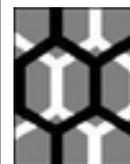




Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Química e Biotecnologia

***Programa de Pós-Graduação em Química e
Biotecnologia***
PPGQB



IQB

Desempenho Produtivo e Efeito da Vitamina C na Qualidade Nutricional e nos Níveis de Marcadores do Estresse Oxidativo em Alevinos de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857)

MARIA EMÍLIA DA SILVA MENEZES

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências, área de concentração em Biotecnologia e subárea de Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana
Co- Orientação: Prof^a. Dr^a. Edma Carvalho de Miranda
Prof^a. Dr^a. Denise Maria Pinheiro

Maceió - AL
Abril de 2010

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

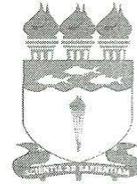
Bibliotecária Responsável: Maria Auxiliadora G. da Cunha

- M543d Menezes, Maria Emília da Silva.
Desempenho produtivo e efeito da vitamina C na qualidade nutricional e nos níveis de marcadores do estresse oxidativo em alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) / Maria Emília da Silva Menezes, 2010. 169 f. : il.
- Orientador: Antônio Euzébio Goulart Sant`Ana.
Co-Orientadoras: Edma Carvalho de Miranda, Denise Maria Pinheiro.
Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2010.
- Bibliografia. f. 163-166.
Inclui anexos.
1. *Oreochromis niloticus*. 2. Vitamina C. 3. Superóxido dismutase.
4. Catalase. I. Título.

CDU: 577.115.3



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1384, Fax (82) 3214-1384
Email: cpgqb@qui.ufal.br

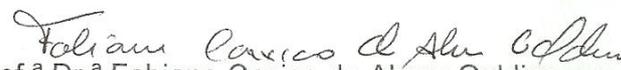
Membros da Comissão Julgadora de Tese da doutoranda **Maria Emília da Silva Menezes**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 16 de abril de 2010, às 14h na Sala de Aulas do PPGQB/UFAL.

COMISSÃO JULGADORA

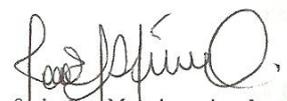

Prof.º Dr.º Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana
Orientador – PPGQB/IQB/UFAL


Prof.ª Dr.ª Solange Guidolin Canniatti Brazaca
DAAM/ ESALQ/SP


Prof.ª Dr.ª Edma Carvalho de Miranda
IQB/UFAL


Prof.ª Dr.ª Fabiane Caxico de Abreu Galdino
PPGQB/ IQB/ UFAL

Prof.ª Dr.ª Iara Barros Valentim
PESQUISADORA/IQB/UFAL


Prof.º Dr.º João Xavier de Araújo Júnior
PPGQB/ ESENFAR/ UFAL

MENSAGEM

Milagre de Deus;

Em um consultório médico um menino recebia a notícia de que precisaria fazer uma cirurgia que custaria muito dinheiro.

A mãe ficou desesperada, pois eles eram muito pobres.

O médico, um homem sem fé, sua crença era o dinheiro, sempre que ouvia seus pacientes dizerem: Graças a Deus estou curada, obrigada meu Deus, ele dizia: “Graças a mim que estudei”; sua reputação não era muito boa entre os seus colegas, que já andavam discutindo sobre o menino, pois não só ele, mas todos sabiam que o caso era irreversível e mesmo assim ele insistia em fazer uma cirurgia sem sucesso. Mais ainda, sendo uma família tão pobre.

O prefeito que havia falado com a mãe, prometeu ajudá-los e foi falar com o médico que garantia sucesso total na cirurgia, ou seja, o menino voltaria a ver.

E assim chegou o dia da cirurgia. Horas antes, o menino e seus pais faziam suas orações para que corresse tudo bem. Sua mãe, mulher de muita fé, segurou sua mão e rezaram uma única prece para que fosse feita a vontade de Deus. Depois dos procedimentos normais no centro cirúrgico, o médico simplesmente colocou um tampão nos olhos do menino, agindo como se tivesse feito uma cirurgia.

Passados alguns dias da “recuperação”, o médico foi retirar os curativos, o menino não se agüentava de felicidade, pois se sentia perfeitamente bem, certo de sua cura: O médico

perguntou-lhe se estava vendo algo. O menino respondeu sem perder a esperança: não, ainda não vejo nada e sorriu para o médico.

Ele colocou novamente os curativos e passados três dias os retirou, voltando a perguntar: E aí o que estás vendo? O menino mais feliz do que nunca disse: O senhor doutor, eu estou vendo o senhor. E o menino abraçou o médico, que estava totalmente surpreso, até mesmo assustado. Ele insiste e pergunta novamente, recebendo a confirmação do garoto que estava vendo sim. O médico olhou para os outros médicos que estavam presentes, que sem entenderem estavam se perguntando: como pode ser, pois eles sabiam que o menino não tinha como voltar a enxergar.

A mãe e o menino abraçados agradeciam a Deus pelo “milagre”. Ela repetia agradecida que já sabia que Ele nunca os abandonaria. O médico ainda em estado de choque se ajoelhou e pediu perdão a Deus...

Autor Desconhecido

DEDICATÓRIA

Aos meus pais José Xavier de Menezes e Maria José da Silva Menezes, os mestres responsáveis pela minha existência. Incansáveis lutadores na busca determinada pela formação profissional, ética e humana de suas três filhas, vocês emprestaram-me seu amor para que eu pudesse existir: mais que isso, trabalharam sacrificando seus sonhos em favor dos meus. Por tudo, sou infinitamente grata.

A minha querida avó Emília Xavier de Moura (in Memoriam), fonte inesgotável de inspiração e vida. Razão da minha luta contra os obstáculos que a vida impõe e na minha busca de um futuro mais justo e digno. Sei que não estás perto (fisicamente), mas tenho certeza que a pessoa carinhosa e alegre que me levava a escola contando histórias permanecerá sempre ao meu lado, por toda a minha vida, com todo amor e carinho.

Às minhas irmãs Karla Luzia da Silva Menezes e Ana Lúcia da Silva Menezes, que tanto confiaram em meus passos, dando-me crédito para acertar e errar, incentivando-me com palavras de estímulo, carinho e muito amor.

AS INSTITUIÇÕES FINANCEIRAS

Este trabalho contou com o apoio financeiro das seguintes instituições:

Universidade Federal de Alagoas
CNPq, FIMEP, CAPES, FAPEAL
BNB

A todas, o meu muito obrigada.

AGRADECIMENTOS

Impróprio dizer que este trabalho é obra de apenas uma pessoa, como mostra a capa, mas sim de muitas que me incentivaram e não me deixaram esmorecer durante esta jornada. A essas pessoas meus sinceros agradecimentos.

- * A Deus, o principal responsável por tudo que acontece na minha vida, a força maior que me segura, me guia, me ilumina em todos os momentos, por ter me concedido à força, a persistência e todos os ingredientes necessários para que eu chegasse até aqui, a paciência, os amigos, os professores, a coragem, a esperança e acima de tudo, a fé. Obrigada, Senhor, pois sem Ti, eu não conseguiria;
- * À Virgem Nossa Senhora de Fátima que sempre serviu de alento nos momentos difíceis;
- * Ao Prof^o. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana, pela paciência, confiança e amizade, contida no constante estímulo ao meu engrandecimento profissional, dedicação, entusiasmo, e por todas as oportunidades de crescimento profissional, mas, sobretudo pelo exemplo de retidão, caráter, generosidade, sabedoria e paciência. Minha admiração, eterna gratidão e todo meu respeito;
- * À Prof^a. Dr^a. Denise Maria Pinheiro, pelas oportunidades que me proporcionou ao longo da minha Pós-Graduação, pelos conselhos certos nos momentos certos, pelo apoio sempre que eu precisava, além de incentivo e sincera amizade;
- * À Prof^a. Dr^a. Edma Carvalho de Miranda; pela pessoa incentivadora da minha inscrição na seleção de doutorado. Pois tinha que ao mesmo tempo terminar uma importante etapa na minha vida (defender o mestrado) e fazer o projeto para a seleção do doutorado. Com palavras de estímulo, incentivo e carinho dela fui à luta. Ela contribuindo com o projeto a ser desenvolvido e ao mesmo tempo: lendo, corrigindo e sugerindo ideias para o projeto de apresentação para a seleção no Programa de Pós-Graduação da Química;
- * À Prof^a. Dr^a. Luíza Antas Rebêlo, pela oportunidade de trabalhar ao seu lado e sobretudo me oferecendo confiança e apoio nas análises das enzimas do estresse oxidativo;
- * À Prof^a. Dr^a. Giselda Macena Lira, quem primeiro me deu oportunidade de iniciar a pesquisa científica, pela valiosa experiência compartilhada em todas as etapas da minha formação profissional (**Iniciação Científica, Trabalho de Conclusão de Curso e Co-Orientação no Mestrado**) em especial, pelo carinho e amizade contidos no constante estímulo ao meu engrandecimento profissional;

* Aos doutores João Medeiros e Eliane Medeiros, meus anjos de guarda na terra, que com a intercessão de Nossa Senhora de Fátima a Deus transformaram minha história e a realização dos meus sonhos, realizando uma delicadíssima cirurgia em mim tornando a data de 11 de setembro de 2001 um fato inesquecível. Aos senhores minha eterna gratidão;

* À Diretoria do Hemocentro de Alagoas (HEMOAL) na pessoa do Dr. Márcio Lins Galindo, pela amizade e gentileza de armazenar os fígados das tilápias (Biofreezer a -80°C) para posterior análise das enzimas do estresse oxidativo;

* Ao Prof^o. Dr^o. Severino Alencar do Laboratório de Bioquímica e Análise Instrumental do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição – (Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Esalq/USP - SP) pela atenção e acolhimento neste laboratório para o treinamento em cromatografia de alta eficiência (HPLC);

*Ao Prof^o. Dr^o. Cyro Cabral Junior da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) pelas análises estatísticas deste trabalho;

* Aos queridos Mestres do Ginásio e Científico, pelo encorajamento e apoio, por terem me ensinado a lutar com dignidade pelos meus sonhos;

* Aos queridos Mestres dos cursinhos pela total paciência, pois era a primeira a chegar e a última a sair da sala de aula com mil questões e umas trezentas mil dúvidas todas para serem revolvidas na maior pressa do mundo;

* A Universidade Federal de Alagoas, pela minha formação profissional e científica;

* A Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas, pela realização do sonho idealizado nas bancas dos colégios e dos cursinhos frequentadas por mim;

* Aos Mestres da Faculdade de Nutrição, em especial: Prof^a. Dr^a. Giselda Macena Lira, Prof^a. Pajuçara Marroquim, Prof^a. Margarida Freire, Prof^a. Dr^a. Cristina Delgado, Prof^a. Dr^a. Sandra Mary Vasconcelos, Prof^a. Maria Inês Bloom, Prof^a. Dr^a. Terezina Ataíde, por terem contribuído, cada uma, da forma mais variada na minha formação profissional;

* Aos Mestres do Departamento de Morfologia e Histologia do Centro de Ciências Biológicas da Saúde, em especial: Gentileza Neiva, Biacy Carnaúba e Dr^a. Salete Smaniotto, que dedicaram seus tempos e compartilharam suas experiências para que o meu estágio no Departamento (**Monitoria voluntária, Bolsa de trabalho e Monitoria oficial em Histologia**) fosse também um aprendizado de vida;

* Às amigas Daniela Cristina Araújo e Fabiana Rodrigues Oliveira, pela amizade e companheirismo durante nossa caminhada científica no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Nutrição (UFAL);

* A todos os meus amigos do Curso de Biologia (não concluído) em especial: Eliene de Araújo, Hérika, Cláudia, Adriana, Sandro, Tiago, Paulo, obrigada pela amizade, carinho, estímulo e confiança na hora mais importante da minha vida - mudança de curso de graduação (**saia à futura Bióloga - sonhava em estudar as baleias para entrar em cena a Nutricionista - pesquisadora**);

* Aos Mestres do Curso de Ciências Biológicas da UFAL, em especial: Èlica, Eneida, Maria José, Maria do Rosarino; o meu muito obrigada, pois sabendo que eu irei mudar de curso, jamais deixaram de estimular o meu sonho de crescimento;

* Às amigas e colegas de profissão da **Turma Alimentando Sonhos** – Nutrição 2001 da Universidade Federal de Alagoas, em especial: Patrícia, Ana Celle, Silvia, Juliana, Walcida e Cynthia, pelo carinho, amizade e força nos momentos de tristeza e alegrias durante nossa graduação;

* Ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoa, pela oportunidade de realizar um grande sonho (**Formação de Pós-Graduação**);

* Aos Professores das disciplinas cursadas no Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas: Prof^o. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana, Prof^a. Dr^a. Denise Maria Pinheiro, Prof^a. Dr^a. Marília Goulart Sant'Ana, Prof^a. Dr^a. Lúcia Conversa, Prof^a. Dr^a. Lúcia Rebouças, Prof^o. Dr. Edson Bento, Prof^a. Dr^a. Ana Maria Lopes, Prof^a. Dr^a. Sônia Salgueiro, Prof^a. Dr^a. Márcia Plestch, Prof^a. Dr^a. Ruth Rufino, Prof^o. Dr. João Xavier pela inigualável contribuição a minha formação ética e profissional;

* Ao Prof^o. Dr^o. Walter Matias pela disciplina cursada no Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Alagoas, pela atenção durante a disciplina;

* Ao Prof^o. Dr^o. Vinicius Meira pela disciplina de Francês;

* Aos membros da banca de qualificação e da defesa, pelas valiosas sugestões na elaboração do trabalho de tese;

* Aos amigos e amigas do Laboratório de Produtos Naturais (Instituto de Química - UFAL): Dulce, Valdiléia, Jussara, Mércia, Margarida Teodoro, Henrique Goulart, João Donato, Karlos, Sílvio, Samila, Rosevaldo Júnior, Daniel Santos, Milena, Natalia Velásquez, Amélia, Luciana, Rose de Paula, Roberta, João Gomes, Edilson, Rui, Lucyo, Silvana, Isis, Daniele Melo,

Daniel Lira, Pedro, Mariana, Thiago, Carlos, Mikael, Alan, Cláudia, Inês pelos momentos especiais durante a nossa caminhada científica;

* Aos amigos e amigas do Laboratório de Enzimologia Aplicada e Análises Bromatológicas – UFAL): Felipe, Márcia, Aline, Ilma, Adeildo, Orlando pelos momentos de alegria e muito trabalho, além de muitas boas risadas nos trabalhos de campo;

* As minhas irmãs de coração: Cristhiane Omena, Cenira Carvalho, Dr^a. Josiane Luna, Fabiana Accioly, Beatriz Oliveira, Jaqueline Silva, Edjane Pires, Erica Figueiredo, Dr^a. Maria Raquel, Ana Lucila Costa, Valkicia;

* A minha segunda família de coração, Andrade e Tânia, mais que amigos, exemplos de carinho, respeito e amor;

* Aos tios, as tias, primos e primas pelas orações e energias positivas;

* A Luiz Carlos da Silva pelo amor, carinho, constante estímulo, força, paciência e compreensão com as minhas constantes ausências;

* Ao Aldy dos Santos por sua dedicação e por seu sorriso franco, que sempre tornava mais doce, os momentos difíceis do curso;

* A galera da xérox Flávia, Aninha, Adriano, Kleia pelo carinho e atenção em todas as horas que precisava de uma cópia ou de um lanche rápido;

* Às amigas e colegas de profissão Karla Rejane de Andrade Porto e Priscila Brigide, pela amizade sincera e pelo apoio nos momentos de dificuldade;

* Aos que são mais do que colegas de trabalho: Prof^a. Dr^a. Acácia Melo, Daniel Melo, Prof^a. Dr^a. Brancilene de Araújo, Adriana Todaro, Prof^a. Dr^o. Amaro Calvacante, Prof^a. Dr^o. Charles Estevam, Carolina Tavares, Michelle Almeida, Prof^a. Dr^a. Sâmia Silva, Andréa Barros, Glaucevane Guedes, Janine, André Galvão;

* À galera dos Laboratórios do Instituto de Química-UFAL: Valéria Vilma, Patrícia Oliveira, Dr. Rui Reys, Paulo Rogério, Cícero, Antônio Albuquerque, Fabiana, Tânia Brito, Amaro Carlos, Anderson, Danielle Melo, Dr^a. Aline Fidelis, Dr^a. Francine de Paula, Tatiane, Sandovânio Lima, Flávio Tenório, Cinthia Freitas, Marcos Silva, Roseane, pelo companheirismo, pela contribuição com seus conhecimentos, pelos conselhos e muita ajuda;

* À galera da (Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Esalq/USP - SP), Ingridy, Tatiane, Aline, Ivani, Adna, Myrella, pelo carinho, atenção durante o treinamento no Laboratório de Bioquímica e Análise Instrumental do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição na Esalq; colegas de luta na caminhada do conhecimento científico;

- * À galera do Pensionato Nossa Senhora da Luz em Piracicaba-SP, Simone, Camila, Aliandra, Andressa, pelas brincadeiras, carinho, atenção e amizade durante a estadia no pensionato.
- * Aos funcionários da Secretária da Graduação e Pós-Graduação do Instituto de Química e Biotecnologia pela ajuda na condução dos procedimentos burocráticos durante o doutorado;
- * Aos funcionários do Centro de Ciências da Saúde (CSAU), Biblioteca Central (UFAL) e do Instituto de Química, pelo pronto atendimento sempre que solicitado;
- * As bibliotecárias da Biblioteca Setorial do Instituto de Química, sempre solícitas e atenciosas em suas funções;
- * A Dona Gerusa e Dona Cícera sempre com um bom dia e um sorriso de deixar tudo mais encantador ao longo do dia;
- * Ao Banco do Nordeste do Brasil (BNB), pelo apoio financeiro de material de consumo e permanente ao Laboratório de Enzimologia Aplicada e Análises Bromatológicas (Instituto de Química - UFAL);
- * A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo constante apoio ao Laboratório de Produtos Naturais (Instituto de Química - UFAL);
- * Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa
- * A Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (Codevasf), pela doação dos peixes;

Impossível não me emocionar enquanto escrevo estes agradecimentos, pois graças a vocês meu sonho tornou-se realidade e chegou ao fim. Que será apenas o começo ... !!!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIações	15
LISTA DE FIGURAS	17
LISTA DE TABELAS	19
RESUMO GERAL	20
FULL ABSTRACT	22
JUSTIFICATIVA	24
INTRODUÇÃO GERAL	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
OBJETIVOS	39
METODOLOGIA GERAL DA TESE	40
CAPÍTULO I	
VITAMINA C E TILÁPIA DO NILO (<i>Oreochromis niloticus</i> Linnaeus, 1857): UMA REVISÃO	
RESUMO	75
SUMMARY	75
INTRODUÇÃO	76
AQUICULTURA E A ESPÉCIE	78
METABOLISMO E NUTRIÇÃO	82
VITAMINA C NA NUTRIÇÃO DE PEIXES	85
CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
BIBLIOGRAFIA	90
CAPÍTULO II	
INFLUÊNCIA DA DENSIDADE DE ESTOCAGEM NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA, NO COLESTEROL E NO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS EM TILÁPIA DO NILO (<i>Oreochromis niloticus</i> Linnaeus, 1857)	
RESUMO	96
INTRODUÇÃO	96
MATERIAL E MÉTODOS	98
Peixes	98
Preparo da Ração	100
Análises Químicas	100
Análise Estatística	102
RESULTADOS E DISCUSSÃO	103
CONCLUSÃO	112
ABSTRACT	113
AGRADECIMENTO	113
REFERÊNCIAS	113
CAPÍTULO III	
INFLUÊNCIA DA VITAMINA C NA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, NO TEROR DE COLESTEROL E NO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS EM TILÁPIA DO NILO (<i>Oreochromis niloticus</i> Linnaeus, 1857)	
RESUMO	122
SUMMARY	123
INTRODUÇÃO	123

MATERIAL E MÉTODOS	125
Peixes	125
Preparo das Rações	125
Análises Químicas	126
Análise Estatística	128
RESULTADOS E DISCUSSÃO	128
CONCLUSÕES	138
AGRADECIMENTO	139
BIBLIOGRAFIA	139
CAPÍTULO IV	
INFLUÊNCIA DO NÍVEL DE VITAMINA C SOBRE O BALANÇO REDOX EM TILÁPIA DO NILO (<i>Oreochromis niloticus</i> LINNAEUS, 1857)	
RESUMO	146
INTRODUÇÃO	147
MATERIAL E MÉTODOS	149
Peixes	149
Preparo das rações	150
Análises Químicas	151
Obtenção do Homogenato Hepático	151
Medida da Peroxidação Lipídica	152
Determinação da Catalase	152
Determinação da Superóxido Dismutase	153
Determinação de Proteínas	153
Análise Estatística	153
RESULTADOS E DISCUSSÃO	154
CONCLUSÃO	161
AGREDECIMENTOS	162
ABSTRACT	162
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	163
CONCLUSÃO GERAL DA TESE	167
ANEXO I	
ANEXO II	

LISTA DE ABREVIações

AGP: Ácido graxo poliinsaturado
AG: Ácido graxo
AA: Ácido araquidônico
AGE: Ácidos graxos essenciais
BHT: Butil hidroxi tolueno
CAT: Catalase
CV: Coeficiente de variação
°C: Grau Celsius
DHA: Ácido graxo docosahexaenóico
ED: Energia digestiva
EPA: Ácido graxo eicosapentaenóico
ERO: Espécies reativas de oxigênio
EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético
eV: Elétron-volt
GPx: Glutathione peroxidase
g: Gramas
HCl: Ácido clorídrico
CHCl₃: Clorofórmio
HH: Hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos
H₂O: Água
IA: Índice de aterogenicidade
IT: Índice de trombogenicidade
Kcal: Calorias
Kcal/g: Calorias por grama
KCl: Cloreto de potássio
MDA: Malonildialdeído
m³: Metro cúbico
mg: Miligrama
mm: Milímetro
mg/L: Miligrama por litro
L: Litro

n-6: Ômega-6

n-3: Ômega-3

ND: Não determinados

N₂: Nitrogênio

NaOH: Hidróxido de sódio

NaCl: Cloreto de sódio

nm: Nanometro

RL: Radicais livres

rpm: Rotação por minutos

SOD: Superóxido dismutase

TBARS: "Thiobarbituric reactive substances" Ácido tiobarbitúrico

T: Toneladas

XO: Xantina oxidase

%: Porcentagem

µm: Micrometro

µL: Microlitro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Criação de tilápia em cativeiro.	25
Figura 2: Tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).	26
Figura 3: Estrutura do ácido L - ascórbico.	29
Figura 4a: Estrutura do ácido L - 2 - sulfato - ascórbico.	29
Figura 4b: Estrutura do ácido L - 2 - fosfato - ascórbico.	30
Figura 5: Rota de biossíntese do ácido ascórbico.	31
Figura 6: Local de criação.	40
Figura 7: Aquários experimentais.	41
Figura 8: Alevinos utilizados no experimento.	41
Figura 9: Tilápia com 90 dias de criação.	42
Figura 10: Fluxograma das análises realizadas.	43
Figura 11: Fluxograma de preparação da ração.	45
Figura 12: Cálculo de determinação de umidade	47
Figura 13: Cálculo de determinação de cinzas.	48
Figura 14: Cálculo de determinação de proteína.	49
Figura 15: Obtenção da fração lipídica segundo Folch et al. (1957).	50
Figura 16: Cálculo de lipídeos totais.	51
Figura 17: Determinação de colesterol por colorimetria segundo Bohac et al. (1988) adaptado por Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (1997).	54
Figura 18: Obtenção dos ésteres metílicos de ácidos graxos segundo Hartman e Lago, (1973).	57
Figura 19: Cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas utilizado na identificação dos ácidos graxos.	58
Figura 20: Aquários experimentais.	60
Figura 21: Alevinos utilizados no experimento.	60
Figura 22: Tilápia com 90 dias de criação.	61
Figura 23: Fluxograma das análises realizadas.	62
Figura 24: Fluxograma de preparação da ração.	64
Figura 25: As rações com diferentes suplementações de vitamina C.	64

Figura 26: Quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) - Peroxidação lipídica. 68

Figura 27: Mensuração da atividade da catalase. 69

Figura 28: Mensuração da atividade da superóxido dismutase. 70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição percentual e química da dieta experimental.	44
Tabela 2. Composição centesimal da ração experimental da primeira etapa do projeto.	45
Tabela 3. Composição percentual e química dos ingredientes das rações com diferentes suplementações de vitamina C.	63
Tabela 4. Composições centesimais das rações com diferentes suplementações de vitamina C.	65

RESUMO GERAL

A vitamina C é usada nas dietas com a finalidade de melhorar o crescimento, a resistência ao estresse e às doenças, assim como a sobrevivência de peixes. Também pode ser eficiente na conservação do pescado durante o processamento e estocagem, inibindo a degradação dos lipídeos pela oxidação. O presente trabalho avaliou a densidade de estocagem e os efeitos da suplementação de vitamina C na qualidade final do filé de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linneaus, 1875). Foram utilizados cento e vinte alevinos para cada estudo, sendo que os peixes do estudo da densidade de estocagem tinham peso inicial de 4,0 g e os da avaliação com a suplementação de vitamina C de 11,0 g. O delineamento inteiramente casualizado foi utilizado em ambos os estudos perfazendo quatro tratamentos de diferentes densidades de estocagem (50, 75, 100 e 125 peixes/m³) com cinco repetições. Já o trabalho com a vitamina C (ácido 2 - sulfato ascórbico - forma protegida) foi realizado em quatro tratamentos com seis repetições, caracterizado pela suplementação de quatro níveis de vitamina C nas rações (250, 500 e 750 mg/kg de ração) e o grupo controle (zero mg/kg de ração) com duas diferentes densidades de estocagem (50 e 100 peixes/m³). A ração fornecida para o primeiro estudo continha 36% de proteína bruta e 3100 kcal/energia digestiva/kg de ração e a segunda tinha 28% de proteína bruta e 3400 kcal/energia digestiva/kg. Após noventa dias, os peixes foram abatidos e foram avaliados os parâmetros de desempenho zootécnico para o estudo de densidade de estocagem, composição centesimal, teor de colesterol, perfil de ácidos graxos, qualidade da fração lipídica para ambos os estudos. O fígado dos peixes da segunda etapa do trabalho foi congelado a – 80°C para análises de peroxidação lipídica e determinação da atividade das enzimas do estresse oxidativo (catalase e superóxido dismutase). Conclui-se que para o estudo de densidade de estocagem houve diferença significativa $p < 0,05$ entre o peso médio final e no ganho de peso total entre as diferentes densidades populacionais testadas; o maior peso foi encontrado no grupo de densidade de 75 peixes/m³. Quanto à análise da composição corporal observou-se diferença $p < 0,05$ entre as densidades nos teores de umidade, lipídeos totais, teor de proteína bruta, valor calórico e de colesterol. A relação poliinsaturados/saturados foi mais elevada na densidade de 100 peixes/m³ de 11,76, já a densidade de 50 peixes/m³ apresentou uma somatória de 6,85 para os teores de ácido eicosapentaenóico + ácido docosahexaenóico. Na avaliação da qualidade nutricional dos lipídeos, as densidades estudadas mostraram os índices de n-6/n-3,

hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos, índice de ácidos graxos poliinsaturados de aterogenicidade e índice de trombogenicidade como favoráveis para consumo alimentar. Os peixes criados na densidade de 50 peixes/m³ podem ser considerados como um bom alimento do ponto de vista nutricional, pois apresentaram um bom teor de ácidos graxos, principalmente de ácido ômega-3 e pelo seu valor em hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos. Com relação à segunda etapa do trabalho foi observado diferença $p < 0,05$ entre os níveis de suplementação da vitamina C nos teores de lipídeos totais; teor de proteína bruta; valor calórico e de colesterol. A relação poliinsaturados/saturados foi mais elevada no nível de suplementação de 250 mg de vitamina C (1,26), já o nível de 500 mg de vitamina C apresentou um somatório de 6,48 para os teores de ácido eicosapentaenóico + ácido docosahexaenóico. Na avaliação da qualidade nutricional dos lipídeos, os níveis de suplementação de vitamina C estudados mostraram os índices de n-6/n-3, hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos, índice de aterogenicidade e índice de trombogenicidade favoráveis quanto ao consumo alimentar. Os peixes criados com ração suplementada com 750 mg de vitamina C na densidade de 50 peixes/m³ podem ser considerados como um bom alimento do ponto de vista nutricional, pois apresentaram um bom teor de ácidos graxos, principalmente de ácido ômega-3 e pelo seu valor em hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos. Já no estudo do balanço redox os resultados mostraram que houve aumento na peroxidação lipídica, sugerindo que podem ter existido danos ao fígado dos animais e as defesas antioxidantes não foram suficientes para evitar o estresse oxidativo. Na densidade de 50 peixes/m³, a ração suplementada com vitamina C pode ser pró-oxidante. Já na densidade 100 peixes/m³, a vitamina C suplementada pode ser antioxidante. A atividade da enzima catalase apresentou uma baixa atividade, sugerindo um comprometimento no balanço redox hepático para esta enzima nos animais submetidos à ração com diferentes níveis de suplementação de vitamina C. Já atividade da enzima superóxido dismutase apresentou elevada atividade, sugerindo uma proteção no balanço redox hepático para esta enzima nos animais submetidos à ração com diferentes níveis de suplementação de vitamina C.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*, vitamina C, superóxido dismutase, catalase

FULL ABSTRACT

Vitamin C is used in the diets in order to improve growth, resistance to stress and disease, as well as the survival of fish. It can also be effective in the conservation of fish during processing and storage, inhibiting the degradation of lipids by oxidation. This study evaluated the stocking density and the effects of supplementation of vitamin C in the final quality of the fillet tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linneaus, 1875). We used one hundred and twenty fingerlings for each trial, the study of fish stocking density had an initial weight of 4.0 g and evaluation of supplementation with vitamin C, 11.0 g. Both studies had a randomized design, comprising four treatments of different stocking densities (50, 75, 100 and 125 fish/m³) with five replications. Already working with vitamin C (ascorbic acid 2 - sulfate acid - protected form) was carried out in four treatments with six replicates, characterized by four levels of supplementation of vitamin C in the diets (250, 500 and 750 mg/kg diet) and control group (zero mg/kg diet) with two different stocking densities (50 and 100 fish/m³). The ration given to the first study contained 36% crude protein and 3100 kcal/DE/kg feed and the second was 28% crude protein and 3400 kcal/DE/kg. After ninety days, the fish were slaughtered and evaluated the growth performance parameters for the study of stocking density, chemical composition, cholesterol content, fatty acid profile, quality of lipid fraction in both studies. The liver of fish from the second stage of labor was frozen at - 80°C for lipid peroxidation analysis and determination of enzyme activity of oxidative stress (catalase and superoxide dismutase). It follows that for the study of stoking significant difference $p < 0.05$ between the final average weight and total weight gain between the different densities tested, the highest weight was found in the group density of 75 fish/m³. The body composition analysis, differences were observed $p < 0.05$ between the densities on moisture, total lipid content, protein, calories and cholesterol. The ratio polyunsaturated / saturated was higher in density of 11.76 for 100 fish/m³, since the density of 50 fish/m³ presented a sum of 6.85 for the levels of EPA + DHA. In assessing the nutritional quality of lipids, the densities studied showed the contents of n-6/n-3, hypocholesterolemic/hypercholesterolemic index of polyunsaturated fatty acids of atherogenicity and index of thrombogenicity as favorable for consumption. Fish reared at a density of 50 fish/m³ can be seen as a good food from a nutritional standpoint, they presented a good level of fatty acids, especially omega-3 fatty acid and its value in hypocholesterolemic/hypercholesterolemic. Regarding the second stage of labor was

observed difference $p < 0.05$ between the levels of vitamin C supplementation levels in total lipid content, crude protein, calories and cholesterol. The ratio polyunsaturated/saturated was higher in the supplementation level of 250 mg of vitamin C (1.26), since the level of 500 mg of vitamin C showed a sum of 6.48 for the levels of EPA + DHA. In assessing the nutritional quality of lipids, the levels of vitamin C study showed rates of n-6/n-3, hypocholesterolemic / hypercholesterolemic index of atherogenicity and index of thrombogenicity for subsequent food consumption. Fish reared with diets supplemented with 750 mg of vitamin C in the density of 50 fish/m³ can be seen as a good food from a nutritional standpoint, they presented a good level of fatty acids, especially omega-3 fatty acid and its value in hypocholesterolemic/hypercholesterolemic. In the study of redox balance results showed that there was an increase in lipid peroxidation, suggesting that there may have been damage to the liver of animals and the antioxidant defenses were not sufficient to prevent oxidative stress. Density of 50 fish/m³, the dietary supplementation with vitamin C can be pro-oxidant. Since the density 100 fish/m³, vitamin C supplementation may be an antioxidant. The catalase activity of the enzyme showed low activity, suggesting an impairment in hepatic redox balance for this enzyme in animals receiving diets containing different levels of vitamin C. Since superoxide dismutase activity of the enzyme showed high activity, suggesting a redox balance in protecting liver for this enzyme in animals receiving diets containing different levels of vitamin C.

Keywords: *Oreochromis niloticus*, vitamin C, superoxide dismutase, catalase

JUSTIFICATIVA

Grande parte da população padece, em sua alimentação, de carência aguda ou crônica de proteínas de origem animal. A população brasileira encontra-se dentro

deste quadro, uma vez que, na década de 80, o consumo médio de carne ao ano era de 25 kg, correspondente à metade do recomendado pela Organização Mundial da Saúde (Borghetti, 2003).

A produção de peixes de água doce é realizada por inúmeros produtores no Brasil, concentrada principalmente na criação de carpas e tilápias, seguido da família Characidae, que inclui o matrinxã, a piracanjuba e o pacu (Minozzo, 2005). O crescimento desse seguimento gera uma importante preocupação relacionada aos custos por causa dos ingredientes, principalmente os protéicos, presentes na ração, além da influência da suplementação vitamínica na alimentação dos peixes sobre a composição corporal, crescimento e saúde do animal.

A dieta alimentar dos peixes de água doce exerce um fator decisivo sobre a composição do tecido muscular e, especialmente, sobre a composição de ácidos graxos deste tecido. Os ácidos graxos de peixes de água doce e marinha diferem e dentre os fatores responsáveis por essa variabilidade estão a bioquímica do metabolismo dos ácidos graxos essenciais e a composição da dieta nos dois habitats. As rações utilizadas no cultivo de peixes de água doce são constituídas de diferentes fontes de origem animal, vegetal e diferentes suplementações vitamínicas e de minerais (Ribeiro et al. 1995). Devido a essa diversidade da origem dos ingredientes é de fundamental importância, o conhecimento da influência desses sobre o filé, que é a parte consumida pela população.

Os dados ligados à composição da carne de peixe são também importantes no processo de conservação e elaboração de produtos derivados dos peixes (Santos et al. 2000), pois um fator de grande influência sobre tais processos é a quantidade de ácidos graxos insaturados, que propiciam alterações nestes produtos, como oxidação.

No Brasil, há uma escassez de dados sobre o perfil de ácidos graxos, qualidade nutricional da fração lipídica e do teor de colesterol em espécies criadas em cativeiro alimentadas com rações de diferentes níveis de suplementação de vitamina C.

INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura (**Figura 1**) é atualmente uma importante fonte de proteína animal em várias regiões do mundo. Aproximadamente 10 espécies são responsáveis por mais de 80% da produção mundial. Em 1987, a produção aquícola respondia por um total de 13 milhões de toneladas, já, em 1999, esse número correspondia a 38 milhões, dos quais os peixes de água doce foram responsáveis por aproximadamente 17,3 milhões (FAO, 2007). Segundo Fitzsimmons (2000), a indústria produtora de tilápias (*Oreochromis niloticus*) no Brasil apresenta um dos crescimentos mais rápidos do continente americano. A produção de tilápias registrada foi de 30.000 toneladas em 1997, esperando-se cerca de 125.000 toneladas para o ano de 2010.



Figura 1: Criação de tilápia em cativeiro.

Dentre as espécies de água doce mais importantes, destaca-se a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (**Figura 2**), originária da África Central e introduzida no nordeste brasileiro em 1971 (Bomfim, 2008). Tilápia é um nome comum utilizado para denominar um grande número de espécies de ciclídeos (Perciformes), provenientes da África, pertencentes ao grupo Tilapiine, divididos em 3 gêneros:

Tilapia, *Sarotherodon* e *Oreochromis*, sendo este último de grande importância na aquicultura mundial (McAndrew, 2000). A tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* vem destacando-se por apresentar inúmeras qualidades zootécnicas, como rusticidade, crescimento rápido, grande adaptação alimentar, boa conversão alimentar e ganho de peso. Além disso, apresenta uma carne branca, de excelente paladar e textura, sem espinhos na musculatura lateral, facilitando a técnica de filetagem e a industrialização da carcaça (Zanoni et al. 2000; Boscolo et al. 2001; Vieira, 2005).



Figura 2: Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).

A composição química da carne de um peixe depende de fatores bióticos e abióticos relacionados à espécie e ao cultivo, que influenciam as características físicas e organolépticas e o tempo de prateleira do peixe e de seus derivados. Entre esses fatores, a ração é muito importante, pois, quando formulada adequadamente, permite maior eficiência no uso de seus nutrientes tornando a composição química do corpo e da carne de peixes mais apropriada para conservação e para o consumo humano (Burkert et al. 2008). É importante destacar que, em tecnologia de

alimentos, não se pode obter um produto final de alta qualidade a partir de matéria prima inferior ou mesmo razoável.

As rações utilizadas na aquicultura, além de atenderem às exigências nutricionais das espécies, devem proporcionar reduzidos excedentes de nutrientes, visando minimizar os impactos negativos sobre os sistemas de criação e os ecossistemas aquáticos (Valenti, 2000; Henry-Silva, 2001). Os princípios que devem nortear o desenvolvimento de dietas com baixa carga poluente são a digestibilidade elevada dos ingredientes, a aceitabilidade da ração pelos organismos criados, o balanço adequado dos nutrientes, a estabilidade elevada do pélete e o tamanho compatível com a capacidade de ingestão dos organismos aquáticos (Midlen e Redding, 1998).

Os lipídeos de peixes apresentam ácidos graxos contendo de 10 a 24 átomos de carbonos. Os peixes de água doce contêm elevadas proporções de ácidos graxos saturados e poliinsaturados (C18), mas, baixos teores de insaturados com 20 e 22 átomos de carbono, quando comparados aos lipídeos de peixes marinhos (Almeida, 2006).

A composição de ácidos graxos em lipídeos totais é influenciada pelas classes dos lipídeos constituintes. Os tecidos ricos em gordura têm os triacilgliceróis como os principais constituintes, enquanto os fosfolipídeos predominam naqueles de baixo teor de lipídeos. As flutuações sazonais influenciam no conteúdo de lipídeos e na composição dos ácidos graxos, havendo variações em peixes de água doce tropical e temperada com a época do ano (Almeida, 2006).

Pesquisas nutricionais e epidemiológicas relatam que a relação dos ácidos graxos poliinsaturados n-6 e n-3 na dieta humana é tão ou mais importante na prevenção de doenças cardiovasculares que a relação de ácidos graxos saturados e

insaturados. Além do efeito benéfico que o equilíbrio da relação n-6:n-3 tem sobre a prevenção de doenças cardiovasculares, destaca-se sua importância em outras enfermidades, como dermatite atópica, lúpus, psoríase, artrite reumática, esclerose múltipla, diabetes melitos, colite ulcerativa e câncer (Belda e Pourchet-Campo, 1991).

Os lipídeos de peixe contêm quantidades elevadas de ácidos graxos insaturados, que são suscetíveis à oxidação. Essas reações de oxidação ocorrem por formação de radicais livres (RL) e se caracterizam por um período de indução, seguido por uma absorção acelerada de oxigênio, e terminam com a produção de peróxidos, odor, ranço e outros produtos de polimerização (Bobbio e Bobbio, 1992). A velocidade da reação entre oxigênio e os lipídeos pode ser retardada pela adição de antioxidantes, que atuam rompendo a cadeia de radicais livres ou decompondo os peróxidos. Os perigos alimentares de ingestão de lipídeos de peixe oxidados são decorrentes dos peróxidos e das reações que estes possam desencadear no organismo humano. Em geral, os efeitos de óleo de peixe oxidado refletem danos secundários com a formação de RL a partir da decomposição dos peróxidos (Oliveira et al. 2008).

A vitamina C (**Figura 3**) e os lipídeos e seus constituintes, ácidos graxos, exercem em peixes funções essenciais e dinâmicas na manutenção do crescimento, da higidez, da eficiência alimentar, da reprodução e da qualidade do filé e, conseqüentemente, favorece o equilíbrio orgânico (Falcon et al. 2007).

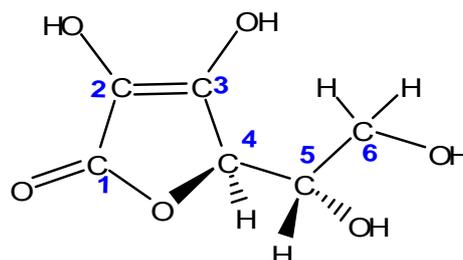


Figura 3: Estrutura do *L* - ácido ascórbico.

Existem várias formas de ácido ascórbico e a estabilidade das mesmas tem sido testada nas rações industrializadas para peixes (Skelbaek et al. 1990). Os trabalhos demonstram que as formas protegidas (**Figuras 4a; 4b**) (ácido 2-sulfato ascórbico, ácido 2-monofosfato ascórbico) são as mais estáveis e resistentes ao processo de industrialização e armazenamento e podem, desta forma, serem incorporadas em menores quantidades na ração para peixes (O'keefe, 2001). O ácido ascórbico, na sua forma livre, é bastante instável, sendo facilmente destruído por temperaturas elevadas, luz, umidade, microelementos e lipídeos oxidados (Tacon, 1987).

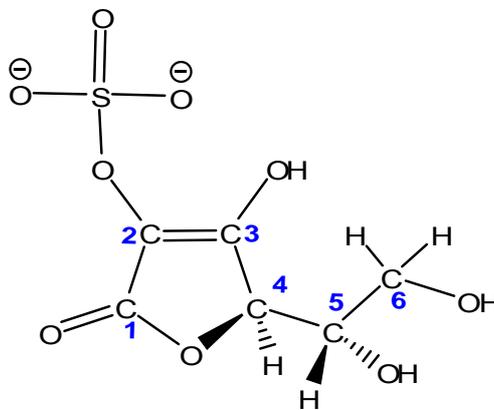


Figura 4a: Estrutura do *L* ácido - 2 - sulfato ascórbico.

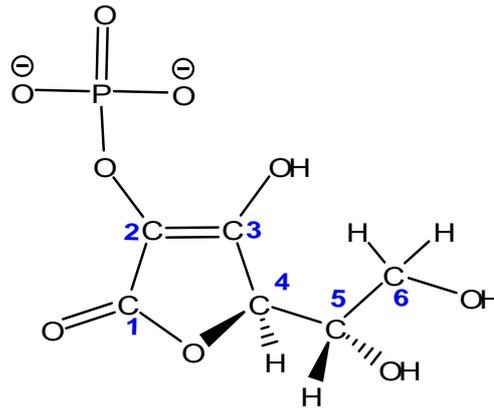


Figura 4b: Estrutura do *L* - ácido - 2 - fosfato ascórbico.

A deficiência na capacidade de síntese de vitamina C (**Figura 5**) pelos peixes, em virtude da ausência da enzima L-gulonolactona oxidase, determina a necessidade de suplementação, em quantidades adequadas, desta vitamina na dieta para suprir as necessidades metabólicas da espécie. A vitamina C participa da síntese de colágeno, conferindo maior resistência à fibra, do metabolismo do ferro, transformando-o do estado férrico para o estado ferroso, e da síntese de carnitina a partir da lisina. Atua, ainda, na conversão do ácido fólico para folínico e pode minimizar a ação de radicais livres, evitando a desestabilização da membrana lipídica (Falcon et al. 2007).

Principal antioxidante hidrossolúvel, a vitamina C, está disponível tanto no meio intra como no extracelular da maior parte dos órgãos e possui envolvimento direto nas defesas antioxidantes. Elimina diretamente os RL de oxigênio e de óxido nítrico e está envolvida na reciclagem do α -tocoferil em α -tocoferol. Embora sua função antioxidante seja bem reconhecida, não há evidência clara do real efeito benéfico sobre a função imune. A vitamina C também pode ter efeito pró-oxidante; a mistura ferro/ácido ascórbico é conhecida por gerar radicais $\cdot\text{OH}$ induzindo a peroxidação lipídica (Leite e Sarni, 2003).

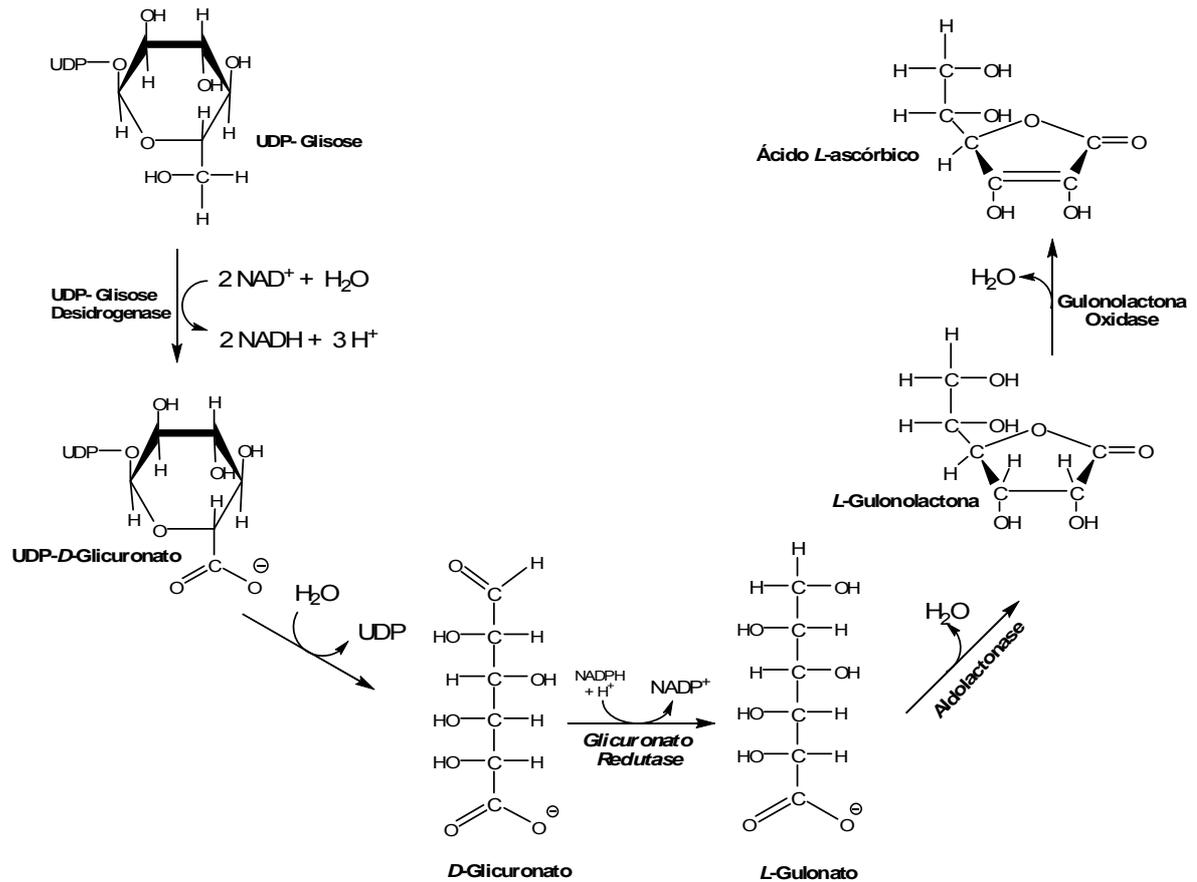


Figura 5: Rota de biossíntese do ácido ascórbico - Lehninger et al. 2007.

A interação entre estresse oxidativo, terapia nutricional e doença é complexa e as informações que são obtidas da literatura e o maior conhecimento sobre o assunto, têm produzido novas e instigantes questões.

O estresse oxidativo pode resultar do excesso na produção do oxidante ou da depleção das defesas antioxidantes. Tal situação pode ser benéfica nos casos de infecção, quando ocorre produção de RL por células fagocitárias para matar microrganismos invasores ou prejudiciais, quando a inflamação se torna sistêmica, como na sepse, em que a perda de controle da produção de RL pode causar lesão à distância. A defesa antioxidante é constituída basicamente de vitaminas e minerais presentes na dieta. A terapia antioxidante parece promissora em atenuar os efeitos

da produção descontrolada de RL em pacientes graves; há, porém, escassez de evidências que definam a melhor forma de suplementação e a fase da doença adequada para isso (Leite e Sarni, 2003).

Para proteger-se, a célula possui um sistema de defesa que pode atuar em duas linhas. Uma delas atua como detoxificadora do agente antes que ele cause lesão. Esta linha é constituída por glutathiona reduzida (GSH), superóxido-dismutase (SOD), catalase, glutathiona-peroxidase (GSH-Px) e vitamina E. A outra linha de defesa tem a função de reparar a lesão ocorrida, sendo constituída pelo ácido ascórbico, pela glutathiona-redutase (GSH-Rd) e pela GSH-Px, entre outros.

Embora as pesquisas indiquem que a suplementação de vitaminas antioxidantes pode auxiliar a prevenir doenças crônico-degenerativas, ainda há dúvidas se os nutrientes antioxidantes deveriam vir de suplementação medicamentosa ou da dieta. Resultados recentes de grandes intervenções clínicas multicêntricas têm mostrado que a suplementação vitamínica medicamentosa nem sempre é efetiva em reduzir a incidência de câncer ou eventos cardiovasculares, particularmente em pacientes com risco aumentado para essas doenças (Leite e Sarni, 2003).

Os peixes têm demonstrado uma boa qualidade nutricional de suas proteínas e seus lipídeos, sendo este último, por meio da presença significativa de ácidos graxos das séries n-3 e n-6 que são precursores na biossíntese de eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanas e leucotrienos), que exercem importantes funções no corpo humano e ajudam na prevenção de doenças crônicas, além de possuírem quantidade pequena de colesterol, fatores estes, que têm estimulado o crescente consumo de peixes, tanto de água doce como de salgada, na dieta humana.

A importância em melhorar a qualidade dos produtos aquícolas é evidente, pois se trata de um fator determinante para se obter um produto de qualidade nutricional e, sobretudo para oferecer à população uma fonte de proteína de alto valor biológico e com baixo custo de produção, estimulando, assim, a atividade aquícola no país. Assim, o objetivo deste trabalho foi de verificar o desempenho produtivo e o efeito da suplementação de vitamina C na ração sobre a qualidade nutricional e nas enzimas do estresse oxidativo de alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857).

Com esse propósito o Capítulo 1, denominado “VITAMINA C E TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857): UMA REVISÃO” objetiva fornecer uma revisão sobre a utilização do ácido ascórbico nos peixes, constituindo-se em uma fonte de referências sobre os estudos conduzidos com a vitamina C na aquicultura.

O Capítulo 2, denominado “INFLUÊNCIA DA DENSIDADE DE ESTOCAGEM NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA, NO COLESTEROL E NO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS EM TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857)”, objetiva avaliar a influência de diferentes níveis de densidades de estocagem na composição centesimal, no valor calórico, no teor de colesterol e no perfil de ácidos graxos em alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857).

O Capítulo 3, denominado “INFLUÊNCIA DA VITAMINA C NA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, NO TEOR DE COLESTEROL E NO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS EM TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857)”, visou avaliar os diferentes níveis de suplementação de vitamina C sobre a composição centesimal,

no valor calórico, no colesterol e no perfil de ácidos graxos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857).

O Capítulo 4, denominado “INFLUÊNCIA DO NÍVEL DE VITAMINA C SOBRE O BALANÇO REDOX EM TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857)”, objetiva estudar os efeitos de diferentes níveis de suplementação de vitamina C sobre as enzimas do estresse oxidativo (catalase e superóxido dismutase e a peroxidação lipídica), em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, NM; BUENO FRANCO, MR. Influência da dieta alimentar na composição de ácidos graxos em pescado: aspectos nutricionais e benefícios à saúde humana. Rev. Inst. Adolfo Lutz. 2006; 65 (1): 7-14.
2. BARTON, BA; IWAMA GK. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Review Fish Disease, 1991. 3-26.
3. BELDA, MCR; POURCHET-CAMPOS, MA. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. Ciênc. Tecnol. Alim. 1991; (11/1): 5-35.
4. BOBBIO, FO; BOBBIO, PA. Introdução á Química de Alimentos. 2. Ed. São Paulo: Varela. 1992.
5. BOMFIM, MAD; LANNA, EAT; DONZELE, JL; ABREU, MLT; RIBEIRO, FB; QUADROS, M. Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-Nilo. R. Bras. Zootec. 2008; (37/10): 1713-1720.
6. BOSCOLLO, WR; HAYASHI, C; SOARES, CM; FURUYA, WM; MEURER, F. Desempenho e características de carcaças de machos revertidos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, linhagem tailandesa e comum, nas fases iniciais e de crescimento. R. Bras. Zootec. 2001; (30/5): 1391-96.
7. BORGHETTI, NRB; OSTRENSKY, A; BORGHETTI, JR. Aquicultura – Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo. Curitiba: Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais. 2003. 128p.
8. BURKERT, D; ANDRADE, DR; SIROL, RN; SALARO, AL; RASGUIDO, JEA; QUIRINO, CR. Rendimentos do processamento e composição química de filés de surubim cultivado em tanques-rede. R. Bras. Zootec. 2008; (37/7): 1137-1143.

9. FALCON, DR; BARROS, MM; PEZZATO, E; VALLE, JB. Lipídeo e vitamina C em dietas preparatórias de inverno para tilápias-do-Nilo. R. Bras. Zootec. 2007; (36/5): 1462-1472, (suppl.).
10. FITZSIMMONS, K. Future trends of tilapia aquaculture in the Americas In: COSTA-PIERCE, B.A.; RAKOCY, JE. *Tilapia aquaculture in the Americas*. Baton Rouge: The World Aquaculture Society, 2000. p. 252-264.
11. FRANCIS-FLOYD, R. Stress – Its role in fish disease. 2004. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu>>. Acesso em: 14 set. 2009.
12. FUNDO DA ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO - FAO. *Estatísticas*. Disponível em: <<http://www.fao.org/pesca/estatistica>>. Acesso em: 20 jun. 2007.
13. HENRY-SILVA, GG; CAMARGO, MONTEIRO, AF; PEZZATO, LE. Digestibilidade aparente de macrófitas aquáticas pela tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e qualidade da água em relação às concentrações de nutrientes. R. Bras. Zootec. 2006; (35/3): 641-7.
14. LEITE, HP; SARNI, RS. Radicais livres, anti-oxidantes e nutrição. R. Bras. Nutr. Clin. 2003; 18 (2): 87-94.
15. LEHNINGER, AL; NELSON, DL; COX, MM. **Princípios da Bioquímica**. São Paulo. Editora Savier LTDA. 2007. 1232p.
16. LOVELL, RT. Nutrition and feeding of fish. 2. Ed. Massachusetts: Academic Press, 1998. 267p.
17. MCANDREW, BJ. Evolution, phylogenetic relationship and biogeography. In: BEVERIDGE, MCM; MC ANDREW, BJ. *Tilapias: Biology and Exploitation*. Kluwer. Boston: Academic Publishers, 2000. cap.1, p.1-3.

18. MIDLEN, A; REDDING, T. Environmental Management for Aquaculture. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1998. 223p.
19. MINOZZO, MG. Elaboração de patê cremoso a partir de filé de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e sua caracterização físico-químico microbiológica e sensorial. Curitiba, 2005. 127 p. [Dissertação de Mestrado – Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal do Paraná].
20. O'KEEFE, T. Ascorbic acid and stable ascorbate esters as sources of vitamin C in aquaculture feeds. 2001. Singapore: American Soybean Association – United Soybean Board, 8 p. (ASA Technical Bulletin Vol. AQ48-2001). 2001. Disponível em: <<http://www.asasea.com/technical/aq48-2001.html>>. Acesso em: 16 abr. 2009.
21. OLIVEIRA, NMS; OLIVEIRA, WRM; NASCIMENTO, LC; SILVA, JMSF; VICENTE, E; FIORINI, JE; BRESSAN, MC. Avaliação físico-química de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) submetidos à sanitização. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2008; 28(1): 83-89.
22. RIBEIRO, RP; HAYASHI, C; FURUYA, WM. **Curso de piscicultura - criação racional de tilápias**. Maringá: FADEC, p. 23, 1995.
23. ROSS, D; MOLDEUS, P. Antioxidant defense systems and oxidative stress. *In* Vigo-Pelfrey C (Ed): *Membrane lipid oxidation*. 1th Ed. Boca Raton, CRC Press, 1991; 151-170.
24. ROOS, NM; SIEBELINK, E; BOTTS, ML; VAN TOL, A; SCHOUTEN, EG; KATAN, MB. *Trans* monounsaturated fatty acids and saturated fatty acids have similar effects on postprandial flow-mediated vasodilation. Eur. J. Clin. Nutr. 2002; (56/7): 674 - 9.
25. SANTOS, AB; MELO, JFB; LOPES, PRS; MALGARIM, MB. **Composição química e rendimento do filé da Traíra (*Hoplias malabaricus*)**. Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro. Uruguaiana, v. 7/8, n. 1, p. 33-39, 2000/01.

- 26.** SELYE, H. Homeostasis and heterostasis. *Perspectives in Biology and Medicine*, 1973; (3/16): 441-445.
- 27.** SKELBAEK, T; ANDERSEN, NG; WINNING, M; WESTERGAARD, S. Stability in fish feed and bioavailability to rainbow trout of two ascorbic acid forms. *Aquaculture*. 1990. 84/3-4: 335-343.
- 28.** TACON, AGJ. 1987. The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp – A training manual: 1. the essential nutrients. Brasília: FAO, 117 p. (Field Document, 2)
- TACON, A. G. J. Vitamin nutrition in shrimp and fish. In: *AQUACULTURE FEED PROCESSING AND NUTRITION WORKSHOP*, 1991, Thailand and Indonesia. Proceedings. Singapore: Americam Soybean Association, 1991. Editado por D. M. Akiyama e R. K. H. Tan.
- 29.** TAVE, D. Selection for stress response to improve disease resistance in Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture*. 1994; 80-4.
- 30.** VALENTI, WC. *Aqüicultura no Brasil; bases para um desenvolvimento sustentável*. Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000. 399p.
- 31.** VIEIRA, VP. Avaliação do desempenho produtivo e da variabilidade genética de linhagens de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, com o uso do marcador de RAPD. 2005. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá.
- 32.** ZANONI, MA; FILHO, MC; LEONHARDT, JH. Performance de crescimento de diferentes linhagens de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757), em gaiolas. *Acta Scientiarum*. 2000; (22/3): 683-7.

OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Determinar o desempenho produtivo e o efeito da suplementação de vitamina C na qualidade nutricional e nas enzimas do estresse oxidativo em alevinos de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857).

Objetivos Específicos:

- Determinar a composição centesimal (umidade, proteínas, lipídeos, carboidratos e cinzas), em base úmida e seca, nas densidades de estocagem estudadas e nos diferentes níveis de suplementação de vitamina C;
- Quantificar o teor de colesterol desta espécie, em base úmida e seca nas densidades de estocagem estudadas e nos diferentes níveis de suplementação de vitamina C;
- Determinar a qualidade da gordura presente nos peixes, através da análise do perfil de seus ácidos graxos, nas densidades de estocagem estudadas e nos diferentes níveis de suplementação de vitamina C;
- Determinar o valor calórico nas densidades de estocagem estudadas e nos diferentes níveis de suplementação de vitamina C;
- Determinar os níveis de peroxidação lipídica, catalase e superóxido dismutase nos diferentes níveis de suplementação de vitamina C.

METODOLOGIA GERAL DA TESE

MATERIAL E MÉTODOS

❖ MATERIAL

O peixe em estudo foi a Tilápia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857), a criação foi realizada no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (**Figura 6**) e as análises conduzidas no Laboratório de Enzimologia Aplicada e Análises Bromatológicas (LENAB) e no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPqRN), ambos na Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Os peixes foram doados pela CODEVASF (Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba). O trabalho foi desenvolvido em 2 etapas distintas: a primeira foi avaliada a densidade de estocagem e a segunda etapa foi verificada a influência de diferentes níveis de suplementação de vitamina C na dieta dos animais.



Figura 6: Local de criação.

O estudo da densidade de estocagem foi realizado no período de agosto a outubro de 2007 e foram utilizados 120 machos revertidos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857), com peso vivo médio de 4,0 g, distribuídos em 20 aquários de polietileno (**Figura 7**) com capacidade de 70 L, sendo que cada aquário foi considerado como unidade experimental. Utilizando-se um delineamento inteiramente casualizado com 4 densidades de estocagem: 50, 75, 100 e 125 peixes/m³ e 5 repetições. Para realização do trabalho experimental os alevinos (**Figura 8**) foram distribuídos nos aquários da seguinte forma: densidade de estocagem de 50 peixes/m³ acondicionou-se 3 peixes em cada aquário; na de 75 peixes/m³ foi colocado 5 peixes; quando a densidade foi de 100 peixes/m³ distribuiu-se 7 peixes em cada unidade experimental, já com 125 peixes/m³ a lotação de criação foi de 9 peixes por aquário.

Os alevinos foram pesados em balança analítica e medidos ao início e ao término do experimento. Os aquários experimentais possuíam aeração contínua para promover a oxigenação da água, com uma troca diária de água de 10% do volume total.



Figura 7: Aquários experimentais.



Figura 8: Alevinos utilizados no experimento.

Antes do início do experimento, os animais foram submetidos a um período de adaptação ao ambiente, ao manejo e à dieta experimental, por 15 dias. Os peixes foram alimentados até a saciedade aparente três vezes por dia (8:00h; 12:00h e 17:00h) “*ad libitum*”, por 90 dias, durante este período, os aquários foram limpos diariamente, para a retirada de fezes e sobra de ração. A qualidade da água foi acompanhada a cada semana, através das medidas de temperatura, do pH por potenciômetro digital, oxigênio dissolvido por meio de oxímetro digital, quantidade de amônia e nitrato por espectrofotômetro.

Ao final do período experimental (**Figura 9**) foram capturados três peixes de cada aquário, sendo anestesiados com 50 mg/L de benzocaína (Gomes et al. 2001), pesados, medidos e abatidos. Os filés dos exemplares foram removidos e imediatamente acondicionados em sacos plásticos devidamente etiquetados e mantidos sobre congelamento a -18°C , até o início das análises. Na retirada do filé, o peixe foi decapitado e eviscerado, removeu-se as nadadeiras dorsal, anal e a pele.



Figura 9: Tilápia com 90 dias de criação.

O filé foi obtido a partir da musculatura dorsal, nas duas nadadeiras do sentido longitudinal, ao longo de toda extensão da coluna vertebral e costelas. As amostras foram trituradas em um micro moinho (modelo - MA 345, marca Marconi) para completa homogeneização e seqüência de análises, conforme o esquema a seguir (**Figura 10**):

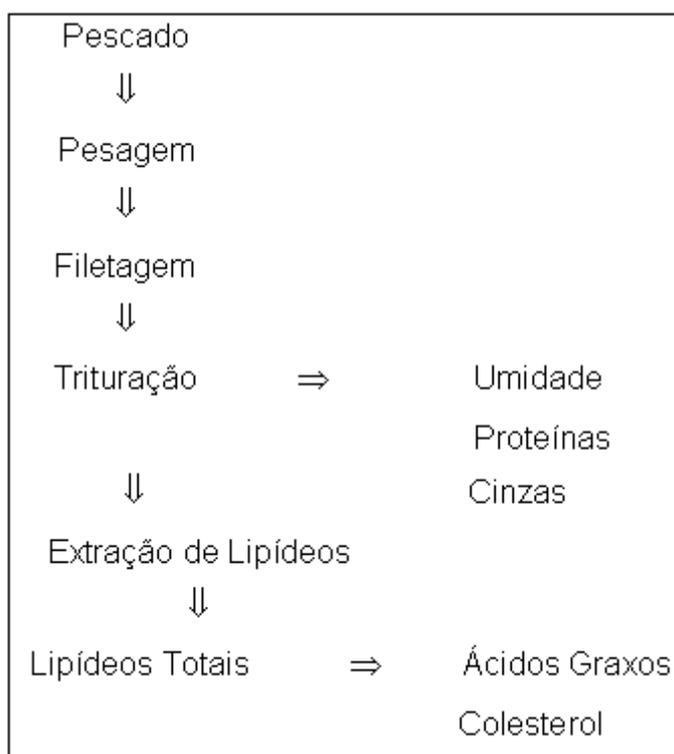


Figura 10: Fluxograma das análises realizadas.

DIETA DA PRIMEIRA ETAPA DO PROJETO

A ração foi balanceada segundo o método de tentativa. A ração experimental era composta de 36% de proteína bruta e 3100 kcal/ED/kg de ração, **Tabela 1**.

Tabela 1. Composição percentual e química da dieta experimental

Ingredientes	Quantidade em (g)
Farelo de soja	1.725,00
Farinha de peixe	155,00
Farelo de trigo	60,00
Quirera de arroz	822,00
L-lisina	21,00
DL- metionina	13,50
CrO ₃	3,00
Treonina	12,00
Óleo de soja	15,00
Fosfato bicálcico	90,00
Calcário	55,50
Vitamina C	2,40
Sal comum	3,00
Premix vitamínico ¹	3,00
Premix mineral ¹	9,00
BHT (antioxidante) ²	0,6

¹Premix vitamínico e mineral: níveis de garantia por kg do produto: Vitaminas: A=1200.000 UI; D3=200.000 UI; E=12.000 mg; K3=2.400 mg; B1=4.800 mg; B2=4.800 mg; B6=4.000 mg; B12=4.800 mg; ac. fólico=1.200 mg; pantotenato de Ca=12.000 mg; C=60 mg; biotina=48mg; colina=65.000 mg; niacina=24.000 mg; minerais: ferro=10.000 mg; cobre=600 mg; manganês=4.000 mg; zinco=6.000 mg; iodo=20 mg; cobalto=2 mg e selênio=20 mg.

²BHT = Butil hidroxi tolueno.

Para a elaboração da ração experimental, os alimentos foram processados individualmente em moinho para obter a mesma granulometria 0,42 mm (*mash* 40), para todos os ingredientes. Depois foram misturados e umedecidos com água a 65 °C para peletização (**Figura 11; etapas 1, 2 e 3**). A secagem processou-se em estufa a 65°C por 12 horas (**Figura 11, etapa 4**); sendo conservada sob refrigeração a 4°C. Para o fornecimento aos animais, a ração foi desintegrada e peneirada de modo a apresentar granulometria adequada a cada estágio de crescimento (**Figura 11, etapa 5**). Iniciou-se o experimento com a granulometria para a ração de 0,84 mm (*mash* 20), finalizando-o com 3,35 mm (*mash* 6). A composição centesimal da ração experimental encontra-se na **Tabela 2**.

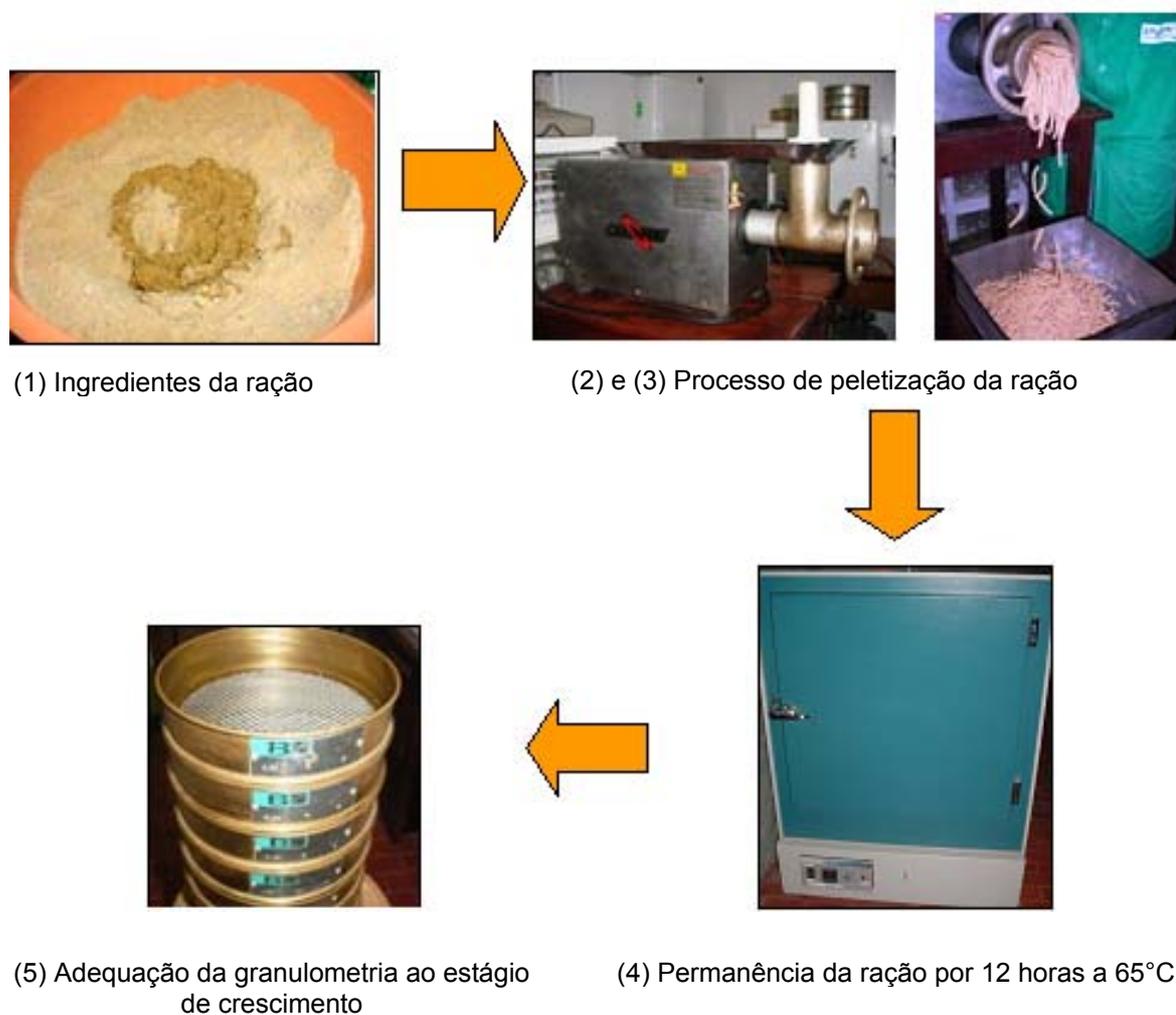


Figura 11: Fluxograma de preparação da ração.

Tabela 2. Composição centesimal da ração experimental da primeira etapa do projeto

Composição Centesimal (g/100g de porção)*	Ração Basal Experimental
Umidade	7,0 ± 0,28
Lipídeos totais	0,7 ± 0
Proteína bruta	32,4 ± 0,14
Cinzas	22,5 ± 3,11
Fibra bruta	7,4 ± 1,0
Carboidratos	30,0 ± 2,3
Calorias (kcal)	255,8 ± 9,76

* Analisadas em triplicata, com média e desvio-padrão.

❖ MÉTODOS

VARIÁVEIS DE DESEMPENHO

No início e final do experimento foram realizadas biometrias, sendo registrada a massa de cada indivíduo, as seguintes características de desempenho foram estudadas: peso final (g); ganho de peso (%); conversão alimentar aparente; taxa de crescimento específico (%/dia); índice de massa de filé; rendimento de filé e rendimento de carcaça eviscerada foram estimados pelas seguintes expressões matemáticas:

$$GP = Pf - Pi / \Delta t$$

$$CAA = \text{Consumo de ração} / \text{Ganho de peso}$$

$$TCE = Pf - Pi / \Delta t \times 100$$

$$IMF = \text{Peso do filé} / \text{Comprimento do filé ao quadrado} \times 100$$

$$RF = \text{Massa do filé} \times 100 / \text{Massa corporal total}$$

$$RCE = \text{Peso eviscerado} / \text{Peso inteiro do peixe} \times 100$$

Em que:

GP = Ganho de peso;

CAA = Conversão alimentar aparente;

TCE = Taxa de crescimento específico;

IMF = Índice de massa de filé;

RCE = Rendimento de carcaça eviscerada;

RF = Rendimento de filé;

Pi = Peso médio inicial;

Pf = Peso médio final;

Δt = Tempo do experimento em dias.

❖ COMPOSIÇÃO CENTESIMAL (RAÇÃO E FILÉS DAS DIFERENTES DENSIDADES DE ESTOCAGEM)

UMIDADE

A amostra foi previamente triturada e homogeneizada. Pesou-se aproximadamente 5 g da amostra em cápsula de porcelana, anteriormente tarada e aquecida em estufa regulada a 105°C. A amostra permaneceu por 4 horas em estufa a 105°C e em seguida foi resfriada em dessecador por 15 minutos e pesada, segundo AOAC (2000). O teor de umidade foi expresso da seguinte forma:

$$\% \text{ Umidade} = (P_1 + X - P_2) / X \times 100$$

Onde:

P_1 = Peso da cápsula seca
 X = Peso da amostra *in natura* (g)
 P_2 = Peso da cápsula + amostra seca

Figura 12: Cálculo de determinação de umidade.

Resíduo Seco: $100 - U\%$, onde:

$U\%$ = Percentual de umidade.

CINZAS (RESÍDUO MINERAL FIXO)

A amostra foi previamente triturada e homogeneizada. Pesou-se aproximadamente 3 g de amostra em cadinho de porcelana previamente tarado e

aquecido em mufla regulada a 550°C e tarada. A amostra foi carbonizada em bico de Bunsen até deixar de exalar vapores cujo objetivo foi à diminuição dos vapores durante a permanência na mufla. A amostra permaneceu por 4 horas em mufla a 550°C e, em seguida, foi resfriada em dessecador por 15 minutos e pesada, segundo AOAC (2000). O teor de cinzas foi expresso da seguinte forma:

$$\% \text{ Cinzas} = 100 \times N / P$$

Onde:

N = Número de gramas de cinzas

P = Número de gramas da amostra

Figura 13: Cálculo de determinação de cinzas.

$$\% \text{ Cinzas na amostra integral: } \frac{\% \text{ Cinzas na amostra seca} \times \% \text{ Resíduo seco}}{100}$$

PROTEÍNA BRUTA (PB)

Colocou-se 0,15 g da amostra em um tubo de digestão e em seguida adicionou-se 5 mL da mistura digestora (ácido sulfúrico + catalisador). O material foi levado para a digestão com o aumento da temperatura de 50 em 50°C alcançando 350°C. Esperou-se resfriar e iniciou-se a destilação. Para esta etapa foram colocados 25 mL de solução de ácido bórico e mistura indicadora de vermelho de metila em um erlenmeyer de 125 mL de capacidade. Ao tubo com

amostra adicionaram-se 15 mL de água e 15 mL de NaOH concentrado no material que sofre a digestão. O tubo foi acoplado ao aparelho de destilação de amônia. A amostra foi destilada até dobrar o volume inicial, aproximadamente 50 mL. Titulou-se com HCl 0,05 N até mudar a coloração para alaranjado, segundo AOAC (1984).

Os níveis foram medidos utilizando um fator de conversão específico para cada tipo de alimento, que no caso do pescado é de 6,25 para conversão do nitrogênio total em proteína bruta, da seguinte forma:

$$\text{Nitrogênio \% (AS)} = (V_a - V_b) \times N \times F \times 14 \times 100 / \text{Peso da Amostra (mg)}$$

$$\text{Proteína \% (AS)} = \% \text{ Nitrogênio} \times \text{Fator de Conversão}$$

Onde:

V_a = Volume de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra
 V_b = Volume de ácido clorídrico gasto na titulação do branco
 N = Normalidade do HCl
 F = Fator de correção do HCl
 14 = Miligramas de nitrogênio ou 1 mEq de nitrogênio
 100 = Porcentagem
 AS = Amostra seca

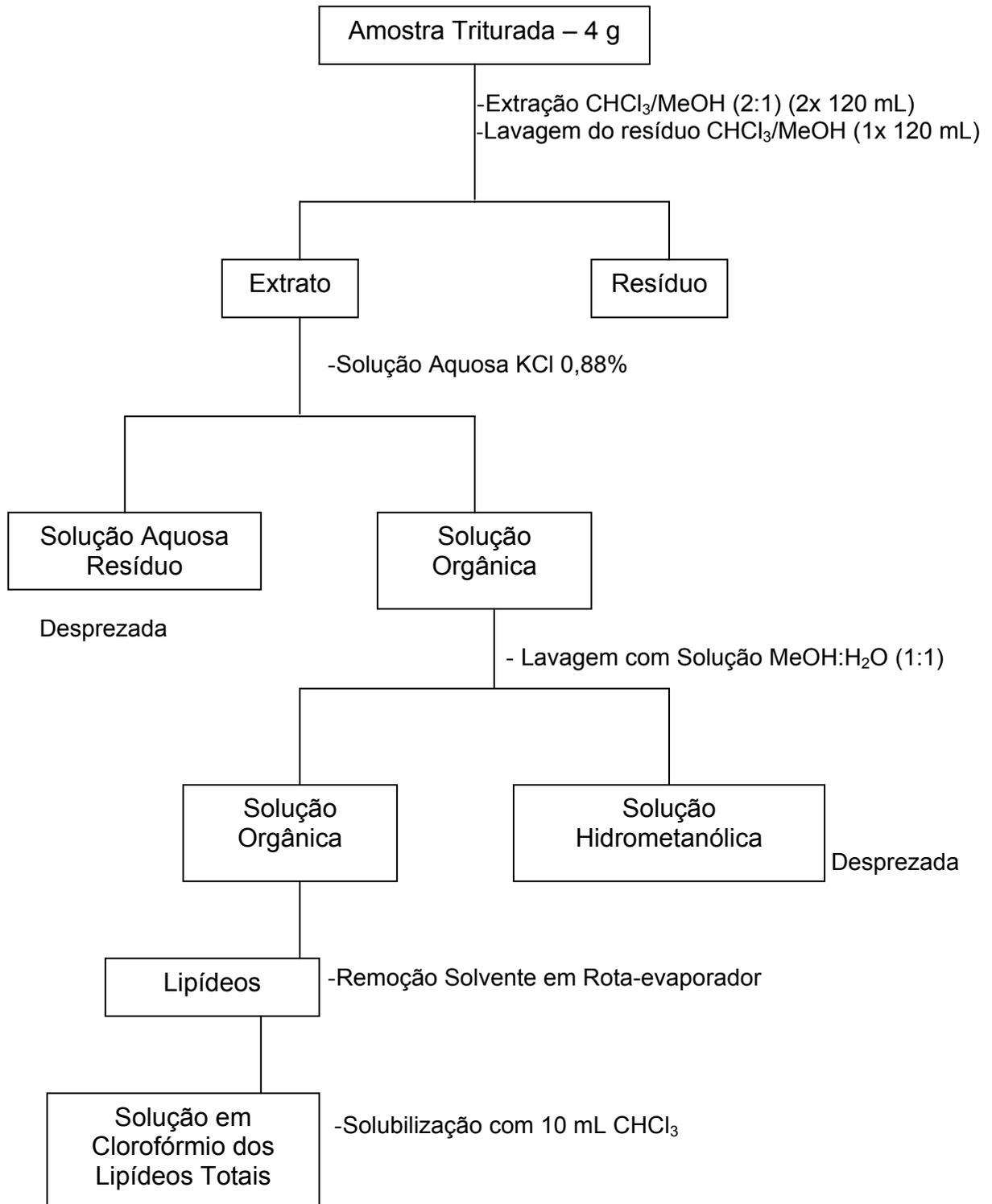
Figura 14: Cálculo de determinação de proteínas.

$$\text{Proteína Bruta \% (AI)} = \% \text{ Proteínas (AS)} \times \% \text{ Resíduo seco (RS)} / 100$$

EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS

Os lipídeos totais foram extraídos a frio pelo método de Folch et al. (1957). 4 g da amostra foram extraídos com CHCl_3 :MeOH (2:1, 2x), após as extrações houve lavagem do resíduo CHCl_3 :MeOH (2:1). Foi adicionado ao extrato um volume de 0,25 mL de KCl 0,88% em H_2O . Após a separação das fases, a fase superior foi descartada e adicionou-se na fase restante 0,25 mL de MeOH: H_2O (1:1). A mistura

então foi agitada manualmente. O sulfato de sódio anidro foi adicionado à fase restante e posteriormente filtrado. O filtrado foi então evaporado em rota-evaporador e a fração lipídica foi ressuspensa em CHCl_3 (**Figura 15**).



Determinação dos Lipídeos Totais por Gravimetria

Figura 15: Obtenção da fração lipídica segundo Folch et al. (1957).

O teor de lipídeos totais foi determinado pela perda de peso em estufa regulada a 105°C (Folch et al. 1957). O vidro de relógio foi previamente aquecido em estufa a 105°C por uma hora. Após este período, resfriado em dessecador por 15 minutos até temperatura ambiente e pesado. Transferiu-se 1 mL do extrato lipídico para o vidro de relógio. Após duas horas em estufa a 105°C o vidro de relógio foi resfriado em dessecador por 15 minutos e pesado. O teor de lipídeos totais expresso foi determinado através da seguinte expressão (**Figura 16**).

$$\% \text{ Lipídeos Totais} = (P_2 - P_1) \times 100 / X$$

Onde:

P_1 = Peso do vidro de relógio seco
 X = Peso da amostra *in natura* (g)
 P_2 = Peso do vidro de relógio + amostra

Figura 16: Cálculo de lipídeos totais.

CARBOIDRATOS (FRAÇÃO GLICÍDICA)

A fração de carboidratos foi determinada pelas expressões abaixo. Os resultados foram expressos em porcentagem, em relação à massa da amostra integral e seca. Para o cálculo da base seca utilizou-se uma regra de três a qual constava do percentual do nutriente com umidade e sem a umidade (Brasil/ANVISA 2001).

Valor de Carboidratos = 100 – (% umidade + % cinzas + % proteína + %lipídeos), para o filé.

Valor de Carboidratos = 100 – (% umidade + % cinzas + % proteína + % lipídeos + % fibras), para a ração.

FIBRA BRUTA (NA RAÇÃO)

Cerca de 1 g de amostra foi pesado em saquinho de teflon. A amostra foi submetida à digestão ácida [Ácido sulfúrico 1,25% (0,255 N)] por 30 minutos, seguida de uma digestão básica [Hidróxido de sódio 1,25% (0,313 N)] por 30 minutos. Após as digestões, colocou-se as amostras sob papel absorvente e, em seguida, em estufa a 105°C por uma noite (12h). Após a estufa, o material foi pesado e levado a mufla por 4 horas a 550°C e, em seguida, pesado. O teor de fibra foi expresso de acordo com a seguinte expressão:

$$\% \text{ Fibra Bruta} = \frac{(\text{saquinho} + \text{Matéria Seca}) - (\text{saquinho} + \text{Matéria Mineral})}{\text{Massa da amostra (1 g)}} \times 100$$

VALOR CALÓRICO TOTAL

Foi calculado a partir dos coeficientes calóricos correspondentes para carboidratos, proteínas e lipídeos, respectivamente 4, 4 e 9 kcal/g⁻¹ (Watt et al. 1963).

$$\text{Valor Calórico} = (\text{carboidratos} \times 4) + (\text{proteína} \times 4) + (\text{lipídeos} \times 9)$$

QUANTIFICAÇÃO DO COLESTEROL

O colesterol foi determinado por colorimetria segundo Bohac et al. (1988) adaptado por Bragagnolo e Rodriguez-Amaya, (1997) (**Figura 17**). Os lipídeos foram extraídos a frio pelo método de Folch et al. 1957. Para a quantificação do colesterol total, uma saponificação prévia foi necessária para transformar os ésteres em colesterol livre. Embora a saponificação direta seja mais rápida para análise de

colesterol, optou-se, neste trabalho, pela extração dos lipídeos antes da saponificação para permitir a determinação de lipídeos totais, colesterol e ácidos graxos a partir do mesmo extrato.

Uma alíquota de 2,5 mL do extrato lipídico foi evaporada sob fluxo de N₂ em tudo de ensaio. Livre do solvente, a amostra foi saponificada com 5 mL de hidróxido de potássio a 12,0% em etanol, em banho-maria a 80°C, com agitação, durante 15 minutos. A reação foi imediatamente resfriada com a adição de 2,5 mL de água destilada e ficou esfriando por 15 minutos. A fração insaponificável foi extraída por duas vezes consecutivas com 5 mL de hexano.

Então, foi tomada uma alíquota de 2,5 mL do extrato de hexano, evaporada sob fluxo de N₂. Foi acrescentado ao resíduo 3 mL de solução saturada de sulfato ferroso em ácido acético glacial e 1 mL de ácido sulfúrico concentrado. A reação com ácido sulfúrico concentrado e ácido acético saturado mais sulfato ferroso, no qual o sulfato ferroso agiu como um catalisador deu origem na presença de colesterol a uma coloração estável (Searcy e Bergquist, 1960). A reação de Liebermann-Burchard se baseia na oxidação da substância (colesterol) por meio de íons férricos em meio sulfúrico. A densidade ótica foi medida em espectrofotômetro a 490 nm (Spetrumlab 21 - Model 1058) obedecendo-se um tempo de leitura de 10 minutos. A curva de calibração para colesterol foi elaborada segundo Searcy e Bergquist (1960), utilizando-se 0,06 g de colesterol (Sigma P. A., St. Louis, MO) diluído em 100 mL da solução (50 mL de acetona P. A. e 50 mL de etanol), do qual foram retiradas alíquotas de 0,1 mL a 0,8 mL da solução de colesterol padrão. Essa curva foi linear, passou pela origem e cobriu a faixa de concentração das amostras. De acordo com a curva padrão obteve-se a equação $\hat{y} = 1,1608x$; $R^2 = 0,9948$, passando pela origem e cobriu a faixa de concentração das amostras.

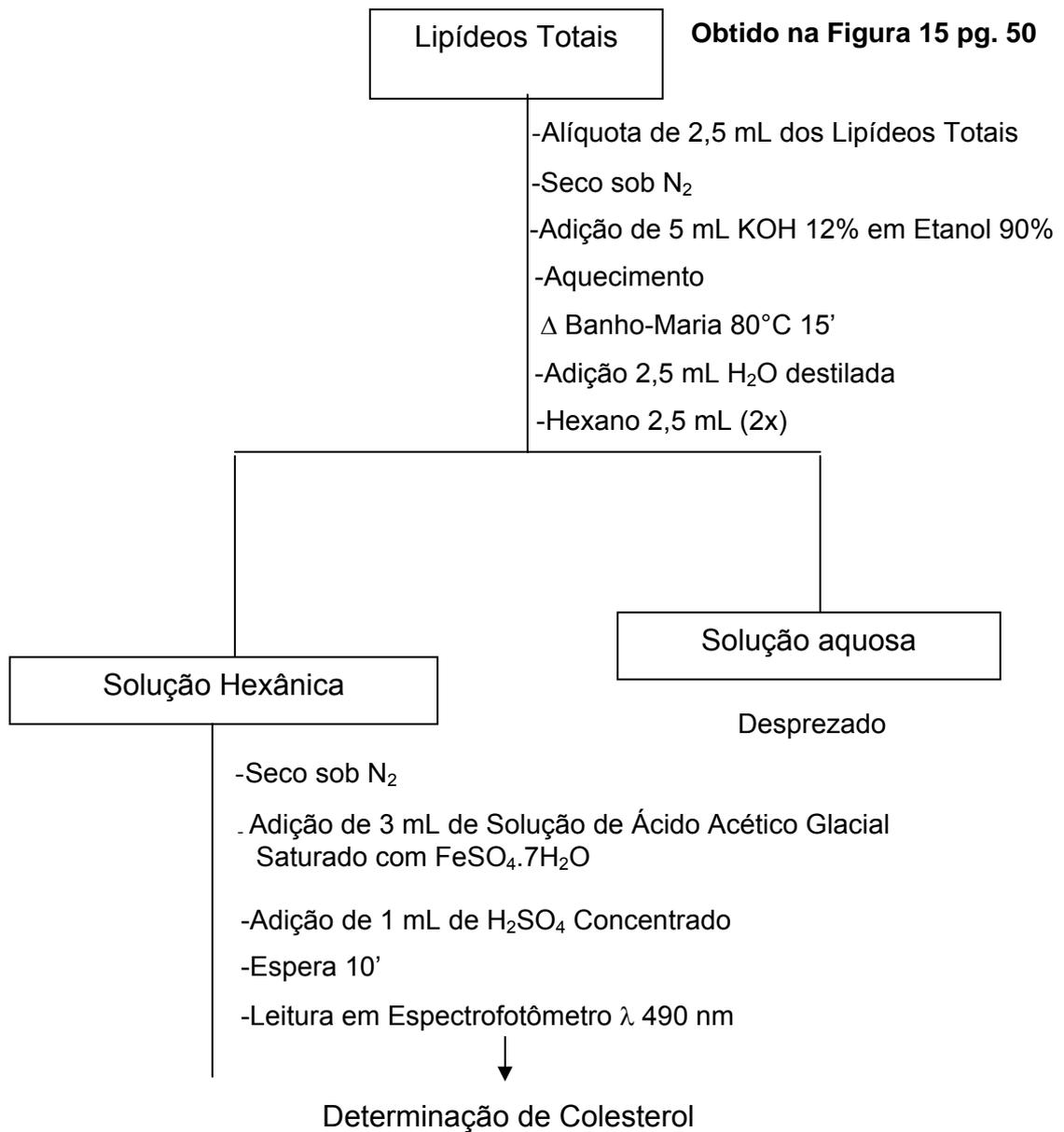


Figura 17: Determinação de colesterol por colorimetria segundo Bohac et al. (1988) adaptado por Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (1997).

QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS

Inicialmente foi efetuada a extração da fração lipídica, segundo método de (Folch et al. 1957) (**Figura 15 – p.50**). Depois foram realizadas a saponificação e esterificação dos ácidos graxos em ésteres metílicos (**Figura 18**).

Os ésteres metílicos foram obtidos modificando-se apenas as proporções dos reagentes e de amostra (Hartman e Lago, 1973). Após a extração dos lipídeos totais, uma alíquota de 25 a 50 mg de lipídeos, correspondente a 3 mL do extrato lipídico, foi saponificada utilizando-se 2 mL de solução de NaOH 0,5 N em metanol. A mistura foi aquecida em banho-maria fervente em tudo de ensaio com tampa por 5 minutos e depois esfriada em temperatura ambiente.

Para o processo de esterificação, foi utilizada uma solução (mistura para esterificação), cuja preparação envolveu a adição de 16 g de cloreto de amônio, com acréscimo de 480 mL de metanol seco e 16 mL de ácido sulfúrico, sob refluxo em condensador à água com sistema tipo Soxleht, durante 15 minutos, até total solubilização do cloreto de amônio.

Após o resfriamento da solução se adicionou 6 mL da mistura esterificada em tudo de ensaio contendo o extrato lipídico e a solução de NaOH 0,5 N em metanol. Nesta fase a mistura foi aquecida em banho-maria fervente por 3 minutos e, após este período, foi adicionada à mistura 5 mL de solução saturada de NaCl e agitou-se em agitador magnético por 10 segundos.

Para a extração dos ésteres metílicos formados adicionou-se 2 mL de n-hexano por 3 vezes, transferindo a fase orgânica para um outro tubo de ensaio com o auxílio de uma pipeta Pasteur e agitador magnético. Depois se adicionou a fase extraída pelo n-hexano mais 5 mL de solução saturada de NaCl, agitando no agitador magnético por 10 segundos. Após a agitação, a fase orgânica superior foi

transferida para um tubo do rota-evaporador para evaporação do solvente. A ressuspensão da amostra se deu com 1 mL de n-hexano.

A amostra foi transferida para frascos de vidro selados com tampa de teflon. Todos os reagentes utilizados foram grau analítico. Os ésteres de ácidos graxos foram submetidos à cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (**Figura 19**). O material foi injetado manualmente em cromatógrafo a gás utilizando-se um cromatógrafo a gás Shimadzu, modelo GC-17A, equipado com uma coluna capilar DB-5, série us 1352151h, com 30 m de comprimento, 0,25 μm de espessura e 0,25 mm de diâmetro interno. Foi utilizado Hélio (He) como gás de arraste a um fluxo de 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e pressão de 50 kPa. A temperatura inicial foi de 50°C que permaneceu constante durante 2 min, em seguida sofreu um aumento de temperatura até atingir 250°C a uma velocidade de 4°C min^{-1} permanecendo constante durante 15 min. O tempo total de análise foi de 60 min. As temperaturas do injetor e da interface foram mantidas a 250°C e 310°C respectivamente. O modo de controle de injeção foi o Split, com razão de 30:1. Foram obtidos os espectros de massas por impacto eletrônico (IE) a 70 eV. Para a identificação dos ácidos graxos foram utilizados padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos puros, comparando-se o tempo de retenção dos ésteres metílicos das amostras e dos padrões. A quantificação dos ácidos graxos foi feita por normalização de área.

Os diferentes ácidos graxos foram identificados por comparação aos tempos de retenção apresentados pelo padrão cromatográfico (Sigma – Aldrich). A quantificação dos ácidos graxos foi feita por normalização de área, expressando-se o resultado em percentual de cada ácido graxo sobre o total de ácidos graxos.

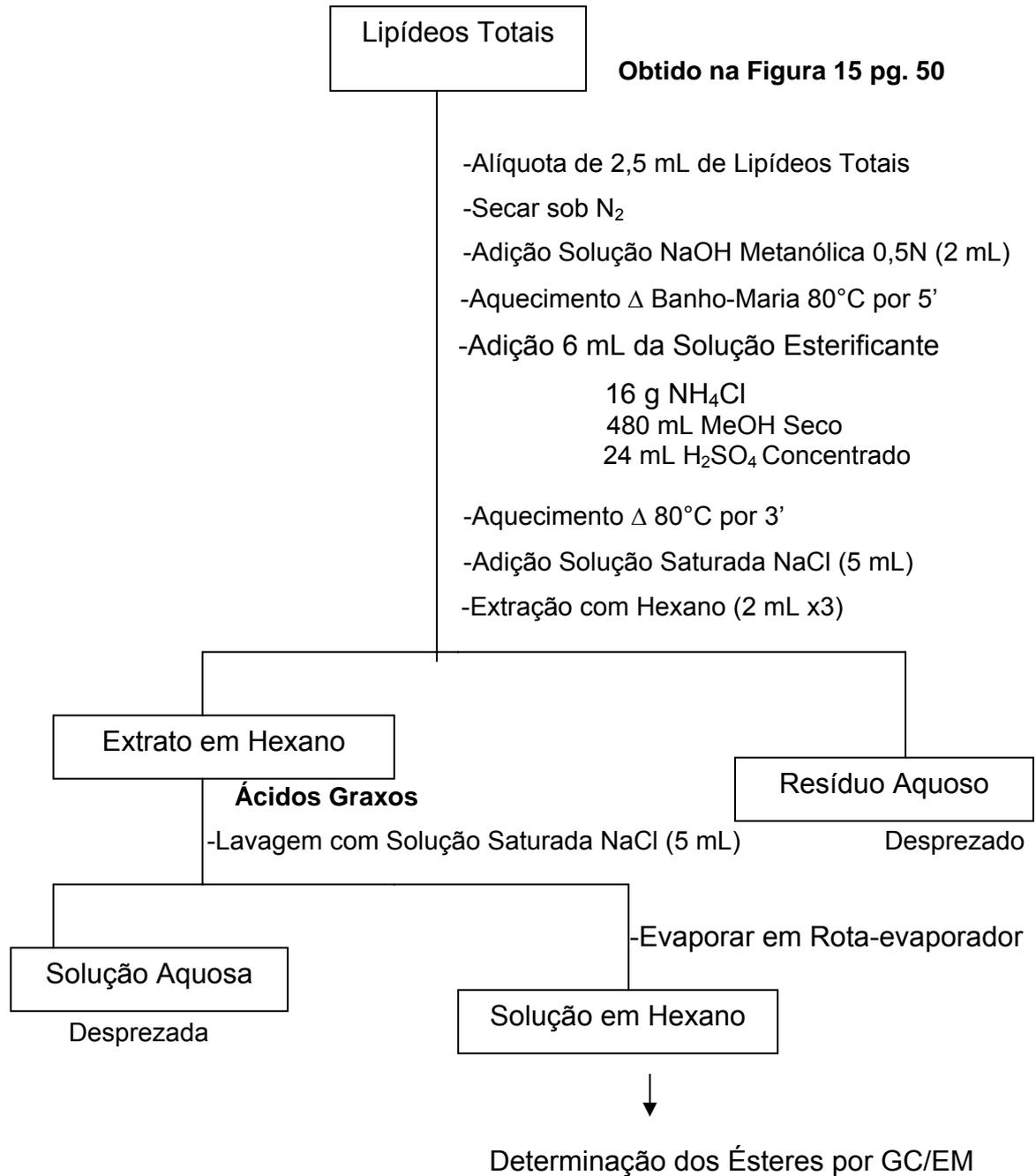


Figura 18: Obtenção dos ésteres metílicos de ácidos graxos segundo Hartman e Lago, (1973).



Figura 19: Cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas utilizado na identificação dos ácidos graxos.

QUALIDADE NUTRICIONAL DA FRAÇÃO LIPÍDICA

A qualidade nutricional da fração lipídica foi avaliada por três índices a partir dos dados de composição em ácidos graxos, através dos seguintes cálculos: Índice de Aterogenicidade (IA) = $[(C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0)] / (\sum AGMI + \sum n6 + \sum n3)$; Índice de Trombogenicidade (IT) = $(C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 \times \sum AGMI) + (0,5 \times \sum n6 + (3 \times \sum n3) + (\sum n3 / \sum n6))]$, segundo Ulbricht e Southgate; e razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) = $(C18:1n9 + C18:2n6 + C20:4n6 + C18:3n6 + C20:5n3 + C22:5n3 + C22:6n3) / (C14:0 + C16:0)$, segundo Santos-Silva et al. Em que: AGMI = todos os ácidos monoinsaturados.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram observadas as pressuposições paramétricas de normalidade (teste de Lilliefors) e homogeneidade das variâncias dos resíduos (teste de Levene), ambos com $p > 0,05$. Assim, realizou-se análise de variância para verificar a existência ou

não de diferença significativa. Para a comparação múltipla entre as médias dos tratamentos utilizou-se o teste *Post-hoc* de Tukey-HSD. Adotou-se como nível de significância valores menores que 5% de probabilidade para o erro experimental.

O segundo estudo referente à suplementação da vitamina C na ração dos alevinos foi realizado nas instalações do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, no período de março a junho de 2008. Foram utilizados 120 alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857), com peso inicial 11,0 g. Foram avaliadas diferentes níveis de suplementação de vitamina C (0, 250, 500 e 750 mg/kg de ração) com duas densidades de estocagem 50 (3 peixes por aquário) e 100 peixes/m³ (6 peixes por aquário), utilizando-se um delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições para cada densidade.

Os peixes foram distribuídos em 24 aquários de polietileno (**Figura 20**) com capacidade de 70 L, sendo que cada aquário foi considerado como unidade experimental. Os alevinos (**Figura 21**) foram pesados em balança analítica e medidos ao início e ao término do experimento. Os aquários experimentais possuíam aeração contínua para promover a oxigenação da água, com uma troca diária de água de 10% do volume total.



Figura 20: Aquários experimentais.



Figura 21: Alevinos utilizados no experimento.

Antes do início do experimento, os animais foram submetidos a um período de adaptação ao ambiente, ao manejo e à dieta experimental, por 15 dias. Os peixes

foram alimentados até a saciedade aparente três vezes por dia (8:00h; 12:00h e 17:00h) “*ad libitum*”, por 90 dias, durante este período, os aquários foram limpos diariamente, para a retirada de fezes e sobra de ração. A qualidade da água foi acompanhada a cada semana, através das medidas de temperatura, do pH por potenciômetro digital, oxigênio dissolvido por meio de oxímetro digital, quantidade de amônia e nitrato por espectrofotômetro.

Ao final do período experimental (**Figura 22**) foram capturados três peixes de cada aquário, sendo anestesiados com 50 mg/L de benzocaína (Gomes et al. 2001), pesados, medidos e abatidos. Os filés dos exemplares foram removidos e imediatamente acondicionados em sacos plásticos devidamente etiquetados e mantidos sobre congelamento a -18°C , até o início das análises. Na retirada do filé, o peixe foi decapitado e eviscerado, removeu-se as nadadeiras dorsal, anal e a pele.



Figura 22: Tilápia com 90 dias de criação.

O filé foi obtido a partir da musculatura dorsal, nas duas nadadeiras do sentido longitudinal, ao longo de toda extensão da coluna vertebral e costelas. As amostras foram trituradas em um micro moinho (modelo - MA 345, marca Marconi)

para completa homogeneização e seqüência de análises, conforme o esquema a seguir (**Figura 23**):

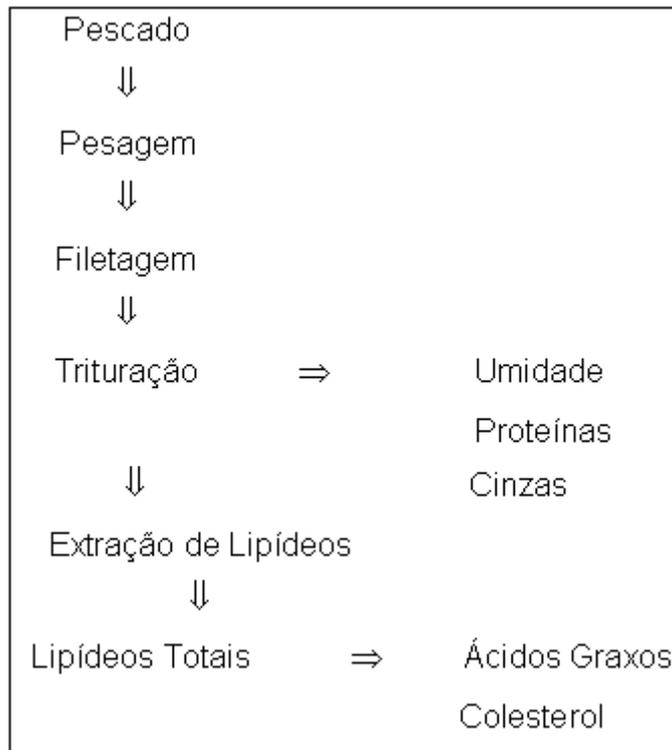


Figura 23: Fluxograma das análises realizadas.

DIETAS DA SEGUNDA ETAPA DO PROJETO

As rações foram balanceadas segundo o método de tentativa conforme apresentado na **Tabela 3**. As rações foram elaboradas para conter níveis crescentes de suplementação extra dietética de vitamina C (0; 250; 500;750 mg/kg ração). Todas as rações experimentais foram balanceadas para serem isoprotéicas e isocalóricas (28% PB e 3400 kcal/ED/kg de ração), e extrusadas conforme as recomendações do NRC (1993), ou seja, as rações continham os mesmos ingredientes e nutrientes, diferindo apenas na suplementação de ácido ascórbico.

Tabela 3. Composição percentual e química dos ingredientes das rações com diferentes suplementações de vitamina C

INGREDIENTES	%	0 mg	%	250 mg	%	500 mg	%	750 mg
Farelo soja	59,3	1777,5	59,8	1794,3	59,8	1794,3	59,8	1794,3
Farinha de peixe	5,5	165,0	5,5	165,0	5,5	165,0	5,5	165,0
Farelo trigo	2,0	60,0	2,5	75,0	2,5	75,0	2,5	75,0
Quirera arroz	27,4	822,0	25,0	750,0	23,8	714,0	22,6	677,1
L - Lisina	0,6	19,2	0,6	19,2	0,6	19,2	0,6	19,2
Óleo soja	0,0	0,0	0,5	15,0	0,9	26,1	1,3	38,1
Fosfato bicálcico	3,0	90,0	3,0	90,0	3,0	90,0	3,0	90,0
Calcário	1,9	55,5	1,9	55,5	1,9	55,5	1,9	55,5
Vitamina C	0,0	0,0	0,8	25,2	1,7	50,1	2,5	75,0
Sal comum	0,1	3,0	0,1	3,0	0,1	3,0	0,1	3,0
Premix vitamínico	0,1	1,8	0,1	1,8	0,1	1,8	0,1	1,8
Premix mineral	0,2	5,4	0,2	5,4	0,2	5,4	0,2	5,4
BHT	0,0	0,6	0,0	0,6	0,0	0,6	0,0	0,6
Total	100,0	3000,0	100,0	3000,0	100,0	3000,0	100,0	3000,0

¹ BHT = Butil hidroxi tolueno, antioxidante;

² Premix vitamínico e mineral: níveis de garantia por kg do produto: Vitaminas: A=1200.000 UI; D3=200.000 UI; E=12.000 mg; K3=2.400 mg; B1=4.800 mg; B2=4.800 mg; B6=4.000 mg; B12=4.800 mg; ac. fólico=1.200 mg; pantotenato de Ca=12.000 mg; biotina=48mg; colina=65.000mg; niacina=24.000mg; minerais: ferro=10.000 mg; cobre=600 mg; manganês=4.000 mg; zinco=6.000 mg; iodo=20 mg; cobalto=2 mg e selênio=20 mg.

Para a elaboração das rações experimentais, os alimentos foram processados individualmente em moinho para obter a mesma granulometria 0,42 mm (*mash* 40), para todos os ingredientes. Depois foram misturados e umedecidos com água a 65 °C para peletização (**Figura 24; etapas 1, 2 e 3**). A secagem processou-se em estufa a 65°C por 6 horas (**Figura 24, etapa 4**); sendo conservada sob refrigeração a 4°C. Para o fornecimento aos animais, as rações foram desintegradas e peneiradas de modo a apresentar granulometria adequada a cada estágio de crescimento (**Figura 24, etapa 5**). Iniciou-se o experimento com a granulometria para a ração (**Figura 25**) de 0,84 mm (*mash* 20), finalizando-o com 3,35 mm (*mash* 6).

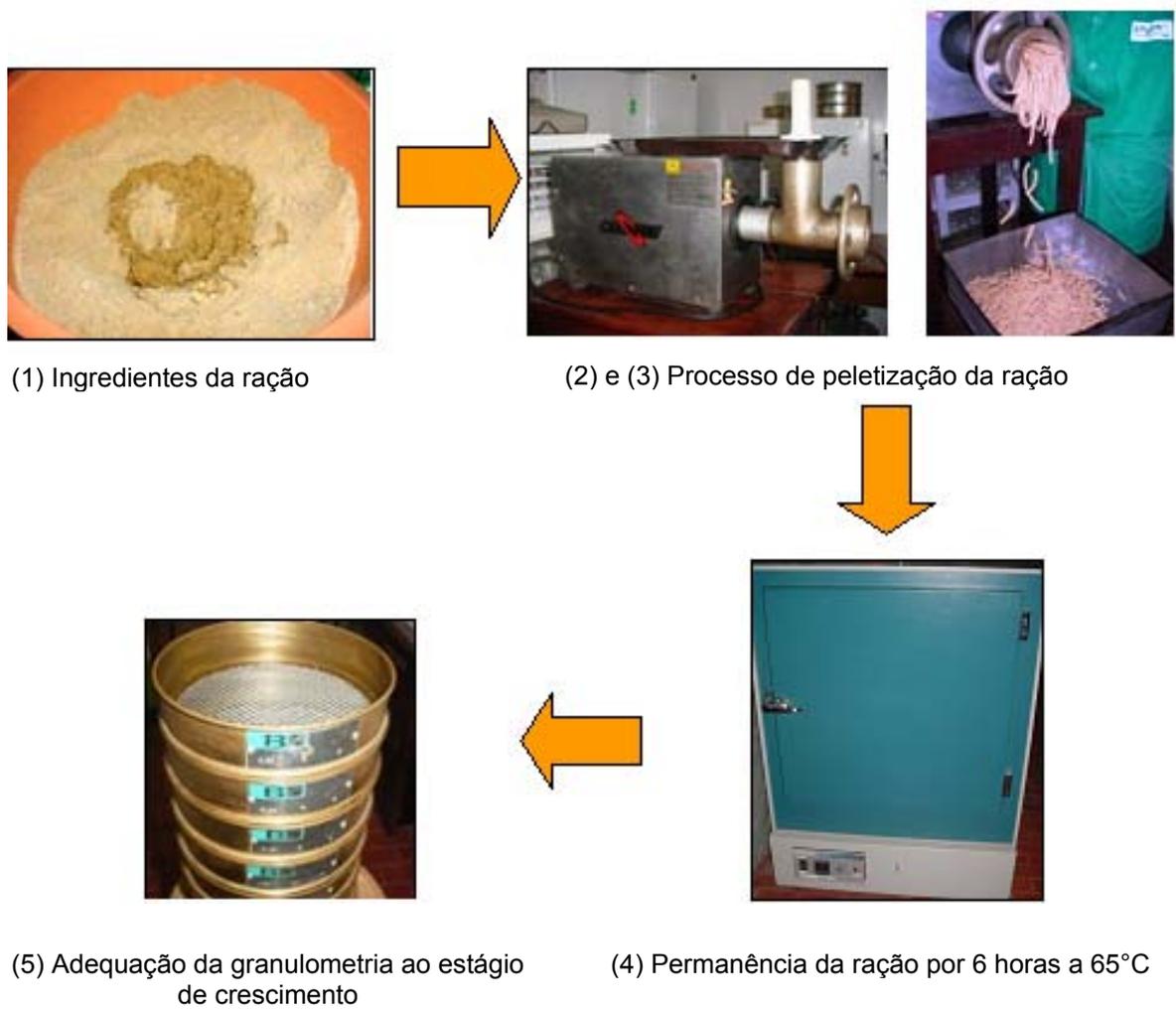


Figura 24: Fluxograma de preparação da ração.



Figura 25: As rações com diferentes suplementações de vitamina C.

Tabela 4. Composições centesimais das rações com diferentes suplementações de vitamina C

Composição Centesimal (g/100g de porção)*	0 mg	250 mg	500 mg	750 mg
Umidade	3,6 ± 0	5,1 ± 0,14	3,4 ± 0,57	3,7 ± 0,71
Lipídeos totais	1,3 ± 0	2,0 ± 0	2,7 ± 0	3,3 ± 0
Proteína bruta	34,15 ± 0,35	34,0 ± 0,14	34,25 ± 0,21	34,25 ± 0,21
Cinzas	30,0 ± 0,42	23,2 ± 0,21	21,9 ± 0,21	19,5 ± 0,28
Fibra bruta	11,4 ± 1,8	15,4 ± 0,5	13,8 ± 1,0	10,5 ± 0,16
Carboidratos	19,6 ± 2,6	20,4 ± 0,5	24,0 ± 0,5	28,7 ± 0,5
Calorias (kcal)	226,6 ± 8,97	235,4 ± 2,38	257,26 ± 2,66	281,64 ± 1,05

* Analisadas em triplicata, com média e desvio-padrão.

❖ **COMPOSIÇÃO CENTESIMAL (RAÇÃO E FILÉS DAS DIFERENTES DENSIDADES DE ESTOCAGEM)**

Após homogeneização, realizaram-se as seguintes determinações, em triplicata, de umidade, cinzas e proteínas segundo AOAC (2000). O teor de carboidratos foi obtido por diferença, conforme descrito por Brasil/ANVISA (2001), como também o valor calórico, através dos fatores de conversão de Atwater: 4 kcal.g⁻¹ para proteínas, 4 kcal.g⁻¹ para carboidratos e 9 kcal.g⁻¹ para lipídeos (Watt et al. 1963).

Os lipídeos totais foram extraídos a frio pelo método de Folch et al. (1957). O colesterol foi determinado através do procedimento de Bohch et al. (1988). O perfil de ácidos graxos foi determinado após a extração lipídica feita através do método Folch et al. (1957), aonde os lipídeos totais foram esterificados segundo Hartman e Lago (1973). A Qualidade nutricional da fração lipídica foi avaliada por três índices a

partir dos dados de composição em ácidos graxos, segundo Ulbricht e Southgate (1991); e Santos-Silva et al. (2002).

As Análises Estatísticas Foram observadas as pressuposições paramétricas de normalidade (teste de Lilliefors) e homogeneidade das variâncias dos resíduos (teste de Levene), ambos com ($p > 0,05$). Assim, realizou-se análise de variância para verificar a existência ou não de diferença significativa. Para a comparação múltipla entre as médias dos tratamentos utilizou-se o teste *Post-hoc* de Tukey-HSD. Adotou-se como nível de significância valores menores que 5% de probabilidade para o erro experimental.

❖ ANÁLISES QUÍMICAS - AVALIAÇÃO DO ESTADO REDOX HEPÁTICO

No trabalho sobre a influência da suplementação de vitamina C nos níveis de marcadores envolvidos no balanço redox: peroxidação lipídica, catalase e superóxido dismutase foi utilizado o fígado dos peixes da segunda etapa de criação.

OBTENÇÃO DO HOMOGENATO HEPÁTICO

Aproximadamente 100 mg de tecido hepático proveniente de cada animal dos grupos experimentais, previamente armazenados em biofreezer a -80°C, foram descongelados a 4°C. Sucintamente, os fragmentos teciduais foram transferidos para cadinhos de porcelana e pulverizados em nitrogênio líquido. Após esse procedimento, o pó obtido foi transferido para tubos plásticos de 1 mL contendo PBS com concentrações conhecidas de inibidores de proteases (PMSF, apotina e leupetina) e EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético). Em seguida, as amostras foram submetidas a duas centrifugações sequenciadas por 30 minutos a 4.000 rpm a 4°C. Após esse procedimento, os sobrenadantes foram alquotados e armazenados a -80°C até as mensurações.

MEDIDA DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

A formação de malonildialdeído (MDA), pela quebra de AGPI, é um conveniente método para se determinar o grau de peroxidação lipídica. Assim, a mensuração destes metabólitos foi realizada em microplacas através da detecção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acordo com o método descrito por Wallin et al. 1993 com adaptações realizadas por Rabêlo, 2004.

Resumidamente, a 100 μL do homogenato hepático, obtido conforme descritos no subitem anterior foram adicionados, sequencialmente, 10 μL do antioxidante BHT (hidroxitolueno butilado; $[\text{BHT}]_{\text{final}} = 5\text{mM}$), 1250 μL de uma solução do ácido tiobarbitúrico a 1,0% (Sigma[®], USA). Uma curva padrão foi preparada com 190 μL de diferentes concentrações de 1,1,3,3-tetra-metoxi-propano (0-7,5 nmol/L, Sigma[®], USA) e 10 μL de BHT. Em seguida, o produto da reação foi incubado a 95 °C. Após 60 minutos, a reação foi interrompida pela imersão das amostras em banho de gelo por 10 minutos. Em seguida, estas foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos à temperatura ambiente. A leitura da absorvância foi realizada em um leitor para microplacas (Thermoplate[®]), tendo-se como comprimento de onda de 530 nm.

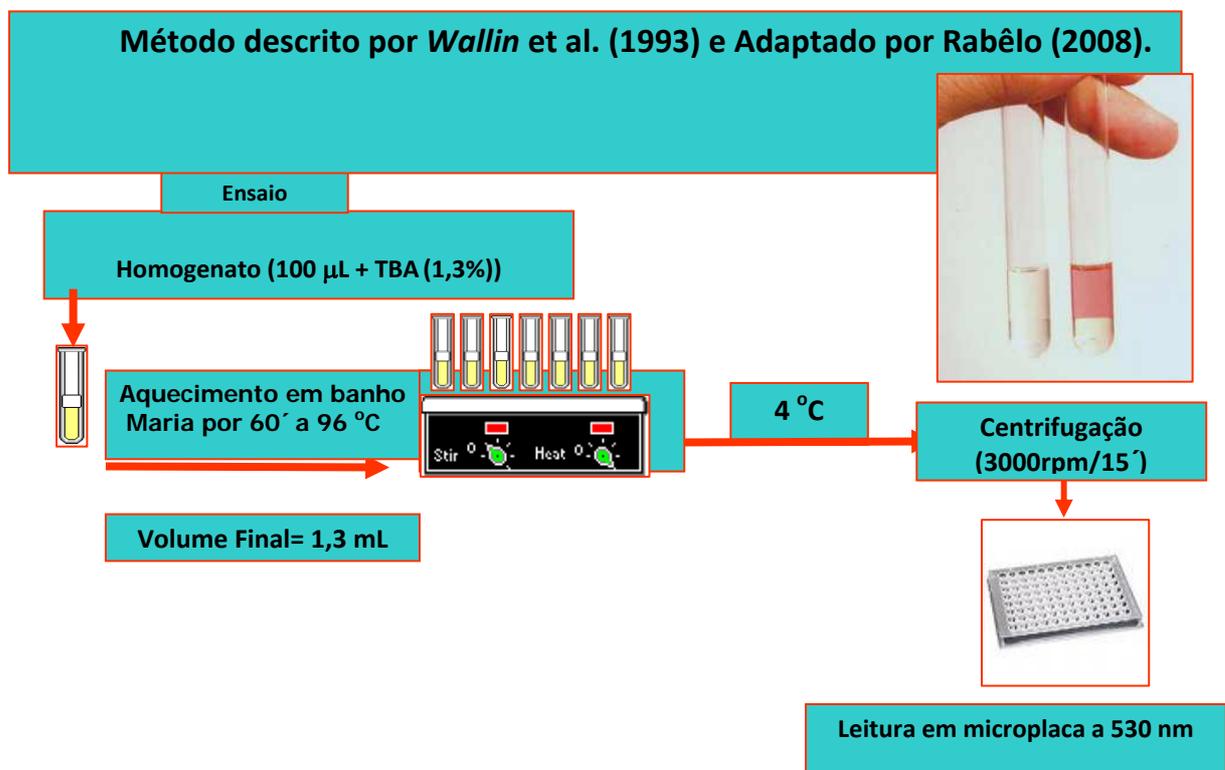


Figura 26: Quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) - Peroxidação lipídica.

MENSURAÇÃO DA ATIVIDADE DA CATALASE

A mensuração da atividade de catalase (CAT) foi realizada em microplaca de acordo com o método descrito por Cohen et al. 1996 com adaptações para microplacas. Sucintamente, 100 μL do homogenato hepático foi adicionado a placa. Para o início da reação, adicionou-se 20 μL de H_2O_2 (concentração final = 1 mM). Uma curva padrão com concentrações conhecidas de catalase foi preparada para calcular a concentração desta enzima nas amostras de homogenato de tecido hepático. Os reagentes foram preparados imediatamente antes do início da reação. A concentração de CAT foi normalizada pela concentração tecidual de proteínas pelo método de Bradford 1976.

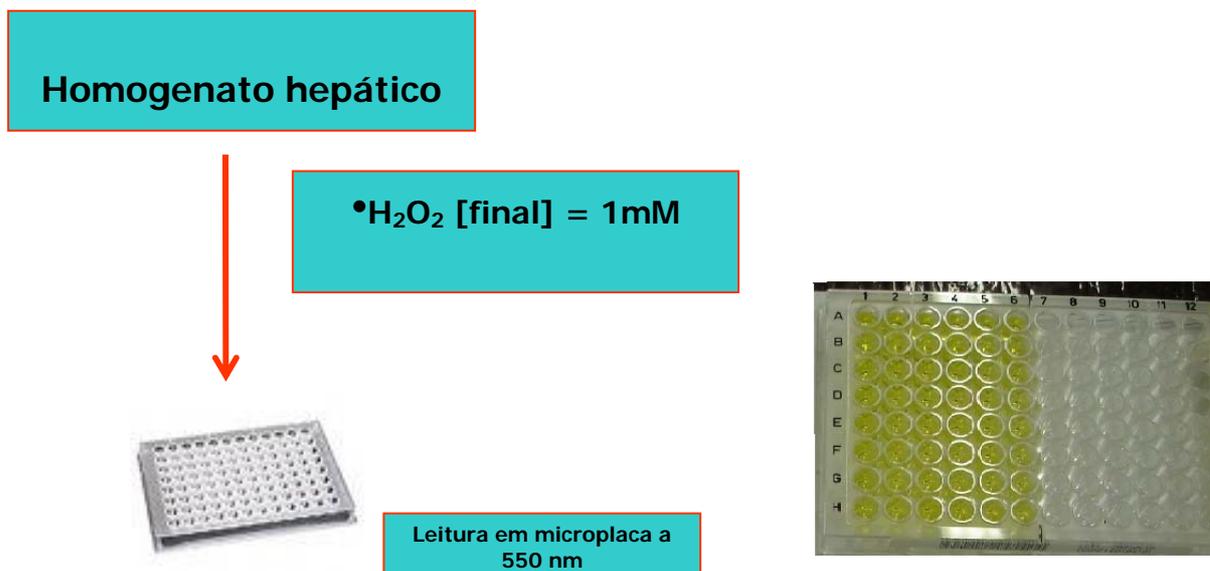


Figura 27: Mensuração da atividade da catalase.

MENSURAÇÃO DA ATIVIDADE DA SUPERÓXIDO DISMUTASE

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi determinada no homogenato hepático em microplaca (Nunc[®], Dinamarca) através da utilização de *kit* comercial Fluka[®], conforme instruções do fabricante, utilizando-se o comprimento de onda de 450 nm. Sucintamente, o método é baseado na utilização de um sal solúvel em água, o WST-1 (2-(4-Iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H tetrazolium, sal monossódico), que é reduzido pelo ânion superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$). O produto desta reação é o cromógeno *formazan*. A taxa de redução é linearmente relacionada à atividade da enzima xantina oxidase (XO) que, por sua vez, é inibida pela SOD. A atividade da SOD é então expressa como porcentagem de inibição da XO pela da SOD. Os dados foram normalizados pelo conteúdo tecidual protéico segundo método de Bradford (1976).

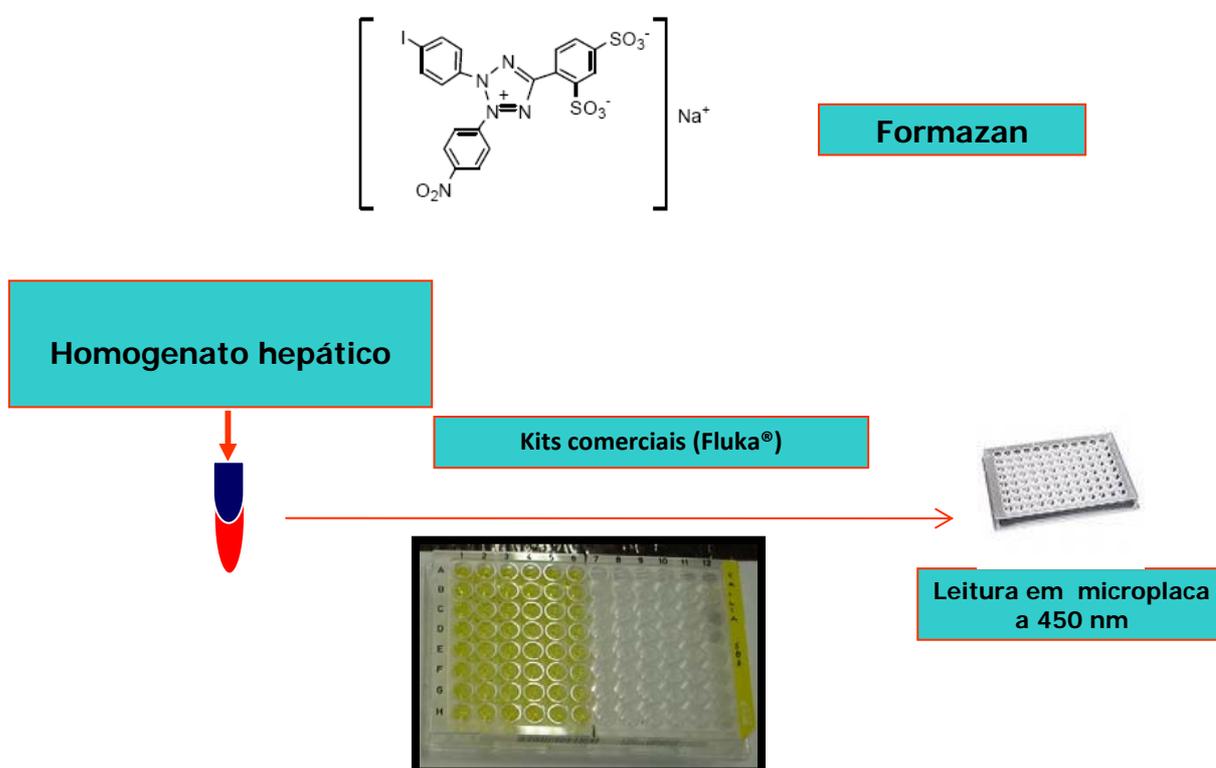


Figura 28: Mensuração da atividade da superóxido dismutase.

DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS

O conteúdo de proteína dos extratos aquosos foi determinado pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina bovina, fração V (Sigma) como padrão.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados através do teste de *Mann-Whitney*. Valores de ($p < 0,05$) foram considerados estatisticamente significativos. Os valores de “n” significam o número de animais que foram utilizados no experimento. Para tabulação e análise estatística dos resultados foram utilizados os programas Excel[®] (Microsoft, Santa Barbara, CA, USA) e Graph Pad Prism[®] 4.0 (San Diego, CA, USA), respectivamente.

❖ REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gomes LC, Chippari-Gomes AR, Lopes NP, Roubach R, Araujo- Lima CARM. Efficacy of benzocaine as anesthetic for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). Journal of the World Aquaculture Society 2001; (31): 426-31.
2. Association of official analytical chemists (AOAC). Horwitz, Washington. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists. 17 Ed. Arlington: AOAC Inc., 2000.
3. Association of official analytical chemists (AOAC). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. ed. Washington, D. C., 1984.
4. Folch J, Lees M, Sloane SGH. A simple method for the isolation and purification of total lipide from animal tissues. J. Biol. Chem., Baltimore, 1957; (226): 497-509.
5. Brasil. ANVISA. 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 40, de 21 de março de 2001. Regulagem nutricional de alimentos e bebidas embaladas. Brasília.
6. Watt B, Merrill AL. 1963. Composition of foods: raw, processed, prepared. Washington DC: Consumer and Food Economics Research. Division/Agricultural Service.
7. Bohac CE, Rhee KS, Cross HR, Ono K. Assesment of methodologies for colorimetric cholesterol assay of meats. J. Food Sci. 1988; (53): 1642-4.
8. Bragagnolo N, Rodriguez-Amaya D. Otimização da determinação de colesterol por CLAE e teores de colesterol, lipídeos totais e ácidos graxos em camarão rosa (*Penaeus brasiliensis*). Ciênc. Tecnol. Aliment., v. 17, n. 3, Campinas, set./dez. 1997.
9. Searcy RL, Bergquist LMA. New color reaction for the quantitation of serum cholesterol. Clin. Chimica Acta., 1960; (5): 192-9.

10. Hartman L, Lago BCA. Rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. *Lab Pract.* 1973; (22): 475-7.
11. Ulbricht TLV, Southgate DAT. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 1991; (338/8773): 985-92.
12. Santos-Silva J, Bessa RJB, Santos-Silva F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science* 2002; (7723): 187-94.
13. NACIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of warmwater fishes and shellfishes. Washington: national academy press. p. 102. 1993.
14. Wallin B, Rosengren B, Shertzer HG, Camejo G. Lipoprotein oxidation and measurements of thiobarbituric acid reacting substances formation in single microtiter plate: its use of evaluation of antioxidants. *Analytical Biochemistry.* 1993; 208: 10-15.
15. Rabêlo LA. Disfunção endotelial na aterosclerose: papel do peróxido de hidrogênio e tratamento preventivo com o flavonóide diocleína. [Tese de Doutorado]. Belo Horizonte, Minas Gerais. Universidade Federal de Minas Gerais. 2004.
16. Coehn G, Kim M, Ogwu V. A modified catalase assay suitable a plate reader and for the analysis of brain cell cultures. *Journal of Neuroscience Methods.* 1996; (67):53-56.
17. Bradford MM. An rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry.* 1976; (72): 248-254.

CAPÍTULO I

Vitamina C e Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857): Uma Revisão

Artigo enviado à Revista Archivos de Zootecnia - Espanha.

VITAMINA C E TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857): UMA REVISÃO

Vitamin C in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857): A Review

Menezes M.E.S.^{1A*}, Miranda E.C.^{1B}, Pinheiro D.M.^{1C}, Sant'Ana A.E.G.^{1D}

¹Universidade Federal de Alagoas - Instituto de Química e Biotecnologia - Cep: 57072-970 - Maceió-AL, Brasil. ^{1A*} memenezes_2@yahoo.com.br; ^{1B} edmacdm@gmail.com ^{1C} dmpinheiro@uol.com.br; ^{1D} aegs@qui.ufal.br

PALAVRAS-CHAVE ADICIONAIS

Peixes. Ração. Vitamina C.

RESUMO

Os peixes, de um modo geral, necessitam dos mesmos nutrientes exigidos pelos animais terrestres para o crescimento, reprodução e outras funções fisiológicas. Esses nutrientes podem vir de organismos aquáticos ou de rações comerciais. Na piscicultura, como os peixes são mantidos em confinamento, o alimento natural se torna escasso, necessitando, assim, de uma ração nutricionalmente completa e balanceada. A vitamina C assume importância considerável em razão da ação em vários processos metabólicos. Essa vitamina é considerada essencial para a maioria das espécies de peixes, uma vez que não a sintetizam, em função da ausência da enzima L-gulonolactona oxidase para sua formação, a partir da glicose. A ausência de vitamina C pode causar a escoliose, a cifose e a lordose, letargia, fadiga, diminuição da capacidade de cicatrização de feridas, redução do desempenho reprodutivo, diminuição da eclodibilidade e possui ainda uma função positiva na melhora do estresse. O objetivo desta publicação é de fornecer uma revisão sobre a utilização do ácido ascórbico nos peixes, constituindo-se em uma fonte de referências sobre os estudos sobre a vitamina C na aquicultura.

ADDITIONAL KEYWORDS

Fishes. Ration. Vitamin C.

SUMMARY

Fish, in general, need the same nutrients required by land animals for growth, reproduction and other physiological functions. These nutrients can come from aquatic organisms or commercial operations. In fish, as fish are kept in confinement, the natural food becomes scarce, and need a diet nutritionally complete and balanced. Vitamin C takes on considerable importance because of action in various metabolic processes. This vitamin is considered essential for most fish species, since they do not synthesize due to the absence of the enzyme L-gulonolactone oxidase for its formation from glucose. The lack of vitamin C may be cited scoliosis, kyphosis and lordosis, lethargy, fatigue, impaired wound healing, reduced reproductive performance, decreased hatchability, also has a positive role in reducing the stress. The purpose of this publication is to provide a review on the use of ascorbic acid in fish, thus becoming a source of references on studies about vitamin C in aquiculture.

INTRODUÇÃO

O estado nutricional do peixe, por ser consequência direta e indireta da quantidade e qualidade dos nutrientes disponíveis na dieta, pode ser positivamente alterado. Desse modo, em virtude da ampla participação metabólica, vários aspectos da dieta podem preparar o peixe para situações adversas. A vitamina C e os lipídeos e seus constituintes, ácidos graxos, exercem em peixes funções essenciais e dinâmicas na manutenção do crescimento, da higidez, da eficiência alimentar, da reprodução e da qualidade do filé e, conseqüentemente, favorece o equilíbrio orgânico (Falcon et al. 2007).

Na natureza, os peixes suprem com facilidade suas exigências nutricionais com alimentos disponíveis no meio. Entretanto, quando confinados, suas necessidades precisam ser atendidas pela ração, mediante a utilização de dietas balanceadas. Atualmente, em nosso país, tem aumentado de forma expressiva a produção de peixes em sistemas superintensivos. Esse sistema possibilita a obtenção de significativa produção por unidade de área, mas exige maior atenção ao valor nutritivo dos alimentos utilizados para compor a ração, uma vez que essa ração será o único alimento disponível para suprir a necessidade nutricional desses peixes (Gonçalves et al. 2005).

O ácido ascórbico (vitamina C) é conhecido como promotor de numerosos processos bioquímicos e fisiológicos, tanto em animais como em plantas. A maioria dos animais pode sintetizar esta vitamina em quantidades suficientes para prevenir os sinais clínicos de deficiência conhecidos como escorbuto. Entretanto, primatas, porcos da Índia, peixes, camarões, morcegos, pássaros e alguns insetos necessitam de uma fonte dietética de vitamina C para prevenir ou reverter os sintomas do escorbuto (O'Keefe, 2001).

Entre os principais aspectos avaliados para esse nutriente, em diferentes espécies e fases do desenvolvimento dos peixes, destaca-se a ação no desempenho produtivo, na resistência a doenças, nas respostas imunológicas, nos parâmetros hematológicos e nas respostas ao estresse (Devlin, 1998).

A deficiência na capacidade de síntese de vitamina C pelos peixes, em virtude da ausência da enzima L-gulonolactona oxidase, determina a necessidade de suplementação, em quantidades adequadas desta vitamina na dieta para suprir as necessidades metabólicas da espécie. A vitamina C participa da síntese de colágeno, conferindo maior resistência à fibra, do metabolismo do ferro, transformando-o do estado férrico para o estado ferroso, e da síntese de carnitina, a partir da lisina e metionina (Lovell, 1998).

Atua, ainda, na conversão do ácido fólico para folínico e pode minimizar a ação de radicais livres, evitando a desestabilização da membrana lipídica (Ai et al. 2006). Alterações metabólicas durante situações desfavoráveis geram redistribuição e maior demanda por vitaminas, especialmente a vitamina C (Adham et al. 2000).

Recomenda-se suplementação em níveis superiores ao necessário para proporcionar aos peixes desempenho normal, visando maior resistência a doenças. Peixes com alta concentração de ácido ascórbico nos tecidos apresentam maior tolerância à poluição ambiental e maior resistência a infecções por bactérias (Falcon et al. 2007). Sobhana et al. (2002) demonstraram que a suplementação de vitamina C em níveis elevados aumentou significativamente a sobrevivência, a atividade fagocítica e a resistência contra *Aeromonas hydrophila*, em carpa indiana (*Cirrhinus mrigala*). Igualmente, Ai et al. (2006) relataram que a mortalidade cumulativa diminuiu à medida que aumentou o nível de vitamina C na dieta de *Pseudosciaena crocea*, desafiado com bactéria.

A tilápia-do-Nilo é uma espécie de grande interesse para a piscicultura atual, em razão de suas qualidades, como rusticidade em relação à ambiente com baixo oxigênio dissolvido e altas densidades de criação. Outra característica muito importante está relacionada à sua alimentação, que pode ser natural e/ou artificial (Meurer et al. 2008). As tilápias são nativas da África e existem cerca de 70 espécies distribuídas em quatro gêneros: *Oreochromis*, *Sarotherodon*, *Tilapia* e *Danakilia* (Proença & Bittencourt, 1994).

A tilápia-do-Nilo caracteriza-se por ser de baixo nível trófico (onívora) e por ter boa aceitação no mercado consumidor. Tem se destacado na aquicultura mundial por apresentar crescimento rápido, alta rusticidade, capacidade de adaptação a diferentes condições climáticas, carne de ótima qualidade e por não apresentar espinhos na forma de “Y” no seu filé. Além disso, pesquisas têm demonstrado que esta espécie tolera altos níveis de carboidratos nas rações, o que favorece a utilização de fontes protéicas alternativas à farinha de peixe (Furuya et al. 2005).

O objetivo desta publicação é de fornecer uma revisão sobre a utilização do ácido ascórbico nos peixes, constituindo-se em uma fonte de referências sobre os estudos sobre a vitamina C na aquicultura.

AQUICULTURA E A ESPÉCIE

A aquicultura é uma prática tradicional praticada há cerca de 4000 anos, encontrada em várias culturas pelo mundo. Há registros históricos evidenciando a técnica em documentos e manuscritos chineses datados de séculos remotos, e chega a ser mencionada até em hieróglifos egípcios. Este sistema incluía, de forma simplificada, o armazenamento de exemplares imaturos de diversas espécies de peixes, seu desenvolvimento condicionado a um ambiente propício, que não

demandava adição de muitos insumos ou recursos externos, e, por fim, seu consumo pelas populações, sendo uma importante fonte alimentar. Atualmente, por definição, a aquicultura é considerada uma atividade multidisciplinar, referente ao cultivo de diversos organismos aquáticos, incluído plantas aquáticas, moluscos, crustáceos e peixes; a intervenção ou manejo do processo de criação é imprescindível para o aumento da produção (Oliveira, 2008).

A piscicultura foi caracterizada como uma atividade econômica em expansão no Brasil, sobretudo no Nordeste, cujo clima é propício à produção contínua ao longo de todo o ano. Além disso, o maior índice de crescimento populacional, com a consequente demanda por alimento e a disponibilidade de áreas propícias à implantação da atividade indica o Nordeste como pólo desenvolvimentista para aquicultura, (Diegues, 2006). Entretanto, como qualquer outro processo industrial que visa transformar recursos naturais em bens de consumo, a aquicultura deve ser orientada na busca de tecnologias ambientalmente mais corretas e que atendam às necessidades de desenvolvimento sócio-econômico e ambiental das populações de baixa renda (Freitas, 2006).

O desenvolvimento eficiente e saudável dos peixes em cativeiro depende do fornecimento de uma dieta capaz de satisfazer às necessidades básicas para crescimento. Na ampliação de um pacote de produção, o primeiro passo é a determinação da relação produção e saúde, a qual visa determinar o ótimo da produtividade animal (Navarro et al. 2007).

Existem duas possibilidades para a exploração desta fonte de recurso: a produção em território continental ou a produção marítima. Para a realidade brasileira, 69,7% da produção é proveniente da primeira forma de produção, com projeções que apontam para uma tendência ao crescimento. Sua preferência é

decorrente da disponibilidade de grandes extensões de terra passíveis de serem destinadas ao cultivo; da abundância de água doce e limpa; e, da boa adaptabilidade das espécies destinadas à criação. A aquicultura comercial foi implantada no Brasil na década 1950, com a introdução de espécies exóticas tais, como carpa, tilápia, e truta, que começaram a ser cultivadas, sobretudo em tanques de pequenas propriedades. Já na década de 1970 começaram os experimentos de cultivo de camarão de água doce, ostras e moluscos por pequenos produtores. Nos anos subsequentes, expandiu-se no Brasil a pesca esportiva em tanques destinados aos “pesque e pague”, nas periferias das grandes cidades, que incentivaram a produção de alevinos e jovens, que, posteriormente, eram transferidos aos tanques de produção (Navarro et al. 2007).

Finalmente, em meados dos anos 1990, se iniciou a carcinocultura baseada no *Penaeus vanamei*, já anteriormente produzidos em outros países da América Latina. Aproveitando as experiências já vivenciadas em grandes países produtores, como o Equador, capitais e pacotes tecnológicos foram transferidos ao Nordeste Brasileiro, onde esse cultivo se expandiu, aumentando, sobretudo, a produção dirigida ao mercado externo (Borghetti, 2003).

O Brasil, com mais de 8,5 milhões de quilômetros quadrados, tem uma das maiores reservas hídricas mundiais, com cerca de 12,0% da água doce disponível no planeta. A maior disponibilidade de corpos de água se situam na região Norte e Centro-Oeste, que concentram cerca de 89,0% do potencial de águas superficiais do país. Na região Centro-Oeste existe uma das maiores áreas úmidas do mundo - o Pantanal, com cerca de 140.000 km², que poderia conter alguns projetos de aquicultura com espécies nativas, desde que respeitadas às condições ambientais. Nas regiões Norte e Centro-Oeste, no entanto, vivem somente 14,5% da população

brasileira, apresentando cerca de 9,2% da demanda hídrica nacional. Já os 11,0% restantes do potencial hídrico do Brasil encontram-se nas regiões Nordeste, Sul e Sudeste, onde se localizam 85,5% da população e 90,8% da demanda de água do Brasil (Borghetti, 2003).

Somente em represas hidrelétricas existiam cerca de 5,3 milhões de hectares de área inundada, parte dos quais pode ser usada para aquicultura de água doce. Grande parte dessas represas localizam-se na Bacia Amazônica, na Bacia do Rio Paraná (Sul-Centro Oeste) e do Rio São Francisco (Nordeste) (Borghetti, 2003).

Na Amazônia, a aquicultura de água doce ainda é incipiente, mas existe um grande potencial tanto para o manejo da pesca quanto para a aquicultura nos inúmeros lagos de água doce do Médio Amazonas, sobretudo naqueles em que existem acordos de pesca e manejo pesqueiro realizados entre o IBAMA e as comunidades ribeirinhas. Na Região Nordeste, existe um grande número de açudes particulares, estimados em mais de 20.000. Segundo Borghetti (2003), 620 destes açudes são construídos em parceria com o DNOCS, armazenando cerca de 1,5 bilhões de metros cúbicos de água.

Tilápia é a denominação comum de grande gama de espécies de peixes ciclídeos, que, conforme Vieira et al. (2005), distribuem-se originalmente do centro-sul da África até o norte da Síria. Entretanto, de acordo com Vieira et al. (2005) a espécie *O. niloticus* demonstrou alto potencial para a aquicultura, em vários sistemas de criação. A primeira espécie introduzida em outros países foi a *O. mossambicus*, porém, esta se mostrou de baixo desempenho para a aquicultura.

Segundo Jory et al. (2000), as tilápias de importância comercial estão divididas em três principais grupos taxonômicos, distintos basicamente pelo comportamento reprodutivo: as do gênero *Tilapia spp.* (incubam seus ovos em

substratos), *Oreochromis spp.* (incubam os ovos na boca da fêmea) e *Sarotherodon spp.* (incubam os ovos na boca do macho ou de ambos).

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies mais indicadas para a criação intensiva por apresentar requisitos típicos dos peixes preferidos pelo mercado consumidor, como carne branca de textura firme e sabor delicado e ausência de espinhas em “Y”, além das características produtivas, como alta taxa de crescimento e adaptabilidade em diversas condições e de criação (Jory et al. 2000). Segundo Fitzsimmons (2000), a produção mundial de tilápias será de 1.500.000 t em 2010.

Contudo, esses peixes apresentam desovas parceladas e baixa fecundidade (Phelps & Popma, 2000), característica compensada pelas desovas assincrônicas, associada às altas taxas de sobrevivência das proles. A alta sobrevivência está relacionada a características específicas, como a incubação bucal dos ovos e/ou das larvas, o tamanho das larvas ao nascer e o cuidado parental (Turner & Robinson, 2000).

Além dessas características reprodutivas, as tilápias apresentam ainda maturação sexual precoce, que pode acarretar problemas em condições de cultivo, como desvio da energia destinada ao crescimento para a reprodução, superpopulação e queda da qualidade de água (Stickney, 2000).

METABOLISMO E NUTRIÇÃO

O metabolismo dos peixes sofre influência de vários fatores, tanto ambientais como os inerentes aos próprios animais. O tamanho corporal é um deles – quanto maior o animal, menor é a quantidade de energia por unidade de peso necessária para a manutenção de seu metabolismo basal. Os peixes, por serem pecilotérmicos, não despendem de energia para a regulação térmica em seu metabolismo, o que

representa uma vantagem em relação aos animais de sangue quente. O metabolismo basal tem relação direta com a temperatura da água. Já o metabolismo ativo, dependendo da espécie, pode apresentar aumento com a temperatura ou atingir um nível constante e depois diminuir. A diferença entre o metabolismo basal e o ativo reflete no consumo de oxigênio disponível para as atividades dos animais. Outros fatores importantes são a osmorregulação, a incidência de fatores estressores, o estado fisiológico e o nível de atividade motora dos animais (Oliveira, 2008).

A qualidade da alimentação está relacionada ao quanto os nutrientes fornecidos suprem as exigências dos animais. Além da proporção correta entre os nutrientes, eles devem ter digestibilidade e absorção em níveis que permitam seu aproveitamento no metabolismo dos peixes. Entre os principais nutrientes, proteínas e lipídeos contribuem para a produção de energia em peixes. Porém, nos peixes, a exigência protéica é quantitativamente maior que a energética, como consequência de um menor dispêndio de energia para locomoção, excreção nitrogenada e incremento calórico e de uma maior capacidade de utilização de energia a partir do catabolismo de proteínas em relação aos carboidratos, os quais têm aproveitamento diferenciado, de acordo com o hábito alimentar da espécie (Lovell, 1998).

Para um crescimento adequado, as dietas para peixes e crustáceos devem conter entre 24 e 57% de proteína, correspondendo de 30 a 70% da energia bruta da dieta, que deve apresentar adequado balanço e disponibilidade de aminoácidos e uma adequada relação energia:proteína. Quantidades de proteínas inadequadas na dieta causam uma redução ou mesmo a parada no crescimento de peixes. A necessidade de proteína na dieta é influenciada por fatores como tamanho corporal, temperatura da água, presença de alimento natural no ambiente de criação,

densidade de estocagem, taxa de alimentação diária, teor de energia não-protéica na dieta e qualidade da proteína fornecida (NRC, 1983).

Os ácidos graxos livres, derivados dos triglicerídeos da dieta, são a principal fonte de energia para o metabolismo muscular aeróbio em peixes. Eles têm maior importância como fonte energética em peixes de clima temperado, pois estes têm menor capacidade de utilização dos carboidratos da dieta. Os lipídeos são fontes de ácidos graxos essenciais, além de serem componentes das membranas celulares, precursores de hormônios e atuarem como transportadores na absorção de vitaminas lipossolúveis. Alguns tipos de ácidos graxos são essenciais e devem ser obrigatoriamente fornecidos, como os ácidos graxos poliinsaturados da série ômega-3, em quantidade de 0,5 a 1,5% da dieta (Falcon et al. 2007).

Os minerais são exigidos pelos animais para a manutenção de suas funções metabólicas e para o crescimento normal. Uma peculiaridade existente é o fato de alguns deles, como o cálcio, serem obtidos diretamente da água. Apesar dessa capacidade e da presença de minerais nos ingredientes usados nas rações, as dietas práticas devem ser suplementadas com minerais, com o objetivo de prevenir deficiências e maximizar o crescimento de peixes (NRC, 1993).

Vitaminas são compostos essenciais ao crescimento e metabolismo, normalmente não sintetizadas em quantidades suficientes pelos animais, sendo, geralmente, exigidas em pequenas quantidades a partir da dieta para a manutenção da função fisiológica normal. Essas exigências variam como nos outros nutrientes citados, em função de características metabólicas e ambientais e, apesar das quantidades exigidas serem pequenas, as deficiências podem causar sérios efeitos sobre os animais (NRC, 1993).

VITAMINA C NA NUTRIÇÃO DE PEIXES

Ácido ascórbico é o nome comum dado ao ácido 2,3-enediol-*L*-gulônico. É o agente redutor mais potente disponível às células e sua maior importância é devido a sua atuação como antioxidante, dado o seu alto potencial de redução. Na literatura sobre nutrição de peixes, o primeiro autor a tratar desta vitamina e dos danos causados pela sua deficiência foi McLaren et al. (1947).

Existem várias formas de ácido ascórbico e a estabilidade das mesmas tem sido testadas nas rações industrializadas para peixes (Skelbaek et al. 1990). Os trabalhos demonstram que as formas protegidas (ácido ascórbico-2-sulfato, ácido ascórbico-2-monofosfato, ácido ascórbico-2-difosfato, ácido ascórbico-2-trifosfato) são as mais estáveis e resistentes ao processo de industrialização e armazenamento e podem, desta forma, ser incorporadas em menores quantidades na ração para peixes (O'Keefe, 2001).

O ácido ascórbico, na sua forma livre, é bastante instável, sendo facilmente destruído por temperaturas elevadas, luz, umidade, microelementos e lipídeos oxidados (Tacon, 1987). Estes fatores também contribuem para as perdas de ácido ascórbico na ração durante o processo de industrialização e posterior armazenamento (Masumoto et al. 1991).

A importância da suplementação dessa vitamina em níveis superiores ao recomendado para evitar sinais de deficiência e, conseqüentemente, determinar maior reserva foi afirmada por Navarre & Halver (1989), que enfatizaram que peixes com alta concentração de ácido ascórbico nos tecidos apresentam maior tolerância à poluição ambiental e resistência a infecções por bactérias.

O ácido ascórbico não é sintetizado por alguns animais, como os primatas, os porcos da Índia, algumas cobras e alguns pássaros. Muitas espécies de peixes

também parecem ter falta ou limitada habilidade de sintetizar o ácido ascórbico (O'Keefe, 2001). Esta essencialidade dietética da vitamina C nos peixes, camarões e nos outros animais, provavelmente se deve à falta ou insuficiência da enzima *L-gulonolactona oxidase* (GLO, EC 1.1.3.8), que catalisa o último passo da transformação do ácido glicurônico em ácido ascórbico. Esta enzima é necessária para a biossíntese do ácido ascórbico (Figura 1) através da glicose ou de outros precursores simples (Lehninger et al. 2007).

Como características gerais da deficiência de ácido ascórbico nos peixes, pode-se citar a escoliose, a cifose e a lordose, sendo que problemas branquiais também podem ocorrer. As lesões que ocorrem nos tecidos conectivos são primeiramente um resultado do colágeno sub-hidroxilado (nos resíduos específicos de prolina e lisina), ficando suscetível à degradação de forma anormal (Kaneko et al. 1997). O colágeno sub-hidroxilado possui um baixo ponto de fusão em relação ao colágeno normal, de modo que a temperatura da água parece afetar a incidência de deformação óssea.

Peixes que receberam dietas com baixos níveis de vitamina C apresentaram altas taxas de deformação em ambientes com alta temperatura da água. Além disso, a inabilidade de lidar com o estresse metabólico, que requer um funcionamento normal da glândula adrenal, e a reduzida habilidade de metabolizar ácidos graxos pelo prejuízo da síntese de carnitina contribuem para os sintomas de escorbuto (Kaneko et al. 1997). Segundo Falcon et al. (2007), os sintomas de letargia e fadiga apresentados no início dos sintomas de deficiência desta vitamina podem ser devido à depleção da concentração de carnitina no músculo.

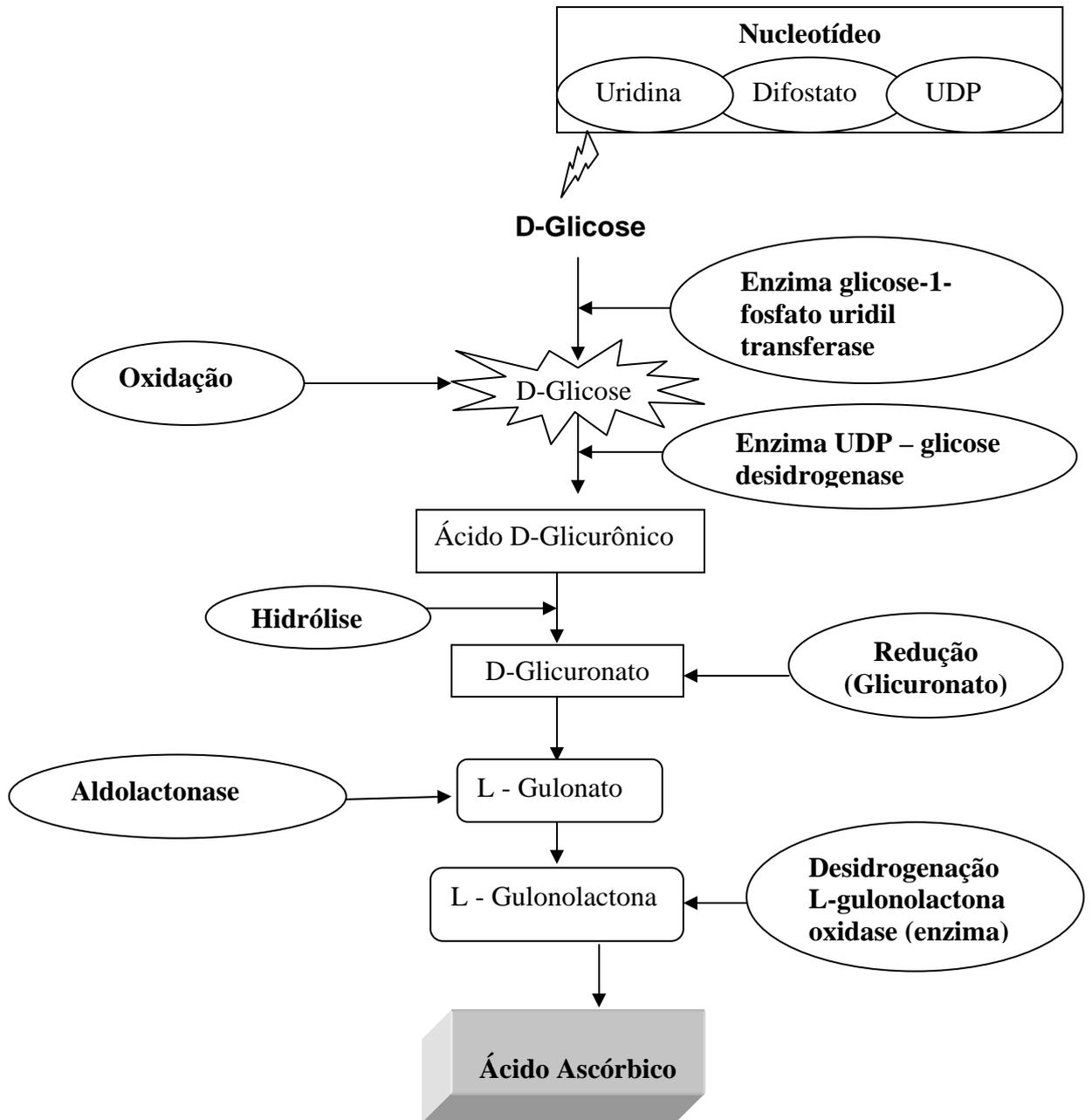


Figura 1. Biossíntese do ácido ascórbico - Lehninger et al. 2007.

Albert Szent-György postulou que o ácido ascórbico desempenha uma importante função nos mecanismos oxidativos em todas as espécies animais e vegetais. Tem sido recentemente reconhecido que os radicais livres ou as moléculas

que contém oxigênio e que são altamente reativas atuam diretamente no desenvolvimento de doenças.

O efeito positivo dos altos níveis de vitamina C nos embriões se estende por longos períodos de nutrição. Acredita-se que não há um mecanismo de conservação durante as fases iniciais de vida, onde 37% das reservas de ácido ascórbico são utilizadas durante o desenvolvimento embrionário, independentemente da concentração inicial nos ovos no momento da fertilização (Dabrowski et al. 1994).

As deficiências em vitaminas e micronutrientes normalmente atuam sinergicamente nas infecções. A vitamina C, em particular, é geralmente considerada como detentora de efeitos benéficos no tratamento das doenças e na resistência ao estresse, tanto em salmonídeos como no bagre-de-canal, quando alimentados com um nível que supra as necessidades básicas, geralmente entre 50 e 100 mg/kg de ração (Wedemeyer, 1997).

Em situações de estresse ou de saúde debilitada, os peixes ficam propensos às infecções bacterianas. Sua primeira defesa contra estes patógenos são as barreiras naturais, como a pele e o epitélio das membranas. Após a invasão do patógeno, ocorrem respostas do sistema imunológico, principalmente respostas não específica através da atividade dos leucócitos (células brancas do sangue), os quais possuem uma elevada atividade fagocítica, destruindo os organismos patogênicos (Fracalossi, 1998).

Atividade fagocítica das células do sistema imune nos peixes produz radicais livres reativos ao oxigênio, que possuem uma potente ação microbicida, mas, também, são tóxicos aos macrófagos, porém, a vitamina C evita danos a estas células e aos tecidos circunvizinhos. A vitamina C atua ainda, na conversão do ácido

fólico para folínico e pode minimizar a ação de radicais livres, evitando a desestabilização da membrana lipídica (Ai et al. 2006).

A deficiência de vitamina C pode causar anemia nos peixes, pela redução e redistribuição do íon ferro, com conseqüente diminuição da síntese de hemoglobina, e pela ocorrência de hemorragias (Adham et al. 2000). A absorção do ferro no intestino e sua redistribuição para os diferentes tecidos, incluindo a síntese de hemoglobina, é facilitada pela vitamina C.

Hilton et al. (1978) afirmaram que a concentração de vitamina C no fígado dos peixes é influenciada, diretamente, pela concentração na dieta. Neste estudo, os peixes alimentados com as dietas com elevadas concentrações de vitamina C apresentaram altas concentrações dessa vitamina nos tecidos, o que representa aumento da proteção contra estresse e infecções (Ai et al. 2006).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os peixes têm mostrado alta sensibilidade às dietas deficientes em ácido ascórbico, especialmente nos estágios iniciais de crescimento. Muitos sinais, como crescimento reduzido, deformidades esqueléticas (lordose, cifose e escoliose), anemia, demora ou diminuição da cicatrização de feridas, redução do desempenho reprodutivo e diminuição da eclodibilidade têm sido encontrados em muitas espécies de peixes que consomem dietas deficientes nessa vitamina. O estado nutricional do embrião, muito importante para o seu desenvolvimento após a fecundação, depende da transferência dos nutrientes dos reprodutores para os gametas, durante a vitelogenese, inclusive de ácido ascórbico. Da mesma forma tem sido demonstrado que o desempenho reprodutivo das fêmeas diminui quando são fornecidas dietas isentas ou com baixa suplementação de ácido ascórbico na ração. Dessa forma, fica evidente o envolvimento da vitamina C em várias funções biológicas que, além do

crescimento e reprodução, pode-se citar a resposta ao estresse, à resistência a doenças e à oxidação e metabolismo dos lipídeos.

A importância de suplementações adequadas para os peixes, que não são capazes de sintetizar esta vitamina, resultou no desenvolvimento de diferentes fontes de vitamina C, com vários níveis de bioatividade. O ácido ascórbico na sua forma pura é bastante instável, sendo facilmente destruído por temperaturas elevadas, luz, umidade, micro elementos e lipídeos oxidados. Estes fatores também contribuem para as perdas de ácido ascórbico da ração durante o processo de industrialização (peletização e extrusão) e posterior armazenamento. Existem outras formas de ácido ascórbico e a estabilidade das mesmas tem sido testada nas rações industrializadas para peixes. As formas estabilizadas (ácido 2-sulfato ascórbico, ácido 2-monofosfato ascórbico, ácido 2-difosfato ascórbico, ácido 2-trifosfato ascórbico) são mais resistentes ao processo de industrialização e armazenamento e, portanto, são incorporadas em menores quantidades na ração, diminuindo, assim, o seu custo. O ácido ascórbico polifosfatado tem se destacado como uma alternativa satisfatória nas rações para peixes, devido a sua alta biodisponibilidade, como, também, devido a sua estabilidade, baixa perda durante o processo de industrialização e armazenamento da ração e menor custo, quando comparado a outras formas protegidas.

BIBLIOGRAFIA

- Adham, K.G., Hashem, H.O., Abu-ShabanA, M.B. 2000. Vitamin C deficiency in the catfish *Clarias gariepinus*. *Aquaculture Nutrition*, 6: 129-139.
- Ai, Q., Mai, K., Tan, B. 2006. Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture*, 261: 327-336.

- Borghetti, N.R.B., Ostrensky, A., Borghetti, J.R. 2003. Aquicultura – Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo. Curitiba: Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais, 128p.
- Dabrowski, K., Matusiewicz, M., BloM, J. H. 1994. Hydrolysis, absorption and bioavailability of ascorbic acid esters in fish. *Aquaculture*, 124/1-4: 169-192.
- Devlin, T.M. 1998. **Manual de bioquímica com correlações químicas**. 4.Ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1007p.
- Diegues, A.C. 2006. Para uma aquicultura sustentável do Brasil. Núcleo de apoio á pesquisa sobre populações humanas e áreas úmidas brasileiras – USP, Art. N.3.
- Falcon, D.R., Barros, M.M., Pezzato, L.E., Valle, J.B. 2007. Lipídeo e vitamina C em dietas preparatórias de inverno para tilápias-do-nilo. *R. Bras. Zootec.*, 36/5:1462-1472, (supl.).
- Fitzsimmons, K. 2000. Tilapia: the most important aquaculture species of the 21st century. In: Internacional Symposium on Tilapia Aquaculture. v.1. p: 3-8. Proceedings. Rio de Janeiro.
- Fracalossi, D.M., Allen, M.E., Nichols, D.K., Oftedal, O.T. 1998. Oscars, *Astronotus ocellatus*, have a dietary requirement for vitamin C. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 128: 1745-1751.
- Freitas, R.R. 2006. Aquicultura aliada ao turismo como alternative de lazer e fonte de renda. *Caderno Virtual de Turismo*, 6/4: 1677 – 6976.
- Furuya, W.M., Botaro, D., Macedo, R.M.G. 2005. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34/5: 1433-1441.
- Gonçalves, G.S., Pezzato, L.E., Barros, M.M., Kleeman, G.K., Rocha, D.F. 2005. Efeitos da Suplementação de Fitase sobre a Disponibilidade Aparente de Mg, Ca,

Zn, Cu, Mn e Fe em Alimentos Vegetais para a Tilápia-do-Nilo. *R. Bras. Zootec.*, 34/6: 2155-2163. (supl.).

- Hilton, J.W., Cho, C.Y., Slinger, S.J. 1978. Effect of graded levels of supplemental ascorbic acid in practical diets of rainbow trout. *Journal of the Fisheries Research Board Canada*, 35: 431-436.

- Jory, D.E., Alceste, C., Cabrera, T.R. 2000. Mercado y comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norte América. *Panorama Acuicola*. 5/5: 50-53.

- Kaneko, J.J., Harvey, J. W., Brus, S.M.L. 1997. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.Ed. San Diego: Academic Press, 907p. Cap. 24: The vitamins.

- Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox, M.M. 2007. **Princípios da Bioquímica**. São Paulo. Editora Savier LTDA. 1232p.

- Lovell, R.T. 1998. **Nutrition and feeding of fish**. 2.Ed. Massachusetts: Academic Press. 267p.

- Masumoto, T., Hosokawa, H., Shimeno, S. 1991. Ascorbic acid's role in aquaculture nutrition. In: AQUACULTURE FEED PROCESSING AND NUTRITION WORKSHOP, 1991, Thailand and Indonesia. Proceedings. Singapore: American Soybean Association, Editado por D. M. Akiyama, R. K. H. Tan.

- McLaren, B.A., Keller, E., O'donnell, D.J., Elvehjem, C.A. 1947. The nutrition of rainbow trout: 1. studies of vitamin requirements. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 15: 169-178.

- Meurer, F., Hayashi, C., Barbero, L.M., Santos, L.D., Bombardelli, R.A., Colpini, L.M.S. 2008. Farelo de soja na alimentação de tilápias-do-nilo durante o período de reversão sexual. *R. Bras. Zootec.* 37/5: 791-4.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1993. **Nutrient Requirements of Fishes**. Washington DC: National Academy of Sciences.

- Navarre, O. and Halver, J.E. 1989. Disease resistance and humoral antibody production in rainbow trout fed high levels of vitamin C. *Aquaculture*, 79/1-4: 207-221.
- Navarro, R.D., Lanna, E.A.T., Donzele, J.L., Matta, S.L.P., Souza, M.A. 2007. Níveis de energia digestível da dieta sobre o desempenho de piauçu (*Leporinus macrocephalus*) em fase pós-larval. *Acta Sci. Anim. Sci.*, 29/1: 109-114.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M. 2000. **LEHNINGER: principles of biochemistry**. 3.Ed. New York: Worth Publishers, 1152 p.
- O'keefe, T. 2001. Ascorbic acid and stable ascorbate esters as sources of vitamin C in aquaculture feeds. 2001. Singapore: American Soybean Association – United Soybean Board, 8 p. (ASA Technical Bulletin Vol. AQ48-2001). Disponível em: <<http://www.asasea.com/technical/aq48-2001.html>>. Acesso em: 16 abr. 2009.
- Oliveira, N.M.S., Oliveira, W.R.M., Nascimento, L.C., Silva, J.M.S.F., Vicente, E., Fiorini, J.E., Bressan, M.C. 2008. Avaliação físico-química de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) submetidos à sanitização. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 28/1: 83-89.
- Phelps, R.P. and Popma, T.J. 2000. Sex reversal of tilapia In: COSTA– PIERCE, B.A.; RAKOCY, J.E (Eds.) **Tilapia aquaculture in the Americas**. Louisiana: World Aquaculture Society, 2:34-59.
- Proença, C.E.M. e Bittencourt, P.R.L. 1994. **Manual de piscicultura tropical. Brasília: IBAMA**, 195p.
- Skelbaek, T., Andersen, N.G., Winning, M., Westergaard, S. 1990. Stability in fish feed and bioavailability to rainbow trout of two ascorbic acid forms. *Aquaculture*, 84/3-4: 335-343.
- Sobhana, K.S., Mohan, C.V., Shankar, K.M. 2002. Effect of dietary vitamin C on the disease susceptibility and inflammatory response of mrigal, *Cirrhinus mrigala*

(Hamilton) to experimental infection of *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 207: 225-238.

- Stickney, R.R. Status of research on tilapia In: Costa–Pierce, B.A., Rakocy, J.E. (Eds.) 2000. **Tilapia aquaculture in the America**. Louisiana: World Aquaculture Society, 2: 21-33.

- Tacon, A.G.J. 1987. The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp – A training manual: 1. the essential nutrients. Brasília: FAO, 117 p. (Field Document, 2) TACON, A.G.J. Vitamin nutrition in shrimp and fish. In: AQUACULTURE FEED PROCESSING AND NUTRITION WORKSHOP, 1991, Thailand and Indonesia. Proceedings. Singapore: Americam Soybean Association, 1991. Editado por D. M. Akiyama e R. K. H. Tan.

- Turner, G.F. and Robinson, R.L. 2000. Reproductive biology, mating systems and parental care In: Beveridge, M.C.M. and Mcandrew, B.J. (Eds.) *Tilapias: biology and exploitation*. London: Kluwer Academic Publishers, 33-58.

- Vieira, V.P., Ribeiro, R.P., Moreira, H.L.M., Povh, J.A., Vargas, L., Barrero, N.M.L. 2005. Avaliação do desempenho produtivo de linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) Em Maringá-PR. *Rev. Acad.*, 3/3: 19-26.

- Wedemeyer, G.A. 1997. Effects of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture. In: Iwama, G.K.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P.; Schreck, C.B. *Fish stress and health in aquaculture.*, 35-72.

CAPÍTULO II

Influência da Densidade de Estocagem na Composição Química, no Colesterol e no Perfil de Ácidos Graxos em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857)

Artigo Publicado na Revista do Instituto Adolfo Lutz – Brasil – 2009.

Influência da Densidade de Estocagem na Composição Química, no Colesterol e no Perfil de Ácidos Graxos em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*

LINNAEUS, 1857)

Maria Emília da Silva MENEZES^{1*}; Edma Carvalho de MIRANDA¹; Denise Maria PINHEIRO¹; Felipe Tenório CINTRA²; Moaceli de Magalhães FREIRE²; Cyro Rego Cabral JÚNIOR³; Antônio Euzébio Goulart SANT'ANA¹

¹Universidade Federal de Alagoas - Instituto de Química e Biotecnologia - Campus A.C. Simões. Tabuleiro dos Martins. Cep: 57072-970 - Maceió-AL, Brasil. E-mail: memenezes_2@yahoo.com.br

²Alunos do Curso de Zootecnia - Universidade Federal de Alagoas - CECA - Tabuleiro dos Martins. Cep: 57072-970 - Maceió-AL, Brasil.

³Faculdade de Nutrição - UFAL - Campus A.C. Simões. Tabuleiro dos Martins. Cep: 57072-970 - Maceió-AL, Brasil.

*A quem a correspondência deve ser enviada.

RESUMO

Para avaliar a influência da densidade de estocagem na composição química, no valor calórico, no teor de colesterol e no perfil de ácidos graxos em Tilápias (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1875), foram utilizados 120 alevinos com peso inicial médio de 4,0 g, distribuídos em 20 aquários (70 L) em delineamento experimental inteiramente casualizado com 4 tratamentos, 50, 75, 100 e 125 peixes/m³ e 5 repetições. A ração fornecida continha 36% de proteína bruta e 3100 kcal/ED/kg de ração. Ao final do cultivo, encontrou-se diferença significativa ($p < 0,05$) na análise do peso médio final e no ganho de peso total entre as diferentes densidades populacionais testadas, sendo o maior peso encontrado para a densidade de 75 peixes/m³. Com relação à análise da composição corporal observou-se diferença ($p < 0,05$) entre as densidades para os teores de umidade; lipídeos totais; teor de proteína bruta, valor calórico e de colesterol. A relação poliinsaturados/saturados foi mais elevada na densidade de 100 peixes/m³ (11,76), já a densidade de 50 peixes/m³ apresentou um somatório de (6,85) para os teores de EPA+DHA. Na avaliação da qualidade nutricional dos lipídeos, as densidades estudadas mostraram os índices de n-6/n-3, hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos (HH), índice de aterogenicidade (IA) e índice de trombogenicidade (IT) favoráveis quanto ao consumo alimentar. Conclui-se que, a densidade de 50 peixes/m³ pode ser considerada uma boa fonte de ácidos graxos, principalmente o ácido ômega-3 e pelo seu valor em HH.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*, densidade de estocagem, composição química, colesterol, ácidos graxos

1. INTRODUÇÃO

A tilapicultura vem se mostrando uma ótima alternativa para a piscicultura de água doce e estuarina. A expansão do cultivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis*

niloticus Linneaus, 1875) deve-se ao ótimo desempenho, alta rusticidade, facilidade de obtenção de alevinos, adaptabilidade aos mais diversos sistemas de criação, grande aceitação no mercado de lazer (pesque-pague) e alimentício (frigoríficos) e pelas qualidades nutritivas e organolépticas do seu filé¹.

No desenvolvimento de um pacote de produção para uma espécie de peixe, o primeiro passo é a determinação da densidade de estocagem ideal, a qual visa determinar os níveis ótimos de produtividade por área². Jobling³ relata que a densidade de estocagem tem efeito na sobrevivência e no crescimento, sendo uma possível causa do fracasso na produção final de peixes. Normalmente, peixes criados em baixas densidades de estocagem apresentam boa taxa de crescimento e alta porcentagem de sobrevivência, porém a produção por área é baixa⁴, caracterizando baixo aproveitamento da área disponível. Por sua vez, peixes mantidos em altas densidades normalmente têm menor crescimento⁵, ficam estressados⁶ e estão sujeitos ao aparecimento de interações sociais que levam à produção de um lote de peixes com tamanho heterogêneo⁷.

Entre as espécies de peixes utilizadas na aquicultura, as tilápias, especialmente do gênero *Oreochromis*, são algumas das mais promissoras em países de clima tropical ou subtropical^{8,9}. Tilápias do gênero *Oreochromis*, em especial *Oreochromis niloticus*, têm sido consideradas importantes para as condições de cultivo no Brasil por sua rápida taxa de crescimento, pela adaptabilidade aos diversos sistemas de cultivo e pela alta aceitação no mercado consumidor^{10,11}.

O pescado é de extrema importância na dieta alimentar por sua riqueza de nutrientes, alto teor protéico, contendo uma composição de aminoácidos equilibrada, lipídeos de excelente qualidade e baixo teor de colesterol¹². O conhecimento da

composição química, no valor de colesterol e no perfil de ácidos graxos do filé da tilápia é necessário para que o seu consumo possa ser estimulado, possibilitando a competição com outras fontes protéicas largamente utilizadas como a de carne bovina, suína e de aves.

A natureza e proporção dos ácidos graxos na dieta também influenciam na concentração do colesterol sérico, sendo que os ácidos graxos saturados tendem a elevá-lo, enquanto os ácidos graxos poliinsaturados promovem sua diminuição¹³. As pesquisas nutricionais e epidemiológicas revelam que a proporção entre ácidos graxos poliinsaturados n-6 e n-3 na dieta é tão importante para as funções fisiológicas e prevenção de doenças quanto à proporção entre ácidos graxos saturados e insaturados¹⁴.

Em peixes de água doce, os ácidos graxos alfa-linolênico (LNA) e linoléico (LA) são precursores de outros ácidos das famílias ômega 3 e 6, respectivamente. Portanto, a composição em ácidos graxos da ração fornecida para uma determinada espécie de peixe determinará a composição em ácidos graxos dos lipídeos dos peixes. A constatação epidemiológica de que o consumo de peixes é capaz de reduzir riscos de doenças coronarianas torna a carne de pescado um alimento importante, não apenas como alternativa alimentar de alto valor nutritivo, mas ainda de consumo de um alimento funcional¹⁵.

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência de diferentes níveis de densidades de estocagem na composição centesimal, no valor calórico, no teor de colesterol e no perfil de ácidos graxos em alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Peixes

O presente experimento foi realizado nas instalações do Laboratório de Aqüicultura do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, no período de agosto a outubro de 2007. Foram utilizados 120 alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857), com peso inicial médio de 4,0 g. Foram avaliadas diferentes densidades de estocagem, utilizando-se um delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos: 50, 75, 100 e 125 peixes/m³ e 5 repetições.

O experimento foi conduzido em um conjunto de 20 aquários de polietileno com capacidade para 70 L, sendo que cada caixa foi considerado como unidade experimental. Os alevinos foram pesados em balança analítica e medidos ao início e ao término do experimento. Os aquários experimentais possuíam aeração contínua para promover a oxigenação da água, com uma troca diária de água de 10% do volume total.

Antes do início do experimento, os animais foram submetidos a um período de adaptação ao ambiente, ao manejo e à dieta experimental, por 15 dias. Os peixes foram alimentados até a saciedade aparente três vezes por dia (8:00h; 12:00h e 17:00h) “*ad libitum*”, por 90 dias, durante este período, os aquários foram limpos diariamente, para a retirada de fezes e sobra de ração. A qualidade da água foi acompanhada a cada semana, através das medidas de temperatura, do pH por potenciômetro digital, oxigênio dissolvido por meio de oxímetro digital, quantidade de amônia e nitrato por espectrofotômetro.

Ao final do período experimental foram capturados três peixes de cada aquário, sendo anestesiados com 50 mg/L de benzocaína¹⁶, pesados, medidos e abatidos. As seguintes características de desempenho foram estudadas: peso final (g); ganho de peso (%); conversão alimentar aparente (consumo de ração ÷ ganho em

biomassa); taxa de crescimento específico (%/dia); índice de massa de filé; rendimento de filé e rendimento de carcaça eviscerada.

2.2. Preparo da Ração

A ração foi balanceada para apresentar-se isoprotéica e isoenergética (36% de proteína bruta e 3100 kcal/ED/kg de ração), conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Composição percentual e química da dieta experimental

Ingredientes	Quantidade em (g)
Farelo de soja	1.725,00
Farinha de peixe	155,00
Farelo de trigo	60,00
Quirera de arroz	822,00
L-lisina	21,00
DL- metionina	13,50
CrO ₃	3,00
Treonina	12,00
Óleo de soja	15,00
Fosfato bicálcico	90,00
Calcário	55,50
Vitamina C	2,40
Sal comum	3,00
Premix vitamínico	3,00
Premix mineral	9,00
BHT (antioxidante)	0,6

Tabela 2. Composição bromatológica da ração experimental

Composição Centesimal (g/100g de porção)*	Ração Basal Experimental
Umidade	7,0 ± 0,28
Lipídeos totais	0,7 ± 0
Proteína bruta	32,4 ± 0,14
Cinzas	22,5 ± 3,11
Fibra bruta	7,4 ± 1,0
Carboidratos	30,0 ± 2,3
Calorias (kcal)	255,8 ± 9,76

*Analisadas em triplicata, com a média e o desvio-padrão.

2.3. Análises Químicas

Após homogeneização, realizaram-se as seguintes determinações em triplicata: Umidade: determinada pela perda de peso em estufa regulada a 105°C, segundo AOAC¹⁷. Cinzas: obtidas por incineração de uma quantidade conhecida da amostra, em mufla a 550°C, até obtenção de peso constante AOAC¹⁷. Proteínas: determinadas pelo método Kjeldhal, que consiste na determinação do nitrogênio

total. Para converter o resultado em proteína bruta foi utilizado o fator 6,25 AOAC¹⁷. Os carboidratos foram determinados por diferença. O valor calórico foi estimado através dos fatores de conversão de Atwater: 4 kcal.g⁻¹ para proteínas, 4 kcal.g⁻¹ para carboidratos e 9 kcal.g⁻¹ para lipídeos¹⁸. Lipídeos totais: extraídos a frio pelo método de Folch et al.¹⁹ utilizando 2 extrações com clorofórmio:metanol (2:1), lavagem do resíduo (clorofórmio:metanol – 2:1), adição de KCl 0,88% em H₂O, separação das fases, adição de metanol: H₂O (1:1), evaporação de clorofórmio em rota-evaporador, fração lipídica ressuspensa em clorofórmio. Alíquotas foram tomadas para determinações gravimétricas.

Para a determinação de colesterol uma alíquota de 2,5 ml do extrato lipídico obtido pelo método de Folch foi tomada para análise, segundo o procedimento de Bohch et al.²⁰, através de saponificação, extração da matéria insaponificável, reação de cor, leitura da absorbância em espectrofotômetro a 490 nm, contra um branco. A curva de calibração para colesterol foi elaborada segundo Searcy e Bergquist²¹, utilizando-se 0,06 g de colesterol (Sigma P. A., St. Louis, MO) diluído em 100 mL da solução acetona/etanol (1:1) (50 mL de acetona P. A. e 50mL de etanol). De acordo com a curva padrão obteve-se a equação $\hat{y} = 1,1608x$; $R^2 = 0,9948$, passando pela origem e cobriu a faixa de concentração das amostras.

O perfil de ácidos graxos foi determinado inicialmente com a extração lipídica feita através do método Folch et al.¹⁹. Os lipídeos totais foram esterificados segundo Hartman e Lago²². Os ésteres metílicos foram analisados no Laboratório de Produtos Naturais do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, utilizando-se um cromatógrafo a gás Shimadzu, modelo GC-17A, equipado com uma coluna capilar DB-5, série us 1352151h, com 30 m de comprimento, 0,25 µm de espessura e 0,25 mm de diâmetro interno. Foi utilizado

Hélio (He) como gás de arraste a um fluxo de 1 mL.min⁻¹ e pressão de 50 kPa. A temperatura inicial foi de 50°C que permaneceu constante durante 2 min, em seguida sofreu um aumento de temperatura até atingir 250°C a uma velocidade de 4°Cmin⁻¹ permanecendo constante durante 15 min. O tempo total de análise foi de 60min. As temperaturas do injetor e da interface foram mantidas a 250°C e 310°C respectivamente. O modo de controle de injeção foi o Split, com razão de 30:1. Foram obtidos os espectros de massas por impacto eletrônico (IE) a 70 eV. Para a identificação dos ácidos graxos foram utilizados padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos puros, comparando-se o tempo de retenção dos ésteres metílicos das amostras e dos padrões. A quantificação dos ácidos graxos foi feita por normalização de área.

A qualidade nutricional da fração lipídica foi avaliada por três índices a partir dos dados de composição em ácidos graxos, através dos seguintes cálculos: Índice de Aterogenicidade (IA) = [(C12:0 + (4 X C14:0) + C16:0)]/(ΣAGMI + Σn6 + Σn3); Índice de Trombogenicidade (IT) = (C14:0 + C16:0 + C18:0)/[(0,5 X Σ AGMI) + (0,5 X Σn6 + (3 X Σn3) + (Σn3/Σn6)], segundo Ulbricht e Southgate²³; e razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) = (C18:1n9 + C18:2n6 + C20:4n6 + C18:3n6 + C20:5n3 + C22:5n3 + C22:6n3)/(C14:0 + C16:0), segundo Santos-Silva et al. ²⁴. Em que: AGMI = todos os ácidos monoinsaturados.

2.4. Análise Estatística

Foram observadas as pressuposições paramétricas de normalidade (teste de Lilliefors) e homogeneidade das variâncias dos resíduos (teste de Levene), ambos com p>0,05. Assim, realizou-se análise de variância para verificar a existência ou não de diferença significativa. Para a comparação múltipla entre as médias dos

tratamentos utilizou-se o teste *Post-hoc* de Tukey-HSD. Adotou-se como nível de significância valores menores que 5% de probabilidade para o erro experimental.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental a qualidade da água permaneceu estável sendo que os valores médios dos parâmetros físico-químicos apresentados na Tabela 3, encontram-se dentro dos recomendados para o cultivo da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857), de acordo Kubitza²⁵.

Tabela 3. Valores médios dos parâmetros de qualidade da água, durante o período experimental de 90 dias (amostragens a cada sete dias), da criação de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857).

Parâmetros Ambientais Monitorados	Média *
Potencial hidrogeniônico (pH)	7,2 ± 0,2
Temperatura (°C)	26,6 ± 1,1
Nitrato (N-NO ₃) (mg/L)	0,05 ± 0,008
Oxigênio dissolvido (mg/L)	6,7 ± 0,5
Amônia total (NH ₃ + NH ₄ ⁺) (mg/L)	0,004 ± 0,0003

*Analisadas em triplicada, com a média e o desvio-padrão.

Os resultados apresentados na Tabela 4 demonstram que ao final do cultivo, houve diferença significativa na análise do peso médio final nas diferentes densidades populacionais testadas, levando a diferença significativa no ganho de peso total, observa-se que os maiores valores obtidos para o ganho de peso foi quando a densidade de estocagem foi de 75 peixes/m³. Resultados contrários foram obtidos por Silva et al.²⁶ para desempenho produtivo da tilápia em diferentes densidades (90, 120 e 150 peixes/m³) e trocas de água em “raceway” com variação de 419,41 a 497,03. Os resultados obtidos no experimento mostram que a limitação de espaço imposta a tilápia implicou na diminuição do ganho de peso com o aumento da densidade de estocagem.

A pior conversão alimentar aparente ($p < 0,05$) foi encontrada para os animais criados na mais alta densidade (3,53), sendo que para as outras densidades não houve diferenças ($p < 0,05$), valores semelhantes foram às outras densidades estudadas foram detectados por Sampaio e Braga²⁷ (1,54 e 1,53) para densidades de 150 e 200 peixes/m³ respectivamente, na fase de engorda de tilápia em tanque-rede.

Tabela 4. Parâmetros zootécnicos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) em diferentes densidades de estocagem

Parâmetros	Densidades de Estocagem (peixes/ m ³)				CV (%)
	50	75	100	125	
Peso final (g)	22,75 ^a	46,90 ^b	33,08 ^c	12,35 ^d	18,19
Ganho de peso (%)	17,91 ^a	41,98 ^b	28,72 ^c	9,10 ^d	21,39
Conversão alimentar aparente	1,59 ^a	1,31 ^a	1,51 ^a	3,53 ^b	31,76
Taxa de crescimento específico (%pv/dia)	1,72 ^a	2,49 ^b	2,23 ^b	1,45 ^a	10,01
Índice de massa de filé	7,66 ^a	15,2 ^b	8,2 ^a	2,66 ^c	16,31
Rendimento de filé	33,70 ^a	32,56 ^a	24,77 ^b	21,58 ^a	6,12
Rendimento de carcaça eviscerada	92,35 ^{ab}	96,67 ^c	94,72 ^{bc}	90,54 ^a	2,45

Valores na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste *Post-hoc* de Tukey-HSD.

Para a taxa de crescimento, os resultados demonstram que houve diferença ($p < 0,05$), onde os melhores valores foram aqueles para as densidades de criação entre 50 e 75 peixes/m³, cujos valores foram maiores do que aqueles encontrados para a maior e menor densidade (1,72 e 1,42 respectivamente).

O rendimento de filé da tilápia depende de fatores diversos, entre eles: condição corporal e tamanho do peixe, método de filetagem e habilidade técnica do filetador (Kubitza, 2000)²⁵. Na literatura são encontrados rendimentos de filé sem pele de tilápia do Nilo variando de 25,4 a 42%²⁷. Neste estudo, a maior média para rendimento de filé foi encontrada na densidade de 50 peixes/m³.

Os teores de umidade, lipídeos totais, cinzas, proteína bruta, carboidratos e valor calórico dos filés nas diferentes densidades, estão apresentados na Tabela 5. Nesta, observa-se diferença ($p < 0,05$) para a composição corporal dos animais criado nas diferentes densidades.

Para os teores de umidade, apenas os animais criados na mais alta densidade (125 peixes/m³) apresentou a menor taxa ($p < 0,05$) de umidade (68,33%). Os resultados encontrados para a umidade são semelhantes àqueles relatados por Ogawa e Maia²⁸, quando descrevem que o músculo do pescado contém teores de umidade variando de 60 a 85%. Leonhardt et al.²⁹ apresentaram a composição do filé de duas espécies (tilápia vermelha e tilápia do Nilo) demonstrando valores de 79,20 e 78,43%.

Tabela 5. Composição centesimal e valor calórico do filé de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) em diferentes densidades de estocagem

Composição Centesimal (g/100g de porção comestível)*	Densidades de Estocagem				CV (%)
	50 (Peixes/m ³)	75 (Peixes/m ³)	100 (Peixes/m ³)	125 (Peixes/m ³)	
Umidade	74,00 ± 0,8 ^a	73,66 ± 0,8 ^a	73,00 ± 0,9 ^a	68,33 ± 0,6 ^b	0,89
Proteína bruta (BU)	20,00 ± 0,2	21,33 ± 0,3	22,33 ± 0,5	25,33 ± 0,3	2,25
Proteína bruta (BS)	76,66 ± 2,7 ^a	81,33 ± 1,4 ^{ab}	83,00 ± 1,5 ^b	80,00 ± 0,7 ^{ab}	2,47
Lipídeos totais (BU)	1,00 ± 0,1	1,00 ± 0,1	2,00 ± 0,2	3,00 ± 0,2	0,0
Lipídeos totais (BS)	3,00 ± 0,2 ^a	5,00 ± 0,3 ^b	7,00 ± 0,3 ^c	8,66 ± 0,3 ^d	4,88
Carboidratos (BU)	3,66 ± 0,5	1,66 ± 0,2	1,00 ± 0,4	1,33 ± 0,5	26,09
Carboidratos (BS)	15,66 ± 1,5 ^a	5,66 ± 0,6 ^b	3,66 ± 1,3 ^b	5,00 ± 1,4 ^b	16,33
Cinzas (BU)	1,00 ± 0,2	2,00 ± 0,2	1,66 ± 0,2	2,00 ± 0,2	17,32
Cinzas (BS)	4,66 ± 0,5 ^a	7,00 ± 0,8 ^b	6,00 ± 0,6 ^{ab}	7,00 ± 0,4 ^b	12,39
Valor calórico (kcal)	101,66 ± 3,0 ^a	102,33 ± 1,4 ^a	111,00 ± 3,4 ^b	132,00 ± 2,7 ^c	1,93

*Analisadas 36 amostras com 3 repetições por densidades, com a média e o desvio-padrão. Valores na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste *Post-hoc* de Tukey-HSD. BU = Base úmida; BS = Base seca e CV = Coeficiente de Variação.

No que diz respeito aos teores de proteína bruta houve diferença ($p < 0,05$) entre as densidades, destacando-se a densidade de 125 peixes/m³. Leonhardt et al.²⁹ encontraram teores variando de 18,47 a 19,33%. Segundo Kirk e Sawyer³⁰, quando o método de Kjeldhal é empregado, a composição centesimal total pode ultrapassar

os 100%, devido a multiplicação do nitrogênio por 6,25, o que foi observado no presente trabalho.

Com relação aos lipídeos totais (BU) houve uma variação de 1 a 3%, observa-se que à medida que a densidade aumentou esta variável também foi incrementada, demonstrando que uma maior população de animais leva a um aumento na quantidade de gordura corpórea. Porém segundo Penfield e Campbell³¹, os peixes deste presente trabalho podem ser classificados quanto ao teor de gordura em magros (abaixo de 5% de gordura). Omena et al.³² estudando níveis diferentes de farelo de coco em tilápias detectaram uma variação de 1,15 a 1,81%.

No que diz respeito às cinzas, as densidades de 75 e 125 peixes/m³ apresentaram o maior percentual (2,0%), em base úmida, havendo similaridade estatística ($p < 0,05$) em base seca para as duas espécies. As amostras estiveram dentro da faixa de 1,0 a 2,0% referidas na literatura^{33,34}. Minozzo³⁵ ao estudar a composição centesimal de tilápia do Nilo observou variações nos teores de cinzas de 0,7 a 3,1%.

O maior valor calórico foi encontrado na densidade de 125 peixes/m³ (132 kcal) e o menor na densidade de 50 peixes/m³ (101,66kcal).

Esses resultados permitiram classificar os filés por densidades estudadas na categoria D (gordura < 5,0%; proteína > 20,0%)³⁶. Portanto, sob o ponto de vista nutricional, o valor desses filés é excepcional, visto que podem ser utilizados na elaboração de dietas para pacientes obesos, diabéticos e que apresentem doenças crônicas, como câncer e problemas cardiovasculares, além de serem eficazes cardioprotetores, têm apresentado bons resultados no tratamento de pessoas com distúrbios depressivos e psíquicos.

Os resultados obtidos referentes ao teor de colesterol em base úmida para os filés nas diferentes densidades de estocagem estão apresentados da Tabela 6. Observa-se diferença ($p < 0,05$) entre as densidades. A densidade de 50 peixes/m³ apresentou o menor teor de colesterol (41,33 mg/100g) e o maior nível foi detectado na densidade de 125 peixes/m³ (79,33 mg/100g). Os resultados encontrados são superiores àqueles relatados por Ferreira et al.³⁷ que encontrou o teor de colesterol de 33 mg/100g para o filé de tilápia do Nilo *in natura* criada em tanque de terra e alimentada com ração comercial. Omena et al.³² detectou teores superiores com variação de 91,06 a 162 mg/100g para filé de tilápia do Nilo alimentadas com rações contendo diferentes níveis de farelo de coco. Apesar do acréscimo do colesterol com o aumento da densidade de estocagem, os teores de colesterol para ambas as densidades estudadas estão abaixo do limite recomendado pela literatura que é de 300 mg/dia para dieta humana.

Tabela 6. Teores de colesterol em filé de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) em diferentes densidades de estocagem

Densidades de Estocagem	Teores (mg/100g)*
50 peixes/m ³ (BU)	41,33 ± 3,5
50 peixes/m ³ (BS)	160,20 ± 17,2 ^a
75 peixes/m ³ (BU)	55,33 ± 3,5
75 peixes/m ³ (BS)	211,64 ± 15 ^b
100 peixes/m ³ (BU)	69,00 ± 3,5
100 peixes/m ³ (BS)	251,3 ± 5,1 ^c
125 peixes/m ³ (BU)	79,33 ± 3,5
125 peixes/m ³ (BS)	250,83 ± 9,5 ^d

*Analisadas 36 amostras com 3 repetições por densidades, com a média e o desvio-padrão. Valores na mesma coluna com letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste *Post-hoc* de Tukey-HSD. BU= Base úmida; BS= Base seca.

A Tabela 7 apresenta o perfil de ácidos graxos encontrados nas diferentes densidades de estocagem. Dentre os ácidos graxos saturados (AGS) houve predominância do ácido graxo esteárico (C18:0), em relação aos demais AGS. Luzia et al.³⁸ observando a influência do verão e inverno, verificaram para tilápia no verão

e no inverno teores de 14,1% e 13,1% respectivamente. Omena et al.³² detectaram valores inferiores a este estudo em tilápias alimentadas com diferentes níveis de farelo de coco. Denke e Grund³⁹ mostraram que a gordura rica em ácido esteárico não eleva os níveis de colesterol total em comparação com a dieta rica em ácido oléico.

Tabela 7. Perfil dos ácidos graxos presentes nos filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) em diferentes densidades de estocagem, valores expressos em percentagem de área relativa

Teores (% por área) – Densidades de Estocagem*				
Tipos de Ácidos Graxos	50	75	100	125
A. Saturados				
C12:0	0,54 ± 0,04 ^a	0,97 ± 0,86 ^a	0,78 ± 0,13 ^a	0,40 ± 0,18 ^a
C14:0	2,04 ± 0,35 ^a	0,46 ± 0,26 ^b	0,87 ± 0,13 ^b	1,09 ± 0,06 ^b
C15:0	0,99 ± 0,12 ^a	0,38 ± 0,21 ^b	0,32 ± 0,06 ^b	0,62 ± 0,06 ^a
C16:0	2,31 ± 1,56 ^a	1,50 ± 1,25 ^a	1,63 ± 0,14 ^a	2,04 ± 0,05 ^a
C17:0	0,19 ± 0,08 ^a	1,13 ± 0,45 ^a	1,35 ± 0,09 ^a	0,85 ± 0,98 ^a
C18:0	14,66 ± 0,16 ^a	10,22 ± 1,24 ^a	0,36 ± 0,11 ^a	16,28 ± 1,13 ^a
C20:0	0,52 ± 0,04 ^a	1,76 ± 0,95 ^a	1,10 ± 0,18 ^a	0,62 ± 0,06 ^a
Total	21,25	15,18	6,41	21,9
B. Monoinsaturados				
C14:1 n-7	0,45 ± 0,1 ^a	1,86 ± 0,22 ^b	2,01 ± 0,47 ^b	0,28 ± 0,11 ^a
C16:1 n-7	24,76 ± 6,16 ^a	27,71 ± 0,47 ^a	3,44 ± 0,49 ^b	20,91 ± 1,84 ^a
C17:1 n-7	0,48 ± 0,08 ^a	0,27 ± 0,02 ^a	1,08 ± 0,17 ^b	0,43 ± 0,08 ^a
C18:1 n-9	21,62 ± 0,13 ^a	16,98 ± 3,69 ^a	13,45 ± 1,03 ^a	19,60 ± 0,45 ^a
C20:1 n-9	5,59 ± 0,04 ^a	2,31 ± 2,27 ^a	0,45 ± 0,11 ^b	6,39 ± 0,08 ^a
Total	52,9	48,58	20,43	47,61
C. Poliinsaturados				
C16:2 n-7	1,24 ± 0,04 ^a	21,65 ± 0,74 ^b	27,93 ± 0,12 ^c	21,13 ± 0,3 ^b
C18:2 n-6	5,44 ± 0,08 ^a	17,04 ± 2,69 ^b	22,81 ± 1,92 ^b	5,71 ± 0,47 ^a
C18:3 n-3	5,86 ± 0,65 ^a	6,54 ± 2,08 ^a	6,45 ± 1,22 ^a	7,09 ± 0,42 ^a
C18:4 n-3	0,87 ± 0,24 ^a	8,10 ± 0,47 ^b	5,19 ± 1,92 ^b	1,11 ± 0,02 ^a
C20:2 n-6	0,90 ± 0,04 ^a	6,13 ± 0,56 ^b	5,57 ± 0,76 ^b	0,75 ± 0,04 ^a
C20:3 n-3	2,21 ± 0,36 ^a	0,95 ± 0,19 ^b	0,69 ± 0,16 ^b	2,02 ± 0,05 ^a
C20:4 n-6	0,38 ± 0,13 ^a	1,96 ± 0,32 ^a	1,14 ± 0,06 ^b	0,27 ± 0,03 ^a
C20:5 EPA n-3	0,87 ± 0,04 ^a	0,70 ± 0,19 ^a	0,63 ± 0,11 ^a	0,89 ± 0,03 ^a
C22:5 n-3	1,23 ± 0,21 ^a	0,89 ± 0,05 ^a	1,01 ± 0,02 ^a	0,83 ± 0,08 ^a
C22:6 n-3 DHA	5,98 ± 0,76 ^a	4,32 ± 0,47 ^a	3,97 ± 1,09 ^a	5,47 ± 0,04 ^a
Total	24,98	68,28	75,39	25,27
I/S	3,66	7,7	14,95	3,33
M/S	2,49	3,2	3,19	2,17
P/S	1,18	4,5	11,76	1,15
Razão n-6/n-3	1,22	2,12	3,13	1,34
Somatório de EPA + DHA	6,85	5,02	4,60	6,36
Rel. Hiper/Hipo*****	0,06	0,03	0,03	0,05

*Analisadas 36 amostras em duplicata por densidade, com a média e o desvio-padrão.

Valores na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste *Post-hoc* de Tukey-HSD. I/S = Insaturados/Saturados M/S = Monoinsaturados/Saturados P/S = Poliinsaturados/Saturados

Rel. Hiper/Hipo***** = Relação ácido graxo hipercolesterolêmico / hipocolesterolêmico = ácido graxo hipercolesterolêmico (C14:0 + C12:0 + C16:0) / ácido graxo hipocolesterolêmico (monoinsaturado + poliinsaturados).

O ácido graxo palmítico (C16:0) foi detectado em baixa concentração não havendo diferença ($p < 0,05$) entre as densidades. Teores mais elevados deste ácido foram encontrados por Nova et al.⁴⁰ para a tilápia (22,0%), Menezes et al.⁴¹ em espécies de peixes da Lagoa Mundaú (tainha 12,97% e camurim 14,38%) e por Omena et al.³² com uma variação de 18,76 a 20,59% em tilápias alimentadas com rações contendo diferentes níveis de farelo de coco. Acredita-se que esse ácido graxo seja um dos principais responsáveis pelo aumento do colesterol sérico⁴², visto que a concentração deste esteróide dobra quando o consumo de ácidos graxos saturados é maior que o de ácidos graxos poliinsaturados⁴³. Isto evidencia, portanto, que os peixes deste estudo apresentaram vantagens em relação às espécies de água doce mencionadas.

Os ácidos graxos láurico (C12:0) e o mirístico (C14:0) foram detectados em pequenas concentrações em ambas as densidades estudadas demonstrando um fator positivo destes filés pois, tal ácido graxo promove hipercolesterolemia⁴⁴. Teores elevados foram observados por Menezes et al.⁴¹ e por Omena et al.³².

Os ácidos graxos monoinsaturados foram mais abundantes na menor densidade (52,9), particularmente o palmitoléico e oléico na densidade de 75 peixes/m³, sendo esse último considerado importante sob o ponto de vista nutricional devido aos seus efeitos benéficos citados na revisão de Lira et al.⁴². Omena et al.³² detectaram valores inferiores em tilápias alimentadas com rações contendo diferentes níveis de farelo de coco. Os ácidos graxos monoinsaturados têm efeito hipocolesterolêmico intermediário⁴⁵.

Quanto aos ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), os níveis de ácido α -linolênico (C18:3 n-3) detectados em ambas as densidades foram mais elevados que os encontrados por Omena et al.³² em tilápias alimentadas com rações

contendo diferentes níveis de farelo de coco. O (C18:3 n-3) é importante na modulação do metabolismo do ácido araquidônico (C20:4 n-6), com conseqüente redução da agregação plaquetária⁴⁶.

Levando em consideração os benefícios conhecidos à saúde humana atribuída à ingestão de eicosapentaenóico (20:5n-3, EPA) e o DHA, determinou-se a soma desses dois ácidos visando uma avaliação da qualidade nutricional das espécies estudadas. SU et al.⁴⁷, relataram que os ácidos graxos poliinsaturados da família ômega-3 (EPA e DHA), além de serem eficazes na prevenção de doenças coronarianas, tem apresentado bons resultados no tratamento de pessoas com distúrbios depressivos e psíquicos. O somatório de EPA e DHA encontrado para as densidades estudadas foram na faixa de 4,06% a 6,85% com destaque para a densidade de 50 peixes/m³. Valor superior foi detectado por Menezes et al.⁴¹ em tainha da Lagoa Mundaú (10,47).

A qualidade nutricional do perfil lipídico avaliada por diferentes índices encontra-se descrita na Tabela 8.

Tabela 8. Índices de qualidade nutricional da fração lipídica nos filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) em diferentes densidades de estocagem

Densidades de Estocagem	P/S	n-6/n-3	HH	IA	IT
50 peixes/m ³	1,18	1,22	9,51	0,15	0,30
75 peixes/m ³	4,50	2,12	24,71	0,04	0,14
100 peixes/m ³	11,76	3,13	19,78	0,09	0,05
125 peixes/m ³	1,15	1,34	12,73	0,10	0,31

P/S = Poliinsaturados/Saturados; n-6/n-3 = \sum da série Ômega 6/ \sum a série Ômega 3; HH = \sum hipocolesterolêmicos/ \sum hipercolesterolêmicos; IA = índice de aterogenicidade e IT = índice de trombogenicidade¹².

Alimentos que apresentam a razão de ácidos graxos poliinsaturados e saturados (P/S) abaixo de 0,45 têm sido considerados como indesejáveis à dieta

pelo Department of Health and Social Security⁴⁸, por sua potencialidade na indução do aumento de colesterol sanguíneo. Nas densidades estudadas esta razão variou de 1,15 na densidade de 125 peixes/m³ e 11,76 na densidade de 100 peixes/m³. Menezes et al.⁴¹ detectaram valores inferiores em peixes de água salgada, no entanto, o índice P/S avaliado isoladamente tem recebido restrições, uma vez que não considera os efeitos metabólicos dos ácidos graxos monoinsaturados⁴⁶.

Considerando a razão n-6/n-3, valores abaixo de 4,0 sugerem quantidades desejáveis à dieta para a prevenção de riscos cardiovasculares⁴⁸. A relação n-6/n-3 encontrado nesta pesquisa ficou acima do preconizado pela literatura, os resultados encontrados promovem as densidades estudadas à categoria de potencialmente saudáveis destacando-se a de 100 peixes/m³. A razão n-6/n-3 observada no presente estudo é inferior a de outras espécies de água doce relatadas por Moreira et al.⁴⁹ variação de 1,14 a 8,79. Menezes et al.⁴¹ encontraram em peixes de água salgada uma variação de 0,43 e 0,66.

O cálculo da razão \sum ácidos graxos hipocolesterolêmicos / \sum ácidos graxos hipercolesterolêmicos, índice (HH) relacionado mais especificamente com o metabolismo do colesterol, resultou em valores elevados destacando-se 24,71 na densidade de 75 peixes/m³. Testi et al.⁵⁰ encontraram valores entre 2,03 a 2,46 pra peixes de água doce ou salgada. Menezes et al.⁴¹ detectaram valores inferiores para peixes de água salgada. Valores altos para essa relação são desejáveis sob o ponto vista nutricional⁴⁹.

O índice de aterogenicidade (IA), que relaciona os ácidos pró e antiaterogênicos foi encontrado em baixa concentração em ambas as densidades. Valores maiores foram descritos por Ramos et al.⁵¹ para quatro espécies de água

doce variando de 0,49 no pintado e 0,86 para o pacu. Em contraste à relação HH, valores mais baixos para IA são desejáveis.

Dentre as considerações para avaliação da qualidade dietética de alimentos é incluída a razão n-6/n-3 menor que 10^{49} . Ambas as densidades possuem conteúdo recomendado para a razão n-6/n-3.

4. CONCLUSÕES

Tendo como base os resultados obtidos, nas condições em que os experimentos foram realizados, pode-se concluir que: O aumento da densidade de estocagem influenciou no crescimento dos peixes, sendo que o número de 50 peixes/m³ proporcionou maior valor de rendimento de filé. A densidade de 125 peixes/m³ apresentou teores mais elevados de proteínas, lipídeos totais, cinzas, calorias e quando comparada a outras densidades. Os teores de colesterol para ambas as densidades estão abaixo do limite recomendado de 300 mg/dia para dieta humana. Os principais ácidos graxos encontrados em destaque foram: saturados (palmítico e esteárico) na densidade de 50 peixes/m³, monoinsaturados (palmitoléico) na densidade de 75 peixes/m³ e (oléico) na menor densidade. Já em relação aos ácidos graxos poliinsaturados da família n-6 (linoléico) na densidade de 100 peixes/m³ e n-3 (α -linolênico) e (EPA) na densidade de 125 peixes/m³ e (DHA) na menor densidade de estocagem. Os filés apresentam-se como fonte de ácidos graxos hipocolesterolêmicos e a razão encontrada entre os ácidos graxos n-6:n-3 estão dentro dos padrões recomendados. Os dados contidos neste estudo são muito importantes no ponto de vista nutricional e econômico e poderão contribuir para difundir o consumo de tilápia para adultos, gestantes e crianças devido ao seu valor biológico e a presença de EPA e DHA. Esperamos que estes resultados contribuam

para bancos de dados que auxiliarão na melhor estimativa de consumo de nutrientes em inquéritos dietéticos.

Influence of stocking density on the chemical composition in cholesterol and fatty acids profile in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857)

ABSTRACT

To assess the influence of stocking density on the chemical composition, the calorific value, the content of cholesterol and fatty acids profile in tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1875) were used 120 fingerlings with average initial weight of 4.0 g, distributed in 20 aquaria (70 L) in a completely randomized design with 4 treatments, 50, 75, 100 and 125 fish/m³ and 5 replicates. The ration supplied contained 36% crude protein and 3100 kcal/ED/kg ration. At the end of cultivation, there was significant difference ($p < 0.05$) in the analysis of the final weight and total weight gain between the different densities tested, the largest weight found for the density of 75 fish/m³. Regarding the analysis of body composition was observed difference ($p < 0.05$) between the densities for the content of moisture, total lipids, crude protein, calorie and cholesterol. The polyunsaturated/saturated density was highest in the 100 fish/m³ (11.76), since the density of 50 fish/m³ presented a sum of (6.85) for the content of EPA+DHA. In assessing the nutritional quality of lipids, the density showed the rates of n-6/n-3, hypocholesterolemic / hypercholesterolemic (HH) index of atherogenicity (IA) and index of thrombogenicity (IT) as favorable for consumption. It is concluded that the density of 50 fish/m³ may be a good source of fatty acids, particularly omega-3 acid and its value in HH.

Keywords: *Oreochromis niloticus*, storage density, chemical composition, cholesterol, fatty acids

5. AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e a Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (Codevasf) pela doação dos peixes.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Meurer F, Hayashi C, Boscolo WR. Influência do Processamento da Ração no Desempenho e Sobrevivência da Tilápia do Nilo Durante a Reversão Sexual. R. Bras. Zootec. 2003; (32/2): 262-267.
2. Brandão FR, Gomes LC, Chagas EC, Araújo LD. Densidade de estocagem de juvenis de tambaqui durante a recria em tanques-rede. Pesq. Agropec. Bras. 2004; (39/4): 357-362.
3. Jobling M. Fish Bioenergetics. London: Chapman and Hall, 1994. 294p.
4. Gomes LC, Baldisserotto B, Senhorini JA. Effect of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. Aquaculture 2000; (183): 73-81.
5. El-Sayed A. Effects of stocking density and feeding levels on growth and feed efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry. Aquaculture Research 2002; (33): 621-626.
6. Iguchi K, Ogawa K, Nagae M, Ito F. The influence of rearing density on stress response and disease susceptibility of ayu (*Plecoglossus altivelis*). Aquaculture 2003; (202): 515-523.
7. Cavero BAS, Pereira-Filho M, Roubach R, Ituassú DR, Gandra AL, Crescêncio R. Efeito da densidade de estocagem na homogeneidade do crescimento de juvenis de pirarucu em ambiente confinado. Pesquisa Agropecuária Brasileira 2003; (38): 103-107.
8. Campos-Ramos R, Harvey SC, McAndrew BJ. An investigation of sex determination in the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*, using synaptonemal complex analysis, fish, sex reversal and gynogenesis. Aquaculture 2003; (221):125-140.

9. Desprez D, Géraz E, Hoareau MC *et al.* Production of a high percentage of male offspring with a natural androgen, 11b-hydroxyandrostenedione (11bOHA4), in Florida red tilapia. *Aquaculture* 2003; (216): 55-65.
10. Meurer F, Hayashi C, Boscolo WR *et al.* Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *Revista Brasileira de Zootecnia* 2002; (31/2): 566-573.
11. Boscolo WR, Hayashi C, Soares CM. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases iniciais e de crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2001; (30/5): 1391-1396.
12. Vila Nova CMVM, Godoy HT, Aldrigue ML. Composição química, teor de colesterol e caracterização dos lipídios totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e pargo (*Lutjanus purpureus*). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2005; (25/3): 430-436.
13. Roos NM, Siebelink E, Botts ML, Van Tol A, Schouten EG, Katan MB. Trans monounsaturated fatty acids and saturated fatty acids have similar effects on postprandial flow-mediated vasodilation. *Eur J Clin Nutr Basingstoke.* 2002; 56 (7): 674-9.
14. Lima MF, Henriques CA, Santos FD, Andradre PMM, Tavares do Carmo MG. Ácido graxo ômega 3 docosahexaenóico (DHA:C22:6 n-3) e desenvolvimento neonatal: aspectos relacionados à sua essencialidade e suplementação. *Nutrire: Rev Soc Bras Alim Nutr = J Brazilian Soc Food Nutr.* 2004; 28: 65-77.
15. Ramos Filho MM, Ramos MIL, Hiane PA, Souza EMT. Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira de Mato Grosso do Sul. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2008; (28/2): 361-365.

16. Gomes LC, Chippari-Gomes AR, Lopes NP, Roubach R, Araujo-Lima CARM. Efficacy of benzocaine as anesthetic for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). *Journal of the World Aquaculture Society* 2001; (31): 426-431.
17. AOAC – Association of official analytical chemists. HORWITZ, Washington. *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists*. 17 Ed. Arlington: AOAC Inc., 2000.
18. Watt B, Merrill AL. *Composition of foods: raw, processed, prepared*. Washington DC: Consumer and Food Economics Research. Division/Agricultural Service, 1963.
19. Folch J, Lees M, Sloane SGH. A simple method for the isolation and purification of total lipide from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, 1957; (226): 497-509.
20. Bohac CE, Rhee KS, Cross HR, Ono K. Assesment of methodologies for colorimetric cholesterol assay of meats. *J. Food Sci.* 1988; (53): 1642-44.
21. Searcy RL, Bergquist LMA. New color reaction for the quantitation of serum cholesterol. *Clin. Chimica Acta.*, 1960; (5): 192-9.
22. Hartman L, Lago BCA. Rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. *Lab Pract.* 1973; (22): 475-7.
23. Ulbricht TLV, Southgate DAT. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 1991; (338/8773): 985-992.
24. Santos-Silva J, Bessa RJB, Santos-Silva F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science* 2002; (7723): 187-194.
25. Kubitza F. *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*. Jundiaí: Fernando Kubitza, 2000.

26. Silva PC, Kronka SN, Tavares LHS, Souza VL. Desempenho produtivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) em diferentes densidades e trocas de água em “raceway”. *Acta Scientiarum*, 2002; (24/4): 935-941.
27. Sampaio JMC, Braga LGT. Cultivo de tilápia em tanques-rede na barragem do Ribeirão de Saloméa – Floresta Azul – Bahia. *Rev. Bras. Saúde Prod. Na.* 2005; (6/2): 42-52.
28. Ogawa M, Maia EL. **Manual de Pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado.** 1999; São Paulo: Varela; (1), 430.
29. Lichtenstein AH, Mitch WE, Mullis R, Robinson K, Tosett JW, Jeor SS, Suttie J, Tribble DL, Bazzarre TL. Dietary guidelines: revision 2000: a statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the American heart Association. *Circulation* 2000; (102/18): 2284-2299.
30. Kirk RS, Sawyer R. *Pearson’s composition and analysis of foods.* 9th, Ed. Harlow Essex, Longman; 1981; 504-18.
31. Penfield MP, Campbell AM. *Experimental Food Science.* 3. Ed. San Diego: Academic Press, 1990.
32. Omena, CMB. Reflexo da utilização de farlo de côo na alimentação de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857). [Dissertação de Mestrado] Maceió, Alagoas: Universidade Federal de Alagoas. 2008. 95 p.
33. Bruschi FLF. Rendimento, composição centesimal e perfil de ácidos graxos de pescados e seus resíduos monografia [Graduação em Oceanografia]. Itajaí, Santa Catarina. Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar, Universidade do Vale do Itajaí. 2001. 134p.

34. Morais C. Rendimento cárneo e composição química da ictiofauna acompanhante na captura do camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri* Heller, 1862). Colet. ITAL., v.22, n.1, p.6-72, 1992.
35. Minozzo MG. Elaboração de patê cremoso a partir de filé de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e sua caracterização físico-química microbiológica e sensorial. [Dissertação de Mestrado]. Curitiba, Paraná: Universidade Federal do Paraná, 2005. 127pp.
36. Stansby ME. Polynsaturates and fat in fish flesh. J. Am. Diet. Ass.,1973; (63): 625-30.
37. Ferreira MW, Bressan MC, Souza XR, Vieira JO, Faria PB, Andrade PL. Efeito dos métodos de cocção sobre a composição química e perfil lipídico de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757). Ciênc. Agrotec., 2007; (31/3): 798-803.
38. Luzia LA, Sampaio GR, Castellucci CMN, Torres EAFS. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. Food Chemistry 2003; (83): 93-97.
39. Denke MA, Grundy SM. Effects of fats hing in stearic acid on lipid and lipoprotein concentrations in men. Am. J. Clin. Nutr., 1991; (54):1036-1040.
40. Nova, CMVMV, Godoy HT, Aldrigue ML. Composição química, teor de colesterol e caracterização dos lipídeos totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e pargo (*Lutjanus purpureus*). Ciênc. Tecnol. Aliment., 2005; (25/3): 45-49.
41. Menezes MES. Valor nutricional de espécies de peixes (água salgada e estuário) do estado de Alagoas. [Dissertação de Mestrado]. Maceió, Alagoas: Universidade Federal de Alagoas, 2006. 113.

42. Lira GM, Mancini Filho J, Torres RP, Oliveira AC, Vasconcelos AMA, Omena CMB, Almeida MCS. Composição centesimal, valor calórico, teor de colesterol e perfil de ácidos graxos da carne de búfalo (*Bubalis bubalis*) da cidade de São Luiz do Quitunde-AL. Rev Inst Adolfo Lutz. 2005; 64 (1): 31-8.
43. Sabarense CM. Avaliação do efeito dos ácidos graxos *trans* sobre o perfil dos lipídeos teciduais de ratos que consumiram diferentes teores de ácidos graxos essenciais [Tese de Doutorado]. São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2003. 130 pp.
44. Nova CMVMV, Godoy HT, Aldrigue MI. Composição de ácidos graxos dos lipídeos totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e pargo (*Lutjanus purpureus*). In: congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, XVII, fortaleza, 2004, v.4, p.45.
45. Kris-Etherton P, Yu S. Individual fatty acids effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies. Am J Clin Nutr. 1977; Supp. 1628-44.
46. Lira GM, Mancini Filho J, Santana LS, Torres R P, Oliveira AC, Omena CMB, Silva Neta ML. Perfil de ácidos graxos, composição centesimal e valor calórico de moluscos crus e cozidos com leite de coco da cidade de Maceió-AL. Rev. Brasileira de Ciênc. Farmacêuticas 2004; (40/4): 529-537.
47. Su K, Huang S, Chiu C, Shen WW. Omega-3 fatty acids in major depressive disorder. A preliminary double-blind, placebo-controlled trial. European Neuropsychopharmacology.2003;(13): 267-271.
48. Department os Health and Social Security. Diet and cardiovascular disease. Report on Health and Social Subjects, n.28. London:HMSO, 1984.

49. Moreira AB et al. Fatty acids profile and cholesterol contents of three brazilian *Brycon* freshwater fishes. *Journal of Food Composition and Analysis* 2001; (14/6):565-574.
50. Testi et al. Nutritional traits of dorsal and ventral fillets from three farmed fish species. *Food Chemistry* 2006; (98/1): 104-111.
51. Ramos Filho MM, Ramos MIL, Hiane PA, Souza EMT. Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira de Mato Grosso do Sul. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2008; (28/2): 361-365.

CAPÍTULO III

Influência da Vitamina C na Composição Centesimal, no Teor de Colesterol e no Perfil de Ácidos Graxos em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857)

Artigo enviado à Revista Archivos de Zootecnia - Espanha.

**INFLUÊNCIA DA VITAMINA C NA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, NO
COLESTEROL E NO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS EM TILÁPIA DO NILO
(*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1957)**

INFLUENCE OF VITAMIN C PROXIMATE COMPOSITION, CHOLESTEROL AND
FATTY ACID PROFILE IN NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1957)

Menezes M.E.S.^{1A*}, Miranda E.C.^{1B}, Pinheiro D.M.^{1C}, Souza I.T.^{1D}, Pires E.V.^{1E},
Freitas J.D.², Júnior C.R.C.³, Sant'Ana A.E.G.^{1F}

¹Universidade Federal de Alagoas - Instituto de Química e Biotecnologia - Cep: 57072-970 - Maceió-AL, Brasil. ^{1A*} memenezes_2@yahoo.com.br; ^{1B} edmacdm@gmail.com ^{1C} dmpinheiro@uol.com.br; ^{1D} isinhasouza@gmail.com; ^{1E} edjanepires@yahoo.com.br; ^{1F} aegs@qui.ufal.br

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas - CEP 57.020-510 - Maceió-AL, Brasil. jdf@qui.ufal.br

³Faculdade de Nutrição - Universidade Federal de Alagoas - Cep: 57072-970 - Maceió-AL, Brasil. cyrorcjr@gmail.com

PALAVRAS CHAVES ADICIONAIS

Tilápia. Ômega-3. Ômega-6.

RESUMO

Os peixes têm mostrado alta sensibilidade às dietas deficientes em ácido ascórbico, especialmente nos estágios iniciais de crescimento. Este trabalho teve como objetivo estudar níveis de suplementação de vitamina C, em rações completas para a Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis nilotius*, Linneaus, 1875), sobre a composição centesimal, o valor calórico, o colesterol e o perfil de ácidos graxos. Foram utilizados 120 alevinos com peso inicial médio de 11,0 g, distribuídos em 24 aquários (70 L) com densidades de 50 e 100 peixes/m³. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, onde foram fornecidas quatro rações com níveis diferentes de suplementação de vitamina C (0, 250, 500 e 750 mg/kg de ração), 28% de proteína bruta e 3400 kcal/ED/kg. Em relação à análise da composição corporal observou-se diferença $p < 0,05$ nos teores de lipídeos totais; no teor de proteína bruta; no valor calórico e de colesterol, nos diferentes níveis de suplementação de vitamina C. A relação poliinsaturados/saturados foi mais elevada na ração com nível de 250 mg de vitamina C de 1,26, enquanto que o nível de 500 mg de suplementação apresentou um somatório de 6,48 para os teores de EPA+DHA. Na avaliação da qualidade nutricional dos lipídeos, ambas mostraram-se favoráveis quanto valor nutricional, devido aos de n-6/n-3, hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos (HH), índice de aterogenicidade (IA) e índice de trombogenicidade (IT). Conclui-se que, os peixes alimentados com a ração suplementada com a vitamina C podem ser considerados um alimento com boa fonte de ácidos graxos, principalmente o ácido ômega-3. Os filés apresentam-se como fonte de ácidos graxos hipocolesterolêmicos e a razão encontrada entre os ácidos graxos n-6:n-3 estão dentro dos padrões recomendados. O nível de 250 mg de vitamina C/kg de ração apresentou destaque no ponto de vista nutricional.

ADDITIONAL KEYWORDS

Tilápia. Ômega-3. Ômega-6.

SUMMARY

The fish have shown high sensitivity to diets deficient in ascorbic acid, especially in the early stages of growth. This study aimed to investigate levels of vitamin C in complete feeds for tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1875), on the composition, the calories, cholesterol and fatty acid profile. A total of 120 fingerlings with average initial weight of 11.0 g were assigned to 24 aquaria (70 L) with densities of 50 and 100 fish/m³. The experimental design was completely randomized, where they were given four diets with different levels of vitamin C (0, 250, 500 and 750 mg/kg diet), 28% crude protein and 34000 kcal/DE/kg. On the analysis of body composition differences were observed $p < 0.05$ in the levels of lipids, the content of crude protein in calories and cholesterol in the different levels of vitamin C. The ratio polyunsaturated/saturated was higher in the diet with a level of 250 mg of vitamin C of 1.26, while the level of 500 mg of supplementation presented a sum of 6.48 for the levels of EPA + DHA. In assessing the nutritional quality of lipids, both favored and nutritional value, due to the n-6/n-3, hypocholesterolemic/hypercholesterolemic (HH), index of atherogenicity (IA) and index of thrombogenicity (IT). It is concluded that the fish fed diets supplemented with vitamin C can be considered a food with good source of fatty acids, especially omega-3 acid. The steaks are presented as a source of fatty acids in reducing cholesterol and the ratio found between the fatty acids n-6:n-3 are within the recommended standards. The level of 250 mg of vitamin C/kg feed had highlighted the nutritional point of view.

INTRODUÇÃO

A carne de peixe é de extrema importância na dieta alimentar humana por sua riqueza de nutrientes, alto teor protéico, lipídeos de excelente qualidade, baixo teor de colesterol e boa fonte de ácidos graxos da família n-3. As quantidades excessivas de n-6 ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) e uma proporção muito elevada n-6/n-3, como são encontradas em dietas ocidentais de hoje, promover a patogênese de muitas doenças, incluindo doenças cardiovasculares, câncer e doenças inflamatórias e auto-imunes, ao passo que aumento dos níveis de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 exercem efeitos supressivos (Simopoulos, 2002).

A fração lipídica apresenta conteúdos apreciáveis de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente da série n-3 e n-6. Nestas séries de ácidos graxos, destacam-se os ácidos α -linolênico (LNA, C18:3n-3) e linoléico (LA, C18:2n-6). Estes ácidos graxos são considerados estritamente essenciais, ou seja, não são

sintetizados pelo organismo humano, sendo necessária a ingestão na dieta (Stevanato *et al.* 2007). O LA é precursor do ácido araquidônico (AA, C20:4n-6), componente utilizado na síntese de prostaglandinas e importante para o crescimento fetal, e o LNA é precursor dos ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) da série n-3, tais como o ácido eicosapentaenóico (EPA, C20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA, C22:6n-3) (Belda & Pourchet-Campos, 1991).

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linneaus, 1875), é uma das espécies mais indicadas para a criação intensiva por apresentar requisitos típicos dos peixes preferidos pelo mercado consumidor, como carne branca de textura firme e sabor delicado e ausência de espinhas em “Y”, além das características produtivas, como alta taxa de crescimento e adaptabilidade em diversas condições e de criação (Jory *et al.* 2000). Segundo Fitzsimmons (2000), a produção mundial de tilápias será de 1.500.000 t em 2010.

A vitamina C assume importância considerável em razão de ação em vários processos metabólicos. Essa vitamina é considerada essencial para a maioria das espécies de peixes, uma vez que não a sintetizam em função da ausência da enzima L-gulonolactona oxidase para sua formação a partir da glicose (Lovell, 1998). A interação desse nutriente tem sido alvo de estudo em função da atuação do ácido ascórbico. A vitamina C evita a formação de compostos insolúveis, participa na liberação do ferro da transferrina e ferritina, o qual é subsequentemente, incorporado à hemoglobina ou a outros compostos essenciais (Devlin, 1998), contribui para a formação do tecido ósseo e cartilaginoso sendo responsável por melhoras no crescimento de peixes e sua deficiência provoca deformações ósseas, hemorragias, anorexia e baixa resistência ao estresse (Wang *et al.* 2003) e retardo no processo de cicatrização (Moraes *et al.* 2003).

Neste trabalho avaliamos os diferentes níveis de suplementação de vitamina C sobre a composição centesimal, valor calórico, teor de colesterol e perfil de ácidos graxos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1875).

MATERIAL E MÉTODOS

Peixes

O presente experimento foi realizado nas instalações do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, no período de março a junho de 2008. Foram utilizados 120 alevinos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857), com peso inicial de 11,0 g. Foram avaliadas diferentes níveis de vitamina C (0, 250, 500 e 750 mg/kg de ração) com duas densidades de estocagem 50 e 100 peixes/m³, utilizando-se delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições para cada densidade. O experimento foi conduzido em um conjunto de 24 aquários de polietileno com capacidade para 70 L, sendo que cada caixa foi considerado como unidade experimental. Ao final do período experimental foram capturados três peixes de cada aquário, sendo anestesiados com 50 mg/L de benzocaína (Gomes *et al.* 2001), pesados, medidos e abatidos.

Preparo das Rações

As rações foram balanceadas segundo o método de tentativa conforme apresentado na **tabela 1**. Elas foram elaboradas para conter níveis crescentes de suplementação de vitamina C (0; 250; 500; 750 mg/kg ração). Todas as rações experimentais foram balanceadas para serem isoprotéicas e isocalóricas (28% PB e 3400 kcal/ED/kg de ração), e extrusadas conforme as recomendações do NRC

(1993), ou seja, as rações continuam os mesmos ingredientes e nutrientes, diferindo apenas na suplementação de ácido ascórbico. Na **tabela 2** encontram-se os dados da composição centesimal das rações.

Tabela 1. Ingredientes das rações com níveis diferentes de vitamina C

INGREDIENTES	%	0 mg	%	250 mg	%	500 mg	%	750 mg
Farelo soja	59,3	1777,5	59,8	1794,3	59,8	1794,3	59,8	1794,3
Farinha de peixe	5,5	165,0	5,5	165,0	5,5	165,0	5,5	165,0
Farelo trigo	2,0	60,0	2,5	75,0	2,5	75,0	2,5	75,0
Quirera arroz	27,4	822,0	25,0	750,0	23,8	714,0	22,6	677,1
L - Lisina	0,6	19,2	0,6	19,2	0,6	19,2	0,6	19,2
Óleo soja	0,0	0,0	0,5	15,0	0,9	26,1	1,3	38,1
Fosfato bicálcico	3,0	90,0	3,0	90,0	3,0	90,0	3,0	90,0
Calcário	1,9	55,5	1,9	55,5	1,9	55,5	1,9	55,5
Vitamina C	0,0	0,0	0,8	25,2	1,7	50,1	2,5	75,0
Sal comum	0,1	3,0	0,1	3,0	0,1	3,0	0,1	3,0
Premix vitamínico	0,1	1,8	0,1	1,8	0,1	1,8	0,1	1,8
Premix mineral	0,2	5,4	0,2	5,4	0,2	5,4	0,2	5,4
BHT	0,0	0,6	0,0	0,6	0,0	0,6	0,0	0,6
Total	100,0	3000,0	100,0	3000,0	100,0	3000,0	100,0	3000,0

¹ BHT = Butil hidroxi tolueno, antioxidante;

² Premix vitamínico e mineral: níveis de garantia por kg do produto: Vitaminas: A=1200.000 UI; D3=200.000 UI; E=12.000 mg; K3=2.400 mg; B1=4.800 mg; B2=4.800 mg; B6=4.000 mg; B12=4.800 mg; ac. fólico=1.200 mg; pantotenato de Ca=12.000 mg; biotina=48mg; colina=65.000mg; niacina=24.000mg; minerais: ferro=10.000 mg; cobre=600 mg; manganês=4.000 mg; zinco=6.000 mg; iodo=20 mg; cobalto=2 mg e selênio=20 mg.

Tabela 2. Composições centesimais das rações com diferentes suplementações de vitamina C

Composição Centesimal (g/100g de porção)*	0 mg	250 mg	500 mg	750 mg
Umidade	3,6 ± 0	5,1 ± 0,14	3,4 ± 0,57	3,7 ± 0,71
Lipídeos totais	1,3 ± 0	2,0 ± 0	2,7 ± 0	3,3 ± 0
Proteína bruta	34,15 ± 0,35	34,0 ± 0,14	34,25 ± 0,21	34,25 ± 0,21
Cinzas	30,0 ± 0,42	23,2 ± 0,21	21,9 ± 0,21	19,5 ± 0,28
Fibra bruta	11,4 ± 1,8	15,4 ± 0,5	13,8 ± 1,0	10,5 ± 0,16
Carboidratos	19,6 ± 2,6	20,4 ± 0,5	24,0 ± 0,5	28,7 ± 0,5
Calorias (kcal)	226,6 ± 8,97	235,4 ± 2,38	257,26 ± 2,66	281,64 ± 1,05

* Analisadas em triplicata, com média e desvio-padrão.

Após homogeneização, realizaram-se as determinações, em triplicata, de umidade, cinzas e proteínas segundo AOAC (2000). O teor de carboidratos foi obtido por diferença, conforme descrito por Brasil/ANVISA (2001), como também o valor calórico, através dos fatores de conversão de Atwater: 4 kcal.g⁻¹ para proteínas, 4 kcal.g⁻¹ para carboidratos e 9 kcal.g⁻¹ para lipídeos (Watt & Merrill, 1963).

Os lipídeos totais foram extraídos a frio pelo método de Folch *et al.* (1957). O colesterol foi determinado através do procedimento de Bohch *et al.* (1988), através da saponificação, extração da matéria insaponificável, reação de cor, leitura da absorvância em espectrofotômetro a 490 nm, contra um branco. A curva de calibração para colesterol foi elaborada segundo Searcy & Bergquist (1960), utilizando-se 0,06 g de colesterol (Sigma P. A., St. Louis, MO) diluído em 100 mL de solução acetona/etanol (1:1). De acordo com a curva padrão, obteve-se a equação $\hat{y} = 1,1608x$; $R^2 = 0,9948$, passando pela origem, que cobriu a faixa de concentração das amostras.

O perfil de ácidos graxos foi determinado após a extração lipídica feita através do método Folch *et al.* (1957), onde os lipídeos totais foram esterificados segundo Hartman & Lago (1973). Os ésteres metílicos foram analisados no Laboratório de Produtos Naturais do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, utilizando-se um cromatógrafo a gás Shimadzu, modelo GC-17A, equipado com uma coluna capilar DB-5, com 30 m de comprimento, 0,25 µm de espessura e 0,25 mm de diâmetro interno. Foi utilizado Hélio (He) como gás de arraste a um fluxo de 1 mL.min⁻¹ e pressão de 50 kPa. A temperatura inicial foi de 50°C, que permaneceu constante durante 2 min, com temperatura de 4°C.min⁻¹, até atingir 250°C, permanecendo por 15 min. As temperaturas do injetor e da interface foram mantidas a 250°C e 310°C

respectivamente. A razão de divisão da amostra (Split) foi 30:1. Os espectros de massas foram determinados por impacto eletrônico (IE) a 70 eV, em aparelho Shimadzu, modelo GCMS-QP5050A. A identificação dos ácidos graxos foi realizada por padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos puros, através dos espectros de massas, além de comparação do tempo de retenção dos ésteres metílicos das amostras com o dos padrões.

A qualidade nutricional da fração lipídica foi avaliada por três índices, a partir dos dados de composição em ácidos graxos: Índice de Aterogenicidade (IA) e Índice de Trombogenicidade (IT), segundo Ulbricht & Southgate (1991); e razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH), segundo Santos-Silva *et al.* (2002).

Análise Estatística

Foram observadas as pressuposições paramétricas de normalidade (teste de Lilliefors) e homogeneidade das variâncias dos resíduos (teste de Levene), ambos com ($p > 0,05$). Assim, realizou-se análise de variância para verificar a existência ou não de diferença significativa. Para a comparação múltipla entre as médias dos tratamentos utilizou-se o teste *Post-hoc* de Tukey-HSD. Adotou-se como nível de significância valores menores que 5% de probabilidade para o erro experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de umidade, lipídeos totais, cinzas, proteína bruta, carboidratos e valor calórico dos filés nas duas densidades estudadas e nos diferentes níveis de suplementação de vitamina C, estão apresentados na **tabela 3**.

Para os teores de umidade entre as densidades de estocagem a que apresentou maior teor foi a densidade de 100 peixes/m³ (75,35% em base úmida) e entre os níveis de suplementação de vitamina C, o maior valor foi encontrado no nível de 500 mg de vitamina C na densidade de 50 peixes/m³ (76,10% em base úmida). Leonhardt *et al.* (2006) estudando a composição do filé de duas espécies de tilápia (tilápia vermelha e Tilápia-do-Nilo) detectaram valores de 79,20% e 78,43%. Silva (2009) detectou uma variação de 96,54% a 98, 11%, sendo o maior teor observado na ração suplementada com 250 mg de vitamina C/kg de ração em carcaça de piau três pintas (*Leporinus reinhardtii*).

Com relação aos lipídeos totais, em base seca, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as densidades avaliadas. Já em relação à suplementação vitamínica houve variação de 0,98% a 3,80%, em base úmida, entre os níveis de vitamina C. Observa-se que, à medida que o nível de vitamina C aumenta esta variável também foi incrementada. Porém, Omena *et al.* (2008), estudando níveis diferentes de farelo de coco em tilápias, detectaram uma variação de 1,15 a 1,81% em base úmida. Silva (2009) observou uma variação de 31,10% a 37,05% em base seca, sendo o maior teor detectado no nível de 500 mg de vitamina C/kg de ração em carcaça de piau três pintas (*Leporinus reinhardtii*).

No que diz respeito aos teores de proteína bruta houve diferença ($p < 0,05$) entre as densidades, sendo a densidade de estocagem de 50 peixes/m³ maior (22,58% em base úmida), enquanto que em relação à suplementação vitamínica houve variação de 20,25% a 25,62%, em base úmida, na densidade de 50 peixes/m³, sendo o nível de 250 mg de vitamina C/kg mais elevado. Já na densidade de estocagem de 100 peixes/m³, os teores variaram de 19,68% a 20,96% em base úmida, tendo o nível de 250 mg de suplementação de vitamina C o teor mais

elevado. Silva (2009) observou variação de 52,03% a 57,50% em base úmida, sendo o maior teor detectado no nível de 750 mg de vitamina C em carcaça piau três pintas (*Leporinus reinhardtii*). Segundo Kirk & Sawyer, (1981) quando o método de Kjeldahl é empregado, a composição centesimal total pode ultrapassar os 100%, devido à multiplicação do nitrogênio por 6,25, o que foi observado por Belda & Pourchet-Campo e corroborado no presente trabalho.

Em relação às cinzas, houve diferença significativa ($p < 0,05$) em base seca nas densidades de estocagem estudadas. Já entre as suplementações de vitamina C em base seca, não houve diferença significativa. Na densidade de estocagem de 50 peixes/m³ o teor mais elevado foi o de 250 mg de suplementação vitamínica (1,80% em base úmida e 7,31% em base seca). No que diz respeito à densidade de 100 peixes/m³ o nível de 750 mg de vitamina C apresentou dado superior (1,70% em base úmida e 7,0% em base seca). Silva (2009) observou variação de 21,15% a 27,69% em base seca, sendo o maior teor detectado no nível de 0 mg de vitamina C em carcaça piau três pintas (*Leporinus reinhardtii*).

Na densidade de 50 peixes/m³ foi encontrado o maior teor calórico (120,73 kcal), já com relação à suplementação da vitamina C os maiores teores foram detectados no nível de 250 mg de vitamina C/kg de ração para cada densidade de estocagem trabalhada (132,27kcal para 50 peixes/m³ e 121,85 kcal para 100 peixes/m³).

Esses resultados permitiram classificar os filés por níveis de vitamina C estudada na categoria D (gordura < 5,0%; proteína > 20,0%) segundo Stansby (1973). Portanto, sob o ponto de vista nutricional, o valor desses filés é excepcional, visto que podem ser utilizados na elaboração de dietas para pacientes obesos, diabéticos e que apresentem doenças crônicas, como câncer e problemas

cardiovasculares, além de serem eficazes cardioprotetores, têm apresentado bons resultados no tratamento de pessoas com distúrbios depressivos e psíquicos (Ramos *et al.* 2008).

Os resultados obtidos referentes ao teor de colesterol em base úmida e seca para os filés nas duas densidades de estocagem estudadas e nos diferentes níveis de vitamina C estão apresentados na **tabela 4**.

Tabela 4. Teores de colesterol em filé de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) em diferentes níveis de vitamina C com densidades de 50 e 100 peixes/m³

Teores (mg/100g)*		
Fatores Densidades Peixes/m ³	Colesterol Base úmida	Colesterol Base seca
50	71,50 ± 4,6 ^a	143,30 ± 6,4 ^a
100	77,52 ± 5,2 ^b	249,51 ± 7,3 ^b
CV(%)	4,61	9,7
Vitamina C		
50 Peixes/m³		
0 mg	41,36 ± 3,5 ^a	175,60 ± 7,8 ^a
250 mg	68,91 ± 3,5 ^b	305,66 ± 9,5 ^b
500 mg	86,13 ± 3,4 ^c	385,87 ± 10,2 ^c
750 mg	101,65 ± 3,5 ^d	407,01 ± 11,4 ^d
CV(%)	4,61	9,7
Vitamina C		
100 Peixes/m³		
0 mg	44,8 ± 3,4 ^a	196,94 ± 8,5 ^a
250 mg	72,4 ± 3,5 ^b	373,78 ± 11,4 ^b
500 mg	89,6 ± 3,5 ^c	393,34 ± 13,9 ^c
750 mg	103,4 ± 3,5 ^d	423,87 ± 15,4 ^d
CV(%)	4,61	9,7

*Analisadas 36 amostras com 3 repetições por densidades, com a média e o desvio-padrão. Valores na mesma coluna com letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste *Post-hoc* de Tukey-HSD.

Observa-se diferença, em base seca ($p < 0,05$) entre as densidades de estocagem e nos níveis de suplementação vitamínica. A densidade de 50 peixes/m³ apresentou o menor teor de colesterol (71,50 mg/100g em base úmida e 143,30 mg/100g em base seca). Já em relação aos níveis de suplementação de vitamina C houve aumento no teor de colesterol entre os níveis de ambas as densidades de

estocagem. Sendo a suplementação de 750 mg de vitamina C a mais elevada (101,65 mg/100g em base úmida e 407,01 mg/100g em base seca) para a densidade de 50 peixes/m³ e para a densidade de estocagem de 100 peixes/m³ o valor observado foi de 103,4 mg/100g, em base úmida e 423,87 mg/100g na base seca.

Os resultados encontrados são superiores àqueles relatados por Ferreira *et al.* (2007) que encontraram teor de colesterol de 33 mg/100g para o filé de Tilápia-do-Nilo *in natura*, criada em tanque de terra e alimentada com ração comercial. Omena *et al.* (2008) detectaram teores superiores, com variação de 91,06 a 162 mg/100g para filé de Tilápia-do-Nilo, alimentadas com rações contendo diferentes níveis de farelo de coco.

Apesar do acréscimo do colesterol com o aumento da suplementação de vitamina C, os teores de colesterol para ambas as densidades estudadas estão abaixo do limite recomendado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia que é de 200 mg/dia para dieta de indivíduos com hipercolesterolemia e de 300 mg/dia para dieta normal, considerando o consumo de 100 g do filé por dia (IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, 2007).

A **tabela 5** apresenta o perfil de ácidos graxos encontrados nos diferentes níveis de vitamina C. Dentre os ácidos graxos saturados (AGS) houve predominância do ácido esteárico (C18:0), em relação aos demais AGS. Omena *et al.* (2008) detectaram valores inferiores a este estudo, em tilápias alimentadas com diferentes níveis de farelo de coco.

Tabela 5. Perfil dos ácidos graxos (%) presentes nos filés de (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) em diferentes níveis de vitamina C e em densidade de 50 peixes/m³

Ácidos Graxos (%)	Nível de Vitamina C (mg)*			
	0	250	500	750
A. Saturados				
C12:0	1,63 ± 0,86 ^a	1,02 ± 0,44 ^a	1,25 ± 0,49 ^a	0,77 ± 0,31 ^a
C14:0	1,84 ± 0,23 ^a	2,31 ± 0,51 ^a	1,1 ± 0,28 ^a	1,98 ± 0,6 ^a
C15:0	3,57 ± 0,37 ^a	2,82 ± 0,17 ^a	3,63 ± 1,09 ^a	13,04 ± 1,03 ^b
C16:0	12,3 ± 0,89 ^a	13,56 ± 2,64 ^a	11,12 ± 0,65 ^a	11,99 ± 0,62 ^a
C17:0	0,47 ± 0,01 ^a	0,72 ± 0,22 ^a	0,93 ± 0,16 ^a	0,48 ± 0,53 ^a
C18:0	14,93 ± 2,02 ^a	13,32 ± 0,48 ^a	15,29 ± 0,76 ^a	19,65 ± 2,88 ^b
C20:0	3,16 ± 0,24 ^a	1,40 ± 0,97 ^b	0,59 ± 0,13 ^c	0,5 ± 0,06 ^c
Total	37,9	35,15	36,75	48,41
B. Monoinsaturados				
C14:1 n-7	1,12 ± 0,02 ^a	0,34 ± 0,11 ^b	1,54 ± 0,87 ^a	2,69 ± 0,59 ^c
C16:1 n-7	20,63 ± 0,68 ^a	11,34 ± 0,11 ^b	12,35 ± 1,0 ^b	21,47 ± 0,72 ^a
C17:1 n-7	6,39 ± 1,56 ^a	6,5 ± 0,82 ^a	7,68 ± 0,18 ^a	7,04 ± 0,45 ^a
C18:1 n-9	13,28 ± 2,65 ^a	19,32 ± 1,39 ^b	19,29 ± 0,28 ^b	22,68 ± 0,28 ^b
C20:1 n-9	5,58 ± 0,69 ^a	2,31 ± 0,79 ^b	5,99 ± 0,57 ^a	5,4 ± 1,69 ^a
Total	47,0	39,81	46,85	59,28
C. Poliinsaturado				
C16:2 n-7	1,78 ± 0,06 ^a	10,90 ± 0,33 ^b	10,09 ± 0,2 ^b	0,8 ± 0,39 ^a
C18:2 n-6	6,34 ± 0,46 ^a	11,06 ± 2,05 ^b	6,99 ± 1,16 ^a	5,15 ± 0,84 ^a
C18:3 n-3	6,85 ± 0,09 ^a	4,20 ± 1,38 ^b	6,65 ± 1,07 ^a	8,03 ± 0,81 ^a
C18:4 n-3	1,07 ± 0,49 ^a	4,85 ± 0,12 ^b	4,20 ± 0,38 ^b	0,74 ± 0,21 ^a
C20:2 n-6	3,24 ± 1,0 ^a	4,52 ± 0,43 ^a	2,13 ± 0,49 ^b	0,71 ± 0,09 ^c
C20:3 n-3	1,82 ± 0,11 ^a	0,68 ± 0,98 ^b	0,70 ± 0,04 ^b	1,42 ± 0,73 ^a
C20:4 n-6	0,88 ± 0,03 ^a	0,95 ± 0,06 ^a	1,51 ± 0,1 ^a	0,87 ± 0,81 ^a
C20:5 n-3 EPA	0,49 ± 0,21 ^a	0,83 ± 0,36 ^a	0,78 ± 0,06 ^a	0,80 ± 0,07 ^a
C22:5 n-3	0,83 ± 0,12 ^a	1,38 ± 0,52 ^a	0,78 ± 0,08 ^a	2,95 ± 0,05 ^a
C22:6 n-3 DHA	4,54 ± 0,35 ^a	4,76 ± 0,59 ^a	5,70 ± 0,11 ^a	4,33 ± 0,69 ^a
Total	27,91	44,13	39,53	25,8
I/S	1,98	2,39	2,35	1,76
M/S	1,24	1,13	1,27	1,22
P/S	0,74	1,26	0,84	0,53
Razão n-6/n-3	2,1	1,78	1,42	1,44
Somatório de EPA + DHA	5,03	5,59	6,48	5,13
Rel. Hiper/Hipo*****	0,21	0,20	0,20	0,17

*Analisadas 36 amostras em duplicata na densidade de 50 peixes/m³, com a média e o desvio-padrão. Valores na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste *Post-hoc* de Tukey-HSD. I/S = Insaturados/Saturados M/S = Monoinsaturados/Saturados P/S = Poliinsaturados/Saturados Rel.

Hiper/Hipo***** = Relação ácido graxo hipercolesterolêmico / hipocolesterolêmico = ácido graxo hipercolesterolêmico (C14:0 + C12:0 + C16:0) / ácido graxo hipocolesterolêmico (monoinsaturado + poliinsaturados).

O ácido palmítico (C16:0) foi o segundo em teor de concentração não havendo diferença ($p < 0,05$) entre os níveis de vitamina C. Teores mais elevados deste ácido foram encontrados por Nova *et al.* (2005) para a tilápia (22,0%), Menezes *et al.* (2008), em espécies de peixes da Lagoa Mundaú (tainha 12,97% e camurim 14,38%), e por Omena *et al.* (2008), com uma variação de 18,76 a 20,59%,

em tilápias alimentadas com rações contendo diferentes níveis de farelo de coco. Acredita-se que esse ácido graxo seja um dos principais responsáveis pelo aumento do colesterol sérico (Lira *et al.* 2005), visto que a concentração deste esteróide dobra quando o consumo de ácidos graxos saturados é maior que o de ácidos graxos poliinsaturados (Sabarense, 2003). Isto evidencia, portanto, que os peixes deste estudo apresentaram vantagens em relação às espécies de água doce mencionadas.

Os ácidos láurico (C12:0) e o mirístico (C14:0) foram detectados em pequenas concentrações, em ambos os níveis estudados, demonstrando um fator positivo destes filés, pois, tais ácidos promovem hipercolesterolemia. Teores mais elevados foram observados por Menezes *et al.* (2008) e por Omena *et al.* (2008).

Os ácidos monoinsaturados foram mais abundantes no maior nível de vitamina C (59,28%), particularmente o palmitoléico (C16:1n-9) e oléico (C18:1n-9), sendo esse último considerado importante sob o ponto de vista nutricional, devido aos seus efeitos benéficos citados na revisão de Lira *et al.* (2004). Omena *et al.* (2008) detectaram valores inferiores em tilápias alimentadas com rações contendo diferentes níveis de farelo de coco. Os ácidos monoinsaturados têm efeito hipocolesterolêmico intermediário (Testi *et al.* 2006).

Quanto aos ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), os níveis de ácido α -linolênico (C18:3 n-3), detectados em todos os níveis de suplementação de vitamina C, foram mais elevados que os encontrados por Omena *et al.* (2008) em tilápias alimentadas com rações contendo diferentes níveis de farelo de coco. O C18:3 n-3 é importante na modulação do metabolismo do ácido araquidônico (C20:4 n-6), com consequente redução da agregação plaquetária (Lira *et al.* 2004).

Levando em consideração os benefícios conhecidos à saúde humana atribuídos à ingestão do ácido C20:5n-3 (EPA) e do ácido C22:6n-3 (DHA), determinou-se a soma desses dois ácidos, visando uma avaliação da qualidade nutricional do filé estudado. Segundo Simopoulos (2002) o consumo de peixe e óleo de peixe aumenta a atividade fibrinolítica, indicando que 200 g/dia de peixes magros ou 2 g de n-3 EPA e DHA melhorar alguns parâmetros hematológicos implicado na etiologia das doenças cardiovasculares.

SU *et al.* (2001) relataram que os ácidos graxos poliinsaturados da família n-3 (EPA e DHA), além de serem eficazes na prevenção de doenças coronarianas, tem apresentado bons resultados no tratamento de pessoas com distúrbios depressivos e psíquicos. O somatório de EPA e DHA encontrado para os níveis de vitamina C estudados foi na faixa de 5,03% a 6,48%, com destaque para o nível de 500 mg de vitamina C. Valor superior foi detectado por Menezes *et al.* (2008), em tainha da Lagoa Mundaú (10,47%).

A qualidade nutricional do perfil lipídico, avaliada por diferentes índices, encontra-se descrita na **tabela 6**. Alimentos que apresentam a razão de ácidos graxos poliinsaturados e saturados (P/S) abaixo de 0,45 têm sido considerados como indesejáveis à dieta segundo Kris-Etherton *et al.* (2003), por sua potencialidade na indução do aumento de colesterol sanguíneo. Nos níveis de vitamina C estudados esta razão variou de 0,53, no nível de 750 mg de vitamina C/kg de ração, a 1,26, no nível de 250 mg de vitamina C/kg de ração, e que resultou, de acordo com a **tabela 4**, com um aumento no teor de colesterol. Menezes *et al.* (2009) detectaram valores inferiores em peixes de água salgada, no entanto, o índice P/S avaliado isoladamente tem recebido restrições, uma vez que

não considera os efeitos metabólicos dos ácidos graxos monoinsaturados (Testi *et al.* 2006).

Tabela 6. Índices de qualidade nutricional da fração lipídica nos filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) em diferentes níveis de vitamina C na densidade de 50 peixes/m³

Nível de Vitamina C	P/S	n-6/n-3	HH	IA	IT
0 mg	0,74	2,10	2,35	0,29	0,50
250 mg	1,26	1,78	2,68	0,33	0,44
500 mg	0,84	1,42	2,58	0,32	0,95
750 mg	0,53	1,44	2,10	0,25	0,49

P/S = Poliinsaturados/Saturados; n-6/n-3 = \sum da série Ômega6/ \sum a série Ômega 3; HH = \sum hipocolesterolêmicos/ \sum hipercolesterolêmicos; IA = índice de aterogenicidade e IT = índice de trombogenicidade¹².

Na razão n-6/n-3, valores abaixo de 4,0 sugerem quantidades desejáveis à dieta para a prevenção de riscos cardiovasculares (Kris-Etherton *et al.* 2003). A relação n-6/n-3 encontrado nesta pesquisa ficou abaixo do preconizado pela literatura, mostrando por tanto que os resultados encontrados, através da suplementação dos níveis de vitamina C estudados, são potencialmente saudáveis. Menezes *et al.* (2009) encontraram em peixes de água salgada uma variação de 0,43 a 0,66.

O cálculo da \sum ácidos graxos hipocolesterolêmicos / \sum ácidos graxos hipercolesterolêmicos, índice HH relacionado, mais especificamente, com o metabolismo do colesterol, resultou em valores significativos, destacando-se 2,68 no nível de 250 mg de vitamina C. Menezes *et al.* (2009) detectaram valor semelhante para cavala de água salgada. Valores altos para essa relação são desejáveis sob o ponto vista nutricional Moreira *et al.* (2001).

O índice de aterogenicidade (IA), que relaciona os ácidos pró e antiaterogênicos, foi encontrado em baixa concentração em ambos os níveis de vitamina C. Valores maiores foram descritos por Ramos *et al.* (2008), para quatro espécies de água doce, variando de 0,49 no pintado a 0,86 no pacu. Em contraste à relação HH, valores mais baixos para IA são desejáveis.

CONCLUSÕES

Tendo como base os resultados obtidos, nas condições em que os experimentos foram realizados, pode-se concluir que a densidade de estocagem de 50 peixes/m³ foi a melhor, apresentando valores significativos em relação aos teores de umidade, proteína, carboidratos e valor calórico.

No que diz respeito à suplementação da vitamina C nas duas densidades estudadas, o nível de 250 mg de suplementação vitamínica na ração oferecida aos alevinos apresentou teores mais elevados de proteínas e calorias na densidade de 50 peixes/m³. Já no parâmetro protéico na densidade de 100 peixes/m³, o nível de 50 mg de suplementação vitamínica foi superior.

Enquanto que para os teores de lipídeos totais o maior valor foi observado no nível de suplementação de 750 mg de vitamina C/kg de ração em ambas as densidades de estocagem.

Os teores de colesterol para ambas as densidades estudadas e para todos os níveis de suplementação de vitamina C estão abaixo do limite recomendado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia que é de 200 mg/dia para dieta de indivíduos com hipercolesterolemia e de 300 mg/dia para dieta normal, considerando o consumo de 100 g do filé por dia.

Os principais ácidos graxos encontrados em destaque foram os saturados, ácido palmítico no nível de 250 mg de vitamina C e ácido esteárico no nível de

suplementação vitamínica de 750 mg. Os monoinsaturados, ácido palmitoléico e ácido oléico foram os principais no nível de 750 mg de vitamina C/kg de ração. Já os poliinsaturados da família n-6, ácido linoléico, no nível de 250 mg de vitamina C/kg de ração e o ácido α -linolênico no nível de 750 mg. O EPA foi detectado em maior quantidade no nível de suplementação de 250 mg de vitamina C e o DHA, no nível de 500 mg de vitamina C/kg de ração.

Os filés apresentam-se como fonte de ácidos graxos hipocolesterolêmicos e a razão encontrada entre os ácidos graxos n-6:n-3 estão dentro dos padrões recomendados. O nível de 250 mg de vitamina C/kg de ração apresentou destaque no ponto de vista nutricional.

Esperamos que estes resultados contribuam para o fornecimento de uma melhor ração para as Tilápia-do-Nilo, de maneira que os filés produzidos com a suplementação de vitamina C sejam recomendados para o consumo da população como um alimento funcional e alto valor nutricional.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e a Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (Codevasf) pela doação dos peixes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC – Association of official analytical chemists. 2000. HORWITZ, Washington. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists. 17 Ed. Arlington: AOAC Inc., (1/2).

- Belda, M.C.R. and M.A. Pourchet-Campos. 1991. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. Ciênc. e Tecnol. Aliment. 11/1: 5-35.
- Bohac, C.E., K.S. Rhee, H.R. Cross, K. Ono. 1988. Assesment of methodologies for colorimetric cholesterol assay of meats. J. Food Sci., 53: 1642-44.
- Brasil. ANVISA. 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 40, de 21 de março de 2001. Regulagem nutricional de alimentos e bebidas embaladas. Brasília.
- Devlin, T.M. 1998. Manual de bioquímica com correlações químicas. 4.Ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1007.
- IV DIRETRIZES BRASILEIRAS SOBRE DISLIPIDEMIAS E DIRETRIZ DE PREVENÇÃO DA ATEROSCLEROSE DO DEPARTAMENTO DE ATEROSCLEROSE DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Arq. Bras. Cardiol., v. 88, (suplemento I), p. 10, Abril/2007.
- Ferreira, M.W., M.C. Bressan, X.R. Souza, J.O. Vieira, P.B. Faria, P.L. 2007. Andrade. Efeito dos métodos de cocção sobre a composição química e perfil lipídico de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757). Ciênc. Agrotec., 31/3: 798-803.
- Fitzsimmons, K. 2000. Tilapia: the most important aquaculture species of the 21st century. In: Internacional Symposium on Tilapia Aquaculture, 50, 2000, Rio de Janeiro. Proceeding. 1: 3-8.
- Folch, J., M. Lees, S.G.H. Sloanne. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipide from animal tissues. J. Biol. Chem., Baltimore, 226: 497-509.

- Gomes, L.C., A.R. Chippari-Gomes, N.P. Lopes, R. Roubach, C.A.R.M. Araujo-Lima. 2001. Efficacy of benzocaine as anesthetic for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). *Journal of the World Aquaculture Society*, 31: 426-431.
- Hartman, L. and B.C.A. Lago. 1973. Rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. *Lab Pract.* 22: 475-7.
- Jory, D.E., C. Alceste, T.R. Cabrera. 2000. Mercado y comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norte América. *Panorama Acuicola*, 5/5: 50-53.
- Kirk RS, Sawyer R. 1981. *Pearson's composition and analysis of foods*. 9th, Ed. Harlow Essex, Longman; 504-18.
- Kris-Etherton, P.M., Harris, W.S., L.S Appel. 2003. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: New recommendations from the American Heart Association *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 3/2: 151-152.
- Leonhardt, J.H., Filho, M.C., Frossard, H., Moreno, A.M. 2006. Características morfológicas, rendimento e composição do filé de tilápia do Nilo, (*Oreochromis niloticus*), linhagem tailandesa local e do cruzamento de ambas. *Semina: Ciências Agrárias*, 27/1: 125-132.
- Lira, G.M., J. Mancini Filho, L.S. Santana, R.P. Torres, A.C. Oliveira, C.M.B. Omena, M.L. Silva Neta. 2004. Perfil de ácidos graxos, composição centesimal e valor calórico de moluscos crus e cozidos com leite de coco da cidade de Maceió-AL. *Rev. Brasileira de Ciênc. Farmacêuticas*, 40/4: 529-537.
- Lira, G.M., Mancini Filho, J., R.P. Torres, A.C. Oliveira, A.M.A. Vasconcelos, C.M.B. Omena, M.C.S. Almeida. 2005. Composição centesimal, valor calórico, teor de colesterol e perfil de ácidos graxos da carne de búfalo (*Bubalis bubalis*) da cidade de São Luiz do Quitunde-AL. *Rev Inst Adolfo Lutz.*, 64/1: 31-8.

- Lovell, R.T. 1998. Nutrition and feeding of fish. 2.Ed. Massachusetts: Kluwer Academic Publishers. 267.
- Menezes, M.E.S., G.M. Lira, C.M.B.Omena, J.D.Freitas, A.E.G. Sant'Ana. 2008. Composição centesimal, colesterol e perfil de ácidos graxos dos peixes tainha (*Mugil cephalus*) e camurim (*Centropomus undecimalis*) da Lagoa Mundaú – AL/Brasil. Rev Inst Adolfo Lutz, 67(2): 89-95.
- Menezes, M.E.S., G.M. Lira, C.M.B. Omena, J.D.Freitas, A.E.G. Sant'Ana. 2009. Valor Nutritivo de Peixes da Costa Marítima de Alagoas – Brasil. Ver. Inst. Adolfo Lutz, 68(1): 21-8.
- Moraes, J.R.E. *et al.* 2003. A suplementação alimentar com vitamina C acelera a evolução do processo cicatricial em *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). Boletim do Instituto de Pesca, 29: 57-60.
- Moreira, A.B. *et al.* 2001. Fatty acids profile and cholesterol contents of three brazilian *Brycon* freshwater fishes. Journal of Food Composition and Analysis , 14/6: 565-574.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1993. Nutrient Requirements of Fishes. Washington DC: National Academy of Sciences.
- Nova, C.M.V.M., H.T. Godoy, M.L. Aldrigue. 2005. Composição química, teor de colesterol e caracterização dos lipídios totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e pargo (*Lutjanus purpureus*). Ciênc. Tecnol. Aliment.; (25/3): 430-6.
- Omena, C.M.B. 2008. Reflexo da utilização de farelo de coco na alimentação de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857). Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Alagoas. Maceió-AL. 95p.

- Ramos Filho, M.M., M.I.L. Ramos, P.A. Hiane, E.M.T. Souza. 2008. Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira de Mato Grosso do Sul. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 28/2: 361-365.
- Sabarense, C.M. 2003. Avaliação do efeito dos ácidos graxos *trans* sobre o perfil dos lipídeos teciduais de ratos que consumiram diferentes teores de ácidos graxos essenciais Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas. São Paulo-SP. 130p.
- Santos-Silva, J., R.J.B. Bessa, F. 2002. Santos-Silva. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science*, 7/23: 187-194.
- Searcy, R.L. and L.M.A. Bergquist. 1960. New color reaction for the quantitation of serum cholesterol. *Clin. Chimica Acta.*, Amsterdam, 5: 192-9.
- Stevanato, F.B., M.E. Petenucci, M. Matsushita, M.C. Mesomo, N.E. Souza, J.E.L. Visentainer, V.V. Almeida, J.V. Visentainer. 2007. Avaliação química e sensorial da farinha de resíduo de tilápias na forma de sopa Chemical and sensorial evaluation of fish meal in soup. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 27/3: 567-571.
- Silva, J.M. 2009. Efeito da suplementação da vitamina C em rações de crescimento de piau três pintas (*Leporinus reinhardtii* LUTKEN, 1874). Dissertação (Mestrado) Universidade Federal Rural do Semi-árido - Mossoró-RN. 73p.
- Simopoulos, A.P. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids *Biomed Pharmacother.* 56: 365–379
- Stansby, M.E. 1973. Polysaturates and fat in fish flesh. *J. Am. Diet. Ass.*, 63: 625-30.

- Su, K., S. Huang, C. Chiu, W.W. Shen. 2003. Omega-3 fatty acids in major depressive disorder. A preliminary double-blind, placebo-controlled trial. *European Neuropsychopharmacology*, 13: 267-271.
- Testi, S. et al. 2006. Nutritional traits of dorsal and ventral fillets from three farmed fish species. *Food Chemistry*, v.98, n.1, p. 104-111.
- Ulbricht, T.L.V. and D.A.T. 1991. Southgate. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338/8773: 985-992.
- Wang X. *et al.* 2003. Effects of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Aquaculture*, 215: 203-211.
- Watt, B. and A.L. Merrill. 1963. *Composition of foods: raw, processed, prepared*. Washington DC: Consumer and Food Economics Research. Division/Agricultural Service.

CAPÍTULO IV

Influência da Vitamina C nos Níveis de
Marcadores Envolvidos no Balanço Redox em Tilápia do Nilo
(*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857)

Artigo enviado à Revista do Instituto Adolfo Lutz - Brasil.

Influência da Vitamina C nos Níveis de Marcadores Envolvidos no Balanço Redox em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857)

Influence of Vitamin C Levels of Markers Involved in Redox Balance in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857)

Maria Emília da Silva MENEZES^{1*}; Edma Carvalho de MIRANDA¹; Denise Maria PINHEIRO¹; Luíza Antas RABÊLO²; Glaucivane da Silva GUEDES²; Antônio Euzébio Goulart SANT'ANA¹

¹Universidade Federal de Alagoas - Instituto de Química e Biotecnologia - Campus A.C. Simões. Tabuleiro dos Martins. Cep: 57072-970 - Maceió-AL, Brasil. E-mail: memenezes_2@yahoo.com.br

² Universidade Federal de Alagoas – Laboratório de Reatividade Cardiovascular – Setor de Fisiologia e Farmacologia – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - Maceió-AL, Brasil.

*A quem a correspondência deve ser enviada.

RESUMO

O estresse oxidativo pode se instalar por aumento na produção de radicais livres e/ou por redução na capacidade antioxidante. A vitamina C é usada nas dietas de peixes com a finalidade de melhorar o crescimento, a resistência ao estresse e a doenças, assim como a sua sobrevivência de peixes. O presente trabalho avaliou os efeitos antioxidantes da vitamina C em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1875) sobre as enzimas endógenas catalase, superóxido dismutase e a concentração de produtos da peroxidação lipídica por meio da modificação da dieta. Foram utilizados 120 alevinos, com peso inicial de 11,0 g, distribuídos em 24 aquários (70 L), com densidades de 50 e 100 peixes/m³. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, onde foram fornecidos quatro níveis de vitamina C na ração (0, 250, 500 e 750 mg/kg de ração), com 28% de proteína bruta e 3400 kcal/ED/kg. Após a criação de 90 dias, os peixes foram anestesiados com benzocaína e mortos por secção medular, para a retirada do fígado. O órgão foi congelado a -80°C para análises posteriores. Os resultados mostraram que houve aumento na peroxidação lipídica, sugerindo que houve danos ao fígado dos animais e as defesas antioxidantes não foram suficientes para evitar o estresse oxidativo. Na densidade de 50 peixes/m³, a vitamina C pode ser pró-oxidante. Já na densidade 100 peixes/m³, a vitamina C pode ser antioxidante. A atividade da enzima catalase apresentou-se baixa atividade, sugerindo um comprometimento no balanço redox hepático para esta enzima nos animais submetidos à dieta com diferentes níveis de vitamina C. Já a atividade da enzima superóxido dismutase apresentou-se elevada atividade, sugerindo uma proteção no balanço redox hepático para esta enzima, nos animais submetidos à dieta com diferentes níveis de vitamina C.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*, vitamina C, superóxido dismutase, catalase

INTRODUÇÃO

Desde meados de 1970, estudos envolvendo “estresse” têm sido frequentemente realizados no campo da fisiologia de peixes. No ambiente, a resposta ao estresse pode ser vista como a capacidade dos peixes mobilizarem as reservas de energia de forma a evitar ou vencer imediatamente situações de ameaça. Em piscicultura intensiva, a situação de estresse está constantemente presente, e pode afetar o desempenho produtivo dos peixes, prejudicando o estado de saúde e aumentando a suscetibilidade a doenças¹.

O fígado é considerado um órgão-alvo de grande importância para os peixes, pois participa de processos de biotransformações e, por isso, pode ser utilizado nos processos de biomonitoramentos devido, principalmente, à sua alta sensibilidade² a reações diversas, inclusive aquelas envolvidas no balanço redox.

O processo de metabolização é uma importante fonte de espécies reativas de oxigênio (ERO)³, que correspondem aos produtos da redução do oxigênio, como o ânion radical superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$), o radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). As espécies reativas de oxigênio passam a ter um efeito prejudicial ao organismo quando ocorre um aumento excessivo na sua produção ou diminuição de agentes antioxidantes⁴.

Segundo Aruoma⁵, o termo ERO inclui radicais livres como: radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$), radical óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$), radical superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$), radical peroxila ($\text{LOO}\cdot$) e não radicais como: peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ácido hipocloroso (HClO), oxigênio "singlet" ($^1\text{O}_2$) e ozônio (O_3); sendo que existem espécies mais reativas como o radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$), intermediárias, como os radicais peroxilas ($\text{R}(\text{O})\text{O}_2\cdot$) e alcoxilas ($\text{LO}\cdot$), e aquelas que reagem com poucas moléculas, como $\cdot\text{O}_2^-$ e H_2O_2 .

Os radicais livres são espécies químicas ou fragmentos moleculares com um ou mais elétrons desemparelhados em seu último orbital, que lhes rendem alta

reatividade, devido à tendência de permanecerem pareados⁶. Estas substâncias são formadas e degradadas por todos os organismos aeróbicos, produzidos em concentração fisiológica pelo funcionamento celular normal ou em excessivas quantidades sob estresse oxidativo⁷.

Os peixes, assim como os vertebrados superiores, possuem os dois sistemas de defesa endógena: enzimático e não enzimático⁸. Os enzimáticos são compostos por constituintes primários, como as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (Gpx), e por enzimas de ação secundária, como a glutathione redutase, a glicose 6 fosfato desidrogenase e a glutathione S-transferase⁹.

Os antioxidantes exógenos ou provenientes da nutrição (vitaminas C, E, carotenóides) e seus cofatores (cobre, manganês, zinco, selênio, ferro e a riboflavina), também mantêm equilíbrio na produção e controle das espécies reativas¹⁰. A ingestão destes pode ser um fator pré-abate importante na preservação da qualidade dos filés¹¹, pois, através da modificação da alimentação dos peixes, a qualidade do produto final pode ser melhorada, evitando-se alterações na textura, cor, aroma e valor nutritivo decorrentes de reações oxidativas¹².

Existem várias formas de ácido ascórbico e a estabilidade das mesmas tem sido testada nas rações industrializadas para peixes¹³. As formas protegidas (ácido 2-sulfato ascórbico, ácido 2-monofosfato ascórbico, ácido 2-difosfato ascórbico, ácido 2-trifosfato ascórbico) são as mais estáveis e resistentes ao processo de industrialização e armazenamento e podem, desta forma, ser incorporadas em menores quantidades na ração para peixes¹⁴. O ácido ascórbico, na sua forma pura, é bastante instável, sendo facilmente desestabilizado por temperaturas elevadas, luz, umidade, microelementos e lipídeos oxidados¹⁵. Estes fatores também

contribuem para as perdas na sua estabilidade na ração durante o processo de industrialização e posterior armazenamento¹⁶.

A partir do exposto, observa-se que a vitamina C apresenta importância considerável, em razão de ação em vários processos metabólicos. Este composto vitamínico é considerado essencial para a maioria das espécies de peixes, uma vez que estas não o sintetizam, em função da ausência da enzima L-gulonolactona oxidase¹⁷.

Entre as espécies de peixes utilizadas na aquicultura, as tilápias, especialmente as do gênero *Oreochromis*, são algumas das mais promissoras em países de clima tropical ou subtropical¹⁸. À exceção das carpas, as tilápias são os peixes mais cultivados no mundo e no Brasil¹⁹. Tilápias do gênero *Oreochromis*, em especial *Oreochromis niloticus*, têm sido consideradas importantes para as condições de cultivo no Brasil por sua rápida taxa de crescimento, pela adaptabilidade aos diversos sistemas de cultivo e pela alta aceitação no mercado consumidor²⁰.

Dessa forma, essa pesquisa foi conduzida com o objetivo de estudar os efeitos de diferentes níveis de vitamina C na ração de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857), sobre a peroxidação lipídica e atividade das enzimas do estresse oxidativo catalase e superóxido dismutase.

MATERIAL E MÉTODOS

Peixes

O presente experimento foi realizado nas instalações do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, no período de março a junho de 2008. Foram utilizados 120 alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857),

com peso inicial de 11,0 g. Foram avaliados diferentes níveis de suplementação de vitamina C (0, 250, 500 e 750 mg/kg de ração) ver tabela 1, sendo criados em duas densidades de estocagem 50 e 100 peixes/m³, utilizando-se um delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições para cada densidade.

O experimento foi conduzido em um conjunto de 24 aquários de polietileno com capacidade para 70 L, sendo que cada caixa foi considerada como unidade experimental. Os alevinos foram pesados em balança analítica e medidos ao início e ao término do experimento. Os aquários experimentais possuíam aeração contínua para promover a oxigenação da água, com uma troca diária de água de 10% do volume total.

Antes do início do experimento, os peixes foram submetidos a um período de adaptação ao ambiente, ao manejo e à dieta experimental, por 15 dias. Os peixes foram alimentados até a saciedade aparente, “*ad libitum*”, três vezes por dia (8:00h; 12:00h e 17:00h), por 90 dias. Durante este período, os aquários foram limpos diariamente, para a retirada de fezes e sobra de ração. A qualidade da água foi acompanhada a cada semana, através de medidas de temperatura, do pH, por potenciômetro digital, oxigênio dissolvido, por meio de oxímetro digital, quantidade de amônia e nitrato por espectrofotômetro.

Ao final do período experimental, foram capturados três peixes de cada aquário, sendo anestesiados com 50 mg/L de benzocaína²¹, pesados, medidos e abatidos.

Preparo das Rações

A ração foi balanceada para apresentar-se isoprotéica e isoenergética (28 % de proteína bruta e 3400 kcal/ED/kg de ração).

Tabela 1. Ingredientes das rações com níveis diferentes de vitamina C

INGREDIENTES	%	0 mg	%	250 mg	%	500 mg	%	750 mg
Farelo soja	59,3	1777,5	59,8	1794,3	59,8	1794,3	59,8	1794,3
Farinha de peixe	5,5	165,0	5,5	165,0	5,5	165,0	5,5	165,0
Farelo trigo	2,0	60,0	2,5	75,0	2,5	75,0	2,5	75,0
Quirera arroz	27,4	822,0	25,0	750,0	23,8	714,0	22,6	677,1
L - Lisina	0,6	19,2	0,6	19,2	0,6	19,2	0,6	19,2
Óleo soja	0,0	0,0	0,5	15,0	0,9	26,1	1,3	38,1
Fosfato bicálcico	3,0	90,0	3,0	90,0	3,0	90,0	3,0	90,0
Calcário	1,9	55,5	1,9	55,5	1,9	55,5	1,9	55,5
Vitamina C	0,0	0,0	0,8	25,2	1,7	50,1	2,5	75,0
Sal comum	0,1	3,0	0,1	3,0	0,1	3,0	0,1	3,0
Premix vitamínico	0,1	1,8	0,1	1,8	0,1	1,8	0,1	1,8
Premix mineral	0,2	5,4	0,2	5,4	0,2	5,4	0,2	5,4
BHT	0,0	0,6	0,0	0,6	0,0	0,6	0,0	0,6
Total	100,0	3000,0	100,0	3000,0	100,0	3000,0	100,0	3000,0

¹ BHT = Butil hidroxi tolueno, antioxidante;

² Premix vitamínico e mineral: níveis de garantia por kg do produto: Vitaminas: A=1200.000 UI; D3=200.000 UI; E=12.000 mg; K3=2.400 mg; B1=4.800 mg; B2=4.800 mg; B6=4.000 mg; B12=4.800 mg; ac. fólico=1.200 mg; pantotenato de Ca=12.000 mg; biotina=48mg; colina=65.000mg; niacina=24.000mg; minerais: ferro=10.000 mg; cobre=600 mg; manganês=4.000 mg; zinco=6.000 mg; iodo=20 mg; cobalto=2 mg e selênio=20 mg.

Análises - Avaliação do estado redox hepático

Obtenção do Homogenato Hepático

Aproximadamente 100 mg de tecido hepático proveniente de cada animal dos grupos experimentais, previamente armazenados em biofreezer a -80°C, foram descongelados a 4°C. Os fragmentos teciduais foram transferidos para cadinhos de porcelana e pulverizados em nitrogênio líquido. Após esse procedimento, o pó obtido foi transferido para tubos plásticos de 1 mL contendo PBS com concentrações conhecidas de inibidores de proteases (PMSF, apotina e leupetina) e EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético). Em seguida, as amostras foram submetidas a duas centrifugações sequenciadas por 30 minutos, a 4.000 rpm, a 4°C. Após esse procedimento, os sobrenadantes foram aliquotados e armazenados a -80°C, até as mensurações.

Medida da Peroxidação Lipídica

A mensuração do malonildialdeído (MDA), formado como produto da reação de quebra de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), através da detecção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBRAS) é um conveniente método para se determinar o grau de peroxidação lipídica. A formação de malonildialdeído (MDA), pela quebra de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), é um conveniente método para se determinar o grau de peroxidação lipídica. Assim, a mensuração deste metabólito foi realizada em microplaca de acordo com o método descrito por Wallin et al.²², com adaptações realizadas por Rabêlo²³. 100 μL do homogenato hepático, obtido conforme descrito no subitem anterior, foi adicionado, sequencialmente, 10 μL do antioxidante BHT (hidroxitolueno butilado; $[\text{BHT}]_{\text{final}} = 5\text{mM}$) 1250 μL de uma solução do ácido tiobarbitúrico a 1,0% (Sigma[®], USA). Uma curva padrão foi preparada com 190 μL de diferentes concentrações de 1,1,3,3-tetra-metoxi-propano (0-7,5 nmol/L, Sigma[®], USA) e 10 μL de BHT. Em seguida, o produto da reação foi incubado a 95°C. Após 60 minutos, a reação foi interrompida pela imersão das amostras em banho de gelo, por 10 minutos. Em seguida, estas foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos, à temperatura ambiente. A leitura da absorvância foi realizada em um leitor para microplacas (Thermoplate[®]), em comprimento de onda de 530 nm.

Mensuração da Atividade da Catalase

A mensuração da atividade de catalase (CAT) foi realizada em microplaca, de acordo com o método descrito por Cohen et al.²⁴, com adaptações para microplacas. 100 μL do homogenato hepático foram adicionados à placa. Para o início da reação, adicionou-se 20 μL de H_2O_2 (concentração final = 1 mM). Uma curva padrão com

concentrações conhecidas de catalase foi preparada para calcular a concentração desta enzima nas amostras de homogenato de tecido hepático. Os reagentes foram preparados imediatamente antes do início da reação. A concentração de CAT foi normalizada pela concentração tecidual de proteínas²⁵.

Mensuração da Atividade da Superóxido Dismutase

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi determinada no homogenato hepático em microplaca através da utilização de *kit* comercial Fluka[®], conforme instruções do fabricante, utilizando-se o comprimento de onda de 450 nm. O método é baseado na utilização de um sal solúvel em água, o WST-1 (2-(4-Iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-dissulfofenil)-2H tetrazolium, sal monossódico), que é reduzido pelo ânion radical superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$). O produto desta reação é o cromógeno *formazan*. A taxa de redução é linearmente relacionada à atividade da enzima xantina oxidase (XO) que, por sua vez, é inibida pela SOD. A atividade da SOD é, então, expressa como porcentagem de inibição da XO pela SOD. Os dados foram normalizados pelo conteúdo tecidual protéico²⁵.

Determinação de Proteínas

O conteúdo de proteína dos extratos aquosos foi determinado pelo método de Bradford²⁵, utilizando albumina bovina, fração V (Sigma) como padrão.

Análise Estatística

Os dados obtidos foram analisados através do teste de *Mann-Whitney*. Valores de ($p < 0,05$) foram considerados estatisticamente significativos. Os valores de “n” significam o número de animais que foram utilizados no experimento. Para

tabulação e análise estatística dos resultados foram utilizados os programas Excel[®] (Microsoft, Santa Barbara, CA, USA) e Graph Pad Prism[®] 4.0 (San Diego, CA, USA), respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As avaliações bioquímicas são ferramentas utilizadas para se verificar o estado geral de um organismo²⁶. No presente estudo os parâmetros avaliados foram os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), principalmente o malonildialdeído, indicador indireto de peroxidação lipídica, e as atividades das enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD).

Neste trabalho, observou-se o grau de lipoperoxidação no tecido hepático de tilápias alimentadas com níveis diferentes de suplementação de vitamina C e expostas a dois níveis de densidade de estocagem (Figura 1).

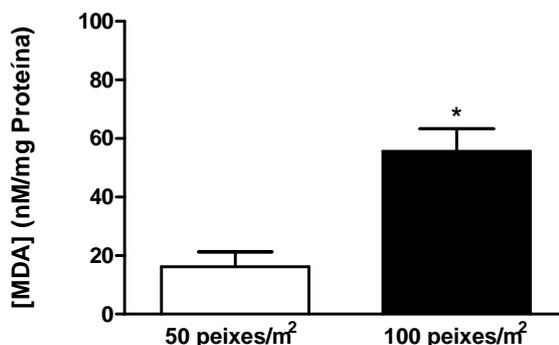


Figura 1: Peroxidação lipídica em concentração de malonildialdeído (MDA) por miligrama de proteína. Comparação entre as duas densidades estudadas. As barras representam as médias e as linhas verticais o erro padrão (n=3). * indica diferença significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$).

Estes resultados sugerem que o aumento nos níveis de peroxidação provavelmente foi gerado pelo estresse oxidativo induzido pelo acréscimo de vitamina C e pela densidade de estocagem. Na densidade de 50 peixes/m³, a

vitamina C administrada na ração parece funcionar como pró-oxidante (Figura 2), particularmente na concentração de 250 mg de vitamina C.

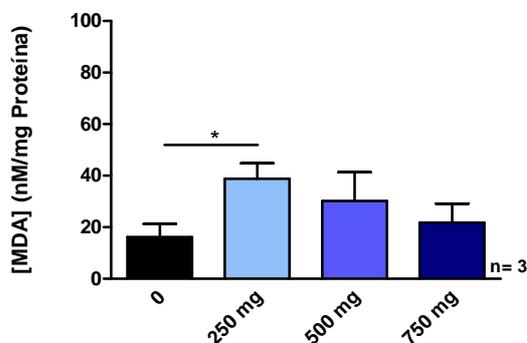


Figura 2: Níveis de peroxidação em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857) alimentadas com dietas de diferentes níveis de vitamina C e criadas na densidade de 50 peixes/m³. As barras representam as médias e as linhas verticais o erro padrão (n=3). * indica diferença significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$).

Em contraste, na densidade 100 peixes/m³, a vitamina C é antioxidante (Figura 3). Somando-se a isso, há um aumento na peroxidação lipídica na densidade de estocagem com 750 mg de suplementação vitamínica, evidenciado pelo aumento do MDA, principal substância reativa ao ácido tiobarbitúrico.

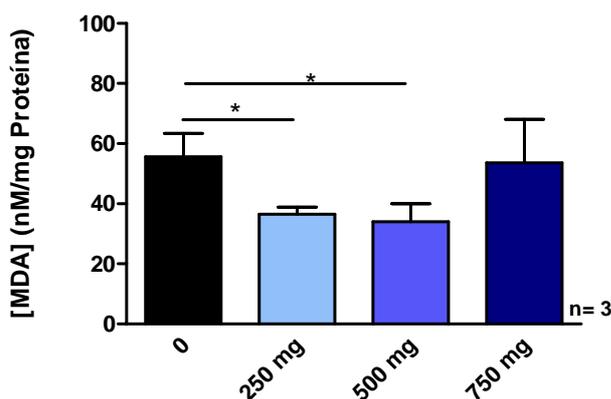


Figura 3: Níveis de peroxidação em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857) alimentadas com dietas de diferentes níveis de vitamina C e criadas na densidade de 100 peixes/m³. As barras representam as médias e as linhas verticais o erro padrão (n=3). * indica diferença significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$).

O aumento dos níveis de peroxidação em tecidos de peixes, como um indicativo de estresse oxidativo, já foi demonstrado na literatura por outros autores. Li et al.²⁷, observaram um aumento de 73% nos níveis de peroxidação no tecido hepático de *Carassius auratus* expostos por 15 dias a 0,4 mg/L do pesticida 3,4 dicloroanilina. Corroborando com esses achados, Moraes et al.²⁸, também observaram níveis elevados de peroxidação em fígado de carpas expostas aos herbicidas clomazone e propanil. Clasen²⁹ observou em carpas (*Cyprinus carpio*) expostas aos inseticidas carbofuran e fipronil, em condições de lavoura de arroz uma relação média de 2,38 a 2,61 (nmol MDA/mg de proteína).

Oliveira³⁰ relatou valores superiores ao encontrado neste trabalho para tambaqui (*Colossoma macropomum*), alimentado com dietas suplementadas por frutas e sementes de áreas alagáveis, destacando-se três dietas, camu-camu (97,6 MDAnM/mg de proteína), munguba (51,9 MDAnM/mg de proteína) e embaúba (54,9 MDAnM/mg de proteína).

Em condições de estresse oxidativo, os níveis de peroxidação dos peixes tendem a aumentar. Isto foi evidenciado em tambaqui (*Colossoma macropomum*) exposto à hipóxia e hiperóxia⁹. Por outro lado, tambaqui (*Colossoma macropomum*), exposto a hipóxia, depois de ter sido alimentado por 60 dias com ácido ascórbico, mostrou tendência a diminuir os níveis de peroxidação, de acordo com o aumento dos níveis de vitamina C empregado (0, 100, 200, 400 mg).

Em situações de estresse, o sistema de destoxificação é ativado para agir contra as modificações químicas, sendo, por sua vez, essenciais à sobrevivência dos organismos³¹. A atividade da CAT dentre das densidades de estocagem avaliadas estão apresentadas na Figura 4. Os dados obtidos no presente estudo mostram que a catalase apresentou uma menor atividade, o nível de 250 mg de

suplementação de vitamina C na densidade de 50 peixes/m³ apresentou 0,39 nM/min⁻¹/mL/mg proteína (Figura 5); já na densidade de 100 peixes/m³, não houve diferença significativa entre os diferentes níveis de suplementação de vitamina C, que apresentaram atividade baixa (Figura 6).

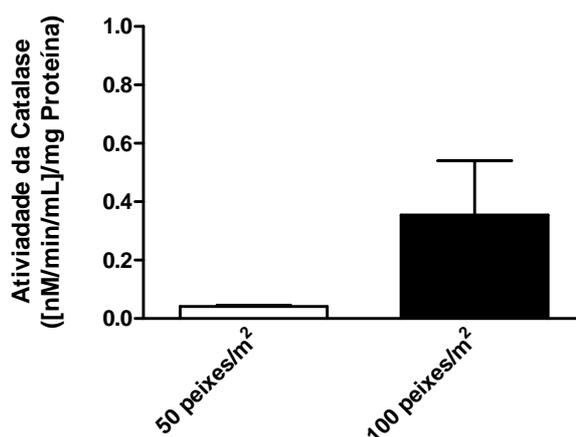


Figura 4: Atividade da catalase em nm/min/mL normalizada pela concentração hepática de proteínas em miligramas. Comparação entre os grupos controle (sem vitamina C) nas duas densidades estudadas. As barras representam a média e as linhas verticais o erro padrão (n=3).

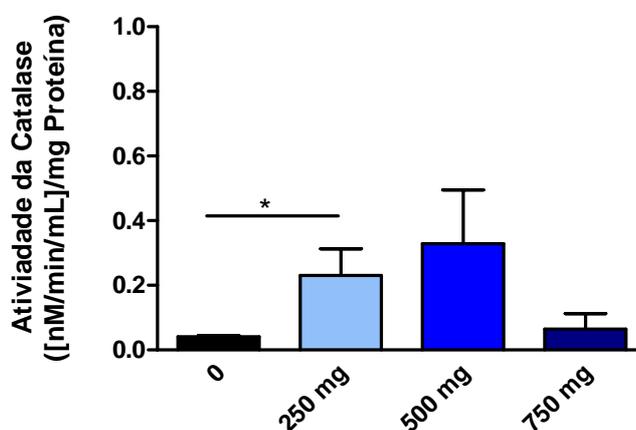


Figura 5: Atividade da catalase em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857) alimentadas com dietas em diferentes níveis de vitamina C e criadas na densidade de estocagem de 50 peixes/m³. As barras representam as médias e as linhas verticais o erro padrão (n=3). * indica diferença significativa em relação ao grupo controle ($p > 0,05$).

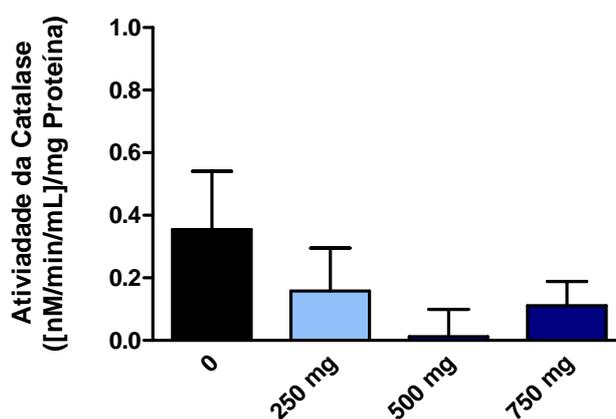


Figura 6: Atividade da catalase em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857) alimentadas com dietas em diferentes níveis de vitamina C e criadas na densidade de estocagem de 100 peixes/m³. As barras representam as médias e as linhas verticais o erro padrão (n=3).

Lucarelli³², trabalhando com tilápia exposta ao sulfato de cobre aquático, observou uma relação média de 3,5 a 5,2 nM/min⁻¹/mL/mg proteína de atividade de CAT. Oliveira³¹ relata atividade superior a encontrada neste trabalho para tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dieta suplementadas por frutas e sementes de áreas alagáveis, destacando a ração com embaúba (0,90 nM/min⁻¹/mL/mg proteína) e camu-camu (0,71 nM/min⁻¹/mL/mg proteína). Valores semelhantes aos desta pesquisa foram observados para os animais alimentados por dieta suplementada com munguba (0,3 nM/min⁻¹/mL/mg proteína).

No trabalho de Viléla³³, os exemplares de curimba (*Prochilodus lineatus*) expostos à concentração de 0,5 ppm de chumbo dissolvido, apresentaram aumento significativo na atividade hepática da enzima catalase, no tempo experimental de 6h (59,0 nmol.min⁻¹.mg proteína). O aumento na atividade da CAT também foi evidenciado no mexilhão de água doce (*Dreissena polymorpha*), coletado no Rio Sena, e no mexilhão marinho (*Mytilus edulis*) na Baía Sena, França, em locais contaminados por metais Pb, Cd, Hg e Ni.^{34,35,36,37}

Em peixes, a atividade da CAT é baixa quando comparada com mamíferos e pássaros³⁸. Segundo Wilhelm-Filho et al.³⁹, é comum observar acatalasemia nos

eritrócitos dos peixes, já que estes organismos parecem utilizar as brânquias como um mecanismo alternativo para eliminação de H_2O_2 . Somando-se a isso, a indução na atividade da catalase sugere uma defesa do organismo frente a agentes oxidantes, pois esta é enzima-chave para remover peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e evitar a formação de radicais hidroxila ($\cdot OH$) que, por sua vez, podem causar danos celulares severos⁴⁰.

A SOD tem papel fundamental no sistema de proteção antioxidante. A reação de dismutação sobre o ânion radical superóxido ($\cdot O_2^-$) constitui um passo relevante no processo de desintoxicação desta espécie produzida durante o metabolismo celular⁴¹.

No presente trabalho, a atividade da SOD, medida como porcentagem de inibição da enzima xantina oxidase (XO), apresentou-se elevada em relação a densidade de estocagem de 100 peixes/ m^3 (10% de inibição XO) (Figura 7).

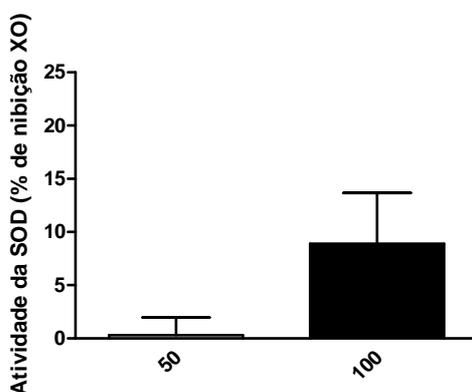


Figura 7: Atividade da superóxido dismutase (SOD) em percentual de inibição da enzima xantina oxidase (XO). Comparação entre os grupos controle (sem vitamina C) nas duas densidades estudadas. As barras representam a média e as linhas verticais o erro padrão (n=3).

A análise dos dados demonstra uma diferença significativa na densidade de 50 peixes/m³, destacando-se o nível de suplementação de 750 mg de vitamina C (15% de inibição XO) (Figura 8).

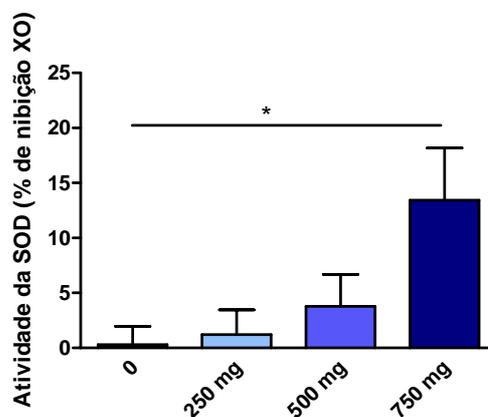


Figura 8: Atividade de SOD em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857) alimentadas com dietas em diferentes níveis de vitamina C e criadas na densidade de estocagem de 50 peixes/m³. As barras representam as médias e as linhas verticais o erro padrão (n=3). * indica diferença significativa em relação ao grupo controle ($p > 0,05$).

Já na densidade de 100 peixes/m³ não foi observada diferença significativa na atividade da SOD entre os diferentes níveis suplementação de vitamina C (Figura 9).

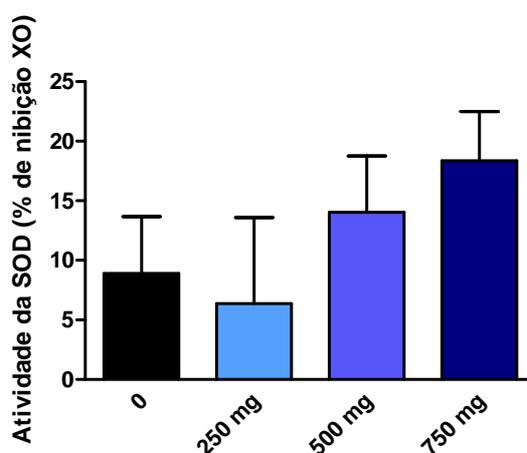


Figura 9: Atividade de SOD em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857) alimentadas com dietas em diferentes níveis de vitamina C e criadas na densidade de estocagem de 100 peixes/m³. As barras representam as médias e as linhas verticais o erro padrão (n=3).

Valores superiores a esse trabalho foram observados por Braun et al.⁴² para a atividade da SOD no fígado de jundiá (*Rhamdia quelen*) exposto a diferentes níveis de oxigênio dissolvido. Lucarelli³², trabalhando com tilápia exposta ao sulfato de cobre aquático, observou uma relação média de 21,2 a 36,6 nM/min⁻¹/mL/mg proteína de atividade de SOD.

CONCLUSÃO

- A avaliação do estado redox, através da medida das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, mostrou aumento significativo na peroxidação lipídica hepática. Entretanto, na densidade de 50 peixes/m³, a vitamina C apresenta um perfil pró-oxidante tecidual. Já na densidade 100 peixes/m³, a vitamina C pode atuar como um antioxidante, visto que, nas condições basais (sem suplementação de vitamina C na dieta), há um aumento na peroxidação lipídica nessa densidade com adição de 750 mg de vitamina C. Indicando a ocorrência de danos oxidativos provavelmente porque as defesas antioxidantes não foram suficientes para evitar os efeitos das ERO.
- A atividade da enzima CAT está aumentada nos homogenatos hepáticos dos peixes alimentados com a dieta suplementada com 250 mg de vitamina C na densidade de 50 peixes/m³. Entretanto, na densidade de 100 peixes/m³ não houve diferença significativa entre os animais alimentados com diferentes níveis de vitamina C, sugerindo um comprometimento no balanço redox hepático para esta enzima nos peixes submetidos à dieta com diferentes níveis de suplementação de vitamina C.

- A atividade da enzima SOD se apresentou elevada em relação às taxas de densidades de estocagem estudadas, evidenciando a densidade de 100 peixes/m³. Observa-se uma diferença significativa na densidade de 50 peixes/m³, destacando-se a concentração de 750 mg de vitamina C. Entretanto, na densidade de 100 peixes/m³ não houve diferença significativa da SOD entre os diferentes níveis de vitamina C, sugerindo uma proteção no balanço redox hepático para esta enzima nos animais submetidos a dieta com diferentes níveis de vitamina C.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e a Companhia de desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (Codevasf) pela doação dos peixes.

ABSTRACT

Oxidative stress can be installed by increased production of free radicals and/or reduction in antioxidant capacity. Vitamin C is used in the diets of fish in order to improve growth, resistance to stress and disease, as well as the survival of fish. This study evaluated the antioxidant effects of vitamin C in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1875) on endogenous enzymes catalase, superoxide dismutase and concentration of lipid peroxidation products by modifying the diet. A total of 120 fingerlings, initial weight of 11.0 g, distributed in 24 tanks (70 L), with densities of 50 and 100 fish/m³. The experimental design was completely randomized, where they were given four levels of vitamin C in the diet (0, 250, 500 and 750 mg/kg diet), with 28% crude protein and 3400 kcal/DE/kg. After the creation of 90 days, fish were anesthetized and killed by spinal section, for the removal of the liver. The body was frozen at -80°C for further analysis. The results showed an increase in lipid peroxidation, suggesting that there was damage to the liver of animals and the antioxidant defenses were not sufficient to prevent oxidative stress. Density of 50 fish/m³, vitamin C can be pro-oxidant. Since the density 100 fish/m³, vitamin C is an antioxidant. The catalase activity of the enzyme showed a low activity, suggesting an impairment in hepatic redox balance for this enzyme in animals subjected to a diet with different levels of vitamin C. The activity of the enzyme superoxide dismutase was high activity, suggesting a protection in the liver redox balance for this enzyme in animals receiving diets with different levels of vitamin C.

Keywords: *Oreochromis niloticus*, vitamin C, superoxide dismutase, catalase

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moyle PB, and Cech JJ. *Fishes: An introduction to ichthyology*. 2Ed. Prentice Hall. Englewood Cliffs, NJ, USA. 1998. 559p.
2. Thophon S, Kruatrachue M, Upatham ES, Pokethitiyook P, Sahaphong S, Jarritkhuan S. Histopathological alterations of White seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environ. Pollut.* 2003; 121.
3. Ruff et al. Distribution of α -tocopherol in fillets of turbot (*Scophthalmus maximus*) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), following dietary α -tocopheryl acetate supplementation. *Aquaculture Nutrition*. 2004; (10): 7581.
4. Wagner H, Elmadfa I. Effects of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil under heating. *Journal of Lipid Science and Technology*. 2001; (103): 624-629.
5. Aruoma OI. Free radicals and food. *Chemistry in Britain*. 1993; (29/3): 210-214.
6. Bryant RJ. Evidence that diet modification reduces oxidation damage in cells. *Food Rap.* 2000; (10): 10.
7. Imai H, Nakagawa Y. Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHG Px, GPx4) in mammalian cells. *Free Radicals and Biology Medicine*. 2003; (34/2): 145-169.
8. Guerriero G, Finizio A, Garcia G. Stress induced changes of plasma antioxidants in aquatic sea bass. *Compendium of Biochemistry and Physiology*. 2002; (132): 205-211.
9. Marcon JL. Estresse oxidativo em duas espécies de teleósteos amazônicos, *Astronotus ocellatus* e *Colossoma macropomum*, expostos as diferentes tensões de oxigênio: uma abordagem comparativa. [Tese de Doutorado] Manaus, Amazonas: Universidade Federal UFAM. 1997. 103p.
10. Hamre et al. Antioxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic Salmon (*Salmo salar*, L.): effects on growth performance and fillet quality. *Aquaculture Nutrition*. 2004; (10): 113-123.
11. Scaife et al. Influence of α -tocopherol acetate on the short and long term storage properties of fillets from Atlantic salmon *Salmo salar* fed a high lipid diet. *Aquaculture Nutrition*. 2000; (6): 6571.

12. Ruff et al. Slaughtering method and dietary tocopherol acetate supplementation affect rigor mortis and fillet shelflife of turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture Research*. 2002b; (33/9): 703.
13. Skelbaek T, Andersen NG, Winning M, Westergaard S. Stability in fish feed and bioavailability to rainbow trout of two ascorbic acid forms. *Aquaculture*. 1990; (84/3-4): 335-343.
14. O'keefe T. 2001. Ascorbic acid and stable ascorbate esters as sources of vitamin C in aquaculture feeds. 2001. Singapore: American Soybean Association – United Soybean Board, 8 p. (ASA Technical Bulletin Vol. AQ48-2001). Disponível em: <<http://www.asasea.com/technical/aq48-2001.html>>. Acesso em: 16 set. 2009.
15. Tacon AGJ. 1987. The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp – A training manual: 1. the essential nutrients. Brasília: FAO, 117 p. (Field Document, 2) TACON, AGJ. Vitamin nutrition in shrimp and fish. In: AQUACULTURE FEED PROCESSING AND NUTRITION WORKSHOP, 1991, Thailand and Indonesia. Proceedings. Singapore: American Soybean Association, 1991. Editado por D. M. Akiyama and R. K. H. Tan.
16. Masumoto T, Hosokawa AH, Shimeno S. 1991. Ascorbic acid's role in aquaculture nutrition. In: AQUACULTURE FEED PROCESSING AND NUTRITION WORKSHOP, 1991, Thailand and Indonesia. Proceedings. Singapore: American Soybean Association, Editado por D. M. Akiyama, R. K. H. Tan.
17. Lovell RT. Nutrition and feeding of fish. 2.Ed. Massachusetts: Academic Press. 1998; 267.
18. Desprez D, Géraz E, Hoareau MC *et al.* Production of a high percentage of male offspring with a natural androgen, 11b-hydroxyandrostenedione (11bOHA4), in Florida red tilapia. *Aquaculture*. 2003; (216): 55-65.
19. Borghetti JR. Aquicultura: uma visão sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no Mundo. Curitiba: GIA, 2003; 129.
20. Boscolo WR, Hayashi C, Soares CM. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases iniciais e de crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2001; (30/5): 1391-1396.
21. Gomes LC, Chippari-Gomes AR, Lopes NP, Roubach R, Araujo-Lima CARM. Efficacy of benzocaine as anesthetic for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). *Journal of the World Aquaculture Society*. 2001; (31): 426-431.

- 22.** Wallin B, Rosengren B, Shertzer HG, Camejo G. Lipoprotein oxidation and measurements of thiobarbituric acid reacting substances formation in single micrititer plate: its use of evaluation of antioxidants. *Analytical Biochemistry*. 1993; 208: 10-15.
- 23.** Rabêlo LA. Disfunção endotelial na aterosclerose: papel do peróxido de hidrogênio e tratamento preventivo com o flavonóide diocleína. [Tese de Doutorado]. Belo Horizonte, Minas Gerais. Universidade Federal de Minas Gerais. 2004.
- 24.** Coehn G, Kim M, Ogwu V. A modified catalase assay suitable a plate reader and for the analysis of brain cell cultures. *Journal of Neuroscience Methods*. 1996; (67):53-56.
- 25.** Bradford MM. An rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 1976; (72): 248-254.
- 26.** Roméo M, Bennani N, Gnassia-Barelli M, Lafaurie M, Girard JP. Cadmium and cooper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquat. Toxicol*. 2000; (48): 185-194.
- 27.** Li W, Yin D, Zhou Y, Hu S, Wang L. 3,4-Dichloroaniline-induced oxidative stress in liver of crucian carp (*Carassius auratus*). *Ecotoxicology Environmental Safety*. 2003; (56): 251-255.
- 28.** Moraes BS, Loro VL, Gluszczak L, Pretto A, Menezes C, Marchezan E, Machado SO. Effects of four rice herbicides on some metabolic and toxicology parameters of teleost fish (*Leporinus obtusidens*). *Chemospher*. 2007; (68): 1597-1601.
- 29.** Clasen BE. biomarcadores de estresse oxidativo em carpas (*cyprinus carpio*) expostas aos inseticidas carbofuran e fipronil em condições de lavoura de arroz. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria - RS, Brasil. 2009.
- 30.** Oliveira AM. Aspectos fisiológicos e bioquímicos do tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818) alimentado com dietas suplementadas por frutas e sementes de áreas alagáveis. [Dissertação de Mestrado]. Manaus-AM- 2005. Universidade Federal do Amazonas.
- 31.** Morrow MD, Higgs D, Kennedy CS. The effects of diet composition and ration on biotransformation enzymes and stress parameters in rainbow trout. *Oncorhynchus mykiss*. *Comp. Biochem. Physiol*. 2004; 137(C): 143-154.
- 32.** Lucarelli ACT. Biomarcadores de estresse oxidativo em tilápia do nilo, *Oreochromis niloticus* (Teleostei; Cichlidae), expostas ao sulfato de cobre

aquático.[Dissertação de Mestrado]. São Carlos – SP. Universidade Federal de São Carlos. 2006

33. Viléla MBFA. Estresse Oxidativo em *Prochilodus lineatus* Expostos ao Chumbo. Universidade Estadual de Londrina. Paraná. [Monografia]. Universidade Estadual de Londrina. Paraná. 2007.

34. Gravato C, Teles M, Oliveir M, Santos MA. Oxidative stress, liver biotransformation and genotoxic effects induced by copper in *Anguilla anguilla* L. – the influence of pre-exposure to b-naphthoflavone. Chem. in Press, 2006.

35. Hansen BH, Romma S, Garmo OA, Olsvik PA, Andersen RA. Antioxidative stress proteins and their gene expression in brown trout (*Salmo trutta*) from three rivers with different heavy metal levels. Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol Pharmacol. 2006; (143): 263-274.

36. Liu JH, Kueh CSW. Biomonitoring of heavy metals and trace organics using the intertidal mussel *Perna viridis* in Hong Kong coastal waters. Mar Pollut Bull. 2005; (51): 857–875.

37. Rocher B, Goff J, Peluhet L, Briand M, Manduzio H, Gallois J, Devier MH, Geffard O, Gricourt L, Augagneur S, Budzinski H, Pottier D, Andre V, Pikkarainen A. Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity and bile metabolites as contamination indicators in Baltic Sea perch: Determination by HPLC, 2006.

38. Passi S, Ricci R, Catardella S, Di Marco P, De Simone F, Rastrelle L. Fatty acid composition and antioxidant levels in muscle tissue of different Mediterranean marine species of fish and shellfish. Journal. Agric. Food. Chem. 2002; (50): 7314-7322.

39. Wilhelm-Filho D, Giulivi C, Boveris A. Antioxidant defense in marine fish. I: Teleosts. Comp. Biochem. Physiol. 1993; 106 (C): 409-413.

40. Sturve J, Hasselberg L, Falth H, Celander M, Förlin L. Effects of North Sea oil and alkylphenols on biomarker responses in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*). Aquat. Toxicol. 2006; (78): 73-78.

41. Barros MM, Pezzato LE, Kleemann GK, Hisano H, Rosa GJM. Níveis de Vitamina C e Ferro para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). R. Bras. Zootec. 2002; (31/6): 2149-2156.

42. Braun N, Lima RL, Flora FD, Lang ME, Bauermann LF, Loro VL, Baldisserotto B. Lipid peroxidation and superoxide dismutase activity in silver catfish (*Rhamdia quelen*) juveniles exposed to different dissolved oxygen levels. Ciência Animal Brasileira, 2008; v. (9/3): 811-814.

CONCLUSÃO GERAL DA TESE

Tendo como base os resultados obtidos, nas condições em que os três experimentos foram realizados, pode-se concluir que: **O estudo sobre a densidade de estocagem** - O aumento da densidade de estocagem influenciou no crescimento dos peixes, sendo que o número de 50 peixes/m³ proporcionou maior valor de rendimento de filé. A densidade de 125 peixes/m³ apresentou teores mais elevados de proteínas, lipídeos totais, cinzas, calorías. Os teores de colesterol para ambas as densidades de estocagem estudadas estão abaixo do limite recomendado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia que é de 200 mg/dia para dieta de indivíduos com hipercolesterolemia e de 300 mg/dia para dieta normal, considerando o consumo de 100 g do filé por dia. Os principais ácidos graxos encontrados em destaque embora, em alguns casos não diferindo estatisticamente foram: saturados (palmítico e esteárico) na densidade de 50 peixes/m³, monoinsaturados (palmitoléico) na densidade de 75 peixes/m³ e (oléico) na menor densidade. Já em relação aos ácidos graxos poliinsaturados da família n-6 (linoléico) na densidade de 100 peixes/m³ e n-3 (α -linolênico) e (EPA) na densidade de 125 peixes/m³ e (DHA) na menor densidade de estocagem. Os peixes criados em ambas as densidades de estocagem apresentaram um filé como uma excelente fonte de ácidos graxos hipocolesterolêmicos e a razão encontrada entre os ácidos graxos n-6:n-3 estão dentro dos padrões recomendados.

No estudo da suplementação da ração com diferentes níveis de vitamina C - A densidade de 50 peixes/m³ foi a melhor e que o nível de 250 mg de vitamina C/kg suplementado na ração apresentou teores mais elevados de proteínas, cinzas e calorías. Enquanto que para os teores de lipídeos totais o maior valor foi observado no nível de suplementação de 750 mg de vitamina C. Os teores de

colesterol para ambas as densidades estudadas e para todos os níveis de suplementação de vitamina C estão abaixo do limite recomendado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia que é de 200 mg/dia para dieta de indivíduos com hipercolesterolemia e de 300 mg/dia para dieta normal, considerando o consumo de 100 g do filé por dia. Os principais ácidos graxos encontrados em destaque foram os saturados, ácido palmítico no nível de suplementação de 250 mg e ácido esteárico no nível de 750 mg de vitamina C. Os monoinsaturados, ácido palmitoléico e ácido oléico foram os principais no nível de 750mg de suplementação vitamínica. Os ácidos graxos poliinsaturados da família n-6, ácido linoléico no nível de 250 mg de vitamina C e o ácido α -linolênico no nível de 750 mg de suplementação vitamínica na ração. O EPA foi detectado em maior quantidade no nível de 250 mg de vitamina C e o DHA no nível de 500 mg de vitamina C na ração. Os filés alimentados com os diferentes níveis de suplementação de vitamina C apresentaram-se como fonte de ácidos graxos hipocolesterolêmicos e a razão encontrada entre os ácidos graxos n-6:n-3 estão dentro dos padrões recomendados.

Em relação ao estado redox - A densidade de 50 peixes/m³, a vitamina C apresenta um perfil pró-oxidante tecidual. Já na densidade 100 peixes/m³, a vitamina C pode atuar como um antioxidante, visto que, nas condições basais (sem suplementação de vitamina C na dieta), há um aumento na peroxidação lipídica nessa densidade com adição de 750 mg de vitamina C. Indicando a ocorrência de danos oxidativos provavelmente porque as defesas antioxidantes não foram suficientes para evitar os efeitos das EROs. A atividade da enzima CAT apresentou uma diminuição em sua atividade, destacando-se em homogenatos hepáticos dos peixes alimentados com a dieta suplementada com 250 mg de vitamina C na densidade de 50 peixes/m³. Entretanto, na densidade de 100 peixes/m³ não houve

diferença significativa entre os animais alimentados com diferentes níveis de vitamina C, sugerindo um comprometimento no balanço redox hepático para esta enzima nos animais submetidos à dieta com diferentes níveis de vitamina C. A atividade da enzima SOD se apresentou elevada em relação às taxas de densidades de estocagem estudadas, evidenciando a densidade de 100 peixes/m³. Diferença significativa foi observada na densidade de 50 peixes/m³, destacando o nível de 750 mg de vitamina C e já na densidade de 100 peixes/m³ não houve diferença significativa da SOD entre os diferentes níveis de vitamina C, sugerindo uma proteção no balanço redox hepático para esta enzima nos animais submetidos a dieta com diferentes níveis de vitamina C.

Os dados contidos neste estudo são muito importantes no ponto de vista nutricional, econômico e poderão contribuir para difundir o consumo de tilápia para adultos, gestantes e crianças devido ao seu valor biológico e a presença de EPA e DHA.

Esperamos que estes resultados contribuam para o fornecimento de uma melhor ração para as Tilápia-do-Nilo, de maneira que os filés produzidos com a suplementação de vitamina C sejam recomendados para o consumo da população como um alimento funcional e alto valor nutricional.

ANEXO I

**ARTIGO ORIGINAL DO CAPÍTULO 2
PUBLICADO NA REVISTA DO INSTITUTO
ADOLFO LUTZ – BRASIL – 2009**

Influência da densidade de estocagem na composição química, no colesterol e no perfil de ácidos graxos em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857)

Influence of stocking density on the chemical composition in cholesterol and fatty acids profile in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857)

RIALA6/1235

Maria Emília da Silva MENEZES^{1*}, Edma Carvalho de MIRANDA¹, Denise Maria PINHEIRO¹, Felipe Tenório CINTRA², Moaceli de Magalhães FREIRE², Cyro Rego CABRAL JÚNIOR³, Antônio Euzébio Goulart SANT'ANA¹

*Endereço para correspondência: Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas
Campus A.C. Simões. Tabuleiro dos Martins. CEP: 57072-970 – Maceió, AL, Brasil.
e-mail: memenezes_2@yahoo.com.br

¹Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas
Maceió, AL, Brasil

²CECA- Universidade Federal de Alagoas - Maceió, AL, Brasil

³Faculdade de Nutrição - Maceió-AL, Brasil.

Recebido: 16.09.2009 – Aceito para publicação: 03.12.2009

RESUMO

Para avaliar a influência da densidade de estocagem na composição química, no valor calórico, no teor de colesterol e no perfil de ácidos graxos em Tilápia s (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1875), foram utilizados 120 alevinos com peso inicial médio de 4,0g, distribuídos em 20 aquários (70L cada um) em delineamento experimental inteiramente casualizado com 4 tratamentos, 50, 75, 100 e 125peixes/m³ e 5 repetições. A ração fornecida continha 36% de proteína bruta e 3100kcal/ED/kg de ração. Ao final do cultivo, encontrou-se diferença significativa ($p < 0,05$) na análise do peso médio final e no ganho de peso total entre as diferentes densidades populacionais testadas, sendo o maior peso encontrado para a densidade de 75peixes/m³. Com relação à análise da composição corporal observou-se diferença ($p < 0,05$) entre as densidades para os teores de umidade; lipídeos totais; teor de proteína bruta, valor calórico e de colesterol. A relação poli-insaturados/saturados foi mais elevada na densidade de 100peixes/m³ (11,76), já a densidade de 50peixes/m³ apresentou um somatório de (6,85) para os teores de EPA+DHA. Na avaliação da qualidade nutricional dos lipídeos, as densidades estudadas mostraram os índices de n-6/n-3, hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos (HH), índice de ácidos graxos poliinsaturados de aterogenicidade (IA) e índice de trombogenicidade (IT) favoráveis quanto ao consumo alimentar. Conclui-se que a densidade de 50peixes/m³ pode ser considerada uma boa fonte de ácidos graxos, principalmente de ácido ômega-3 e pelo seu valor em HH.

Palavras-chave. *Oreochromis niloticus*, densidade de estocagem, composição química, colesterol, ácidos graxos

ABSTRACT

To assess the influence of stocking density on the chemical composition, the calorific value, the content of cholesterol and fatty acids profile in tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1875) were used 120 fingerlings with average initial weight of 4.0 g, distributed in 20 aquaria (70L) in a completely randomized design with 4 treatments, 50, 75, 100 and 125peixes/m³ and 5 replicates. The ration supplied contained 36% crude protein and 3100kcal/ED/kg ration. At the end of cultivation, there was significant difference ($p < 0.05$) in the analysis of the final weight and total weight gain between the different densities tested, the largest weight found for the density of 75peixes/m³. Regarding the analysis of body composition was observed difference (< 0.05) between the densities for the content of moisture, total lipids, crude protein, calorie and cholesterol. The polyunsaturated / saturated density was highest in the 100peixes/m³ (11.76), since the density of 50peixes/m³ presented a sum of (6.85) for the content of EPA+DHA. In assessing the nutritional quality of lipids, the density showed the rates of n-6/n-3, hypocholesterolemic / hypercholesterolemic (HH) index of atherogenicity (IA) and index of thrombogenicity (IT) as favorable for consumption. It is concluded that the density of 50peixes/m³ may be a good source of fatty acids, particularly omega-3 acid and its value in HH.

Key words. *Oreochromis niloticus*, storage density, chemical composition, cholesterol, fatty acids

INTRODUÇÃO

A tilapicultura vem se mostrando uma ótima alternativa para a piscicultura de água doce e estuarina. A expansão do cultivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1875) deve-se ao ótimo desempenho, alta rusticidade, facilidade de obtenção de alevinos, adaptabilidade aos mais diversos sistemas de criação, grande aceitação no mercado de lazer (pesque-pague) e alimentício (frigoríficos) e pelas qualidades nutritivas e organolépticas do seu filé¹.

No desenvolvimento de um pacote de produção para uma espécie de peixe, o primeiro passo é a determinação da densidade de estocagem ideal, a qual visa determinar os níveis ótimos de produtividade por área². Jobling³ relata que a densidade de estocagem tem efeito na sobrevivência e no crescimento, sendo uma possível causa do fracasso na produção final de peixes. Normalmente, peixes criados em baixas densidades de estocagem apresentam boa taxa de crescimento e alta porcentagem de sobrevivência, porém a produção por área é baixa⁴, caracterizando baixo aproveitamento da área disponível. Por sua vez, peixes mantidos em altas densidades normalmente têm menor crescimento⁵, ficam estressados⁶ e estão sujeitos ao aparecimento de interações sociais que levam à produção de um lote de peixes com tamanho heterogêneo⁷.

Entre as espécies de peixes utilizadas na aquicultura, as tilápias, especialmente do gênero *Oreochromis*, são algumas das mais promissoras em países de clima tropical ou subtropical^{8,9}. Tilápias do gênero *Oreochromis*, em especial *Oreochromis niloticus*, têm sido consideradas importantes para as condições de cultivo no Brasil por sua rápida taxa de crescimento, pela adaptabilidade aos diversos sistemas de cultivo e pela alta aceitação no mercado consumidor^{10,11}.

O pescado é de extrema importância na dieta alimentar por sua riqueza de nutrientes, alto teor protéico, contendo uma composição de aminoácidos equilibrada, lipídeos de excelente qualidade e baixo teor de colesterol¹². O conhecimento da composição química, no valor de colesterol e no perfil de ácidos graxos do filé da tilápia é necessário para que o seu consumo possa ser estimulado, possibilitando a competição com outras fontes protéicas largamente utilizadas como a de carne bovina, suína e de aves.

A natureza e proporção dos ácidos graxos na dieta também influenciam na concentração do colesterol

sérico, sendo que os ácidos graxos saturados tendem a elevá-lo, enquanto os ácidos graxos poli-insaturados promovem sua diminuição¹³. As pesquisas nutricionais e epidemiológicas revelam que a proporção entre ácidos graxos poli-insaturados n-6 e n-3 na dieta é tão importante para as funções fisiológicas e prevenção de doenças quanto à proporção entre ácidos graxos saturados e insaturados¹⁴.

Em peixes de água doce, os ácidos graxos alfa-linolênico (LNA) e linoléico (LA) são precursores de outros ácidos das famílias ômega 3 e 6, respectivamente. Portanto, a composição em ácidos graxos da ração fornecida para uma determinada espécie de peixe determinará a composição em ácidos graxos dos lipídeos dos peixes. A constatação epidemiológica de que o consumo de peixes é capaz de reduzir riscos de doenças coronarianas torna a carne de pescado um alimento importante, não apenas como alternativa alimentar de alto valor nutritivo, mas ainda de consumo de um alimento funcional¹⁵.

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência de diferentes níveis de densidades de estocagem na composição centesimal, no valor calórico, no teor de colesterol e no perfil de ácidos graxos em alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857).

MATERIAL E MÉTODOS

Peixes

O presente experimento foi realizado nas instalações do Laboratório de Aquicultura do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, no período de agosto a outubro de 2007. Foram utilizados 120 alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857), com peso inicial médio de 4,0g. Foram avaliadas diferentes densidades de estocagem, utilizando-se um delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos: 50, 75, 100 e 125peixes/m³ e 5 repetições.

O experimento foi conduzido em um conjunto de 20 aquários de polietileno com capacidade para 70L, sendo que cada caixa foi considerado como unidade experimental. Os alevinos foram pesados em balança analítica e medidos ao início e ao término do experimento. Os aquários experimentais possuíam aeração contínua para promover a oxigenação da água, com uma troca diária de água de 10% do volume total.

Antes do início do experimento, os animais foram submetidos a um período de adaptação ao ambiente, ao

manejo e à dieta experimental, por 15 dias. Os peixes foram alimentados até a saciedade aparente três vezes por dia (8:00h; 12:00h e 17:00h) “*ad libitum*”, por 90 dias, durante este período, os aquários foram limpos diariamente, para a retirada de fezes e sobra de ração. A qualidade da água foi acompanhada a cada semana, através das medidas de temperatura, do pH por potenciômetro digital, oxigênio dissolvido por meio de oxímetro digital, quantidade de amônia e nitrato por espectrofotômetro.

Ao final do período experimental foram capturados três peixes de cada aquário, sendo anestesiados com 50mg/L de benzocaína¹⁶, pesados, medidos e abatidos. As seguintes características de desempenho foram estudadas: peso final (g); ganho de peso (%); conversão alimentar aparente (consumo de ração ÷ ganho em biomassa); taxa de crescimento específico (%/dia); índice de massa de filé; rendimento de filé e rendimento de carcaça eviscerada.

Preparo da Ração

A ração foi balanceada para apresentar-se isoprotéica e isoenergética (36% de proteína bruta e 3100kcal/ED/kg de ração), conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Composição percentual e química da dieta experimental

Ingredientes	Quantidade em (g)
Farelo de soja	1.725,00
Farinha de peixe	155,00
Farelo de trigo	60,00
Quirera de arroz	822,00
L-lisina	21,00
DL- metionina	13,50
CrO ₃	3,00
Treonina	12,00
Óleo de soja	15,00
Fosfato bicálcico	90,00
Calcário	55,50
Vitamina C	2,40
Sal comum	3,00
Premix vitamínico	3,00
Premix mineral	9,00
BHT (antioxidante)	0,6

Tabela 2. Composição bromatológica da ração experimental

Composição Centesimal (g/100g de porção)*	Ração Basal Experimental
Umidade	7,0 ± 0,28
Lipídeos totais	0,7 ± 0
Proteína bruta	32,4 ± 0,14
Cinzas	22,5 ± 3,11
Fibra bruta	7,4 ± 1,0
Carboidratos	30,0 ± 2,3
Calorias (kcal)	255,8 ± 9,76

*Analisadas em triplicata, com a média e o desvio-padrão.

Análises Químicas

Após homogeneização, realizaram-se as seguintes determinações em triplicata: Umidade: determinada pela perda de peso em estufa regulada a 105°C, segundo AOAC¹⁷. Cinzas: obtidas por incineração de uma quantidade conhecida da amostra, em mufla a 550°C, até obtenção de peso constante AOAC¹⁷. Proteínas: determinadas pelo método Kjeldhal, que consiste na determinação do nitrogênio total. Para converter o resultado em proteína bruta foi utilizado o fator 6,25 AOAC¹⁷. Os carboidratos foram determinados por diferença. O valor calórico foi estimado através dos fatores de conversão de Atwater: 4kcal.g⁻¹ para proteínas, 4kcal.g⁻¹ para carboidratos e 9kcal.g⁻¹ para lipídeos¹⁸. Lipídeos totais: extraídos a frio pelo método de Folch et al.¹⁹ utilizando 2 extrações com clorofórmio:metanol (2:1), lavagem do resíduo (clorofórmio:metanol – 2:1), adição de KCl 0,88% em H₂O, separação das fases, adição de metanol: H₂O (1:1), evaporação de clorofórmio em rota-evaporador, fração lipídica ressuspendida em clorofórmio. Alíquotas foram tomadas para determinações gravimétricas. (Tabela 2)

Para a determinação de colesterol uma alíquota de 2,5ml do extrato lipídico obtido pelo método de Folch foi tomada para análise, segundo o procedimento de Bohch et al.²⁰, através de saponificação, extração da matéria insaponificável, reação de cor, leitura da absorbância em espectrofotômetro a 490nm, contra um branco. A curva de calibração para colesterol foi elaborada segundo Searcy e Bergquist²¹, utilizando-se 0,06g de colesterol (Sigma P. A., St. Louis, MO) diluído em 100mL da solução acetona/etanol (1:1) (50mL de acetona P. A. e 50mL de etanol). De acordo com a curva padrão obteve-se a equação $\hat{y} = 1,1608x$; $R^2 = 0,9948$, passando pela origem e cobriu a faixa de concentração das amostras.

O perfil de ácidos graxos foi determinado inicialmente com a extração lipídica feita através do método Folch et al.¹⁹. Os lipídeos totais foram esterificados segundo Hartman e Lago²². Os ésteres metílicos foram analisados no Laboratório de Produtos Naturais do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, utilizando-se um cromatógrafo a gás Shimadzu, modelo GC-17A, equipado com uma coluna capilar DB-5, série us 1352151h, com 30m de comprimento, 0,25µm de espessura e 0,25mm de diâmetro interno. Foi utilizado Hélio (He) como gás de arraste a um fluxo de 1mL.min⁻¹ e pressão de 50kPa. A temperatura inicial foi de 50°C que permaneceu constante durante 2min, em seguida sofreu um aumento de temperatura até atingir 250°C a uma velocidade de 4°Cmin⁻¹ permanecendo constante durante 15min. O tempo total de análise foi de 67min. As temperaturas do injetor e da interface foram mantidas a 250°C e 310°C respectivamente. O modo de controle de injeção foi o Split, com razão de 30:1. Foram obtidos os espectros de massas por impacto eletrônico (IE) a 70eV. Para a identificação dos ácidos graxos foram utilizados padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos puros, comparando-se o tempo de retenção dos ésteres metílicos das amostras e dos padrões. A quantificação dos ácidos graxos foi feita por normalização de área.

A qualidade nutricional da fração lipídica foi avaliada por três índices a partir dos dados de composição em ácidos graxos, através dos seguintes cálculos: Índice de Aterogenicidade (IA) = [(C12:0 + (4 X C14:0) + C16:0)] / (ΣAGMI + Σn6 + Σn3); Índice de Trombogenicidade (IT) = (C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 X Σ AGMI) + (0,5 X Σn6 + (3 X Σn3) + (Σn3/Σn6)], segundo Ulbricht e Southgate²³; e razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) = (C18:1n9 + C18:2n6 + C20:4n6 + C18:3n6 + C20:5n3 + C22:5n3 + C22:6n3) / (C14:0 + C16:0), segundo Santos-Silva et al.²⁴. Em que: AGMI = todos os ácidos monoinsaturados.

Análise Estatística

Foram observadas as pressuposições paramétricas de normalidade (teste de Lilliefors) e homogeneidade das variâncias dos resíduos (teste de Levene), ambos com >0,05. Assim, realizou-se análise de variância para verificar a existência ou não de diferença significativa. Para a comparação múltipla entre as médias dos tratamentos utilizou-se o teste *Post-hoc* de Tukey-HSD. Adotou-se como nível de significância valores menores que 5% de probabilidade para o erro experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental a qualidade da água permaneceu estável sendo que os valores médios dos parâmetros físico-químicos apresentados na Tabela 3, encontram-se dentro dos recomendados para o cultivo da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* LINNAEUS, 1857), de acordo Kubitzka²⁵.

Tabela 3. Valores médios dos parâmetros de qualidade da água, durante o período experimental de 90 dias (amostragens a cada sete dias), da criação de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857)

Parâmetros Ambientais Monitorados	Média *
Potencial hidrogeniônico (pH)	7,2 ± 0,2
Temperatura (°C)	26,6 ± 1,1
Nitrato (N-NO ₃) (mg/L)	0,05 ± 0,008
Oxigênio dissolvido (mg/L)	6,7 ± 0,5
Amônia total (NH ₃ + NH ₄ ⁺) (mg/L)	0,004 ± 0,0003

*Analisadas em triplicada, com a média e o desvio-padrão.

Os resultados apresentados na Tabela 4 demonstram que ao final do cultivo, houve diferença significativa na análise do peso médio final nas diferentes densidades populacionais testadas, levando a diferença significativa no ganho de peso total, observa-se que os maiores valores obtidos para o ganho de peso foi quando a densidade de estocagem foi de 75peixes/m³. Resultados contrários foram obtidos por Silva et al.²⁶ para desempenho produtivo da tilápia em diferentes densidades (90, 120 e 150peixes/m³) e trocas de água em "raceway" com variação de 419,41 a 497,03. Os resultados obtidos no experimento mostram que a limitação de espaço imposta a tilápia implicou na diminuição do ganho de peso com o aumento da densidade de estocagem.

A pior conversão alimentar aparente (p<0,05) foi encontrada para os animais criados na mais alta densidade (3,53), sendo que para as outras densidades não houve diferenças (p<0,05), valores semelhantes foram às outras densidades estudadas foram detectados por Sampaio e Braga²⁷ (1,54 e 1,53) para densidades de 150 e 200peixes/m³ respectivamente, na fase de engorda de tilápia em tanque-rede.

Tabela 4. Parâmetros zootécnicos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) em diferentes densidades de estocagem

Parâmetros	Densidades de Estocagem (peixes/ m ³)				
	50	75	100	125	CV (%)
Peso final (g)	22,75 ^a	46,90 ^b	33,08 ^c	12,35 ^d	18,19
Ganho de peso (%)	17,91 ^a	41,98 ^b	28,72 ^c	9,10 ^d	21,39
Conversão alimentar aparente	1,59 ^a	1,31 ^a	1,51 ^a	3,53 ^b	31,76
Taxa de crescimento específico (%pv/dia)	1,72 ^a	2,49 ^b	2,23 ^b	1,45 ^a	10,01
Índice de massa de filé	7,66 ^a	15,2 ^b	8,2 ^a	2,66 ^c	16,31
Rendimento de filé	33,70 ^a	32,56 ^a	24,77 ^b	21,58 ^a	6,12
Rendimento de carcaça eviscerada	92,35 ^{ab}	96,67 ^c	94,72 ^{bc}	90,54 ^a	2,45

Valores na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste *Post-hoc* de Tukey-HSD.

CV= coeficiente de variação.

Para a taxa de crescimento, os resultados demonstram que houve diferença ($p < 0,05$), onde os melhores valores foram aqueles para as densidades de criação entre 50 e 75 peixes/m³, cujos valores foram maiores do que aqueles encontrados para a maior e menor densidade (1,72 e 1,42 respectivamente). (Tabela 4)

O rendimento de filé da tilápia depende de fatores diversos, entre eles: condição corporal e tamanho do peixe, método de filetagem e habilidade técnica do filetador (Kubitza, 2000)²⁵. Na literatura são encontrados rendimentos de filé sem pele de tilápia do Nilo variando de 25,4 a 42%²⁷. Neste estudo, a maior média para rendimento de filé foi encontrada na densidade de 50 peixes/m³. (Tabela 4)

Os teores de umidade, lipídeos totais, cinzas, proteína bruta, carboidratos e valor calórico dos filés nas diferentes densidades, estão apresentados na Tabela 5. Nesta, observa-se diferença ($p < 0,05$) para a composição corporal dos animais criado nas diferentes densidades.

Para os teores de umidade, apenas os animais criados na mais alta densidade (125 peixes/m³) apresentou a menor taxa ($p < 0,05$) de umidade (68,33%). Os resultados encontrados para a umidade são semelhantes àqueles relatados por Ogawa e Maia²⁸, quando descrevem que o músculo do pescado contém teores de umidade variando de 60 a 85%. Leonhardt et al.²⁹ apresentaram a composição

do filé de duas espécies (tilápia vermelha e tilápia do Nilo) demonstrando valores de 79,20 e 78,43%.

No que diz respeito aos teores de proteína bruta houve diferença ($p < 0,05$) entre as densidades, destacando-se a densidade de 125 peixes/m³. Leonhardt et al.²⁹ encontraram teores variando de 18,47 a 19,33%. Segundo Kirk e Sawyer³⁰, quando o método de Kjeldhal é empregado, a composição centesimal total pode ultrapassar os 100%, devido a multiplicação do nitrogênio por 6,25, o que foi observado no presente trabalho. (Tabela 5)

Com relação aos lipídeos totais (BU) houve uma variação de 1 a 3%, observa-se que à medida que a densidade aumentou esta variável também foi incrementada, demonstrando que uma maior população de animais leva a um aumento na quantidade de gordura corpórea. Porém segundo Penfield e Campbell³¹, os peixes deste presente trabalho podem ser classificados quanto ao teor de gordura em magros (abaixo de 5% de gordura). Omena et al.³² estudando níveis diferentes de farelo de coco em tilápias detectaram uma variação de 1,15 a 1,81%. (Tabela 5)

No que diz respeito às cinzas, as densidades de 75 e 125 peixes/m³ apresentaram o maior percentual (2,0%), em base úmida, havendo similaridade estatística ($p < 0,05$) em base seca para as duas espécies. As amostras estiveram dentro da faixa de 1,0 a 2,0% referidas na literatura^{33,34}. Minozzo³⁵ ao estudar a composição centesimal de tilápia

Tabela 5. Composição centesimal e valor calórico do filé de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) em diferentes densidades de estocagem

Composição Centesimal (g/100g de porção comestível)*	Densidades de Estocagem				CV (%)
	50 (Peixes/m ³)	75 (Peixes/m ³)	100 (Peixes/m ³)	125 (Peixes/m ³)	
Umidade	74,00 ± 0,8 ^a	73,66 ± 0,8 ^a	73,00 ± 0,9 ^a	68,33 ± 0,6 ^b	0,89
Proteína bruta (BU)	20,00 ± 0,2	21,33 ± 0,3	22,33 ± 0,5	25,33 ± 0,3	2,25
Proteína bruta (BS)	76,66 ± 2,7 ^a	81,33 ± 1,4 ^{ab}	83,00 ± 1,5 ^b	80,00 ± 0,7 ^{ab}	2,47
Lípideos totais (BU)	1,00 ± 0,1	1,00 ± 0,1	2,00 ± 0,2	3,00 ± 0,2	0,0
Lípideos totais (BS)	3,00 ± 0,2 ^a	5,00 ± 0,3 ^b	7,00 ± 0,3 ^c	8,66 ± 0,3 ^d	4,88
Carboidratos (BU)	3,66 ± 0,5	1,66 ± 0,2	1,00 ± 0,4	1,33 ± 0,5	26,09
Carboidratos (BS)	15,66 ± 1,5 ^a	5,66 ± 0,6 ^b	3,66 ± 1,3 ^b	5,00 ± 1,4 ^b	16,33
Cinzas (BU)	1,00 ± 0,2	2,00 ± 0,2	1,66 ± 0,2	2,00 ± 0,2	17,32
Cinzas (BS)	4,66 ± 0,5 ^a	7,00 ± 0,8 ^b	6,00 ± 0,6 ^{ab}	7,00 ± 0,4 ^b	12,39
Valor calórico (kcal)	101,66 ± 3,0 ^a	102,33 ± 1,4 ^a	111,00 ± 3,4 ^b	132,00 ± 2,7 ^c	1,93

*Analisadas 36 amostras com 3 repetições por densidades, com a média e o desvio-padrão. Valores na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste *Post-hoc* de Tukey-HSD. BU = Base úmida; BS = Base seca e CV = Coeficiente de Variação.

do Nilo observou variações nos teores de cinzas de 0,7 a 3,1%. (Tabela 5)

O maior valor calórico foi encontrado na densidade de 125peixes/m³ (132kcal) e o menor na densidade de 50peixes/m³ (101,66kcal). (Tabela 6)

Esses resultados permitiram classificar os filés por densidades estudadas na categoria D (gordura < 5,0%; proteína > 20,0%)³⁶. Portanto, sob o ponto de vista nutricional, o valor desses filés é excepcional, visto que podem ser utilizados na elaboração de dietas para pacientes obesos, diabéticos e que apresentem doenças crônicas, como câncer e problemas cardiovasculares, além de serem eficazes cardioprotetores, têm apresentado bons resultados no tratamento de pessoas com distúrbios depressivos e psíquicos.

Os resultados obtidos referentes ao teor de colesterol em base úmida para os filés nas diferentes densidades de estocagem estão apresentados da Tabela 6. Observa-se diferença ($p < 0,05$) entre as densidades. A densidade de 50peixes/m³ apresentou o menor teor de colesterol (41,33mg/100g) e o maior nível foi detectado na densidade de 125peixes/m³ (79,33mg/100g). Os resultados encontrados são superiores àqueles relatados por Ferreira

et al.³⁷ que encontrou o teor de colesterol de 33mg/100g para o filé de tilápia do Nilo *in natura* criada em tanque de terra e alimentada com ração comercial. Omena et

Tabela 6. Teores de colesterol em filé de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) em diferentes densidades de estocagem

Densidades de Estocagem	Teores (mg/100g)*
50 peixes/m ³ (BU)	41,33 ± 3,5
50 peixes/m ³ (BS)	160,20 ± 17,2 ^a
75 peixes/m ³ (BU)	55,33 ± 3,5
75 peixes/m ³ (BS)	211,64 ± 15 ^b
100 peixes/m ³ (BU)	69,00 ± 3,5
100 peixes/m ³ (BS)	251,3 ± 5,1 ^c
125 peixes/m ³ (BU)	79,33 ± 3,5
125 peixes/m ³ (BS)	250,83 ± 9,5 ^d

*Analisadas 36 amostras com 3 repetições por densidades, com a média e o desvio-padrão. Valores na mesma coluna com letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste *Post-hoc* de Tukey-HSD. BU = Base úmida; BS = Base seca.

al.³² detectou teores superiores com variação de 91,06 a 162mg/100g para filé de tilápia do Nilo alimentadas com rações contendo diferentes níveis de farelo de coco. Apesar do acréscimo do colesterol com o aumento da densidade de estocagem, os teores de colesterol para ambas as densidades estudadas estão abaixo do limite recomendado pela literatura que é de 300mg/dia para dieta humana.

A Tabela 7 apresenta o perfil de ácidos graxos encontrados nas diferentes densidades de estocagem. Dentre os ácidos graxos saturados (AGS) houve predominância do ácido graxo esteárico (C18:0), em relação aos demais AGS. Luzia et al.³⁸ observando a influência do verão e inverno, verificaram para tilápia no verão e no inverno teores de 14,1% e 13,1% respectivamente. Omena et al.³² detectaram valores inferiores a este estudo em tilápias alimentadas com diferentes níveis de farelo de coco. Denke e Grund³⁹ mostraram que a gordura rica em ácido esteárico não eleva os níveis de colesterol total em comparação com a dieta rica em ácido oleico.

O ácido graxo palmítico (C16:0) foi detectado em baixa concentração não havendo diferença ($p < 0,05$) entre as densidades (Tabela 7). Teores mais elevados deste ácido foram encontrados por Nova et al.⁴⁰ para a tilápia (22,0%), Menezes et al.⁴¹ em espécies de peixes da Lagoa Mundaú (tainha 12,97% e camurim 14,38%) e por Omena et al.³² com uma variação de 18,76 a 20,59% em tilápias alimentadas com rações contendo diferentes níveis de farelo de coco. Acredita-se que esse ácido graxo seja um dos principais responsáveis pelo aumento do colesterol sérico⁴², visto que a concentração deste esteróide dobra quando o consumo de ácidos graxos saturados é maior que o de ácidos graxos poli-insaturados⁴³. Isto evidencia, portanto, que os peixes deste estudo apresentaram vantagens em relação às espécies de água doce mencionadas.

Os ácidos graxos láurico (C12:0) e o mirístico (C14:0) foram detectados em pequenas concentrações em ambas as densidades estudadas demonstrando um fator positivo destes filés pois, tal ácido graxo promove hipercolesterolemia⁴⁴. Teores elevados foram observados por Menezes et al.⁴¹ e por Omena et al.³².

Os ácidos graxos monoinsaturados foram mais abundantes na menor densidade (52,9), particularmente o palmitoléico e oléico na densidade de 75peixes/m³, sendo esse último considerado importante sob o ponto de vista nutricional devido aos seus efeitos benéficos citados na revisão de Lira et al.⁴². Omena et al.³² detectaram valores inferiores em

tilápias alimentadas com rações contendo diferentes níveis de farelo de coco. Os ácidos graxos monoinsaturados têm efeito hipocolesterolêmico intermediário⁴⁵.

Quanto aos ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), os níveis de ácido α -linolênico (C18:3 ω -3) detectados em ambas as densidades foram mais elevados que os encontrados por Omena et al.³² em tilápias alimentadas com rações contendo diferentes níveis de farelo de coco. O (C18:3 ω -3) é importante na modulação do metabolismo do ácido araquidônico (C20:4 ω -6), com conseqüente redução da agregação plaquetária⁴⁶.

Levando em consideração os benefícios conhecidos à saúde humana atribuída à ingestão de ácido eicosapentaenóico (20:5n-3, EPA) e o DHA (Ácido docosahexaenóico), determinou-se a soma desses dois ácidos visando uma avaliação da qualidade nutricional das espécies estudadas. SU et al.⁴⁷, relataram que os ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3 (EPA e DHA), além de serem eficazes na prevenção de doenças coronarianas, tem apresentado bons resultados no tratamento de pessoas com distúrbios depressivos e psíquicos. O somatório de EPA e DHA encontrado para as densidades estudadas foram na faixa de 4,06% a 6,85% com destaque para a densidade de 50peixes/m³. Valor superior foi detectado por Menezes et al.⁴¹ em tainha da Lagoa Mundaú (10,47).

A qualidade nutricional do perfil lipídico avaliada por diferentes índices encontra-se descrita na Tabela 8. Alimentos que apresentam a razão de ácidos graxos poli-insaturados e saturados (P/S) abaixo de 0,45 têm sido considerados como indesejáveis à dieta pelo Department of Health and Social Security⁴⁸, por sua potencialidade na indução do aumento de colesterol sanguíneo. Nas densidades estudadas esta razão variou de 1,15 na densidade de 125peixes/m³ e 11,76 na densidade de 100peixes/m³. Menezes et al.⁴¹ detectaram valores inferiores em peixes de água salgada, no entanto, o índice P/S avaliado isoladamente tem recebido restrições, uma vez que não considera os efeitos metabólicos dos ácidos graxos monoinsaturados⁴⁶.

Considerando a razão n-6/n-3, valores abaixo de 4,0 sugerem quantidades desejáveis à dieta para a prevenção de riscos cardiovasculares⁴⁸. A relação n-6/n-3 encontrado nesta pesquisa ficou acima do preconizado pela literatura, os resultados encontrados promovem as densidades estudadas à categoria de potencialmente saudáveis destacando-se a de 100peixes/m³. A razão n-6/n-3 observada no presente estudo é inferior a de outras espécies de água doce relatadas por Moreira et al.⁴⁹

Tabela 7. Perfil dos ácidos graxos presentes nos filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) em diferentes densidades de estocagem, valores expressos em porcentagem de área relativa

Tipos de Ácidos Graxos	Teores (% por área) – Densidades de Estocagem*			
	50	75	100	125
A. Saturados				
C12:0	0,54 ± 0,04 ^a	0,97 ± 0,86 ^a	0,78 ± 0,13 ^a	0,40 ± 0,18 ^a
C14:0	2,04 ± 0,35 ^a	0,46 ± 0,26 ^b	0,87 ± 0,13 ^b	1,09 ± 0,06 ^b
C15:0	0,99 ± 0,12 ^a	0,38 ± 0,21 ^b	0,32 ± 0,06 ^b	0,62 ± 0,06 ^a
C16:0	2,31 ± 1,56 ^a	1,50 ± 1,25 ^a	1,63 ± 0,14 ^a	2,04 ± 0,05 ^a
C17:0	0,19 ± 0,08 ^a	1,13 ± 0,45 ^a	1,35 ± 0,09 ^a	0,85 ± 0,98 ^a
C18:0	14,66 ± 0,16 ^a	10,22 ± 1,24 ^a	0,36 ± 0,11 ^a	16,28 ± 1,13 ^a
C20:0	0,52 ± 0,04 ^a	1,76 ± 0,95 ^a	1,10 ± 0,18 ^a	0,62 ± 0,06 ^a
Total	21,25	15,18	6,41	21,9
B. Monoinsaturados				
C14:1 n-7	0,45 ± 0,1 ^a	1,86 ± 0,22 ^b	2,01 ± 0,47 ^b	0,28 ± 0,11 ^a
C16:1 n-7	24,76 ± 6,16 ^a	27,71 ± 0,47 ^a	3,44 ± 0,49 ^b	20,91 ± 1,84 ^a
C17:1 n-7	0,48 ± 0,08 ^a	0,27 ± 0,02 ^a	1,08 ± 0,17 ^b	0,43 ± 0,08 ^a
C18:1 n-9	21,62 ± 0,13 ^a	16,98 ± 3,69 ^a	13,45 ± 1,03 ^a	19,60 ± 0,45 ^a
C20:1 n-9	5,59 ± 0,04 ^a	2,31 ± 2,27 ^a	0,45 ± 0,11 ^b	6,39 ± 0,08 ^a
Total	52,9	48,58	20,43	47,61
C. Poli-insaturados				
C16:2 n-7	1,24 ± 0,04 ^a	21,65 ± 0,74 ^b	27,93 ± 0,12 ^c	21,13 ± 0,3 ^b
C18:2 n-6	5,44 ± 0,08 ^a	17,04 ± 2,69 ^b	22,81 ± 1,92 ^b	5,71 ± 0,47 ^a
C18:3 n-3	5,86 ± 0,65 ^a	6,54 ± 2,08 ^a	6,45 ± 1,22 ^a	7,09 ± 0,42 ^a
C18:4 n-3	0,87 ± 0,24 ^a	8,10 ± 0,47 ^b	5,19 ± 1,92 ^b	1,11 ± 0,02 ^a
C20:2 n-6	0,90 ± 0,04 ^a	6,13 ± 0,56 ^b	5,57 ± 0,76 ^b	0,75 ± 0,04 ^a
C20:3 n-3	2,21 ± 0,36 ^a	0,95 ± 0,19 ^b	0,69 ± 0,16 ^b	2,02 ± 0,05 ^a
C20:4 n-6	0,38 ± 0,13 ^a	1,96 ± 0,32 ^a	1,14 ± 0,06 ^b	0,27 ± 0,03 ^a
C20:5 EPA n-3	0,87 ± 0,04 ^a	0,70 ± 0,19 ^a	0,63 ± 0,11 ^a	0,89 ± 0,03 ^a
C22:5 n-3	1,23 ± 0,21 ^a	0,89 ± 0,05 ^a	1,01 ± 0,02 ^a	0,83 ± 0,08 ^a
C22:6 n-3 DHA	5,98 ± 0,76 ^a	4,32 ± 0,47 ^a	3,97 ± 1,09 ^a	5,47 ± 0,04 ^a
Total	24,98	68,28	75,39	25,27
I/S	3,66	7,7	14,95	3,33
M/S	2,49	3,2	3,19	2,17
P/S	1,18	4,5	11,76	1,15
Razão n-6/n-3	1,22	2,12	3,13	1,34
Somatório de EPA + DHA	6,85	5,02	4,60	6,36
Rel. Hiper/Hipo*****	0,06	0,03	0,03	0,05

*Analisadas 36 amostras em duplicata por densidade, com a média e o desvio-padrão.

Valores na mesma linha com letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste *Post-hoc* de Tukey-HSD. I/S = Insaturados/Saturados; M/S = Monoinsaturados/Saturados; P/S = Poli-insaturados/Saturados; Rel. Hiper/Hipo***** = Relação ácido graxo hipercolesterolêmico / hipocolesterolêmico = ácido graxo hipercolesterolêmico (C14:0 + C12:0 + C16:0) / ácido graxo hipocolesterolêmico (monoinsaturado + poli-insaturados).

Tabela 8. Índices de qualidade nutricional da fração lipídica nos filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) em diferentes densidades de estocagem

Densidades de Estocagem	P/S	n-6/n-3	HH	IA	IT
50 peixes/m ³	1,18	1,22	9,51	0,15	0,30
75 peixes/m ³	4,50	2,12	24,71	0,04	0,14
100 peixes/m ³	11,76	3,13	19,78	0,09	0,05
125 peixes/m ³	1,15	1,34	12,73	0,10	0,31

P/S = Poli-insaturados/Saturados; n-6/n-3 = Σ da série Ômega 6/ Σ a série Ômega 3; HH = Σ hipocolesterolêmicos/ Σ hipercolesterolêmicos; IA = índice de aterogenicidade e IT = índice de trombogenicidade¹².

variação de 1,14 a 8,79. Menezes et al.⁴¹ encontraram em peixes de água salgada uma variação de 0,43 e 0,66.

O cálculo da razão Σ ácidos graxos hipocolesterolêmicos / Σ ácidos graxos hipercolesterolêmicos, índice (HH) relacionado mais especificamente com o metabolismo do colesterol, resultou em valores elevados destacando-se 24,71 na densidade de 75peixes/m³(Tabela 8). Testi et al.⁵⁰ encontraram valores entre 2,03 a 2,46 pra peixes de água doce ou salgada. Menezes et al.⁴¹ detectaram valores inferiores para peixes de água salgada. Valores altos para essa relação são desejáveis sob o ponto vista nutricional⁴⁹.

O índice de aterogenicidade (IA), que relaciona os ácidos pró e antiaterogênicos foi encontrado em baixa concentração em ambas as densidades (Tabela 8). Valores maiores foram descritos por Ramos et al.⁵¹ para quatro espécies de água doce variando de 0,49 no pintado e 0,86 para o pacu. Em contraste à relação HH, valores mais baixos para IA são desejáveis.

Dentre as considerações para avaliação da qualidade dietética de alimentos é incluída a razão n-6/n-3 menor que 10⁴⁹. Ambas as densidades possuem conteúdo recomendado para a razão n-6/n-3.

CONCLUSÃO

Tendo como base os resultados obtidos, nas condições em que os experimentos foram realizados, pode-se concluir que: O aumento da densidade de estocagem influenciou no crescimento dos peixes, sendo que o número de 50peixes/m³ proporcionou maior valor de rendimento de filé. A densidade de 125peixes/

m³ apresentou teores mais elevados de proteínas, lipídeos totais, cinzas, calorías e quando comparada a outras densidades. Os teores de colesterol para ambas as densidades estão abaixo do limite recomendado de 300mg/dia para dieta humana. Os principais ácidos graxos encontrados em destaque foram: saturados (palmítico e esteárico) na densidade de 50peixes/m³, monoinsaturados (palmitoléico) na densidade de 75peixes/m³ e (oléico) na menor densidade. Já em relação aos ácidos graxos poli-insaturados da família n-6 (linoléico) na densidade de 100peixes/m³ e n-3 (-linolênico) e (EPA) na densidade de 125peixes/m³ e (DHA) na menor densidade de estocagem. Os filés apresentam-se como fonte de ácidos graxos hipocolesterolêmicos e a razão encontrada entre os ácidos graxos n-6:n-3 estão dentro dos padrões recomendados. Os dados contidos neste estudo são muito importantes no ponto de vista nutricional e econômico e poderão contribuir para difundir o consumo de tainha para adultos, gestantes e crianças devido ao seu valor biológico e a presença de EPA e DHA. Esperamos que estes resultados contribuam para bancos de dados que auxiliarão na melhor estimativa de consumo de nutrientes em inqueritos dietéticos.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e a Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (Codevasf) pela doação dos peixes.

REFERÊNCIAS

1. Meurer F, Hayashi C, Boscolo WR. Influência do Processamento da Ração no Desempenho e Sobrevivência da Tilápia do Nilo Durante a Reversão Sexual. *R. Bras. Zootec.* 2003; 32(2): 262-7.
2. Brandão FR, Gomes LC, Chagas EC, Araújo LD. Densidade de estocagem de juvenis de tambaqui durante a recria em tanques-rede. *Pesq. Agropec. Brás.* 2004; (39/4): 357-62.
3. Jobling M. *Fish Bioenergetics*. London: Chapman e Hall, 1994. 294p.
4. Gomes LC, Baldissotto B, Senhorini JA. Effect of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. *Aquaculture* 2000; (183): 73-81.
5. El-Sayed A. Effects of stocking density and feeding levels on growth and feed efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry. *Aquaculture Research* 2002; (33): 621-6.
6. Iguchi K, Ogawa K, Nagae M, Ito F. The influence of rearing density on stress response and disease susceptibility of ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Aquaculture* 2003; (202): 515-23.
7. Cavero BAS, Pereira-Filho M, Roubach R, Ituassú DR, Gandra AL, Crescêncio R. Efeito da densidade de estocagem na homogeneidade do crescimento de juvenis de pirarucu em ambiente confinado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 2003; (38): 103-07.
8. Campos-Ramos R, Harvey SC, McAndrew BJ. An investigation of sex determination in the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*, using synaptonemal complex analysis, fish, sex reversal and gynogenesis. *Aquaculture* 2003; (221):125-40.
9. Desprez D, Géraiz E, Hoareau MC *et al.* Production of a high percentage of male offspring with a natural androgen, 11b-hydroxyandrostenedione (11bOHA4), in Florida red tilapia. *Aquaculture* 2003; (216): 55-65.
10. Meurer F, Hayashi C, Boscolo WR *et al.* Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *Revista Brasileira de Zootecnia* 2002; (31/2): 566-73.
11. Boscolo WR, Hayashi C, Soares CM. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases iniciais e de crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2001; (30/5): 1391-6.
12. Vila Nova CMVM, Godoy HT, Aldrigue ML. Composição química, teor de colesterol e caracterização dos lipídios totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e pargo (*Lutjanus purpureus*). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2005; (25/3): 430-6.
13. Roos NM, Siebelink E, Botts ML, Van Tol A, Schouten EG, Katan MB. Trans monounsaturated fatty acids and saturated fatty acids have similar effects on postprandial flow-mediated vasodilation. *Eur J Clin Nutr Basingstoke*. 2002;56(7):674-9.
14. Lima MF, Henriques CA, Santos FD, Andradre PMM, Tavares do Carmo MG. Ácido graxo ômega 3 docosahexaenóico (DHA:C22:6 n-3) e desenvolvimento neonatal: aspectos relacionados à sua essencialidade e suplementação. *Nutrire: Rev Soc Bras Alim Nutr = J Brazilian Soc Food Nutr*. 2004; 28: 65-77.
15. Ramos Filho MM, Ramos MIL, Hiane PA, Souza EMT. Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira de Mato Grosso do Sul. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2008; (28/2): 361-5.
16. Gomes LC, Chippari-Gomes AR, Lopes NP, Roubach R, Araújo-Lima CARM. Efficacy of benzocaine as anesthetic for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). *Journal of the World Aquaculture Society* 2001; (31): 426-31.
17. Association of official analytical chemists (AOAC). Horwitz, Washington. *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists*. 17 ed. Arlington: AOAC Inc., 2000.
18. Watt B, Merrill AL. *Composition of foods: raw, processed, prepared*. Washington DC: Consumer and Food Economics Research. Division/Agricultural Service, 1963.
19. Folch J, Lees M, Sloane SGH. A simple method for the isolation and purification of total lipide from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, 1957; (226): 497-509.
20. Bohac CE, Rhee KS, Cross HR, Ono K. Assesment of methodologies for colorimetric cholesterol assay of meats. *J. Food Sci.* 1988; (53): 1642-4.
21. Searcy RL, Bergquist LMA. New color reaction for the quantitation of serum cholesterol. *Clin. Chimica Acta.*, 1960; (5): 192-9.
22. Hartman L, Lago BCA. Rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. *Lab Pract.* 1973; (22): 475-7.
23. Ulbricht TLV, Southgate DAT. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 1991; (338/8773): 985-92.
24. Santos-Silva J, Bessa RJB, Santos-Silva F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science* 2002; (7723): 187-94.
25. Kubitz F. *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*. Jundiaí: Fernando Kubitz, 2000.
26. Silva PC, Kronka SN, Tavares LHS, Souza VL. Desempenho produtivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) em diferentes densidades e trocas de água em "raceway". *Acta Scientiarum*, 2002; (24/4):935-41.
27. Sampaio JMC, Braga LGT. Cultivo de tilápia em tanques-rede na barragem do Ribeirão de Saloméa – Floresta Azul – Bahia. *Rev. Bras. Saúde Prod. Na.* 2005; (6/2): 42-52.
28. Ogawa M, Maia EL. *Manual de Pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado*. 1999; São Paulo: Varela; (1), 430p.
29. Lichtenstein AH, Mitch WE, Mullis R, Robinson K, Tosett JW, Jeor SS, Suttie J, Tribble DL, Bazzarre TL. Dietary guidelines: revision 2000: a statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the American heart Association. *Circulation* 2000; (102/18): 2284-99.
30. Kirk RS, Sawyer R. *Pearson's composition and analysis of foods*. 9th, ed. Harlow Essex, Longman; 1981; 504-18.
31. Penfield MP, Campbell AM. *Experimental Food Science*. 3. ed. San Diego: Academic Press, 1990.
32. Omena, CMB. Reflexo da utilização de farlo de côo na alimentação de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857). [Dissertação de Mestrado] Maceió, Alagoas: Universidade Federal de Alagoas. 2008. 95 p.
33. Bruschi FLF. *Rendimento, composição centesimal e perfil de ácidos graxos de pescados e seus resíduos monografia [Graduação em Oceanografia]*. Itajaí, Santa Catarina. Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar, Universidade do Vale do Itajaí. 2001. 134p.
34. Morais C. *Rendimento cárneo e composição química da ictiofauna acompanhante na captura do camarão-sete-barbas (Xiphopenaeus kroyeri Heller, 1862)*. *Colet. ITAL.*, v.22, n.1, p.6-72, 1992.
35. Minozzo MG. *Elaboração de patê cremoso a partir de filé de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) e sua caracterização físico-química microbiológica e sensorial*. [Dissertação de Mestrado]. Curitiba, Paraná: Universidade Federal do Paraná, 2005. 127pp.

36. Stansby ME. Polynsaturates and fat in fish flesh. *J. Am. Diet. Ass.*,1973; (63): 625-30.
37. Ferreira MW, Bressan MC, Souza XR, Vieira JO, Faria PB, Andrade PL. Efeito dos métodos de cocção sobre a composição química e perfil lipídico de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757). *Ciênc. Agrotec.*, 2007; (31/3): 798-803.
38. Luzia LA, Sampaio GR, Castellucci CMN, Torres EAFS. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. *Food Chemistry* 2003; (83): 93-7.
39. Denke MA, Grundy SM. Effects of fats hing in stearic acid on lipid and lipoprotein concentrations in men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1991; (54):1036-40.
40. Nova, CMVMV, Godoy HT, Aldrigue ML. Composição química, teor de colesterol e caracterização dos lipídeos totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e pargo (*Lutjanus purpureus*). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2005; (25/3): 45-9.
41. Menezes MES. Valor nutricional de espécies de peixes (água salgada e estuário) do estado de Alagoas. [Dissertação de Mestrado]. Maceió, Alagoas: Universidade Federal de Alagoas, 2006. 113.
42. Lira GM, Mancini Filho J, Torres RP, Oliveira AC, Vasconcelos AMA, Omena CMB, Almeida MCS. Composição centesimal, valor calórico, teor de colesterol e perfil de ácidos graxos da carne de búfalo (*Bubalis bubalis*) da cidade de São Luiz do Quitunde-AL. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2005; 64(1): 31-8.
43. Sabarense CM. Avaliação do efeito dos ácidos graxos *trans* sobre o perfil dos lipídeos teciduais de ratos que consumiram diferentes teores de ácidos graxos essenciais [Tese de Doutorado]. São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2003. 130 pp.
44. Nova CMVMV, Godoy HT, Aldrigue ML. Composição de ácidos graxos dos lipídeos totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e pargo (*Lutjanus purpureus*). XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2004, Fortaleza: p.45.
45. Kris-Etherton P, Yu S. Individual fatty acids effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr*. 1977; Supp. 1628-44.
46. Lira GM, Mancini Filho J, Santana LS, Torres R P, Oliveira AC, Omena CMB, Silva Neta ML. Perfil de ácidos graxos, composição centesimal e valor calórico de moluscos crus e cozidos com leite de coco da cidade de Maceió-AL. *Rev. Brasileira de Ciênc. Farmacêuticas* 2004; 40(4): 529-37.
47. Su K, Huang S, Chiu C, Shen WW. Omega-3 fatty acids in major depressive disorder. A preliminary double-blind, placebo-controlled trial. *European Neuropsychopharmacology*.2003;(1): 267-71.
48. Department os Health and Social Security. Diet and cardiovascular disease. Report on Health and Social Subjects, n.28. London:HMSO, 1984.
49. Moreira AB et al. Fatty acids profile and cholesterol contents of three brazilian *Brycon* freshwater fishes. *Journal of Food Composition and Analysis* 2001; 14(6):565-74.
50. Testi et al. Nutritional traits of dorsal and ventral fillets from three farmed fish species. *Food Chemistry* 2006; 98(1):104-11.
51. Ramos Filho MM, Ramos MIL, Hiane PA, Souza EMT. Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira de Mato Grosso do Sul. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2008; 28(2): 361-5.

ANEXO II
CROMATOGRAMAS DA TESE

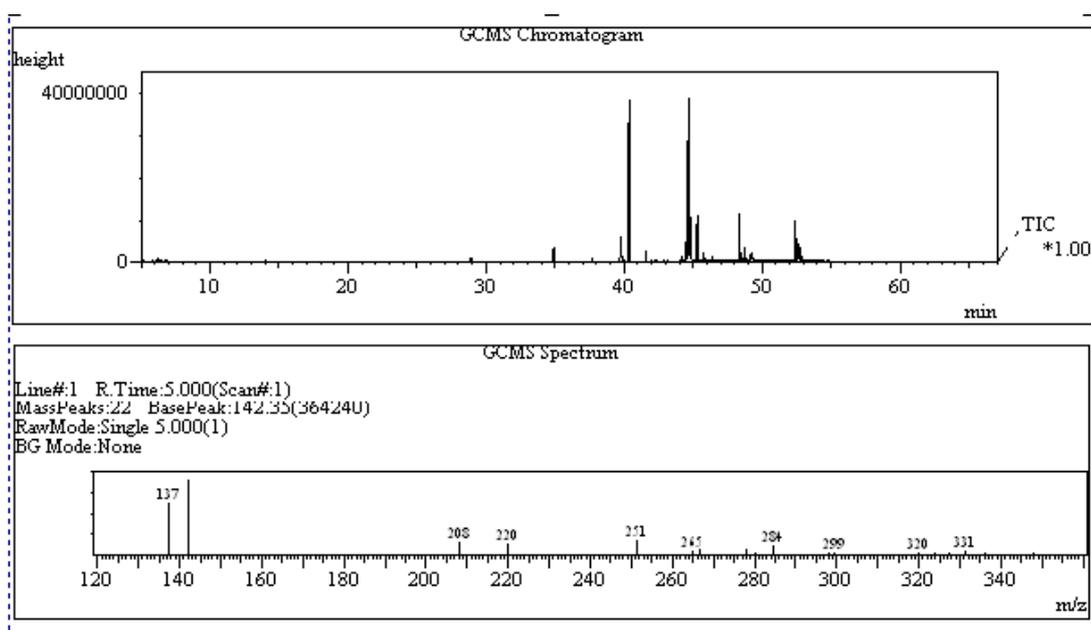


Figura 1: Cromatograma da densidade de 50peixes/m³.

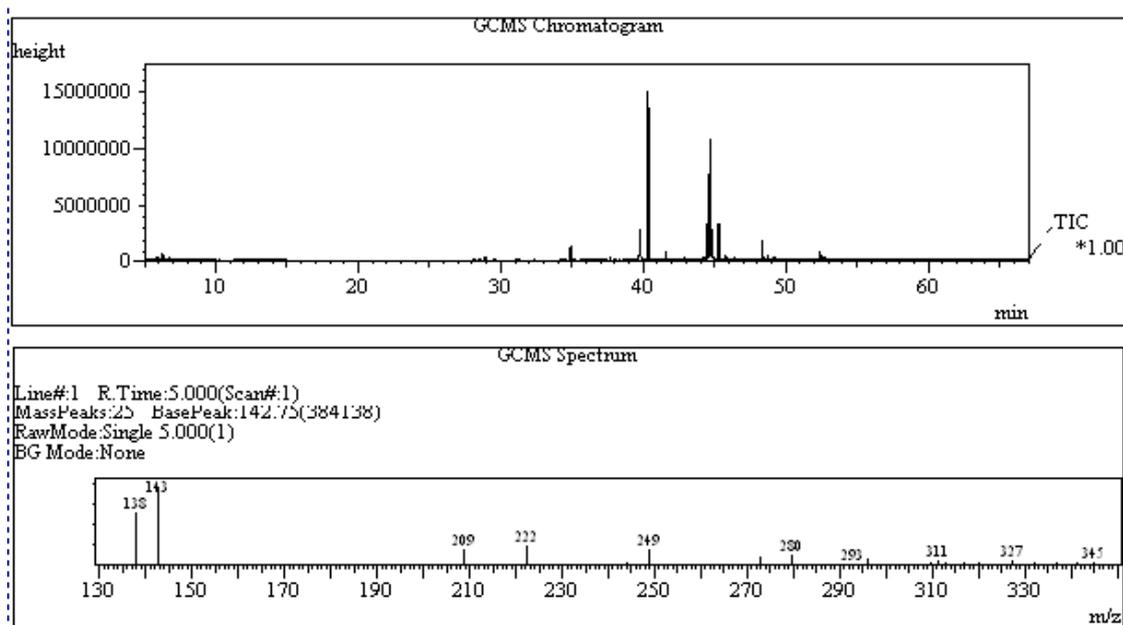


Figura 2: Cromatograma da densidade de 75peixes/m³.

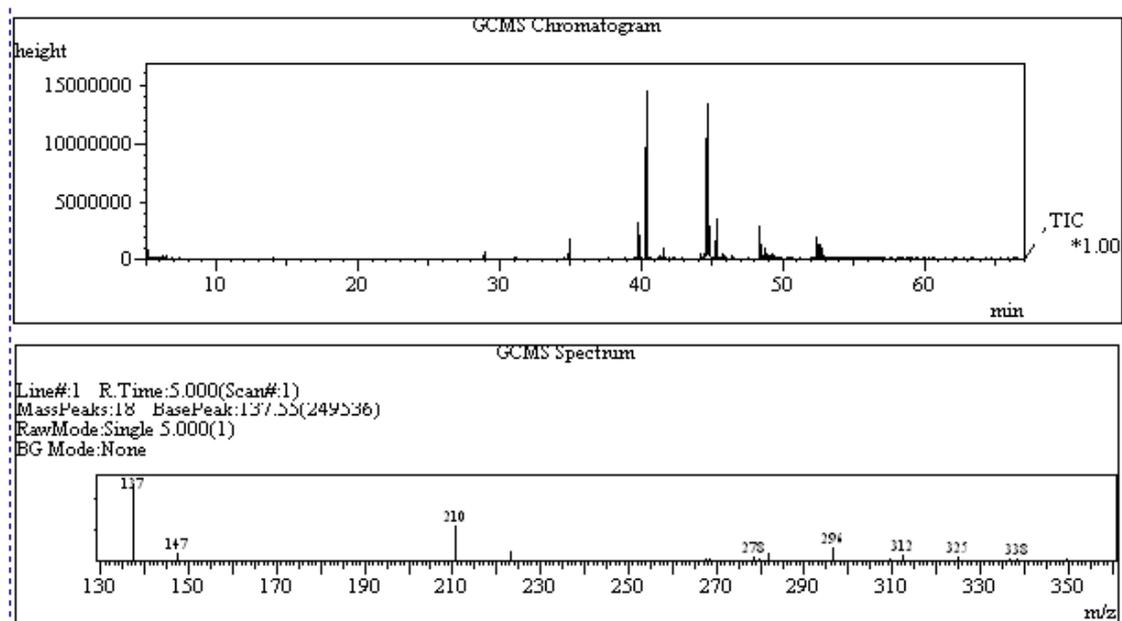


Figura 3: Cromatograma da densidade de 75peixes/m³.

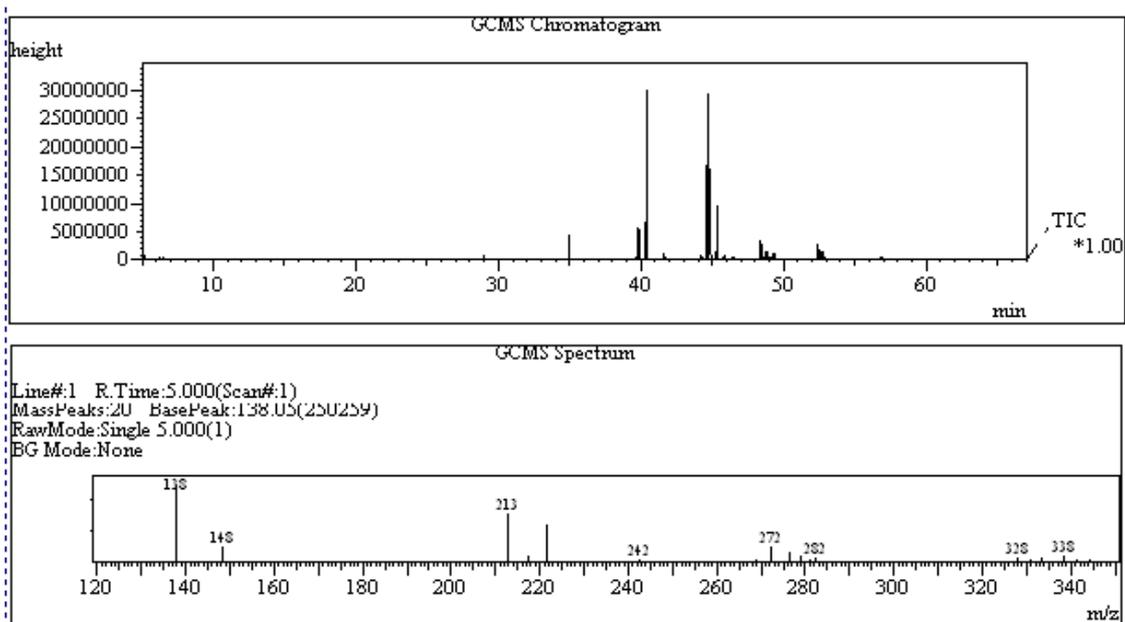


Figura 4: Cromatograma da densidade de 100peixes/m³.

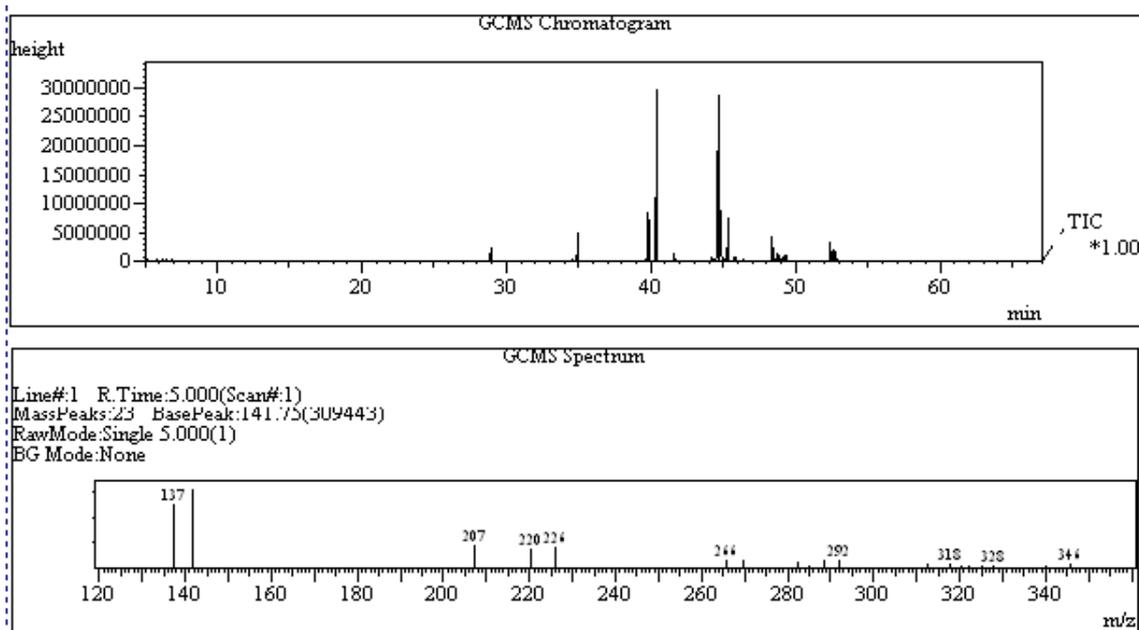


Figura 5: Cromatograma do nível de suplementação de vitamina C – 0mg na densidade de 50peixes/m³.

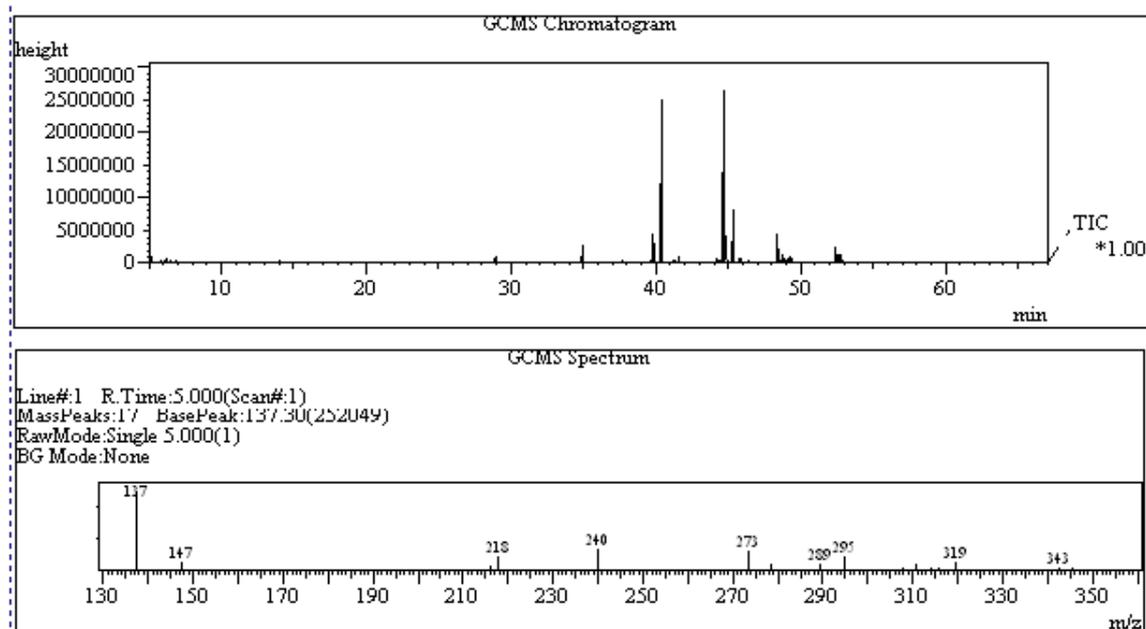


Figura 6: Cromatograma do nível de suplementação de vitamina C – 250mg na densidade de 50peixes/m³.

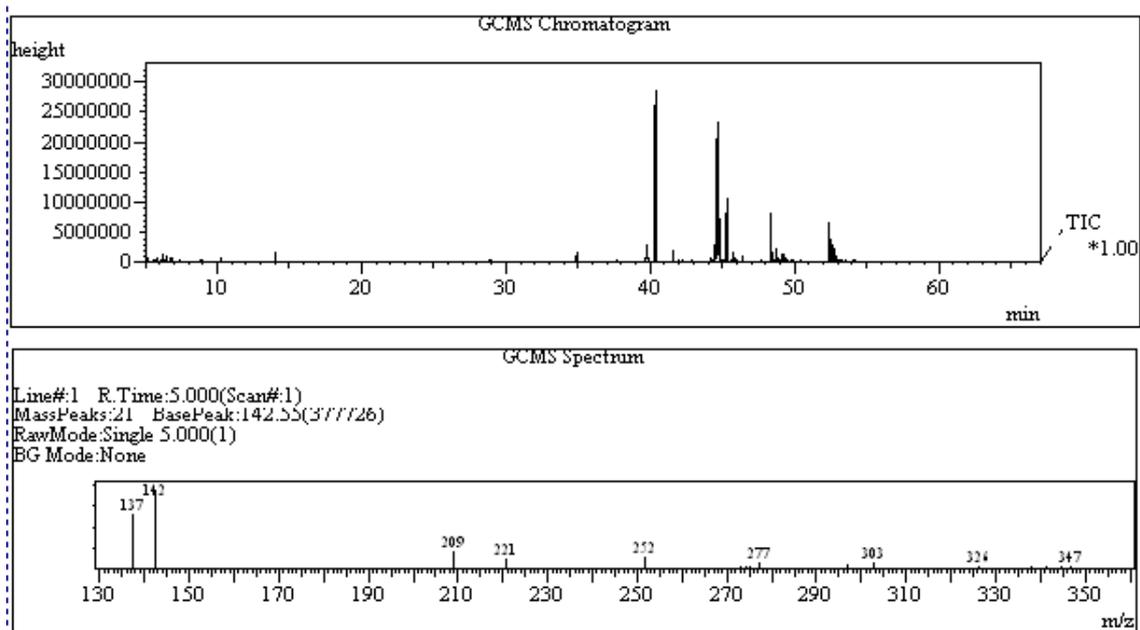


Figura 7: Cromatograma do nível de suplementação de vitamina C – 500mg na densidade de 50peixes/m³.

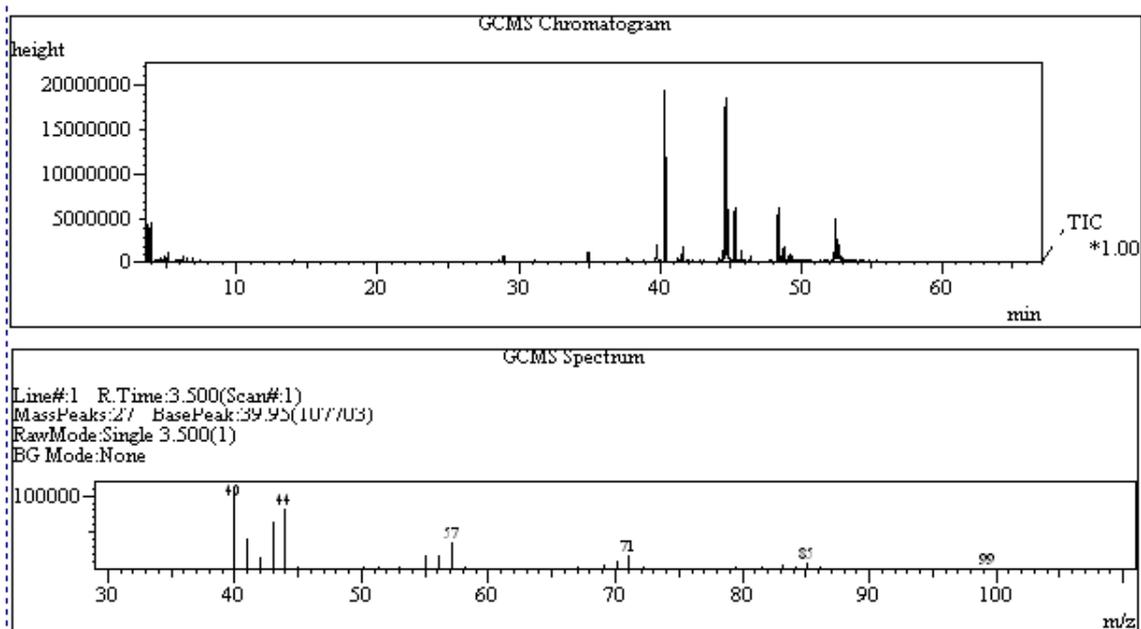


Figura 8: Cromatograma do nível de suplementação de vitamina C – 750mg na densidade de 50peixes/m³.