UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JULIO GUERRA SEGURA

Influência da relação 18:3n3/18:2n6 de rações exclusivamente vegetais sobre o metabolismo de ácidos graxos de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Pirassununga

2016

JULIO GUERRA SEGURA

Influência da relação 18:3n3/18:2n6 de rações exclusivamente vegetais sobre o metabolismo de ácidos graxos de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

VERSÃO CORRIGIDA

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

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S456i Segura, Julio Guerra
Influência da relação 18:3n3/18:2n6 de rações
exclusivamente vegetais sobre o metabolismo de
ácidos graxos de juvenis de pacu (*Piaractus
mesopotamicus* / Julio Guerra Segura ; orientadora
Elisabete Maria Macedo Viegas. -- Pirassununga,
2016.
100 f.
Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia
de Alimentos, Universidade de São Paulo.
1. ácidos graxos essenciais. 2. óleo de linhaça.
3. in vivo. 4. alongamento. 5. desaturação. I.
Viegas, Elisabete Maria Macedo, orient. II. Título.

Dedico este trabalho ao meu Professor,
Juan Ortiz Tirado, em reconhecimento aos seus
oportunos conselhos.

AGRADECIMENTOS

Um agradecimento especial à Profa. Elisabete Maria Macedo Viegas pela orientação, pelo apoio e pela confiança demonstrada durante estes mais de seis anos como seu aluno de pós-graduação, assim como aos colegas e técnicos do Laboratório de Aquicultura da FZEA pela ajuda proporcionada para o desenvolvimento deste trabalho e pelas inúmeras experiências compartilhadas.

Meus agradecimentos ao programa de Pós-graduação em Zootecnia por me permitir formar parte do corpo discente da FZEA e à CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

Agradeço ao pessoal dos diversos Laboratórios do Campus Fernando Costa (USP Pirassununga), Laboratório de Aquicultura da ESALQ, CEPTA-ICMBio e a empresa Liofoods pela acessibilidade e pela seriedade com que colaboraram na execução deste projeto.

À Profa. Dra. Eliana Gertrudes de Macedo Lemos, e ao Dr. João Carlos Campanharo, do Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas da UNESP (Jaboticabal), pela gentil colaboração com as análises de cromatografia gasosa.

Meu eterno agradecimento aos meus pais Julio Guerra Betancourt e Martha Concepción Segura Rivadeneira, pelo exemplo de vida, pelo carinho e por ser meu suporte incondicional desde sempre.

Meu sincero e profundo agradecimento aos meus amigos e a todos quem de uma ou outra forma me brindaram seu apoio, dentro e fora do projeto de pesquisa.

“A realidade é uma questão de perspectiva”

Salman Rushdie, *Os filhos da meia noite*

RESUMO

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

Novas alternativas de produção de ácidos graxos altamente insaturados n-3 (HUFA n-3) são procuradas mediante várias abordagens experimentais na área aquícola considerando que a oferta atual de óleos marinhos é limitada. Como os ácidos graxos das séries n-3 e n-6 são metabolizados mediante os mesmos processos enzimáticos, o aporte de ácidos graxos essenciais da dieta poderia influenciar nos níveis de alongamento e desaturação em função da disponibilidade relativa destes compostos. O objetivo deste trabalho foi determinar a influência de diferentes relações 18:3n3/18:2n6 (ALA/LA – ácido linolênico/ácido linoleico) de rações exclusivamente vegetais, sobre o metabolismo de ácidos graxos de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Inicialmente 18 unidades experimentais (caixas com 16 peixes) foram alimentadas por 34 dias (C1) com uma dieta controle (tratamento T6) contendo óleo de tilápia como único ingrediente de origem animal. Posteriormente, foram formados aleatoriamente, 6 grupos com 3 unidades experimentais cada. Em uma segunda fase, durante 72 dias, 5 grupos receberam dietas, contendo óleo de linhaça e soja em substituição ao óleo de tilápia, com relações calculadas de ALA/LA de: 2,98 (T1); 1,68 (T2); 1,03 (T3); 0,61 (T4) e 0,35 (T5) e um grupo continuou com a dieta controle (T6). Nesta segunda fase, determinaram-se parâmetros de desempenho zootécnico e metabolismo de ácidos graxos em 3 intervalos de 24 dias (C2=58 dias, C3=82 dias e C4=106 dias). Os animais apresentaram crescimento e ganho de peso sem diferenças significativas entre os grupos e com aumento progressivo da proporção de gordura corporal total. A composição de ácidos graxos da dieta influenciou de forma proporcional sobre a composição da maioria de ácidos graxos de corpo inteiro. Os coeficientes de digestibilidade aparente aumentaram conforme o grau de instauração dos ácidos graxos e sua abundância relativa na dieta. A concentração de ácidos graxos polinsaturados nos lipídios de corpo inteiro não diferiu entre a maioria de tratamentos. O teor e aparecimento do ácido graxo 20:5n3 (EPA) e a atividade da enzima Δ -5 desaturase dos grupos T1, T2 e T3 foi menor que os demais tratamentos no período C4. O aparecimento de HUFA n-3 e n-6, atividade Δ -6 desaturase total e atividade Δ -6 desaturase sobre os ácidos graxos n-3 totais dos tratamentos T1 a T5 foram maiores que no T6 (controle). Estes resultados demonstram que o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é capaz de alongar e desaturar ácidos graxos essenciais para produzir ácidos graxos altamente insaturados (ácidos graxos com no mínimo 20 C e 3 ligações duplas - HUFA). Esta atividade é diminuída pela presença, mesmo em quantidades pequenas, de HUFA na dieta. Além disso, sugerem que relações ALA/LA da dieta, iguais ou maiores que 1, provocam diminuição na taxa de produção de 20:5n3, nos níveis testados neste estudo.

Palavras-chave: ácidos graxos essenciais, óleo de linhaça, *in vivo*, alongamento, desaturação.

ABSTRACT

GUERRA-SEGURA, J. **Influence of 18:3n3/18:2n6 ratio of exclusively vegetable diets on fatty acid metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. 2016. 100 p. Thesis (Doctoral) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

New alternatives for production of highly unsaturated fatty acids n-3 (n-3 HUFA) are sought by various experimental approaches in aquaculture, considering that the current supply of marine oils is limited. Since fatty acids of the n-3 and n-6 series are metabolized by the same enzyme processes, the supply of essential fatty acids of the diet could influence the elongation and desaturation levels, depending on the relative availability of these compounds. The objective of this study was to determine the influence of different 18:3n-3/18:2n-6 ratios (ALA/LA - linolenic acid/linoleic acid) of diets containing exclusively vegetable ingredients on the metabolism of fatty acids, of pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*). Initially, 18 experimental units (boxes with 16 animals) were fed a control diet (T6 treatment) containing tilapia oil as the sole animal ingredient for 34 days (C1). Later, 6 groups with 3 experimental units each were formed at random. In a second phase, during 72 days, five groups were fed diets containing linseed and soy oils to replace tilapia oil, with calculated ALA/LA ratios: 2.98 (T1); 1.68 (T2); 1.03 (T3); 0.61 (T4) and 0.35 (T5) and a group continued with the control diet (T6). In the second phase were determined growth performance parameters and fatty acid metabolism in three intervals of 24 days (C2 = 58 days = 82 days and C3 C4 = 106 days). The animals showed growth and weight gain with no significant differences between groups and progressive increase in the proportion of total body fat. The fatty acid composition of the diet influenced proportionally on the composition of the majority of whole body fatty acids. The apparent digestibility increased as the degree of unsaturation of fatty acids and their relative abundance in the diet. The concentration of polyunsaturated fatty acids in whole body lipids did not differ among the most treatments. The content and appearance of the fatty acid 20:5n3 (EPA) and the activity of Δ -5 desaturase enzyme of groups T1, T2 and T3 was lower than the other treatments in C4 period. The appearance of n-3 and n-6 HUFA, Δ 6-desaturase activity and the total Δ 6-desaturase activity on the total n-3 fatty acids from T1 to T5 treatments were higher than T6 (control). These results demonstrate that pacu juveniles are able to elongate and desaturate essential fatty acids to produce highly unsaturated fatty acids. This activity diminishes by the presence of even small amounts of HUFAs in the diet. Moreover, it suggests that ALA/LA ratio of diet, equal to, or greater than one, cause a decrease in the rate of production of 20:5n3, within the levels tested in this study.

Keywords: essential fatty acids, flaxseed oil, *in vivo*, elongation, desaturation

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulação porcentual das dietas experimentais	24
Tabela 2 – Relações e quocientes ALA/LA calculados das rações experimentais.	24
Tabela 3 - Composição química e energética das rações experimentais <i>in natura</i> (matéria úmida).	36
Tabela 4 - Composição de corpo inteiro dos peixes (%) <i>in natura</i>	37
Tabela 5 - Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA %) das rações experimentais.....	38
Tabela 6 - Comprimento e massa corporal, consumo de alimento e ganho de peso de juvenis de pacu, alimentados com as rações T1 a T6.	39
Tabela 7 – Conversão alimentar, taxa de crescimento específico, eficiência alimentar, taxa de deposição de gordura, índice de condição corporal de Fulton e taxa de eficiência proteica de juvenis de pacu, alimentados com as rações T1 a T6.	40
Tabela 8 - Análise estatística de composição centesimal de corpo inteiro, coeficientes de digestibilidade aparente e parâmetros de desempenho.....	42
Tabela 9 - Composição de ácidos graxos (mg de ácido graxo por grama de gordura) das rações experimentais.....	43
Tabela10 - Composição de ácidos graxos (mg de ácido graxo por grama de gordura) de corpo inteiro da etapa C1 (aclimação) nos dias 1 e 34 (animais alimentados com o tratamento controle – T6)	44
Tabela 11 - Composição de ácidos graxos (mg de ácido graxo por grama de gordura) de corpo inteiro da etapa C2, dia 58 (primeira etapa com dietas experimentais T1 a T6).....	45
Tabela 12 - Composição de ácidos graxos (mg de ácido graxo por grama de gordura) de corpo inteiro da etapa C3, dia 82 (segunda etapa com dietas experimentais T1 a T6)	46
Tabela 13 - Composição de ácidos graxos (mg de ácido graxo por grama de gordura) de corpo inteiro da etapa C4, dia 106 (terceira etapa com dietas experimentais T1 a T6).....	47
Tabela 14 - Análise estatística de composição de ácidos graxos de corpo inteiro de pacu.....	49

Tabela 15 - Consumo (micromol por grama por dia) de ácidos graxos individuais no período C1 (aclimatação, 34 dias), de juvenis de pacu alimentados com a ração T6	51
Tabela 16 - Consumo (micromol por grama por dia) de ácidos graxos individuais no período C2 (58 dias) de juvenis de pacu.	52
Tabela 17 - Consumo (micromol por grama por dia) de ácidos graxos individuais no período C3 (82 dias) de juvenis de pacu.	53
Tabela 18 - Consumo (micromol por grama por dia) de ácidos graxos individuais no período C4 (106 dias) de juvenis de pacu.	54
Tabela 19 - Análise estatística de consumo de ácidos graxos individuais de juvenis de pacu, alimentados com dietas experimentais nos períodos C2 (58 dias), C3 (82 dias) e C4 (106 dias).	56
Tabela 20 – Coeficientes de digestibilidade aparente (%) dos ácidos graxos presentes na dieta T6, do período C1 (aclimatação, 34 dias)	57
Tabela 21 - Coeficientes de digestibilidade aparente (%) dos ácidos graxos presentes nas dietas experimentais, do período C2 (58 dias).....	58
Tabela 22 - Coeficientes de digestibilidade aparente (%) dos ácidos graxos presentes nas dietas experimentais, do período C3 (82 dias).....	59
Tabela 23 - Coeficientes de digestibilidade aparente (%) dos ácidos graxos presentes nas dietas experimentais, do período C4 (106 dias).....	60
Tabela 24 - Análise estatística de coeficientes de digestibilidade aparente (%) dos ácidos graxos presentes nas rações experimentais de juvenis de pacu, dos períodos C2 (58 dias), C3 (82 dias) e C4 (106 dias).	62
Tabela 25 - Aparecimento ou desaparecimento de ácidos graxos no C1 (aclimatação, 34 dias) expresso em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia.	63
Tabela 26 - Aparecimento ou desaparecimento de ácidos graxos no C2 (58 dias) expresso em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia.	64
Tabela 27 - Aparecimento ou desaparecimento de ácidos graxos no C3 (82 dias) expresso em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia.	65

Tabela 28 - Aparecimento ou desaparecimento de ácidos graxos no C4 (106 dias) expresso em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia.	66
Tabela 29. Análise estatística de aparecimento ou desaparecimento de ácidos graxos	68
Tabela 30 - Produção de ácidos graxos <i>ex novo</i> , β -oxidação, atividade de alongase, Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturases totais no período C1 (34 dias) expressas em micromols por grama de peixe por dia	69
Tabela 31 - Produção de ácidos graxos <i>ex novo</i> , β -oxidação, atividade de alongase, Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturases totais no período C2 (58 dias) expressas em micromols por grama de peixe por dia.	69
Tabela 32 - Produção de ácidos graxos <i>ex novo</i> , β -oxidação, atividade de alongase, Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturases totais no período C3 (82 dias) expressas em micromols por grama de peixe por dia.	70
Tabela 33 - Produção de ácidos graxos <i>ex novo</i> , β -oxidação, atividade de alongase, Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturases totais no período C4 (106 dias) expressas em micromols por grama de peixe por dia.	70
Tabela 34 - Análise estatística de atividade enzimática total (produção de ácidos graxos <i>ex novo</i> , β -oxidação, atividade de alongase, Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturases totais)	71
Tabela 35 - Oxidação de ácidos graxos individuais no período C1 (aclimação, 34 dias) expressa como micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia	73
Tabela 36 - Oxidação de ácidos graxos individuais no período C2 (58 dias) expressa como micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia	74
Tabela 37 - Oxidação de ácidos graxos individuais no período C3 (82 dias) expressa como micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia	75
Tabela 38 - Oxidação de ácidos graxos individuais no período C4 (106 dias) expressa como micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia	76
Tabela 39 - Análise estatística de oxidação de ácidos graxos individuais	78
Tabela 40 - Atividade enzimática individual no período C1 (aclimação, 34 dias) expressa como micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia.	79
Tabela 41 - Atividade enzimática individual no período C2 (58 dias) expressa em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia	80

Tabela 42 - Atividade enzimática individual no período C3 (82 dias) expressa em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia	81
Tabela 43 - Atividade enzimática individual no período C4 (106 dias) expressa em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia	82
Tabela 44 - Análise estatística de atividade enzimática individual de alongamento, Δ -9, Δ -5 e Δ -6 desaturação.	84

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1. Ácidos graxos essenciais.....	16
2.2. Importância dos n-6 e n-3 na dieta moderna.....	16
2.3. Perspectivas da pesquisa em HUFA n-3 dentro do Panorama da Aquicultura Brasileira.....	17
2.4. Generalidades sobre alongamento e desaturação de ácidos graxos em vertebrados.....	17
2.5. Determinação <i>in vivo</i> do metabolismo de ácidos graxos em peixes.....	18
2.6. Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i> Holmberg, 1887).....	21
3. METODOLOGIA.....	23
3.1. Formulação das dietas experimentais.....	23
3.2. Condições experimentais.....	25
3.3. Coletas de material biológico.....	25
3.4. Análises químicas.....	26
3.4.1. Composição química de rações, corpo inteiro e fezes.....	26
3.4.1.1. Matéria seca.....	26
3.4.1.2. Matéria mineral.....	27
3.4.1.3. Proteína total.....	27
3.4.1.4. Energia bruta.....	28
3.4.1.5 Lipídios totais.....	28
3.4.1.6. Liofilização de peixes inteiros e fezes.....	29
3.5. Determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente.....	29
3.6. Identificação e quantificação de ácidos graxos de corpo inteiro e fezes.....	31
3.7. Determinação <i>in vivo</i> do metabolismo de ácidos graxos.....	32

3.7.1. Aparecimento/desaparecimento dos ácidos graxos	32
3.7.2. Balanço de massas de ácidos graxos	33
3.7.3. Atividade enzimática aparente.....	35
3.7.3.1. β -Oxidação de ácidos graxos	35
3.7.3.2. Atividade aparente de alongases, Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturases	35
3.8. Análise estatística	35
4. RESULTADOS	36
4.1. Composição química	36
4.1.1. Composição química das rações experimentais	36
4.1.2. Composição de corpo inteiro.....	37
4.1.3. Coeficientes de digestibilidade aparente das rações experimentais	37
4.2. Parâmetros de desempenho	38
4.3. Composição de ácidos graxos	41
4.4. Consumo líquido de ácidos graxos.....	50
4.5. Coeficientes de digestibilidade aparente de ácidos graxos (CDA AG).....	55
4.6. Aparecimento ou desaparecimento de ácidos graxos	63
4.7. Atividade enzimática total	69
4.8. Oxidação de ácidos graxos individuais	72
4.9 Atividade enzimática individual.....	77
5. DISCUSSÃO	86
6. CONCLUSÕES	92
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	93
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a *Food and Agriculture Organization for the United Nations* (FAO) (2014), a partir da década de 90, o rendimento máximo sustentável da pesca marinha global foi atingido e a partir dessa data o volume anual de captura se estabilizou ao redor de 90 milhões de toneladas. No entanto, a demanda crescente de alimentos impulsionou no mesmo período, um incremento da produção aquícola (espécies aquáticas cultivadas), ao redor de 70 milhões de toneladas, e continua em expansão. Entre os principais ingredientes utilizados para elaboração de rações para aquicultura, se encontram justamente a farinha e óleo de peixes marinhos, mas a limitada disponibilidade de espécies pelágicas, utilizadas como matéria prima para a produção industrial destes ingredientes, reduz sua oferta, o qual em contraste com a ampla demanda por parte do setor aquícola, ocasiona um incremento nos custos, gerando a necessidade de novas fontes proteicas e lipídicas de boa qualidade, que permitam produzir rações aquícolas eficientes do ponto de vista produtivo, económico e ambiental (CYRINO et al., 2010). A substituição parcial ou total da farinha e óleo de peixes marinhos nas rações aquícolas, por fontes proteicas e lipídicas alternativas constitui uma área de grande importância para a aquicultura, que se fundamenta no estudo minucioso das exigências nutricionais das espécies aquícolas e da composição dos alimentos não convencionais. O uso de aminoácidos sintéticos permite, em termos gerais, corrigir o perfil de aminoácidos das dietas, mas no caso dos lipídios, foco do presente estudo, o panorama é distinto.

A forma mais simples de conseguir que a carne de peixe apresente perfis de ácidos graxos ricos em HUFA n3 [ácidos graxos altamente insaturados - ácidos graxos com mínimo 20 C e 3 ligações duplas de acordo com Sargent et al. (2002)], é proporcionando aos animais, rações contendo estes compostos em quantidades consideráveis, o que tradicionalmente pode ser conseguido pela incorporação de óleos marinhos. No entanto, algumas pesquisas demonstraram a eficácia da modificação do metabolismo de ácidos graxos dos peixes de criação com a intenção de torná-los mais eficientes no alongamento e desaturação dos ácidos graxos essenciais, de origem vegetal e terrestre, produzindo ácidos graxos de interesse como EPA (ácido eicosapentaenoico - 20:5n3) e DHA (ácido docosahexaenoico - 22:6n3).

Os ácidos graxos essenciais: ALA (ácido linolênico – 18:3n3) e LA (ácido linoleico – 18:2n6) são alongados e desaturados através dos mesmos processos enzimáticos, por este motivo,

determinar se a proporção entre estes dois compostos interfere na eficiência com que os animais processam os subsequentes ácidos graxos das séries $n3$ ou $n6$ permitiria aumentar o nosso entendimento sobre o metabolismo lipídico de espécies aquícolas e avançar na determinação de estratégias de nutrição que potencializem a capacidade de produção de HUFA $n3$ nos alimentos provenientes da aquicultura.

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é uma das espécies brasileiras mais estudadas e cultivadas e apresenta bom desempenho zootécnico em sistemas artificiais de criação comercial. Seu hábito alimentar onívoro possibilita o uso de dietas experimentais com utilização exclusiva de ingredientes de origem vegetal, as quais contêm naturalmente os ácidos graxos $18:3n-3$ e $18:2n-6$ como únicos ácidos graxos poliinsaturados (AGPI). Desta forma, aplicando métodos de determinação do metabolismo de ácidos graxos como os descritos por Turchini e Francis (2009) e Turchini, Francis e De Silva (2007), todo incremento detectado dos níveis corporais de HUFA ocorreria devido à atividade de alongamento e desaturação dos ácidos graxos essenciais. Se houvesse relação diretamente proporcional entre o teor de $18:3n3$ ou $18:2n6$ na dieta e os teores dos demais ácidos graxos dos grupos $n3$ ou $n6$ (respectivamente) no corpo dos peixes, a relação entre estes dois ácidos graxos na ração, influenciaria proporcionalmente os teores corporais de ácidos graxos polinsaturados. Ou seja, se esperaria que ao oferecer maiores níveis de $18:3n3$ na ração, a presença de ácidos graxos $n3$ no corpo dos animais seja maior que a presença de ácidos graxos $n6$ e vice-versa.

O presente trabalho teve como objetivo determinar a influência de diferentes relações $18:3n3/18:2n6$ de rações exclusivamente vegetais, sobre o metabolismo de ácidos graxos de juvenis de pacu (*P. mesopotamicus*).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Ácidos graxos essenciais

Os vertebrados possuem a capacidade de realizar a síntese *ex novo* de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, mas são incapazes de sintetizar o ácido linoleico: 18:2n-6 (LA) precursor da família n-6 e o ácido α -linolênico: 18:3n-3 (ALA) precursor da família n-3, a partir do ácido oleico: 18:1n-9 (OA) devido à ausência das enzimas Δ 12 e Δ 15 desaturase (GARCIA et al. 2012). Apenas plantas terrestres, fitoplâncton marinho e alguns protozoários e insetos, possuem a enzima Δ 12-desaturase cuja função é inserir uma dupla ligação *cis* no ácido graxo 18:1n-9 para formar o 18:2n-6, e a Δ -15 desaturase a qual insere mais uma dupla ligação para formar 18:3n-3 (BROWN, 2005). Por este motivo LA e ALA são caracterizados como ácidos graxos essenciais (EFA) para todos os vertebrados já que são obtidos exclusivamente dos alimentos (GARCIA et al., 2012). Os ácidos graxos essenciais podem ser desaturados e alongados para formar os ácidos graxos araquidônico: 20:4n-6 (AA), eicosapentaenoico: 20:5n-3 (EPA) e docosahexaenoico: 22:6n-3 (DHA), pertencentes ao grupo dos ácidos graxos altamente insaturados (HUFA), os quais possuem no mínimo 20 átomos de C e 3 duplas ligações (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002). O grau em que um animal tem a capacidade de converter os precursores LA e ALA em AA, EPA e DHA depende da atividade relativa das enzimas Δ -5 e Δ -6 desaturase nos tecidos, que ao mesmo tempo depende da disponibilidade de AA, EPA ou DHA na sua dieta natural (TOCHER, 2003). As espécies de peixes de água doce e peixes diádromos possuem a capacidade de produzir HUFAs a partir de EFAs, enquanto que os peixes marinhos tem uma estrita exigência nutricional dos HUFA EPA, DHA e AA (TOCHER, 2010).

2.2. Importância dos n-6 e n-3 na dieta moderna

AA, EPA e DHA são os precursores de um grupo de substâncias de ação semelhante à dos hormônios denominadas eicosanoides (GARCIA et al., 2012; LANDS, 2005). Os eicosanoides são mediadores da resposta inflamatória do sistema imune. A intensidade e duração com que agem variam de acordo com a família (n-6 ou n-3) à qual pertence seu precursor (LANDS, 2005). Os eicosanoides derivados do AA (n-6) são considerados pró-inflamatórios, enquanto que os derivados do EPA e DHA (n-3) produzem efeito menos inflamatório ou anti-inflamatório (MOLENDI-COSTE; LEGRY; LECLERCQ, 2011). O excesso de n-6 (LA, AA), característico da

dieta moderna e o baixo consumo de n-3 (ALA, EPA, DHA), produz o aumento dos níveis tissulares de araquidonato livre, o que incrementa de forma linear a síntese de eicosanoides derivados da família n-6, dando origem a uma série de distúrbios no sistema cardiovascular e/ou à amplificação dos sintomas de várias desordens autoimunes de alta prevalência na sociedade atual (LANDS, 2005). Segundo Simopoulos (2002) a relação n-6/n-3 na dieta se encontra em níveis de até 16,7/1 e idealmente deveria ser 1/1. A capacidade do organismo humano para produzir EPA e DHA a partir do ALA é limitada e a *International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids* (ISSFAL, 2004) recomenda o consumo direto destes HUFA, com destaque para o DHA (Koletzko et al., 2007; Das, 2008; Guesnet & Alessandri, 2011). A melhor opção de consumo de HUFA n-3 é por meio da carne de peixe em níveis adequados (Sidhu, 2003; Molendi-Coste et al., 2011).

2.3. Perspectivas da pesquisa em HUFA n-3 dentro do Panorama da Aquicultura Brasileira

Ao considerar a tendência ao incremento da produção aquícola continental no país, é previsível que o suprimento da demanda de peixe atual e futura venha em grande proporção da aquicultura (MPA, 2009). O consumo médio anual de peixe per capita entre 2007 e 2009 no Brasil, situou-se entre 5 e 10 kg/ano, inferior à média mundial, e inferior ao consumo médio de Ásia, Oceania, América do Norte e Europa que se situam entre 20,7 e 24,6 kg/ano (FAO, 2014). Isto permite ter uma noção do potencial de expansão do setor aquícultor brasileiro.

A capacidade dos peixes de água doce de produzir HUFAs a partir de LA e ALA, torna-se uma vantagem considerando as limitações atuais na oferta de óleos marinhos para elaboração de dietas aquícolas (FAO, 2014), e a necessidade de incrementar o consumo de HUFA n-3 na população (*ver item 1.2*). Isto nos conduz à procura de espécies aquícolas com capacidade de metabolizar ALA, de tal forma que sua carne apresente EPA e DHA em teores suficientes para serem consideradas espécies fornecedoras de HUFA n-3. O desenvolvimento de métodos e estratégias que potencializem esta característica enquadra-se dentro do panorama da aquicultura brasileira (OSTRENSKY; BORGHETTI; SOTO, 2008).

2.4. Generalidades sobre alongamento e desaturação de ácidos graxos em vertebrados

Em função da origem e a capacidade de produção dos vertebrados, os ácidos graxos podem ser classificados em três grupos: a) aqueles que podem ser inteiramente produzidos *ex novo*, b) os ácidos graxos essenciais e c) os ácidos graxos polinsaturados “não essenciais”.

O primeiro grupo, corresponde aos ácidos graxos saturados e monoinsaturados. Por ação do complexo ácido graxo sintase, são adicionados de forma sucessiva grupos de dois carbonos na posição *alpha* da cadeia carbonada de forma sequencial a partir da Malonil-CoA e Acetil-CoA, originando cadeias carbonadas de 4 até 24 átomos de C. Nos peixes se observam geralmente cadeias de entre 12 e 20 C. Na ausência de duplas ligações, estes ácidos graxos são denominados saturados. A enzima Δ -9 desaturase pode inserir uma dupla ligação na 9ª posição (considerando o C do grupo carboxila como a 1ª posição). Estes ácidos graxos são conhecidos como saturados (sem duplas ligações) e monoinsaturados (com uma dupla ligação).

O segundo grupo corresponde aos ácidos graxos essenciais: 18:2n6 e 18:3n3, descritos no item 2.1, cuja fonte exclusiva são os alimentos.

O terceiro grupo, corresponde aos ácidos graxos que se formariam a partir dos essenciais, provenientes dos alimentos, e que compõem duas famílias: os n-6 (ômega-6) e os n-3 (ômega-3) conforme se originem do 18:2n6 ou 18:3n3 respectivamente. A denominação n-6 ou n-3 se refere à presença de uma dupla ligação no sexto ou no terceiro C, contado a partir do carbono “ômega”, ou seja, do último C da cadeia carbonada, ou grupo metila terminal. Os ácidos graxos provenientes de cada uma destas famílias são precursores de substâncias com propriedades de interesse para a saúde, os quais serão abordados posteriormente. Estas famílias se formam pela ação combinada de reações de alongamento (adição de 2 átomos de C) e desaturação. As reações de desaturação podem ser efetuadas pelas enzimas Δ -6 desaturase ou Δ -5 desaturase (TOCHER, 2003).

Na Figura 1 se apresenta um esquema das sequencias de reações de alongamento e desaturação de ácidos graxos de acordo com esta classificação, que foram utilizadas nos cálculos de metabolismo de ácidos graxos feitos ao longo deste trabalho.

2.5. Determinação *in vivo* do metabolismo de ácidos graxos em peixes

Turchini et al. (2007), com base no trabalho de Cunnane & Anderson (1997) em ratos, propuseram um método simplificado de determinação *in vivo* do metabolismo de ácidos graxos dos peixes. Este método apresenta várias vantagens em comparação com outros como os descritos por Tocher et al. (1989); Buzzi et al. (1996) e Tocher & Ghioni (1999) principalmente no que se refere à possibilidade de determinar a capacidade de desaturação e alongamento de ácidos graxos essenciais (EFA) de um organismo completo e não de um tecido em particular.

Figura 1. Sequências de reações de alongamento e desaturação de ácidos graxos em peixes. Adaptado de Turchini e Francis (2009). Δ -9, Δ -6 e Δ -5 se refere à ação das enzimas Δ -9 desaturase, Δ -6 desaturase e Δ -5 desaturase; Ox. se refere a um processo de oxidação que resulta na perda de 2 átomos de C.

Utilizando este método, Francis et al. (2006), determinaram que no *Murray cod* (*Maccullochella peelii peelii*), um peixe carnívoro australiano de água doce tropical, a enzima Δ -6 desaturase é mais ativa que a Δ -5 desaturase, e o ALA é preferencialmente utilizado para a produção de energia em comparação com LA e AO. Isto, segundo os autores, contrasta com outras espécies nas quais LA e AO são mais oxidados que ALA, mas em semelhança com o salmão do Atlântico (*Salmo salar*), observaram maior formação de produtos finais inertes (ácidos graxos 22:3n-3; 22:2n-6) a partir de ALA em comparação com LA. Francis et al. (2006) determinaram também que alta inclusão de ALA incrementa o acúmulo de AG saturados, devido a uma possível redução da atividade da enzima *Stearoyl*-CoA desaturase (SCD), responsável pela produção de OA, pela desaturação do ácido graxo 18:0. Francis et al., (2009) determinaram que a atividade da enzima Δ -6 desaturase varia em função da somatória total de AGPI C₁₈ da dieta de *Murray cod*, sendo que em altas concentrações, esta enzima favorece em grande proporção seu efeito sobre o ALA em comparação com o efeito sobre LA. Com base nesta determinação, Senadheera et al. (2010) avaliaram na mesma espécie o efeito de relações crescentes de ALA/LA (0,3 a 2,9) na fração lipídica de rações com 15% de gordura e níveis constantes de ALA+LA de 51% e observaram que quando a inclusão de ALA+LA é alta e constante, a atividade da Δ -6 desaturase aumenta em favor do ALA, em resposta ao incremento da relação ALA/LA da dieta. Este fato predispõe em maior grau os animais que receberam a maior relação ALA/LA a depositar EPA+DHA, observada numa segunda fase do experimento em que as rações de todos os tratamentos foram substituídas por uma única dieta de finalização com inclusão de óleo de peixe.

Outras pesquisas focadas nas variações do metabolismo de AGPI influenciadas pela abundância relativa de ALA, LA e HUFA foram realizadas utilizando o método de Turchini et al. (2007), em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) por Turchini & Francis (2009) e Thanuthong et al., (2011a) e em tilápia híbrida vermelha (*Oreochromis sp.*) por Teoh et al. (2011).

Senadheera et al. (2012a) estudaram o efeito da suplementação com sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e Senadheera et al. (2012b) estudaram o efeito da suplementação com piridoxina (vitamina B6), no metabolismo de AGPI de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Os autores relataram que o efeito no incremento da atividade enzimática induzida pela suplementação tanto de piridoxina quanto sulfato ferroso na dieta de truta arco-íris não é suficiente para compensar a

falta de HUFA na dieta, no entanto, permitem ter uma noção sobre possíveis estratégias que maximizariam a atividade das enzimas envolvidas no metabolismo dos AGPI n-3.

2.6. Pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887)

O pacu, *Piaractus mesopotamicus*, pertence à superordem Ostariophysi, ordem Characiformes, família Characidae e subfamília Myleinae. É encontrado nas Bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai e sua maior distribuição ocorre nas planícies alagadas da região Centro-Oeste, no Pantanal do Mato Grosso do Sul. É um peixe onívoro que se alimenta principalmente de folhas, caules, flores, frutos e sementes, e havendo necessidade e oportunidade, de insetos, aracnídeos, moluscos e peixes. Os reprodutores realizam deslocamento migratório e a desova ocorre principalmente no mês de novembro (estação chuvosa). Em cativeiro esta espécie se reproduz unicamente por estímulo hormonal a partir dos três e até os oito anos de idade, entre os meses de outubro a março, com pico entre novembro a janeiro, época de maiores temperaturas e pluviosidade (BALDISSEROTO; GOMES, 2005). É uma espécie tropical com boas características para a criação em cativeiro devido à sua rusticidade, adaptabilidade e capacidade de ganho de peso (NUNES, 2006).

Segundo Abimorad et al. (2007), o melhor balanceamento proteína digestível/lipídios/carboidratos para juvenis de pacu ($11,47 \pm 0,43$ g) é de 230, 40 e 460 g/kg de ração respectivamente. Bicudo et al., (2010) determinaram que a exigência proteica de juvenis de pacu ($15,5 \pm 0,4$ g) encontra-se entre 270 e 280 g/kg de alimento, de forma similar (segundo os autores) a outros Characiformes. As médias dos coeficientes de digestibilidade aparente em *P. mesopotamicus* para aminoácidos essenciais de matérias primas como glúten de milho e farelo de soja são de 91,5% e 91,2% respectivamente, e para aminoácidos não essenciais de 92,0% e 91,8% respectivamente (Abimorad et al., 2008). O farelo de glúten de milho apresenta deficiência de lisina e arginina e excesso de leucina, ácido glutâmico e fenilalanina, enquanto que o farelo de soja apresenta maior digestibilidade de aminoácidos essenciais, sendo considerado como a fonte de proteína de melhor qualidade para esta espécie (ABIMORAD; SQUASSONI; CARNEIRO, 2008). A exigência de lisina em juvenis de pacu ($4,3 \pm 0,03$ g) é de 1,4 a 1,5% de matéria seca na dieta ou

de 4,4 a 4,7% da proteína; o teor de proteína de corpo inteiro aumenta de forma linear e o teor de gordura diminui com o incremento da lisina na dieta (BICUDO; SADO; CYRINO, 2009).

A dieta é o principal fator que determina o perfil de ácidos graxos dos animais, incluindo o pacu, e observa-se que o teor de HUFA n-3 entre indivíduos selvagens e de criação varia amplamente, como foi observado no experimento de Tanamati et al. (2009) no qual o perfil lipídico de pacus do ambiente natural apresentou teores de EPA e DHA de 0,7% e 1,9% respectivamente (% de AG totais) e em pacus de cativeiro, teores de 0,1% e 0,2% respectivamente, sendo evidente também um incremento típico da relação n-6/n-3, que foi de 1,2 nos peixes selvagens e 9,8 nos peixes de cativeiro, devido à abundância de ácidos graxos n-6 na ração, na qual determinaram-se teores de LA, AA e ALA de 25,3%, 0,6% e 1,8% respectivamente e teores insignificantes de HUFA n-3. Trattner et al. (2007) sugeriram que juvenis de pacu ($16,6 \pm 0,43$ g) possuem capacidade de alongamento e desaturação de LA e ALA, e que a adição de 1g de ácido α -lipóico/kg de ração possivelmente afetaria a atividade das alongases e da Δ -5 desaturase, incrementando principalmente o teor de EPA e a relação EPA/ALA nos lipídios polares musculares.

3. METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado com o aval do Comitê de Ética em Pesquisa da FZEA, protocolo CEUA nº. 2019080116

3.1. Formulação das dietas experimentais

Foram formuladas 6 dietas experimentais isoproteicas, isolipídicas e isoenergéticas, utilizando o software Supercrac 6.21 (Tabela 1). As dietas foram extrusadas nas instalações do Laboratório de Piscicultura da ESALQ – USP (Piracicaba – SP) (extrusora marca Ibramaq, nx30, Ribeirão Preto, Brasil) com tamanho de pellet de 2mm. As 5 primeiras dietas apresentaram relações ALA/LA decrescentes (Tabela 2) e ausência de ingredientes de origem animal. A sexta dieta, que foi utilizada como controle, teve inclusão de óleo de tilápia como fonte de HUFA. O uso de ingredientes exclusivamente de origem vegetal (menos na dieta controle) garantiu a inclusão de ALA e LA como únicos produtos n-3 e n-6 respectivamente. Misturas de óleos refinados (marcas comerciais) de soja e linhaça, cujos perfis de ácidos graxos foram previamente determinados, foram empregadas como fonte lipídica. Cada uma das seis dietas correspondeu a um tratamento (T1 até T6). Foi incorporado óxido de cromo III como marcador inerte para análises de digestibilidade.

Os ingredientes utilizados na formulação das rações foram classificados como líquidos (óleos vegetais e de tilápia) e sólidos (todos os outros ingredientes: farelos, farinhas, grãos, etc.). A composição de ingredientes sólidos foi a mesma nas 6 rações, e consequentemente, o aporte de ALA e LA da fração lipídica destes produtos também foi a mesma em todas as formulações. Para estimar o aporte de ALA e LA dos ingredientes sólidos, se considerou que a correspondente massa de extrato etéreo (EE), tivesse o mesmo perfil de ácidos graxos que os respectivos óleos vegetais. Por exemplo o milho (matéria seca 88,54%; extrato etéreo da matéria seca 4,10%), por cada Kg do produto *in natura*, 30g corresponderiam ao extrato etéreo. Análises prévias de óleo refinado de milho, revelaram teores de 1,05g de ALA e 44,65g de LA por cada 100 g de óleo. Desta forma, se considerou que cada Kg de milho aportaria 0,31g de ALA e 13,39g de LA.

Em análises preliminares, o óleo de linhaça apresentou 49,44g de ALA e 14,29g de LA por cada 100g. A inclusão deste óleo no T1, necessária para atingir uma relação ALA:LA de 3:1, considerando o teor estimado de ALA e LA nos ingredientes sólidos, foi de 14,13%, e o teor calculado de gordura total da ração *in natura* foi de 15%. Esta inclusão de gordura foi mantida nas

rações dos demais tratamentos, substituindo progressivamente o óleo de linhaça por óleo de soja, para atingir as relações ALA/LA apresentadas na tabela 2. Análises preliminares do óleo de soja determinaram a presença de 5,07g de ALA e 49,95g de LA por cada 100 g de óleo.

Tabela 1 – Formulação porcentual das dietas experimentais

Alimento (% de matéria natural)	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Concentrado proteico de soja	42,23	42,23	42,23	42,23	42,23	42,23
Farelo de trigo	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Óleo de linhaça	14,13	11,20	8,33	5,66	3,09	4,71
Óleo de soja	0,00	2,93	5,80	8,47	11,04	3,14
Óleo de tilápia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,28
Farinha de trigo	9,90	9,90	9,90	9,90	9,90	9,90
Milho	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Quirera de arroz	4,90	4,90	4,90	4,90	4,90	4,90
Fosfato bicálcico	1,63	1,63	1,63	1,63	1,63	1,63
Amido de milho	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
¹ Premix	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49
Cr ₂ O ₃	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49
Sal comum	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23

¹ Composição do premix: vit. A - 500000 UI; vit. D3 - 250000 UI; vit. E - 5000 mg; vit. K3 - 500 mg; vit. B1 - 1500 mg; vit. B2 - 1500 mg; vit. B6 - 1500 mg; vit. B12 - 4000 mg; ácido fólico - 500 mg; pantotenato Ca - 4000 mg; vit. C - 10000 mg; biotina - 10 mg; Inositol - 1000; nicotinamida - 7000; colina - 10000 mg; Co - 10 mg; Cu - 1000 mg; Fe - 5000 mg; I - 200 mg; Mn - 1500 mg; Se - 30 mg; Zn - 9000 mg³

Tabela 2 – Relações e quocientes ALA/LA calculados das rações experimentais.

Tratamento	Quociente LA/ALA	←	níveis de ALA	:	níveis de LA	→	Quociente ALA/LA	Somatória ALA+LA
T1	0,33		3x	:	1x		3	4x
T2	0,6		2,5x	:	1,5x		1,67	4x
T3	1		2x	:	2x		1	4x
T4	1,67		1,5x	:	2,5x		0,6	4x
T5	3		1x	:	3x		0,33	4x
T6	<i>Controle (óleo de tilápia)</i>							

LA = ácido linoleico (18:2n-6); ALA = ácido α -linolénico (18:3n-3); x = teor de LA no tratamento 1 como % dos AG totais da mistura de óleos.

3.2. Condições experimentais

O experimento foi conduzido nas instalações do laboratório de Aquicultura da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Campus Fernando Costa. Contou com 6 tratamentos: 5 rações experimentais e 1 ração controle, e 3 repetições, totalizando 18 unidades experimentais. Cada unidade experimental foi composta por 16 peixes, alojados em um tanque plástico de 120 L. Os 18 tanques conformavam um sistema de recirculação com filtro biológico, temperatura controlada de 26° C e foto período de 12 h. A massa média dos animais foi de $28,2 \pm 0,97$ g. Durante um período de aclimação de 53 dias, os animais de todas as unidades experimentais foram alimentados com ração comercial. Posteriormente, durante um período de 34 dias, todos os animais receberam a ração controle e posteriormente, durante outros 72 dias, 3 unidades experimentais continuaram sendo alimentadas com a ração controle, e as outras 15 foram alimentadas com uma das rações experimentais (cada ração foi fornecida a 3 unidades experimentais). A distribuição das dietas foi realizada de forma aleatória. A frequência de arraçoamento durante todos os períodos foi de duas vezes por dia às 8:00 e 16:00h, até saciedade aparente e o consumo de alimento de cada tanque foi registrado, determinando a diferença entre o alimento fornecido e o resíduo coletado 1 h após cada alimentação. Os parâmetros físico-químicos da água: pH, amônia tóxica e nitrito, foram mantidos em condições ideais e monitorados permanentemente. Sifonagens de fundo e trocas parciais de água foram realizadas 3 vezes por semana (segunda, quarta e sexta feira) e quando necessário, foi utilizado bicarbonato de sódio para corrigir o pH.

3.3. Coletas de material biológico

Foram realizadas biometrias, coletas de fezes e coletas de peixes inteiros. Os pontos de coleta foram nos dias 34, 58, 82 e 106. Adicionalmente, foi realizada uma biometria no dia 1, antes de realizar a distribuição dos grupos e 10 animais foram coletados de forma aleatória para realizar análises de composição proximal e de ácidos graxos. Para determinação da digestibilidade aparente, as fezes foram coletadas de acordo com o método de Guelph modificado (GONÇALVES; CARNEIRO, 2003), utilizando tanques cônicos de 200 L, com um coletor resfriado, acoplado no extremo inferior onde as fezes decantavam durante o período de coleta. Cada tanque contou com um aerador, um aquecedor elétrico com termostato e não possuía renovação de água. No dia da coleta, 1 h depois da segunda alimentação, os peixes eram retirados do tanque com uma rede, e

conduzidos ao tanque afunilado onde permaneciam até às 6:00 do dia seguinte. Foi previamente determinado que desta forma, os níveis de amônia tóxica na água não atingiam valores que colocassem em risco a integridade dos animais. Dentro de cada tanque afunilado, os peixes eram mantidos numa gaiola de malha plástica, a qual servia para devolvê-los no respectivo tanque uma vez finalizado o período de coleta. As fezes eram retiradas do coletor, centrifugadas para retirar o excesso de água e armazenadas a -20°C para futuras análises. Este procedimento foi realizado duas vezes em cada unidade experimental, em cada ponto de coleta, com um intervalo de 83 horas entre o final da primeira coleta e o início da segunda. O final da segunda coleta coincidia com o ponto de coleta respectivo, e antes de colocar os animais de volta no tanque, era realizada uma biometria, e 3 animais eram capturados de forma aleatória, retirados, eutanasiados com uma hiperdosagem de benzocaina (1g/L) e armazenados sob congelamento (-20°C) para futuras análises.

3.4. Análises químicas

3.4.1. Composição química de rações, corpo inteiro e fezes

As determinações de matéria seca, cinza, e proteína total foram feitas de acordo com os métodos oficiais da AOAC (2000). A extração e determinação gravimétrica de lipídios totais foi feita pelo método de Bligh e Dyer (1959).

3.4.1.1. Matéria seca

A matéria seca foi determinada por diferença de massa após aquecimento de amostras de 5 a 30 g em estufa a 105°C durante 12 horas (fórmula 1).

$$\%MS = (P_{as} - P_{an}) \times 100$$

[1]

Onde:

%MS = porcentagem de matéria seca da amostra

P_{ms} = massa da amostra seca a 105°C durante 12 horas (até massa constante)

P_{an} = massa da amostra em estado natural

3.4.1.2. Matéria mineral

O teor de matéria mineral (MM) ou cinzas foi determinado por diferença de massa após incineração de amostras de aproximadamente 1g em matéria seca, em mufla a 550° C durante 4 h (fórmula 2).

$$\%MM = (P_{ai} - P_{ms})$$

[2]

Onde:

%MM = porcentagem de matéria mineral da amostra

P_{ai} = massa da amostra incinerada a 550° C durante 4 h

P_{ms} = massa da amostra seca a 105° C durante 12 horas

3.4.1.3. Proteína total

Uma amostra de 100 mg (matéria seca) foi colocada em tubos de vidro de 100 mL com adição de aproximadamente 1 g de mistura catalizadora (95g de K_2SO_4 + 5g de $CuSO_4$) e 4 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. Os tubos foram aquecidos em bloco digestor a 150° C durante 30 min e posteriormente a temperatura foi aumentada a 400° C durante 150 min. Uma vez que os tubos se encontravam a temperatura ambiente, foram adicionados 10 mL de água destilada e este conteúdo destilado em destilador de nitrogênio, com adição de 5mL de NaOH 50%, recolhendo o produto em frasco Erlenmeyer contendo 15 mL de solução indicadora. Posteriormente o destilado foi titulado utilizando HCl 0,01N até observar viragem de verde-azulado para lilás-róseo. A solução indicadora foi preparada dissolvendo 20g de ácido bórico em 500 mL de água destilada sob agitação e aquecimento. Posteriormente, uma vez atingida a temperatura ambiente, foram adicionados 15 mL de verde de bromocresol e 6 mL de vermelho de metila. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 1000 mL e aferida com água destilada. O teor de proteína foi determinado mediante a fórmula 3.

$$\%P = [(vol.HCl \times N_{doHCl} \times 14 \times 100) / \text{massa da amostra em mg}] \times 6.25$$

[3]

Onde:

%P = teor de proteína expresso em porcentagem

Vol.HCl = volume de solução de HCl utilizado na titulação

NdoHCl = concentração normal (normalidade) da solução de HCl

3.4.1.4. Energia bruta

A energia bruta das rações foi calculada de acordo com a fórmula (FAO, 2003):

$$E \text{ (Mcal/Kg)} = [(PB \times 5,4) + (CHT \times 4,6) + (GT \times 9,4)] / 100 \quad [4]$$

Onde:

E = Energia bruta, expressa em Mcal/Kg de ração

PB = Porcentagem de proteína bruta

CHT = Porcentagem de carboidratos totais

GT = porcentagem de gordura total

$$CHT = 100 - (PB + GT + MM) \quad [5]$$

MM = porcentagem de matéria mineral (cinzas)

3.4.1.5 Lipídios totais

Amostras de até 1,72 g de matéria seca (material liofilizado), de fezes ou peixe inteiro foram colocadas em tubos tipo Falcon de 50 mL. Posteriormente foi realizada uma sequência de três etapas. Na primeira, se adicionou clorofórmio, metanol e água em quantidades adequadas para conseguir uma proporção de 1:2:0,8 (respectivamente), seguido de agitação durante 7 minutos (agitador em forma de disco). Na segunda etapa, foi adicionada mais uma parte de clorofórmio (relação final 2:2:0,8) seguido de agitação durante 2 minutos. Na terceira etapa, foi adicionada água (proporção final de 2:2:1,8) e se agitou por mais 7 minutos. Posteriormente, foi efetuada uma

filtragem a vácuo e o produto deixado em repouso durante 1 hora. A fase inferior foi coletada utilizando pipetas descartáveis de Pasteur, e o solvente retirado utilizando evaporador rotativo (50° C). O extrato lipídico dissolvido em aproximadamente 5 mL de clorofórmio, foi transferido em frascos de vidro, previamente pesados, e as amostras armazenadas para posteriores análises. Para determinar a quantidade total de óleo extraída de cada amostra, o solvente foi evaporado com um fluxo de nitrogênio gasoso.

3.4.1.6. Liofilização de peixes inteiros e fezes

Os peixes coletados ao longo da fase de criação, foram liofilizados inteiros em equipamento industrial (marca Telstar, modelo L80 (1986), Tarrasa, Barcelona, Espanha) na empresa Liofoods (Itupeva, São Paulo, Brasil). Posteriormente cada peixe foi fracionado em pequenos pedaços utilizando uma faca, e finamente moído com um moinho de rotor (marca Tecnal, modelo TE-651/2, Piracicaba, São Paulo, Brasil). As fezes foram liofilizadas em equipamento de bancada (marca Liotop, modelo L101, São Carlos, São Paulo, Brasil), de laboratório no Laboratório de Minerais da FZEA/USP. A liofilização permitiu homogeneizar as amostras e padronizar as extrações de gordura.

3.5. Determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente

Foram determinados os coeficientes de digestibilidade de gordura, ácidos graxos, proteína e matéria seca mediante as fórmulas 6 e 7. A determinação do teor de óxido de cromo III em fezes e rações, foi efetuada de acordo com a metodologia descrita por Furukawa e Tsukahara (1966). Amostras de 50 mg (matéria seca) foram colocadas em tubos Kjeldahl de 100 mL, adicionando 5 mL de ácido nítrico concentrado e aquecendo em bloco digestor a 200° C por aproximadamente 20 minutos, até observar a ausência de fumaça de cor pardo. Após resfriamento, foram adicionados 3 mL de ácido perclórico e a mistura foi submetida novamente a aquecimento até observar mudança de cor verde para cor laranja. Uma vez que a mistura se encontrava a temperatura ambiente, foram adicionados 50 mL de água destilada. O conteúdo do tubo foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL, aferido com água destilada e mantido em repouso por alguns minutos. A fase superior foi transferida cuidadosamente para um tudo de ensaio e 3 leituras foram feitas em

espectrofotômetro em densidade ótica de 350 nm, utilizando água destilada como branco. O teor de óxido de cromo III expresso como mg de Cr (III) contidas em 50 mg de amostra foi determinado aplicando uma função (fórmula 8) determinada de forma experimental no laboratório de Aquicultura FZEA-USP.

Os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CD_{MS}) e de cada nutriente (CDA_N), foram determinados mediante as fórmulas:

$$CDA_{MS} = 100 [1 - (CrD)/(CrF)] \quad [6]$$

Onde:

CDA_{MS} = Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca

CrD = % de Cr_2O_3 na dieta

CrF = % de Cr_2O_3 nas fezes

$$CDA_N = 100 [1 - (CrD)/(CrF) \cdot (NF/ND)] \quad [7]$$

Onde:

NF = % do nutriente nas fezes

ND = % do nutriente na dieta

$$y = 0,1879 x - 0,0005 \quad [8]$$

Onde:

y = leitura em absorbância

x = teor de óxido de Cromo (III) em mg/100 g de amostra

3.6. Identificação e quantificação de ácidos graxos de corpo inteiro e fezes

A transesterificação dos ácidos graxos foi realizada de acordo com o método ISO 5509 (International Organization for Standardization, 1978) com algumas modificações, indicadas a seguir: aproximadamente 25mg de extrato lipídico, do corpo inteiro ou fezes dos peixes, foram pesadas em um tubo Ependorf de 2mL. A massa de cada amostra foi registrada. Foram adicionados 800 uL de hexano e o tubo agitado em Vórtex durante 30s. Posteriormente, foram adicionados 800 uL de solução de NaOH em metanol seguido de agitação por mais 30s e centrifugação a 10000 rpm e 4° C durante 10 minutos. Uma alíquota de 100 uL do sobrenadante foi coletada (solução de ácidos graxos transesterificados) e foram adicionados 10 uL de solução de 5mg/mL de tricosenoato de metila (padrão interno – metil 23:0, Sigma-Aldrich, Bellefonte, USA) dissolvido em hexano. Foi injetado manualmente 1 uL da solução final (ácidos graxos metilados + padrão interno) em cromatógrafo de gás Shimadzu modelo GC-14B. Os tempos de retenção dos picos observados pela eluição da amostra foram comparados com os tempos de retenção de padrões comerciais (PUFA2, PUFA 3 e C37 component, Sigma Aldrich, Bellefonte, USA) para identificar os ácidos graxos da família n-6 e n-3 presentes, e a área da curva de cada pico foi relacionada proporcionalmente com a área da curva do padrão interno, considerando sua concentração na amostra injetada. Foram feitas duas correções: a primeira, da massa calculada de cada ácido graxo metilado, em função do número de átomos de C ativos presentes em cada molécula, e a segunda da massa do éster metílico de cada ácido graxo para ser transformada na massa do ácido graxo, de acordo com Visentainer (2012). Os resultados foram expressos em mg de cada ácido graxo por cada grama de óleo. O cromatógrafo, acoplado com módulo integrador Shimadzu CBM-102, foi equipado com coluna Omegawax 250 (30mx0,25mmx0,25µm) (Supelco, Bellefonte, USA). A temperatura da coluna inicialmente foi de 100° C durante 2 minutos, posteriormente aumentou 4° C/minuto até atingir 220° C e permaneceu nesta temperatura durante 20 minutos. A temperatura do injetor e do detector (FID) foi de 250° C, rádio split 1/100. Foi utilizado hidrogênio como gás de arraste com vazão de 1mL/minuto e os gases da chama foram hidrogênio, nitrogênio e ar sintético com pressão de 50, 180 e 30 Kpa respectivamente.

3.7. Determinação *in vivo* do metabolismo de ácidos graxos

O metabolismo de ácidos graxos foi determinado em cada ponto de coleta, de acordo com a metodologia de Turchini et al. (2007), e Turchini e Francis (2009) utilizando os dados de massa média inicial e final; teor de gordura total e composição de ácidos graxos inicial e final de corpo inteiro e da ração; digestibilidade dos ácidos graxos; e consumo total de alimento. O procedimento se descreve a seguir, fazendo uma síntese dos trabalhos citados no início deste parágrafo.

3.7.1. Aparecimento/desaparecimento dos ácidos graxos

É a diferença entre o acúmulo e o consumo líquido de cada ácido graxo (fórmula 9). O acúmulo dos ácidos graxos é determinado pela diferença entre o teor total do ácido graxo no início do experimento e o teor total do ácido graxo no final do experimento (fórmula 10). O consumo líquido consiste na diferença entre a quantidade consumida de ácido graxos por meio da dieta e a quantidade excretada (fórmula 11). A excreção dos ácidos graxos (fórmula 13) foi determinada mediante seus coeficientes de digestibilidade aparente, determinados com a mesma metodologia descrita anteriormente (item 3.5.). O aparecimento ou desaparecimento foi determinado em mg de cada ácido graxo, e posteriormente transformado a micromols de ácido graxo por grama de peixe por cada dia (fórmula 14). Esta transformação foi realizada dividindo as mg de cada AG aparecidas/desaparecidas por um fator igual ao produto da média da massa inicial e massa final (em gramas) e o número de dias do experimento (fórmula 15). A seguir se apresentam as fórmulas utilizadas:

$$\text{mg Aparecimento/desaparecimento} = \text{Acúmulo AG} - \text{Consumo líquido AG} \quad [9]$$

$$\text{Acúmulo AG} = \text{mg AG inicial} - \text{mg AG final} \quad [10]$$

$$\text{Consumo líquido AG} = \text{mg AG consumidos} - \text{mg AG excretados} \quad [11]$$

$$\text{mg AG consumidos} = \text{g de alimento consumidas} \times \text{mg AG por g de alimento} \quad [12]$$

$$\text{mg AG excretados} = \text{mg AG consumidos} - (\text{mg AG consumidos} \times \text{FDA AG}) \quad [13]$$

$$\mu\text{mol/g/dia Aparecimento/desaparecimento} = \text{mg Aparecimento/desaparecimento} / F \quad [14]$$

$$F = [(\text{Massa corporal final} - \text{Massa corporal inicial})/2] \times \text{No. Dias} \quad [15]$$

As sequências de alongamento e desaturação dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados e das famílias n-6 e n-3, consideradas para os cálculos de metabolismo do trabalho estão apresentadas na Figura 1. Para fins práticos, se considerou que o 22:6n3 foi produzido diretamente a partir do 22:5n3.

3.7.2. Balanço de massas de ácidos graxos

Foi determinada a quantidade de cada ácido graxo, expressa em $\mu\text{mol/g/dia}$, que foi bioconvertida (ϵ), ou seja, que sofreu algum processo de alongamento ou desaturação. A quantidade de μmol de cada ácido graxo determinada como incremento (δ), foi subtraída da quantidade de μmol determinada como incremento do seu antecessor (quando foi determinado que houve diminuição de um ácido graxo, ou seja, valores negativos, a quantidade de μmol utilizada no cálculo foi considerada zero, ao igual que nos ácidos graxos não detectados nas amostras).

- As fórmulas para balancear as massas dos ácidos graxos saturados e monoinsaturados foram:

$$\epsilon(12:0) = \delta(14:0) + \epsilon(14:0) \quad [16]$$

$$\epsilon(14:0) = \delta(16:0) + \epsilon(16:0) + \delta(14:1n5) \quad [17]$$

$$\epsilon(16:0) = \delta(18:0) + \epsilon(18:0) + \delta(16:1n7) + \epsilon(16:1n7) \quad [18]$$

$$\epsilon(18:0) = \delta(20:0) + \epsilon(20:0) + \delta(18:1n9) + \epsilon(18:1n9) \quad [19]$$

$$\epsilon(20:0) = \delta(22:0) + \epsilon(22:0) \quad [20]$$

$$\epsilon(22:0) = \delta(24:0) \quad [21]$$

$$\epsilon(16:1n7) = \delta(18:1n7) \quad [22]$$

$$\varepsilon(18:1n9) = \delta(20:1n9) \quad [23]$$

$$\varepsilon(15:0) = \delta(17:0) + \varepsilon(17:0) \quad [24]$$

$$\varepsilon(17:0) = \delta(17:1n8) \quad [25]$$

- As fórmulas para balancear as massas dos ácidos graxos essenciais foram:

$$\varepsilon(18:3n-3) = \delta(20:3n-3) + \varepsilon(20:3n-3) + \delta(18:4n-3) + \varepsilon(18:4n-3) \quad [26]$$

$$\varepsilon(18:2n-6) = \delta(20:2n-6) + \varepsilon(20:2n-6) + \delta(18:3n-6) + \varepsilon(18:3n-6) \quad [27]$$

- As fórmulas para balancear as massas dos demais AGPI foram:

Série n3:

$$\varepsilon(22:5n-3) = \delta(22:6n-3) \quad [28]$$

$$\varepsilon(20:5n-3) = \delta(22:5n-3) + \varepsilon(22:5n-3) \quad [29]$$

$$\varepsilon(20:4n-3) = \delta(20:5n-3) + \varepsilon(20:5n-3) \quad [30]$$

$$\varepsilon(18:4n-3) = \delta(20:4n-3) + \varepsilon(20:4n-3) \quad [31]$$

Série n6:

$$\varepsilon(20:4n-6) = \delta(22:4n-6) \quad [32]$$

$$\varepsilon(20:3n-6) = \delta(20:4n-6) + \varepsilon(20:4n-6) \quad [33]$$

$$\varepsilon(18:3n-6) = \delta(20:3n-6) + \varepsilon(20:3n-6) \quad [34]$$

- As fórmulas para balancear as massas dos ácidos graxos considerados produtos inertes foram:

$$\varepsilon(20:3n-3) = \delta(22:3n-3) \quad [35]$$

$$\varepsilon(20:2n-6) = \delta(22:2n-6) \quad [36]$$

3.7.3. Atividade enzimática aparente

3.7.3.1. β -Oxidação de ácidos graxos

A β -oxidação (produção de energia) corresponde aos valores absolutos dos ácidos graxos que apresentaram desaparecimento (valores negativos).

3.7.3.2. Atividade aparente de alongases, Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturases

A atividade aparente das enzimas alongases, Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturases foi determinada pela somatória dos ácidos graxos aparecidos (valores positivos) por efeito de cada uma delas de acordo com as sequencias de alongamento e desaturação apresentadas na figura 1. Desta forma, por exemplo, a determinação da quantidade de 12:0 convertida em 14:0 por ação de alongases consiste na somatória dos valores de aparecimento de todos os ácidos graxos saturados e monoinsaturados detectados nas amostras de corpo inteiro, exceto o próprio 12:0. Neste cálculo, os ácidos graxos com valores negativos devem ser considerados iguais a zero. A atividade da Δ -9 desaturase responsável da transformação de 16:0 a 16:1n7, se determina pela somatória dos valores de aparecimento (valores positivos) de 16:1n7 e 18:1n7, etc. É importante considerar que estes dados se encontram expressos como $\mu\text{mol/g/dia}$ a partir do cálculo do aparecimento/desaparecimento.

3.8. Análise estatística

Foi utilizado o software SPSS 21. Foi estabelecido um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial. O primeiro fator esteve conformado pelas 6 rações experimentais (5 relações ALA/LA + 1 controle). O segundo fator correspondeu às coletas 2, 3 e 4, em que cada grupo de animais foi alimentado com a respectiva ração experimental. Foi realizado o teste de homogeneidade das variâncias de Levene, ANOVA e teste de comparação de médias de Student-Newman-Keuls (SNK). O nível de significância foi estabelecido em 95%. Se adotou como regra geral que o valor de p dos testes ANOVA e SNK mesmo sendo menores que 0,05 seriam confiáveis só quando fossem inferiores ao valor de p do teste de Levene.

4. RESULTADOS

Os resultados das análises estatísticas das variáveis estudadas neste trabalho, são apresentados nas Tabelas: 8, 14, 19, 24, 29, 34, 39 e 44.

4.1. Composição química

4.1.1. Composição química das rações experimentais

A composição centesimal das rações experimentais é apresentada na Tabela 3

Tabela 3 - Composição química e energética das rações experimentais *in natura* (matéria úmida).

	MS (%)	PB (%)	Gordura (%)	Cinza (%)	CHT (%)	E (Mcal/kg)
T1	91,95	29,94	15,40	5,94	40,66	4,94
T2	91,15	28,60	16,16	5,47	40,93	4,95
T3	94,18	30,93	16,24	5,81	41,20	5,09
T4	92,07	29,38	15,47	5,87	41,35	4,94
T5	89,99	29,37	15,84	5,57	39,21	4,88
T6	91,81	29,56	14,65	5,91	41,68	4,89

MS – Porcentagem de matéria seca; PB – Porcentagem de proteína bruta; CHT – Porcentagem de carboidratos totais; E – Energia bruta expressa em Megacalorias por quilograma de ração. T1, ..., T6 – Tratamento 1, ..., Tratamento 6.

4.1.2. Composição de corpo inteiro

A composição proximal de corpo inteiro dos peixes *in natura* é apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 - Composição de corpo inteiro dos peixes (%) *in natura*.

		Matéria Seca%		Proteína Bruta%		Gordura%		Cinza%	
		Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
C1	T6	31,15	0,11	16,11	0,21	9,76	0,23	4,16	0,05
	T1	31,22	0,54	16,04	0,27	10,85	0,82	4,08	0,21
C2	T2	31,45	0,09	15,20	0,29	11,01	0,95	4,03	0,37
	T3	31,12	0,95	15,21	0,57	10,30	0,47	3,78	0,07
	T4	31,19	0,50	14,99	0,34	10,84	1,18	4,03	0,30
	T5	31,89	0,31	15,48	0,51	11,03	1,25	4,11	0,35
	T6	30,28	0,41	14,82	0,18	10,23	0,66	3,83	0,18
C3	T1	31,16	0,34	14,99	0,48	10,98	0,60	4,02	0,11
	T2	32,30	0,42	16,17	1,22	13,71	1,86	3,98	0,34
	T3	32,06	1,19	15,73	0,14	12,99	2,02	3,98	0,15
	T4	31,77	1,13	15,04	0,51	13,89	2,11	3,98	0,30
	T5	31,49	1,10	14,74	0,18	14,09	1,82	3,91	0,05
	T6	32,33	0,41	16,06	0,42	15,01	0,98	4,07	0,27
C4	T1	31,58	0,77	15,54	0,40	13,88	0,65	3,82	0,07
	T2	31,70	2,09	15,22	0,54	14,77	2,69	3,87	0,26
	T3	27,74	5,53	13,55	2,78	12,42	2,70	3,37	0,57
	T4	31,77	0,55	15,36	0,20	14,96	0,56	4,06	0,21
	T5	31,39	0,25	15,09	0,48	15,21	0,93	3,83	0,16
	T6	32,41	0,32	15,43	0,59	14,16	1,21	3,96	0,27

C1 – coleta aos 34 dias; C2 – coleta aos 58 dias; C3 – coleta aos 82 dias; C4 – coleta aos 106 dias; T1 a T6 – Tratamento 1 a Tratamento 6; EP – Erro padrão.

4.1.3. Coeficientes de digestibilidade aparente das rações experimentais

Os Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de matéria seca, proteína bruta, gordura, cinza (matéria mineral), carboidratos totais e energia bruta das rações experimentais são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA %) das rações experimentais.

		Matéria Seca		Proteína Bruta		Gordura		Energia bruta	
		Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
C1	T6	80,99	0,75	93,43	0,35	96,51	0,32	84,07	0,64
	T1	79,97	1,24	92,25	0,54	96,78	0,36	83,38	1,02
C2	T2	79,05	0,33	92,79	0,27	96,61	0,94	82,95	0,56
	T3	77,92	1,57	93,55	0,32	96,22	0,96	82,01	1,43
	T4	76,53	1,21	92,26	0,84	96,30	0,49	80,74	0,97
	T5	79,10	0,12	93,33	0,06	96,41	0,26	82,94	0,13
	T6	82,18	0,65	94,21	0,86	96,74	0,61	85,20	0,54
C3	T1	81,07	1,70	91,52	1,29	96,30	1,97	84,13	1,65
	T2	80,06	1,08	92,49	0,32	95,97	1,23	83,61	1,07
	T3	79,20	1,36	92,18	0,67	95,54	2,00	82,84	0,83
	T4	78,85	1,24	91,27	0,17	96,01	0,39	82,46	1,01
	T5	78,25	2,20	91,64	0,97	96,28	1,19	82,18	1,75
	T6	83,29	1,04	93,84	0,58	96,53	1,63	86,04	0,88
C4	T1	77,46	3,40	90,60	1,59	96,82	0,72	81,32	2,78
	T2	78,30	0,32	91,52	0,61	95,59	1,08	82,15	0,51
	T3	80,03	1,57	92,17	0,55	95,08	1,60	83,42	0,93
	T4	77,64	1,13	91,47	0,35	96,15	0,47	81,55	0,86
	T5	78,78	1,35	91,70	0,07	96,00	1,54	82,55	1,25
	T6	81,56	1,76	92,79	0,61	96,49	1,11	84,61	1,44

C1 – coleta aos 34 dias; C2 – coleta aos 58 dias; C3 – coleta aos 82 dias; C4 – coleta aos 106 dias; T1 a T6 – Tratamento 1 a Tratamento 6; EP – Erro padrão.

4.2. Parâmetros de desempenho

O comprimento total, massa corporal, consumo de alimento do período e consumo acumulado e ganho de massa (em gramas e porcentagem da massa inicial de cada período) são apresentados na Tabela 6. O índice de conversão alimentar, taxa de crescimento específico, índice de eficiência alimentar, taxa de deposição de gordura, índice de condição corporal de Fulton e taxa de eficiência proteica são apresentados na Tabela 7.

Tabela 6 - Comprimento e massa corporal, consumo de alimento e ganho de peso de juvenis de pacu, alimentados com as rações T1 a T6.

		CT (cm)		MC (g)		CAP (g)		CAc (g)		GP (g)		GP %	
		Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
C1	T6	14,82	0,11	69,50	1,61	33,83	0,63	33,83	0,63	23,12	0,13	49,88	1,77
	T1	15,37	0,12	84,10	9,39	19,81	2,54	51,32	6,76	14,66	5,67	21,05	7,99
	T2	16,09	0,52	94,23	14,50	24,33	5,25	59,87	10,19	19,30	8,27	25,28	9,19
C2	T3	15,74	0,39	91,95	7,53	26,60	8,46	59,95	6,01	23,29	13,68	35,49	23,42
	T4	15,41	0,30	83,18	5,17	19,10	3,72	48,66	5,10	17,67	4,62	26,94	6,84
	T5	15,56	0,70	85,37	7,75	21,96	2,67	50,05	4,68	20,52	9,49	32,18	16,28
	T6	16,06	0,71	90,69	9,44	22,10	3,27	55,93	3,09	21,19	9,13	30,48	12,94
C3	T1	16,43	1,80	102,10	18,97	28,28	2,12	79,60	7,78	18,00	9,59	20,72	9,13
	T2	17,43	1,00	116,14	14,50	29,76	4,20	89,62	14,37	21,91	0,41	23,64	3,81
	T3	17,20	0,48	112,57	12,92	31,71	3,54	91,66	8,41	20,62	5,55	22,22	4,25
	T4	17,08	0,21	109,86	9,70	30,69	4,33	79,35	6,45	26,68	5,77	31,98	6,24
	T5	17,23	0,43	112,10	10,12	31,85	2,20	81,90	2,69	26,73	4,17	31,38	4,78
	T6	16,87	0,51	110,32	10,99	30,91	4,45	86,84	7,34	19,62	8,96	21,99	11,33
C4	T1	18,38	0,71	131,90	14,30	35,28	4,95	114,88	7,22	29,80	11,04	30,69	13,92
	T2	18,68	0,90	139,61	20,32	32,83	2,37	122,45	16,15	23,47	10,87	20,17	8,68
	T3	18,40	0,66	131,25	19,17	29,80	2,46	121,46	10,74	18,68	10,55	16,54	9,40
	T4	18,40	0,54	129,12	11,78	32,41	6,05	111,76	10,60	19,27	9,35	17,74	8,58
	T5	18,50	0,68	132,66	6,40	32,24	5,25	114,14	3,65	20,56	10,83	18,89	10,94
	T6	18,93	1,08	133,02	22,12	29,39	11,04	116,23	18,28	22,70	13,37	20,20	10,37

CT – Comprimento total; MC – Massa corporal; CAP – Consumo de alimento do período (matéria seca); CAc – Consumo acumulado de alimento (matéria seca); GP – Ganho de peso; GP% - Porcentagem de ganho de peso; C1 – coleta aos 34 dias; C2 – coleta aos 58 dias; C3 – coleta aos 82 dias; C4 – coleta aos 106 dias; T1 a T6 – Tratamento 1 a Tratamento 6; EP – Erro padrão.

Tabela 7 – Conversão alimentar, taxa de crescimento específico, eficiência alimentar, taxa de deposição de gordura, índice de condição corporal de Fulton e taxa de eficiência proteica de juvenis de pacu, alimentados com as rações T1 a T6.

		CA		TCE		EA		TDG		ICC		TEP	
		Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
C1	T6	1,46	0,02	1,19	0,03	0,68	0,01	0,14	0,06	2,13	0,02	2,12	0,03
	T1	1,54	0,74	0,79	0,28	0,75	0,31	-0,03	0,31	2,31	0,21	2,30	0,96
	T2	1,35	0,34	0,93	0,31	0,77	0,18	0,08	0,39	2,25	0,15	2,45	0,57
C2	T3	1,31	0,49	1,22	0,71	0,83	0,26	0,06	0,33	2,36	0,14	2,52	0,80
	T4	1,09	0,10	0,99	0,22	0,92	0,08	0,53	0,18	2,27	0,07	2,88	0,26
	T5	1,18	0,37	1,14	0,50	0,91	0,32	0,42	0,73	2,27	0,15	2,80	0,97
	T6	1,13	0,32	1,10	0,41	0,93	0,26	0,31	0,41	2,19	0,19	2,90	0,82
C3	T1	1,92	1,01	0,78	0,32	0,62	0,31	0,06	0,37	2,33	0,45	1,92	0,95
	T2	1,36	0,20	0,88	0,13	0,75	0,11	0,79	0,29	2,19	0,12	2,38	0,34
	T3	1,60	0,37	0,83	0,15	0,65	0,14	0,81	0,58	2,21	0,18	1,97	0,41
	T4	1,17	0,16	1,15	0,20	0,87	0,11	0,94	0,90	2,20	0,12	2,71	0,36
	T5	1,20	0,13	1,14	0,15	0,84	0,09	1,07	0,71	2,19	0,08	2,56	0,29
	T6	1,77	0,64	0,82	0,38	0,63	0,28	1,32	0,31	2,30	0,27	1,96	0,86
C4	T1	1,29	0,44	1,10	0,46	0,83	0,24	0,92	0,36	2,12	0,03	2,56	0,74
	T2	1,59	0,63	0,76	0,30	0,73	0,37	0,37	0,79	2,13	0,08	2,31	1,18
	T3	2,26	1,77	0,63	0,34	0,62	0,34	0,44	0,56	2,10	0,16	1,88	1,02
	T4	1,93	0,85	0,67	0,31	0,58	0,21	0,34	0,63	2,07	0,08	1,82	0,65
	T5	1,90	1,10	0,71	0,38	0,64	0,29	0,35	0,71	2,10	0,16	1,95	0,89
	T6	1,40	0,33	0,76	0,35	0,74	0,17	-0,26	0,55	1,95	0,03	2,30	0,52

CA – Conversão alimentar; TCE – Taxa de crescimento específico; EA – Eficiência alimentar; TDG – taxa de deposição de gordura; ICC – índice de condição corporal de Fulton; TEP – Taxa de eficiência proteica; C1 – coleta aos 34 dias; C2 – coleta aos 58 dias; C3 – coleta aos 82 dias; C4 – coleta aos 106 dias; T1 a T6 – Tratamento 1 a Tratamento 6; EP – Erro padrão.

Na Tabela 8 é apresentada a análise estatística de composição de corpo inteiro, CDA das rações experimentais e parâmetros de desempenho dos animais, submetidos aos tratamentos experimentais.

O teor de gordura de corpo inteiro só apresentou diferenças entre as médias de coletas, sendo C3 menor que C4 e maior que C2. Os CDA de matéria seca e energia bruta da ração T6 foi maior que os demais tratamentos e não apresentaram diferenças entre coletas. O CDA de proteína bruta de T6 foi maior que os demais; o tratamento 3 foi maior que T4 e T1. T2 e T5 só diferiram de T6; entre coletas, C3 e C4 não diferiram entre si e foram menores que C2. O comprimento total, massa corporal, e consumo acumulado de alimento em C3 foram menores que em C4 e maiores que em C2. O consumo de alimento dos períodos C4 e C3 não diferiu entre si e foi maior que C2. A taxa de deposição de gordura não diferiu entre C4 e C2 e foi menor que C3. Os índices de condição corporal de C2 e C3 não diferiram entre si e foram maiores que C4.

4.3. Composição de ácidos graxos

Se evidenciou ausência de ácidos graxos polinsaturados diferentes de 18:2n6 e 18:3n3 nas rações T1 a T5, assim como 12:0 e 14:1n5 (Tabela 9). As relações ALA/LA das dietas experimentais foram semelhantes aos valores calculados apresentados na Tabela 2. A relação ALA/LA do tratamento controle (T6) foi próxima do T4.

Tabela 8 - Análise estatística de composição centesimal de corpo inteiro, coeficientes de digestibilidade aparente e parâmetros de desempenho.

Variável	Teste de Levene (p)	Anova				
		Tratamento		Coleta		Interação
		(p)	SNK	(p)	SNK	
Corpo inteiro:						
Matéria Seca (%)	0,001	0,871	ns	0,056	ns	0,304
Proteína Bruta (%)	0,293	0,236	ns	0,47	ns	0,346
Gordura (%)	0,028	0,135	ns	0,000	4>3>2	0,364
Cinza (%)	0,413	0,751	ns	0,167	ns	0,966
CDA:						
CDA MS	0,041	0,000	6>12354	0,053	ns	0,205
CDA PB	0,050	0,000	6>325>2541	0,000	2>34	0,683
CDA G	0,181	0,466	ns	0,407	ns	0,998
CDA E	0,061	0,000	6>12354	0,074	ns	0,301
Desempenho:						
CT	0,011	0,495	ns	0,000	4>3>2	0,984
MC	0,410	0,623	ns	0,000	4>3>2	1
CAP	0,016	0,932	ns	0,000	43>2	0,671
CAC	0,074	0,062	ns	0,000	4>3>2	1
GP	0,303	0,998	ns	0,545	ns	0,724
GP %	0,144	0,97	ns	0,108	ns	0,546
CA	0,000038	0,907	ns	0,150	ns	0,756
TCE	0,304	0,972	ns	0,102	ns	0,562
EFA	0,237	0,959	ns	0,123	ns	0,819
TDG	0,097	0,848	ns	0,005	3>42	0,124
ICC	0,013	0,851	ns	0,004	23>4	0,951
TEP	0,238	0,929	ns	0,123	ns	0,819

* Os números representam as médias dos respectivos tratamentos experimentais, ordenados de forma descendente da esquerda à direita. O sinal “>” separa grupos de médias. Médias localizadas no mesmo grupo não apresentaram diferença significativa pelo teste SNK, para o valor de *p* estabelecido pelo teste de Levene. Quando o valor de *p* do teste de Levene foi maior que 0,05 o nível de significância de ANOVA e SNK foi mantido em 0,05; SNK – Teste de Student-Newman-Keuls; CDA – coeficiente de digestibilidade aparente; MS – matéria seca; PB – proteína bruta; G – gordura; E – energia bruta; CT – Comprimento total; MC – Massa corporal; CAP – Consumo de alimento do período (matéria seca); CAC – Consumo acumulado de alimento (matéria seca); GP – Ganho de peso; GP% - Porcentagem de ganho de peso; CA – Conversão alimentar; TCE – Taxa de crescimento específico; EA – Eficiência alimentar; TDG – taxa de deposição de gordura; ICC – índice de condição corporal de Fulton; TEP – Taxa de eficiência proteica.

Tabela 9 - Composição de ácidos graxos (mg de ácido graxo por grama de gordura) das rações experimentais

Ácido graxo	T1	T2	T3	T4	T5	T6
12:0	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	0,14
14:0	0,42	0,40	0,40	0,46	0,50	4,90
14:1n5	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	0,49
15:0	0,18	0,15	0,14	0,14	0,12	0,47
16:0	51,89	51,56	54,46	62,53	66,19	106,08
16:1n7	0,81	0,68	0,63	0,65	0,69	17,00
17:0	1,38	0,71	0,67	0,70	0,71	1,20
17:1n8	0,30	0,27	0,27	0,30	0,30	0,64
18:0	40,23	31,16	27,90	26,44	23,62	34,26
18:1n9	164,29	148,89	145,79	154,22	156,13	202,02
18:1n7	6,15	6,29	6,86	7,96	8,84	10,97
18:2n6c	122,49	159,89	195,91	246,31	282,14	177,61
18:3n6	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	1,45
18:3n3	365,21	268,91	202,33	151,34	99,81	130,16
20:0	1,28	1,26	1,43	1,67	1,79	1,43
20:1n9	0,97	0,99	1,07	1,23	1,36	3,14
20:2n6	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	1,18
20:3n6	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	1,12
20:4n6	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	1,30
20:3n3	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	1,20
20:5n3	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	0,19
22:0	1,07	1,25	1,55	1,87	2,12	1,17
22:4n6	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	0,69
22:5n3	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	0,41
24:0	0,54	0,53	0,62	0,70	0,73	0,43
22:6n3	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	<i>nd</i>	0,94
AGS	96,99	87,02	87,16	94,51	95,78	150,08
AGM	172,52	157,12	154,62	164,36	167,33	234,26
AGPI	487,70	428,80	398,24	397,65	381,95	316,26
n-3	365,21	268,91	202,33	151,34	99,81	132,90
n-6	122,49	159,89	195,91	246,31	282,14	183,36
n3/n6	2,98	1,68	1,03	0,61	0,35	0,72
ALA/LA	2,98	1,68	1,03	0,61	0,35	0,73
LA/ALA	0,34	0,59	0,97	1,63	2,83	1,36
ALA+LA	487,70	428,80	398,24	397,65	381,95	307,76

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; n3/n6 – relação ômega-3/ômega-6; ALA/LA – Relação 18:3n3/18:2n6; LA/ALA – Relação 18:2n-6/18:3n3; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6).

A composição de ácidos graxos de corpo inteiro dos peixes no dia 1 e 34 se encontra na tabela 10. Nas tabelas 11, 12 e 13 é apresentada a composição de ácidos graxos de corpo inteiro dos animais aos 58, 82 e 106 dias respectivamente.

Tabela10 - Composição de ácidos graxos (mg de ácido graxo por grama de gordura) de corpo inteiro da etapa C1 (aclimação) nos dias 1 e 34 (animais alimentados com o tratamento controle – T6)

Ácido graxo	1 dia (n=1*)	34 dias (n=6)	
		Média	EP
12:0	0,23	0,25	0,03
14:0	18,91	18,61	1,87
14:1n5	1,37	1,41	0,20
15:0	2,36	1,74	0,30
16:0	215,73	215,21	15,92
16:1n7	30,80	36,15	3,94
17:0	5,52	4,16	0,63
17:1n8	2,11	1,89	0,33
18:0	95,06	86,65	3,51
18:1n9c	248,19	319,87	13,54
18:1n7	23,90	22,49	2,38
18:2n6c	33,07	33,06	5,64
18:3n6	1,14	0,96	0,09
18:3n3	5,41	3,66	1,59
20:0	1,70	1,78	0,17
20:1n9	5,91	6,43	0,43
20:2n6	1,17	0,93	0,12
20:3n6	0,56	0,44	0,06
20:4n6	0,58	0,19	0,01
20:3n3	nd	nd	0,00
20:5n3	0,38	2,73	0,58
22:0	nd	nd	
22:4n6	0,00	4,12	9,93
22:5n3	0,88	1,13	0,21
24:0	0,44	0,23	0,02
22:6n3	1,00	0,96	0,10
AGS	339,95	328,65	21,30
AGM	312,28	388,25	19,61
AGPI	44,38	48,25	11,65
n-3	7,68	8,47	1,03
n-6	36,71	39,77	11,29
n3/n6	0,21	0,22	0,05
ALA/LA	0,16	0,11	0,03
LA/ALA	6,11	9,67	1,82
ALA+LA	38,49	36,71	7,16
AGS+M	652,23	716,90	39,60

*Pool de 10 animais do lote inicial. AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; n3/n6 – relação ômega-3/ômega-6; ALA/LA – Relação 18:3n3/18:2n6; LA/ALA – Relação 18:2n-6/18:3n3; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Tabela 11 - Composição de ácidos graxos (mg de ácido graxo por grama de gordura) de corpo inteiro da etapa C2, dia 58 (primeira etapa com dietas experimentais T1 a T6)

	58 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
12:0	0,25	0,05	0,21	0,06	0,21	0,02	0,22	0,03	0,23	0,01	0,21	0,03
14:0	16,89	2,71	14,25	2,81	14,58	0,89	15,14	1,68	17,85	1,91	15,57	1,77
14:1n5	1,18	0,17	0,92	0,18	0,89	0,09	1,00	0,08	1,25	0,12	1,07	0,18
15:0	1,55	0,15	1,20	0,29	1,22	0,14	1,31	0,13	1,44	0,04	1,30	0,17
16:0	196,85	28,17	168,90	26,40	176,00	17,28	173,92	18,57	195,27	10,50	183,50	17,33
16:1n7	28,98	4,72	23,28	3,58	22,67	3,07	23,69	2,18	29,71	1,66	28,71	4,24
17:0	3,66	0,30	2,87	0,52	3,03	0,29	3,09	0,33	3,36	0,06	3,08	0,38
17:1n8	1,48	0,15	1,22	0,15	1,17	0,14	1,33	0,13	1,52	0,14	1,33	0,19
18:0	84,16	9,76	75,22	7,75	77,32	6,39	74,48	9,85	78,55	5,03	74,13	5,20
18:1n9c	293,78	37,58	259,81	29,69	258,49	26,51	253,48	31,82	277,06	14,29	272,65	21,12
18:1n7	20,02	2,42	16,30	2,24	16,72	2,62	16,88	2,09	19,78	0,09	17,91	2,32
18:2n6c	19,12	4,15	17,65	3,85	16,48	4,04	19,03	5,62	22,10	1,48	24,71	10,49
18:3n6	0,71	0,10	0,59	0,12	0,57	0,11	0,64	0,10	0,68	0,08	0,72	0,12
18:3n3	2,66	0,56	2,27	1,10	1,77	0,47	1,64	0,54	1,44	0,10	2,99	2,33
20:0	1,76	0,24	1,61	0,29	1,72	0,14	1,67	0,17	1,78	0,03	1,56	0,19
20:1n9	5,46	0,71	4,63	0,41	4,63	0,66	4,70	0,61	5,43	0,34	5,20	0,60
20:2n6	0,50	0,11	0,44	0,09	0,40	0,08	0,46	0,13	0,57	0,07	0,64	0,21
20:3n6	0,26	0,03	0,24	0,03	0,24	0,01	0,31	0,08	0,27	0,05	0,41	0,15
20:4n6	0,13	0,03	0,13	0,04	0,12	0,02	0,12	0,03	0,13	0,04	0,11	0,01
20:3n3	nd		nd		nd		nd		nd		nd	
20:5n3	3,61	0,47	3,06	0,52	3,73	0,41	3,07	0,13	2,64	0,27	2,59	0,71
22:0	nd		nd		nd		nd		nd		nd	
22:4n6	0,09	0,08	0,04	0,08	0,08	0,07	0,04	0,06	0,00	0,00	0,04	0,07
22:5n3	1,36	0,25	1,31	0,40	1,37	0,14	1,28	0,14	1,18	0,08	1,15	0,26
24:0	0,27	0,03	0,23	0,03	0,23	0,02	0,22	0,02	0,22	0,00	0,20	0,01
22:6n3	1,06	0,13	0,91	0,07	1,04	0,11	0,91	0,03	0,89	0,04	0,83	0,08
AGS	305,38	41,33	264,49	37,83	274,31	24,92	270,06	30,56	298,71	15,22	279,56	24,68
AGM	350,90	45,45	306,16	36,18	304,57	32,90	301,09	36,86	334,75	13,01	326,86	28,28
AGPI	29,61	5,59	26,67	4,18	25,83	4,69	27,58	6,28	30,03	1,38	34,27	12,17
n-3	8,70	1,39	7,55	0,48	7,91	0,65	6,90	0,39	6,15	0,29	7,56	1,37
n-6	20,91	4,27	19,12	3,90	17,92	4,24	20,68	5,89	23,89	1,66	26,71	10,81
n3/n6	0,42	0,04	0,40	0,06	0,46	0,09	0,35	0,10	0,26	0,03	0,30	0,07
ALA/LA	0,14	0,01	0,12	0,03	0,11	0,01	0,09	0,01	0,07	0,00	0,11	0,04
LA/ALA	7,18	0,63	8,38	1,90	9,37	0,59	11,71	0,80	15,41	1,08	9,78	2,91
ALA+LA	21,79	4,68	19,92	4,95	18,25	4,50	20,67	6,14	23,54	1,53	27,69	12,80
AGS+M	656,28	86,65	570,65	73,62	578,88	57,73	571,14	67,27	633,45	22,98	606,42	52,80

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; n3/n6 – relação ômega-3/ômega-6; ALA/LA – Relação 18:3n3/18:2n6; LA/ALA – Relação 18:2n6/18:3n3; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Tabela 12 - Composição de ácidos graxos (mg de ácido graxo por grama de gordura) de corpo inteiro da etapa C3, dia 82 (segunda etapa com dietas experimentais T1 a T6)

	82 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
12:0	0,22	0,03	0,17	0,00	0,17	0,03	0,20	0,02	0,20	0,01	0,22	0,02
14:0	15,14	1,38	12,75	0,61	13,08	2,64	14,91	1,49	15,83	0,77	16,63	0,92
14:1n5	0,96	0,07	0,79	0,07	0,76	0,15	0,92	0,12	0,95	0,04	0,91	0,16
15:0	1,32	0,20	1,12	0,06	1,05	0,18	1,05	0,10	1,16	0,11	1,26	0,16
16:0	169,26	14,10	166,87	2,71	174,84	28,61	180,26	16,93	187,19	6,74	194,53	18,82
16:1n7	22,13	1,05	19,96	1,12	19,63	4,42	21,80	2,63	22,05	0,03	30,26	2,49
17:0	3,30	0,29	2,98	0,15	2,87	0,43	2,90	0,27	3,12	0,31	3,24	0,35
17:1n8	1,22	0,19	0,99	0,08	0,84	0,13	0,93	0,20	1,06	0,10	1,36	0,23
18:0	85,00	1,45	77,24	0,83	85,05	17,74	78,44	10,38	75,66	3,86	78,98	9,84
18:1n9c	271,81	13,14	254,52	8,46	264,45	50,85	264,16	35,97	258,80	17,48	296,04	29,16
18:1n7	16,10	1,09	15,21	0,84	15,55	2,73	16,35	2,05	17,03	1,28	18,58	1,88
18:2n6c	10,74	2,52	11,86	2,73	12,52	2,88	12,14	3,30	15,10	1,84	18,45	1,00
18:3n6	0,66	0,11	0,59	0,04	0,56	0,04	0,55	0,04	0,60	0,03	0,66	0,00
18:3n3	2,13	0,09	1,91	0,23	1,40	0,23	1,06	0,23	0,97	0,14	1,74	0,35
20:0	1,79	0,08	1,78	0,02	1,91	0,20	1,89	0,19	2,01	0,22	1,67	0,16
20:1n9	4,50	0,38	4,07	0,08	4,21	0,91	4,22	0,59	4,53	0,56	5,76	0,67
20:2n6	0,27	0,07	0,28	0,05	0,29	0,07	0,26	0,06	0,34	0,03	0,50	0,04
20:3n6	0,19	0,03	0,22	0,00	0,25	0,07	0,21	0,05	0,26	0,01	0,26	0,01
20:4n6	0,14	0,02	0,13	0,01	0,14	0,01	0,13	0,01	0,14	0,00	0,14	0,01
20:3n3	nd		nd		nd		nd		nd		nd	
20:5n3	5,32	0,24	5,07	0,17	5,05	0,41	4,23	0,81	4,34	0,91	3,39	0,44
22:0	nd		nd		nd		nd		nd		nd	
22:4n6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,01	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07
22:5n3	1,93	0,21	1,74	0,15	1,80	0,24	1,87	0,17	1,66	0,31	1,61	0,27
24:0	0,32	0,00	0,28	0,01	0,28	0,03	0,28	0,02	0,26	0,01	0,25	0,03
22:6n3	1,26	0,03	1,10	0,06	1,10	0,12	1,15	0,14	1,11	0,10	1,08	0,09
AGS	276,35	17,53	263,19	4,40	279,24	49,86	279,94	29,40	285,44	10,46	296,79	30,29
AGM	316,72	15,92	295,55	10,65	305,45	59,20	308,39	41,56	304,42	19,34	352,91	34,28
AGPI	22,65	2,43	22,91	2,79	23,26	4,09	21,65	4,74	24,66	0,78	28,03	0,62
n-3	10,64	0,33	9,82	0,03	9,36	1,01	8,30	1,36	8,08	1,18	7,82	0,45
n-6	12,01	2,75	13,09	2,82	13,90	3,08	13,35	3,39	16,57	1,96	20,21	1,07
n3/n6	0,92	0,24	0,78	0,17	0,69	0,08	0,63	0,06	0,50	0,13	0,39	0,04
ALA/LA	0,20	0,04	0,16	0,02	0,11	0,01	0,09	0,00	0,06	0,00	0,09	0,01
LA/ALA	5,01	0,96	6,17	0,70	8,86	0,58	11,41	0,63	15,53	0,36	10,82	1,65
ALA+LA	12,87	2,62	13,77	2,95	13,92	3,11	13,19	3,53	16,08	1,99	20,19	1,36
AGS+M	593,08	33,45	558,74	15,05	584,68	109,06	588,33	70,96	589,86	29,80	649,70	64,57

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; n3/n6 – relação ômega-3/ômega-6; ALA/LA – Relação 18:3n3/18:2n6; LA/ALA – Relação 18:2n6/18:3n3; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Tabela 13 - Composição de ácidos graxos (mg de ácido graxo por grama de gordura) de corpo inteiro da etapa C4, dia 106 (terceira etapa com dietas experimentais T1 a T6)

	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
12:0	0,2	0,0	0,1	0,0	0,2	0,1	0,2	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0
14:0	11,8	2,1	10,9	1,7	13,7	4,3	13,3	3,6	14,3	4,1	17,3	2,5
14:1n5	0,7	0,2	0,6	0,1	0,7	0,2	0,7	0,2	0,7	0,2	1,0	0,2
15:0	1,1	0,2	1,0	0,1	1,1	0,3	1,1	0,3	1,2	0,4	1,4	0,2
16:0	150,7	25,9	147,2	18,5	113,4	78,6	186,9	45,5	197,8	54,2	220,9	30,6
16:1n7	18,8	4,1	16,0	2,4	18,8	6,1	17,6	5,5	18,4	4,8	30,0	4,0
17:0	2,9	0,4	2,6	0,3	3,2	0,6	3,0	0,6	3,4	0,7	3,5	0,7
17:1n8	1,0	0,2	0,8	0,1	1,0	0,3	1,0	0,3	1,1	0,3	1,3	0,2
18:0	74,2	8,4	70,1	10,8	88,1	20,8	86,8	18,9	85,5	20,9	89,3	14,3
18:1n9c	242,0	31,3	229,2	34,2	289,6	81,2	281,9	63,2	286,8	75,4	312,6	60,1
18:1n7	14,3	2,3	13,1	1,3	16,4	4,0	16,6	3,9	18,5	5,5	20,3	5,0
18:2n6c	10,2	1,5	12,5	6,3	16,4	8,8	13,6	6,7	13,2	4,4	16,7	7,0
18:3n6	0,4	0,1	0,4	0,0	0,5	0,1	0,5	0,1	0,6	0,2	0,6	0,2
18:3n3	2,1	0,4	2,3	1,6	2,4	1,1	1,4	0,7	0,7	0,3	1,6	0,7
20:0	1,6	0,2	1,6	0,2	2,1	0,4	2,7	1,2	2,4	0,7	2,0	0,4
20:1n9	4,0	0,6	3,6	0,4	4,4	1,0	4,6	1,2	4,9	1,2	6,1	1,2
20:2n6	0,3	0,1	0,3	0,1	0,4	0,2	0,3	0,2	0,3	0,1	0,4	0,3
20:3n6	0,2	0,0	0,2	0,0	0,3	0,1	0,3	0,1	0,3	0,1	0,3	0,1
20:4n6	0,1	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0,2	0,1
20:3n3	nd		nd		nd		nd		nd		nd	
20:5n3	4,4	0,4	4,0	0,9	5,0	0,4	5,7	0,5	5,9	1,3	4,5	0,1
22:0	nd		nd		nd		nd		nd		nd	
22:4n6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
22:5n3	1,6	0,1	1,4	0,3	1,8	0,0	2,3	0,1	2,1	0,5	1,9	0,1
24:0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,3	0,0	0,3	0,0	0,4	0,2	0,3	0,1
22:6n3	0,9	0,1	0,9	0,1	1,2	0,2	1,2	0,1	1,2	0,3	1,1	0,3
AGS	242,6	37,2	233,8	31,4	222,1	56,9	294,3	70,1	305,2	80,9	334,9	48,7
AGM	280,8	38,4	263,4	38,3	331,0	92,8	322,5	73,9	330,6	87,4	371,3	70,6
AGPI	20,3	2,3	22,2	7,4	28,2	10,0	25,5	8,6	24,6	7,4	27,5	8,8
n-3	9,0	0,9	8,7	1,2	10,3	1,1	10,6	1,4	9,9	2,5	9,1	1,1
n-6	11,3	1,7	13,6	6,6	17,9	9,3	14,9	7,2	14,7	5,0	18,4	7,7
n3/n6	0,8	0,1	0,7	0,2	0,7	0,3	0,8	0,2	0,7	0,1	0,5	0,1
ALA/LA	0,2	0,0	0,2	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0
LA/ALA	4,9	0,9	5,9	1,0	7,1	2,0	9,7	0,8	18,0	1,6	10,3	0,4
ALA+LA	12,3	1,6	14,8	7,9	18,8	9,7	15,0	7,5	14,0	4,7	18,3	7,7
AGS+M	523,5	75,4	497,2	69,6	553,0	57,7	616,8	144,0	635,8	168,1	706,2	119,2

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; n3/n6 – relação ômega-3/ômega-6; ALA/LA – Relação 18:3n3/18:2n6; LA/ALA – Relação 18:2n-6/18:3n3; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Os resultados das comparações das médias dos tratamentos T1 a T6 e das coletas C2 a C4, de composição de ácidos graxos de corpo inteiro, expressos como mg de cada ácido graxo por grama de gordura se apresentam, na Tabela 14. O ácido graxo (AG) 12:0 não apresentou diferença entre tratamentos e o teor na C3 não diferiu da C2 nem C4. O teor dos ácidos graxos 14:0 de T6 e T5 foi maior que T2; T1, T4 e T3 não apresentaram diferença com os outros tratamentos. O teor do ácido graxo 14:1n5 de T6 foi maior que T2 e os tratamentos T5, T1, T4 e T3 não diferiram dos demais. O ácido graxo 15:0 não apresentou diferença entre tratamentos e C2 foi maior que C3 e C4. O teor do AG 16:1n7 no T6 foi maior que nos outros tratamentos; seu teor no período C2 foi maior que em C3 e este foi maior que C4. A concentração do AG 17:1n8 no T6 foi maior que no T2 e T3; os teores de T1, T5 e T4 não diferiram dos demais; na C2 o teor deste AG foi maior que em C3 e C4. O teor do ácido graxo essencial 18:2n6 (LA) em C2 foi maior que em C4 e 3C. Os teores do AGE 18:3n6 (ALA) dos períodos C2 e C3 não apresentaram diferença entre si, e foram maiores que no C4. O teor do AG 20:1n9 do T6 foi maior que nos demais tratamentos. A concentração do AG 20:2n6 no período C2 foi maior que nos períodos C3 e C4. O teor de EPA (20:5n3) nos tratamentos T1 e T3 foi maior que no T6; os tratamentos T4, T5 e T2 não apresentaram diferença com os outros tratamentos; entre os períodos C4 e C3 não houve diferença, mas estes foram maiores que C2. O EPA foi o único ácido graxo onde a interação entre tratamento e períodos de coleta foi significativa. Se observa um incremento na concentração de 20:5n3 na coleta 4 (Figura 2). O teor de 22:6n3 (DHA) da coleta C3 foi maior que o da C2; a coleta C4 não apresentou diferença com as outras. A somatória de ácidos graxos n-3 foi maior nas coletas C4 e C3 que na coleta C2. A relação n3/n6 no T1 foi maior que em T5 e T6; os tratamentos T2, T3 e T4 não apresentaram diferença com T5 nem T1, e foram maiores que T6. A somatória de ácidos graxos essenciais (ALA+LA) da coleta C2 foi maior que nas coletas C4 e C3.

Tabela 14 - Análise estatística de composição de ácidos graxos de corpo inteiro de pacu.

AG	Teste de Levene (<i>p</i>)	Anova			
		Tratamento		Coleta	
		(<i>p</i>)	SNK*	(<i>p</i>)	SNK*
12:0	0,038267	0,06	ns	0,011	23>34
14:0	0,093221	0,017	65143>1432	0,032	ns
14:1n5	0,530	0,007	6514>5143>1432	0	2>3>4
15:0	0,061	0,075	ns	0,017	2>34
16:0	0,000347	0,026	ns	0,445	ns
16:1n7	0,076	0	6>51432	0	2>3>4
17:0	0,053	0,118	ns	0,698	ns
17:1n8	0,235	0,003	6154>15423	0	2>34
18:0	0,027	0,687	ns	0,448	ns
18:1n9c	0,019	0,377	ns	0,92	ns
18:1n7	0,006	0,041	ns	0,216	ns
18:2n6c	0,010	0,103	ns	0,001	2>43
18:3n6	0,049	0,059	ns	0,001	23>4
18:3n3	0,000001	0,02	ns	0,12	ns
20:0	0,000001	0,073	ns	0,018	ns
20:1n9	0,093	0,002	6>51432	0,154	ns
20:2n6	0,049	0,046	ns	0	2>43
20:3n6	0,000098	0,049	ns	0,088	ns
20:4n6	0,001174	0,818	ns	0,256	ns
20:3n3	-	-	-	-	-
20:5n3	0,013599	0,005	31452>4526	0	43>2
22:0	-	-	-	-	-
22:4n6	0,000176	0,103	ns	0,908	ns
22:5n3	0,060	0,154	ns	0	43>2
24:0	0,000	0,679	ns	0,017	ns
22:6n3	0,0011	0,544005	ns	0,00075	34>42
AGS	0,020497	0,079	ns	0,74	ns
AGM	0,022442	0,213	ns	0,916	ns
AGPI	0,009873	0,349	ns	0,037	ns
n-3	0,00673	0,069	ns	0	43>2
n-6	0,013	0,089	ns	0,001	ns
n3/n6	0,034709	0,001	1234>2345>56	0	43>2
ALA/LA	0,00031	0,000	12>23>364>645	0,007	ns
LA/ALA	0,006023	0,000	5>46>32>21	0,068	ns
ALA+LA	0,008	0,220	ns	0,001	2>43
AGS+M	0,026	0,112	ns	0,877	ns

* Os números representam as médias dos respectivos tratamentos experimentais, ordenados de forma descendente da esquerda à direita. O sinal “>” separa grupos de médias. Médias localizadas no mesmo grupo não apresentaram diferença significativa pelo teste SNK, para o valor de *p* estabelecido pelo teste de Levene. Quando o valor de *p* do teste de Levene foi maior que 0,05 o nível de significância de ANOVA e SNK foi mantido em 0,05.

Figura 2. Interação Tratamento x Coleta do teor de 20:5n3 em mg/g de gordura.

4.4. Consumo líquido de ácidos graxos

O consumo individual de ácidos graxos expresso em micromol por grama de peixe por dia, do primeiro período (C1 – 34 dias) é apresentado na tabela 15 e dos períodos C2, C3 e C4 nas tabelas 16, 17 e 18 respectivamente.

Tabela 15 - Consumo (micromol por grama por dia) de ácidos graxos individuais no período C1 (aclimação, 34 dias), de juvenis de pacu alimentados com a ração T6

AG	34 dias (n=6)	
	Consumo	EP
12:0	0,002	0,000
14:0	0,056	0,005
14:1n5	0,006	0,000
15:0	0,004	0,001
16:0	1,091	0,090
16:1n7	0,181	0,015
17:0	0,010	0,001
17:1n8	0,006	0,001
18:0	0,321	0,026
18:1n9c	1,912	0,154
18:1n7	0,100	0,009
18:2n6c	1,677	0,131
18:3n6	0,014	0,001
18:3n3	1,273	0,101
20:0	0,012	0,001
20:1n9	0,027	0,002
20:2n6	0,010	0,001
20:3n6	0,010	0,001
20:4n6	0,012	0,001
20:3n3	0,011	0,001
20:5n3	0,001	0,000
22:0	0,009	0,001
22:4n-6	0,006	0,001
22:5n3	0,003	0,000
24:0	0,003	0,000
22:6n3	0,008	0,001
AGS	1,508	0,124
AGM	2,231	0,181
AGPI	3,024	0,238
n-3	1,296	0,103
n-6	1,728	0,135
n3/n6	0,750	0,003
ALA/LA	0,759	0,003
LA/ALA	1,318	0,006
ALA+LA	2,949	0,232
AGS+M	3,739	0,305

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; n3/n6 – relação ômega-3/ômega-6; ALA/LA – Relação 18:3n3/18:2n6; LA/ALA – Relação 18:2n-6/18:3n3; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Tabela 16 - Consumo (micromol por grama por dia) de ácidos graxos individuais no período C2 (58 dias) de juvenis de pacu.

Consumo de ácidos graxos - 58 dias (n=3)												
AG	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
12:0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000
14:0	0,002	0,001	0,003	0,001	0,003	0,001	0,002	0,001	0,003	0,001	0,041	0,003
14:1n5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,000
15:0	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000
16:0	0,337	0,099	0,468	0,137	0,503	0,088	0,357	0,095	0,424	0,102	0,797	0,057
16:1n7	0,005	0,002	0,006	0,002	0,005	0,001	0,003	0,001	0,004	0,001	0,131	0,009
17:0	0,008	0,002	0,006	0,002	0,005	0,001	0,003	0,001	0,004	0,001	0,008	0,001
17:1n8	0,002	0,001	0,002	0,001	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,000	0,005	0,000
18:0	0,243	0,072	0,265	0,077	0,238	0,041	0,138	0,037	0,138	0,033	0,233	0,017
18:1n9c	0,993	0,292	1,264	0,370	1,249	0,219	0,811	0,217	0,919	0,221	1,392	0,101
18:1n7	0,035	0,010	0,051	0,015	0,056	0,010	0,041	0,011	0,050	0,012	0,074	0,005
18:2n6c	0,737	0,216	1,356	0,399	1,687	0,291	1,308	0,351	1,685	0,407	1,227	0,090
18:3n6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,010	0,001
18:3n3	2,284	0,674	2,380	0,695	1,793	0,312	0,823	0,221	0,608	0,147	0,924	0,065
20:0	0,007	0,002	0,009	0,003	0,011	0,002	0,008	0,002	0,009	0,002	0,009	0,001
20:1n9	0,005	0,001	0,007	0,002	0,008	0,001	0,006	0,001	0,007	0,002	0,020	0,001
20:2n6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,008	0,001
20:3n6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,007	0,001
20:4n6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,008	0,001
20:3n3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,008	0,001
20:5n3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,001	0,000
22:0	0,005	0,002	0,009	0,003	0,011	0,002	0,008	0,002	0,011	0,003	0,007	0,000
22:4n6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,004	0,000
22:5n3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,002	0,000
24:0	0,002	0,001	0,003	0,001	0,004	0,001	0,003	0,001	0,003	0,001	0,002	0,000
22:6n3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,006	0,000
AGS	0,607	0,178	0,764	0,224	0,776	0,136	0,520	0,138	0,592	0,142	1,102	0,079
AGM	1,040	0,305	1,330	0,390	1,320	0,232	0,862	0,230	0,982	0,236	1,626	0,118
AGPI	3,021	0,890	3,737	1,093	3,479	0,603	2,131	0,572	2,293	0,554	2,205	0,159
n-3	2,284	0,674	2,380	0,695	1,793	0,312	0,823	0,221	0,608	0,147	0,941	0,066
n-6	0,737	0,216	1,356	0,399	1,687	0,291	1,308	0,351	1,685	0,407	1,264	0,093
n3/n6	3,099	0,006	1,756	0,010	1,063	0,001	0,629	0,001	0,361	0,000	0,745	0,002
ALA/LA	3,099	0,006	1,756	0,010	1,063	0,001	0,629	0,001	0,361	0,000	0,753	0,002
LA/ALA	0,323	0,001	0,570	0,003	0,941	0,001	1,591	0,001	2,772	0,003	1,327	0,004
ALA+LA	3,021	0,890	3,737	1,093	3,479	0,603	2,131	0,572	2,293	0,554	2,151	0,155
AGS+M	1,647	0,483	2,094	0,614	2,096	0,367	1,383	0,369	1,575	0,379	2,728	0,196

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; n3/n6 – relação ômega-3/ômega-6; ALA/LA – Relação 18:3n3/18:2n6; LA/ALA – Relação 18:2n-6/18:3n3; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Tabela 17 - Consumo (micromol por grama por dia) de ácidos graxos individuais no período C3 (82dias) de juvenis de pacu.

Consumo de ácidos graxos - 82 dias (n=3)												
AG	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
12:0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000
14:0	0,002	0,001	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,001	0,003	0,000	0,042	0,003
14:1n5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,000
15:0	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000
16:0	0,370	0,027	0,426	0,071	0,468	0,032	0,419	0,040	0,496	0,028	0,813	0,067
16:1n7	0,005	0,001	0,004	0,001	0,004	0,001	0,003	0,000	0,004	0,000	0,134	0,011
17:0	0,009	0,001	0,005	0,001	0,005	0,000	0,004	0,000	0,005	0,000	0,009	0,001
17:1n8	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,000	0,005	0,000
18:0	0,268	0,018	0,242	0,042	0,223	0,015	0,164	0,015	0,163	0,009	0,239	0,020
18:1n9c	1,100	0,074	1,159	0,201	1,172	0,078	0,966	0,090	1,085	0,062	1,419	0,116
18:1n7	0,039	0,003	0,047	0,008	0,053	0,004	0,048	0,005	0,060	0,003	0,075	0,006
18:2n6c	0,824	0,056	1,257	0,218	1,605	0,108	1,583	0,129	1,998	0,111	1,251	0,103
18:3n6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,010	0,001
18:3n3	2,535	0,165	2,191	0,386	1,700	0,115	0,999	0,083	0,720	0,042	0,943	0,077
20:0	0,008	0,001	0,009	0,002	0,010	0,001	0,010	0,001	0,011	0,001	0,009	0,001
20:1n9	0,005	0,000	0,006	0,001	0,007	0,000	0,006	0,001	0,008	0,000	0,020	0,002
20:2n6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,008	0,001
20:3n6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,007	0,001
20:4n6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,009	0,001
20:3n3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,008	0,001
20:5n3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,001	0,000
22:0	0,006	0,000	0,008	0,001	0,011	0,001	0,010	0,001	0,013	0,001	0,007	0,001
22:4n-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,004	0,000
22:5n3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,003	0,000
24:0	0,003	0,000	0,003	0,001	0,004	0,000	0,003	0,000	0,004	0,000	0,002	0,000
22:6n3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,006	0,000
AGS	0,667	0,048	0,697	0,117	0,724	0,049	0,613	0,058	0,694	0,039	1,125	0,092
AGM	1,151	0,079	1,219	0,210	1,238	0,083	1,026	0,096	1,159	0,066	1,657	0,136
AGPI	3,359	0,222	3,447	0,604	3,305	0,222	2,582	0,212	2,719	0,153	2,250	0,184
n-3	2,535	0,165	2,191	0,386	1,700	0,115	0,999	0,083	0,720	0,042	0,961	0,078
n-6	0,824	0,056	1,257	0,218	1,605	0,108	1,583	0,129	1,998	0,111	1,289	0,106
n3/n6	3,075	0,018	1,743	0,016	1,060	0,006	0,631	0,001	0,361	0,001	0,745	0,007
ALA/LA	3,075	0,018	1,743	0,016	1,060	0,006	0,631	0,001	0,361	0,001	0,754	0,007
LA/ALA	0,325	0,002	0,574	0,005	0,944	0,005	1,586	0,004	2,774	0,009	1,326	0,013
ALA+LA	3,359	0,222	3,447	0,604	3,305	0,222	2,582	0,212	2,719	0,153	2,195	0,180
AGS+M	1,818	0,126	1,916	0,328	1,962	0,131	1,639	0,154	1,853	0,104	2,782	0,228

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; n3/n6 – relação ômega-3/ômega-6; ALA/LA – Relação 18:3n3/18:2n6; LA/ALA – Relação 18:2n-6/18:3n3; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Tabela 18 - Consumo (micromol por grama por dia) de ácidos graxos individuais no período C4 (106 dias) de juvenis de pacu.

Consumo de ácidos graxos 106 dias (n=3)												
AG	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
12:0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000
14:0	0,002	0,001	0,002	0,001	0,002	0,000	0,002	0,000	0,003	0,000	0,038	0,004
14:1n5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,000
15:0	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000
16:0	0,361	0,021	0,395	0,049	0,427	0,019	0,425	0,043	0,484	0,007	0,738	0,071
16:1n7	0,004	0,001	0,003	0,001	0,003	0,000	0,003	0,001	0,004	0,001	0,121	0,012
17:0	0,009	0,000	0,005	0,001	0,004	0,000	0,004	0,001	0,004	0,000	0,008	0,001
17:1n8	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,000	0,004	0,000
18:0	0,265	0,010	0,225	0,028	0,204	0,010	0,167	0,015	0,159	0,002	0,216	0,021
18:1n9c	1,081	0,043	1,078	0,132	1,066	0,053	0,982	0,090	1,059	0,013	1,290	0,130
18:1n7	0,039	0,002	0,043	0,005	0,048	0,002	0,048	0,005	0,058	0,001	0,069	0,007
18:2n6c	0,818	0,034	1,177	0,144	1,451	0,088	1,602	0,134	1,951	0,039	1,141	0,117
18:3n6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,009	0,001
18:3n3	2,512	0,070	2,048	0,251	1,546	0,084	1,011	0,081	0,707	0,016	0,855	0,089
20:0	0,008	0,000	0,008	0,001	0,009	0,001	0,010	0,001	0,011	0,000	0,008	0,001
20:1n9	0,005	0,001	0,006	0,001	0,006	0,000	0,006	0,001	0,008	0,000	0,018	0,002
20:2n6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,007	0,001
20:3n6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,007	0,001
20:4n6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,008	0,001
20:3n3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,007	0,001
20:5n3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,001	0,000
22:0	0,006	0,000	0,008	0,001	0,010	0,001	0,010	0,001	0,012	0,000	0,006	0,001
22:4n-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,004	0,000
22:5n3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,002	0,000
24:0	0,003	0,000	0,003	0,000	0,003	0,000	0,003	0,000	0,004	0,000	0,002	0,000
22:6n3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,005	0,001
AGS	0,655	0,033	0,646	0,080	0,661	0,030	0,622	0,061	0,678	0,009	1,020	0,098
AGM	1,131	0,046	1,132	0,139	1,126	0,055	1,041	0,097	1,131	0,014	1,505	0,151
AGPI	3,329	0,103	3,224	0,395	2,996	0,172	2,613	0,215	2,658	0,054	2,046	0,211
n-3	2,512	0,070	2,048	0,251	1,546	0,084	1,011	0,081	0,707	0,016	0,870	0,091
n-6	0,818	0,034	1,177	0,144	1,451	0,088	1,602	0,134	1,951	0,039	1,176	0,121
n3/n6	3,072	0,040	1,740	0,012	1,066	0,007	0,631	0,003	0,362	0,002	0,740	0,001
ALA/LA	3,072	0,040	1,740	0,012	1,066	0,007	0,631	0,003	0,362	0,002	0,749	0,001
LA/ALA	0,326	0,004	0,575	0,004	0,938	0,006	1,585	0,007	2,761	0,018	1,335	0,002
ALA+LA	3,329	0,103	3,224	0,395	2,996	0,172	2,613	0,215	2,658	0,054	1,996	0,206
AGS+M	1,786	0,079	1,778	0,219	1,787	0,085	1,663	0,158	1,809	0,023	2,525	0,249

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; n3/n6 – relação ômega-3/ômega-6; ALA/LA – Relação 18:3n3/18:2n6; LA/ALA – Relação 18:2n-6/18:3n3; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Na tabela 19 se apresentam os resultados das análises de variância das médias de consumo individual de ácidos graxos expresso em micromol por grama de peixe por dia, dos tratamentos T1 a T6 e dos períodos de coleta C2 a C4. Não foi observada diferença significativa entre coletas nem significância da interação Tratamento x Coleta.

Se observou diferença significativa entre o consumo de ácidos graxos dos diferentes tratamentos. Claramente, e de acordo com o esperado, a concentração dos ácidos graxos na dieta influenciou diretamente sobre o consumo dos ácidos graxos. Os ácidos graxos saturados e monoinsaturados foram consumidos em maior quantidade no T6, lembrando que este tratamento apresentou maiores teores destes grupos de ácidos graxos. O consumo de ácidos graxos polinsaturados (ácidos graxos essenciais) apresentou a mesma relação, sendo que ALA, foi consumido em maior quantidade nos primeiros tratamentos (T1, T2, T3) e LA foi consumido em maior quantidade nos tratamentos T5, T4, T3.

4.5. Coeficientes de digestibilidade aparente de ácidos graxos (CDA AG)

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos ácidos graxos presentes na ração controle (T6) fornecida durante os primeiros 34 dias são apresentados na tabela 20. Nas tabelas 21, 22 e 23 são apresentados os CDA dos ácidos graxos das rações experimentais (T1 a T6) determinados nos períodos C2, C3 e C4 (58, 82 e 106 dias) respectivamente.

Os CDA de 100% correspondem a AG que não foram detectados nas fezes, mas se encontravam presentes no alimento.

Tabela 19 - Análise estatística de consumo de ácidos graxos individuais de juvenis de pacu, alimentados com dietas experimentais nos períodos C2 (58 dias), C3 (82 dias) e C4 (106 dias).

AG	Teste de Levene (<i>p</i>)	Anova				
		Tratamento		Coleta		Interação
		(<i>p</i>)	SNK*	(<i>p</i>)	SNK*	(<i>p</i>)
12:0	-	-	-	-	-	-
14:0	0,000	0,000	6>53214	0,118	ns	0,398
14:1n5	-	-	-	-	-	-
15:0	0,018	0,000	6>2314>45	0,025	ns	0,870
16:0	0,015	0,000	6>5324>241	0,481	ns	0,597
16:1n7	0,000	0,000	6<12354	0,153	ns	0,445
17:0	0,002	0,000	16>2354	0,203	ns	0,803
17:1n8	0,010	0,000	6>32514	0,46	ns	0,612
18:0	0,001	0,000	1263>45	0,639	ns	0,732
18:1n9c	0,004	0,000	623>23154	0,556	ns	0,642
18:1n7	0,023	0,000	6>5324>241	0,46	ns	0,580
18:2n6c	0,009	0,000	5>34>426>1	0,431	ns	0,438
18:3n6	-	-	-	-	-	-
18:3n3	0,000028	0,000	12>23>465	0,756	ns	0,838
20:0	0,008	0,000	53426>4261	0,461	ns	0,540
20:1n9	0,032	0,000	6>5324>241	0,371	ns	0,685
20:2n6	-	-	-	-	-	-
20:3n6	-	-	-	-	-	-
20:4n6	-	-	-	-	-	-
20:3n3	-	-	-	-	-	-
20:5n3	-	-	-	-	-	-
22:0	0,006	0,000	53>34>42>26>61	0,491	ns	0,428
22:4n6	-	-	-	-	-	-
22:5n3	-	-	-	-	-	-
24:0	0,007	0,000	3542>421>16	0,435	ns	0,549
22:6n3	-	-	-	-	-	-
AGS	0,007	0,000	6>32514	0,518	ns	0,638
AGM	0,005178	0,000	6>32154	0,538	ns	0,639
AGPI	0,001	0,000	2315>546	0,616	ns	0,687
n-3	0,000029	0,000	12>23>465	0,754	ns	0,838
n-6	0,009	0,000	5>34>426>1	0,43	ns	0,438
n3/n6	0,000004	0,000	1>2>3>6>4>5	0,186	ns	0,523
ALA/LA	0,000004	0,000	1>2>3>6>4>5	0,187	ns	0,521
LA/ALA	0,003	0,000	5>4>6>3>2>1	0,835	ns	0,273
ALA+LA	0,001	0,000	2315>3154>546	0,618	ns	0,687
AGS+M	0,006	0,000	6>32154	0,531	ns	0,639

* Os números representam as médias dos respectivos tratamentos experimentais, ordenados de forma decrescente da esquerda à direita. O sinal “>” separa grupos de médias. Médias localizadas no mesmo grupo não apresentaram diferença significativa pelo teste SNK, para o valor de *p* estabelecido pelo teste de Levene. Quando o valor de *p* do teste de Levene foi maior que 0,05 o nível de significância de ANOVA e SNK foi mantido em 0,05. AG – ácido graxo

Tabela 20 – Coeficientes de digestibilidade aparente (%) dos ácidos graxos presentes na dieta T6, do período C1 (aclimação, 34 dias)

AG	34 dias (n=6)	
	CDA T6	
	Média	EP
12:0	82,02	2,90
14:0	95,99	0,78
14:1n5	100,00	0,00
15:0	82,47	4,91
16:0	96,25	0,50
16:1n7	98,60	0,19
17:0	81,74	3,63
17:1n8	96,71	0,29
18:0	97,24	0,33
18:1n9c	97,58	0,26
18:1n7	93,79	1,83
18:2n6c	96,69	0,51
18:3n6	96,89	1,01
18:3n3	99,40	0,11
20:0	94,92	0,54
20:1n9	95,70	0,90
20:2n6	97,61	0,35
20:3n6	98,54	0,18
20:4n6	98,75	0,22
20:3n3	100,00	0,00
20:5n3	81,37	5,85
22:0	100,00	0,00
22:4n-6	96,52	1,85
22:5n3	100,00	0,00
24:0	89,02	1,19
22:6n3	96,66	0,38
AGS	95,33	1,69
AGM	96,61	1,23
AGPI	97,65	0,49
n-3	99,32	0,12
n-6	96,44	0,78
ALA+LA	97,70	0,48
AGS+M	94,98	1,29

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Tabela 21 - Coeficientes de digestibilidade aparente (%) dos ácidos graxos presentes nas dietas experimentais, do período C2 (58 dias)

58 dias (n=3)												
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
AG	CDA	EP	CDA	EP	CDA	EP	CDA	EP	CDA	EP	CDA	EP
12:0	-		-		-		-		-		89,93	1,78
14:0	73,93	0,32	67,25	3,19	73,09	0,27	76,94	2,02	77,13	5,46	96,86	0,19
14:1n5	-		-		-		-		-		100,00	0,00
15:0	53,89	9,60	57,84	12,73	69,89	0,27	68,27	1,77	46,96	7,92	90,20	0,29
16:0	95,47	0,15	93,75	0,45	95,28	0,10	95,98	0,39	96,00	0,42	96,83	0,23
16:1n7	90,23	0,94	85,66	0,54	82,20	2,38	83,59	0,40	87,53	1,13	98,68	0,21
17:0	94,38	1,89	84,58	7,88	83,18	5,70	84,94	3,15	89,41	0,90	93,89	1,61
17:1n8	95,84	0,08	95,57	0,27	95,81	0,62	96,15	0,47	95,13	1,07	98,22	0,36
18:0	98,58	0,06	97,52	0,00	97,65	0,05	97,70	0,09	97,31	0,54	97,42	0,27
18:1n9c	97,74	0,07	96,74	0,31	97,38	0,07	97,52	0,19	97,26	0,47	97,88	0,33
18:1n7	93,05	0,33	92,10	1,59	93,51	0,40	94,52	0,43	94,40	0,75	96,15	0,32
18:2n6c	96,63	0,14	95,92	0,58	97,23	0,22	97,75	0,10	97,96	0,20	97,41	0,40
18:3n6	-		-		-		-		-		95,09	2,11
18:3n3	99,70	0,06	99,40	0,05	99,32	0,11	99,29	0,02	99,17	0,10	99,43	0,14
20:0	96,00	0,03	94,84	0,58	96,56	0,26	97,21	0,28	96,61	0,24	96,26	0,55
20:1n9	88,88	1,49	88,16	2,68	91,79	0,59	93,32	0,25	93,25	0,05	97,16	0,37
20:2n6	-		-		-		-		-		98,72	0,04
20:3n6	-		-		-		-		-		98,67	0,12
20:4n6	-		-		-		-		-		98,90	0,11
20:3n3	-		-		-		-		-		100,00	0,00
20:5n3	-		-		-		-		-		85,03	4,00
22:0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
22:4n-6	-		-		-		-		-		100,00	0,00
22:5n3	-		-		-		-		-		100,00	0,00
24:0	93,09	0,47	91,89	1,61	93,81	0,72	94,39	1,20	94,74	0,72	89,63	0,50
22:6n3	-		-		-		-		-		97,11	0,55
AGS	96,60	0,15	94,91	0,38	95,88	0,01	96,32	0,33	96,19	0,47	96,91	0,23
AGM	97,44	0,12	96,38	0,42	97,02	0,02	97,22	0,24	97,02	0,49	97,84	0,32
AGPI	98,90	0,01	98,06	0,25	98,25	0,17	98,30	0,07	98,21	0,17	98,24	0,29
n-3	99,69	0,05	99,38	0,05	99,29	0,12	99,26	0,03	99,12	0,13	99,40	0,12
n-6	96,54	0,13	95,83	0,58	97,17	0,23	97,70	0,10	97,89	0,18	97,40	0,42
ALA+LA	98,93	0,01	98,10	0,25	98,29	0,17	98,34	0,07	98,28	0,18	98,26	0,29
AGS+M	97,14	0,13	95,86	0,41	96,61	0,02	96,89	0,28	96,72	0,48	97,48	0,29

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Tabela 22 - Coeficientes de digestibilidade aparente (%) dos ácidos graxos presentes nas dietas experimentais, do período C3 (82 dias)

AG	82 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	CDA	EP	CDA	EP	CDA	EP	CDA	EP	CDA	EP	CDA	EP
12:0	-		-		-		-		-		90,40	2,99
14:0	60,75	22,21	56,78	8,17	58,79	9,07	49,59	11,57	67,31	2,24	96,56	1,07
14:1n5	-		-		-		-		-		100,00	0,00
15:0	51,21	16,66	53,81	20,10	61,97	2,19	51,76	7,05	43,59	3,87	86,23	4,29
16:0	94,43	2,53	93,12	1,11	93,67	1,94	93,00	1,07	95,01	0,34	96,84	0,98
16:1n7	76,18	17,92	69,62	6,97	64,01	12,40	68,68	0,43	72,84	1,86	98,61	0,43
17:0	94,35	2,73	89,46	2,35	90,11	1,66	87,33	0,86	90,22	0,67	94,83	1,61
17:1n8	94,27	1,84	94,43	0,98	94,32	0,75	93,71	1,22	94,89	0,35	97,35	0,83
18:0	98,03	1,09	97,12	0,79	96,62	0,85	95,64	0,87	96,78	0,22	97,79	0,69
18:1n9c	97,67	1,01	96,62	0,50	96,51	1,19	95,74	0,85	97,07	0,20	97,84	0,67
18:1n7	92,87	3,51	92,69	1,20	93,44	1,61	92,75	1,22	94,21	0,40	95,64	1,36
18:2n6c	97,51	0,58	96,84	1,00	97,67	0,65	97,61	0,42	98,21	0,36	97,39	1,11
18:3n6	-		-		-		-		-		98,09	0,59
18:3n3	99,84	0,02	99,62	0,12	99,48	0,12	99,48	0,21	99,36	0,04	99,49	0,16
20:0	96,66	1,23	96,25	0,78	96,74	0,90	96,43	0,06	96,89	0,21	96,61	1,06
20:1n9	87,68	5,07	89,18	3,91	89,45	2,03	81,85	7,60	90,15	0,68	95,85	1,29
20:2n6	-		-		-		-		-		97,66	0,73
20:3n6	-		-		-		-		-		98,97	0,32
20:4n6	-		-		-		-		-		98,81	0,37
20:3n3	-		-		-		-		-		100,00	0,00
20:5n3	-		-		-		-		-		79,38	6,43
22:0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
22:4n-6	-		-		-		-		-		98,53	0,46
22:5n3	-		-		-		-		-		100,00	0,00
24:0	95,22	1,86	93,79	1,76	94,80	1,91	94,69	1,45	94,29	0,39	91,22	2,74
22:6n3	-		-		-		-		-		97,22	0,87
AGS	95,77	1,99	94,42	0,99	94,53	1,57	93,62	1,01	95,32	0,32	97,00	0,93
AGM	97,32	1,20	96,28	0,52	96,18	1,27	95,36	0,92	96,74	0,22	97,76	0,70
AGPI	99,23	0,17	98,55	0,44	98,55	0,39	98,24	0,31	98,46	0,28	98,27	0,71
n-3	99,83	0,02	99,60	0,13	99,45	0,13	99,43	0,22	99,28	0,05	99,45	0,17
n-6	97,45	0,62	96,78	1,00	97,62	0,66	97,51	0,36	98,17	0,36	97,41	1,10
ALA+LA	99,25	0,16	98,58	0,44	98,59	0,38	98,32	0,34	98,51	0,28	98,28	0,71
AGS+M	96,77	1,48	95,62	0,69	95,58	1,38	94,73	0,95	96,22	0,26	97,46	0,79

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Tabela 23 - Coeficientes de digestibilidade aparente (%) dos ácidos graxos presentes nas dietas experimentais, do período C4 (106 dias)

AG	106 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	CDA	EP	CDA	EP	CDA	EP	CDA	EP	CDA	EP	CDA	EP
12:0	-		-		-		-		-		90,45	0,54
14:0	56,52	19,38	47,77	14,56	63,90	10,42	54,39	9,37	68,43	12,35	96,60	1,22
14:1n5	-		-		-		-		-		100,00	0,00
15:0	51,36	15,16	48,50	16,17	44,21	37,07	42,54	12,63	25,48	16,29	88,43	1,53
16:0	93,06	3,27	92,21	2,99	94,02	0,89	92,84	2,28	94,14	2,69	97,27	0,84
16:1n7	65,91	17,83	58,25	19,12	66,56	6,92	55,16	16,72	72,35	12,67	98,67	0,46
17:0	94,35	1,77	84,26	6,02	83,86	2,09	84,68	4,61	84,45	6,40	92,94	1,57
17:1n8	94,55	3,28	93,06	2,41	93,72	1,64	93,13	1,97	93,08	2,17	98,14	0,33
18:0	97,79	1,01	96,50	1,38	97,31	0,48	96,08	1,05	96,48	1,53	97,74	0,80
18:1n9c	96,90	1,52	96,07	1,69	96,64	0,44	95,93	1,38	96,29	1,71	98,33	0,43
18:1n7	93,15	3,07	91,13	2,24	93,02	1,23	91,57	1,63	93,18	2,34	96,54	0,51
18:2n6c	97,61	1,37	96,97	0,73	97,12	0,75	97,39	0,52	97,44	1,10	98,28	0,21
18:3n6	-		-		-		-		-		98,19	0,24
18:3n3	99,83	0,09	99,60	0,07	99,50	0,11	99,27	0,08	99,04	0,46	99,69	0,04
20:0	96,30	1,63	95,50	1,18	96,36	0,20	96,15	0,63	96,33	1,63	97,29	0,67
20:1n9	87,80	6,22	85,20	3,84	88,39	3,34	85,22	2,42	87,16	3,97	96,71	0,35
20:2n6	-		-		-		-		-		97,83	0,40
20:3n6	-		-		-		-		-		99,06	0,27
20:4n6	-		-		-		-		-		99,03	0,32
20:3n3	-		-		-		-		-		100,00	0,00
20:5n3	-		-		-		-		-		84,46	2,29
22:0	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00
22:4n-6	-		-		-		-		-		99,60	0,40
22:5n3	-		-		-		-		-		100,00	0,00
24:0	94,78	3,04	93,81	0,10	95,10	1,32	93,76	1,30	95,63	1,83	94,10	0,27
22:6n3	-		-		-		-		-		97,74	0,22
AGS	94,91	2,31	93,54	2,44	94,91	0,77	93,61	1,93	94,59	2,41	97,30	0,84
AGM	96,55	1,63	95,62	1,81	96,28	0,49	95,45	1,47	95,93	1,81	98,24	0,44
AGPI	99,25	0,42	98,58	0,32	98,28	0,44	98,05	0,36	97,81	0,95	98,86	0,14
n-3	99,82	0,10	99,57	0,07	99,47	0,12	99,23	0,09	98,98	0,48	99,66	0,04
n-6	97,56	1,39	96,91	0,75	97,05	0,78	97,33	0,53	97,39	1,12	98,28	0,21
ALA+LA	99,27	0,41	98,62	0,32	98,33	0,42	98,11	0,35	97,86	0,93	98,88	0,14
AGS+M	95,96	1,86	94,88	2,03	95,79	0,59	94,78	1,64	95,45	2,03	97,87	0,60

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Os resultados das comparações das médias dos CDA de ácidos graxos das dietas experimentais T1 a T6 e dos períodos de coleta C2 a C4 são apresentados na tabela 24.

O T6 apresentou maiores CDA que os tratamento T1 a T5, nos ácidos graxos: 14:0, 15:0, 16:0, 16:1n7, 17:1n8, 18:1n7, 20:1n9 e a somatória de ácidos graxos saturados (AGS). Os CDA de 16:0, 16:1n7, 17:1n8, 18:0 e da somatória de ácidos graxos saturados foram maiores na coleta C2 que nas coletas C3 e C4. Os CDA de 18:2n6 e da somatória de ácidos graxos n-6 de T5, T6 e T4 foram maiores que T2, enquanto T3 e T1 não apresentaram diferença com os outros tratamentos. O CDA de 18:3n3 e da somatória de ácidos graxos n-3 do T1 foi maior que o CDA de T3, T4 e T5, enquanto T2 e T6 não apresentaram diferença com T1, nem com T3 e T4. O CDA de 24:0 de T6 foi menor que todos os demais tratamentos. O CDA da somatória de ácidos graxos monoinsaturados do T6 foi maior que T5, T2, T3 e T4, enquanto T1 não diferiu de nenhum tratamento. O CDA da somatória de ácidos graxos polinsaturados e da somatória de ácidos graxos essenciais (ALA+LA) do T1 foi maior que os CDA dos demais tratamentos.

Tabela 24 - Análise estatística de coeficientes de digestibilidade aparente (%) dos ácidos graxos presentes nas rações experimentais de juvenis de pacu, dos períodos C2 (58 dias), C3 (82 dias) e C4 (106 dias).

AG	Teste de Levene (<i>p</i>)	Anova				
		Tratamento		Coleta		Interação
		(<i>p</i>)	SNK*	(<i>p</i>)	SNK*	(<i>p</i>)
12:0	-	-	-	-	-	-
14:0	0,001	0,000	6>53142	0,00	ns	0,544
14:1n5	-	-	-	-	-	-
15:0	0,001	0,000	6>34215	0,012	ns	0,795
16:0	0,037	0,000	6>51342	0,014	2>34	0,823
16:1n7	0,001	0,000	6>51234	0,00	2>34	0,401
17:0	0,065	0,000	16>5234	0,015	3>24	0,748
17:1n8	0,018	0,000	6>13524	0,002	2>34	0,782
18:0	0,067	0,002	16>6325>3254	0,015	2>34	0,427
18:1n9c	0,062	0,004	61>15324	0,059	ns	0,677
18:1n7	0,010	0,000	6>53142	0,297	ns	0,842
18:2n6c	0,037	0,005	56431>312	0,202	ns	0,359
18:3n6	-	-	-	-	-	-
18:3n3	0,000186	0,000	126>2634>345	0,010	ns	0,228
20:0	0,014	0,048	ns	0,422	ns	0,506
20:1n9	0,004	0,000	6>53124	0,005	ns	0,162
20:2n6	-	-	-	-	-	-
20:3n6	-	-	-	-	-	-
20:4n6	-	-	-	-	-	-
20:3n3	-	-	-	-	-	-
20:5n3	-	-	-	-	-	-
22:0	-	-	-	-	-	-
22:4n6	0,000402	0,000	6>54321	0,0000322	24>43	0,000
22:5n3	-	-	-	-	-	-
24:0	0,109	0,001	53142>6	0,010	43>2	0,304
22:6n3	-	-	-	-	-	-
AGS	0,047	0,001	6>15342	0,013	2>34	0,769
AGM	0,066	0,001	61>15324	0,051	ns	0,731
AGPI	0,024	0,000	1>62345	0,238	ns	0,300
n-3	0,000262	0,000	126>2634>345	0,021	ns	0,306
n-6	0,030	0,004	56431>312	0,192	ns	0,352
ALA+LA	0,026	0,000	1>62345	0,236	ns	0,293

* Os números representam as médias dos respectivos tratamentos experimentais, ordenados de forma descendente da esquerda à direita. O sinal “>” separa grupos de médias. Médias localizadas no mesmo grupo não apresentaram diferença significativa pelo teste SNK, para o valor de *p* estabelecido pelo teste de Levene. Quando o valor de *p* do teste de Levene foi maior que 0,05 o nível de significância de ANOVA e SNK foi mantido em 0,05.

4.6. Aparecimento ou desaparecimento de ácidos graxos

Na Tabela 25 se apresentam os valores de aparecimento (valores positivos) ou desaparecimento (valores negativos) de ácidos graxos, expressos como micromol de ácido graxo aparecido ou desaparecido por grama de peixe por dia, do primeiro período de coleta, em que os animais foram alimentados com a ração controle (T6). Nas Tabelas 26, 27 e 28 se apresentam os dados das coletas C2 (58 dias), C3 (82 dias) e C4 (106 dias) respectivamente.

Tabela 25 - Aparecimento ou desaparecimento de ácidos graxos no C1 (aclimação, 34 dias) expresso em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia.

AG	34 dias (n=6)	
	T6	
	Média	EP
12:0	0,001	0,001
14:0	0,084	0,031
14:1n5	0,005	0,002
15:0	0,003	0,003
16:0	0,379	0,308
16:1n7	0,104	0,038
17:0	0,008	0,011
17:1n8	0,004	0,003
18:0	0,166	0,151
18:1n9c	0,543	0,434
18:1n7	0,030	0,022
18:2n6c	-1,465	0,093
18:3n6	-0,009	0,001
18:3n3	-1,259	0,086
20:0	-0,001	0,002
20:1n9	0,013	0,008
20:2n6	-0,006	0,002
20:3n6	-0,008	0,001
20:4n6	-0,013	0,001
20:3n3	-0,011	0,001
20:5n3	0,029	0,009
22:0	-0,009	0,001
22:4n-6	0,036	0,099
22:5n3	0,004	0,003
24:0	-0,003	0,000
22:6n3	-0,003	0,002

Tabela 26 - Aparecimento ou desaparecimento de ácidos graxos no C2 (58 dias) expresso em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia.

AG	58 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
12:0	0,002	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000
14:0	0,069	0,087	0,046	0,067	0,028	0,038	0,028	0,065	0,105	0,113	0,002	0,015
14:1n5	0,003	0,006	0,000	0,005	-0,002	0,003	-0,001	0,004	0,006	0,008	-0,003	0,002
15:0	0,005	0,005	0,000	0,002	-0,001	0,003	0,000	0,005	0,004	0,005	-0,002	0,003
16:0	0,414	0,750	0,095	0,344	-0,051	0,390	-0,072	0,678	0,438	0,918	-0,283	0,260
16:1n7	0,046	0,137	-0,010	0,089	-0,059	0,060	-0,060	0,080	0,083	0,147	-0,082	0,046
17:0	0,002	0,008	-0,003	0,002	-0,004	0,002	-0,003	0,011	0,003	0,011	-0,007	0,006
17:1n8	0,000	0,004	-0,002	0,003	-0,005	0,003	-0,003	0,004	0,002	0,004	-0,005	0,002
18:0	0,106	0,212	0,072	0,155	0,031	0,151	0,038	0,301	0,160	0,275	-0,047	0,122
18:1n9c	0,023	0,776	-0,334	0,579	-0,711	0,422	-0,530	1,013	-0,048	0,796	-0,710	0,419
18:1n7	0,028	0,056	-0,020	0,033	-0,042	0,036	-0,034	0,064	0,020	0,065	-0,045	0,040
18:2n6c	-0,835	0,116	-1,429	0,268	-1,812	0,189	-1,413	0,308	-1,720	0,394	-1,231	0,200
18:3n6	0,000	0,003	-0,001	0,002	-0,002	0,002	-0,001	0,003	0,000	0,001	-0,010	0,002
18:3n3	-2,287	0,660	-2,383	0,668	-1,809	0,300	-0,844	0,214	-0,632	0,144	-0,923	0,091
20:0	0,000	0,004	-0,002	0,002	-0,004	0,001	-0,002	0,006	-0,001	0,005	-0,004	0,004
20:1n9	0,007	0,017	0,000	0,011	-0,007	0,008	-0,007	0,017	0,007	0,012	-0,011	0,010
20:2n6	-0,003	0,003	-0,003	0,004	-0,004	0,002	-0,004	0,002	-0,002	0,001	-0,008	0,002
20:3n6	-0,001	0,001	-0,001	0,001	-0,001	0,001	0,000	0,002	-0,001	0,001	-0,006	0,002
20:4n6	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001	-0,009	0,000
20:3n3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,008	0,001
20:5n3	0,026	0,012	0,021	0,002	0,029	0,003	0,017	0,006	0,012	0,013	0,009	0,016
22:0	-0,005	0,002	-0,009	0,003	-0,011	0,002	-0,008	0,002	-0,011	0,003	-0,007	0,000
22:4n-6	-0,038	0,001	-0,037	0,004	-0,037	0,002	-0,039	0,001	-0,039	0,002	-0,042	0,003
22:5n3	0,008	0,005	0,009	0,002	0,008	0,003	0,007	0,002	0,006	0,004	0,003	0,005
24:0	-0,001	0,000	-0,002	0,001	-0,003	0,001	-0,002	0,001	-0,002	0,001	-0,002	0,000
22:6n3	0,005	0,003	0,004	0,002	0,005	0,002	0,003	0,001	0,003	0,003	-0,004	0,002

Tabela 27 - Aparecimento ou desaparecimento de ácidos graxos no C3 (82 dias) expresso em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia.

AG	82 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
12:0	0,000	0,001	0,001	0,000	0,001	0,001	0,001	0,000	0,001	0,001	0,001	0,000
14:0	0,012	0,038	0,040	0,013	0,066	0,046	0,101	0,022	0,067	0,044	0,096	0,015
14:1n5	0,000	0,002	0,002	0,001	0,004	0,002	0,006	0,001	0,002	0,002	0,001	0,004
15:0	0,000	0,003	0,003	0,001	0,004	0,003	0,004	0,001	0,003	0,001	0,005	0,001
16:0	-0,295	0,372	0,228	0,073	0,502	0,449	0,760	0,219	0,359	0,287	0,603	0,175
16:1n7	-0,024	0,052	0,046	0,016	0,082	0,055	0,118	0,018	0,042	0,033	0,088	0,020
17:0	-0,007	0,005	0,007	0,002	0,009	0,006	0,012	0,003	0,008	0,003	0,014	0,002
17:1n8	-0,002	0,003	0,000	0,001	0,000	0,002	0,000	0,001	-0,001	0,001	0,004	0,002
18:0	-0,120	0,115	0,051	0,071	0,266	0,258	0,302	0,064	0,152	0,113	0,279	0,099
18:1n9c	-0,817	0,470	-0,282	0,348	0,221	0,735	0,598	0,150	-0,064	0,354	0,582	0,285
18:1n7	-0,043	0,030	0,000	0,016	0,017	0,032	0,040	0,012	-0,005	0,018	0,044	0,011
18:2n6c	-0,873	0,105	-1,264	0,282	-1,572	0,169	-1,567	0,162	-1,979	0,150	-1,180	0,068
18:3n6	0,001	0,002	0,002	0,000	0,003	0,001	0,003	0,001	0,002	0,000	-0,007	0,000
18:3n3	-2,535	0,170	-2,188	0,398	-1,696	0,121	-0,997	0,086	-0,719	0,045	-0,941	0,063
20:0	-0,005	0,003	-0,002	0,001	0,000	0,003	0,002	0,002	-0,002	0,002	0,001	0,002
20:1n9	-0,005	0,008	0,003	0,003	0,009	0,009	0,012	0,003	0,004	0,004	0,016	0,005
20:2n6	-0,001	0,001	0,000	0,001	0,001	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	-0,006	0,001
20:3n6	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,001	0,000	-0,007	0,000
20:4n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	-0,008	0,001
20:3n3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,008	0,001
20:5n3	0,021	0,004	0,033	0,003	0,034	0,004	0,030	0,005	0,029	0,007	0,024	0,007
22:0	-0,006	0,000	-0,008	0,001	-0,011	0,001	-0,010	0,001	-0,013	0,001	-0,007	0,001
22:4n-6	-0,001	0,001	0,000	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	-0,004	0,000
22:5n3	0,007	0,001	0,009	0,003	0,011	0,003	0,013	0,002	0,009	0,002	0,009	0,003
24:0	-0,002	0,000	-0,002	0,001	-0,002	0,001	-0,002	0,000	-0,003	0,000	-0,001	0,000
22:6n3	0,003	0,001	0,005	0,001	0,005	0,001	0,007	0,001	0,006	0,001	0,002	0,001

Tabela 28 - Aparecimento ou desaparecimento de ácidos graxos no C4 (106 dias) expresso em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia.

AG	106 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
12:0	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,001	0,000	-0,001	0,001
14:0	0,026	0,024	0,020	0,040	0,003	0,068	0,009	0,032	0,025	0,021	-0,011	0,037
14:1n5	0,002	0,002	0,000	0,003	0,000	0,004	-0,001	0,002	0,000	0,001	-0,002	0,000
15:0	0,002	0,002	0,001	0,002	0,000	0,004	0,003	0,003	0,004	0,003	-0,001	0,004
16:0	0,113	0,311	-0,103	0,358	-0,820	0,912	-0,027	0,340	0,139	0,348	-0,274	0,430
16:1n7	0,049	0,046	0,016	0,057	-0,013	0,077	-0,007	0,049	0,017	0,027	-0,092	0,059
17:0	-0,001	0,004	-0,001	0,005	-0,002	0,008	0,002	0,004	0,006	0,005	-0,002	0,010
17:1n8	0,001	0,002	-0,001	0,002	-0,001	0,002	0,001	0,003	0,001	0,002	-0,004	0,004
18:0	-0,064	0,107	-0,083	0,156	-0,181	0,311	0,045	0,146	0,124	0,132	-0,050	0,185
18:1n9c	-0,388	0,396	-0,624	0,523	-0,886	0,962	-0,362	0,493	-0,135	0,502	-0,863	0,675
18:1n7	0,002	0,025	-0,022	0,033	-0,042	0,051	-0,018	0,030	-0,001	0,038	-0,035	0,056
18:2n6	-0,784	0,035	-1,132	0,072	-1,424	0,138	-1,566	0,134	-1,934	0,052	-1,141	0,061
18:3n6	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	-0,009	0,001
18:3n3	-2,504	0,072	-2,037	0,231	-1,537	0,084	-1,005	0,079	-0,707	0,016	-0,854	0,085
20:0	-0,004	0,002	-0,006	0,002	-0,008	0,005	0,000	0,009	-0,003	0,004	-0,004	0,004
20:1n9	0,005	0,006	0,001	0,008	-0,005	0,014	0,004	0,009	0,006	0,008	-0,010	0,014
20:2n6	0,001	0,001	0,001	0,002	0,000	0,002	0,001	0,002	0,001	0,001	-0,007	0,002
20:3n6	0,001	0,000	0,001	0,001	0,000	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	-0,006	0,001
20:4n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,007	0,000
20:3n3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,007	0,001
20:5n3	0,009	0,004	0,002	0,003	0,001	0,012	0,020	0,005	0,024	0,012	0,011	0,006
22:0	-0,006	0,000	-0,008	0,001	-0,010	0,001	-0,010	0,001	-0,012	0,000	-0,006	0,001
22:4n-6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	-0,004	0,000
22:5n3	0,003	0,002	0,001	0,001	0,000	0,004	0,006	0,001	0,008	0,004	0,001	0,002
24:0	-0,002	0,000	-0,003	0,000	-0,003	0,001	-0,003	0,000	-0,002	0,001	-0,002	0,000
22:6n3	0,001	0,001	0,001	0,002	0,001	0,003	0,002	0,001	0,003	0,002	-0,004	0,002

Os resultados das análises de variância das médias de tratamentos 1 a 6 e coletas 2 a 4, e das interações tratamento x coleta dos ácidos graxos aparecidos ou desaparecidos, são apresentados na tabela 29.

A maioria dos ácidos graxos saturados e monoinsaturados apresentaram maior aparecimento/desaparecimento nos períodos C2 e C3 e a maioria dos ácidos graxos polinsaturados (exceto AGE) apresentaram maior aparecimento/desaparecimento nos períodos C3 e C4. O aparecimento/desaparecimento do AGE 18:2n6c foi maior no T1 em comparação com todos os outros tratamentos, T6 e T2 não diferiram entre si e foram maiores que T4, T3 e T5. O

aparecimento/desaparecimento de 18:3n3 de T5, T6 e T4 foram maiores que T3, T2 e T1; T3 foi maior que T1, e T2 não diferiu de T3 nem de T1. O aparecimento de 20:2n6, 20:3n6, 20:4n6 foi menor no T6 e os outros tratamentos não apresentaram diferença entre si; entre coletas, C4 e C3 foram maiores que C2. O aparecimento/desaparecimento de 20:2n3 no T6 foi menor que os demais tratamentos e não houve diferença entre coletas. O 20:5n3 e 22:5n3 não tiveram diferença de aparecimento/desaparecimento entre tratamentos; mas foi determinada diferença entre todas as coletas, sendo C3 maior que C2 e C2 maior que C4. O 20:5n3 apresentou significância da interação Tx C. Se observou que T1, T2 e T3 tenderam a diminuir seus níveis de aparecimento/desaparecimento na coleta 4 (Figura 3). O aparecimento/desaparecimento de 22:6n3 foi menor no T6 que nos outros tratamentos, T4, 5, 3, 2 e 1 não diferiram entre si; entre coletas, todas as médias foram diferentes, sendo C3 maior que C2, e C4 menor que C2; se observou que existe significância da interação Tx C.

Figura 3. Interação tratamento x coleta de aparecimento/desaparecimento de 20:5n3

Tabela 29. Análise estatística de aparecimento ou desaparecimento de ácidos graxos

	Teste de Levene (<i>p</i>)	Anova				
		Tratamento		Coleta		Interação
		(<i>p</i>)	SNK*	(<i>p</i>)	SNK*	(<i>p</i>)
12:0	0,006	0,044	ns	0,010	ns	0,254
14:0	0,079	0,676	ns	0,015	32>24	0,317
14:1n5	0,015	0,237	ns	0,065	ns	0,172
15:0	0,167	0,418	ns	0,121	ns	0,121
16:0	0,038	0,486	ns	0,010	32>24	0,101
16:1n7	0,008	0,336	ns	0,006	ns	0,036
17:0	0,061	0,196	ns	0,000	3>42	0,032
17:1n8	0,165	0,31	ns	0,024	34>2	0,019
18:0	0,275	0,325	ns	0,013	32>24	0,227
18:1n9c	0,293	0,632	ns	0,016	3>24	0,11
18:1n7	0,098	0,766	ns	0,079	ns	0,058
18:2n6c	0,015	0,000	1>62>43>5	0,383	ns	0,238
18:3n6	0,006	0,000	54213>6	0,000	3>42	0,687
18:3n3	0,000027	0,000	564>32>21	0,732	ns	0,821
20:0	0,002	0,392	ns	0,078	ns	0,406
20:1n9	0,189	0,667	ns	0,042	34>42	0,06
20:2n6	0,118	0,000	52431>6	0,000	43>2	0,571
20:3n6	0,006	0,000	54231>6	0,001	43>2	0,29
20:4n6	0,137	0,000	54231>6	0,000	34>2	0,594
20:3n3	0,000	0,000	54321>6	0,332	ns	0,362
20:5n3	0,018	0,351	ns	0,000	3>2>4	0,002
22:0	0,006	0,000	16>62>24>43>35	0,491	ns	0,428
22:4n6	0,000007	0,000006	32541>25416	0,000	34>2	0,457
22:5n3	0,043	0,091	ns	0,000	3>2>4	0,082
24:0	0,001	0,000	6142>14253	0,004	ns	0,206
22:6n3	0,223	0,000	45321>6	0,000	3>2>4	0,043

* Os números representam as médias dos respectivos tratamentos experimentais, ordenados de forma decrescente da esquerda à direita. O sinal “>” separa grupos de médias. Médias localizadas no mesmo grupo não apresentaram diferença significativa pelo teste SNK, para o valor de *p* estabelecido pelo teste de Levene. Quando o valor de *p* do teste de Levene foi maior que 0,05 o nível de significância de ANOVA e SNK foi mantido em 0,05.

4.7. Atividade enzimática total

A atividade enzimática total, representada pelos valores totais de produção de ácidos graxos *ex novo*, β -oxidação, atividade das alongases e atividade das Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturases no período C1 (34 dias) é apresentada na tabela 30, e dos períodos C2 (58 dias), C3 (82 dias) e C4 (106 dias), nas tabelas 31, 32 e 33 respectivamente.

Tabela 30 - Produção de ácidos graxos *ex novo*, β -oxidação, atividade de alongase, Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturases totais no período C1 (34 dias) expressas em micromols por grama de peixe por dia

Atividade enzimática	34 dias (n=6)	
	T6	
	Média	EP
<i>Ex novo</i>	1,380	0,897
β -oxidação	2,831	0,200
Alongase	3,597	2,316
Δ -9 Desaturase	0,716	0,461
Δ -6 Desaturase	0,040	0,097
Δ -5 Desaturase	0,072	0,097

Tabela 31 - Produção de ácidos graxos *ex novo*, β -oxidação, atividade de alongase, Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturases totais no período C2 (58 dias) expressas em micromols por grama de peixe por dia.

Atividade enzimática	58 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
<i>Ex novo</i>	1,108	1,599	0,451	0,678	0,215	0,273	0,648	1,122	1,286	1,739	0,022	0,019
β -oxidação	3,574	0,570	4,473	1,088	4,721	0,423	3,607	1,488	2,915	0,533	3,474	0,693
Alongase	2,667	3,859	1,101	1,618	0,539	0,616	1,663	2,817	2,990	4,099	0,075	0,067
Δ -9 Desat.	0,408	0,656	0,137	0,237	0,000	0,000	0,242	0,419	0,402	0,654	0,000	0,000
Δ -6 Desat.	0,012	0,008	0,009	0,005	0,010	0,004	0,007	0,005	0,007	0,007	0,000	0,000
Δ -5 Desat.	0,039	0,020	0,035	0,002	0,042	0,007	0,026	0,009	0,021	0,020	0,015	0,014

Tabela 32 - Produção de ácidos graxos *ex novo*, β -oxidação, atividade de alongase, Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturases totais no período C3 (82 dias) expressas em micromols por grama de peixe por dia.

Atividade enzimática	82 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
<i>Ex novo</i>	0,053	0,077	0,422	0,220	1,373	1,300	1,957	0,486	0,736	0,641	1,736	0,588
β -oxidação	4,779	1,291	3,788	0,998	3,476	0,628	2,577	0,250	2,883	0,441	2,168	0,116
Alongase	0,136	0,145	0,957	0,553	3,461	3,311	4,845	1,177	1,722	1,518	4,341	1,584
Δ -9 Desat.	0,012	0,021	0,087	0,078	0,525	0,545	0,775	0,180	0,145	0,207	0,738	0,310
Δ -6 Desat.	0,008	0,003	0,013	0,002	0,016	0,005	0,018	0,003	0,016	0,002	0,003	0,001
Δ -5 Desat.	0,031	0,007	0,046	0,005	0,051	0,009	0,051	0,007	0,046	0,009	0,034	0,010

Tabela 33 - Produção de ácidos graxos *ex novo*, β -oxidação, atividade de alongase, Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturases totais no período C4 (106 dias) expressas em micromols por grama de peixe por dia.

Atividade enzimática	106 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
<i>Ex novo</i>	0,296	0,442	0,164	0,233	0,149	0,227	0,307	0,528	0,530	0,676	0,124	0,214
β -oxidação	3,849	0,560	4,147	0,835	5,085	1,943	3,245	0,695	2,999	0,485	3,520	1,178
Alongase	0,643	0,960	0,338	0,485	0,318	0,506	0,795	1,298	1,358	1,716	0,310	0,516
Δ -9 Desat.	0,090	0,111	0,036	0,038	0,025	0,031	0,092	0,158	0,167	0,259	0,009	0,016
Δ -6 Desat.	0,004	0,002	0,004	0,005	0,003	0,004	0,006	0,002	0,009	0,007	0,000	0,000
Δ -5 Desat.	0,014	0,007	0,005	0,004	0,008	0,013	0,029	0,005	0,036	0,018	0,013	0,008

Os resultados das comparações de médias de tratamentos (1 a 6), coletas (2 a 4) e interação tratamento x coleta, das variáveis de atividade enzimática total de metabolismo dos ácidos graxos se apresentam na tabela 34.

A produção *ex novo* de ácidos graxos, atividade de alongase e atividade de Δ -9 desaturase não apresentaram diferença entre tratamentos nem coletas. A β -oxidação total de ácidos graxos do tratamento 3 foi maior que a de T4, T6 e T5 e os tratamentos T2 e T1 não diferiram dos demais; não apresentou diferenças entre coletas nem significância da interação. A atividade Δ -6 desaturase do tratamento T6 foi menor que os outros tratamentos; a coleta C2 foi menor que C3 e maior que C4. A atividade Δ -5 desaturase não apresentou diferença entre tratamentos; a coleta C2 foi menor que C3 e maior que C4 e foi determinada significância da interação dos fatores Tx C. Se observa que a interação tratamento x tempo apresenta o mesmo comportamento que as interações significativas anteriores relacionadas com o EPA (20:5n3): os tratamentos T1, T2 e T3 mostraram diminuição aos 106 dias (coleta C4) (Figura 4).

Tabela 34 - Análise estatística de atividade enzimática total (produção de ácidos graxos *ex novo*, β -oxidação, atividade de alongase, Δ -9, Δ -6 e Δ -5 desaturasas totais)

	Teste de Levene (<i>p</i>)	Anova				
		Tratamento		Coleta		Interação
		(<i>p</i>)	SNK*	(<i>p</i>)	SNK*	(<i>p</i>)
<i>Ex novo</i>	0,000130	0,574	ns	0,019	ns	0,131
β -oxidação	0,184	0,002	321>21465	0,153	ns	0,372
Alongase	0,000110	0,524	ns	0,016	ns	0,123
Δ -9 Desaturase	0,000002	0,508	ns	0,015	ns	0,057
Δ -6 Desaturase	0,017	0,000	54321>6	0,000	3>2>4	0,123
Δ -5 Desaturase	0,013	0,071	ns	0,000	3>2>4	0,007

* Os números representam as médias dos respectivos tratamentos experimentais, ordenados de forma decrescente da esquerda à direita. O sinal “>” separa grupos de médias. Médias localizadas no mesmo grupo não apresentaram diferença significativa pelo teste SNK, para o valor de *p* estabelecido pelo teste de Levene. Quando o valor de *p* do teste de Levene foi maior que 0,05 o nível de significância de ANOVA e SNK foi mantido em 0,05.

Figura 4. Interação tratamento x coleta da atividade Δ -5 desaturase total

4.8. Oxidação de ácidos graxos individuais

A oxidação de ácidos graxos, expressa como micromol de cada ácido graxo oxidada por grama de peixe por dia, dos tratamentos 1 a 6 no primeiro período de coleta (C1) é apresentada na tabela 35, e nos períodos C2, C3 e C4 se encontram nas tabelas 36, 37 e 38 respectivamente.

Tabela 35 - Oxidação de ácidos graxos individuais no período C1 (aclimatação, 34 dias) expressa como micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia

AG	34 dias (n=6)	
	T6	
	Média	EP
12:0	0,000	0,000
14:0	0,000	0,000
14:1n5	0,000	0,000
15:0	0,000	0,000
16:0	0,016	0,040
16:1n7	0,000	0,000
17:0	0,000	0,000
17:1n8	0,000	0,000
18:0	0,006	0,015
18:1n9c	0,015	0,037
18:1n7	0,002	0,004
18:2n6c	1,465	0,093
18:3n6	0,009	0,001
18:3n3	1,259	0,086
20:0	0,002	0,002
20:1n9	0,000	0,000
20:2n6	0,006	0,002
20:3n6	0,008	0,001
20:4n6	0,013	0,001
20:3n3	0,011	0,001
20:5n3	0,000	0,000
22:0	0,009	0,001
22:4n-6	0,004	0,002
22:5n3	0,000	0,000
24:0	0,003	0,000
22:6n3	0,003	0,002
AGS	0,036	0,057
AGM	0,017	0,041
AGPI	2,778	0,165
n-3	1,272	0,085
n-6	1,505	0,096
ALA+LA	2,724	0,163
AGS+M	0,053	0,097

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Tabela 36 - Oxidação de ácidos graxos individuais no período C2 (58 dias) expressa como micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia

	58 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
12:0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000
14:0	0,002	0,003	0,005	0,009	0,003	0,006	0,006	0,009	0,004	0,006	0,004	0,007
14:1n5	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,003	0,002	0,002	0,000	0,001	0,003	0,002
15:0	0,000	0,000	0,001	0,001	0,002	0,003	0,002	0,002	0,000	0,000	0,003	0,003
16:0	0,067	0,117	0,078	0,136	0,161	0,279	0,309	0,268	0,123	0,213	0,283	0,260
16:1n7	0,024	0,041	0,041	0,037	0,059	0,060	0,069	0,064	0,012	0,021	0,082	0,046
17:0	0,002	0,003	0,003	0,002	0,004	0,002	0,006	0,006	0,002	0,004	0,007	0,006
17:1n8	0,001	0,002	0,003	0,002	0,005	0,003	0,003	0,003	0,001	0,001	0,005	0,002
18:0	0,029	0,050	0,015	0,027	0,042	0,072	0,090	0,083	0,042	0,073	0,063	0,109
18:1n9c	0,261	0,371	0,428	0,434	0,711	0,422	0,743	0,644	0,307	0,441	0,710	0,419
18:1n7	0,011	0,019	0,026	0,025	0,042	0,036	0,048	0,042	0,011	0,017	0,045	0,040
18:2n6c	0,835	0,116	1,429	0,268	1,812	0,189	1,413	0,308	1,720	0,394	1,231	0,200
18:3n6	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,001	0,001	0,010	0,002
18:3n3	2,287	0,660	2,383	0,668	1,809	0,300	0,844	0,214	0,632	0,144	0,923	0,091
20:0	0,001	0,002	0,002	0,002	0,004	0,001	0,004	0,004	0,002	0,002	0,004	0,004
20:1n9	0,002	0,004	0,004	0,004	0,007	0,008	0,011	0,009	0,002	0,003	0,011	0,010
20:2n6	0,003	0,003	0,003	0,003	0,004	0,002	0,004	0,002	0,002	0,001	0,008	0,002
20:3n6	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,006	0,002
20:4n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000
20:3n3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,001
20:5n3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,005
22:0	0,005	0,002	0,009	0,003	0,011	0,002	0,008	0,002	0,011	0,003	0,007	0,000
22:4n-6	0,038	0,001	0,037	0,004	0,037	0,002	0,039	0,001	0,039	0,002	0,042	0,003
22:5n3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,002
24:0	0,001	0,000	0,002	0,001	0,003	0,001	0,002	0,001	0,002	0,001	0,002	0,000
22:6n3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,002
AGS	0,108	0,174	0,116	0,176	0,229	0,360	0,427	0,362	0,187	0,295	0,373	0,385
AGM	0,301	0,438	0,502	0,500	0,826	0,526	0,876	0,759	0,333	0,482	0,857	0,499
AGPI	3,166	0,769	3,854	0,924	3,666	0,481	2,304	0,515	2,395	0,536	2,244	0,286
n-3	2,287	0,660	2,383	0,668	1,809	0,300	0,844	0,214	0,632	0,143	0,938	0,085
n-6	0,879	0,111	1,472	0,261	1,857	0,182	1,460	0,307	1,763	0,393	1,306	0,203
ALA+LA	3,122	0,774	3,811	0,931	3,621	0,487	2,258	0,517	2,352	0,537	2,154	0,290
AGS+M	0,409	0,611	0,619	0,657	1,055	0,883	1,303	1,121	0,520	0,776	1,230	0,884

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Tabela 37 - Oxidação de ácidos graxos individuais no período C3 (82 dias) expressa como micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia

	82 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
12:0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
14:0	0,009	0,016	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
14:1n5	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,002
15:0	0,001	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
16:0	0,311	0,351	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
16:1n7	0,034	0,036	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
17:0	0,007	0,005	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
17:1n8	0,002	0,003	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000
18:0	0,123	0,110	0,005	0,008	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
18:1n9c	0,817	0,470	0,312	0,301	0,186	0,322	0,000	0,000	0,156	0,239	0,000	0,000
18:1n7	0,043	0,030	0,006	0,006	0,006	0,010	0,000	0,000	0,010	0,009	0,000	0,000
18:2n6c	0,873	0,105	1,264	0,282	1,572	0,169	1,567	0,162	1,979	0,150	1,180	0,068
18:3n6	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,007	0,000
18:3n3	2,535	0,170	2,188	0,398	1,696	0,121	0,997	0,086	0,719	0,045	0,941	0,063
20:0	0,005	0,003	0,002	0,001	0,001	0,002	0,000	0,000	0,002	0,002	0,000	0,000
20:1n9	0,006	0,007	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20:2n6	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,006	0,001
20:3n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,007	0,000
20:4n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,001
20:3n3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,001
20:5n3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
22:0	0,006	0,000	0,008	0,001	0,011	0,001	0,010	0,001	0,013	0,001	0,007	0,001
22:4n-6	0,001	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,000
22:5n3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
24:0	0,002	0,000	0,002	0,001	0,002	0,001	0,002	0,000	0,003	0,000	0,001	0,000
22:6n3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
AGS	0,464	0,478	0,016	0,010	0,015	0,004	0,012	0,001	0,017	0,002	0,008	0,001
AGM	0,903	0,544	0,319	0,307	0,193	0,334	0,000	0,000	0,167	0,246	0,001	0,002
AGPI	3,412	0,277	3,453	0,682	3,269	0,290	2,565	0,249	2,699	0,197	2,159	0,116
n-3	2,535	0,170	2,188	0,398	1,696	0,121	0,997	0,086	0,719	0,045	0,949	0,064
n-6	0,876	0,106	1,266	0,283	1,573	0,170	1,568	0,163	1,980	0,152	1,210	0,068
ALA+LA	3,408	0,275	3,452	0,680	3,268	0,289	2,564	0,248	2,699	0,195	2,121	0,116
AGS+M	1,367	1,018	0,335	0,317	0,207	0,338	0,012	0,001	0,184	0,248	0,009	0,001

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Tabela 38 - Oxidação de ácidos graxos individuais no período C4 (106 dias) expressa como micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia

	106 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
12:0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001
14:0	0,000	0,000	0,007	0,012	0,024	0,041	0,006	0,009	0,000	0,000	0,020	0,025
14:1n5	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001	0,003	0,001	0,001	0,000	0,001	0,002	0,000
15:0	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,003
16:0	0,044	0,048	0,177	0,270	0,879	0,815	0,147	0,139	0,057	0,099	0,327	0,353
16:1n7	0,000	0,000	0,015	0,027	0,033	0,058	0,022	0,027	0,005	0,008	0,092	0,059
17:0	0,002	0,002	0,002	0,004	0,004	0,006	0,000	0,001	0,000	0,000	0,005	0,006
17:1n8	0,000	0,001	0,001	0,002	0,001	0,002	0,001	0,001	0,000	0,000	0,004	0,004
18:0	0,083	0,076	0,107	0,122	0,214	0,268	0,026	0,024	0,005	0,009	0,099	0,110
18:1n9c	0,411	0,357	0,624	0,523	0,886	0,962	0,428	0,381	0,258	0,335	0,863	0,675
18:1n7	0,008	0,008	0,022	0,033	0,043	0,050	0,023	0,023	0,015	0,017	0,043	0,044
18:2n6c	0,784	0,035	1,132	0,072	1,424	0,138	1,566	0,134	1,934	0,052	1,141	0,061
18:3n6	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,001
18:3n3	2,504	0,072	2,037	0,231	1,537	0,084	1,005	0,079	0,707	0,016	0,854	0,085
20:0	0,004	0,002	0,006	0,002	0,008	0,005	0,003	0,003	0,003	0,003	0,004	0,004
20:1n9	0,000	0,000	0,003	0,005	0,007	0,011	0,001	0,002	0,000	0,001	0,011	0,012
20:2n6	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,007	0,002
20:3n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	0,001
20:4n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,007	0,000
20:3n3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,007	0,001
20:5n3	0,000	0,000	0,000	0,001	0,004	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
22:0	0,006	0,000	0,008	0,001	0,010	0,001	0,010	0,001	0,012	0,000	0,006	0,001
22:4n-6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,004	0,000
22:5n3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001
24:0	0,002	0,000	0,003	0,000	0,003	0,001	0,003	0,000	0,002	0,001	0,002	0,000
22:6n3	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,002
AGS	0,141	0,126	0,309	0,408	1,144	0,977	0,197	0,173	0,080	0,110	0,465	0,500
AGM	0,420	0,364	0,667	0,587	0,973	1,083	0,476	0,430	0,278	0,361	1,015	0,792
AGPI	3,289	0,104	3,171	0,295	2,969	0,219	2,572	0,208	2,641	0,065	2,040	0,143
n-3	2,504	0,072	2,038	0,232	1,543	0,082	1,005	0,079	0,707	0,016	0,866	0,083
n-6	0,785	0,035	1,133	0,072	1,425	0,140	1,567	0,134	1,935	0,052	1,174	0,060
ALA+LA	3,289	0,104	3,169	0,295	2,961	0,218	2,571	0,208	2,641	0,065	1,995	0,146
AGS+M	0,560	0,484	0,976	0,991	2,116	1,873	0,673	0,602	0,358	0,469	1,480	1,286

AGS – Somatória de ácidos graxos saturados; AGM – Somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – Somatória de ácidos graxos polinsaturados; n-3 – Somatória de ácidos graxos ômega – 3; n-6 – Somatória de ácidos graxos Ômega – 6; ALA+LA – Somatória de ácidos graxos essenciais (18:3n3 e 18:2n6); AGS+M – Somatória de ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados.

Os resultados das comparações de médias de tratamentos e coletas e interação TxC de oxidação de ácidos graxos são apresentados na tabela 39. A oxidação do AGE 18:2n6 foi maior no T5 que nos outros tratamentos, T3 e T4 não diferiram entre si e foram maiores que T2 e T6. Estes últimos, foram maiores que T1. A oxidação de 18:3n3 no T1 foi maior que no T3, T4, T6 e T5; T2 não diferiu de T1 nem de T3; T4, T6 e T5 foram menores que os demais tratamentos. A oxidação dos ácidos graxos 20:2n6 e 22:4n6 foi maior no T6 que nos demais tratamentos e foi maior também na coleta C2 que em C3 e C4. A oxidação dos ácidos graxos polinsaturados: 20:3n6, 20:4n6, 20:3n3 e 22:6n3 foi maior no T6 que nos demais tratamentos. A oxidação de ácidos graxos n3 no tratamento T1 foi maior que em T3, T4, T6 e T5 enquanto T2 não apresentou diferença com T3 e T1. A oxidação de AG n3 dos tratamentos T4, T6 e T5 foi menor que os demais. A oxidação de ácidos graxos n6 no T5 foi maior que nos outros tratamentos; T3 e T4 não diferiram entre si e foram maiores que T2, T6 e T1. T2 e T6 não diferiram entre si e foram maiores que T1.

4.9 Atividade enzimática individual

A atividade enzimática individual expressa como micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia, que foram transformadas em ácidos graxos de maior comprimento de cadeia carbonada ou em ácidos graxos com maior número de ligações duplas em determinadas posições (desaturases), do período de coleta C1 (34 dias) é apresentada na tabela 40, e dos períodos C2 (58 dias), C3 (82 dias) e C4 (106 dias) se apresentam nas tabelas 41, 42 e 43 respectivamente.

Tabela 39 - Análise estatística de oxidação de ácidos graxos individuais

	Teste de Levene (<i>p</i>)	Anova				
		Tratamento		Coleta		Interação
		(<i>p</i>)	SNK*	(<i>p</i>)	SNK*	
12:0	0,000	0,003	ns	0,083	ns	0,108
14:0	0,000	0,812	ns	0,200	ns	0,637
14:1n5	0,000057	0,204	ns	0,028	ns	0,874
15:0	0,000	0,401	ns	0,191	ns	0,658
16:0	0,000087	0,285	ns	0,063	ns	0,071
16:1n7	0,000057	0,071	ns	0,004	ns	0,262
17:0	0,000435	0,388	ns	0,040	ns	0,227
17:1n8	0,003034	0,096	ns	0,001	24>43	0,164
18:0	0,00001	0,604	ns	0,093	ns	0,330
18:1n9c	0,029354	0,664	ns	0,078	ns	0,355
18:1n7	0,008456	0,718	ns	0,096	ns	0,305
18:2n6c	0,015	0,000	5>34>26>1	0,383	ns	0,238
18:3n6	0,000036	0,000	6>34215	0,000232	ns	0,480
18:3n3	0,000027	0,000	12>23>465	0,732	ns	0,821
20:0	0,064	0,665	ns	0,003	42>23	0,219
20:1n9	0,000105	0,230	ns	0,042	ns	0,352
20:2n6	0,004531	0,000	6>31245	0,000	2>34	0,714
20:3n6	0,000013	0,000	6>31245	0,006	ns	0,537
20:4n6	0,000	0,000	6>41325	0,000023	ns	0,024
20:3n3	0,000	0,000	6>54321	0,332	ns	0,362
20:5n3	0,000	0,249	ns	0,326	ns	0,064
22:0	0,006	0,000	53>34>42>26>61	0,491	ns	0,428
22:4n6	0,000	0,0000097	ns	0,000	2>34	0,627
22:5n3	0,000	0,136	ns	0,188	ns	0,240
24:0	0,001	0,000	35241>2416	0,004	ns	0,206
22:6n3	0,000001	0,000	6>32541	0,008	ns	0,001
AGS	0,000005	0,330	ns	0,048	ns	0,074
AGM	0,023821	0,638	ns	0,068	ns	0,339
AGPI	0,002	0,000	231>315>546	0,472	ns	0,552
n-3	0,000025	0,000	12>23>465	0,743	ns	0,825
n-6	0,015362	0,000	5>34>26>1	0,166	ns	0,234
ALA+LA	0,002	0,000	231>315>546	0,558	ns	0,553
AGS+M	0,020466	0,499	ns	0,053	ns	0,224

* Os números representam as médias dos respectivos tratamentos experimentais, ordenados de forma decrescente da esquerda à direita. O sinal “>” separa grupos de médias. Médias localizadas no mesmo grupo não apresentaram diferença significativa pelo teste SNK, para o valor de *p* estabelecido pelo teste de Levene. Quando o valor de *p* do teste de Levene foi maior que 0,05 o nível de significância de ANOVA e SNK foi mantido em 0,05.

Tabela 40 - Atividade enzimática individual no período C1 (aclimação, 34 dias) expressa como micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia.

34 dias (n=6)		
T6		
	Média	EP
Alongase		
12:0 - 14:0	1,363	0,888
14:0 - 16:0	1,274	0,861
16:1n7 - 18:1n7	0,032	0,019
16:0 - 18:0	0,743	0,557
18:1n9 - 20:1n9	0,013	0,008
18:0 - 20:0	0,000	0,001
20:0 - 22:0	0,044	0,097
22:0 - 24:0	0,000	0,000
15:0 - 17:0	0,013	0,013
18:2n6 : 20:2n6	0,000	0,000
18:3n6 - 20:3n6	0,040	0,097
20:4n6 - 22:4n6	0,040	0,097
18:4n3 - 20:4n3	0,033	0,011
20:5n3 - 22:5n3	0,004	0,003
22:5n3 - 24:5n3	0,000	0,000
$\Delta 9$ desaturase		
14:0 - 14:1n5	0,005	0,002
16:0 - 16:1n7	0,136	0,054
18:0 - 18:1n9	0,570	0,416
17:0 - 17:1n8		
$\Delta 6$ desaturase		
18:2n6 - 18:3n6	0,040	0,097
24:5n3 - 22:6n3	0,000	0,000
$\Delta 5$ desaturase		
20:3n6 - 20:4n6	0,040	0,097
20:4n3 - 20:5n3	0,033	0,011
Alongase sobre n3	0,036	0,014
Alongase sobre n6	0,079	0,194
Δ -6 sobre n3	0,000	0,000
Δ -6 sobre n6	0,040	0,097

Tabela 41 - Atividade enzimática individual no período C2 (58 dias) expressa em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia

	58 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
Alongase												
12:0-14:0	1,095	1,584	0,448	0,677	0,214	0,272	0,642	1,112	1,273	1,720	0,022	0,019
14:0-16:0	1,020	1,496	0,396	0,614	0,183	0,240	0,607	1,051	1,158	1,611	0,016	0,015
16:1n7-18:1n7	0,039	0,038	0,005	0,010	0,000	0,000	0,013	0,023	0,031	0,054	0,000	0,000
16:0-18:0	0,430	0,682	0,186	0,309	0,073	0,093	0,347	0,601	0,471	0,656	0,016	0,015
18:1n9-20:1n9	0,009	0,014	0,004	0,007	0,000	0,000	0,004	0,007	0,008	0,009	0,000	0,000
18:0-20:0	0,002	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,003	0,001	0,002	0,000	0,000
20:0-22:0	0,008	0,005	0,009	0,002	0,008	0,003	0,007	0,002	0,006	0,004	0,004	0,003
22:0-24:0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15:0-17:0	0,006	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,006	0,008	0,013	0,000	0,000
18:2n6-20:2n6	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
18:3n6-20:3n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000
20:4n6-22:4n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
18:4n3-20:4n3	0,039	0,020	0,034	0,002	0,042	0,007	0,026	0,009	0,021	0,020	0,015	0,014
20:5n3-22:5n3	0,013	0,008	0,013	0,001	0,014	0,004	0,009	0,003	0,009	0,008	0,004	0,003
22:5n3-24:5n3	0,005	0,003	0,004	0,002	0,005	0,002	0,003	0,001	0,003	0,003	0,000	0,000
$\Delta 9$ desaturase												
14:0-14:1n5	0,004	0,005	0,002	0,003	0,000	0,000	0,001	0,002	0,006	0,008	0,000	0,000
16:0-16:1n7	0,109	0,144	0,036	0,063	0,000	0,000	0,023	0,039	0,126	0,187	0,000	0,000
18:0-18:1n9	0,293	0,506	0,098	0,170	0,000	0,000	0,217	0,376	0,267	0,457	0,000	0,000
17:0-17:1n8												
$\Delta 6$ desaturase												
18:2n6-18:3n6	0,001	0,002	0,001	0,001	0,000	0,000	0,001	0,002	0,001	0,001	0,000	0,000
24:5n3-22:6n3	0,005	0,003	0,004	0,002	0,005	0,002	0,003	0,001	0,003	0,003	0,000	0,000
$\Delta 5$ desaturase												
20:3n6-20:4n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20:4n3-20:5n3	0,039	0,020	0,034	0,002	0,042	0,007	0,026	0,009	0,021	0,020	0,015	0,014
Along-n3	0,058	0,031	0,052	0,003	0,061	0,013	0,038	0,014	0,033	0,031	0,019	0,017
Along-n6	0,000	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000
Δ -6 - n3	0,010	0,006	0,009	0,004	0,010	0,004	0,006	0,003	0,006	0,007	0,000	0,000
Δ -6 - n6	0,001	0,002	0,001	0,001	0,000	0,000	0,001	0,002	0,001	0,001	0,000	0,000

Tabela 42 - Atividade enzimática individual no período C3 (82 dias) expressa em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia

82 dias (n=3)												
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
Alongase												
12:0-14:0	0,052	0,076	0,410	0,219	1,359	1,291	1,939	0,482	0,724	0,638	1,712	0,583
14:0-16:0	0,030	0,051	0,368	0,212	1,290	1,243	1,833	0,460	0,654	0,594	1,614	0,581
16:1n7-18:1n7	0,000	0,000	0,006	0,010	0,023	0,022	0,040	0,012	0,005	0,009	0,044	0,011
16:0-18:0	0,004	0,006	0,088	0,118	0,683	0,722	0,915	0,214	0,249	0,266	0,879	0,390
18:1n9-20:1n9	0,001	0,001	0,003	0,003	0,010	0,009	0,012	0,003	0,004	0,004	0,016	0,005
18:0-20:0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,002	0,002	0,000	0,000	0,001	0,001
20:0-22:0	0,007	0,001	0,009	0,003	0,012	0,003	0,013	0,003	0,010	0,002	0,009	0,003
22:0-24:0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15:0-17:0	0,000	0,000	0,008	0,003	0,009	0,006	0,012	0,003	0,008	0,003	0,018	0,004
18:2n6-20:2n6	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
18:3n6-20:3n6	0,000	0,000	0,001	0,000	0,003	0,002	0,002	0,001	0,002	0,001	0,000	0,000
20:4n6-22:4n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000
18:4n3-20:4n3	0,031	0,007	0,046	0,005	0,050	0,008	0,050	0,007	0,044	0,010	0,034	0,010
20:5n3-22:5n3	0,010	0,002	0,013	0,002	0,016	0,004	0,020	0,003	0,015	0,003	0,011	0,003
22:5n3-24:5n3	0,003	0,001	0,005	0,001	0,005	0,001	0,007	0,001	0,006	0,001	0,002	0,001
Δ9 desaturase												
14:0-14:1n5	0,001	0,001	0,002	0,001	0,004	0,002	0,006	0,001	0,002	0,002	0,002	0,003
16:0-16:1n7	0,010	0,018	0,052	0,024	0,105	0,078	0,158	0,029	0,047	0,042	0,132	0,026
18:0-18:1n9	0,001	0,001	0,032	0,054	0,416	0,467	0,611	0,152	0,096	0,163	0,599	0,290
17:0-17:1n8												
Δ6 desaturase												
18:2n6-18:3n6	0,001	0,001	0,003	0,000	0,006	0,002	0,004	0,002	0,005	0,001	0,000	0,000
24:5n3-22:6n3	0,003	0,001	0,005	0,001	0,005	0,001	0,007	0,001	0,006	0,001	0,002	0,001
Δ5 desaturase												
20:3n6-20:4n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000
20:4n3-20:5n3	0,031	0,007	0,046	0,005	0,050	0,008	0,050	0,007	0,044	0,010	0,034	0,010
Along-n3	0,043	0,010	0,064	0,007	0,071	0,013	0,077	0,010	0,065	0,014	0,047	0,014
Along-n6	0,000	0,000	0,001	0,001	0,005	0,003	0,002	0,002	0,003	0,002	0,000	0,000
Δ-6 - n3	0,006	0,002	0,010	0,002	0,011	0,002	0,014	0,001	0,011	0,002	0,003	0,001
Δ-6 - n6	0,001	0,001	0,003	0,000	0,006	0,002	0,004	0,002	0,005	0,001	0,000	0,000

Tabela 43 - Atividade enzimática individual no período C4 (106 dias) expressa em micromol de ácido graxo por grama de peixe por dia

	106 dias (n=3)											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP	Média	EP
Alongase												
12:0-14:0	0,291	0,436	0,160	0,232	0,145	0,222	0,300	0,520	0,517	0,666	0,120	0,207
14:0-16:0	0,263	0,411	0,132	0,203	0,116	0,189	0,285	0,493	0,492	0,648	0,111	0,193
16:1n7-18:1n7	0,010	0,017	0,000	0,000	0,001	0,001	0,005	0,008	0,014	0,024	0,008	0,014
16:0-18:0	0,047	0,078	0,027	0,045	0,036	0,062	0,145	0,251	0,260	0,332	0,051	0,088
18:1n9-20:1n9	0,005	0,006	0,003	0,004	0,002	0,004	0,005	0,008	0,007	0,008	0,001	0,002
18:0-20:0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,006	0,001	0,001	0,000	0,000
20:0-22:0	0,003	0,002	0,001	0,001	0,002	0,003	0,006	0,001	0,008	0,004	0,002	0,002
22:0-24:0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15:0-17:0	0,002	0,004	0,002	0,001	0,002	0,003	0,004	0,006	0,008	0,007	0,003	0,005
18:2n6-20:2n6	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,001	0,000	0,000	0,000
18:3n6-20:3n6	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,001	0,000	0,000
20:4n6-22:4n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
18:4n3-20:4n3	0,014	0,007	0,005	0,004	0,008	0,013	0,028	0,005	0,035	0,018	0,013	0,008
20:5n3-22:5n3	0,005	0,002	0,003	0,001	0,003	0,005	0,008	0,002	0,011	0,006	0,002	0,002
22:5n3-24:5n3	0,001	0,001	0,002	0,002	0,001	0,002	0,002	0,001	0,003	0,002	0,000	0,000
$\Delta 9$ desaturase												
14:0-14:1n5	0,002	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000
16:0-16:1n7	0,059	0,063	0,031	0,033	0,021	0,025	0,020	0,034	0,035	0,039	0,008	0,014
18:0-18:1n9	0,028	0,046	0,003	0,004	0,002	0,004	0,071	0,122	0,130	0,220	0,001	0,002
17:0-17:1n8												
$\Delta 6$ desaturase												
18:2n6-18:3n6	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,003	0,002	0,000	0,000
24:5n3-22:6n3	0,001	0,001	0,002	0,002	0,001	0,002	0,002	0,001	0,003	0,002	0,000	0,000
$\Delta 5$ desaturase												
20:3n6-20:4n6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000
20:4n3-20:5n3	0,014	0,007	0,005	0,004	0,008	0,013	0,028	0,005	0,035	0,018	0,013	0,008
Along-n3	0,020	0,010	0,009	0,005	0,012	0,019	0,038	0,007	0,049	0,026	0,014	0,009
Along-n6	0,002	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,003	0,002	0,003	0,002	0,000	0,000
Δ -6 - n3	0,002	0,001	0,003	0,003	0,002	0,003	0,004	0,001	0,006	0,004	0,000	0,000
Δ -6 - n6	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,003	0,002	0,000	0,000

Os resultados das comparações de médias de atividade enzimática sobre ácidos graxos individuais dos tratamentos T1 a T6 e coletas C2, C3 e C4 e interações TxC se apresentam na tabela 44.

A atividade de alongamento nos pares 20:0 - 22:0 e 18:4n3 - 20:4n3 apresentou diferença entre todas as coletas, sendo C2 menor que C3 e maior que C4. A atividade de alongases no par 20:5n3 - 22:5n3 a C3 e C2 não apresentou diferença entre si e foi maior que C4. No par 22:5n3 - 24:5n3 a atividade de T6 foi menor que todos os demais tratamentos e as coletas C3 e C2 não diferiram entre si e foram maiores que C4.

A atividade de Δ -6 desaturase sobre o par 18:2n6 - 18:3n6 foi maior no T5 que no T6. Nos pares 18:3n3 - 18:4n3 e 24:5n3 - 22:6n3 a atividade de Δ -6 desaturase no T6 foi menor que nos demais tratamentos e não apresentou diferença entre as coletas C3 e C2, que foram maiores que C4.

A atividade de Δ -5 desaturase sobre o par 20:4n3 - 20:5n3 não apresentou diferença entre tratamentos; a C2 foi menor que C3 e maior que C4. Se observou significância da interação TxC. Os tratamentos T1, T2 e T3 apresentam uma diminuição na quantidade de ácido 20:4n3 convertida em 20:5n3 na coleta 4 (Figura 5).

A atividade total das alongases sobre os ácidos graxos do grupo n3 apresentou diferença entre coletas, sendo C2 menor que C3 e maior que C4. Sobre os n6, a atividade total de alongases não apresentou diferença entre C3 e C4, que foram maiores que C2.

A atividade de Δ -6 desaturases sobre n3 do T6 foi menor que todos os demais tratamentos; as coletas C3 e C2 não diferiram entre si e foram maiores que C4. Sobre n-6, a atividade de Δ -6 desaturases dos tratamentos T5, T4 e T3 foi maior que T2, enquanto que T2 e T1 não diferiram dos outros tratamentos.

Tabela 44 - Análise estatística de atividade enzimática individual de alongamento, Δ -9, Δ -5 e Δ -6 desaturação.

	Teste de Levene (<i>p</i>)	Anova				
		Tratamento		Coleta		Interação
		(<i>p</i>)	SNK*	(<i>p</i>)	SNK*	(<i>p</i>)
Alongase:						
12:0 - 14:0	0,000131	0,574	ns	0,019	ns	0,131
14:0 - 16:0	0,000102	0,552	ns	0,019	ns	0,129
16:1n7 - 18:1n7	0,000017	0,498	ns	0,127	ns	0,048
16:0 - 18:0	0,000057	0,340	ns	0,013	ns	0,095
18:1n9 - 20:1n9	0,001	0,822	ns	0,189	ns	0,081
18:0 - 20:0	0,000	0,224	ns	0,974	ns	0,838
20:0 - 22:0	0,061	0,600	ns	0,000	3>2>4	0,073
15:0 - 17:0	0,000004	0,193	ns	0,001	ns	0,057
18:2n6 - 20:2n6	0,000002	0,308	ns	0,006	ns	0,870
18:3n6 - 20:3n6	0,000565	0,004072	ns	0,000712	ns	0,097
20:4n6 - 22:4n6	0,000	0,016	ns	0,003	ns	0,077
18:4n3 - 20:4n3	0,012	0,097	ns	0,000	3>2>4	0,008
20:5n3 - 22:5n3	0,004	0,010	ns	0,000	32>4	0,057
22:5n3 - 24:5n3	0,020	0,000	45321>6	0,000	32>4	0,059
Δ9 desaturase:						
14:0 - 14:1n5	0,000027	0,522	ns	0,077	ns	0,139
16:0 - 16:1n7	0,000002	0,889	ns	0,054	ns	0,057
18:0 - 18:1n9	0,000001	0,351	ns	0,013	ns	0,064
17:0 - 17:1n8	0,000	0,420	ns	0,922	ns	0,047
Δ6 desaturase:						
18:2n6 - 18:3n6	0,005	0,004	54321>43216	0,000	ns	0,068
18:3n3 - 18:4n3	0,020	0,000	45321>6	0,000	32>4	0,059
24:5n3 - 22:6n3	0,020	0,000	45321>6	0,000	32>4	0,059
Δ5 desaturase:						
20:3n6 - 20:4n6	0,000	0,006	ns	0,000213	ns	0,088
20:4n3 - 20:5n3	0,012	0,097	ns	0,000	3>2>4	0,008
Alongase sobre n3	0,005	0,032	ns	0,000	3>2>4	0,016
Alongase sobre n6	0,004	0,016	ns	0,002	34>2	0,154
Δ-6 sobre n3	0,020	0,000	45321>6	0,000	32>4	0,059
Δ-6 sobre n6	0,005	0,004	54321>216	0,000	ns	0,068

* Os números representam as médias dos respectivos tratamentos experimentais, ordenados de forma descendente da esquerda à direita. O sinal “>” separa grupos de médias. Médias localizadas no mesmo grupo não apresentaram diferença significativa pelo teste SNK, para o valor de *p* estabelecido pelo teste de Levene. Quando o valor de *p* do teste de Levene foi maior que 0,05 o nível de significância de ANOVA e SNK foi mantido em 0,05.

Figura 5. Interação tratamento x coleta da atividade de Δ -5 desaturase sobre o par de ácidos graxos 20:4n3 – 20:5n3

5. DISCUSSÃO

A escolha de uma espécie onívora como o pacu permitiu eficazmente, formular rações com uso exclusivo de ingredientes de origem vegetal, e desta forma foi possível observar em primeira instância que os parâmetros de desempenho zootécnico de crescimento e ganho de peso desta espécie, não foram afetados pelas variações na relação ALA/LA da dieta, mas a nível metabólico, foram evidenciadas particularidades relacionadas com a presença de HUFA no tratamento controle (T6), ou a ausência destes ácidos graxos nos tratamentos T1 a T5.

A porcentagem de gordura corporal foi maior aos 106 dias, mas a taxa de deposição de gordura foi maior aos 82 dias, ou seja, apesar do acúmulo de gordura no corpo inteiro dos peixes, ter apresentado incremento progressivo, a deposição foi mais intensa durante o período C3. O comprimento total, massa corporal e consumo de alimento também apresentaram um incremento proporcional ao número de dias de experimento, indicando em termos gerais que houve crescimento e ganho de peso em função do tempo e consumo de alimento, ao contrário do índice de condição corporal que foi menor ao final do experimento. Vários trabalhos coincidem ao indicar que a fonte lipídica da dieta, ou seja, composições de ácidos graxos diferentes, não ocasionam variações significativas na composição corporal (macro) nem nos parâmetros de desempenho zootécnico de espécies como truta arco-íris (THANUTHONG et al., 2011a), salmão do Atlântico (KENNEDY et al., 2007), tilápia do Nilo (TEOH; TURCHINI; NG, 2011a), *Murray cod* (*Maccullochella peelii*) (SENADHEERA et al., 2010). De acordo com de Tan et al. (2009) o ganho de peso da espécie *Pelteobagrus fulvidraco* foi maior em dietas com relações ALA/LA de 1,17 e 2,12 (próximas dos tratamentos 2 e 3 deste trabalho) e foi prejudicado em dietas com relações 0,35; 4,18; 7,11 e 14,64. Características próprias da fisiologia desta espécie poderiam fazer com que a exigência de ácidos graxos essenciais afete o crescimento de forma mais expressiva. Cabe ressaltar que Tan et al. (2009) conseguiram formular rações com altas relações ALA/LA, utilizando ácido linolênico purificado em níveis de inclusão progressivos de 0 até 5%, em dietas com aproximadamente 8% de gordura total. Ao utilizar óleos de soja e linhaça, a máxima relação ALA/LA observada no presente trabalho foi de 2,9. É possível que existam diferenças entre os processos de digestão de ácidos graxos de triacilgliceróis e ácidos graxos purificados.

Se observa que os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de matéria seca, proteína e energia bruta foram maiores no tratamento controle (T6), e o CDA de gordura que não apresentou

diferenças. Isto não influenciou de forma significativa os parâmetros de desempenho e composição de corpo inteiro dos animais. Aparentemente, a inclusão de óleo de tilápia melhorou de forma permanente a digestibilidade da ração controle durante o período compreendido entre os dias 34 e 106 (C2 a C4). Em outras palavras, durante a segunda fase do experimento, uma vez que foi realizada a mudança de dieta nos animais dos grupos T1 a T5, se observou uma diminuição nos CDA dos nutrientes, que não igualou aos níveis do tratamento controle durante o período avaliado (interação tratamento x coleta não foi significativa).

Os CDA dos ácidos graxos 14:0 e 15:0 foram particularmente baixos nos grupos alimentados com as dietas T1 a T5. Os CDA dos ácidos graxos saturados e monoinsaturados, que apresentaram menores concentrações nas dietas T1 a T5, foram menores que os CDA dos peixes alimentados com a dieta T6, que apresentou maiores teores de ácidos graxos saturados e monoinsaturados com até 20C. Em síntese, os CDA dos ácidos graxos tenderiam a ser maiores, nos ácidos graxos com maiores níveis de inclusão na dieta. Nos trabalhos de Gunasekera et al. (2002) com a espécie *Anguilla australis* e Francis et al. (2007) com *Maccullochella peelii peelii*, também se observou que os ácidos graxos presentes na ração em maiores proporções, apresentaram os maiores CDA. Existiriam duas situações claras: uma relação diretamente proporcional entre os níveis de inclusão de ácidos graxos na ração e seus coeficientes de digestibilidade aparente, assim como uma maior digestibilidade dos ácidos graxos presentes nos óleos de origem animal. Ao considerar que a principal diferença entre os tratamentos T1 a T5 e o controle (T6) é que no controle existem ácidos graxos (principalmente HUFA) que não se encontram nos tratamentos exclusivamente vegetais, é provável que a presença dos HUFA afete positivamente a capacidade de absorção dos outros ácidos graxos, em dietas para pacu. Em vista de que o maior grau de insaturação incrementa a fluidez dos lipídios, esta característica poderia estar relacionada com uma maior eficácia das enzimas digestivas sobre os lipídios mais fluidos (com menores pontos de fusão). Isto seria corroborado pelo fato dos ácidos graxos com menor comprimento de cadeia (14:0 e 15:0) apresentarem neste trabalho, menores CDA que os demais ácidos graxos. Algo semelhante pode ser observado no trabalho de Colombo-Hixon et al. (2011) em dietas para *Hippoglossus hippoglossus* L., com CDA dos ácidos graxos 14:0, 16:0 e 18:0 inferiores aos CDA dos ácidos graxos com maior número de ligações duplas.

A composição de ácidos graxos das rações variou, não só nos níveis e proporções de ácidos graxos essenciais (ALA e LA). Se observou que os teores de outros ácidos graxos aumentaram ou diminuíram gradativamente conforme as variações nas proporções de óleos de linhaça, soja e tilápia. Estas variações ocasionaram diferenças significativas no consumo de todos os ácidos graxos e não unicamente daqueles determinados como foco do estudo (Tabela 19). No entanto, estas variações na composição de ácidos graxos das dietas experimentais, só ocasionaram diferenças significativas na composição de alguns ácidos graxos de corpo inteiro dos juvenis de pacu: o ácido graxo saturado 14:0, os monoinsaturados 14:1n5, 17:1n8 e 20:1n9 e o altamente insaturado 20:5n3 (EPA). É interessante ressaltar que destes cinco ácidos graxos, o EPA, um ácido graxo de grande interesse nutricional (LANDS, 2005) foi o único ácido graxo cujo teor no corpo inteiro dos animais alimentados com a ração T6 não formou parte do grupo de médias de tratamentos significativamente maiores. A ausência de diferenças entre os teores de corpo inteiro dos demais HUFA, também resulta particularmente interessante, já que indica que dentro dos níveis de inclusão de ALA e LA testados neste trabalho, o alongamento e desaturação de ácidos graxos essenciais foram suficientemente ativos, ao ponto de igualar os níveis de HUFA no corpo inteiro, atingidos pelo grupo de animais que foram alimentados com a dieta que continha HUFA (T6). As relações n3/n6 e ALA/LA de corpo inteiro mantiveram a mesma relação hierárquica que nas rações, evidenciando claramente o vínculo entre o perfil de ácidos graxos da dieta e do corpo dos animais. Os ácidos graxos 20:5n3, 22:5n3 e 22:6n3 assim como os n-3 totais apresentaram maiores concentrações nas coletas 4 e 3 (entre os dias 82 e 106), o que indica que houve acúmulo de n3 no decorrer do tempo, diferente dos n6 que não apresentaram diferenças entre coletas indicando que seus níveis permaneceram estáveis. Teoh et al. (2011a), ao alimentar tilápia com rações contendo 8% de gordura total e sem adição de AGPI além dos ácidos graxos essenciais, determinaram que aos 98 dias os lipídios de corpo inteiro apresentaram teores de DHA entre 10,1 e 11,8 mg/g de gordura, valores semelhantes aos observados neste trabalho, mas os teores de outros ácidos graxos foram bastante distintos como o ARA (ácido araquidônico - 20:4n6) entre 4,8 e 5,7 mg/g e 20:5n3 entre 1,3 e 1,4 mg/g. Aparentemente, o organismo do pacu “desenvolve” perfis de ácidos graxos com certos níveis mínimos de HUFA, os quais não foram modificados pelos níveis máximos e mínimos de ácidos graxos essenciais testados neste trabalho, ou seja, relações ALA/LA entre 2,98 e 0,35 em inclusões de ácidos graxos essenciais totais entre 381,95 e 487,7 mg/g de óleo, em rações com 16% de gordura total não determinaram diferença nos ácidos graxos de corpo inteiro com o

controle, apesar deste conter HUFA. É destacável o efeito das menores relações ALA/LA sobre a concentração de 20:5n3 na coleta 4 (tratamentos 4, 5 e 6). A análise da interação tratamento x coleta (Figura 2) sugere que as relações ALA/LA menores que 1 produziram um incremento no teor de EPA (20:5n3) nos tratamentos com menor inclusão de ALA (18:3n3), semelhante ao observado nas Figuras 3, 4 e 5 onde se verifica que os tratamentos T1, T2 e T3 aos 106 dias de experimento apresentaram diminuição nas taxas de aparecimento, atividade Δ -5 desaturase total e conversão de 20:4n3 a 20:5n3, que estariam diretamente associadas com a diminuição na relação ALA/LA da dieta, em função do tempo durante o qual os juvenis de pacu foram alimentados com as respectivas rações experimentais. Isto mostra que as altas inclusões de ALA na dieta de pacu, não necessariamente estariam relacionadas com incremento de 20:5n3, e que ao mesmo tempo, a produção de 20:5n3 responde às variações na relação de ácidos graxos essenciais, algo que não se observa em outros HUFA n3 nem n6.

Na tabela 29 se observa que os ácidos graxos com maior inclusão na dieta, são os que apresentam os menores valores de aparecimento/desaparecimento (considerando que estes valores também podem ser negativos). Nas tabelas 26, 27 e 28 se observa que os tratamentos 1 a 5 apresentaram maior aparecimento/desaparecimento que o T6 nos ácidos graxos polinsaturados diferentes dos ácidos graxos essenciais (exceto no caso de 20:5n3 e 22:5n3), o aparecimento (valores positivos) se origina do acúmulo dos ácidos graxos da dieta ou produzidos *ex novo* e o desaparecimento (valores negativos), sempre que a oxidação seja maior que o acúmulo. Os ácidos graxos presentes na ração T6 e ausentes nas demais rações foram principalmente oxidados (Tabela 29), registrando maior oxidação (desaparecimento) que nos tratamentos 1 a 5 em que o aparecimento corresponde integralmente à produção *ex novo* a partir dos ácidos graxos essenciais. Nos trabalhos de Senadheera et al. (2010, 2011) com a espécie *Maccullochella peelii peelii* se observa a presença de HUFA nas dietas, já que apesar de não ter adicionado óleo de peixe nas formulações, a fração lipídica da farinha de peixe aportou estes compostos. No presente trabalho, se observa que 20:5n3, 22:5n3 e 22:6n3 apresentam aparecimento (produção *ex novo*), e este último, particularmente, foi claramente acumulado em maior quantidade nos tratamentos 1 a 5. Isto demonstra que os animais foram capazes de alongar e desaturar 18:3n3 para produzir HUFA e que as relações ALA/LA dentro dos níveis de inclusão propostos não afetaram de forma significativa a atividade enzimática sobre os ácidos graxos de principal interesse nutricional. De acordo com o *National Research Council* (2011) a exigência de ácidos graxos essenciais em peixes de água doce

varia em termos gerais entre 0,5 e 2%. Com as dietas experimentais empregadas, esta exigência estaria coberta. Como não houve diferença entre tratamentos, é possível considerar que em nenhum dos casos houve déficit de substrato para formação de HUFA.

A maior β -oxidação total de ácidos graxos (Tabela 34) foi determinada no T3 que corresponde ao tratamento de relação ALA/LA ≈ 1 . Se verificou semelhança com as médias de T1 e T2. Apesar do T3 ter valores intermediários de AG totais, apresentou as maiores taxas de oxidação, e foram T1 e T2 que apresentaram semelhança com T4, 5 e 6, ou seja, neste caso não houve uma relação proporcional entre a magnitude da oxidação total e o teor de ácidos graxos totais. Por outro lado, como ração T3 apresentou teores intermediários da maioria de ácidos graxos, diferente às demais rações experimentais que apresentaram valores maiores ou menores de certos ácidos graxos; é possível que a β -oxidação total resultasse maior em T3, em concordância com o anteriormente mencionado, sobre a oxidação de ácidos graxos em função da sua abundância no alimento, e que pode ser evidenciado na tabela 39. Os ácidos graxos essenciais, foram majoritariamente oxidados, de forma proporcional ao nível de inclusão na dieta. Situação semelhante se observa no trabalho de Senadheera et al. (2011), na espécie *M. peelii* (*Murray cod*): a oxidação foi proporcional à inclusão na dieta. No entanto, apesar daqueles níveis de inclusão na dieta serem semelhantes aos apresentados neste trabalho, se observam menores valores de oxidação (ao redor de 37 e 43 $\mu\text{mol/g/dia}$ de 18:2n6 e 18:3n3 respectivamente). No trabalho de Turchini e Francis (2009) se observa também que a oxidação dos ácidos graxos é maior conforme o maior nível de inclusão na dieta. O T2 do presente trabalho apresentou teor de 18:2n6 comparável ao do tratamento com inclusão de óleo de linhaça do trabalho de Turchini e Francis (2009) com truta arco-íris (72 dias de experimento), que foi de 152,4 mg/g de óleo e cuja oxidação foi de 0,694 $\mu\text{mol/g/dia}$, aproximadamente, a metade do observado no presente estudo

A atividade da enzima Δ -6 desaturase, determinada nos peixes alimentados com as rações T1 a T5 é claramente maior que nos animais do tratamento controle (T6). Além dos ácidos graxos essenciais ALA e LA, a ração T6 teve incorporação de AGPI de maior comprimento e maior número de ligações duplas. Esta característica pode ser associada com a diminuição da atividade desta enzima. Por outro lado, a atividade da Δ -5 desaturase não teve diferença entre os tratamentos, indicando que não houve influência dos níveis de inclusão e relações ALA/LA da dieta aplicados neste trabalho, sobre a produção de EPA (20:5n3) e ARA (20:4n6) a partir dos precursores

imediatos (20:4n3 e 20:3n6 respectivamente). A atividade Δ -6 desaturase total nos ácidos graxos n3 totais, mostrou valores semelhantes aos apresentados pelos grupos de tilápias híbridas vermelhas, alimentadas com dietas contendo óleo de peixe no trabalho de Teoh et al. (2011a) e consideravelmente inferiores aos observados nos grupos alimentados com dietas vegetais, mas se observa claramente que os grupos de tilápia alimentados com óleo de peixe manifestaram menor atividade enzimática de Δ -5 e Δ -6 desaturases sobre os n3 e n6 totais. Já em comparação com o trabalho de Senadheera et al. (2012b) com truta arco-íris, se observaram níveis de produção *ex novo* e atividade alongasse total de ácidos graxos, semelhantes.

A capacidade do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) de alongar e desaturar ácidos graxos essenciais, e particularmente ALA constitui um importante aporte ao estudo da produção de HUFA n-3 por organismos vertebrados, que aumenta o interesse no estudo das espécies onívoras dentro da procura de formas sustentáveis de diminuir a dependência da inclusão de óleos marinhos para produção de rações aquícolas.

6. CONCLUSÕES

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) efetivamente alonga e desatura ácidos graxos essenciais, produzindo ácidos graxos altamente insaturados de interesse como 20:5n3 e 22:6n3.

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos ácidos graxos em juvenis de pacu aumentam de forma proporcional ao seu grau de instauração e sua concentração na dieta.

A inclusão de ácidos graxos essenciais, com relações ALA/LA entre 2,9 e 0,33, como única fonte de ácidos graxos polinsaturados promovem no pacu, maior atividade de alongamento e desaturação de ácidos graxos das famílias n3 e n6 do que dietas com inclusão de ácidos graxos altamente insaturados.

A β -oxidação aparente é proporcional ao nível de inclusão dos ácidos graxos na dieta de pacu, pois uma vez que a exigência de ácidos graxos essenciais é satisfeita, a maior parte do excedente é destinado à produção de energia.

Baixos níveis de inclusão de ácidos graxos altamente insaturados na dieta de pacu reduzem a atividade de alongamento e desaturação de ácidos graxos essenciais, como também ocasionam menores concentrações de 20:5n3, que as dietas contendo unicamente ácidos graxos essenciais, como fonte de ácidos graxos polinsaturados.

A atividade aparente da enzima Δ -5 desaturase sobre o 20:4n3 tende a diminuir em juvenis de pacu alimentados com rações contendo relações 18:3n3/18:2n6 maiores ou iguais a 1, ocasionando menores concentrações de 20:5n3 aos 106 dias de exposição à dieta.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As relações ALA/LA menores que 1 apresentaram bons resultados na produção de EPA por alongamento e desaturação de ALA, portanto, seria possível utilizar dietas com menores inclusões de óleo de linhaça e menores níveis de gordura total que os utilizados neste trabalho. Isto melhoraria algumas propriedades da ração (como fluatubilidade e possivelmente estabilidade oxidativa) e permitiria a utilização de dietas práticas, evitando a inclusão de ingredientes pouco frequentes como o concentrado proteico de soja e amido de milho de uso doméstico (os quais foram utilizados na formulação das rações experimentais, devido ao baixíssimo teor de gordura) e, possivelmente corrigindo o perfil de aminoácidos mediante produtos sintéticos.

Uma vez que se foi evidenciada a capacidade do pacu para alongar e desaturar ácidos graxos essenciais, caberia certamente a necessidade de desenvolver estratégias de enriquecimento do produto final com HUFA n3, mediante estudos que abranjam todo o ciclo produtivo em condições próximas das criações comerciais.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J.; URBINATI, E. C. Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture Research**, v. 38, n. 1, p. 36–44, 2007.
- ABIMORAD, E. G.; SQUASSONI, G. H.; CARNEIRO, D. J. Apparent digestibility of protein, energy, and amino acids in some selected feed ingredients for pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture Nutrition**, v. 14, n. 4, p. 374–380, 2008.
- BALDISSEROTO, B.; GOMES, L. DE C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Editora UFSM, 2005.
- BICUDO, Á. J. DE A.; SADO, R. Y.; CYRINO, J. E. P. Dietary lysine requirement of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Aquaculture**, v. 297, n. 1–4, p. 151–156, 2009.
- BICUDO, Á. J. DE A.; SADO, R. Y.; CYRINO, J. E. P. Growth performance and body composition of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) in response to dietary protein and energy levels. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, n. 2, p. 213–222, 2010.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. Extraction of Lipids in Solution by the Method of Bligh & Dyer. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911–917, 1959.
- BROWN, J. E. A critical review of methods used to estimate linoleic acid delta 6-desaturation ex vivo and in vivo. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 107, n. 2, p. 119–134, 2005.
- BUZZI, M.; HENDERSON, R. J.; SARGENT, J. R. The desaturation and elongation of linolenic acid and eicosapentaenoic acid by hepatocytes and liver microsomes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing fish oil or olive oil. **Biochimica et biophysica acta**,

v. 1299, p. 235–244, 1996.

COLOMBO-HIXSON, S. M. et al. Lipid and fatty acid digestibility in *Calanus* copepod and krill oil by Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). **Aquaculture**, v. 313, n. 1–4, p. 115–122, 2011.

CUNNANE, S. C.; ANDERSON, M. J. The majority of dietary linoleate in growing rats is beta-oxidized or stored in visceral fat. **The Journal of nutrition**, v. 127, n. 1, p. 146–52, 1997.

CYRINO, J. E. P. et al. A piscicultura e o ambiente - o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 1, p. 68–87, 2010.

DAS, U. N. Folic acid and polyunsaturated fatty acids improve cognitive function and prevent depression, dementia, and Alzheimer's disease-but how and why? **Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids**, v. 78, n. 1, p. 11–9, 2008.

FAO. **Food energy – methods of analysis and conversion factors** Food and Nutrition Paper 77. Roma: [s.n.], 2003.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome: Fisheries and Aquaculture Department, 2014.

FRANCIS, D. S. et al. Effects of dietary oil source on growth and fillet fatty acid composition of Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. **Aquaculture**, v. 253, n. 1–4, p. 547–556, 2006.

FRANCIS, D. S. et al. Effects of fish oil substitution with a mix blend vegetable oil on nutrient digestibility in Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. **Aquaculture**, v. 269, n. 1–4, p. 447–455, 2007.

FRANCIS, D. S.; PETERS, D. J.; TURCHINI, G. M. Apparent in Vivo Δ -6 Desaturase Activity , Efficiency , and Affinity Are Affected by Total Dietary C 18 PUFA in the Freshwater Fish Murray

Cod. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, p. 4381–4390, 2009.

FURUKAWA, A.; TSUKAHARA, H. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 32, n. 6, p. 502–506, 1966.

GARCIA, A. S. et al. Lipídios. In: FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. (Eds.). . **Nutriaqua**. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012. p. 375.

GONÇALVES, E. G.; CARNEIRO, D. J. Coeficientes de Digestibilidade Aparente da Proteína e Energia de Alguns Ingredientes Utilizados em Dietas para o Pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 4, p. 779–786, 2003.

GUESNET, P.; ALESSANDRI, J.-M. Docosahexaenoic acid (DHA) and the developing central nervous system (CNS) - Implications for dietary recommendations. **Biochimie**, v. 93, n. 1, p. 7–12, 2011.

GUNASEKERA, R. M.; LEELARASAMEE, K.; DE SILVA, S. S. Lipid and fatty acid digestibility of three oil types in the Australian shortfin eel, *Anguilla australis*. **Aquaculture**, v. 203, p. 335–347, 2002.

HORWITZ, W. **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 17. ed. Gaithersburg, MD, USA: AOAC international, 2000.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Animal and vegetable fats and oils -- Preparation of methyl esters of fatty acids**. Method ISO 5509, 1978.

ISSFAL. International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids. **Recommendations for intake of Polyunsaturated Fatty Acids in healthy adults**, 2004.

KENNEDY, S. R. et al. Influence of dietary conjugated linoleic acid (CLA) and

tetradecylthioacetic acid (TTA) on growth, lipid composition and key enzymes of fatty acid oxidation in liver and muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). **Aquaculture**, v. 264, n. 1–4, p. 372–382, 2007.

KOLETZKO, B.; CETIN, I.; BRENNAN, J. T. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. **The British journal of nutrition**, v. 98, n. 5, p. 873–7, 2007.

LANDS, W. E. M. **Fish, Omega-3 and Human Health**. 2. ed. Champaign, Illinois: AOCS Press, 2005.

MOLENDI-COSTE, O.; LEGRY, V.; LECLERCQ, I. A. Why and How Meet n-3 PUFA Dietary Recommendations? **Gastroenterology research and practice**, v. 2011, p. 1–11, jan. 2011.

MPA. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura**. Brasília, DF: [s.n.], 2009.

NRC. **Nutrient Requirements of Fish**. Washington, D.C.: National Academy Press, 2011.

NUNES, C. DA S. **Desempenho de produção e enriquecimento em ácidos graxos de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com diferentes fontes lipídicas nas dietas**. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2006.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. **Aqüicultura no Brasil: O desafio é crescer**. Brasília: Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), 2008.

SARGENT, J. R.; TOCHER, D. R.; BELL, J. G. The Lipids. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Eds.). **Fish Nutrition**. 3. ed. Maryland Heights/MO: Elsevier, 2002. p. 181–257.

SENADHEERA, S. D. et al. Effects of dietary α -linolenic acid (18:3n-3)/linoleic acid (18:2n-6) ratio on growth performance, fillet fatty acid profile and finishing efficiency in Murray cod. **Aquaculture**, v. 309, n. 1–4, p. 222–230, 2010.

SENADHEERA, S. D. et al. Effects of dietary α -linolenic acid (18:3n-3)/linoleic acid (18:2n-6) ratio on fatty acid metabolism in Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 3, p. 1020–1030, 2011.

SENADHEERA, S. D. et al. Effects of dietary vitamin B6 supplementation on fillet fatty acid composition and fatty acid metabolism of rainbow trout fed vegetable oil based diets. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 60, n. 9, p. 2343–2353, 2012a.

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

SIDHU, K. S. Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. **Regulatory toxicology and pharmacology RTP**, v. 38, n. 3, p. 336–344, 2003.

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

TAN, X. YING et al. Effect of dietary linolenic acid/linoleic acid ratio on growth performance, hepatic fatty acid profiles and intermediary metabolism of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. **Aquaculture**, v. 296, n. 1–2, p. 96–101, 2009.

TANAMATI, A. et al. Fatty acid composition in wild and cultivated pacu and pintado fish. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, n. 2, p. 183–187, 2009.

TEOH, C.Y.; TURCHINI, G. M.; NG, W.-K. 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. 312, n. 1–4, p. 126–136, 2011a.

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, 2011b.

THANUTHONG, T. et al. Fish oil replacement in rainbow trout diets and total dietary PUFA content: I) Effects on feed efficiency, fat deposition and the efficiency of a finishing strategy. **Aquaculture**, v. 320, n. 1–2, p. 82–90, 2011a.

THANUTHONG, T. et al. LC-PUFA biosynthesis in rainbow trout is substrate limited: use of the whole body fatty acid balance method and different 18:3n-3/18:2n-6 ratios. **Lipids**, v. 46, n. 12, p. 1111–27, 2011b.

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, n. 5, p. 717–732, 2010.

TOCHER, D. R.; CARR, J.; SARGENT, J. R. Polyunsaturated fatty acid metabolism in fish cells: differential metabolism of (n-3) and (n-6) series acids by cultured cells originating from a freshwater teleost fish and from a marine teleost fish. **Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry**, v. 94, n. 2, p. 367–74, 1989.

TOCHER, D. R.; GHIONI, C. Fatty acid metabolism in marine fish: low activity of fatty acyl delta5 desaturation in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cells. **Lipids**, v. 34, n. 5, p. 433–40, 1999.

TRATTNER, S. et al. Effects of α -lipoic and ascorbic acid on the muscle and brain fatty acids and antioxidant profile of the South American pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture**, v. 273, n. 1, p. 158–164, 2007.

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. 1, p. 69–81, 2009.

TURCHINI, G. M.; FRANCIS, D. S.; DE SILVA, S. S. A whole body, in vivo, fatty acid balance method to quantify PUFA metabolism (desaturation, elongation and beta-oxidation). **Lipids**, v. 42, n. 11, p. 1065–71, 2007.

VISENTAINER, J. V. Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. **Química Nova**, v. 35, n. 2, p. 274–279, 2012.