

## RELAÇÃO 18:3n3/18:2n6 SOBRE A DIGESTIBILIDADE DE ÁCIDOS GRAXOS EM PACU

Julio Guerra SEGURA<sup>1</sup>, João Carlos CAMPANHARO<sup>2</sup>, Kátia Rodrigues Batista DE OLIVEIRA<sup>3</sup>, Mariene Miyoko NATORI<sup>1</sup>, Adja Cristina Lira DE MEDEIROS<sup>1</sup>, Elisabete Maria Macedo VIEGAS<sup>1</sup>

### RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar o efeito de dietas com relações 18:3n3/18:2n6 de: 2,98; 1,68; 1,03; 0,61 e 0,35 (tratamentos 1 a 5 respectivamente) sobre o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos ácidos graxos em dietas vegetais para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Dezoito grupos de 16 peixes cada um foram alimentados por 34 dias com dieta controle contendo óleo de tilápia como único ingrediente de origem animal (tratamento 6). Numa segunda fase, durante 72 dias, cada dieta foi fornecida a três grupos aleatórios e, finalmente, determinados os CDAs dos ácidos graxos. A dieta controle resultou em maiores CDAs de ácidos graxos saturados (97,3%) e monoinsaturados (98,24%), e o tratamento 1, em maiores CDAs de poli-insaturados (99,25%) e 18:3n3 (99,83%). O CDA de 18:3n3 variou de forma decrescente, de acordo com a variação da relação 18:3n3/18:2n6 e foi sempre superior ao CDA do 18:2n6, apesar da ação não específica das lipases. Conclui-se que o CDA dos ácidos graxos, ou de grupos deles, aumenta com a elevação do grau de insaturação do ácido e da concentração deste na dieta e que a fluidez do óleo afeta o CDA de 18:3n3 - ALA e não o de 18:2n6 - LA, quando estes são os únicos ácidos graxos poli-insaturados do alimento.

**Palavras chave:** *Piaractus mesopotamicus*; ácido alfa linolênico; óleo de linhaça; ômega-3; aquicultura; rações vegetais para organismos aquáticos.

### 18:3n3/18:2n6 RATIO ON FATTY ACID DIGESTIBILITY IN PACU

### ABSTRACT

The objective of this work was to determine the effect of diets with this 18:3n3/18:2n6 ratios: 2.98; 1.68; 1.03; 0.61 and 0.35 (treatments 1 to 5 respectively), on the apparent digestibility coefficients (ADC) of fatty acids in vegetable-based diets for pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*). Eighteen groups of 16 fish each were fed for 34 days with a control diet containing tilapia oil as sole ingredient of animal origin (treatment 6). In a second phase, for 72 days, each diet was fed to 3 random groups, and finally the fatty acid ADC's were calculated. The control diet produced the highest ADC of saturated fatty acids (97.3%) and monounsaturated fatty acids (98.24%); and treatment 1, the highest polyunsaturated fatty acids (99.25%) and 18:3n3 (99.83%) ADC's. The ADC of 18:3n3 varied in a decreasing manner according to the variation of the ratio 18:3n3/18:2n6 and was always higher than the ADC of 18:2n6, despite the non-specific action of lipases. We conclude that the ADC's of fatty acids, or groups of them, increase as their degree of unsaturation and concentration in the diet increases, and, the fluidity of the oil affects the ADC of 18:3n3 -ALA and not of 18:2n6 - LA when these are the only poly-unsaturated fatty acids.

**Key words:** *Piaractus mesopotamicus*; alpha linolenic acid; linseed oil; omega-3; aquaculture; vegetable-based aquafeeds.

**Artigo Científico:** Recebido em 23/08/2016; Aprovado em 14/02/2017

<sup>1</sup>Departamento de Zootecnia, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Duque de Caxias Norte, 225, CEP 12630-900, Pirassununga, SP, Brasil. E-mail: emviegas@usp.br (autor correspondente)

<sup>2</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP

<sup>3</sup>Centro de Aquicultura da UNESP, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP

## INTRODUÇÃO

A substituição parcial ou completa do óleo de peixe por óleos vegetais na elaboração de rações para organismos aquáticos é uma tendência recente (GUNASEKERA *et al.*, 2002), decorrente da limitada oferta de óleo de peixe e as consequentes implicações ambientais e econômicas de sua produção (HUGUET *et al.*, 2015).

O óleo de peixe é produzido principalmente a partir de espécies pelágicas de baixo valor comercial, capturadas de forma sistemática, o que as torna um recurso finito, fortemente explorado e incapaz de acompanhar a intensa expansão da aquicultura global (NG *et al.*, 2010). A principal diferença entre o óleo de peixe marinho e os óleos vegetais, como matérias-primas para elaboração de rações para aquicultura, é a sua composição de ácidos graxos, que, no caso do peixe marinho, é tipicamente rica em ácidos graxos altamente insaturados da família n3, como o eicosapentaenoico (20:5n3 - EPA) e o docosaenoico (22:6n3 - DHA), e, nos vegetais, os únicos ácidos graxos poli-insaturados presentes são os ácidos graxos essenciais (AGE) de 18 carbonos: linoleico (18:2n6 - LA) e alfa-linolênico (18:3n3 - ALA).

De acordo com o NRC (2011), os peixes de água doce apresentam exigência estrita unicamente dos ácidos graxos LA e ALA, diferentemente dos peixes marinhos e estenoalinos, em cuja dieta é indispensável a inclusão de ácidos graxos altamente insaturados. Esta característica possibilita a utilização de uma ampla variedade de fontes lipídicas na alimentação de espécies continentais, sem repercussões negativas sobre os principais parâmetros de desempenho produtivo (TURCHINI *et al.*, 2012).

Nos vertebrados, as reações de alongamento e dessaturação dos ácidos graxos linoleico e alfa-linolênico, precursores das famílias ômega 6 e ômega 3, respectivamente, são efetuadas pelas mesmas enzimas (SARGENT *et al.*, 2002). Em razão disto, torna-se importante compreender os processos relacionados com a digestão dos ácidos graxos, assim como saber se a abundância de LA em relação a ALA na dieta afeta a magnitude da absorção de cada um deles, especialmente em peixes de água doce, dentro do estudo dos processos relacionados com a absorção e metabolismo do ômega 3 nas espécies aquícolas. Estas informações são úteis para plantear estudos sobre eficiência na formulação de rações para aquicultura com perfis de ácidos graxos específicos.

Estudos sobre digestibilidade de ácidos graxos têm sido desenvolvidos principalmente com salmonídeos (HUGUET *et al.*, 2015; NG *et al.*, 2010). Outras espécies, como bagre-do-canal, carpa-comum (NRC, 2011) e tilápia (TEOH *et al.*, 2011), também têm sido estudadas.

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é uma espécie nativa brasileira, classificada popularmente no grupo dos peixes redondos, que apresenta boas características para criação em cativeiro, devido à sua rusticidade, adaptabilidade, capacidade de ganho de peso e seu hábito alimentar onívoro (frugívoro oportunista) (ABIMORAD *et al.*, 2009), o que possibilita a utilização de rações vegetais. Os peixes redondos representam um importante setor da aquicultura, sendo o segundo maior grupo de peixes cultivados depois da tilápia. Em 2015, a produção de peixes redondos (tambaqui, pacu, pirapitinga e seus híbridos) foi de 186,5 mil toneladas e, especificamente, a produção de pacu (e do híbrido patinga) foi de 13,3 mil toneladas, representando 2,7% do total da produção piscícola de água doce brasileira (IBGE, 2015). Considerando as características da espécie em menção, o objetivo deste trabalho foi determinar os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos ácidos graxos em dietas para o pacu em etapa juvenil contendo 100% de ingredientes vegetais e diferentes relações 18:3n3/18:2n6.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram formuladas 6 rações (Tabela 1) com 32% de proteína bruta, 17% de gordura total (14,13% adição de óleos + 2,87% gordura dos ingredientes), 6% de cinzas e 5,4 Mcal.kg<sup>-1</sup>. 92% de matéria seca. As rações foram extrusadas (Ø 2 mm), sendo utilizados exclusivamente ingredientes de origem vegetal, exceto na ração controle, em que o único ingrediente de origem animal foi o óleo de tilápia. Cada ração correspondeu a um tratamento experimental (T). As rações T1, T2, T3, T4 e T5 tiveram relações ALA/LA (m/m) de: 2,98; 1,68; 1,03; 0,61 e 0,35, respectivamente. Estas relações foram formuladas mediante a inclusão de óleos de linhaça e soja em proporções adequadas. A ração T6 correspondeu ao tratamento controle e teve a relação ALA/LA de 0,73 e inclusão de ácidos graxos altamente insaturados (HUFA - ácidos graxos com mínimo 20 C e 3 ligações duplas, segundo SARGENT *et al.* (2002)), mediante incorporação de óleo de tilápia além dos óleos vegetais (Tabela 2).

**Tabela 1.** Composição porcentual das dietas experimentais.

| Alimento (% de matéria natural)     | Porcentagem |
|-------------------------------------|-------------|
| Concentrado proteico de soja        | 42,23       |
| Farelo de trigo                     | 20,00       |
| <sup>1</sup> Óleos vegetais/tilápia | 14,13       |
| Farinha de trigo                    | 9,90        |
| Milho                               | 5,00        |
| Quirera de arroz                    | 4,90        |
| Fosfato bicálcico                   | 1,63        |
| Amido de milho                      | 1,00        |
| <sup>2</sup> Premix                 | 0,49        |
| Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>      | 0,49        |
| Sal comum                           | 0,23        |

<sup>1</sup>Óleos de linhaça, soja e tilápia foram incorporados nas proporções indicadas na Tabela 2.

<sup>2</sup> Composição do premix: vit. A - 500000 UI; vit. D3 - 250000 UI; vit. E - 5000 mg.kg<sup>-1</sup>; vit. K3 - 500 mg.kg<sup>-1</sup>; vit. B1 - 1500 mg.kg<sup>-1</sup>; vit. B2 - 1500 mg.kg<sup>-1</sup>; vit. B6 - 1500 mg.kg<sup>-1</sup>; vit. B12 - 4000 mg.kg<sup>-1</sup>; ácido fólico - 500 mg.kg<sup>-1</sup>; pantotenato Ca - 4000 mg.kg<sup>-1</sup>; vit. C - 10000 mg.kg<sup>-1</sup>; biotina - 10 mg.kg<sup>-1</sup>; inositol - 1000 mg.kg<sup>-1</sup>; nicotinamida - 7000 mg.kg<sup>-1</sup>; colina - 10000 mg.kg<sup>-1</sup>; Co - 10 mg.kg<sup>-1</sup>; Cu - 1000 mg.kg<sup>-1</sup>; Fe - 5000 mg.kg<sup>-1</sup>; I - 200 mg.kg<sup>-1</sup>; Mn - 1500 mg.kg<sup>-1</sup>; Se - 30 mg.kg<sup>-1</sup>; Zn - 9000 mg.kg<sup>-1</sup>.

Dezoito grupos de peixes foram alojados em caixas plásticas de 110 litros em sistema de recirculação e com controle automático de temperatura a 26°C, injeção de ar em cada caixa, foto período de 12 h/12 h (claro/escuro), teor de oxigênio dissolvido (mínimo) de 6,5 mg L<sup>-1</sup>, pH 6,8 a 7,2; salinidade igual a 0,00 mg L<sup>-1</sup>; teor de amônia total de 0,00 mg L<sup>-1</sup> (apresentou valores máximos de 0,25 mg L<sup>-1</sup> durante os primeiros quatro dias de experimento); teor máximo de nitrito de 0,25 mg L<sup>-1</sup> e valor de alcalinidade (KH) de 35,6 mg L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub>. O oxigênio dissolvido foi medido periodicamente com sonda multiparâmetros marca Horiba (Japão), modelo U-10, e os demais parâmetros, utilizando-se kits comerciais da marca Labcon test (Alcon pet®). Cada caixa, que continha 16 animais, correspondeu a uma unidade experimental. Durante um período de 34 dias, os peixes de todas as unidades experimentais foram alimentados com a dieta controle. Posteriormente foram formados ao acaso seis grupos com três unidades experimentais cada um. Do 36º até o 106º dia, cinco grupos receberam dietas experimentais com óleos de linhaça e soja (Tratamentos T1, T2, T3, T4 e T5) e um grupo continuou com a dieta controle (T6). O alimento foi fornecido duas vezes por dia, às 9 e 16 horas, até a saciedade aparente. O peso médio inicial dos animais foi de 70 g (dia 1) e o peso médio final, de 133 g (dia 106), sem eventos de mortalidade. As coletas de fezes foram realizadas mediante o método de

Guelph modificado, de acordo com ABIMORAD e CARNEIRO (2004), durante os três últimos dias do período, sendo as fezes centrifugadas (3000 rpm, 10 minutos) e armazenadas a -20°C até a realização das análises químicas.

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos ácidos graxos e da gordura total foram determinados no 106º dia, de acordo com a metodologia descrita por FURUKAWA e TSUKAHARA (1966) (fórmula 1), com incorporação de 0,5% de óxido de Cromo III na ração, como marcador inerte. As fezes e amostras de ração foram liofilizadas e, por meio do método de BLIGH e DYER (1959), realizaram-se extrações de gordura destes materiais. Posteriormente, a gordura extraída das fezes e ração foi transesterificada pelo método ISO 5509 (1978) com algumas modificações, como descrito a seguir: aproximadamente 25 mg de gordura foram colocados em tubo plástico de 2 mL e adicionados 800 uL de hexano, seguindo-se agitação em Vórtex por 30 s, após o que acrescentaram-se 800 uL de solução de NaOH 2N em metanol, sendo o conteúdo total agitado por mais 30 s e centrifugado a 10000 rpm e 4°C durante 10 minutos (Centrífuga Eppendorf 5418 R, Hamburgo, Alemanha). Cem microlitros do sobrenadante foram coletados e adicionados a 10 uL de solução de 5 mg mL<sup>-1</sup> de tricostanoato de metila (padrão interno - metil 23:0, Sigma Aldrich, Bellefonte, USA) em hexano. Foi injetado 1 uL desta solução em cromatógrafo de gás

(marca Shimadzu, modelo GC-14B, Kyoto, Japão). Os ésteres metílicos dos ácidos graxos da amostra foram identificados por comparação com os tempos de retenção de padrões comerciais (PUFA2, PUFA 3 e C37 component, Sigma Aldrich, Bellefonte, USA). Foram feitas correções por meio de fatores teóricos e pesos moleculares dos ésteres metílicos dos ácidos graxos, de acordo com VISENTAINER (2012). Os resultados foram expressos em miligrama de cada ácido graxo por grama de óleo. Foi utilizada uma coluna Omegawax 250 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) (Supelco, Bellefonte, USA).

A temperatura inicial da coluna foi de 100°C durante 2 minutos, aumentando a uma taxa de 4°C por minuto até atingir 220°C e permanecendo nesta temperatura por 20 minutos. O injetor e o detector (FID) foram mantidos a 250°C e o Split ratio foi de 1/100. O gás de arraste foi hidrogênio (1 mL minuto<sup>-1</sup>), e os gases da chama, hidrogênio, nitrogênio e ar sintético (pressão de 50, 180 e 30 Kpa, respectivamente).  $CDAAG^* = 100 [1-(CrD)/(CrF) \cdot (AGF/AGD)]$  (1) em que:

CDAAG = coeficiente de digestibilidade do ácido graxo

CrD = porcentagem de óxido de Cromo III na dieta

CrF = porcentagem de óxido de Cromo III nas fezes

AGF = porcentagem do ácido graxo nas fezes

AGD = porcentagem do ácido graxo na dieta

\*A mesma fórmula foi aplicada para determinar o CDA da gordura total, substituindo AGF e AGD pela porcentagem de gordura total das fezes e da dieta, respectivamente.

Os coeficientes de digestibilidade aparente foram analisados por ANOVA e pelo teste de comparação de médias de Student-Newman-Keuls (SNK) em delineamento inteiramente casualizado (6 tratamentos e 3 repetições), considerando o nível de significância de 1%.

Previamente, a homogeneidade das variâncias foi avaliada pelo teste de Levene, e a normalidade dos resíduos, pelo teste de Shapiro-Wilk. Foi utilizado o software SPSS 21.

**Tabela 2.** (a) Inclusão (% matéria in natura) de óleos vegetais e óleo de tilápia; (b) Composição de ácidos graxos (% matéria in natura) das rações experimentais.

| (a) Fonte lipídica | T1     | T2     | T3     | T4     | T5     | T6     |
|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Óleo de linhaça    | 14,13  | 11,2   | 8,33   | 5,66   | 3,09   | 4,71   |
| Óleo de soja       | 0      | 2,93   | 5,8    | 8,47   | 11,04  | 3,14   |
| Óleo de tilápia    | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      | 6,28   |
| (b) Ácidos graxos  |        |        |        |        |        |        |
| 12:0               | nd     | nd     | nd     | nd     | nd     | 0,0024 |
| 14:0               | 0,0071 | 0,0068 | 0,0068 | 0,0078 | 0,0085 | 0,0833 |
| 14:1n5             | nd     | nd     | nd     | nd     | nd     | 0,0083 |
| 15:0               | 0,0031 | 0,0026 | 0,0024 | 0,0024 | 0,0020 | 0,0080 |
| 16:0               | 0,8821 | 0,8765 | 0,9258 | 1,0630 | 1,1252 | 1,8034 |
| 16:1n7             | 0,0138 | 0,0116 | 0,0107 | 0,0111 | 0,0117 | 0,2890 |
| 17:0               | 0,0235 | 0,0121 | 0,0114 | 0,0119 | 0,0121 | 0,0204 |
| 17:1n8             | 0,0051 | 0,0046 | 0,0046 | 0,0051 | 0,0051 | 0,0109 |
| 18:0               | 0,6839 | 0,5297 | 0,4743 | 0,4495 | 0,4015 | 0,5824 |
| 18:1n9c            | 2,7929 | 2,5311 | 2,4784 | 2,6217 | 2,6542 | 3,4343 |
| 18:1n7             | 0,1046 | 0,1069 | 0,1166 | 0,1353 | 0,1503 | 0,1865 |
| 18:2n6c            | 2,0823 | 2,7181 | 3,3305 | 4,1873 | 4,7964 | 3,0194 |
| 18:3n6             | nd     | nd     | nd     | nd     | nd     | 0,0247 |
| 18:3n3             | 6,2086 | 4,5715 | 3,4396 | 2,5728 | 1,6968 | 2,2127 |
| 20:0               | 0,0218 | 0,0214 | 0,0243 | 0,0284 | 0,0304 | 0,0243 |
| 20:1n9             | 0,0165 | 0,0168 | 0,0182 | 0,0209 | 0,0231 | 0,0534 |
| 20:2n6             | nd     | nd     | nd     | nd     | nd     | 0,0201 |

**Tabela 2. (Continuação).**

|               |           |           |           |           |           |        |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------|
| 20:3n6        | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | 0,0190 |
| 20:4n6        | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | 0,0221 |
| 20:3n3        | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | 0,0204 |
| 20:5n3        | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | 0,0032 |
| 22:0          | 0,0182    | 0,0213    | 0,0264    | 0,0318    | 0,0360    | 0,0199 |
| 22:4n6        | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | 0,0117 |
| 22:5n3        | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | 0,0070 |
| 24:0          | 0,0092    | 0,0090    | 0,0105    | 0,0119    | 0,0124    | 0,0073 |
| 22:6n3        | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | <i>nd</i> | 0,0160 |
| AGS           | 1,6488    | 1,4793    | 1,4817    | 1,6067    | 1,6283    | 2,5514 |
| AGM           | 2,9328    | 2,6710    | 2,6285    | 2,7941    | 2,8446    | 3,9824 |
| AGPI          | 8,2909    | 7,2896    | 6,7701    | 6,7601    | 6,4932    | 5,3764 |
| n3            | 6,2086    | 4,5715    | 3,4396    | 2,5728    | 1,6968    | 2,2593 |
| n6            | 2,0823    | 2,7181    | 3,3305    | 4,1873    | 4,7964    | 3,1171 |
| n3/n6         | 2,9815    | 1,6818    | 1,0328    | 0,6144    | 0,3538    | 0,7248 |
| 18:3n3/18:2n6 | 2,9815    | 1,6818    | 1,0328    | 0,6144    | 0,3538    | 0,7328 |

T1, T2, (...), T6 – tratamento 1, Tratamento 2, (...), Tratamento 6, respectivamente; *nd* – não detectado; AGS – somatória de ácidos graxos saturados; AGM – somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI – somatória de ácidos graxos poli-insaturados; n3 e n6 – somatória dos ácidos graxos das séries n3 e n6, respectivamente.

## RESULTADOS

O CDA da gordura das rações foi de  $96,02 \pm 0,62\%$  e não apresentou diferenças significativas entre tratamentos. Os CDAs dos ácidos graxos são apresentados na Tabela 3. Os CDAs dos ácidos graxos poli-insaturados foram maiores que os dos ácidos graxos monoinsaturados, e estes apresentaram CDAs mais elevados que os ácidos graxos saturados. Os ácidos graxos 14:0, 15:0 e 16:1n7 apresentaram os menores valores de CDA. Foi observado também que, majoritariamente, os CDAs dos ácidos graxos saturados e monoinsaturados do T6 foram superiores aos dos outros tratamentos. Em relação ao CDA dos ácidos graxos poli-insaturados, o registrado em T1 foi maior que os verificados nos demais tratamentos. O tratamento controle, devido à inclusão de óleo de tilápia, apresentou na sua composição alguns ácidos graxos não presentes nos tratamentos T1 a T5, tais como os ácidos graxos 12:0 e 14:1n5, além dos ácidos graxos poli-insaturados n3 e n6 de cadeia

mais longa que 18 carbonos e/ou maior número de ligações duplas. Os CDAs de 100% correspondem aos ácidos graxos que não foram identificados nos lípidios das fezes.

Os maiores CDAs corresponderam aos ácidos graxos presentes em maior concentração na dieta; desta forma, o tratamento controle, em que os teores de ácidos graxos saturados e monoinsaturados eram mais elevados, apresentou também maiores CDAs destes conjuntos, enquanto os ácidos graxos poli-insaturados, com níveis totais maiores em T1, apresentaram maior CDA também em T1. Esta relação entre o nível de inclusão na dieta e o CDA se observa também, individualmente, na maioria de ácidos graxos. O CDA do ácido graxo 18:3n3 diminuiu progressivamente de acordo com a diminuição da relação ALA/LA na dieta; no entanto, fato semelhante não ocorreu com o CDA do ácido 18:2n6, o qual não varia significativamente com as mudanças da mencionada relação, salvo em T2, onde se registra diminuição.

**Tabela 3.** Coeficientes de digestibilidade aparente (%) dos ácidos graxos presentes nas dietas experimentais.

| AG   | T1                       | T2                       | T3                      | T4                      | T5                       | T6                     |
|------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|
| 12:0 | -                        | -                        | -                       | -                       | -                        | 90,45±0,54             |
| 14:0 | 56,52±19,38 <sup>b</sup> | 47,77±14,56 <sup>b</sup> | 63,9±10,42 <sup>b</sup> | 54,39±9,37 <sup>b</sup> | 68,43±12,35 <sup>b</sup> | 96,6±1,22 <sup>a</sup> |



Tabela.3 (Continuação)

| AG      | T1                        | T2                       | T3                       | T4                       | T5                        | T6                      |
|---------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|
| 14:1n5  | -                         | -                        | -                        | -                        | -                         | 100*                    |
| 15:0    | 51,36±15,16 <sup>b</sup>  | 48,5±16,17 <sup>b</sup>  | 44,21±37,07 <sup>b</sup> | 42,54±12,63 <sup>b</sup> | 25,48±16,29 <sup>b</sup>  | 88,43±1,53 <sup>a</sup> |
| 16:0    | 93,06±3,27 <sup>b</sup>   | 92,21±2,99 <sup>c</sup>  | 94,02±0,89 <sup>bc</sup> | 92,84±2,28 <sup>bc</sup> | 94,14±2,69 <sup>b</sup>   | 97,27±0,84 <sup>a</sup> |
| 16:1n7  | 65,91±17,83 <sup>ab</sup> | 58,25±19,12 <sup>b</sup> | 66,56±6,92 <sup>b</sup>  | 55,16±16,72 <sup>b</sup> | 72,35±12,67 <sup>ab</sup> | 98,67±0,46 <sup>a</sup> |
| 17:0    | 94,35±1,77 <sup>a</sup>   | 84,26±6,02 <sup>b</sup>  | 83,86±2,09 <sup>b</sup>  | 84,68±4,61 <sup>b</sup>  | 84,45±6,4 <sup>ab</sup>   | 92,94±1,57 <sup>a</sup> |
| 17:1n8  | 94,55±3,28 <sup>b</sup>   | 93,06±2,41 <sup>b</sup>  | 93,72±1,64 <sup>b</sup>  | 93,13±1,97 <sup>b</sup>  | 93,08±2,17 <sup>b</sup>   | 98,14±0,33 <sup>a</sup> |
| 18:0    | 97,79±1,01 <sup>ab</sup>  | 96,5±1,38 <sup>bc</sup>  | 97,31±0,48 <sup>bc</sup> | 96,08±1,05 <sup>c</sup>  | 96,48±1,53 <sup>bc</sup>  | 97,74±0,8 <sup>a</sup>  |
| 18:1n9c | 96,90±1,52 <sup>ab</sup>  | 96,07±1,69 <sup>c</sup>  | 96,64±0,44 <sup>bc</sup> | 95,93±1,38 <sup>c</sup>  | 96,29±1,71 <sup>bc</sup>  | 98,33±0,43 <sup>a</sup> |
| 18:1n7  | 93,15±3,07 <sup>bc</sup>  | 91,13±2,24 <sup>c</sup>  | 93,02±1,23 <sup>bc</sup> | 91,57±1,63 <sup>bc</sup> | 93,18±2,34 <sup>b</sup>   | 96,54±0,51 <sup>a</sup> |
| 18:2n6c | 97,61±1,37 <sup>a</sup>   | 96,97±0,73 <sup>b</sup>  | 97,12±0,75 <sup>a</sup>  | 97,39±0,52 <sup>a</sup>  | 97,44±1,1 <sup>a</sup>    | 98,28±0,21 <sup>a</sup> |
| 18:3n6  | -                         | -                        | -                        | -                        | -                         | 98,19±0,24              |
| 18:3n3  | 99,83±0,09 <sup>a</sup>   | 99,6±0,07 <sup>b</sup>   | 99,5±0,11 <sup>bc</sup>  | 99,27±0,08 <sup>cd</sup> | 99,04±0,46 <sup>d</sup>   | 99,69±0,04 <sup>b</sup> |
| 20:0    | 96,30±1,63 <sup>a</sup>   | 95,5±1,18 <sup>b</sup>   | 96,36±0,2 <sup>a</sup>   | 96,15±0,63 <sup>a</sup>  | 96,33±1,63 <sup>a</sup>   | 97,29±0,67 <sup>a</sup> |
| 20:1n9  | 87,80±6,22 <sup>b</sup>   | 85,2±3,84 <sup>b</sup>   | 88,39±3,34 <sup>b</sup>  | 85,22±2,42 <sup>b</sup>  | 87,16±3,97 <sup>b</sup>   | 96,71±0,35 <sup>a</sup> |
| 20:2n6  | -                         | -                        | -                        | -                        | -                         | 97,83±0,4               |
| 20:3n6  | -                         | -                        | -                        | -                        | -                         | 99,06±0,27              |
| 20:4n6  | -                         | -                        | -                        | -                        | -                         | 99,03±0,32              |
| 20:3n3  | -                         | -                        | -                        | -                        | -                         | 100*                    |
| 20:5n3  | -                         | -                        | -                        | -                        | -                         | 84,46±2,29              |
| 22:0    | 100*                      | 100*                     | 100*                     | 100*                     | 100*                      | 100*                    |
| 22:4n6  | -                         | -                        | -                        | -                        | -                         | 99,6±0,4                |
| 22:5n3  | -                         | -                        | -                        | -                        | -                         | 100*                    |
| 24:0    | 94,78±3,04 <sup>ab</sup>  | 93,81±0,1 <sup>ab</sup>  | 95,1±1,32 <sup>ab</sup>  | 93,76±1,3 <sup>ab</sup>  | 95,63±1,83 <sup>a</sup>   | 94,1±0,27 <sup>b</sup>  |
| 22:6n3  | -                         | -                        | -                        | -                        | -                         | 97,74±0,22              |
| AGS     | 94,91± 2,31 <sup>ab</sup> | 93,54±2,44 <sup>c</sup>  | 94,91±0,77 <sup>bc</sup> | 93,61±1,93 <sup>bc</sup> | 94,59±2,41 <sup>bc</sup>  | 97,3±0,84 <sup>a</sup>  |
| AGM     | 96,55±1,63 <sup>b</sup>   | 95,62±1,81 <sup>bc</sup> | 96,28±0,49 <sup>bc</sup> | 95,45±1,47 <sup>c</sup>  | 95,93±1,81 <sup>bc</sup>  | 98,24±0,44 <sup>a</sup> |
| AGPI    | 99,25±0,42 <sup>a</sup>   | 98,58±0,32 <sup>b</sup>  | 98,28±0,44 <sup>b</sup>  | 98,05±0,36 <sup>b</sup>  | 97,81±0,95 <sup>b</sup>   | 98,86±0,14 <sup>b</sup> |
| n-3     | 99,83±0,09 <sup>a</sup>   | 99,6±0,07 <sup>b</sup>   | 99,5±0,11 <sup>bc</sup>  | 99,27±0,08 <sup>cd</sup> | 99,04±0,46 <sup>d</sup>   | 99,66±0,04 <sup>b</sup> |
| n-6     | 97,61±1,37 <sup>a</sup>   | 96,97±0,73 <sup>b</sup>  | 97,12±0,75 <sup>a</sup>  | 97,39±0,52 <sup>a</sup>  | 97,44±1,1 <sup>a</sup>    | 98,27±0,19 <sup>a</sup> |

Médias seguidas pela mesma letra não apresentaram diferença pelo teste de Student-Newman-Keuls, no nível de 1% de significância. AG - ácido graxo. \* CDA de 100% correspondem aos ácidos graxos presentes na ração, mas não detectados nas fezes. AGS - somatória de ácidos graxos saturados; AGM - somatória de ácidos graxos monoinsaturados; AGPI - somatória de ácidos graxos poli-insaturados; n3 e n6 - somatória dos ácidos graxos das séries n3 e n6, respectivamente.

## DISCUSSÃO

É importante destacar que a relação ALA/LA no tratamento T1 foi igual à relação LA/ALA em T5 (relação inversa); portanto, considerando-se que as enzimas que agem na absorção dos ácidos graxos não atuam de forma específica (GLENCROSS, 2009), seria possível esperar que o CDA de ALA em T1 fosse semelhante ao CDA de LA em T5, e que em

T3, cujo coeficiente ALA/LA foi próximo de 1, os valores dos CDAs destes ácidos graxos fossem muito semelhantes; no entanto, estes valores apresentaram várias diferenças.

Em primeiro lugar, o CDA de 18:3n3 foi sempre superior ao CDA de 18:2n6; é possível considerar que a presença de maior número de ligações duplas nas moléculas de 18:3n3 determinaria maior CDA que 18:2n6. Em segundo lugar, como se observou

claramente que os CDAs de 18:3n3 foram maiores nos tratamentos com maior inclusão deste ácido graxo, é deduzível que quanto maior a concentração de um ácido graxo na dieta, maior também seu CDA. Em terceiro lugar, cabe discutir a ausência de variações claras entre os CDAs do 18:2n6, que, assim como com o 18:3n3, seriam esperadas conforme as variações da sua concentração na dieta. Aparentemente, o grau de insaturação do conjunto de ácidos graxos, ou acilglicerois que compõem a fração lipídica da dieta, afeta principalmente o CDA dos ácidos graxos de maior número de ligações duplas. As propriedades físicas do óleo manifestam-se em função das propriedades das moléculas que o compõem, e as enzimas responsáveis pelos processos de absorção dos ácidos graxos atuam com certa “preferência” pelos ácidos graxos mais fluidos, lembrando que a fluidez de um ácido graxo é determinada por características como ponto de fusão, número de átomos de C e número de ligações duplas.

O nível de inclusão de um ácido graxo na dieta dependerá de sua proporção nas fontes lipídicas (composição de ácidos graxos de óleos e gorduras) e da composição da fração lipídica dos demais ingredientes (farelos, grãos etc.). É importante indicar que, no presente trabalho, os CDAs dos ácidos graxos foram calculados com base nas análises de composição de ácidos graxos dos extratos obtidos a partir das rações prontas para o consumo, com uso de solventes (BLIGH e DYER, 1959).

GUNASEKERA *et al.* (2002) determinaram em *Anguilla australis* os CDAs de três dietas com 15% de gordura total, cada uma com inclusão de um único tipo de óleo: óleo de fígado de bacalhau, óleo de linhaça ou óleo de girassol, sendo os CDAs da gordura total 95,6; 90,2 e 94,9%, respectivamente, e, quanto aos CDAs dos ácidos graxos, em termos gerais, foram semelhantes aos observados na Tabela 3 do presente estudo. Ainda no estudo com *Anguilla australis* é possível apreciar algumas observações: o CDA de ALA (95,3%) foi maior que o CDA de LA (92,5%) na dieta com óleo de linhaça, e o CDA de ALA (96,6%) foi menor que de LA (98,1%) na dieta com óleo de girassol. Coincidindo com os resultados do presente trabalho, as variações observadas no estudo de GUNASEKERA *et al.* (2002) foram proporcionais aos níveis de inclusão dos ácidos graxos essenciais ALA e LA, os quais, na dieta com óleo de linhaça, foram, respectivamente, 21,7 e 86,6 mg g<sup>-1</sup>, e na dieta com óleo de girassol, 81,6 e 2,3 mg g<sup>-1</sup>.

No trabalho de MARTINS *et al.* (2009) são

comparados os coeficientes de digestibilidade de cinco dietas para *Hippoglossus hippoglossus* com inclusões de óleo de arenque, gordura de frango, óleo de linhaça, óleo de canola e óleo de girassol. No trabalho de MARTINS *et al.* (2009) os níveis de inclusão dos ácidos graxos nas dietas experimentais foram expressos em porcentagens relativas às áreas da curva dos ésteres metílicos dos ácidos graxos, unidade pouco precisa (VISENTAINER, 2012), que dificulta a interpretação dos resultados em estudos com ácidos graxos (TURCHINI *et al.*, 2007), mas, já que estes óleos tipicamente apresentam altos teores de certos ácidos graxos: EPA e DHA no óleo de arenque, ALA no óleo de linhaça e LA no óleo de girassol, é possível afirmar que as dietas comparadas no estudo de MARTINS *et al.* (2009) apresentavam maiores concentrações absolutas dos respectivos ácidos graxos, tipicamente abundantes, o que, coincidindo com as interpretações planteadas neste trabalho, estaria relacionado com maiores CDAs.

No trabalho de COLOMBO-HIXON *et al.* (2011) com dietas para *Hippoglossus hippoglossus*, observa-se que os CDAs dos ácidos graxos 14:0, 16:0 e 18:0 foram os menores entre todos e, no geral, os CDAs aumentaram conforme o número de duplas ligações das cadeias carbonadas. Neste contexto, no trabalho de FRANCIS *et al.* (2007), com dietas para *Maccullochella peelii peelii* com cinco níveis de inclusão de óleos vegetais substituindo o óleo de peixe (0, 25, 50, 75 e 100% de substituição), os níveis de inclusão de ácidos graxos saturados e monoinsaturados não diferiram de forma considerável entre tratamentos, sendo ao redor de 230 mg g<sup>-1</sup> e 285 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente, enquanto os poli-insaturados apresentaram níveis ascendentes de 319,6; 331,0; 320,2; 344,8 e 369,7 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente de acordo com a ordem dos tratamentos, e os altamente insaturados apresentaram níveis claramente decrescentes de 235,2; 179,0; 117,4; 68,5 e 15,2 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente. Os CDAs dos ácidos graxos saturados não apresentaram diferenças significativas, mas os monoinsaturados e poli-insaturados apresentaram menores CDAs nos tratamentos com 75% e 100% de substituição com óleos vegetais, e os altamente insaturados apresentaram menores CDAs no tratamento com 100% de substituição. Isto corrobora o proposto anteriormente a respeito do efeito direto do nível de inclusão dos ácidos graxos sobre os CDAs e de que óleos com maiores concentrações de HUFA apresentariam maior fluidez que óleos com graus de instauração mais baixos, o que também estaria

relacionado com maiores CDAs dos ácidos graxos no geral.

O efeito da abundância de um grupo de ácidos graxos sobre a absorção de outros ácidos graxos pode ser evidenciado também pela diminuição da eficiência da absorção dos mais insaturados, ao incluir altas quantidades de ácidos graxos de cadeia média (óleo MCT), como no trabalho de ROSJO *et al.* (2000), em que a inclusão de óleo MCT (abundante em ácidos graxos de cadeia média como 8:0 e 10:0), como 30% dos lipídios totais em dietas de salmão do Atlântico, incrementou sua própria absorção, reduzindo a absorção pilórica de outros ácidos graxos como DHA, de 32% (grupo controle) a 5,4%.

Maior fluidez dos óleos e gorduras da dieta facilitaria o processo de digestão e o contato das lipases com as micelas de gordura e também influenciaria positivamente a eficiência da transformação dos triacilgliceróis e diacilgliceróis em ácidos graxos livres e monoacilgliceróis e sua difusão através da mucosa intestinal (NELSON e COX, 2006; GLENCROSS, 2009). Sendo assim, no presente estudo, os ácidos graxos poli-insaturados, com alta inclusão média (62% da massa total de ácidos graxos) nos tratamentos 1 a 5 e 45% no tratamento 6 (controle), e com baixos pontos de fusão e consequentemente menor viscosidade (maior fluidez), apresentaram CDAs superiores aos dos ácidos graxos saturados e monoinsaturados, principalmente aqueles com menor comprimento de cadeia: 14:0 e 15:0.

O conjunto de fatores que incrementariam a absorção dos ácidos graxos coincidentemente favorece mais a absorção do 18:3n3, do que a do 18:2n6. Quando, como neste caso, ALA e LA são os únicos ácidos graxos poli-insaturados da dieta, só ALA apresentaria variações significativas de seu CDA, justamente por sua viscosidade ser menor que a de LA, em decorrência da sua conformação molecular com três ligações duplas. Caberia, então, quantificar em novos estudos se essas modificações no CDA do ALA podem ser aproveitadas para incrementar os processos de alongamento, dessaturação e acúmulo na canal de HUFA n3 em espécies aquícolas, como o pacu. Estes resultados poderiam ser aplicados aos estudos de estratégias de modificação do metabolismo lipídico através da alimentação, como os propostos para outras espécies, como tilápia-do-nilo (TEOH *et al.*, 2011) e truta-arco-íris (THANUTHONG *et al.*, 2012), como parte dos esforços realizados para estabelecer formas sustentáveis de enriquecer os alimentos com HUFA n3.

## CONCLUSÕES

O CDA das moléculas de ácidos graxos em juvenis de pacu guarda relação de proporcionalidade com o seu grau de insaturação; desta forma, ácidos graxos com maior número de ligações duplas em sua estrutura apresentam CDA superior ao daqueles com menor número de tais ligações.

Conjuntos de ácidos graxos poli-insaturados apresentam coeficientes de digestibilidade aparente superiores aos dos ácidos graxos monoinsaturados e saturados em juvenis de pacu.

O coeficiente de digestibilidade de um ácido graxo aumenta de acordo com o incremento do seu nível de inclusão na dieta de juvenis de pacu.

Relações 18:3n3/18:2n6 entre 2,98 e 0,36 na dieta do pacu exercem influência diretamente proporcional sobre o CDA de 18:3n3, mas não sobre o CDA de 18:2n6 em dietas vegetais para juvenis de pacu, em que estes seriam os únicos ácidos graxos poli-insaturados.

Os ácidos graxos poli-insaturados de origem vegetal apresentam, em juvenis de pacu alimentados com dietas com 17% de gordura total, altos coeficientes de digestibilidade aparente, independentemente da relação 18:3n3/18:2n6.

## AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela concessão de bolsa de Doutorado a Julio Guerra Segura.

## REFERÊNCIAS

- ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J. 2004. Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração proteica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 19887). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33(5): 1101-1109.
- ABIMORAD, E. G.; FAVERO, G. C.; CASTELLANI, D.; GARCIA, F.; CARNEIRO, D. J. 2009 Dietary supplementation of lysine and/or methionine on performance, nitrogen retention and excretion in pacu *Piaractus mesopotamicus* reared in cages. *Aquaculture*, 295(3-4): 266-270.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. 1959 A rapid method for total lipid extraction and purification. *Canadian*



- Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8): 911-917.
- COLOMBO-HIXSON, S. M.; OLSEN, R. E.; MILLEY, J. E.; LALL, S. P. 2011 Lipid and fatty acid digestibility in Calanus copepod and krill oil by Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*, 313(1-4): 115-122.
- FRANCIS, D. S.; TURCHINI, G. M.; JONES, P. L.; DE SILVA, S. S. 2007 Effects of fish oil substitution with a mix blend vegetable oil on nutrient digestibility in Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. *Aquaculture*, 269(1-4): 447-455.
- FURUKAWA, A.; TSUKAHARA, H. 1966 On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 32(6): 502-506.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015 *Produção da Pecuária Municipal*. Rio de Janeiro, Brasil, 43(1): 1-49.
- GLENCROSS, B. D. 2009 Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture*, 1(1): 71-124.
- GUNASEKERA, R. M.; LEELARASAMEE, K.; DE SILVA, S. S. 2002 Lipid and fatty acid digestibility of three oil types in the Australian shortfin eel, *Anguilla australis*. *Aquaculture*, 203(3-4): 335-347.
- HUGUET, C. T.; NORAMBUENA, F.; EMERY, J. A.; HERMON, K.; TURCHINI, G. M. 2015 Dietary n-6/n-3 LC-PUFA ratio, temperature and time interactions on nutrients and fatty acids digestibility in Atlantic salmon. *Aquaculture*, 436(1): 160-166.
- MARTINS, D. A.; VALENTE, L. M. P.; LALL, S. P. 2009 Apparent digestibility of lipid and fatty acids in fish oil, poultry fat and vegetable oil diets by Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. *Aquaculture*, 294(1-2): 132-137.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. 2006 *Lehninger Princípios de Bioquímica*. 4. ed. São Paulo: Sarvier. 1336 p.
- NG, W. K.; CODABACCUS, B. M.; CARTER, C. G.; NICHOLS, P. D. 2010 Replacing dietary fish oil with palm fatty acid distillate improves fatty acid digestibility in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, maintained at optimal or elevated water temperature. *Aquaculture*, 309(1-4): 165-172.
- NRC. *Nutrient Requirements of Fish*. 2011 Washington, D.C.: National Academy Press.
- ROSJO, C.; NORDRUM, S.; OLLI, J. J.; KROGDAHL, A.; RUYTER, B.; HOLM, H. 2000 Lipid digestibility and metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed medium-chain triglycerides. *Aquaculture*, 190(2000): 65-76.
- SARGENT, J. R.; TOCHER, D. R.; BELL, J. G. 2002 The Lipids. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. *Fish Nutrition*. 3 ed. Maryland Heights/MO: Elsevier, p. 181-257.
- TEOH, C.Y.; TURCHINI, G. M.; NG, W.K. 2011 Genetically improved farmed Nile tilapia and red hybrid tilapia showed differences in fatty acid metabolism when fed diets with added fish oil or a vegetable oil blend. *Aquaculture*, 312(1-4): 126-136.
- THANUTHONG, T.; FRANCIS, D. S.; SENADHEERA, S. P. S. D.; JONES, P. L.; TURCHINI, G. M. 2012 Short-term food deprivation before a fish oil finishing strategy improves the deposition of n-3 LC-PUFA, but not the washing-out of C18 PUFA in rainbow trout. *Aquaculture Nutrition*, 18(4): 441-456.
- TURCHINI, G. M.; FRANCIS, D. S.; DE SILVA, S. S. 2007 A whole body, in vivo, fatty acid balance method to quantify PUFA metabolism (desaturation, elongation and beta-oxidation). *Lipids*, 42(11): 1065-1071.
- TURCHINI, G. M.; NG, W.K.; TOCHER, D. R. 2012 *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds*. CRC Press, 2011.
- VISENTAINER, J. V. 2012 Aspectos analíticos da resposta do detector de ionização em chama para ésteres de ácidos graxos em biodiesel e alimentos. *Química Nova*, 35(2): 274-279.