of stress responses. **Aquaculture Research**, p. n/a–n/a, 2014.

PEREIRA-SILVA, E. M. et al. Efeito anestésico do óleo de cravo em alevinos de lambari. **Ciência Rural**, v. 39, p. 1851–1856, 2009.

PERIASAMY, S. et al. Sesame oil mitigates nutritional steatohepatitis via attenuation of oxidative stress and inflammation: A tale of two-hit hypothesis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n. 2, p. 232–240, 2014.

SUSSEL, F. R. et al. Replacement of animal protein with vegetable protein in the diets of *Astyanax altiparanae*. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 36, p. 343, 2014.

TAKAHASHI, M. et al. Fish oil feeding alters liver gene expressions to defend against PPAR α activation and ROS production. **American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology**, v. 282, p. G338–G348, 2002.

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

TRATTNER, S. et al. Sesamin increases alpha-linolenic acid conversion to docosahexaenoic acid in atlantic salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes: Role of altered gene expression. **Lipids**, v. 43, p. 999–1008, 2008b.

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, p. 989–997, 2008a.

VIEGAS, I. et al. Hepatic glycogen synthesis in farmed European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) is dominated by indirect pathway fluxes. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 163, n. 1, p. 22–29, 2012.

VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichmittel**, v. 72, p. 1084–1087, 1970.

3 CAPÍTULO 2. Óleo de gergelim associados a diferentes óleos, ácido pantotênico e biotina nas dietas para lambaris *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000): Efeitos sobre o desempenho zootécnico, composição química, qualidade da carne e alterações fisiológicas

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inclusão de óleo de gergelim (OG) associado aos óleos de soja (OS), óleo de linhaça (OL) e óleo de resíduo de peixe de água doce (ORP), com a suplementação de 100 mg.kg⁻¹ de ácido pantotênico e 2 mg.kg⁻¹ de biotina nas dietas de lambari *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000) sobre o desempenho zootécnico, a composição química corporal, perfil de ácidos graxos, qualidade da carne e possíveis alterações fisiológicas. O experimento seguiu de acordo com o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x2), três tipos de óleo (de soja -OS, de linhaça -OL e de resíduo de peixe de água doce-ORP) associado ou não ao óleo de gergelim (OG), e quatro repetições. Utilizaram-se 4.632 peixes (peso médio de 0,95 g ± 0,46 g e média de comprimento de 4,21 cm ± 2,77 cm) e distribuídos em 24 gaiolas (0,70 m³) (densidade 276 peixes.m⁻³). Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (9:00 e 16:00 hs), com dietas experimentais isoprotéicas (PB 30 g. 100⁻¹g) e isoenergéticas (EB 4239 kcal.100g⁻¹), contendo 3% de óleo, 100 mg.kg⁻¹ de ácido pantotênico e 2 mg.kg⁻¹ de biotina. Após 80 dias, coletaram-se amostras para proceder análises de composição química corporal, perfil de ácidos graxos (fração total, neutra e polar), colesterol, pH, bases nitrogenadas voláteis (BNVT), espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) de carcaças, glicemia, glicogênio (GH), espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e histologia do tecido hepático, além da atividade enzimática de catalase (CAT), glutatona redutase (GR) e lactato desidrogenase (LDH) em tecido muscular. Não foram verificadas diferenças relacionadas ao desempenho zootécnico em relação a utilização de óleos testados. Observou-se a influência dos óleos sobre as a composição química, perfil lipídico, qualidade da carne e alterações fisiológicas. A inclusão de OG aumentou os níveis de lipídeos em peixes inteiros e em peixes eviscerados, de TBARS do tecido hepático e de carcaça, e reduziu as quantidades de ácido docosahexaenoico (DHA). No entanto, os indivíduos alimentados com dietas

contendo este óleo apresentaram índices mais altos de dessaturação de LNA em HUFAs n-3, valores inferiores de BNVT, de textura e de atividades enzimáticas de GR e LDH. Ademais, não foram observadas alterações histopatológicas no tecido hepático. Conclui-se que a adição de OG melhora a qualidade lipídica dos peixes, mantém a estabilidade oxidativa de músculos, sem comprometer a saúde animal.

Palavras-chave: ácidos graxos, nutrição, peixes, vitaminas

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the addition of sesame oil and supplementation of 100 mg.kg⁻¹ of pantothenic acid and two mg.kg⁻¹ of biotin in the diet on growth performance, body chemical composition and possible physiological changes of Lambari *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000). The experiment was completely randomized in a factorial arrangement (3x2), three types of oil (soybean -OS, linseed -OL and fish residue ORP associated or not to sesame oil (OG), and four replications. Total of 4,632 fishes (average weight of 0.95 g $\pm$ 0.46 g and average length of 4.21 cm $\pm$ 2.77 cm) were distributed in cages 24 (0.70 m³) (density 276 fish.m⁻³). The fish were fed twice a day (9:00 and 16:00 hs) with isoproteic (30 g. 100g⁻¹) and isocaloric (4239 kcal.100g⁻¹) diets, and contained 3% of oil and 100 mg.kg⁻¹ of pantothenic acid and two mg.kg⁻¹ of biotin. After 80 days, samples were collected to proceed analysis of corporal chemical composition, fatty acid profile (total, neutral and polar fractions), cholesterol, pH, total volatile base nitrogen (BNVT), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) of carcasses, blood glucose, glycogen (GH), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and histology of hepatic tissue, enzymatic activity of catalase (CAT), glutathione reductase (GR) and lactate dehydrogenase (LDH) in muscular tissues. The oil sources did not cause differences on growth performance variables. The lipid's sources influenced the chemical composition, lipid profile and physiological alterations. The inclusion of OG increased the lipid levels in whole and eviscerated fish, TBARS of liver tissue and carcasses, and reduction of docosahexaenoic acid (DHA) levels. However, fishes fed OG combined to other oils in diets presented increased rate of desaturation LNA to HUFA n-3, decreased values of BNVT and texture of carcasses, reduced enzymatic activities of GR and LDH in muscular tissues. No

histopathological changes were detected in liver's tissues. Thus, the OG addition improves the lipid quality and maintain the oxidative stability without affecting fish health.

Keywords: fatty acids, fish, nutrition, vitamins.

3.1 Introdução

Formulações de dietas erradas, utilizando fontes alternativas de proteína e lipídios podem gerar problemas relacionados ao sistema imunológico, reprodução, crescimento, e, em seguida, diminuindo o bem-estar dos peixes (POLI, 2010). A inclusão de fontes lipídicas vegetais afeta o crescimento de peixes marinhos, o metabolismo, a homeostase oxidativa (OLSVIK et al., 2011) e os parâmetros químicos como a peroxidação de lipídios (TBARS) e de bases nitrogenadas totais total (BNVT) em sea bream (*Sparus aurata*) (CASTRO et al., 2013).

O consumo de pescado é valorizado pela presença de lipídeos que fornecem os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (PUFA), principalmente da família n-3 como o ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexanóico (DHA), fundamentais para a saúde humana (BELL; SARGENT, 2003; STROBEL; JAHREIS; KUHNT, 2012). O seu baixo consumo provoca danos ligados a doenças cardiovasculares, hipertensão, doenças inflamatórias e imunológicas, depressão e disfunções neurológicas (WILLIAMS, 2000).

Além disso, a relação entre lipídeos dietéticos e a composição de célula é estreita, exercendo influência sobre as suas funções (NEURINGER; ANDERSON; CONNOR, 1988). A adição de ácido graxo muda atividades de proteínas que controlam as respostas biológicas, alterando a proporção de colesterol e de fosfolipídios de membrana (CLANDININ; JUMPSSEN; SUH, 1994).

A maioria das espécies de peixes cultivados incorpora ácidos graxos das dietas. Assim, elevadas porcentagens de óleos vegetais nas dietas provocam alterações como o aumento de níveis de ácidos graxos de 18 carbonos,

principalmente C18: 2n-6 (ácido linoleico) e redução de EPA e DHA (NG et al., 2013).

Lambaris (*Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000)) demonstram a capacidade em dessaturar e alongar o ácido linoleico (LA) para ácido araquidônico (AA) e o ácido linolênico (LNA) para o ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) (GONÇALVES; FERROLI; VIEGAS, 2012).

O aumento na quantidades de PUFA's tornam os tecidos suscetíveis às ações de radicais livres e à peroxidação lipídica (NG et al., 2013). O peroxissomo possui importante papel sobre o controle do estresse oxidativo, atuando sobre a redução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água. O alto consumo de O_2 e a formação de H_2O_2 , ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e até o óxido nítrico (NO), tornam esta organela um ponto chave para a produção e a inibição do estresse oxidativo (SCHRADER; FAHIMI, 2006).

No sistema de defesa antioxidante, a superóxido dismutase (SOD) possui a função de reduzir o radical superóxido em peróxido; e a CAT e a glutathione peroxidase atuam sobre a conversão de peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. A GR atua sobre a redução de glutathione oxidada (GSSG) para a glutathione (GSH) (ROVER JÚNIOR et al., 2001).

A deficiência de ácido pantotênico e de biotina em peixes, provocam efeitos negativos sobre o desempenho e suscetibilidade a desordens metabólicas, entre elas, aquelas provocadas por radicais livres. Em peixes da espécie *Megalobrama amblycephala* e em carpas (*Cyprinus carpio* var. Jian), verificaram-se a redução no status antioxidante (FENG et al., 2014; QIAN et al., 2015).

O óleo de gergelim é considerado um produto estável e menos suscetível a oxidação, devido a compostos fenólicos (sesamol), lignanos (sesamina), presentes em sua composição (TURCHINI; MAILER, 2010). A utilização de sesamina associada ao fornecimento de óleo de girassol e de linhaça em dietas para trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) promoveram maior formação de DHA, por meio da atuação deste lignano sobre a β -oxidação (TRATTNER et al., 2008a). Em ratos, este composto induz de forma intensa a atividade de enzimas relacionadas a oxidação de ácidos graxos, localizadas no peroxissomos (ASHAKUMARY et al., 1999).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inclusão de óleo de gergelim (OG) associado aos óleos de soja (OS), óleo de linhaça (OL) e óleo de resíduo de peixe de água doce (ORP), com a suplementação de 100 mg.kg⁻¹ de ácido pantotênico e 2 mg.kg⁻¹ de biotina nas dietas de lambari *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000) sobre o desempenho zootécnico, a composição química corporal, perfil de ácidos graxos, qualidade da carne e possíveis alterações fisiológicas.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em fatorial com 3 tipos de óleos: óleo de soja- OS (Cargill, São Paulo, Brasil), óleo de linhaça -OL (Cisbra, Rio Grande do Sul, Brasil) e óleo de resíduo de peixe de água doce - ORP (doada pela truticultura Nosso Recanto, Minas Gerais, Brasil) e combinações com óleo de gergelim - OG (Sum Sum Hong, São Paulo, Brasil) totalizando seis tratamentos e quatro repetições para cada tratamento (24 unidades experimentais).

3.2.2 Dietas experimentais

As dietas experimentais continham 30g.100g⁻¹ de proteína bruta; 4239 kcal.kg⁻¹ de energia bruta; 3,00 g.100g⁻¹ de óleo e 1,50 g.100g⁻¹ de OG (estimado para conter 37,50 mg.100g⁻¹ de sesamina / episamina) (TRATTNER et al., 2008b). A composição química das dietas experimentais foi determinada de acordo com A.O.A.C (1990) e os perfis de ácido graxo pela metodologia de A.O.A.C (2005) e são apresentados nas tabelas 9 e 10, respectivamente. As rações foram extrusadas em extrusora (Ferraz, Brasil) e secas em estufas. A adição dos óleos foi realizada por meio de um misturador após a etapa de secagem.

Tabela 9 Ingredientes, formulação e composição das dietas experimentais dos lambaris.

Ingredientes (g.100g ⁻¹)	OS	OL	ORP	OS/OG	OL/OG	ORP/OG
Milho	26,71	26,71	26,71	26,71	26,71	26,71
Farinha de vísceras	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Farelo de Soja	13,73	13,73	13,73	13,73	13,73	13,73
Farelo de Trigo	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00
Levedura de cana	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Quirera de arroz	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Farinha de Carne	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Farinha de peixe	5,50	5,50	5,50	5,50	5,50	5,50
Fosfato bicálcico	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Óleo de soja (OS)	3,00	-	-	1,50	-	-
Óleo de linhaça (OL)	-	3,00	-	-	1,50	-
Óleo de resíduo de peixe (ORP)	-	-	3,00	-	-	1,50
Óleo de gergelim (OG)	-	-	-	1,50	1,50	1,50
Biotina (mg.kg ⁻¹)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Ácido pantotênico (mg.kg ⁻¹)	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Cloreto de colina	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
L-Lisina	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
DL-Metionina	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13
Antioxidante	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Antifúngico	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento vitamínico mineral ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Composição química	Unidade (g.100g ⁻¹)					
Matéria seca ²	96,59	96,58	97,26	97,21	96,36	97,29
Proteína bruta ²	30,45	31,69	30,39	29,52	30,18	30,16
Proteína digestível	24,07	24,28	23,82	24,50	23,98	23,97
Energia bruta ²	4240	4249	4214	4234	4244	4246
Lipídeos ²	6,88	7,68	8,19	8,44	8,35	8,26
Fibra bruta	6,52	6,52	6,52	6,52	6,52	6,52
Matéria mineral ²	10,16	10,34	10,04	10,19	10,07	10,13
Cálcio	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Fósforo total	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31
Fósforo disponível	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74
Amido	31,38	31,38	31,38	31,38	31,38	31,38
Arginina	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58
Lisina total	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
Metionina + Cistina total	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93
Treonina	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94
Triptofano	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
Metionina total	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
Ácido Pantotênico (mg.kg ⁻¹)	100	100	100	100	100	100
Biotina (mg.kg ⁻¹)	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00

¹Suplemento vitamínico e mineral (0,50g.100g⁻¹): vitamina A, 12.000 UI.; vitamina D3, 3.000 UI; Vitamina E, 150 mg; Vitamina K3, 15 mg; Vitamina B2, 20 mg; Vitamina B6, 17,50 mg; Vitamina B12, 40 mcg; Vitamina C, 300 mg; Ácido Nicotínico, 100 mg; Pantotenato de Cálcio, 50 mg; Biotina, 1,00mg; Ácido Fólico, 6 mg; Sulfato de Cobre, 17,50 mg; Sulfato de Ferro, 100 mg; Sulfato de Manganês, 50 mg; Sulfato de Zinco, 120mg; Iodeto de Cálcio, 0,80mg; Sulfato de Sódio, 0,50 mg; Sulfato de Cobalto, 0,40mg; Inositol, 125 mg; Cloreto de Colina, 500 mg; veículo. ²Analizadas em laboratório ³Calculado baseado em (TRATTNER et al., 2008a)

Tabela 10 Perfis de ácidos graxos das dietas experimentais, expressos em g.100g⁻¹ de ácidos graxos totais.

Ácidos graxos	Tratamentos					
	OS	OL	ORP	OS/OG	OL/OG	ORP/OG
C12:0	0,04	0,03	0,07	0,00	0,00	0,10
C14:0	1,06	0,88	1,39	0,98	1,20	1,54
C15:0	0,17	0,18	0,20	0,19	0,28	0,25
C16:0	15,88	13,89	19,56	15,74	14,29	17,33
C16:1	2,24	1,92	5,20	2,07	2,56	4,37
C17:0	0,25	0,22	0,28	0,25	0,18	0,20
C18:0	4,62	5,63	5,88	5,23	4,41	4,67
C18:1-n9(cis+trans)	24,77	23,13	31,15	28,95	24,32	29,86
C18:2n-6(LA)	43,99	25,55	28,72	41,18	32,86	35,74
C18:3n-6	0,07	0,05	0,35	0,00	0,00	0,25
C18:3n-3(LNA)	3,97	25,57	1,69	2,72	17,33	1,89
C20:0	0,19	0,17	0,16	0,23	0,12	0,10
C20:2n-6	0,06	0,06	0,55	0,05	0,00	0,26
C20:3n-6	0,07	0,05	0,52	0,08	0,00	0,26
C20:4n-6(AA)	0,45	0,42	0,94	0,39	0,47	0,75
C20:3n-3	0,00	0,03	0,04	0,00	0,00	0,00
C20:5n-3(EPA)	0,43	0,42	0,47	0,40	0,47	0,48
C22:0	0,16	0,11	0,06	0,13	0,00	0,05
C22:1n-9	0,00	0,02	0,10	0,00	0,00	0,00
C22:2n-6	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
C24:0	0,09	0,06	0,06	0,07	0,00	0,00
C22:6n-3(DHA)	1,06	1,03	1,39	1,01	1,03	1,19
ΣSFA*	22,46	21,17	27,66	22,82	20,48	24,24
ΣMUFA*	27,01	25,07	36,45	31,02	26,88	34,23
ΣPUFA *	50,04	53,12	34,12	45,78	52,16	40,56
PUFA n-6	44,64	26,13	31,13	41,7	33,33	37,26
PUFA n-3	5,46	27,05	3,59	4,13	18,83	3,56
PUFA n-6/PUFA n-3	8,18	0,97	8,67	10,1	1,77	10,47

*SFA: ácidos graxos saturados, MUFA: ácidos graxos monoinsaturados, PUFA: ácidos graxos poli-insaturados.

3.2.3 Condições experimentais e peixes

Os peixes (n=4.632, peso médio de 0,95 g ± 0,46 g e comprimento médio de 4,21 cm ± 2,77 cm), foram adquiridos na Agência Paulista de Tecnologia e Agronegócios (APTA, Pirassununga, São Paulo, Brasil) e distribuídos em 24 tanques-rede (capacidade 0, 70 m³; densidade de 276 peixes.m⁻³) instalados em viveiros localizados no Laboratório de Aquicultura (Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, FZEA / USP, Pirassununga, São Paulo, Brasil, latitude 21° 59 '46 "S e longitude 47°25'33" W).

A qualidade da água foi monitorada em dias alternados, avaliando-se a temperatura, a taxa de oxigênio dissolvido e o pH, por meio do equipamento Horiba U-10, e análise de fósforo total e solúvel, nitrito e nitrato por meio de kits (Hanna Instruments, Estados Unidos).

. Os peixes foram alimentados *ad libitum* duas vezes ao dia (às 9:00 e 16:00hs). Após 80 dias, os peixes foram anestesiados com óleo de cravo (50 mg.L⁻¹ de água) (PEREIRA-DA-SILVA et al., 2009) e abatidos por perfuração craniana.

3.2.4 Desempenho Zootécnico

Foram realizadas três biometrias aos 0, 35º e 80º dias para calcular as variáveis: consumo da dieta (CD), conversão alimentar (CA), ganho de peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE), taxa de eficiência proteica (TEP) e índice hepatossomático (IHS) a fim de verificar as possíveis modificações no desempenho dos animais proporcionadas pelos tratamentos.

$$CD = \text{Consumo total da dieta por unidade experimental} / n^{\circ} \text{ indivíduos}$$

$$CA = CD / GP$$

$$GP = \text{Peso final individual} - \text{Peso inicial individual}$$

$$TEP = GP / (CD * \% PB \text{ da dieta})$$

$$TCE(\%) = (\ln \text{ peso corporal final} - \ln \text{ peso corporal inicial}) / \text{tempo (dias)} * 100$$

3.2.5 Análise de composição química corporal

A análise de composição química de peixes inteiros e eviscerados foi realizada pela metodologia descrita por A.O.A.C.(1990) (**Tabela 3**). Para cada tanque-rede, coletaram-se 26 animais os quais 13 foram eviscerados e os demais mantidos inteiros, e em seguida triturados, formando uma amostra única (pool), de peixes inteiros e eviscerados. Foram determinados níveis de matéria seca (MS), por secagem em estufa, proteína bruta (PB), pelo método Semi

Microkjedhal, matéria mineral (MM), pela utilização de uma mufla, de lipídeos (LIP), pelo método de Soxhlet.

Determinação de perfil de ácidos graxos de peixes eviscerados (fração total, polar e neutra)

Para a determinação de perfil de ácidos graxos, foram coletados 10 peixes de 24 tanques rede e eviscerados, liofilizados, triturados e armazenados em freezer a -20°C de temperatura. O perfil de ácidos graxos foi determinado em carcaças de peixe, e portanto, a região craniana foi considerada. As amostras foram transportadas em gelo seco para Dipartimento di Biotecnologie Agrarie - Sezione Ciência Animali na Università degli Firenze, Florença, Itália.

A extração de lipídeos foi realizada através da homogeneização de amostras com a solução de clorofórmio e metanol (2: 1 v / v, 0,01% de BHT) (FOLCH; LEES; SLOANE STANLEY, 1957). Após a filtragem, os solventes foram removidos por meio de um evaporador rotativo e o extrato lipídico purificado foi transferido para frasco âmbar contendo 5 ml de clorofórmio. Adicionou-se o nitrogênio para evitar a oxidação para em seguida ser armazenado em congelador a -20 °C.

A separação da fração neutra e polares a partir dos lipídeos totais foi realizada usando um cartucho de sílica (Sep Pak, Water Associates Inc,) e solventes (clorofórmio e metanol, Sigma)(JUANEDA; ROCQUELIN, 1985). O perfil de ácidos graxos foi determinado em três etapas: a saponificação, a esterificação por fluoreto de boro (BF₃) metanol (MORRISON; SMITH, 1964) e análise de metil ésteres de ácidos graxos por cromatografia gasosa (cromatógrafo modelo Varian GC-FID 430). Para cada amostra, alíquotas de solução de lipídeos (2mg.mL⁻¹ de clorofórmio) foram analisadas, provenientes da fração total, neutra e polar. Para cada alíquota foi adicionada 0,20 mg.mL⁻¹ de clorofórmio de padrão interno (C23:0, Sigma Aldrich).

Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram analisados em cromatógrafo com detector de ionização de chama (GC-FID) (modelo 430 GC Varian) e com coluna (Supelco Omegawax 320 tm) de 30 m x 0,32 mm.

O cromatógrafo foi programado para seguir estas condições: 90 °C durante 1 minuto e aquecimento a 180 °C, a uma taxa de 20 °C .min⁻¹ e, em

seguida, a 220°C, a taxa de 3°C.min⁻¹. A duração de cada operação foi de 40 minutos.

No final da análise, os cromatogramas foram ajustados para identificar e quantificar o perfil de ácidos graxos. Foram calculados: Índices Aterogênicos (IA), Índice de Trombogenicidade (IT) (ULBRICHT; SOUTHGATE, 1991) a relação Hipocolesterolemia/Hipercolesterolemia(HH)(SANTOS-SILVA;BESSA; SANTOS-SILVA, 2002), e *Peroxidisability Index* (IP) (TESTI et al., 2006).

$$IA = (C12:0 + 4 * C14:0 + C16:0) / (MUFA + PUFA(N - 3) + PUFA(N - 6))$$

$$IT = (C14:0 + C16:0 + C18:0) / ((0,5 * MUFA) + (0,5 * PUFA(N - 6) + (3 * PUFA(N - 3) + (PUFA(N3) / PUFA(N - 6))$$

$$HH = (soma\ of\ C18:1cis - 9, C18:2n - 6, C20:4n - 6, C18:3n - 3, C20:5n - 3, C22:5n - 3\ and\ C22:6n - 3) / (soma\ of\ C14:0\ and\ C16:0)$$

$$PI = (\% \text{ de monoenes} * 0,025) + (\% \text{ de dienes}) + (\% \text{ de trienes} * 2) + (\% \text{ de tetraenes} * 4) + (\% \text{ de pentaenes} * 6) + (\% \text{ de hexaenes} * 8)$$

3.2.6 Determinação de níveis de colesterol em tecidos

Os níveis de colesterol foram determinados utilizando-se um método colorimétrico (BOHAC, C E, RHEE, K S, CROSS H R, 1988). Para a análise, foram coletados 50 mL de extrato lipídico de cada amostra. Esta quantidade corresponde a 30 mg de carcaça de lambari. As absorbâncias foram realizadas por espectrofotometria a 490 nm. A absorbância das amostras foi comparada a uma curva padrão e, em seguida, os valores de colesterol foram calculados. A curva padrão foi feita por meio de diferentes concentrações de colesterol (Sigma Aldrich), dissolvidos em clorofórmio: 20 µg, 40 µg e 60 µg.

3.2.7 Análise da qualidade da carne

Para essas análises, 10 peixes por tratamento foram eviscerados e mantidos em refrigeração a 4° C durante 2 dias e, em seguida, foram utilizados 10 g de cada amostra para determinar os valores de pH (peagâmetros Tecnal,

modelo Tec - 5, São Paulo, Brasil), 15 g para os valores de BNVT(HOWGATE, 1976) e 5 g para os valores de peroxidação lipídica (TBARS)(VYNCKE, 1970). O óxido de magnésio e o ácido tricloroacético foram provenientes da empresa Synth São Paulo, Brasil e ácido tiobarbitúrico, da empresa JT Baker®, Reino Unido.

A textura instrumental foi determinada em três peixes por tratamento, por meio de um texturômetro (TA-TXT2i, Stable Micro Systems) para avaliar a resistência à compressão (dureza). O instrumento foi calibrado com um peso padrão de 5kg, utilizando-se de uma sonda cilíndrica (20mm de diâmetro - SMS p / 20), com o pré-teste, teste e pós-teste programados para a velocidade de 1 mm. s⁻¹. Os dados correspondem a 40% da força de compressão (g) da altura de cada peixe.

3.2.8 Determinação de níveis de glicose sanguínea; de glicogênio hepático e muscular.

A glicemia dos peixes (n=10 por tratamento) foi determinada por meio de coleta de 5 µL de sangue na veia caudal com seringa de insulina, e a medição deste parâmetro foi realizada por meio de glicosímetro portátil e fitas específicas (Roche, Brasil). O Índice Hepatosomático (IHS) foi calculado por meio de dados de pesagem dos peixes e seus respectivos fígados.

A quantificação de glicogênio hepático foi realizada de acordo com a metodologia de Dubois et al.(1956) (BIDINOTTO; MORAES; SOUZA, 1997). Foram pesadas 10 mg de amostras de fígado (n= 10 por tratamento) transferidos para tubos contendo 1 mL de KOH (6N), permanecendo cinco minutos em banho maria, a 100 °C, até a dissolução completa.

Em seguida, alíquotas de 122,5 µL foram transferidas para microtubos de centrífuga contendo 1,50 mL de etanol a 95 % e em seguida homogeneizadas. Acrescentaram-se a cada microtubo, 100 µL de sulfato de potássio, formando precipitado branco nebuloso. Estes foram centrifugados durante três minutos à 3.000 rpm. Após descarte do sobrenadante, os precipitados obtidos foram homogeneizados com 1,25 mL de água destilada.

Em 1 mL da solução obtida, foram adicionados 25 µL de fenol a 80%, e 2,5 mL de ácido sulfúrico. Os tubos com as amostras e os reagentes foram

agitados em homogeneizador tipo vortex e incubados em banho Maria a 25-30 °C durante 10 minutos. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro a $\lambda = 480$ nm. O valor obtido da leitura foi utilizado para o cálculo de quantidade de glicogênio, através da equação obtida pela curva padrão de glicose.

3.2.9 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em fígados

A determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foi baseada em Vyncke (1970) adaptado para leitor de microplacas, modificando-se as proporções descritas por este autor. Foram analisados os fígados de peixes (n= seis por tratamento). As extrações foram realizadas pela adição de ácido tricloroacético (TCA) (Sigma Aldrich, St. Louis, Estados Unidos), e homogeneizadas em homogeneizador tipo Potter (Tecnal, Brasil) por 60 segundos.

As soluções compostas pelas amostras e o TCA foram centrifugadas, a 10.000 rpm por cinco minutos, retirando-se o sobrenadante para o qual foram acrescidas a solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) (Merck, Alemanha) e posteriormente incubadas em banho-maria a 100°C por 40 minutos. Após o resfriamento, as soluções obtidas foram pipetadas em microplaca, realizando-se leituras em leitor de microplacas, a absorbância de 540 nm.

3.2.10 Histologia de tecido hepático

As amostras de fígado de lambaris (n= 10 por tratamento) foram fixadas em formol, e, em seguida, emblocadas em parafina. Foram realizados cortes histológicos por meio de um micrótomo, com espessura de 5 μ m. As lâminas foram desparafinizadas e coradas em Hematoxilina-Eosina (HE) (Synth, Brasil). A leitura das lâminas histológicas e captura de imagens foram realizadas com o uso do microscópio Zeiss e programa Axion Vision 4.1 (Carl Zeiss, Alemanha).

3.2.11 Atividade enzimática

A determinação de atividades enzimáticas de catalase (CAT), glutathione redutase (GR), e lactato desidrogenase (LDH) foi realizada em amostras de

músculo branco (n=sete por tratamento). As enzimas foram extraídas por meio da homogeneização de 0,50 gramas de músculo branco em 1,25 mL de tampão fosfato de sódio (10mM) a pH 7,50; utilizando-se o homogeneizador de Potter (modelo Tecnal, Brasil).

Em seguida, as amostras foram centrifugadas durante 10 minutos a rotação de 10.000 rpm e os sobrenadantes foram retirados e transferidos para microtubos mantidos sobre gelo para a determinação da atividade máxima das enzimas antioxidantes.

O conteúdo de proteínas das amostras foi determinado por meio do uso de um espectrofotômetro (Beckmann, Alemanha), a absorbância 595nm, pelo método descrito por Bradford (1976), e utilizou-se o soro albumina bovina para construção da curva padrão.

3.2.11.1 Atividade de catalase

A atividade da catalase (CAT) foi avaliada por consumo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), expressa em μmol de H_2O_2 consumido por minuto por miligrama de proteína, por meio do uso de espectrofotômetro com absorbância de 240 nm e 25 °C, por 3 minutos. Para esta análise, uma alíquota de 20 μL de amostra foi inserida em meio de ensaio que continha 980 μL de tampão fosfato de potássio (KH_2PO_4) (Sigma Aldrich, Estados Unidos) a 50 mM com pH 7,0 e H_2O_2 (Sigma Aldrich, Estados Unidos) a 10 mM. A leitura foi realizada após 30 segundos, para que ocorresse a reação (BEERS; SIZER, 1952).

3.2.11.2 Atividade de glutathiona redutase

A atividade da glutathiona redutase (GR) foi avaliada pela oxidação de NADPH e consequente redução de glutathiona oxidada (GSSG), por meio do uso de espectrofotômetro com absorbância de 340nm à 25 °C durante três minutos. A atividade foi expressa em nmol de NADPH oxidado por minuto por miligrama de proteína. Uma alíquota de 40 μL de amostra foi inserida em meio de ensaio que continha 500 μL de tampão fosfato de potássio (K_2PO_4) (Sigma Aldrich, Estados Unidos) 100 mM pH 7,0 com EDTA (Sigma Aldrich, Estados Unidos) a um mM; 5 μL de NADPH (Sigma Aldrich, Estados Unidos) a 0,1 mM e 50 μL de

GSSG (Sigma Aldrich, Estados Unidos) a 1 mM (CALBERG; MANNERVIC, 1985).

3.2.11.3 Lactato desidrogenase

A atividade da lactato desidrogenase (LDH) foi avaliada pela oxidação do NADH a 340 nm e 25 °C, por três minutos. A atividade foi expressa em μmol de NADH oxidado por minuto por miligrama de proteína. Uma alíquota de 10 μL , previamente diluída (1:50) foi inserida em 990 μL de meio de ensaio que continha 123,75 μL de tampão fosfato de sódio (NaH_2PO_4) (Sigma Aldrich, Estados Unidos) a 20 mM e a pH 7,4, 12,37 μL de ácido pirúvico (Sigma Aldrich, Estados Unidos) 1 mM, 12,37 μL de NADH (Sigma Aldrich, Estados Unidos) a 0,1 mM e 841,50 μL de água ultra pura (miliq)(BERNT; BERGMEYER, 1974)

3.2.12 Análises estatísticas

Os dados foram avaliados pelo teste de variância (ANOVA) (procedimento GLM), considerando os dois fatores: tipos de óleo e presença de OG e a sua interação, por meio de um software estatístico SAS (2002). Diferenças significativas entre os fatores foram verificados pelo teste F. Os dados referentes a glicogênio do tecido hepático foram previamente tratados pelo SAS/LAB, devido ao alto coeficiente de variação.

3.3 Resultados e Discussão

A temperatura, oxigênio dissolvido, pH, fósforo total e solúvel, os níveis de nitrito e nitrato mantiveram-se em 26.53 - 28.55°C; 6,39 - 6,90 mg.L^{-1} ; 5,58 - 6,35; 0,01 - 0,10 mg.L^{-1} ; 0,00 - 0,09 mg.L^{-1} ; 1,00 - 4,00 mg.L^{-1} e 0,00 - 1,50 mg.L^{-1} , respectivamente.

A associação de OG com os óleos OS, OL e OG não provocou reduções no desempenho zootécnico (**Tabela 11**). As fontes lipídicas neste experimento, assim como a adição de OG, associado à OS, OL e ORP, demonstraram a possibilidade em se utilizar os óleos associados (blends) sem gerar problemas relacionadas a queda de produção e de crescimento.

Da mesma forma, as combinações de fontes lipídicas (óleo de girassol, de linhaça, de peixe) envolvendo a inclusão de óleo de gergelim em dietas para trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), não causaram diferenças efetivas sobre os valores de ganho de peso, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica (KÖSE; YILDIZ, 2013). No entanto, em espécie marinha *Lates calcarifer*, verificaram-se quedas de crescimento e de ganho de peso devido a presença de sesamina, composto presente neste óleo (ALHAZZAA et al., 2012a)

O lambari possui capacidades inerentes ao aproveitamento e adaptação a ingredientes, tanto de origem animal ou vegetal. A substituição de ingredientes como a farinha de peixe por fontes proteicas como farelo de soja, farelo de trigo e glúten de milho não provocou redução no ganho de peso e aumento na taxas de conversão alimentar, mantendo-se em valores médios de 5,94 g e 1,39, respectivamente (SUSSEL et al., 2014).

A escolha de OS e OL para este trabalho foi feita devido aos perfis lipídicos apresentados por estes óleos, sendo fontes de ácidos graxos linoleico e linolênico, respectivamente. A substituição de óleo de peixe por estas fontes ocorre ao longo dos anos em dietas para peixes marinhos e de água doce e os óleos de soja, de linhaça, de canola, de palma e de oliva são os mais utilizados (NASOPOULOU; ZABETAKIS, 2012).

O ORP foi testado para verificar a possibilidade de sua utilização em dietas para lambaris, com intuito de destinar os resíduos gerados pela produção aquícola. Em abates, cerca de 50% do animal não é destinado para a alimentação humana, e resíduos não processados ou tratados são suscetíveis a ação microbiana, causando problemas ambientais. Óleos extraídos de resíduos de origem animal possuem alto teor de ácido oleico (C18:1n-9) em seu perfil lipídico (BUREAU; MEEKER, 2010; GONÇALVES; FERROLI; VIEGAS, 2012).

A utilização de óleos de resíduos de tilápia e de salmão, em dietas práticas como forma de aproveitamento, não afetou o crescimento de lambaris. Neste trabalho, verificou-se que o lambari também se adapta a fontes alternativas como o ORP. (GONÇALVES; FERROLI; VIEGAS, 2012). Além disso, esta espécie consegue utilizar e incorporar o composto sintético CLA (ácido linoleico conjugado) fornecido em dietas e não apresentar reduções no ganho de peso, na conversão alimentar aparente e na taxa de crescimento específico (CAMPELO et al., 2014).

A suplementação de ácido pantotênico é necessária uma vez que a sua deficiência provoca a redução do ganho de peso e crescimento, anorexia, anemia e alta mortalidade (LIN; LIN; SHIAU, 2012). Em carpas (*Cyprinus carpio* var. Jian), observou-se o aumento da taxa de retenção proteica e taxa de crescimento específico (WEN et al., 2009). A presença de avidina, inibidor de biotina, provocou a redução de ganho de peso, diminuição da taxa de crescimento específico e de retenção proteica e o aumento na conversão alimentar aparente em zebrafish (*Danio rerio*) (YOSSA et al., 2011)

Tabela 11 Valores médios referentes às variáveis de desempenho zootécnico de lambaris.

Variáveis	Efeito Tipos de óleo				Efeito Inclusão de OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD ¹
CD ² (g)	8,08	7,48	7,57	0,19	7,74	7,68	0,81	0,68
GP ² (g)	6,20	5,78	5,79	0,32	6,04	5,81	0,36	0,61
CA ²	1,31	1,30	1,32	0,95	1,28	1,33	0,37	0,14
TEP ²	2,57	2,50	2,53	0,86	2,54	2,52	0,91	0,26
TCE ² (% Dia ⁻¹)	2,46	2,38	2,38	0,32	2,43	2,38	0,30	0,11

¹ Desvio padrão residual (RSD)

* Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (P<0,05)

²CD = Consumo da dieta; GP=ganho de peso, CA = conversão alimentar; TEP= taxa de eficiência proteica, TCE=taxa de crescimento específico.

Em relação a composição química de peixes inteiros e de peixes eviscerados (**Tabela 12**), verificaram-se os efeitos de inclusão de OG e de interação entre os dois fatores avaliados, sobre as variáveis de MS nos peixes inteiros. O mesmo resultado não foi verificado em peixes eviscerados, observando somente o efeito de óleos testados.

Para LIP, tanto para peixes inteiros como eviscerados, observaram-se os efeitos de tipos de óleos testados e a presença de OG. Ligeiro aumento de lipídeos foi observado nos peixes alimentados com ORP, quando comparados com os peixes alimentados com OS e OL. A adição de OG proporcionou maiores índices para esta variável, e pode estar relacionado à quantidade de lipídeos analisada em dietas experimentais (**Tabela 9**). No entanto, esta diferença não afetou nas variáveis de desempenho zootécnico.

Para MM, somente a inclusão de OG afetou os valores para peixes eviscerados (**Tabela 12**). As diferenças encontradas para MS e MM podem estar correlacionadas aos resultados de LIP, tanto para peixes eviscerados como inteiros. As porcentagens de umidade e de LIP correlacionaram-se de forma inversa.

Tabela 12 Composição química de peixes inteiros e eviscerados.

Composição Química (g.100g ⁻¹)	Efeito Tipos de óleo				Efeito OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD ¹
PB² (Peixes inteiros)	17,51	17,15	17,48	0,63	17,21	17,55	0,33	0,81
MM² (Peixes inteiros)	3,77	3,84	3,93	0,47	3,87	3,82	0,66	0,25
LIP² (Peixes inteiros)	11,13 ^B	11,69 ^{AB}	12,21 ^A	0,04	11,19 ^B	12,16 ^A	0,006	0,67
MS² (Peixes eviscerados)	31,59 ^B	32,77 ^A	32,98 ^A	0,0003	32,24	32,66	0,09	0,58
PB² (Peixes eviscerados)	17,2	17,39	17,39	0,70	17,52	17,13	0,06	0,49
MM² (Peixes eviscerados)	4,13	4,06	4,00	0,41	4,16 ^A	3,97 ^B	0,02	0,18
LIP² (Peixes eviscerados)	9,87 ^B	10,44 ^{AB}	11,00 ^A	0,01	10,13 ^B	10,74 ^A	0,04	0,68
Efeito de interação Tipos de óleo * OG								
Composição Química (g.100g ⁻¹)	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
MS² (Peixes inteiros)	33,44 ^A	33,15 ^A	32,35 ^B	34,64 ^A	33,69 ^A	33,69 ^A	0,01	0,59

¹ Desvio padrão residual (RSD)

* Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05)

² MS=matéria seca, PB= proteína bruta, MM=matéria mineral, LIP=lipídeos,

Diversas fontes de óleo em dietas para peixes podem modificar os valores de composição químicas dos peixes. A inclusão de óleos de soja, de tilápia e de salmão em dietas para lambaris proporcionou maior deposição de lipídeos em peixes alimentados por óleo de soja e de níveis mais altos de proteína em animais machos que receberam dietas contendo óleo de soja e de salmão (GONÇALVES; FERROLI; VIEGAS, 2012). Níveis crescentes de CLA (ácido linoleico conjugado) em dietas para lambaris não provocou alterações na composição química (CAMPELO et al., 2014).

A substituição de óleo de peixe por fontes vegetais aumentou o teor lipídico corporal na espécie de água doce *Tor tambroides*. A inclusão de 50% de óleo de palma elevou a porcentagem de lipídeos, e melhorou o ganho de peso destes animais (KAMARUDIN et al., 2012). A inclusão de fontes de óleos

combinadas (blends): óleo de palma, de oliva, de girassol e de linhaça, em dietas para tilápia-do-Nilo não alterou a porcentagem de lipídeos em relação aos que receberam óleo de peixe (TEOH; TURCHINI; NG, 2011).

A utilização de diversos tipos de óleos vegetais, em dietas para tilápia (*Oreochromis niloticus*), influenciou de forma significativa a composição corporal, visto que o óleo de gergelim, ocasionou valores mais altos para cinzas e para lipídeos, e intermediário para a proteína bruta (HIGUCHI et al., 2012). A associação de OG com o óleo de linhaça e de girassol em dietas alterou os valores de composição química de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), aumentando o teor de lipídeos em relação ao óleo de peixe (KÖSE; YILDIZ, 2013).

A adição de óleos alternativos na alimentação provocou alterações no perfil de ácidos graxos sem a interferência na quantidade de lipídeos em de carcaças de lambaris, exceto para fração polar (**Tabela 19**). Foram observados efeitos de tipos de óleo utilizados (OS, OL e ORP), adição de OG e interação entre estes fatores, dependendo dos ácidos graxos e da categoria correspondente.

Os lambaris, assim como outras espécies de água doce, podem converter ácidos graxos essenciais para EPA, DHA e AA. Esta espécie possui a capacidade em assimilar ácidos graxos provenientes das dietas (GONÇALVES; FERROLI; VIEGAS, 2012).

Os lipídeos totais dos peixes apresentaram níveis elevados de C16:0 e C18:1n-9, e verificaram-se diferenças de teores de ácidos graxos, principalmente para o ácido linoleico (C18: 2n-6), o ácido linolênico (C18: 3n-3), o ácido araquidônico (AA, C20:4n-6), ácido eicosapentaenóico (EPA, C20: 5n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA, C22:6n-3) (**Tabela 13**). Foram observados níveis superiores de MUFA e inferiores de PUFA nos peixes alimentados com dietas contendo ORP e ORP/OG em relação aos demais tratamentos (**Tabela 13**).

Quantidades superiores de PUFA e PUFA n-3 apresentados em peixes alimentados com dietas OL demonstraram a capacidade deste óleo em fornecer ácido linonênico, e assim, melhorar a qualidade da carne, tais como aumento das concentrações de EPA e DHA via desaturases, elongases e β -oxidação (TOCHER, 2003, 2010).

Os baixos valores da relação PUFA n-6 / PUFA n-3 encontrados nesses peixes foram causados pelas proporções de PUFA encontrados nestas dietas. Além disso, os animais alimentados com dietas OL apresentaram elevados níveis de DHA quando comparados aos indivíduos que receberam teores mais altos de DHA como as dietas contendo ORP (**Tabela 13 e 14**).

No caso de PUFA n-6, peixes alimentados com dietas OS e OS/OG apresentaram quantidades maiores, principalmente o ácido linoleico. No entanto, os teores mais elevados de AA foram verificados em peixes que receberam dietas com ORP e ORP/OG, que continha maiores quantidades deste ácido graxo em suas composições.

A dessaturação do ácido linoleico em HUFA n-6 foi maior nos grupos que receberam ORP, em combinação ou não com OG. Geralmente, peixes de água doce apresentam altos teores de PUFA n-6, principalmente o ácido linoleico e AA, e a relação de PUFA n-6 / PUFA n-3 varia entre 1 e 4 (VALFRÉ; CAPRINO; TURCHINI, 2003). No presente estudo esta relação variou de 1,15 (OL) a 3,13 (ORP/OG).

O uso de OG em dietas pode ter interferido nas quantidades de DHA, EPA e AA a partir da conversão de ácido linolênico e linoleico, respectivamente (**Tabela 13**). Os peixes que receberam apenas OS, OL e ORP não converteram LNA em HUFA n-3 na mesma eficiência que aqueles que receberam estes óleos associados a OG. No entanto, as associações de óleos (*blends*) proporcionam quantidades inferiores de EPA e DHA em peixes, mas aumenta os valores de ácido linolênico, essencial para seres humanos (TOCHER; FRANCIS; COUPLAND, 2010).

O óleo de gergelim contém compostos bioativos como sesamina e análogos que modulam a quantidade de DHA, comprovada em músculo branco de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), hepatócitos de salmão do Atlântico (*Salmo salar* L.) e filé (*Lates Calcifer*). Em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), adição do óleo de gergelim promoveu a formação do ácido graxo C20:3n-3, ao ser associado à óleos de linhaça e de girassol, evidenciando a capacidade de dessaturação e de alongação, ativando as desaturases $\Delta 5$ e $\Delta 6$ (KÖSE; YILDIZ, 2013). A expressão de PPAR α (proliferador de peroxissomo), envolvidos na β oxidação, eram mais elevados em indivíduos dessa espécie que receberam as dietas contendo 1,16 g de sesamina associada ao óleo de linhaça e de girassol.

Assim, este tratamento causou maior proporção de ácido docosapentaenóico (DPA) e ácido docosahexaenóico (DHA)(TRATTNER et al., 2011).

A capacidade do complexo sesamina, sesamolina episamina para aumentar os níveis de DHA está relacionada com a oxidação de ácidos graxos família n-3 contidos no tecido hepático. Estudos em mamíferos demonstrou o envolvimento destes compostos lignanos à regulação positiva da expressão do RNA mensageiro e ao aumento da atividade das enzimas relacionadas a β - oxidação como a carnitina palmitoiltransferase, acil-CoA oxidase entre outros (ARACHCHIGE; TAKAHASHI; IDE, 2006; ASHAKUMARY et al., 1999; IDE et al., 2004; LIM et al., 2007). As quantidades de EPA e DHA atuam sinergicamente com estes lignanos, e diminui a expressão e a atividade ácidos graxos sintase e RNA mensageiros. O mesmo efeito foi observado com a associação de sesamina e o ácido α -lipóico em ratos (ARACHCHIGE; TAKAHASHI; IDE, 2006; ASHAKUMARY et al., 1999; IDE et al., 2004; LIM et al., 2007).

Tabela 13 Perfis lipídicos da fração total com os principais ácidos graxos, expressos em g.100g⁻¹ de ácidos graxos totais.

Ácidos graxos (g.100g ⁻¹ ác. graxos totais)	Efeito Tipos de óleo				Efeito OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD ¹
C12:0	0,97	0,95	0,83	0,39^{ns}	0,90	0,94	0,66	0,21
C14:0	1,71 ^{AB}	1,66 ^B	1,75 ^A	0,02	1,72	1,71	0,63	0,06
C16:0	17,94 ^B	17,31 ^B	18,40 ^A	0,003	17,67	18,11	0,07	0,54
C18:0	8,14	8,17	8,09	0,76	8,12	8,15	0,82	0,22
C18:1-n9(cis+trans)	35,37	34,77	36,19	0,06	35,00	35,87	0,07	1,13
C18:3n-6	0,71	0,62	0,72	<0,0001	0,68	0,69	0,59	0,03
C18:4n-3	0,45 ^C	0,56 ^A	0,47 ^B	<0,0001	0,50	0,49	0,13	0,03
C20:2n-6	0,56 ^B	0,49 ^C	0,60 ^A	<0,0001	0,56	0,54	0,15	0,03
C20:4n-6	1,26 ^B	0,95 ^C	1,39 ^A	<0,0001	1,15 ^B	1,25 ^A	0,002	0,07
C22:5n-3	0,31 ^B	0,37 ^A	0,30 ^C	<0,0001	0,34 ^A	0,31 ^B	0,0004	0,01
C22:6n-3(DHA ²)	2,33 ^B	2,78 ^A	2,32 ^B	<0,0001	2,55 ^A	2,40 ^B	0,01	0,12
Efeito de interação Tipos de óleo * OG								
Ácidos graxos	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD ¹
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
C18:2n-6 (LA ²)	13,38 ^A	11,84 ^A	9,95 ^B	11,13 ^A	10,39 ^A	11,16 ^A	0,01	0,86
C18:3n-3 (LNA ²)	1,43 ^F	1,13 ^G	6,00 ^A	3,31 ^B	1,09 ^A	0,97 ^B	<0,0001	0,10
C20:3n-6	1,07 ^F	1,04 ^F	0,79 ^A	0,92 ^A	1,04 ^A	1,08 ^A	0,002	0,03
C20:3n-3	0,33 ^F	0,31 ^G	0,48 ^A	0,38 ^B	0,32 ^A	0,30 ^B	<0,0001	0,35
C20:4n-3	0,34 ^F	0,32 ^F	0,48 ^A	0,40 ^B	0,34 ^A	0,33 ^A	0,0003	0,01
C20:5n-3(EPA ²)	0,49 ^F	0,45 ^F	0,76 ^A	0,62 ^B	0,45 ^A	0,44 ^A	0,0004	0,03

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

²LA=ácido linoleico, LNA=ácido linolênico, AA=ácido araquidônico, EPA=ácido eicosapentaenoico, DHA=ácido docosahexaenoico.

Tabela 14 Somatório e índices referentes aos ácidos graxos de lipídeos totais

Ácidos graxos	Efeito Tipos de óleo			P value	Efeito OG			RSD ¹
	OS	OL	ORP		SEM	COM	P value	
ΣSFA ²	31,77 ^{AB}	31,06 ^B	32,05 ^A	0,03	31,42	31,82	0,19	0,71
ΣMUFA ²	42,92 ^B	42,01 ^B	44,44 ^A	0,0005	42,71	43,53	0,06	1,01
PUFA ² total	25,31 ^B	26,92 ^A	23,5 ^C	<0,0001	25,85 ^A	24,64 ^B	0,009	1,03
PUFA/SFA	0,80 ^B	0,87 ^A	0,73 ^C	<0,0001	0,82 ^A	0,77 ^B	0,007	0,04
HUFA ² n-3/C18:3n-3	2,97 ^B	1,08 ^C	3,63 ^A	<0,0001	2,34 ^B	2,78 ^A	0,0002	0,23
HUFA ² n-6/C18:2n-6	0,29 ^B	0,28 ^B	0,37 ^A	<0,0001	0,31	0,32	0,68	0,03
Efeito Tipos de óleo * OG								
Ácidos graxos	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD ¹
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
PUFA ² n-6	17,77 ^A	16,26 ^A	13,33 ^B	14,93 ^A	15,07 ^A	15,87 ^A	<0,0001	0,85
PUFA ² n-3	5,73 ^A	5,25 ^A	11,58 ^A	8,27 ^B	5,37 ^A	5,07 ^B	<0,0001	0,23
PUFA ² n -6/PUFA ² n-3	3,10 ^A	3,09 ^A	1,15 ^B	1,81 ^A	2,80 ^A	3,13 ^A	<0,0001	0,14
DHA:EPA	4,86 ^A	5,13 ^A	3,80 ^B	4,27 ^A	5,30 ^A	5,12 ^A	<0,0001	0,21

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

²SFA= ácidos graxos saturados, MUFA=ácidos graxos monoinsaturados, PUFA= ácidos graxos poli-insaturados, HUFA=ácidos graxos altamente insaturados, EPA= ácido eicosapentaenoico, DHA=ácido docosahexaenoico.

A fração neutra dos lipídeos de lambaris evidenciou a elongação e dessaturação em peixes que receberam OL e OL/OG (**Tabela 15**). Os valores foram semelhantes aos índices obtidos para a fração total (**Tabela 13**). A porção polar apresentou maior porcentagem de PUFA (AA, EPA e DHA) do que MUFA e SFA. As quantidades de ácido linoleico e ácido linolênico foram mais baixas, diferentemente das outras frações (**Tabela 17**). Neste trabalho, observou-se que a composição de ácidos graxos da parte neutra e polar, variou conforme foi alterado o tipo de fonte de lipídeos.

Os valores mais baixos de PUFA n-6 / PUFA n-3 foram verificados em animais alimentados com dietas OL e a adição de OG aumentou este índice, quando este foi associado a OL e OS. A relação de PUFA n-6 e PUFA n-3 foi menor na fração polar (**Tabela 18**) do que as outras partes (total e neutra) (**Tabelas 14 e 16**).

A fração neutra é constituída por triglicerídeos que são estocadas em tecidos adiposos e são utilizadas como fontes de energia. A sua quantidade está correlacionada a quantidade de lipídeos encontradas em músculo e varia de acordo com fatores como o tipo de espécie, época do ano e dietas (BAO; OHSHIMA, 2014).

A porção polar, composta por fosfolipídios e glicolipídios, que constituem a porção estrutural de membrana, não se altera entre as espécies e não é influenciada por fatores ambientais e é suscetível a peroxidação lipídica devido à concentração alta de PUFA (BAO; OHSHIMA, 2014).

A determinação do perfil de lipídico de fosfolipídios é importante, uma vez que estes componentes estabelecem a fluidez das membranas e estão envolvidos no controle de funções celulares. O tipo de fosfolipídios em combinação ao colesterol regula as atividades de proteína de membrana e para cada molécula, 40 tipos de ácidos graxos podem ser incorporados (CLANDININ; JUMPSSEN; SUH, 1994). A presença de ácidos linoleico e ácido linolênico bem como AA, EPA e DHA modulam funções vitais. Partindo do princípio de que os tratamentos possam apresentar o perfil lipídico de órgãos semelhantes ao de carcaça, funções como a síntese dos eicosanoides, barreira epidérmica, as formações de radicais livres possam ser afetadas pelas percentagens distintas de AA, EPA e DHA (SPECTOR, 1999).

Tabela 15 Perfis lipídicos com os principais ácidos graxos da fração neutra, expressos em g.100g^{-1} de ácidos graxos totais.

Ácidos graxos (g.100g^{-1} ác. graxos totais)	Efeito Tipos de óleo				Efeito OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD
C14:0	1,73 ^A	1,63 ^B	1,76 ^A	<0,0001	1,71	1,70	0,92	0,044
C16:0	18,59	17,91	19,05	0,01	18,42	18,62	0,48	0,68
C18:0	7,99	8,13	8,03	0,39	8,03	8,07	0,58	0,20
C18:1-n9(cis+trans)	37,18	36,49	37,83	0,23	36,92	37,4	0,44	1,49
C20:2n-6	0,54 ^A	0,46 ^B	0,55 ^A	0,0004	0,53 ^A	0,51 ^B	0,20	0,04
C22:6n-3 (DHA ²)	1,40 ^B	1,56 ^A	1,33 ^C	<0,0001	1,49 ^A	1,37 ^B	<0,0001	0,05
Efeito Tipos de óleo * OG								
Ácidos graxos	Óleo de Soja		Óleo de Linhça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD ¹
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
C12:0	0,98 ^A	0,90 ^B	0,86 ^B	0,87 ^A	0,90 ^A	0,91 ^A	0,02	0,03
C18:2n-6(LA ²)	14,11 ^A	12,26 ^B	10,38 ^A	11,58 ^A	10,79 ^A	11,48 ^A	0,004	0,83
C18:3n-6	0,74 ^A	0,70 ^A	0,56 ^A	0,63 ^A	0,71 ^A	0,72 ^A	0,001	0,02
C18:3n-3(LNA ²)	1,51 ^A	1,15 ^B	6,36 ^B	3,48 ^B	1,09 ^A	0,98 ^A	<0,0001	0,13
C18:4n-3	0,45 ^A	0,38 ^B	0,58 ^B	0,49 ^B	0,38 ^A	0,41 ^A	0,008	0,03
C20:0	0,64 ^A	0,59 ^B	0,57 ^A	0,59 ^A	0,58 ^A	0,59 ^A	0,02	0,02
C20:3n-6	0,90 ^A	0,84 ^B	0,63 ^B	0,73 ^A	0,85 ^A	0,87 ^A	<0,0001	0,02
C20:4n-6(AA ²)	0,80 ^A	0,78 ^A	0,56 ^B	0,66 ^A	0,84 ^A	0,85 ^A	0,015	0,04
C20:3n-3	0,33 ^A	0,29 ^B	0,46 ^A	0,36 ^B	0,29 ^A	0,29 ^A	<0,0001	0,01
C20:4n-3	0,34 ^A	0,31 ^B	0,44 ^A	0,36 ^B	0,30 ^A	0,32 ^A	<0,0001	0,01
C20:5n-3(EPA ²)	0,42 ^A	0,37 ^B	0,57 ^A	0,47 ^B	0,36 ^A	0,37 ^A	0,0004	0,02
C22:5n-3	0,29 ^A	0,25 ^B	0,29 ^A	0,27 ^A	0,25 ^A	0,26 ^A	0,02	0,01

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

²LA=ácido linoleico, LNA=ácido linolênico, AA=ácido araquidônico, EPA=ácido eicosapentaenoico, DHA=ácido docosahexaenoico.

Tabela 16 Somatório e índices referentes aos ácidos graxos da fração neutra.

Ácidos graxos (g.100g ⁻¹ ác. graxos totais)	Efeito Tipos de óleo				Efeito OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD ¹
ΣSFA ²	31,22	31,28	32,58	0,15	31,28	32,10	0,20	1,51
ΣMUFA ²	44,86 ^{AB}	43,63 ^B	46,14 ^A	0,02	44,64	45,11	0,46	1,55
HUFA ² n-3/C18:3n-3	2,37 ^B	0,80 ^C	2,85 ^A	<0,0001	1,84 ^B	2,18 ^A	<0,0001	0,16
HUFA ² n-6/C18:2n-6	0,27 ^B	0,26 ^B	0,32 ^A	0,0001	0,28	0,28	1,00	0,02
Efeito Tipos de óleo * OG								
Ácidos graxos	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD ¹
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
ΣPUFA	25,37 ^A	22,43 ^B	26,00 ^A	24,11 ^B	20,74 ^A	21,68 ^A	0,005	1,03
PUFA ² n -6	17,74 ^A	15,70 ^A	13,10 ^B	14,59 ^A	14,41 ^A	15,06 ^A	0,001	0,82
PUFA ² n-3	4,81 ^A	4,09 ^B	10,32 ^A	6,93 ^B	4,04 ^A	3,93 ^A	<0,0001	0,16
PUFA ² /SFA ²	0,79 ^A	0,70 ^A	0,84 ^A	0,76 ^B	0,64 ^A	0,67 ^A	0,02	0,04
PUFA ² n-6/PUFA ² n-3	3,69 ^B	3,83 ^A	1,27 ^B	2,10 ^A	3,57 ^A	3,83 ^A	0,0008	0,16
DHA ² :EPA ²	3,51 ^A	3,64 ^A	2,87 ^A	3,15 ^A	3,74 ^A	3,57 ^B	0,007	0,13

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

²SFA= ácidos graxos saturados, MUFA=ácidos graxos monoinsaturados, PUFA= ácidos graxos poli-insaturados,

HUFA=ácidos graxos altamente insaturados, EPA= ácido eicosapentaenoico, DHA=ácido docosahexaenoico.

Tabela 17 Perfis lipídicos com os principais ácidos graxos da fração polar, expressos em g.100g⁻¹.

Ácidos Graxos (g.100g ⁻¹ ác. graxos totais)	Efeito Tipos de óleo				Efeito OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD ¹
C12:0	1,27	1,25	1,22	0,74	1,31 ^A	1,18 ^B	0,03	0,12
C14:0	1,63	1,59	1,64	0,60	1,66	1,58	0,06	0,10
C16:0	14,10 ^B	14,50 ^{AB}	14,93 ^A	0,04	14,14 ^B	14,88 ^A	0,006	0,59
C18:0	8,54	8,65	8,66	0,69	8,53	8,70	0,20	0,31
C18:1-n9(cis+trans)	17,8	18,23	18,52	0,61	17,43 ^B	18,93 ^A	0,02	1,42
C18:3n-6	0,67	0,62	0,66	0,14	0,67 ^A	0,62 ^B	0,02	0,05
C18:4n-3	0,54	0,51	0,54	0,64	0,58 ^A	0,48 ^B	0,002	0,07
C20:0	0,73	0,69	0,7	0,53	0,74 ^A	0,67 ^B	0,02	0,06
C20:2n-6	0,89	0,81	0,87	0,10	0,87	0,85	0,49	0,07
C20:4n-3	0,48 ^B	0,64 ^A	0,46 ^B	<0,0001	0,57 ^A	0,48 ^A	<0,0001	0,04
C22:5n-3	0,83 ^B	1,13 ^C	0,75 ^A	<0,0001	0,95 ^A	0,85 ^A	0,001	0,06
C22:6n-3(DHA ²)	13,99 ^B	16,48 ^A	12,96 ^B	<0,0001	15,20 ^A	13,75 ^B	0,002	1,00
Efeito Tipos de óleo * OG								
Ácidos graxos	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD ¹
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
C18:2n-6(LA ²)	7,71 ^A	7,31 ^A	6,23 ^A	7,06 ^A	6,06 ^B	7,12 ^A	0,04	0,57
C18:3n-3(LNA ²)	0,89 ^A	0,79 ^B	2,48 ^A	1,54 ^B	0,75 ^A	0,72 ^A	<0,0001	0,13
C20:3n-6	3,48 ^A	3,26 ^A	2,37 ^B	2,99 ^A	2,99 ^A	3,25 ^A	0,003	0,20
C20:4n-6	7,26 ^A	7,40 ^A	4,11 ^B	5,77 ^A	7,70 ^A	7,69 ^A	0,003	0,46
C20:3n-3	0,46 ^A	0,41 ^A	0,69 ^A	0,50 ^B	0,45 ^A	0,38 ^A	0,004	0,04
C20:5n-3(EPA ²)	1,49 ^A	1,26 ^A	2,87 ^A	2,25 ^B	1,23 ^A	1,20 ^A	0,0005	0,12

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

²LA=ácido linoleico, LNA=ácido linolênico, AA=ácido araquidônico, EPA=ácido eicosapentaenoico, DHA=ácido docosahexaenoico

Tabela 18 Somatório e índices referentes aos ácidos graxos da fração polar.

Ácidos graxos	Efeito Tipos de óleo				Efeito OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD ¹
ΣSFA²	29,27 ^B	29,61 ^{AB}	30,00 ^A	0,04	29,48	29,77	0,21	0,54
ΣMUFA²	24,71	24,67	25,54	0,38	24,41	25,53	0,06	1,37
ΣPUFA²	46,01	45,71	44,45	0,15	46,09 ^D	44,69 ^E	0,04	1,62
PUFA² n-3	18,50 ^B	23,94 ^A	17,08 ^C	<0,0001	21,09 ^D	18,59 ^E	<0,0001	1,14
PUFA²/SFA²	1,57	1,54	1,48	0,08	1,56	1,50	0,05	0,07
PUFA² n -6/PUFA²n-3	1,26 ^B	0,75 ^C	1,37 ^A	<0,0001	1,02 ^E	1,24 ^D	<0,0001	0,08
HUFA² n-6/ C18:2n-6	2,13 ^B	1,67 ^C	2,56 ^A	<0,0001	2,13	2,11	0,82	0,29
Efeito Tipos de óleo * OG								
Ácidos graxos	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD ¹
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
PUFA² n-6	23,50 ^A	23,22 ^A	15,88 ^B	19,57 ^A	22,73 ^A	23,75 ^A	<0,0001	0,71
HUFA² n-3/ C18:3n-3	21,17 ^A	21,23 ^A	9,48 ^B	13,49 ^A	23,00 ^A	21,59 ^A	0,04	2,01
DHA²:EPA²	9,84 ^A	10,64 ^A	5,99 ^B	7,01 ^A	11,16 ^A	10,19 ^A	0,01	0,66

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

²SFA= ácidos graxos saturados, MUFA=ácidos graxos monoinsaturados, PUFA= ácidos graxos poli-insaturados, HUFA=ácidos graxos altamente insaturados, EPA= ácido eicosapentaenoico, DHA=ácido docosahexaenoico.

Os índices IA, IT, e HH indicam o aspecto qualitativo dos lipídeos, demonstrando OL como sendo o que apresenta a capacidade em reduzir a trombose e a hipercolesterolemia. No entanto, estes peixes são mais suscetíveis à peroxidação lipídica que os demais, demonstrados pelos valores de PI. A adição de OG pode reduzir a peroxidação lipídica indicada pela menor porcentagem deste índice, independente do tipo de óleo utilizado, tornando os lipídeos de carcaça mais estáveis à oxidação (**Tabela 19**). No entanto, os valores de TBARS foram mais altos em peixes que receberam OG.

Em comparação às espécies marinhas, lambaris apresentaram valores inferiores de IA e de PI; e superiores de IT (ULBRICHT; SOUTHGATE, 1991; VALFRÉ; CAPRINO; TURCHINI, 2003) e HH (FERNANDES et al., 2014; TESTI et al., 2006). A formação de trombos e de plaquetas são favorecidos por alguns ácidos graxos saturados como o ácido láurico (C12:0), ácido mirístico (C14:0), ácido palmítico (C16:0) e ácido esteárico (C18:0). O índice HH está diretamente relacionado ao metabolismo de colesterol (FERNANDES et al., 2014; TESTI et al., 2006).

Tabela 19 Índices referentes à qualidade lipídica, quantidades de lipídeos (fração total, neutra e polar) e de colesterol.

Variáveis	Efeito Tipos de óleo				Efeito OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD ¹
IA ²	0,39 ^{AB}	0,38 ^B	0,40 ^A	0,02	0,39	0,39	0,28	0,02
HH ²	2,71 ^B	2,87 ^A	2,61 ^B	0,005	2,77	2,69	0,16	0,13
PI ² (%)	62,11 ^B	70,71 ^A	61,17 ^B	<0,0001	66,41 ^A	62,92 ^B	0,001	2,19
LIP ² (g.100g ⁻¹ - fração total)	10,94	11,11	11,49	0,22	10,94	11,42	0,08	0,62
LIP ² (g.100g ⁻¹ -fração neutra)	9,96	10,07	10,40	0,31	9,93	10,36	0,09	0,58
LIP ² (g.100g ⁻¹ -fração polar)	0,99 ^B	1,04 ^{AB}	1,09 ^A	0,02	1,02	1,06	0,10	0,07
COL ² (mg.100g ⁻¹ de amostra)	103,00 ^B	116,33 ^A	116,54 ^A	0,03	106,89 ^B	117,03 ^A	0,03	10,87
Efeito Tipos de óleo * OG								
Variáveis	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD ¹
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
IT	0,58 ^A	0,61 ^A	0,43 ^B	0,51 ^A	0,62 ^A	0,62 ^A	0,003	0,02

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

²IA= índices arterogênicos; IT = índice de trombogenicidade; HH=hipocolesterolemia/hipercolesterolemia, PI= *peroxidability index*

As concentrações de colesterol foram inferiores em peixes alimentados com dietas contendo OS, combinado ou não com OG. Em relação a inclusão de OG, houve aumento nos valores de colesterol, para os três óleos testados (OS, OL e ORP).

A sesamina em combinação com óleo de linhaça diminuiu os níveis de colesterol em filé de Barramundi (*Lates Calcifer*). As diferenças de resultados encontrados podem estar relacionadas com as quantidades deste composto adicionados a dietas para peixes, assim como a sua forma de adição, em pó ou em óleo (ALHAZZAA et al., 2012b).

Sendo assim, as diferenças nas respostas fisiológicas, nos perfis de ácidos graxos entre as espécies de peixes estudadas como a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), barramundi (*Lates calcarifer*) e carpa comum (*Cyprinus carpio*) frente a adição de sesamina ou o óleo de gergelim poderiam estar associadas às quantidades deste composto, ao tamanho dos peixes, à condição ambiental e à composição de dietas (ALHAZZAA et al., 2012b; KÖSE; YILDIZ, 2013; MRAZ et al., 2010; SCHILLER VESTERGREN et al., 2012; TRATTNER et al., 2008a).

A inclusão de diferentes fontes lipídicas também alterou variáveis de qualidade da carne, com exceção do pH (**Tabela 20**) e foi verificado o efeito da interação entre os tipos de óleos testados e a inclusão de OG em TBARS.

Tabela 20 Valores médios referentes às variáveis de qualidade da carne.

Qualidade da carne	Efeito Tipos de óleo				Efeito OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD
pH	6,77	6,79	6,83	0,12	6,82	6,77	0,05	0,044
BNVT ² (mg de N.100g ⁻¹ de amostra fresca)	12,83	13,64	12,6	0,22	14,77 ^A	11,27 ^B	<0,0001	1,022
Textura (g)	2656	2919	2468	0,10	2861 ^A	2500 ^B	0,04	503,05
Efeito de interação Tipos de óleo * OG								
Qualidade da carne	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
TBARS ² (mg MDA. kg ⁻¹ de amostra fresca)	0,243 ^B	0,295 ^A	0,260 ^B	0,307 ^A	0,318 ^A	0,320 ^A	0,003	0,011

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

² BNVT=bases nitrogenadas voláteis, TBARS=substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

A adição de OG provocou o aumento da peroxidação lipídica em peixes alimentados com OS e OL, e reduziu os valores BNVT e de textura, independentemente dos diferentes óleos (OS, OL e ORP). As concentrações mais baixas de malonaldeído encontradas por animais alimentados com dietas OS e OL em relação à OS/OG e OL/OG podem estar relacionadas às quantidades de lipídeos encontradas nos peixes (**Tabela 20**), visto que, maiores porcentagens lipídicas também se tornam mais suscetíveis à peroxidação (DU et al., 2008). No entanto, as diferenças encontradas entre os tratamentos não são mínimas, girando em torno de 0,05 mg.kg⁻¹ de MDA. Os valores de PI indicaram os peixes alimentados com dietas contendo OG como menos suscetíveis à peroxidação lipídica.

O óleo de gergelim contém compostos bioativos, além da sesamina, que atuam antioxidantes contra radicais livres. Foram verificados níveis elevados de α tocoferol em ratos diabéticos alimentados com dietas contendo OG e consequente redução de formação de espécies reativas ao oxigênio (ROS) e sesamolina reduziu valores de TBARS em fígado e rins de ratos (KANG et al., 1998; RAMESH; SARAVANAN; PUGALENDI, 2005).

Neste experimento, verificou-se que a resistência à força de compressão apresentada por indivíduos alimentados com OG foi inferior. Em comparação a peroxidação lipídica, estas apresentaram comportamentos inversos. Embora as diferenças entre grupos que receberam dietas sem e com OG sejam pequenas, a sua adição resultou-se no aumento de TBARS e a redução de valores de dureza de carcaças de peixes frescos.

A textura é influenciada pelas condições de manejo e de abate, bem como, fatores físicos (espécie, idade, composição das dietas); químicos (quantidade de água e de lipídeos e a suas distribuições pelo corpo, e porcentagem de colágeno); de tratamentos (tempo de estocagem e temperatura, congelamento, salga, entre outros) e de como se interagem (CHENG et al., 2014).

Logo, a textura pode ser ter sido influenciada pelas reações de formação de hidroperóxidos lipídicos, causando perdas em propriedades reológicas do músculo. A interação entre lipídeos e proteínas participam na estabilidade e de funções dos tecidos musculares (MEDINA et al., 2012).

Em relação ao BNVT, os níveis mais baixos para peixes que receberam OG podem estar relacionadas a ação protetiva deste óleo frente a ação microbiana. Este óleo possui efeito positivo contra *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp, devido a sesamina possuir propriedades bactericidas, antifúngicas, além de atuar como um antioxidante natural (OGAWA; NISHIO; OKADA, 2013; PATHAK et al., 2014; ZAKI; AL-OQAILI; TAHREER, 2015).

Em relação às alterações fisiológicas, a utilização de fontes de óleo e a inclusão de OG teve efeito de forma significativa em todas variáveis analisadas (**Tabela 21**).

Altos valores glicêmicos acima de 49 mg.DL⁻¹, independentemente dos tratamentos, demonstraram que os peixes sofreram estresse de contenção e de hipóxia (BARTON, 2002; PEREIRA-DA-SILVA; DE OLIVEIRA; DEL NERO, 2014). Indivíduos alimentados com dietas OL/OG inexplicavelmente apresentaram valores mais altos de glicemia em relação a OL, e em dietas ORP/OG, teores reduzidos de GH.

Tabela 21 Valores médios referentes às variáveis relacionadas ao estado fisiológico do animal.

Efeitos de fatores (sem interação)								
Variáveis	Efeito Tipos de óleo				Efeito OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD ¹
CAT ² ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ músculo)	0,76	0,58	0,73	0,60	0,74	0,64	0,50^{ns}	0,52
GR ² ($\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ prot.músculo)	1,44 ^B	1,40 ^B	2,10 ^A	0,005	1,86 ^A	1,44 ^B	0,031	0,63
LDH ² ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ prot.músculo)	4,91	4,44	4,31	0,36	4,91 ^A	4,19 ^B	0,046	1,21
TBARS ² ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ de am.fígado)	7,16	8,39	7,71	0,61	6,40 ^B	9,11 ^A	0,018	4,78
Efeito Tipos de óleo * OG								
Ácidos graxos	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD ¹
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
GH ² (mg glicosil. g ⁻¹ am.fígado)	113 ^A	116 ^A	135 ^A	147 ^A	158 ^A	69 ^B	0,01	80,34
Glicemia (mg.DL ⁻¹)	116 ^A	108 ^A	100 ^B	117 ^A	116 ^A	104 ^B	<0,0001	9,44

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

² CAT= catalase, GR=glutathione redutase, LDH=lactato desidrogenase, TBARS= espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico, GH=glicogênio hepático.

Observou-se o aumento de TBARS do tecido hepático em animais que receberam OG em sua dieta, independente ao tipo de óleo associado (OS, OL e ORP), no tecido hepático. No entanto, as diferenças encontradas na formação de malonaldeído (MDA) por estes indivíduos, apesar de serem significativas, não foram discrepantes (**Tabela 21**).

Esperava-se que a adição de ORP ocasionasse danos ao tecido hepático por ser um óleo oxidado. Supõe-se que o grau de oxidação de ORP não afetou a peroxidação lipídica e sim, o perfil lipídico. Em peixes marinhos como o salmão do Atlântico (*Salmo salar*) e o bacalhau (*Gadus morhua*), o fornecimento de óleos com alto grau de insaturação e de oxidação aumentou os valores de TBARS no fígado, devido a absorção de MDA pelo intestino ou por hidroperóxidos formados a partir da oxidação dos ácidos graxos presentes no tecido (HAMRE et al., 2002; KJÆR et al., 2014)

A formação de TBARS no tecido hepático de lambaris pode ter sido causada pelo provável aumento da taxa de dessaturação de LNA em HUFA n-3 por indivíduos que receberam OG (**Tabela 13**). A oxidação de PUFA's, devido a ativação de receptores de PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor),

formam H_2O_2 entre outros compostos secundários, que podem causar efeitos deletérios aos tecidos (TAKAHASHI et al., 2002).

Em ciprinídeos, a suplementação de níveis crescentes de ácido pantotênico, de 3,39 a 59,72 mg.kg⁻¹, e biotina, de 0,01 a 1,54 mg.kg⁻¹, reduziram os níveis de malonaldeído (MDA) (FENG et al., 2014; QIAN et al., 2015). O ácido pantotênico promove a formação de glutathione o qual é um peptídeo essencial para ação antioxidante do animal (SLYSHENKOV; DYMKOWSKA; WOJTCZAK, 2004).

As enzimas de estresse oxidativo foram determinadas em músculo de lambaris e observou-se a redução da atividade de GR frente a inclusão de OG em dietas, e o seu aumento em peixes que receberam ORP A atividade de CAT não foi alterada pelos tratamentos (**Tabela 21**).

As ações de enzimas de defesa antioxidante são influenciadas pela porcentagem de inclusão de lipídeos, qualidade e tipo de óleo fornecido em dietas. Além disso, o regime de alimentação e de jejum alteram de forma significativa, tornando indivíduos suscetíveis a ação de radicais livres (ANTONOPOULOU et al., 2014; HAMRE et al., 2002; KJÆR et al., 2014; MORALES et al., 2011) .

A utilização de ORP como fonte de lipídeos para lambaris, associado ou não a OG, aumentou a atividade de glutathione redutase (GR) no tecido muscular. Este fato pode estar relacionado a sua qualidade, visto que este óleo provavelmente era mais oxidado em relação aos outros. O aumento da atividade enzimática de GR implica-se no aumento da necessidade em regenerar a glutathione, que atua sobre o sistema antioxidante, sendo sinal de que houve maior formação de H_2O_2 e a ação de catalase (CAT) não foi suficiente para a conversão deste composto água e O_2 (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

A redução da atividade de GR ocasionada pela adição de OG, pode estar relacionada à provável presença de compostos bioativos como a sesamina/episamina e tocoferóis (CHUNG; LEE; CHOE, 2004; FUKUDA et al., 1986). A sesamina é metabolizada no fígado e se torna eficaz na redução de radicais livres como superóxidos. No entanto, em altas concentrações, a sesamina, pode se tornar um pró-oxidante(JENG; HOU, 2005).

A redução na atividade de lactato desidrogenase (LDH) foi verificada em indivíduos que receberam OG, independente do óleo associado. Este fato

também pode estar relacionado à presença destes lignanos. Em células neuronais, a sesamina inibe a formação de radicais livres e suprime a liberação e a atividade de LDH, acionada pela hipóxia, preservando as enzimas CAT e SOD (JENG; HOU, 2005).

As estruturas hepáticas de peixes não demonstraram a formação de grandes vacúolos de lipídeos (esteatose hepática), independentemente dos tratamentos (**Figura 13 a 18**), como na espécie marinha sea bream (*Sparus aurata* L.) alimentados com óleos vegetais (CABALLERO et al., 2004).

O fornecimento de dietas contendo alto teor lipídico e de ácidos graxos saturados podem ocasionar a formação de vacúolos de lipídeos, como observado em jundiás (*Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824)) (VARGAS et al., 2014). O fornecimento de altos teores de EPA danificou a estrutura da célula hepática em salmão do Atlântico (*Salmo salar* L.)(KJÆR et al., 2008).

A disposição dos hepatócitos de lambaris condiz com a descrição prévia do tecido hepático desta espécie (CHEHADE et al., 2014) e não houve formação de fibras colágenas (fibrose) ou alguma lesão aparente (CABALLERO et al., 2002). Logo, a adição de OG combinados ou não a OS, OL e ORP e os níveis de lipídeos das dietas não provocaram problemas na sua estrutura hepática.

Figura 13 Tecido hepático de peixes OS - HE.

Figura 14 Tecido hepático de peixes OS/OG -HE

Figura 15 Tecido hepático de peixes OL - HE

Figura 16 Tecido hepático de peixes OL/OG.

Figura 17 Tecido hepático de peixes ORP - HE

Figura 18 Tecido hepático de peixes ORP/OG,

3.4 Conclusão

A utilização de OL melhora a qualidade lipídica dos peixes, acarretando em valores mais altos de DHA. A adição de OG potencializa a dessaturação de

LNA em HUFA n-3 em peixes que recebem dietas com baixo teor de LNA, e ameniza os efeitos de radicais livres em tecido muscular por conter compostos bioativos antioxidantes como a sesamina, sem provocar reduções no desempenho animal e sem comprometer a saúde animal.

3.5 Referências Bibliográficas

A.O.A.C. **Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists**. 12. ed. Washington, 1990.

A.O.A.C. **Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists**. 18. ed. washington: [s.n.].

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, n. 4, p. 2057–2065, 2012.

ANTONOPOULOU, E. et al. Dietary lipid levels in meagre (*Argyrosomus regius*): Effects on biochemical and molecular indicators of liver. **Aquaculture**, v. 428-429, p. 265–271, 2014.

ARACHCHIGE, P. G.; TAKAHASHI, Y.; IDE, T. Dietary sesamin and docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids synergistically increase the gene expression of enzymes involved in hepatic peroxisomal fatty acid oxidation in rats. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 55, p. 381–390, 2006.

ASHAKUMARY, L. et al. Sesamin, a sesame lignan, is a potent inducer of hepatic fatty acid oxidation in the rat. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 48, n. 10, p. 1303–1313, 1999.

BAO, H. N. D.; OHSHIMA, T. Strategies to minimize lipid oxidation of aquatic food products post harvest. In: KRISTINSSON, H. G. (Ed.). **Antioxidants and functional components in Aquatic Foods**. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd., 2014. p. 95–125.

BARTON, B. A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and comparative biology**, v. 42, p. 517–525, 2002.

BEERS, R. F.; SIZER, I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 195, n. 1, p. 133–140, 1952.

BELL, J. G.; SARGENT, J. R. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. **Aquaculture**, v. 218, p. 491–499, 2003.

BERNT, E.; BERGMEYER, H. U. Lactate deshydrogenase assay. In: BERGMEYER, H. U. (Ed.). **Methods of Enzymatic Analysis**. London: Academic press, 1974.

BIDINOTTO, M.; MORAES, G.; SOUZA, R. H. S. Hepatic glycogen and glucose in eight tropical fresh-water teleost fish for field determination of micro-samples. **Boletim Tecnológico do Centro de Pesquisa e Treinamento em Aquicultura (CEPTA)**, v. 10, p. 53–70, 1997.

BOHAC, C E, RHEE, K S, CROSS H R, O. K. assessment of methodologies for colorimetric cholesterol assay for meats. **journal of food science**, v. 53, n. 5, p. 1642–1644, 1988.

BRADFORD, M. . A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248–254, 1976.

BUREAU, D. P.; MEEKER, D. L. Terrestrial animal fats. In: TURCHINI, G. M.; NG, W.-K.; TOCHER, D. R. (Eds.). **Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds**. 1. ed. [s.l.] Taylor & Francis, 2010. p. 245–266.

CABALLERO, M. . et al. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 214, p. 253–271, 2002.

CABALLERO, M. J. et al. Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus aurata* L., caused by short- or long-term feeding with vegetable oils. Recovery of normal morphology after feeding fish oil as the sole lipid source. **Journal of Fish Diseases**, v. 27, p. 531–541, 2004.

CALBERG, I.; MANNERVIC, B. Glutathione reductase. In: **Methods in Enzymology**. New York: Academic Press, 1985. p. 484–490.

CAMPELO, D. A. V. et al. Conjugated linoleic acid in diets for lambari (*Astyanax altiparanae*) (Garutti & Britski, 2000). **Aquaculture Nutrition**, p. n/a–n/a, 2014.

CASTRO, P. L. et al. Linseed oil inclusion in sea bream diets: Effect on muscle quality and shelf life. **Aquaculture Research**, p. 75–85, 2013.

CHEHADE, C. et al. Morphologic study of the liver of lambari (*Astyanax altiparanae*) with emphasis on the distribution of cytokeratin. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 40, p. 571–576, 2014.

CHENG, J. H. et al. Texture and structure measurements and analyses for evaluation of fish and fillet freshness quality: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 1, p. 52–61, 2014.

CHUNG, J.; LEE, J.; CHOE, E. Oxidative Stability of Soybean and Sesame. v. 69, n. 7, p. 574–578, 2004.

CLANDININ, M. T.; JUMPSSEN, J.; SUH, M. Relationship between fatty acid accretion, membrane composition, and biologic functions. **The Journal of pediatrics**, v. 125, n. November, p. S25–S32, 1994.

DU, Z. Y. et al. Utilization of different dietary lipid sources at high level in herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*): Mechanism related to hepatic fatty acid oxidation. **Aquaculture Nutrition**, v. 14, p. 77–92, 2008.

FENG, L. et al. Antioxidant status of serum, muscle, intestine and hepatopancreas for fish fed graded levels of biotin. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 40, p. 499–510, 2014.

FERNANDES, C. E. et al. Nutritional and lipid profiles in marine fish species from Brazil. **Food chemistry**, v. 160, p. 67–71, 2014.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: Conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Medicina**, v. 43, p. 61–68, 1997.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.

FUKUDA, Y. et al. Contribution of lignan analogues to antioxidative activity of refined unroasted sesame seed oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 63, n. 8, p. 1027–1031, 1986.

GONÇALVES, L. U.; FERROLI, F.; VIEGAS, E. M. M. Effect of the inclusion of fish residue oils in diets on the fatty acid profile of muscles of males and females lambari (*astyanax altiparanae*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 1967–1974, 2012.

HAMRE, K. et al. Feed intake and absorption of lipid oxidation products in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets coated with oxidised fish oil. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 25, n. 3, p. 209–219, 2002.

HELRICK, K. **Official methods of the analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. washington: [s.n.].

HIGUCHI, L. H. et al. Desempenho de alevinos de tilápia-do-nilo alimentados com dietas contendo diferentes óleos vegetais. **R. bras. Ci. Vet.**, v. 19, p. 167–171, 2012.

HOWGATE, P. Determination of total volatile bases. **Aberdeen:Torry Research Station**, 1976.

IDE, T. et al. Interaction of dietary fat types and sesamin on hepatic fatty acid oxidation in rats. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1682, p. 80–91, 2004.

JENG, K. C. G.; HOU, R. C. W. Sesamin and Sesamolin : Nature ' s Therapeutic Lignans. **Enzyme**, p. 11–20, 2005.

JUANEDA, P.; ROCQUELIN, G. Rapid and convenient separation of phospholipids and non phosphorus lipids from rat heart using silica cartridges. **Lipids**, v. 20, n. 1, p. 40–41, 1985.

KAMARUDIN, M. S. et al. Effects of dietary fish oil replacement by various vegetable oils on growth performance, body composition and fatty acid profile of juvenile Malaysian mahseer, *Tor tambroides*. **Aquaculture Nutrition**, v. 18, p. 532–543, 2012.

KANG, M. H. et al. Sesamolin inhibits lipid peroxidation in rat liver and kidney. **The Journal of nutrition**, v. 128, n. February, p. 1018–1022, 1998.

KJÆR, M. A. et al. Dietary n-3 HUFA affects mitochondrial fatty acid β -oxidation capacity and susceptibility to oxidative stress in Atlantic salmon. **Lipids**, v. 43, p. 813–827, 2008.

KJÆR, M. A. et al. The influence of different dietary oil qualities on growth rate, feed utilization and oxidative stress in Atlantic cod. **Aquaculture Nutrition**, v. 20, p. 192–204, 2014.

KÖSE, I.; YILDIZ, M. Effect of diets containing sesame oil on growth and fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 29, p. 1318–1324, 2013.

LIM, J. S. et al. Comparative analysis of sesame lignans (sesamin and sesamolin) in affecting hepatic fatty acid metabolism in rats. **The British journal of nutrition**, v. 97, p. 85–95, 2007.

LIN, Y. H.; LIN, H. Y.; SHIAU, S. Y. Estimation of dietary pantothenic acid requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus* according to physiological and biochemical parameters. **Aquaculture**, v. 324-325, p. 92–96, 2012.

MEDINA, I. et al. Activity of caffeic acid in different fish lipid matrices: A review. **Food Chemistry**, v. 131, n. 3, p. 730–740, 2012.

MORALES, A. E. et al. Starvation, Energetics, and Antioxidant Defenses. In: **Oxidative Stress in Aquatic Ecosystems**. [s.l: s.n.]. p. 281–294.

MORRISON, W. R.; SMITH, L. M. Preparation of Fatty Acid Methyl Esters and Dimethylacetals From Lipids With Boron Fluoride--Methanol. **Journal of lipid research**, v. 5, n. 13, p. 600–608, 1964.

MRAZ, J. et al. Sesamin as a potential modulator of fatty acid composition in common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture Research**, v. 41, p. e851–e861, 2010.

NASOPOULOU, C.; ZABETAKIS, I. Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, n. 2, p. 217–224, 2012.

NEURINGER, M.; ANDERSON, G. J.; CONNOR, W. E. Quick links to online content THE ESSENTIALITY OF N-3 FATTY ACIDS FOR THE DEVELOPMENT AND FUNCTION. **Development**, p. 517–541, 1988.

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.

OGAWA, T.; NISHIO, J.; OKADA, S. Effect of Edible Sesame Oil on Growth of Clinical Isolates of *Candida albicans*. **Biological Research For Nursing**, v. 16, n. 3, p. 335–343, 2013.

OLSVIK, P. A. et al. Hepatic oxidative stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) transferred from a diet based on marine feed ingredients to a diet based on plant ingredients. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, 2011.

PATHAK, N. et al. Value addition in sesame: A perspective on bioactive components for enhancing utility and profitability. **Pharmacognosy Reviews**, v. 8, n. 16, p. 147, 2014.

PEREIRA-DA-SILVA, E. M.; DE OLIVEIRA, R. H. F.; NERO, B. DEL. Menthol as anaesthetic for lambari *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski 2000): attenuation of stress responses. **Aquaculture Research**, p. n/a–n/a, 2014.

PEREIRA-SILVA, E. M. et al. Efeito anestésico do óleo de cravo em alevinos de lambari. **Ciência Rural**, v. 39, p. 1851–1856, 2009.

POLI, B. M. Farmed fish welfare-suffering assessment and impact on product quality. **Italian Journal of Animal Science**, v. 8, n. 1s, p. 139–160, 2010.

QIAN, Y. et al. Effects of Dietary Pantothenic Acid on Growth, Intestinal Function, Anti-Oxidative Status and Fatty Acids Synthesis of Juvenile Blunt Snout Bream *Megalobrama amblycephala*. **Plos One**, v. 10, n. 3, p. 1–18, 2015.

RAMESH, B.; SARAVANAN, R.; PUGALENDI, K. V. Influence of sesame oil on blood glucose, lipid peroxidation, and antioxidant status in streptozotocin diabetic rats. **Journal of medicinal food**, v. 8, n. September 2004, p. 377–381, 2005.

ROVER JÚNIOR, L. et al. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 112–119, 2001.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. **Livestock Production Science**, v. 77, p. 187–194, 2002.

SCHILLER VESTERGREN, A. et al. Sesamin modulates gene expression without corresponding effects on fatty acids in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Lipids**, v. 47, p. 897–911, 2012.

SCHRADER, M.; FAHIMI, H. D. Peroxisomes and oxidative stress. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1763, p. 1755–1766, 2006.

SLYSHENKOV, V. S.; DYMKOWSKA, D.; WOJTCZAK, L. Pantothenic acid and pantothenol increase biosynthesis of glutathione by boosting cell energetics. **FEBS Letters**, v. 569, n. 1-3, p. 169–172, 2004.

SPECTOR, A A. Essentiality of fatty acids. **Lipids**, v. 34 Suppl, p. S1–S3, 1999.

STROBEL, C.; JAHREIS, G.; KUHN, K. Survey of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in fish and fish products. **Lipids in Health and Disease**, v. 11, p. 144, 2012.

SUSSEL, F. R. et al. Replacement of animal protein with vegetable protein in the diets of *Astyanax altiparanae*. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 36, p. 343, 2014.

TAKAHASHI, M. et al. Fish oil feeding alters liver gene expressions to defend against PPAR α activation and ROS production. **American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology**, v. 282, p. G338–G348, 2002.

TEOH, C. Y.; TURCHINI, G. M.; NG, W. K. Erratum to “Genetically improved farmed Nile tilapia and red hybrid tilapia showed differences in fatty acid metabolism when fed diets with added fish oil or a vegetable oil blend”. **Aquaculture**, v. 316, n. 1-4, p. 144–154, 2011.

TESTI, S. et al. Nutritional traits of dorsal and ventral fillets from three farmed fish species. **Food Chemistry**, v. 98, n. 1, p. 104–111, 2006.

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

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

TOCHER, D. R.; FRANCIS, D. S.; COUPLAND, K. n-3 Polyunsaturated Fatty Acid-Rich Vegetable Oils and Blends. In: TURCHINI, G. M.; NG, W.-K.; TOCHER, D. R. (Eds.). **Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds**. 1. ed. [s.l.] Taylor & Francis, 2010. p. 209–245.

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, p. 989–997, 2008a.

TRATTNER, S. et al. Sesamin increases alpha-linolenic acid conversion to docosahexaenoic acid in atlantic salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes: Role of altered gene expression. **Lipids**, v. 43, p. 999–1008, 2008b.

TRATTNER, S. et al. Influence of dietary sesamin, a bioactive compound on fatty acids and expression of some lipid regulating genes in Baltic Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) juveniles. **Physiological Research**, v. 60, p. 125–137, 2011.

TURCHINI, G. M.; MAILER, R. J. Rapeseed (Canola) Oil and Other Monounsaturated Fatty Acid-Rich Vegetable Oils. In: TURCHINI, G. M.; NG, W.-K.; TOCHER, D. R. (Eds.). . **Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds**. 1. ed. [s.l.] Taylor & Francis, 2010. p. 161–208.

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

VALFRÉ, F.; CAPRINO, F.; TURCHINI, G. M. The health benefit of seafood. **Veterinary Research Communications**, v. 27, p. 507–512, 2003.

VARGAS, R. J. et al. A combination of plant oils promotes adequate growth of the freshwater catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824). **Aquaculture Research**, n. Rafinesque 1818, p. n/a–n/a, 2014.

VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichmittel**, v. 72, p. 1084–1087, 1970.

WEN, Z. P. et al. Effect of dietary pantothenic acid supplement on growth, body composition and intestinal enzyme activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture Nutrition**, v. 15, p. 470–476, 2009.

WILLIAMS, C. Dietary fatty acids and human health. **Annales de Zootechnie**, v. 49, p. 165–180, 2000.

YOSSA, R. et al. Effects of dietary biotin and avidin on growth, survival, feed conversion, biotin status and gene expression of zebrafish *Danio rerio*. **Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology**, v. 160, n. 4, p. 150–158, 2011.

ZAKI, N. H.; AL-OQAILI, R. M. S.; TAHREER, H. Antibacterial effect of ginger and black pepper extracts (alone and in combination) with sesame oil. **World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences**, v. 4, n. 03, p. 774–784, 2015.

4 CAPÍTULO 3. Óleo de gergelim associados a outras fontes lipídicas em dietas: Efeitos sobre a qualidade da carne de Lambaris *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000) processados em salga mista

RESUMO: O objetivo desta pesquisa foi verificar o efeito da adição de óleo de gergelim associada ao óleo de soja (OS), óleo de linhaça (OL) e óleo de resíduo de peixe de água doce (ORP) nas dietas sobre a composição química corporal, o perfil lipídico e a qualidade da carne de lambaris *Astyanax altiparanae* (Garutti & Bristski, 2000) submetidos à salga mista. O experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x2), três tipos de óleo (de soja -OS, de linhaça-OL e de resíduo de peixe -ORP) associados ou não ao óleo de gergelim (OG), e quatro repetições. Os peixes foram coletados e submetidos à salga mista, por 120 dias. Realizaram-se análises de qualidade de carne como pH, bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT), peroxidação lipídica (TBARS) e teor de sal. Após o envase em óleo de soja a 90°C, além destas variáveis, foram determinadas a composição química: umidade (UM), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), lipídeos (LIP) e o perfil de ácidos graxos. Observaram-se os efeitos dos óleos testados, a adição de OG e a interação entre estes dois fatores para TBARS, demonstrando a eficiência de OG em manter a estabilidade oxidativa, dependendo do tipo de óleo testado. Após o envase, as amostras de peixes alimentados com dietas OS/OG e OL/OG apresentaram valores inferiores de BNVT em relação a OL e OS. Alguns ácidos graxos como ácido linoleico aumentaram devido a incorporação do óleo de soja. O perfil de ácidos graxos do produto final foi influenciado pela composição das dietas experimentais. A inclusão de OG em dietas provocou maior conservação de níveis de DHA e aumentou a estabilidade oxidativa da carne processada. Portanto, a adição de OG em dietas de lambari gera melhor estabilidade qualitativa do produto final, aumentando a seu tempo de prateleira.

Palavras-chave: nutrição, peixes, processamento, salga mista.

ABSTRACT: The aim of this research was to verify the effect of sesame oil addition in diets on chemical composition, fatty acids profile and flesh quality of Lambari (*Astyanax altiparanae*) submitted to salting process. The experiment

followed casual randomized design with factorial scheme (3x2), three type of oil tested (soy-OS, linseed-OL and fish residue-ORP), combined or not to sesame oil (OG) and four replications. Fishes were collected to proceed the salting process, during 120 days, and the analysis of fish flesh's quality (pH, total nitrogen volatile bases (BNVT) and lipid peroxidation (thiobarbituric acid reactive substance (TBARS), salt quantities and water activity (Aw). After filling with soy oil at 90°C, beside theses analyses, chemical composition (moisture - UM, crude protein -PB, mineral matter-MM and lipids (LIP) and fatty acid profiles of final products were determined. The results showed effects the of types of oil chosen, the addition of OG and interaction between these two factors for TBARS. The OG inclusion caused better oxidative stability, depending on the type of oil tested. After immersion of fish in soybean oil at 90 °C, lower values of BNVT were observed for fish fed OS/OG and OL/OG. Some fatty acids such as linoleic acid increased due to incorporation of soybean oil. The fatty acid profile of the final product was influenced by diets composition and the OG addition retained better DHA levels. The inclusion of OG in diets for lambari improve oxidative stability of processed meat, increasing the shelf life of salted fishes.

Keywords: fish, nutrition, processing, wet salting.

4.1 Introdução

A alta demanda por consumo de pescado deve-se aos efeitos benéficos relacionados principalmente ao fornecimento de ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) da série n-3 como o ácido eicosapentaenoico (EPA), ácidos docosahexaenoico (DHA) (LIE, 2001; SPECTOR, 1999; VALFRÉ; CAPRINO; TURCHINI, 2003).

A composição e a biodisponibilidade de nutrientes das dietas interferem em variáveis relacionadas a qualidade da carne. A composição de ácidos graxos em tecido adiposo é resultado de uma interação complexa de fatores que possivelmente estão relacionados, além do tipo de dieta, ao catabolismo oxidativo dos ácidos graxos, à cinética das reações de dessaturação e de alongação, além da incorporação e da retro-conversão entre ácidos graxos (LIE, 2001).

A salga consiste em processo de conservação no qual o cloreto de sódio (NaCl) é utilizado como principal componente que entra no tecido do peixe por difusão e conseqüentemente, retira a água por osmose (BARAT et al., 2003). Neste tipo de processamento, a porcentagem de lipídeos interfere na absorção de NaCl e entre espécies como no caso do salmão do atlântico e do bacalhau (*Gadus morhua*), nas quais verificaram-se porcentagens reduzidas de sal em peixes com quantidade maior de lipídeos (GALLART-JORNET et al., 2007). Além disso, o sal provoca a peroxidação lipídica em peixes com alto teor lipídico e na presença de proteínas heme (RAGHAVAN; KRISTINSSON, 2014).

O óleo de gergelim possui compostos antioxidantes e apresenta estabilidade oxidativa. Neste óleo, pode-se encontrar componentes como a sesamina, sesamolina, tocoferóis, desmetilesteróis e monometilesteróis. Em testes utilizando-se o óleo de girassol em associação com o extrato insaponificável do óleo de gergelim, verificou-se que os índices de peróxido, de peroxidação lipídica (TBARS) e de formação de dienos conjugados foram inferiores quando se adicionou 0,1% deste extrato (MOHAMED; AWATIF, 1998).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inclusão de óleo de gergelim associados aos óleos de soja (OS), óleo de linhaça (OL) e óleo de resíduos de peixes (ORP) de água doce nas dietas sobre a composição química, o perfil lipídico e a qualidade da carne de lambaris (*Astyanax altiparanae*) submetidos ao processo de salga.

4.2 Material e Métodos

4.2.1. Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em fatorial com 3 tipos de óleos: óleo de soja- OS (Cargill, São Paulo, Brasil), óleo de linhaça -OL (Cisbra, Rio Grande do Sul, Brasil) e óleo de resíduo de peixe de água doce - ORP (doada pela truticultura Nosso Recanto, Minas Gerais, Brasil) e combinações com óleo de gergelim - OG (Sum Sum Hong, São Paulo, Brasil) totalizando seis tratamentos e quatro repetições para cada tratamento (24 unidades experimentais). A quantidade de sesamina/episamina em óleo de gergelim foi estimada em conter 37,50 mg.100g⁻¹ (TRATTNER et al., 2008)

4.2.2. Processamento: Salga mista

O processamento assim como a formulação dos condimentos aplicados foi previamente testado em laboratório. Os peixes provenientes de cada unidade experimental foram imobilizados em água e gelo, abatidos por secção medular, eviscerados e congelados (n= 400 por tratamento). Após 30 dias de congelamento, as amostras foram imersas em solução salina a 20% e permaneceram por 120 dias. A esta solução, foram adicionados os seguintes condimentos por kg de pescado: 200 gramas de sal, 8,50 g de açúcar, 8,50 g de pimenta, 1,50 g de cravo, 1,40 g de pimenta branca, 0,38 g de ácido benzoico e 0,38 g de nitrato de sódio. Após este período, as amostras de peixes foram filetadas, envasadas com óleo de soja a 90 °C e mantidos à temperatura ambiente por 30 dias.

4.2.3 Análises de qualidade da carne

4.2.3.1 Bases nitrogenadas voláteis (BNVT)

A determinação de BNVT foi realizada de acordo com a metodologia de Howgate (1976). Foram utilizadas 10 gramas de cada amostra de músculos dos respectivos tratamentos e períodos (0, 33, 90, 120 e 150 dias de conservação), e homogeneizadas, através de um homogeneizador (Ultra turrax, IKA, Alemanha) em 60 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA, Synth, Brasil) 10% durante dois minutos e mantido em repouso a temperatura ambiente por duas horas. Em seguida, as amostras foram filtradas em papel filtro (Whatman nº1). Posteriormente, coletaram-se 25 mL do filtrado para proceder a destilação por meio de destilador de nitrogênio (modelo Tecnal TE 0363, Brasil), e em seguida, tituladas com ácido clorídrico (HCl)(Dinâmica, Brasil) a 0,02N. Os teores de BNVT foram calculados a partir da seguinte fórmula:

$$BNV \left(\frac{mg}{100g} \right) = \frac{vol\ HCl\ (ml) \times N\ HCl \times 14 \times vol.\ extr.\ TCA \times 100}{25 \times peso\ de\ amostra\ (g)}$$

Na qual:

Vol HCl = volume de HCl utilizado para a titulação da amostra;

N HCl = normalidade do HCl utilizado na titulação;

Vol extr. TCA = volume do extrato em TCA.

4.2.3.2 pH

A medição de pH das amostras de músculo de cada tratamento e períodos (0, 33, 60, 90, 120 e 150 dias) foi realizada com auxílio de um peagâmetro de bancada (Tecnal Tec – 5, Brasil). Foram utilizados cinco gramas de amostra por repetição.

4.2.3.4 Atividade de Água (A_w)

A atividade de água foi determinada através da utilização do medidor de atividade de água (modelo Aqualab, Estados Unidos). Foi utilizado 0,50 grama de amostra fresca por repetição de tratamento e período (0, 33, 60, 120 e 150 dias).

4.2.3.4 Análise de teor de sal (cloretos)

A determinação do sal foi realizada de acordo com metodologia de Mohr, descrito por Fischer (1958). Utilizou-se 0,50 grama de amostra seca de músculos de cada tratamento e período (0, 33, 60, 90, 120 e 150 dias). O método de padronização baseou-se em titular o nitrato de prata (AgNO_3) com solução-padrão de cloreto de sódio (padrão primário), usando a solução de cromato de potássio (K_2CrO_4) como indicador.

O teor de sal foi calculado baseando-se na seguinte fórmula:

$$\text{Sal} = (\text{Vol gasto} * 0,0098 * 58,5) / (\text{peso da amostra})$$

Na qual:

Vol gasto = Volume de AgNO_3 gasto na titulação;

4.2.3.5 Umidade

A umidade foi determinada através de secagem em estufa por 16 horas a 105°C. Foram utilizados cinco gramas de amostra por repetição de tratamento e para cada período (0, 33, 60, 90, 120 e 150 dias). Os valores de umidade foram usados para determinar os teores de sal.

4.2.3.6 Peroxidação Lipídica (TBARS)

A determinação de compostos oriundos da peroxidação lipídica foi baseada em Vyncke (1970). Foram utilizados cinco gramas de cada amostra de músculos dos respectivos tratamentos e períodos (0, 33, 90, 120 e 150 dias) homogeneizados em homogeneizador Ultra Turrax (modelo IKA T-25) com 25 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 7,50% (Synth, Brasil), acrescido de EDTA (0,1%) (Sigma Aldrich, Estados Unidos) e propil galato (0,1%) (Sigma Aldrich, Estados Unidos) por 60 segundos. As soluções compostas pelas amostras e o TCA foram filtradas em filtro (Whatman 125mm, China). Após a filtragem, coletou-se 1 mL da solução de TCA com amostra, para o qual foi acrescido 1 mL da solução de TBA (ácido tiobarbitúrico) e posteriormente incubado em banho-maria a 100°C por 40 minutos. Após o resfriamento das soluções, foram realizadas leituras em espectrofotômetro (modelo Femto 600, Brasil) a absorvância 532nm.

4.2.4. Determinação de perfil de ácidos graxos

A determinação de perfil de ácidos graxos foi realizada ao final do período de 150 dias. Foram utilizados 100 mg de lipídeos de peixes por repetição de tratamento. A extração foi realizada de acordo com a metodologia de Bligh & Dyer (1959) seguido das etapas de saponificação, esterificação e obtenção dos perfis de ácidos graxos, por metodologia de A.O.A.C. (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 por cromatografia gasosa utilizando-se o cromatógrafo com detector de ionização de chama (GC-FID) e coluna capilar (SP2560) foi de 100 m x 0,25mm. O cromatógrafo foi programado para seguir estas condições: 100°C durante quatro minutos e a temperatura final atingida de 240°C, velocidade 3°C por minuto. A temperatura do injetor foi de 225°C, e do detector, de 285°C, e o gás de arraste foi o gás hélio.

4.2.5. Análise de composição química

A análise de caracterização de músculos de peixes, aos 150 dias de processamento, foi realizada pela metodologia descrita por A.O.A.C.(1990). Para cada repetição de tratamento, coletaram-se 15 gramas de amostras de músculo de peixes e triturados. Foram determinados teores de matéria seca (MS) e umidade (UM), por secagem em estufa, proteína bruta (PB), pelo método Semi Microkjedhal, matéria mineral (MM), pela utilização de uma mufla, de lipídeos (LIP), pelo método de Soxhlet.

4.2.6. Análises estatísticas

Os dados foram avaliados pelo teste de variância (ANOVA) (procedimento GLM), considerando os fatores tipos de óleo, adição de OG e tempo e suas interações, por meio de um software estatístico SAS (2002). Para valores medidos ao longo do tempo, realizou-se a análise de regressão (procedimento GLM). Diferenças significativas para BNVT, composição química, perfil de ácidos graxos e qualidade da carne no ponto 150 dias foram verificados pelo F-teste. As correlações foram calculadas pelo Quadrado de Pearson (procedimento CORR).

4.3 Resultados e Discussão

A utilização de óleos OS, OL e ORP e a adição de OG em dietas para lambaris causou efeitos sobre a qualidade da carne, ao longo dos 120 dias em

salga, além do perfil de ácidos graxos, e da composição química e a qualidade da carne de filés de peixes envasados, ao 150º dia.

Independente aos fatores, verificaram-se índices superiores de BNVT no ponto 0 de processamento (**Tabela 22**). A presença de água em processo de salga pode ter interferido na determinação de bases nitrogenadas voláteis uma vez que os valores de BNVT do produto final, conservado em óleo, foram superiores em relação aos demais pontos. A diminuição dos valores de BNVT, aos 33, 90 e 120 dias pode ter ocorrido em função do processamento, uma vez que ocorreu a saída de água e lixiviação destas bases.

A avaliação de diferentes métodos de salga e de fermentação em sardinhas (*Sardinella brasiliensis*) demonstrou o aumento de BNVT ao longo de 90 dias (POMBO et al., 2009). A utilização de condimentos, de sal e de processo de fermentação em peixes eviscerados, de mesma espécie marinha, gerou níveis inferiores de BNVT, demonstrando a eficiência destes componentes em conservar o produto até 60 dias (OETTERER et al., 2003).

Em filés de carpa (*Aristichthys nobilis*) submetidos a solução de baixa concentração de sal e sucrose, os valores de BNVT foram inferiores ao controle, justificada pelo efeito conservante do sal e da formação de substâncias orgânicas como o ácido acético neutralizando as bases. Durante 20 dias de estocagem a 4°C, esta variável apresentou oscilações de aumento e diminuição dos níveis (HONG et al., 2012).

O aumento de BNVT em *Cololabis saira* nos primeiros dias de estocagem pode ser justificada pela ocorrência de ações de enzimas autolíticas que degradam os nucleotídeos e aminoácidos livres e o seu aumento gradativo, pela ação microbiológica e autolítica de enzimas endógenas (SALLAM et al., 2007).

Tabela 22 Valores médios de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT), expressos em mg N. 100g⁻¹ de amostra.

Variáveis	0 dias	33 dias	90 dias	120 dias
BNVT	14,68 ^A	12,73 ^B	12,17 ^{BC}	11,57 ^C
Efeito tipos de óleo	Efeito OG	Efeito tempo	RSD	
0,24	0,05	<0,0001	1,53	

¹ Desvio padrão residual (RSD)

* Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

Em pH, houve o efeito da adição de OG e do tempo (0 a 120 dias) (**Tabela 23**), verificando-se tendência linear negativa, atingindo pH abaixo de 6,0; aos 120 dias de processamento (**Figura 19**).

Tabela 23 Valores médios de pH de peixes, durante 120 dias de processamento ($p < 0,05$).

Tratamentos	0 dias	33 dias	60 dias	90 dias	120 dias
Sem OG	6,67	6,27	6,18	6,06	5,68
Com OG	6,71	6,31	6,21	6,08	5,71
Efeito tipos de óleo(I)	Efeito OG(II)	Efeito tempo(III)	RSD ¹	Equação	R ²
0,15	0,046	<0,0001	0,05	6,62-0,0076x (sem OG)	0,94
				6,65-0,0078x (com OG)	0,94

. ¹ Desvio padrão residual (RSD)

Figura 19 Estimativas e tendências da variável pH apresentadas pelos tratamentos ao longo do tempo (0 a 120 dias).

A redução de pH observada neste trabalho (**Figura 19**) pode ser atribuída pela adição de açúcar, ácido benzoico e a presença de sal. A diminuição do pH (abaixo de 6,0), em sardinhas (*Sardinella brasiliensis*) processadas, ocorreu devido a presença de açúcar, substrato a formação de ácido láctico por microrganismos, preservando o produto através da diminuição na contagem de microrganismos viáveis (unidade formadoras de colônias (UFC)), ao final do período de processamento (OETTERER et al., 2003). O tempo de permanência

de bacalhau (*Gadus morhua*) em salmoura, independente da concentração, também provocou esta diminuição (STOKNES; WALDE; SYNNE, 2005).

A redução de valores de A_w demonstrou o efeito positivo da conservação por salga mista, evitando a contaminação e proliferação de microrganismos (KRISTINSSON, 2014). Não houve diferença entre os fatores e interação, exceto para o tempo (**Tabela 24**). O comportamento quadrático e estimativa dos valores estão apresentados na **Figura 20**.

Tabela 24 Valores médios de atividade de água (A_w) de peixes, de ponto 0 a 90 dias ($p < 0,05$).

Variáveis	0 dias	33 dias	60 dias	90 dias	
Aw	0,983	0,814	0,782	0,786	
Efeito Tipos de óleo(I)	OG(II)	Tempo(III)	RSD¹	Equação	R²
0,07	0,96	<0,0001	1,69	0,980-0,0062x+0,00004x²	0,98

¹ Desvio padrão residual (RSD)

Figura 20 Estimativas e tendências de A_w , ao longo do tempo (0 a 90 dias).

Neste presente trabalho, no período de 0 a 90 dias, verificou-se a diminuição de A_w , conforme o aumento dos teores de sal (**Tabela 25**), a redução do pH (**Tabela 24**) e da umidade (**Tabela 26**).

Assim como em lambaris, a salmoura e a fermentação, em sardinhas (*Sardinella brasiliensis*), reduziram a A_w , mantendo-se em torno de 0,730 (POMBO et al., 2009). Em anchovas (*Engraulis encrasicolus* (L.)), o processo de salga reduziu os valores de 0,998 para 0,818, mantendo este índice até 63

dias, justificada pela presença de sal e consequente redução no teor de umidade. No entanto, bactérias halotolerantes podem causar o aumento de BNVT, assim aumentar os valores de pH, mesmo em condições de A_w baixa (HERNÁNDEZ et al., 1999).

A relação de equilíbrio entre a umidade e A_w (isoterma de sorção), em sardinhas (*Sardinella aurita*) submetidas ao processo de salga, se altera com a adição de sal, causando mudanças físicas sobre as proteínas, diminuindo a pressão de vapor de água e a A_w , aproximando-se em 0,750 (A_w da solução de NaCl saturada) (BELLAGHA et al., 2005).

Neste processamento, os valores para lambari em salga não reduziram até a A_w de solução de NaCl saturada (0,750) e supõe-se que o sistema não tenha atingido o ponto de equilíbrio entre a umidade, A_w e quantidade de sal, como ocorrido em sardinhas e em bacalhau (ANDRÉS et al., 2005; BELLAGHA et al., 2005).

Os níveis de sal foram semelhantes entre os tratamentos, e verificou-se, ao longo do tempo, a sua incorporação por peixes submetidos a salga mista (**Tabela 25**). Para a UM, os fatores tipo de óleo e presença de OG interagiram-se, e houve a diminuição dos teores de água ao longo do tempo devido à incorporação do sal (**Tabela 26**).

Os peixes alimentados com dietas contendo OG apresentaram redução menos acentuada de UM (**Figuras 22,23 e 24**). Ao longo do tempo, a incorporação de sal por lambaris pode ter ocorrido pela interação deste com a água e a proteína contida no tecido muscular, verificando a rápida absorção entre 0 e 33 dias (**Figura 21**).

Em bacalhau (*Gadus morhua*), o sal afetou as propriedades da proteína que compõe o tecido muscular causando a sua precipitação. A sua entrada ocorreu por meio de mecanismos como a difusão ou osmose, envolvendo forças externas ou por capilaridade entre espaços intracelulares, afetados pela interação sal e proteína (BARAT et al., 2003).

Neste presente trabalho, em analogia aos resultados obtidos por fenômenos descritos por

Neste trabalho, em analogia aos resultados de obtidos por Boudhrioua et al., (2009) e Stoknes; Walde; Synnes (2005), supõe-se que a incorporação de sal foi afetada pelo congelamento prévio sofrido pelas amostras, independente

dos tratamentos. Alta concentração de sal (3,42 Molar) no presente sistema pode ter acarretado em desnaturação proteica do tecido muscular de lambaris e consequente perda de umidade para a solução externa, evidenciada no período entre 0 e 33 dias (**Figura 22**).

Em sardinhas (*Sardinella aurita*), o aumento da concentração de sal em salmoura provocou deslocamento rápido de água intracelular de músculos para a superfície do filé e em seguida para o meio externo. A incorporação de sal ocorreu de forma mais lenta do que a perda de UM (BOUDHRIOUA et al., 2009).

Tabela 25 Quantidades de sal de peixes processados, expressos em $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de amostra fresca ($p < 0,05$).

Variáveis	0 dias	33 dias	60 dias	90 dias	120 dias
Teor de Sal	0,75	16,23	17,71	17,75	18,13
Efeito tipos de óleo(I)	Efeito OG(II)	Efeito tempo(III)	RSD ¹	Equação	R ²
0,78	0,44	0,03	3,61	$2,34 + 0,42x - 0,0025x^2$	0,88

¹ Desvio padrão residual (RSD).

Figura 21 Estimativas e tendências para variável teor de sal, ao longo do tempo (0 a 120 dias)

Tabela 26 Valores médios de umidade (UM) de peixes, expressos em g.100g⁻¹ de amostra fresca, durante o processamento (p<0,05)

Tratamentos	0 dias	33 dias	60 dias	90 dias	120 dias	Equação	R ²
OS	74,48	58,88	55,82	57,5	55,97	72,21- 0,410x+0,0024x ²	0,86
OS/OG	73,27	59,22	55,68	56,47	56,27	71,75- 0,410x+0,0025x ²	0,86
OL	74,6	57,98	55,43	55,89	54,8	71,67- 0,407x+0,0024x ²	0,9
OL/OG	73,77	58,87	55,68	57,68	57,04	71,94- 0,359x+0,0021x ²	0,83
ORP	73,04	61,4	57,19	58,31	57,91	72,24- 0,433x+0,0025x ²	0,88
ORP/OG	74,76	60,1	56,87	57,05	58,01	73,22- 0,430x+0,0026x ²	0,89
Efeito tipos de óleo(I)	Efeito OG(II)	Efeito Tempo(III)	Efeito Tipos de óleo * OG	Efeito Tipos de óleo * Tempo	Efeito OG*Tempo	Efeito Tipo de óleo * OG* Tempo	RSD ¹
0,49 ^{ns}	<0,0001	<0,0001	0,03	0,18	0,15	0,95	1,25

¹ Desvio padrão residual (RSD).

Figura 22 Estimativas e tendências de UM, apresentados pelos tratamentos OS e OS/OG.

Figura 23 Estimativas e tendências de UM, apresentados pelos tratamentos OL e OL/OG.

Figura 24 Estimativas e tendências de UM, apresentados pelos tratamentos ORP e ORP/OG.

Ao longo do tempo, verificou-se o efeito de interação entre tipos de óleo e adição de OG para TBARS (**Tabela 27**). A adição combinada OS/OG e OL/OG demonstrou melhor estabilidade oxidativa em relação à OS e OL, como pode ser observada nas figuras **Figura 25 e 26**. Este fato pode ser explicado pela provável

presença de antioxidantes naturais como a sesamina/episamina, tocoferol (JENG; HOU, 2005) e as quantidades de PUFA apresentadas nos peixes previamente analisados e descritos na Tabela 6 (NG et al., 2013).

Entre 0 e 120 dias, verificou-se o comportamento quadrático negativo da variável TBARS para todos os tratamentos, exceto ORP (**Figura 27**). Os valores não excederam 1 mg.kg^{-1} de amostra fresca, limite para que peixes não apresentem odor e sabor indesejável (GOULAS; KONTOMINAS, 2005). O comportamento quadrático apresentado na formação de TBARS (composto secundário da oxidação lipídica), é relacionada à degradação deste e à formação de compostos orgânicos voláteis (SCHAICH, 2013). O processo de peroxidação lipídica em peixes processados ou em qualquer sistemas biológicos é complexo e envolve etapas de iniciação, propagação e terminação, em que suas reações não ocorrem de forma separada (BAO; OHSHIMA, 2014).

Esta mesma tendência apresentada pela variável TBARS foram verificadas em filés de anchovas marinadas (*Engraulis anchoita*) e em filés de seam bream (*Sparus aurata*) processadas em salga branda com óleo essencial de orégano (GOULAS; KONTOMINAS, 2007).

A forma e a intensidade com que ocorre a formação de TBARS depende em parte do tipo de lipídeos e o seu perfil de ácidos graxos contidos em tecidos de animais. Outros fatores como tipo de processamento; estocagem; a composição de dietas e alimentação; presença de pró ou antioxidantes são importantes para determinar a taxa de oxidação lipídica, bem como, os possíveis efeitos deletérios (LADIKOS; LOUGOVOIS, 1990).

As dietas com altas quantidades de ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) da família n-3 provocam o estresse oxidativo, gerando radicais livres e aumentam a peroxidação lipídica (KJÆR et al., 2008). Os lambaris alimentados com dietas ORP, independente da adição de OG, apresentaram valores inferiores de TBARS devido a sua composição e valores PUFA n-3 e PUFA n-6 reduzidos, em relação aos outros óleos.

A utilização conjunta de óleos de soja, de girassol e de arroz com os lignanos presentes em sementes e óleo de gergelim demonstraram estabilidade térmica, de estocagem e oxidativa frente a temperatura de 180°C , provando o óleo de gergelim ser efetivo na conservação de propriedades de óleos comestíveis (HEMALATHA; GHAFLOORUNISSA, 2007).

Logo, a diminuição na formação de compostos gerados pela oxidação, verificada por peixes alimentados por OS/OG e OL/OG em relação a OS e OL comprova a eficiência do óleo de gergelim, fornecido em dietas por 80 dias, em conservar os peixes ao longo dos 120 dias de processamento.

Tabela 27 Valores médios de substâncias reativas ao ácido tiobarbiturico (TBARS) de peixes, durante 120 dias de processamento, expressos em mg malonaldeído (MDA).kg⁻¹ amostra (p<0,05).

Tratamentos	0 dias	33 dias	60 dias	120 dias	Equação	P VALUE	R ²
OS	0,295	0,587	0,832	0,856	$0,2826+0,0124x-0,000063x^2$	0,0016	0,92
OS/OG	0,251	0,546	0,566	0,571	$0,2668+0,0087x-0,000052x^2$	0,0012	0,93
OL	0,306	0,758	0,806	0,865	$0,3298+0,0132x-0,000073x^2$	0,0018	0,92
OL/OG	0,295	0,682	0,756	0,664	$0,3066+0,0131x-0,000084x^2$	0,0005	0,95
ORP	0,297	0,499	0,572	0,437	0,43 (constante)	0,1271	0,56
ORP/OG	0,256	0,606	0,539	0,522	$0,2854+0,0089x-0,000059x^2$	0,0395	0,72
Efeito tipos de óleo(I)	Efeito OG(II)	Efeito tempo(III)	Efeito Tipos de óleo * OG	Efeito Tipos de óleo * Tempo	Efeito OG* tempo	Efeito Tipo de óleo * OG* Tempo	RSD
<0,0001	0,0029	<0,0001	0,005	0,013	0,11	0,14	0,073

¹ Desvio padrão residual (RSD).

Figura 25 Estimativas e tendências de TBARS, apresentados pelos tratamentos OS e OS/OG.

Figura 26 Estimativas e tendências de TBARS, apresentados pelos tratamentos OL e OL/OG.

Figura 27 Estimativas e tendências de TBARS, apresentados pelos tratamentos ORP e ORP/OG.

Foram calculadas as correlações entre as variáveis (**Tabela 28**), e observou-se que o sal teve influência sobre os resultados do processamento, independente dos tratamentos testados. Verificaram-se as correlações negativas entre esta variável com BNVT, pH, Aw e UM e positiva com TBARS.

Altos teores de sal utilizados em salmoura, provocam em geral, o aumento da ação de enzimas proteolíticas, causando a desnaturação proteica e diminuindo a capacidade retenção da água por parte do tecido muscular (GALLART-JORNET et al., 2007). A diminuição desta capacidade, acarretou na redução de UM dos peixes ao longo do tempo, mostrando que as tendências (FIGURA 21,22, 23 e 24) entre as duas variáveis foram inversamente proporcionais, apresentando alta correlação negativa (-0,84) (**Tabela 28**).

Assim como a UM, a redução de valores de BNVT ao longo do tempo pode ter sido provocada pela sua difusão para o meio externo concentrado de sal, facilitada pela sua propriedade hidrofílica e pela solubilização de proteínas (GALLART-JORNET et al., 2007).

O aumento da difusão de água para o meio externo e a entrada de sal nos tecidos, também provocou a diminuição de Aw. A manutenção de valores baixos

desta variável, inibe a proliferação de microrganismos ligados a deterioração de alimentos (HUSS; REILLY; KARIM BEN EMBAREK, 2000).

Assim como A_w , a redução de pH pode ter ocorrido pela crescente quantidade de sal absorvida pelos tecidos, demonstrando alta correlação negativa de -0,81. A adição de sal, assim como o açúcar e o ácido benzoico, provocaram a redução de pH (OETTERER et al., 2003). Além disso, o pH pode estar correlacionado com a atividade microbiana, e consequentemente, aos valores de BNVT (MAHMOUD et al., 2006).

A presença de sal também estimulou a peroxidação lipídica, durante o processamento, verificada pela correlação positiva de 0,81. A ação de cloretos pode estar relacionada a liberação de Fe^{2+} contidos em músculos de lambaris. Testes com sal e cloreto de ferro ($FeCl_2$) em carnes de peru demonstraram o aumento de peroxidação lipídica, demonstrando a ação de NaCl sobre o aumento de liberação de Fe^{2+} ligados a proteína, que se interagem com frações lipídicas (KANNER; HAREL; JAFFE, 1991).

A presença de proteínas heme em músculos de peixes provocam o aumento de oxidação proteica devido a presença de Fe^{2+} , formando radicais hidroxil, por meio de reações de Fenton, agindo sobre as enzimas proteolíticas como catepsinas, inativando-as, e sobre frações lipídicas, provocando a peroxidação lipídica (BARON, 2014).

Desta forma, as informações referentes às variáveis de qualidade da carne assim como as metodologias de conservação aplicadas, são uteis para a avaliação de qualidade e também de riscos em pescado *in natura* e processado (HUSS; REILLY; KARIM BEN EMBAREK, 2000)

Tabela 28 Coeficientes de correlação entre as variáveis de qualidade da carne de lambaris submetidos ao processo de salga, no período de 120 dias ($p < 0,05$).

Variáveis		Qualidade da Carne					
		BNVT	TBARS	pH	Aw	SAL	UM
Qualidade da Carne	BNVT	1,0	-0,57	0,62	0,67	-0,69	0,64
	TBARS	-0,57	1,0	-0,61	-0,89	0,81	-0,67
	pH	0,62	-0,61	1,0	0,94	-0,81	0,96
	Aw	0,67	-0,89	0,94	1,0	-0,99	0,99
	SAL	-0,68	0,81	-0,81	-0,99	1,0	-0,84
	UM	0,64	-0,67	0,96	0,99	-0,84	1,0

Os dados referentes à qualidade da carne, à composição química, ao perfil de ácidos graxos foram obtidos em filés de peixes envasados, aos 150 dias de experimento. Para o envasamento, foi utilizado óleo de soja a temperatura de 90°C, com intuito de conservação do produto à temperatura ambiente.

Ao analisar o produto final, verificou-se a eficácia da adição de OG em manter valores mais baixos de BNVT, para os peixes que receberam dietas contendo a combinação com óleos OL/OG e OS/OG (**Tabela 29**), podendo estar relacionada a sua capacidade em reduzir ações proteolíticas e microbiológicas (PATHAK et al., 2014). No entanto, os valores apresentaram-se semelhantes para os tratamentos ORP e ORP/OG.

A adição de OG manteve níveis mais baixos de MDA para peixes alimentados com OS/OG em relação à OS (**Tabela 29**). Para as variáveis pH, Aw e teor de sal, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos.

Em relação aos outros pontos de análise, foram verificados níveis superiores de BNVT e de pH, e inferiores de TBARS, Aw e teor de sal, independentemente dos tratamentos. A provável causa da alteração nos índices de correlação entre as variáveis de qualidade da carne (**Tabela 34**) pode ser relacionada à imersão dos filés em OS a temperatura de 90°C.

As diferentes formas de aplicação de aquecimento em peixes alteraram valores de TBARS, BNVT em sardinhas (*Sardinops pichardus*), na qual o uso de micro-ondas provocou valores inferiores em relação aos outros procedimentos

como fritura e fervura. Neste trabalho, comparando-se os pontos 120 e 150 dias, as tendências se assemelharam ao processo de fervura (FARAG, 2013).

O tratamento térmico aplicado a peixe espada (*Trichiurus lepturus*) enlatado, aumentou valores de BNVT assim como o TBARS, ao longos dos 5 meses de análise (CHANDRA; RAJU; VIJAY KUMAR REDDY, 2014). Embora não avaliados neste trabalho, a adição de óleo a 90°C causou a redução no TBARS, provavelmente pela difusão destes compostos para o meio ou a sua quebra para em seguida formar compostos terciários (AUBOURG; GALLARDO; MEDINA, 1997; RAGHAVAN; KRISTINSSON, 2014).

Tabela 29 Valores médios referentes a variáveis de qualidade da carne, aos 150 dias.

Qualidade da carne	Efeito Tipos de óleo				Efeito Inclusão de OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD1
pH	5,96	6,01	6,01	0,55	5,98	6,00	0,54	0,07
Aw ²	0,769	0,767	0,784	0,09	0,773	0,773	0,97	0,009
Sal (g.100g ⁻¹ de amostra fresca)	15,48	14,66	14,58	0,36	15,22	14,58	0,24	1,18
Efeito de interação Tipos de óleo * OG								
Qualidade da carne	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
BNVT ² (mg de N.100g ⁻¹ de amostra fresca)	19,64 ^A	15,60 ^B	18,74 ^A	15,79 ^B	18,34 ^A	19,19 ^A	0,02	2,11
TBARS ² (mg.kg ⁻¹ de amostra fresca)	0,620 ^B	0,440 ^A	0,570 ^A	0,570 ^A	0,480 ^A	0,517 ^A	<0,0001	0,04

¹ Desvio padrão residual (RSD).

* Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

² Aw= atividade de água, BNVT=bases nitrogenadas voláteis, TBARS=substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

A aplicação de calor assim como a salga em peixes provocou alterações na composição química e de perfil de ácidos graxos em peixes processados, e verificou-se efeitos da utilização de tipos diferentes de óleo, a inclusão de OG, e as suas interações (**Tabela 30 e 31**). Os resultados obtidos em lambaris podem estar relacionados às correlações negativas apresentadas pela variável LIP em relação a UM, MM e PB (**Tabela 33**).

Em geral, o tratamento térmico em peixes imersos em óleo causa o aumento de teor lipídico e a perda de umidade, e o sal gera o aumento de matéria mineral (RAGHAVAN; KRISTINSSON, 2014). A UM e o teor de sal apresentados por peixes de tratamento OS, em relação ao OS/OG, se mantiveram semelhantes ao ponto de 120 dias, e com absorção reduzida de óleo. No

entanto, houve a formação de ácido butírico em quantidade superior em peixes que OS em relação OS/OG. O mesmo não ocorreu para OL e OL/OG e ORP e ORP/OG (**Tabela 32**).

As diferenças na composição química entre os tratamentos devem-se à possível ação de enzimas como lipase, causando hidrolises de lipídeos e à formação de TBARS, causando alterações relacionadas a estrutura muscular, devido a desnaturação proteica (GHALY et al., 2010).

Em lambaris, a incorporação de lipídeos provenientes do óleo de soja afetou o perfil de ácidos graxos de peixes processados (**Tabela 31 e 32**), e o aumento de ácido linoleico e linolênico ocorreu para todos os tratamentos (**Tabela 31**) (MORADI et al., 2011). O perfil das dietas experimentais teve efeito nos perfis lipídicos de lambaris, que refletiram até os 150 dias de processamento.

Em atum (*Thunnus alalunga*), submetidos ao envase e esterilização, a alta temperatura aplicada modificou os perfis de ácidos graxos, verificando-se a redução de quantidades de PUFA n-3, DHA e EPA e o aumento de LA e oleico, demonstrando que trocas ocorrem entre os músculos e o azeite utilizado na conservação (AUBOURG; GALLARDO; MEDINA, 1997).

As correlações entre as variáveis de qualidade da carne, composição química e perfil de ácidos graxos, verificados aos 150 dias de processamento, demonstram a influência do perfil de ácidos graxos sobre a formação de TBARS (**Tabela 33**). Ácidos graxos com duplas ligações como os PUFAs da família n-3, em alta temperatura, são suscetíveis a oxidação lipídica, principalmente, localizadas na região do grupo carbonil (MEDINA et al., 1998).

Tabela 30 Valores médios de composição química de peixes processados (ponto 150 dias), expressos em g.100g⁻¹.

Composição Química (g.100g ⁻¹)	Efeito Tipos de óleo * OG						P value	RSD ¹
	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe			
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
UM ²	50,20 ^a	46,25 ^B	44,88 ^B	49,37 ^A	50,15 ^A	52,36 ^A	0,0002	2,11
PB ²	17,93 ^A	16,76 ^B	15,87 ^B	16,33 ^A	17,91 ^A	19,34 ^A	0,049	1,22
MM ²	18,05 ^A	14,35 ^B	14,63 ^B	17,71 ^A	16,65 ^A	18,98 ^B	<0,0001	1,49
LIP ²	12,71 ^B	16,72 ^A	16,94 ^A	15,58 ^B	12,01 ^B	15,67 ^A	<0,0001	1,39

¹ Desvio padrão residual (RSD).

* Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

² UM=umidade, PB=proteína bruta, MM=matéria mineral, LIP=lipídeos.

Tabela 31 Perfis de ácidos graxos de filés de peixes em salga, expressos em g.100g⁻¹ de ácidos graxos totais.

Ácidos graxos	Efeito Tipos de óleo				Efeito Inclusão de OG			
	OS	OL	ORP	P value	SEM	COM	P value	RSD ¹
C14:0	0,78	0,73	0,88	0,08	0,82	0,77	0,27	0,07
C18:0	10,37	10,62	10,68	0,67	10,3	10,81	0,14	0,51
c18:1n-9(trans)	0,05	0,11	0,09	0,17	0,07	0,09	0,33	0,03
C18:3n-6	0,19 ^A	0,08 ^B	0,15 ^A	0,04	0,13	0,14	0,73	0,04
C20:0	0,40	0,45	0,40	0,23	0,39	0,44	0,09	0,04
C20:1	0,55	0,6	0,72	0,15	0,61	0,64	0,61	0,11
C20:2n-6	0,29	0,21	0,29	0,48	0,29	0,24	0,44	0,10
C20:3n-6	0,7 ^A	0,44 ^B	0,74 ^A	0,003	0,6	0,66	0,17	0,07
C20:4n-6 (AA)	0,97 ^A	0,55 ^B	0,99 ^A	0,0007	0,8	0,88	0,17	0,09
C20:3n-3	0,02	0,1	0,03	0,14	0,08	0,02	0,06	0,05
C20:5n-3(EPA)	0,14	0,23	0,11	0,07	0,17	0,14	0,44	0,06
Efeito de interação Tipos de óleo * OG								
Ácidos graxos	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD ¹
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
C4:0	0,67 ^A	0,31 ^B	0,39 ^A	0,40 ^A	0,32 ^A	0,23 ^A	0,03	0,07
C16:0	21,37 ^A	23,13 ^A	21,94 ^A	21,36 ^A	23,66 ^A	21,63 ^B	0,004	0,48
C18:1-n9(cis)	28,02 ^B	31,42 ^A	29,34 ^A	29,33 ^A	31,37 ^A	29,64 ^B	0,004	0,65
C18:2n-6(LA)	27,50 ^A	22,30 ^B	23,99 ^A	25,90 ^A	21,63 ^B	24,73 ^A	0,002	0,76
C18:3n-3(LNA)	5,08 ^A	3,83 ^B	6,73 ^A	5,00 ^B	3,56 ^B	4,50 ^A	0,001	0,31
C22:6n-3(DHA)	1,53 ^A	1,04 ^A	1,46 ^A	1,13 ^A	0,95 ^B	1,59 ^A	0,03	0,22

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

²LA=ácido linoleico, LNA=ácido linolênico, AA=ácido araquidônico, EPA=ácido eicosapentaenoico, DHA=ácido docosahexaenoico.

Tabela 32 Somatório referentes aos ácidos graxos de filés de peixe em salga.

Efeito de Interação Tipos de óleo * OG								
Ácidos graxos	Óleo de Soja		Óleo de Linhaça		Óleo de Res. Peixe		P value	RSD1
	OS	OS/OG	OL	OL/OG	ORP	ORP/OG		
ΣSFA	33,50 ^A	36,36 ^A	34,42 ^A	34,93 ^A	36,95 ^A	34,51 ^A	0,01	0,86
ΣMUFA	29,91 ^B	34,20 ^A	31,68 ^A	31,49 ^A	34,76 ^A	32,14 ^B	0,003	0,81
ΣPUFA	36,53 ^A	29,43 ^B	33,89 ^A	33,57 ^A	28,28 ^B	33,34 ^A	0,0005	1,03
PUFA n -6	29,41 ^A	24,14 ^B	25,06 ^A	25,34 ^A	23,26 ^B	26,89 ^A	0,001	1,17
PUFA n-3	6,83 ^A	4,98 ^B	8,63 ^A	6,36 ^A	4,62 ^B	6,27 ^A	0,003	0,51
PUFA n-6/PUFAn-3	4,30 ^A	4,84 ^B	2,90 ^A	3,53 ^A	5,04 ^B	4,29 ^A	0,0002	0,08

¹ Desvio padrão residual (RSD)

*Médias com letras diferentes em mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

²SFA= ácidos graxos saturados, MUFA=ácidos graxos monoinsaturados, PUFA= ácidos graxos poli-insaturados, HUFA=ácidos graxos altamente insaturados.

Tabela 33 Coeficientes de correlação entre as variáveis de qualidade da carne, composição química e de perfil de ácidos graxos de filés de peixe, aos 150 dias (p<0,05).

Variáveis		Qualidade da Carne					Composição Química					Perfil de Ácidos graxos				
		TBARS	BNVT	Aw	pH	SAL	UM	PB	MM	LIP	SFA	MUFA	PUFA total	PUFA n-3	PUFA n-6	PUFA (n-6/n-3)
Qualidade da Carne	TBARS	1,00	ns	ns	-0,66	Ns	ns	ns	ns	ns	-0,79	-0,84	0,87	0,62	0,77	ns
	BNVT	ns	1,00	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Aw	ns	ns	1,00	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	pH	-0,66	ns	ns	1,00	-0,74	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	SAL	ns	ns	ns	-0,74	1,00	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Composição Química	UM	ns	ns	ns	ns	Ns	1,00	0,79	0,89	-0,77	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	PB	ns	ns	ns	ns	Ns	0,79	1,00	0,74	-0,89	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MM	ns	ns	ns	ns	Ns	0,89	0,74	1,00	-0,73	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	LIP	ns	ns	ns	ns	Ns	-0,77	-0,89	-0,73	1,00	ns	Ns	ns	ns	ns	ns
Perfil de Ácidos graxos	SFA	-0,79	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	-	-	-	-	-	-
	MUFA	-0,84	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	-	-	-	-	-	-
	PUFA total	0,86	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	-	-	-	-	-	-
	PUFA n-3	0,61	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	-	-	-	-	-	-
	PUFA n-6	0,77	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	-	-	-	-	-	-
	PUFA (n-6/n-3)	ns	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	-	-	-	-	-	-

4.4 Conclusão

A adição de OG em dietas conserva melhor o perfil lipídico e a qualidade da carne de lambaris submetidos a salga mista, protegendo o produto contra ações de peroxidação lipídica, mantendo os níveis mais baixos de bases nitrogenadas voláteis e assim, aumentando o tempo de prateleira dos filés. Por fim, a principal vantagem em incluir este óleo em dietas para lambaris é relacionada a sua capacidade em modular o perfil de ácidos graxos e manter esta alteração por período mais longo, evidenciada pelas quantidades de DHA encontradas após 150 dias de processamento.

4.5 Referências Bibliográficas

A.O.A.C. **Official methods of the analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 12. ed. washington: [s.n.].

A.O.A.C. **Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists**. 18. ed. washington: [s.n.].

ANDRÉS, A. et al. Salted cod manufacturing: Influence of salting procedure on process yield and product characteristics. **Journal of Food Engineering**, v. 69, n. 4, p. 467–471, 2005.

AUBOURG, S.; GALLARDO, J.; MEDINA, I. Changes in lipids during different sterilizing conditions in canning albacore (*Thunnus alalunga*) in oil. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 32, n. 5, p. 427–421, 1997.

BAO, H. N. D.; OHSHIMA, T. Strategies to minimize lipid oxidation of aquatic food products post harvest. In: KRISTINSSON, H. G. (Ed.). . **Antioxidants and functional components in Aquatic Foods**. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd., 2014. p. 95–125.

BARAT, J. M. et al. Cod salting manufacturing analysis. **Food Research International**, v. 36, n. 5, p. 447–453, 2003.

BARON, C. P. Protein oxidation in aquatic foods. In: KRISTINSSON, H. G. (Ed.). . **Antioxidants and functional components in Aquatic Foods**. 1. ed. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd., 2014. p. 23–42.

BELLAGHA, S. et al. Isohalic sorption isotherm of sardine (*Sardinella aurita*): Experimental determination and modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 68, n. 1, p. 105–111, 2005.

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.

BOUDHRIOUA, N. et al. Study of moisture and salt transfers during salting of sardine fillets. **Journal of Food Engineering**, v. 94, n. 1, p. 83–89, 2009.

CHANDRA, M. V.; RAJU, C. V.; VIJAY KUMAR REDDY, S. Influence of heat penetration on the quality of canned ribbon fish (*Trichiurus lepturus*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, n. 3, p. 807–814, 2014.

FARAG, M. M. A. Effect of Different Cooking Methods on Nucleic Acid Nitrogen Bases Content of Fresh Sardine Fish and Its Nutritive Value. v. 8, n. 2, p. 156–164, 2013.

FISCHER, W. Das Fürstentum Hohenlohe im Zeitalter der Aufklärung.-Tübingen: Mohr 1958. **Mohr**, v. 10, 1958.

GALLART-JORNET, L. et al. A comparative study of brine salting of Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 1, p. 261–270, 2007.

GHALY, A E. et al. Fish Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques : Review Department of Process Engineering and Applied Science , Dalhousie

University Halifax , Nova Scotia , Canada. **American Journal of Applied Sciences**, v. 7, n. 7, p. 859–877, 2010.

GOULAS, A. E.; KONTOMINAS, M. G. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): Biochemical and sensory attributes. **Food Chemistry**, v. 93, n. 3, p. 511–520, 2005.

GOULAS, A. E.; KONTOMINAS, M. G. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. **Food Chemistry**, v. 100, n. 1, p. 287–296, 2007.

HEMALATHA, S.; GHAFLOORUNISSA. Sesame lignans enhance the thermal stability of edible vegetable oils. **Food Chemistry**, v. 105, p. 1076–1085, 2007.

HERNÁNDEZ, M. M. et al. Total Volatile Basic Nitrogen and other Physico-chemical and Microbiological Characteristics as related to ripening of salted anchovies. **Journal of food science**, v. 64, n. 2, p. 344–347, 1999.

HONG, H. et al. Effects of low concentration of salt and sucrose on the quality of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets stored at 4 °C. **Food Chemistry**, v. 133, n. 1, p. 102–107, 2012.

HOWGATE, P. Determination of total volatile bases. **Aberdeen:Torry Research Station**, 1976.

HUSS, H. H.; REILLY, A.; KARIM BEN EMBAREK, P. Prevention and control of hazards in seafood. **Food Control**, v. 11, n. 2, p. 149–156, 2000.

JENG, K. C. G.; HOU, R. C. W. Sesamin and Sesamol : Nature ' s Therapeutic Lignans. **Enzyme**, p. 11–20, 2005.

KANNER, J.; HAREL, S.; JAFFE, R. Lipid peroxidation of muscle food as affected by sodium chloride. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, n. 6, p. 1017–1021, 1991.

KJÆR, M. A. et al. Dietary n-3 HUFA affects mitochondrial fatty acid β -oxidation capacity and susceptibility to oxidative stress in Atlantic salmon. **Lipids**, v. 43, p. 813–827, 2008.

LADIKOS, D.; LOUGOVOIS, V. Lipid oxidation in muscle foods: A review. **Food Chemistry**, v. 35, n. 4, p. 295–314, 1990.

LIE, Ø. Flesh quality – the role of nutrition. **Aquaculture Research**, v. 32, n. 1998, p. 341–348, 2001.

MAHMOUD, B. S. M. et al. Preservative effect of combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds on carp fillets during convectional air-drying. **International Journal of Food Microbiology**, v. 106, p. 331–337, 2006.

MEDINA, I. et al. Oxidation in fish lipids during thermal stress as studied by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 75, n. 2, p. 147–154, 1998.

MOHAMED, H. M. A.; AWATIF, I. I. The use of sesame oil unsaponifiable matter as a natural antioxidant. **Food Chemistry**, v. 62, n. 3, p. 269–276, 1998.

MORADI, Y. et al. A Review on Fish Lipid: Composition and Changes During Cooking Methods. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 20, n. 4, p. 379–390, 2011.

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.

OETTERER, M. et al. Monitoring the sardine (*Sardinella brasiliensis*) fermentation process to obtain anchovies. **Scientia Agricola**, v. 60, p. 511–517, 2003.

PATHAK, N. et al. Value addition in sesame: A perspective on bioactive components for enhancing utility and profitability. **Pharmacognosy Reviews**, v. 8, n. 16, p. 147, 2014.

POMBO, C. R. et al. Salted and fermented fish processes evaluation. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 2100–2105, 2009.

RAGHAVAN, S.; KRISTINSSON, H. G. Influence of processing on lipids and lipids oxidation in aquatic foods. In: KRISTINSSON, H. G. (Ed.). . **Antioxidants and functional components in aquatic foods**. [s.l: s.n.]. p. 43–94.

SALLAM, K. I. et al. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4 °C. **Food Chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1061–1070, 2007.

SCHAICH, K. M. Challenges in Elucidating Lipid Oxidation Mechanisms: When, Where, and How do Products Arise? In: **Lipid oxidation, challenges in food Systems**. [s.l: s.n.]. p. 1–52.

SPECTOR, A A. Essentiality of fatty acids. **Lipids**, v. 34 Suppl, p. S1–S3, 1999.

STOKNES, I. S.; WALDE, P. M.; SYNNESE, M. Proteolytic activity in cod (*Gadus morhua*) muscle during salt curing. **Food Research International**, v. 38, n. 6, p. 693–699, 2005.

TRATTNER, S. et al. Sesamin increases alpha-linolenic acid conversion to docosahexaenoic acid in atlantic salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes: Role of altered gene expression. **Lipids**, v. 43, p. 999–1008, 2008.

VALFRÉ, F.; CAPRINO, F.; TURCHINI, G. M. The health benefit of seafood. **Veterinary Research Communications**, v. 27, p. 507–512, 2003.

VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fatte Seifen Anstrichmittel**, v. 72, p. 1084–1087, 1970.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho visou verificar a influência da combinação de óleo de gergelim com fontes lipídicas com características distintas: o óleo de soja como fonte de ácidos graxos n-6, principalmente o ácido linoleico, o óleo de linhaça, como fonte de ácidos graxos n-3, principalmente o ácido linolênico e o óleo de resíduo de peixe de água doce, sendo uma fonte de ácido oleico e adicionalmente continha ácido araquidônico, ácido eicosapentaenoico e docosahexaenoico em pequenas quantidades.

O óleo de gergelim foi efetivo em estimular a formação de ácidos graxos altamente insaturados a partir do linolênico em animais que receberam pequenas quantidade deste ácido graxo da família n-3. A sua utilização pode ser justificada pela sua capacidade em conservar o produto processado, neste caso a salga mista, por verificar a redução de formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), intimamente ligada à peroxidação lipídica, de bases nitrogenadas voláteis (BNVT) e mantendo o perfil lipídico mais próximo dos peixes *in natura*.

Em peixes frescos, verificou-se que a adição de óleo de linhaça, independente da combinação de óleo de gergelim, demonstrou-se mais eficiente em melhorar o perfil de ácidos graxos de peixes frescos. No entanto, o mesmo não foi verificado em peixes processados em salga mista. Além disso, verificou-se a influência da composição lipídica das dietas sobre as características químicas (composição e perfil lipídico), alterações fisiológicas como a glicemia, reservas de glicogênio, não explicadas neste trabalho, estresse oxidativo e a qualidade da carne em geral.

Supõe-se que a adição de biotina e de ácido pantotênico, em quantidades superiores aos descritos no suplemento vitamínico e mineral, melhorou o desempenho animal, assim como, a qualidade dos lipídeos e a sua conservação.