

OTIMIZAÇÃO DA METODOLOGIA PARA CARACTERIZAÇÃO  
DE CONSTITUINTES LIPÍDICOS E DETERMINAÇÃO DA  
COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS E AMINOÁCIDOS  
DE PEIXES DE ÁGUA DOCE

30/92

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
Faculdade de Engenharia de Alimentos

OTIMIZAÇÃO DA METODOLOGIA PARA CARACTERIZAÇÃO  
DE CONSTITUINTES LIPÍDICOS E DETERMINAÇÃO DA  
COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS E AMINOÁCIDOS  
DE PEIXES DE ÁGUA DOCE

Parecer

*Este exemplar corresponde a redação final da  
tese defendida por Everardo Lima Maia e apre-  
zada pela Comissão Julgadora em 03.12.92.*

EVERARDO LIMA MAIA

Mestre em Tecnologia de Alimentos

*Délio R. S.*

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> DÉLIA RODRIGUEZ-AMAYA †  
Orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de  
Alimentos da Universidade Estadual de Campi-  
nas para obtenção do título de Doutorado em  
Ciência de Alimentos.

CAMPINAS  
Estado de São Paulo - Brasil

1992

BANCA EXAMINADORA

*Délia B. R.*

---

Prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup>. Délia B.Rodriguez-Amaya  
(Orientadora)

*Contreras*

---

Prof. Dr. Emílio Segundo Contreras Guzmán  
(Membro)

*Jorge Mancini Filho*

---

Prof. Dr. Jorge Mancini Filho  
(Membro)

*Marília Oetterer*

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marília Oetterer  
(Membro)

*Masayoshi Ogawa*

---

Prof. Dr. Masayoshi Ogawa  
(Membro)

*Suplente*

---

Prof. Dr. João Shojiro Tango  
(Membro)

*Suplente*

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lireny A.Guaraldo Gonçalves  
(Membro)

Campinas, 03 de dezembro de 1992

## AGRADECIMENTOS

À Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Délia Rodriguez Amaya, pela orientação, incentivo e compreensão em momentos particularmente difíceis, durante o desenvolvimento desta tese.

À FAPESP pelo apoio financeiro para a realização desta tese e à CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Centro de Pesquisa e Treinamento em Aquicultura (CEPTA) do IBAMA (Pirassununga, São Paulo) pelo fornecimento de amostras de peixes indispensáveis para a realização desta tese. Os agradecimentos são extensivos aos seus pesquisadores José Augusto Ferraz de Lima (pelas trocas de idéias e sugestões), José Oswaldo Junqueira Mendonça (pelas informações sobre a sistemática da tilápia), Osmar Ângelo Cantelmo (pelas informações sobre nutrição e composição da ração dos peixes), Geraldo Bernardino (pelo fornecimento de bibliografia sobre a biologia dos peixes) e Antônio Fernando Bruni Lucas (pelo fornecimento dos dados sobre a temperatura da água).

À CG Instrumentos Científicos, nas pessoas de seu Diretor Presidente Remulo Ciola e de Sônia Maria Hochgreb Salcedo e Celso Ronaldo Blatt pelo uso do espectrômetro de massa e obtenção dos espectros de ácidos graxos.

Ao Departamento de Química da Fundação Universidade do Amazonas, em especial ao Prof. Ayssor Paulo Mourão pelo apoio, principalmente durante

*o período crítico de minha permanência para concluir este trabalho.*

*Agradeço a valiosa contribuição da Prof<sup>a</sup> Regina Bueno Franco pelo ensinamento, sugestões e trocas de informações sobre o uso do cromatógrafo gasoso.*

*Desejo expressar a minha gratidão ao Prof. Dr. Jaime Amaya Farfán e às técnicas Carla DeMarco e Cristina Boccato Ferreira, que contribuíram para a realização das análises sobre a composição de proteínas e aminoácidos.*

*Gostaria de agradecer ao Prof. Luiz Koodi Hotta do Instituto de Matemática e Ciência da Computação da UNICAMP pela realização das análises estatísticas.*

*Ao Prof. Daniel P. Celivonchick da Universidade do Estado de Oregon, USA, pelas trocas de informações e doação de padrões PUFA-1 e PUFA-2.*

*Ao Rogério Tsutomu Kotsubo da SOMA ESTATÍSTICA S.A. pela paciência e dedicação na digitação deste trabalho.*

*À Engenheira Salete de Lourdes Santos de Oliveira pela confecção dos cromatogramas de ácidos graxos.*

*À ABIA pela colaboração na reprodução das cópias desta tese.*

# ÍNDICE

<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>v.</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>x.</b>
<b>RESUMO</b>	<b>xiv.</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>xvii.</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>1.</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>4.</b>
2.1 Geral . . . . .	4.
2.2 Específico . . . . .	4.
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>5.</b>
3.1 Classificação Sistemática de Peixes . . . . .	5.
3.2 Hábito Alimentar de Peixes . . . . .	6.
3.3 Nomenclatura de Ácidos Graxos . . . . .	7.

3.4	Frações Lipídicas em Peixes de Água Doce . . . . .	10.
3.4.1	Caracterização das frações lipídicas . . . . .	10.
3.4.2	Conteúdos das frações lipídicas . . . . .	12.
3.4.3	Composição de ácidos graxos das frações lipídicas . . . . .	15.
3.5	Composição em Aminoácidos de Peixes de Água Doce . . . . .	20.
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>26.</b>
4.1	Amostras de Peixes . . . . .	26.
4.2	Preparação da Polpa de Peixe . . . . .	30.
4.3	Determinação do Teor de Umidade . . . . .	30.
4.4	Determinação do Teor de Lipídios Totais . . . . .	30.
4.5	Determinação do Teor de Proteína Bruta . . . . .	31.
4.6	Separação das Classes de Lipídios por Cromatografia em Coluna . . .	31.
4.7	Composição de Ácidos Graxos por Cromatografia Gasosa . . . . .	32.
4.8	Composição de Aminoácidos por Cromatografia de Troca Iônica . . .	38.
4.9	Análise Estatística . . . . .	39.
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>40.</b>
5.1	Aprimoramento dos Procedimentos Analíticos . . . . .	40.
5.1.1	Separação das classes de lipídios por cromatografia em coluna	40.

5.1.2	Técnica de metilação para cromatografia gasosa . . . . .	42.
5.1.3	Avaliação das condições em cromatografia gasosa . . . . .	55.
5.2	Teores de Umidade, Proteína e Lipídios . . . . .	56.
5.3	Identificação de Ácidos Graxos . . . . .	61.
5.3.1	Tempo de retenção . . . . .	61.
5.3.2	Tempo de retenção relativo ao 18:2n6 . . . . .	67.
5.3.3	Comprimento equivalente da cadeia . . . . .	73.
5.3.4	Fatores de separação . . . . .	82.
5.3.5	Método gráfico . . . . .	100.
5.3.6	Eluição dos ácidos graxos em colunas polar e apolar . . . . .	109.
5.3.7	Espectrometria de massa . . . . .	117.
5.4	Composição de Ácidos Graxos de Peixes . . . . .	132.
5.4.1	Composição de ácidos graxos de pacu . . . . .	132.
5.4.2	Composição de ácidos graxos de curimatá . . . . .	154.
5.4.3	Composição de ácidos graxos de tilápia . . . . .	169.
5.4.4	Composição de ácidos graxos de tambaqui . . . . .	178.
5.4.5	Comparação entre as espécies de peixes . . . . .	192.
5.5	Composição em Aminoácidos de Peixes . . . . .	201.
5.5.1	Composição em aminoácidos de pacu . . . . .	203.



5.5.2	Composição em aminoácidos de curimatá . . . . .	206.
5.5.3	Composição em aminoácidos de tilápia . . . . .	207.
5.5.4	Composição em aminoácidos de tambaqui . . . . .	209.
5.5.5	Comparação entre as espécies de peixes . . . . .	211.
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>213.</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS</b>	<b>215.</b>
	<b>ANEXO 1</b>	<b>238.</b>
	<b>ANEXO 2</b>	<b>241.</b>
	<b>ANEXO 3</b>	<b>242.</b>

## LISTA DE TABELAS

- 1 Dados sobre as amostras de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, curimbatá, *Prochilodus scrofa*, tilápia, *Oreochromis niloticus* e tambaqui, *Colossoma macropomum*, provenientes de Pirassununga, São Paulo . 28.
- 2 Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de pacu, *Piaractus mesopotamicus* e sardinha, *Sardinella brasiliensis*. Comparação entre os métodos A e B de metilação . . . . . 44.
- 3 Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros e fosfolipídios de pacu, *Piaractus mesopotamicus*. Comparação entre os métodos A e B de metilação . . . . . 46.
- 4 Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros e fosfolipídios de curimbatá, *Prochilodus scrofa*. Comparação entre os métodos A e B de metilação . . . . . 47.
- 5 Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros e fosfolipídios de tilápia, *Oreochromis niloticus*. Comparação entre os métodos A e B de metilação . . . . . 49.
- 6 Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros e fosfolipídios de tambaqui, *Colossoma macropomum*. Comparação entre os métodos A e B de metilação . . . . . 51.

7	Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> . Comparação entre os métodos B e C de metilação . . . . .	52.
8	Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i> , curimatá, <i>Prochilodus scrofa</i> , tilápia, <i>Oreochromis niloticus</i> e tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> . Comparação entre as técnicas de injeção “split” e “splitless” . . . . .	53.
9	Dados sobre umidade, proteína total e lipídios de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i> , curimatá, <i>Prochilodus scrofa</i> , tilápia, <i>Oreochromis niloticus</i> e tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> , provenientes de Pirassununga, São Paulo . . . . .	57.
10	Dados sobre tempo de retenção ( $t_r$ ) e tempo de retenção corrigido ( $t'_r$ ) de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de peixes e de padrões, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M . . . . .	62.
11	Dados sobre tempo de retenção relativo ( $t_{rr}$ ) e tempo de retenção relativo corrigido ( $t'_{rr}$ ) de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de peixes e de padrões, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M . . . . .	68.
12	Dados sobre comprimento equivalente da cadeia calculados em relação ao tempo de retenção (ECL) e tempo de retenção corrigido (ECL') de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de peixes e de padrões, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M . . . . .	74.
13	Valores de comprimento equivalente da cadeia de ésteres metílicos de ácidos graxos obtidos experimentalmente e de literatura, em coluna capilar de polietileno glicol . . . . .	79.

14	Fator de separação de dois grupos $\text{CH}_2$ ( $F^2$ ) de séries homólogas de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M . . . . .	84.
15	Fatores de separação ( $F$ ) iso e anteiso de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M . . . . .	86.
16	Fator de separação ( $F$ ) monoeno de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M . . . . .	88.
17	Fator de separação ( $F$ ) dieno de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M . . . . .	90.
18	Fator de separação ( $F$ ) polieno de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M . . . . .	91.
19	Fator de separação ( $F$ ) do tipo I de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M . . . . .	94.
20	Fator de separação ( $F$ ) do tipo II de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M . . . . .	96.
21	Fator de separação ( $F$ ) do tipo III de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M . . . . .	98.

- 22 Razão m/e e abundância relativa dos principais fragmentos de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões, obtidos por meio de espectrometria de massa através de ionização por impacto eletrônico a 70eV . . 120.
- 23 Razão m/e e abundância relativa dos principais fragmentos de ésteres metílicos de ácidos graxos de peixes, obtidos por meio de espectrometria de massa através de ionização por impacto eletrônico a 70eV . 129.
- 24 Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo . . 133.
- 25 Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo . . 139.
- 26 Composição percentual de ácidos graxos de fosfolipídios de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo . . . 146.
- 27 Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de curimatá, *Prochilodus scrofa*, proveniente de Pirassununga, São Paulo . . 151.
- 28 Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros de curimatá, *Prochilodus scrofa*, proveniente de Pirassununga, São Paulo . . 157.
- 29 Composição percentual de ácidos graxos de fosfolipídios de curimatá, *Prochilodus scrofa*, proveniente de Pirassununga, São Paulo . . . . . 160.
- 30 Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de tilápia, *Oreochromis niloticus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo . . . . 167.
- 31 Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros de tilápia, *Oreochromis niloticus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo . . . . 170.
- 32 Composição percentual de ácidos graxos de fosfolipídios de tilápia, *Oreochromis niloticus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo . . . . 174.

33	Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> , proveniente de Pirassununga, São Paulo e Manaus, Amazonas . . . . .	179.
34	Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> , proveniente de Pirassununga, São Paulo . . . . .	184.
35	Composição percentual de ácidos graxos de fosfolipídios de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> , proveniente de Pirassununga, São Paulo . . . . .	188.
36	Comparação entre as espécies de peixes provenientes de Pirassununga, São Paulo (Lipídios totais) . . . . .	193.
37	Comparação entre as espécies de peixes provenientes de Pirassununga, São Paulo (Lipídios neutros) . . . . .	198.
38	Comparação entre as espécies de peixes provenientes de Pirassununga, São Paulo (Fosfolipídios) . . . . .	200.
39	Composição em aminoácidos (gAA/16g de nitrogênio) de músculo de pacu, <i>Piaractus mesopotamicus</i> , proveniente de Pirassununga, São Paulo . . . . .	204.
40	Composição em aminoácidos (gAA/16g de nitrogênio) de músculo de curimatá, <i>Prochilodus scrofa</i> , proveniente de Pirassununga, São Paulo . . . . .	207.
41	Composição em aminoácidos (gAA/16g de nitrogênio) de músculo de tilápia, <i>Oreochromis niloticus</i> , proveniente de Pirassununga, São Paulo . . . . .	209.
42	Composição em aminoácidos (gAA/16g de nitrogênio) de músculo de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> , proveniente de Pirassununga, São Paulo . . . . .	210.

## LISTA DE FIGURAS

- 1 Gráfico do logaritmo do tempo de retenção versus número de átomos de carbonos de séries homólogas de ésteres metílicos de ácidos graxos 103.
- 2 Gráfico do logaritmo do tempo de retenção corrigido versus número de átomos de carbonos de séries homólogas de ésteres metílicos de ácidos graxos . . . . . 104.
- 3 Gráfico do logaritmo do tempo de retenção relativo versus número de átomos de carbonos de séries homólogas de ésteres metílicos de ácidos graxos . . . . . 105.
- 4 Gráfico do logaritmo do tempo de retenção relativo corrigido versus número de átomos de carbonos de séries homólogas de ésteres metílicos de ácidos graxos . . . . . 106.
- 5 Gráfico do comprimento equivalente da cadeia versus número de átomos de carbonos de séries homólogas de ésteres metílicos de ácidos graxos 107.
- 6 Gráfico do comprimento equivalente da cadeia corrigido versus número de átomos de carbonos de séries homólogas de ésteres metílicos de ácidos graxos . . . . . 108.
- 7 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões, em coluna de Carbowax 20M . . . . . 111.
- 8 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões, em coluna de SE-54. . . . . 112.
- 9 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de óleo de fígado de bacalhau, em coluna de Carbowax 20M. . . . . 114.

- 10 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de óleo de fígado de bacalhau, em coluna de SE-54. . . . . 115.
- 11 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios totais de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, em coluna de Carbowax 20M. . . 136.
- 12 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios totais de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, em coluna de SE-54. . . . . 137.
- 13 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios neutros de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, em coluna de Carbowax 20M. 142.
- 14 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios neutros de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, em coluna de SE-54. . . . . 143.
- 15 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolipídios de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, em coluna de Carbowax 20M. . . 144.
- 16 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolipídios de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, em coluna de SE-54. . . . . 145.
- 17 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios totais de curimatá, *Prochilodus scrofa*, em coluna de Carbowax 20M. . . . 149.
- 18 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios totais de curimatá, *Prochilodus scrofa*, em coluna de SE-54. . . . . 150.
- 19 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios neutros de curimatá, *Prochilodus scrofa*, em coluna de Carbowax 20M. . 155.
- 20 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios neutros de curimatá, *Prochilodus scrofa*, em coluna de SE-54. . . . . 156.
- 21 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolipídios de curimatá, *Prochilodus scrofa*, em coluna de Carbowax 20M. . . . 162.



22	Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolipídios de curimatá, <i>Prochilodus scrofa</i> , em coluna de SE-54. . . . .	163.
23	Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios totais de tilápia, <i>Oreochromis niloticus</i> , em coluna de Carbowax 20M. . . .	165.
24	Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios totais de tilápia, <i>Oreochromis niloticus</i> , em coluna de SE-54. . . . .	166.
25	Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios neutros de tilápia, <i>Oreochromis niloticus</i> , em coluna de Carbowax 20M. .	172.
26	Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios neutros de tilápia, <i>Oreochromis niloticus</i> , em coluna de SE-54. . . . .	173.
27	Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolipídios de tilápia, <i>Oreochromis niloticus</i> , em coluna de Carbowax 20M. . . .	176.
28	Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolipídios de tilápia, <i>Oreochromis niloticus</i> , em coluna de SE-54. . . . .	177.
29	Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios totais de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> , em coluna de Carbowax 20M.	181.
30	Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios totais de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> , em coluna de SE-54. . . . .	182.
31	Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios neutros de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> , em coluna de Carbowax 20M. . . . .	186.
32	Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios neutros de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> , em coluna de SE-54. . .	187.

- 33 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolipídios de tambaqui, *Colossoma macropomum*, em coluna de Carbowax 20M. 190.
- 34 Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolipídios de tambaqui, *Colossoma macropomum*, em coluna de SE-54. . . . . 191.

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar e quantificar os constituintes lipídicos e obter a composição em aminoácidos no filé de peixes de água doce, visando fornecer subsídios para as áreas de nutrição, tecnologia de alimentos, medicina e piscicultura. Quatro espécies de peixes foram pesquisadas: pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887), tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818), tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1857) e curimbatá (*Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881). As três primeiras espécies foram criadas em cativeiro, no Centro de Pesquisa e Treinamento em Aqüicultura (Pirassununga, São Paulo), enquanto o curimbatá foi coletado em seu "habitat" natural, o rio Mogi Guassu (Pirassununga, São Paulo).

Ênfase maior foi dada ao estudo dos lipídios, por serem mais sensíveis às mudanças de temperatura, dieta e espécie de peixe, entre outros fatores, do que os outros constituintes do músculo de peixes.

A tilápia e o pacu apresentaram, respectivamente, o menor e o maior teores de lipídios totais; os teores médios de lipídios totais (LT), umidade, proteína bruta, lipídios neutros (LN) e fosfolipídios (PL) variaram entre as espécies de 1,4-11,0%, 70,5-78,4%, 17,1-19,8%, 67,1-94,4% e 5,3-32,1%, respectivamente, sendo os dois últimos calculados em relação aos lipídios totais.

A partir dos métodos de Metcalfe *et al.* (1966) e Hartman & Lago (1973) para a metilação de ácidos graxos (AG), foi adaptado e testado um método rápido, simples e econômico, especialmente para óleos de peixes. Envolveu a hidrólise em NaOH metanólico e esterificação dos ácidos graxos liberados com  $\text{NH}_4\text{Cl} - \text{H}_2\text{SO}_4 - \text{MeOH}$ .

Por cromatografia gasosa de alta resolução, usando coluna capilar de sílica fundida, tendo Carbowax 20M como fase líquida, obteve-se um número grande de picos nos cromatogramas, atingindo o máximo de 74 picos nos LT de curimatá; nesta mesma fração, o número mínimo foi de 46 picos em tambaqui.

Em virtude da complexidade da composição de ácidos graxos nos peixes investigados, foi feita uma avaliação criteriosa de vários parâmetros para a identificação de ácidos graxos, descritos pela literatura. Os parâmetros usados foram os seguintes: a) comparação do tempo de retenção, tempo de retenção corrigido, tempo de retenção relativo corrigido e não corrigido; b) técnica de co-cromatografia ("spiking"), com 38 padrões individuais disponíveis; c) uso de misturas de padrões de origens marinha (PUFA-1) e animal (PUFA-2); d) uso de óleo de fígado de bacalhau, como fonte de ácidos graxos padrões secundários; e) fatores de separação; f) ordem de eluição em duas colunas capilares, polar (Carbowax 20M) e apolar (SE-54); g) comprimento equivalente da cadeia (ECL); h) método gráfico; i) espectrometria de massa. Se forem utilizados como único critério, os valores de ECL ou os espectros de massas demonstraram ser mais confiáveis.

Os ácidos graxos presentes em maiores concentrações nas frações de LT e LN foram praticamente os mesmos em todas as espécies, com a única exceção ocorrendo com o curimatá, onde o ácido linolênico ocupou o lugar do ácido linoléico, em ambas as frações. As faixas encontradas foram para LT, 14:0, 1,3-4,1%; 16:0, 24,2-28,9%; 18:0, 5,2-9,8%; 16:1n7, 6,0-16,3%; 18:1n9, 15,3-41,0%; 18:2n6, 2,5-13,4% e 18:3n3, 0,5-3,7%, e para LN, 14:0, 1,3-5,2%; 16:0, 24,2-28,5%; 18:0, 5,1-10,2%; 16:1n7, 6,6-16,9%; 18:1n9, 15,8-42,4%; 18:2n6, 2,6-12,9% e 18:3n3, 0,5-4,0%.

Os ácidos graxos dos fosfolipídios mostraram uma maior diversidade

entre as espécies de peixes. Entre os constituintes principais, o ácido docosahe-  
xaenóico (DHA) esteve presente no pacu (11%), curimbatá (12,2%) e tambaqui  
(10,6%); o ácido eicosapentaenóico (EPA) em curimbatá (8,3%), o ácido docosa-  
pentaenóico (DPA) em tilápia (5,4%) e o ácido linoléico em pacu (9,1%), tilápia  
(14,3%) e tambaqui (9,9%). Em comum, os PL das quatro espécies tiveram os  
seguintes ácidos graxos: 16:0 (16,7-26,7%), 18:0 (6,9-10,7%), 18:1n9 (8,3-17,9%) e  
20:4n6 (7,6-11,6%). Tipicamente, os PL das quatro espécies de peixes apresentaram  
maiores níveis de ácidos graxos poliinsaturados do que os lipídios neutros e totais.

Os ácidos graxos das frações de LT, LN e PL de pacu não mostraram  
alterações especificamente decorrentes das mudanças de temperatura da água.

Pela composição de aminoácidos, as quatro espécies de peixes  
revelaram-se como boas fontes de aminoácidos essenciais (AAEs). Constatou-se  
pelo escore químico (EQ), que apenas o total de aminoácidos sulfurados (metionina  
+ cisteína) foi limitante na tilápia (EQ=0,69) e no curimbatá (EQ=0,73). Este foi  
equivalente no tambaqui (EQ=1,00) e levemente superior no pacu (EQ=1,08).

## SUMMARY

The present study was undertaken to characterize the lipid fraction and determine the amino acid composition of freshwater fish fillets, with the view of furnishing information for the areas of nutrition, food technology, medicine and aquaculture. Four fish species were investigated: "pacu" (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887), "tambaqui" (*Colossoma macropomum* Cuvier 1818), "tilapia" of Nile (*Oreochromis niloticus* Linnaeus 1859) and "curimbatá" (*Prochilodus scrofa* Steindachner 1881). The first three species were cultivated at the "Centro de Pesquisa e Treinamento em Aqüicultura" (Pirassununga, São Paulo) while *P. scrofa* was collected from its natural habitat, the Mogi Guassu River (Pirassununga, São Paulo).

Greater emphasis was directed to the study of the lipids, which is considered to be the constituent most sensitive to changes in temperature, diet and species of fish, among other factors.

"Tilapia" presented the lowest total lipid content and "pacu" the highest. The mean total lipid (TL), moisture, crude protein, neutral lipids (NL) and phospholipids (PL) ranges were, respectively, 1.4 - 11.0%, 70.5 - 78.4%, 17.1 - 19.8%, 67.1 - 94.4% and 5.3 - 32.1%, the last two values being calculated as percentages of the total lipids.

A rapid, simple and economic method was adapted from the methods of Metcalfe *et al.* (1966) and Hartman and Lago (1973) for the methylation of fatty acids, especially of fish oils. It involved hydrolysis with methanolic NaOH and esterification of the liberated fatty acids with  $\text{NH}_4\text{Cl-H}_2\text{SO}_4\text{-MeOH}$ .

By high resolution gas chromatography, using fused silica capillary column with Carbowax 20M as liquid phase, a large number of peaks appeared in the chromatograms, reaching a maximum of 74 peaks in the TL of "curimbatá"; in this same fraction, the minimum number was 46 peaks in "tambaqui".

Due to the complexity of the fatty acid composition of the fishes investigated, a careful evaluation of the various parameters for the identification of fatty acids described in the literature was accomplished. The parameters used were: a) comparison of the retention time, corrected retention time, corrected and uncorrected relative retention time; b) spiking (38 individual standards were used); c) utilization of standard mixtures of marine (PUFA-1) and animal origin (PUFA-2); d) use of cod liver oil as secondary standard; e) separation factors; f) order of elution from polar (Carbowax 20M) and apolar (SE-54) columns; g) equivalent chain length (ECL); h) graphic method; i) mass spectrometry. As the sole criterion, the ECL values or the mass spectra proved to be more reliable.

The six fatty acids presenting higher concentrations in the TL and NL fractions were practically the same in all species, with the single exception occurring in "curimbatá" where linolenic acid took the place of linoleic acid in both fractions. The ranges encountered were: for TL, 14:0 (1.3-4.1%), 16:0 (24.2-28.9%), 18:0 (5.2-9.8%), 16:1n7 (6.0-16.3%), 18:1n9 (15.3-41.0%), 18:2n6 (2.5-13.4%) and 18:3n3 (0.5-3.7%) and for NL, 14:0 (1.3-5.2%), 16:0 (24.2-28.5%), 18:0 (5.1-10.2%), 16:1n7 (6.6-16.9%), 18:1n9 (15.8-42.4%), 18:2n6 (2.6-12.9%) and 18:3n3 (0.5-4.0%). The PL demonstrated greater diversity among the fish species. Among the principal constituents, docosahexaenoic acid (DHA) was present in "pacu" (11.0%), "curimbatá" (12.2%) and tambaqui (10.6%); eicosapentaenoic acid (EPA) in "curimbata" (8.3%), docosapentaenoic acid (DPA) in "tilapia" (5.4%) and linoleic acid in "pacu"

(9.1%), "tilapia" (14.3%) and "tambaqui" (9.9%). The PL of the four species had in common the following major fatty acids: 16:0 (16.7-26.7%), 18:0 (6.9-10.7%), 18:1n9 (8.3-17.9%), 20:4n6 (7.6-11.6%). Typically, the PL of the four species had higher levels of polyunsaturated fatty acids than the neutral and total lipids. The fatty acids of the TL, NL and PL of "pacu" revealed no alterations resulting specifically from the changes in the water temperature.

The amino acid composition showed the four fish species to be good sources of essential amino acids (EAA). Through the chemical score (CS) only the total sulfur amino acid (methionine + cistine) was limiting in tilapia (CS = 0.69) and in "curimatá" (CS = 0.73). It was equivalent in "tambaqui" (CS = 1.00) and slightly superior in "pacu" (CS = 1.08).



# 1. INTRODUÇÃO

A produção de peixes de água doce no Brasil, no período de 1974 a 1984, passou de 114.189 para 202.624 toneladas anuais, o que corresponde a um acréscimo da ordem de 77%. Neste mesmo período, o crescimento da produção de peixes marinhos atingiu apenas 3% (IBGE, 1976, 1985).

Apesar do aumento considerável na oferta de peixes de água doce à população brasileira, muito pouco se conhece sobre suas propriedades químicas, nutricionais e tecnológicas, conhecimentos básicos indispensáveis para uma melhor utilização ou aproveitamento de qualquer matéria-prima.

No exterior, nos últimos anos, os lipídios de peixes tem sido objeto de numerosos estudos, por ser uma fonte rica de ácidos graxos poliinsaturados da série n3 (AGP n3) (Kinsella, 1981; Gibson, 1983; Hearn *et al.*, 1987; Vlieg & Body, 1988; Ackman, 1989; Wang *et al.*, 1990). Estudos epidemiológicos correlacionam a baixa incidência de doenças cardiovasculares nos esquimós e japoneses, com o consumo destes ácidos graxos provenientes de peixes marinhos (Dyerberg *et al.*, 1978; Dyerberg & Bang, 1979; Dyerberg, 1981; Kagawa *et al.*, 1982; Jorgensen & Dyerberg, 1983). Pesquisas indicam que AGP n3, particularmente o ácido eicosapentaenóico, interferem na produção de prostaglandina trombótica, tromboxano (Budowski, 1981; Bronsgeest-Schoute *et al.*, 1981; Goodnight *et al.*, 1982) ou são transformados em prostaglandinas antitrombóticas (Dyerberg *et al.*, 1978; Needleman *et al.*, 1979). As

tentativas de reduzir os riscos às doenças cardiovasculares enfatizam a importância do consumo de peixes ou de seus produtos ricos em AGP n3 e pobres em AGP n6 (Sinclair *et al.*, 1983; Kinsella, 1986; Herold & Kinsella, 1986; Burr, 1989). Os AGP n3 e os óleos de peixes são tão intimamente ligados que os peixes como um todo são considerados fontes ricas destes componentes. Na verdade, há uma diferença marcante nos perfis de ácidos graxos entre diferentes espécies de peixes e entre as classes (lipídios neutros, fosfolipídios e glicolipídios) e sub-classes (triacilgliceróis, lecitina, cefalina, etc.) de lipídios.

No Brasil, o efeito benéfico dos AGP n3 já está sendo divulgado, porém, o conhecimento da composição de AG dos peixes brasileiros é muito restrita. Os escassos trabalhos encontrados sobre a composição de ácidos graxos de peixes de água doce só demonstram a existência do ácido linolênico e a possível presença de 20:5n3 em traços (Andrade, 1978; Castello *et al.*, 1980; Maia *et al.*, 1983; Machado, 1989). Isso pode ser devido à baixa resolução dos métodos analíticos utilizados no país até agora. No entanto, a possibilidade de ausência ou ocorrência em níveis baixos dos AGP n3 não está descartada. Esta possibilidade poderia explicar a observação de técnicos do Centro de Pesquisas e Treinamento em Aquicultura (CEPTA), Pirassununga, SP, de que o tambaqui do Amazonas (peixe indígena de águas quentes) não tem se adaptado às águas frias de São Paulo, uma vez que os AGPs estão implicados no mecanismo de resistência e adaptação às temperaturas baixas.

Por outro lado, a porção lipídica de alimentos pode estar associada positiva ou negativamente às diversas propriedades dos alimentos como sabor, estabilidade da cor, características emulsificantes e conteúdo calórico. A diferença entre espécies em relação à composição de ácidos graxos representa uma das variáveis mais significativas que determinam as características de processamento, palatabilidade e estocagem de alimentos como peixes, carnes, frangos, etc. A diversidade e quantidade de lipídios nas várias espécies de peixes tem contribuído para inúmeros problemas técnicos enfrentados pelos cientistas e tecnólogos envolvidos no processamento de produtos de alta qualidade para o consumidor.

Os ácidos graxos insaturados, especialmente os poliinsaturados, são lábeis à oxidação, um problema sério no processamento e estocagem de pescado. Outro problema, a hidrólise de lipídios (lipólise) com a produção de ácidos graxos livres, leva à desnaturação de proteínas e causa perda geral da qualidade de peixes congelados (Hardy, 1980; Allen & Foegeding, 1981; Shewfelt, 1981).

Do ponto de vista nutricional, junto com os lipídios, é importante conhecer a composição de aminoácidos das proteínas, principalmente os teores daqueles considerados essenciais ao homem. As proteínas de peixes são consideradas excelentes, tanto em termos de quantidade como de qualidade (Mayer, 1962; Mukundan & James, 1978; Mukundan *et al.*, 1981). De fato, os peixes são as principais fontes de proteínas em muitos países em desenvolvimento.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Geral**

Caracterizar os constituintes lipídicos e determinar a composição em aminoácidos de peixes de água doce.

### **2.2. Específico**

1. Separar os lipídios totais em classes, quantificá-las e determinar suas respectivas composições de ácidos graxos;
2. Quantificar as proteínas brutas e determinar suas respectivas composições de aminoácidos;
3. Investigar a influência da espécie de peixe e da época do ano sobre os constituintes lipídicos e protéicos.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Classificação Sistemática de Peixes

Conhecer a classificação sistemática de peixes é importante para quem estuda qualquer ramo da Ictiologia. Por exemplo, através da classificação sistemática pode ser visto que pacu e tambaqui são de diferentes espécies e gêneros, mas ao nível de subfamília essas duas espécies guardam entre si uma relação de parentesco. Conhecer as inter-relações entre os peixes pode ajudar a entender melhor as dependências entre as espécies e os constituintes químicos do pescado.

Baseando-se nos trabalhos de Britski (1972), Godoy (1975), Lagler *et al.* (1977), Bond (1979), Machado-Allison (1982), Trewavas (1982), Lauder & Liem (1983) e Géry (1986), os peixes estudados no presente trabalho podem ser inter-relacionados dentro da “árvore genealógica”, resumidamente da seguinte maneira:

Nome comum	Nome científico	Subfamília	Família	Ordem
pacu	<i>Piaractus mesopotamicus</i> (Holmberg, 1887)	<i>Serrasalminae</i>	<i>Characidae</i>	<i>Characiformes</i>
tambaqui	<i>Colossoma macropomum</i> (Cuvier, 1818)	<i>Serrasalminae</i>	<i>Characidae</i>	<i>Characiformes</i>
curimatá	<i>Prochilodus scrofa</i> (Steindachner, 1881)	<i>Prochilodontinae</i>	<i>Prochilodontidae</i>	<i>Characiformes</i>
tilápia do Nilo	<i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1857)	—	<i>Chichlidae</i>	<i>Perciformes</i>

### 3.2. Hábito Alimentar de Peixes

A dieta alimentar do peixe tem uma grande influência sobre a sua composição química geral, e em especial, sobre a composição em ácidos graxos. Por isso, achou-se conveniente apresentar algumas informações acerca do tipo de alimentação ou hábito alimentar dos peixes em seu "habitat" natural.

Estudos relacionados com a alimentação do pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1985) coletado no Pantanal Mato-Grossense foram realizados por Silva (1987) e Paula *et al.* (1989). Para Silva (1987), o pacu se alimenta de uma vasta gama de alimentos vegetais e animais, sendo os primeiros os mais importantes e caracterizando esta espécie como predominantemente *herbívoros*. Os vegetais naturais, frutos e sementes, constituem-se os componentes mais importantes na dieta, sendo utilizados tanto no período de enchente como da vazante. Os resultados de Paula *et al.* (1989) foram concordantes com o de Silva, inclusive com relação à alimentação secundária, como folhas, caules, crustáceos e insetos.

Os resultados de análises qualitativa e quantitativa do conteúdo estomacal de tambaqui, *Colossoma bidens* (Spix) da Bacia Amazônica, revelaram que a alimentação deste peixe está relacionada com o seu comprimento e com o mês do ano (Honda, 1974). A presença de frutos foi constante na época de cheia dos rios (janeiro-junho), mas tornou-se rara com a diminuição do volume das águas ou período de seca (agosto-dezembro), onde os crustáceos planctônicos foram os alimentos mais frequentes para o tambaqui. Assim, para Honda (1974), o tambaqui pode ser classificado como *onívoro*, tendo crustáceos e frutos como alimentos principais, e restos de vegetais, algas, decápodos e insetos, como itens secundários. Segundo Goulding (1980), os hábitos alimentares de tambaquês jovens e adultos são diferentes. No Rio Madeira, o tambaqui adulto procura a maioria de seus alimentos em florestas inundadas onde os frutos e sementes caem dentro d'água, enquanto os jovens se confinam em águas turbidas de planícies inundadas, onde sua dieta é provavelmente diferente. Ainda segundo Goulding, cerca de 2/3 do total de 15 sementes diferentes encontradas no estômago de tambaqui foram sementes de seringueira, *Hevea*

*spruceona*, e frutos da palmácea “jauari”, *Astrocaryum jauary*.

Menos detalhada foi a investigação dos constituintes que compõem a alimentação do curimatá, *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881), mas existiu uma concordância entre Azevedo (1972), Godoy (1975) e Santos (1986/87) de que este peixe deve ser classificado como *ilófago* ou *limnófago*, tendo como fonte alimentar básica as algas, bactérias, fungos e outros microorganismos que compõem o lodo ou lama de fundo das águas. Segundo Godoy (1975), os alevinos e os peixes jovens e os adultos consomem exclusivamente lodo.

O comportamento alimentar de tilápia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1857), foi mais difícil de ser definido. Não foi encontrado nenhum estudo realizado no Brasil sobre este tema. Por outro lado, os dados na literatura estrangeira foram muito complexos para serem analisados, devido ao grande número de espécies (Balarin & Hatton, 1979; Jauncey & Ross, 1982), taxonomia e especificações das espécies pobremente definidas (Balarin & Hatton, 1979; Trewavas, 1982), diferentes hábitos ecológicos e distribuição geográfica (Phillipart & Ruwet, 1982) e diversidade de dietas naturais reportadas (Bowen, 1982; Jauncey & Ross, 1982; Phillipart & Ruwet, 1982). Como família *Cichlidae*, as tilápias (nome geral para a maioria das espécies relatadas) podem ser classificadas como sendo predominantemente *herbívoras*, com dietas baseadas em algas azul-verde, diatomáceas (algas microscópicas), macrófitas e detritos amorfos.

### 3.3. Nomenclatura de Ácidos Graxos

Os lipídios de peixes de água doce, a exemplo de peixes marinhos, apresentam ácidos graxos contendo de 10 a 24 átomos de carbonos, sendo a maioria de cadeia linear par, mas ultimamente a detecção de ácidos de cadeias ramificadas e cadeias ímpares tem aumentada com o uso de colunas capilares. Quanto ao número de ligações covalentes entre os átomos de carbonos, os ácidos graxos podem ser

totalmente saturados ou conter duplas ligações em número variável de 1 a 6, do tipo metileno ( $-\text{CH}_2-$ ) interrompida ( $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ ). As duplas ligações nos ácidos graxos de ocorrência natural geralmente estão em configuração cis.

Os símbolos numéricos (I), seguidos das designações das famílias (somente para ácidos graxos insaturados), posição(ões) da(s) dupla(s) ligação(ões) em relação à extremidade carboxílica ( $\text{COOH}$ ) (II), nomes vulgares (III) e sistemáticos (IV) da maioria dos ácidos graxos comumente encontrados em lipídios de peixes estão relacionados a seguir:

a) Ácidos graxos saturados

I	III	IV
10:0	cáprico	ácido decanóico
11:0	n-undecílico	ácido hendecanóico
12:0	láurico	ácido dodecanóico
13:0	n-tridecílico	ácido tridecanóico
14:0	mirístico	ácido tetradecanóico
15:0	n-pentadecílico	ácido pentadecanóico
16:0	palmítico	ácido hexadecanóico
17:0	margárico	ácido heptadecanóico
18:0	esteárico	ácido octadecanóico
19:0	n-nonadecílico	ácido nonadecanóico
20:0	araquídico	ácido eicosanóico
21:0	n-heneicosóico	ácido heneicosanóico
22:0	behênico	ácido docosanóico
24:0	lignocérico	ácido tetracosanóico



b) Ácidos graxos monoinsaturados ou monoenólicos

I	II	III	IV
14:1n9	5	ácido fisetérico	ácido-5-tetradecenóico
14:1n5	9	ácido miristoléico	ácido-9-tetradecenóico
16:1n7	9	ácido palmitoléico	ácido-9-hexadecenóico
18:1n12	6	ácido petroselinico	ácido-6-octadecenóico
18:1n9	9	ácido oléico	ácido-9-octadecenóico
18:1n7	11	ácido cis-vacênico	ácido-11-octadecenóico
20:1n11	9	ácido gadoléico	ácido-9-eicosenóico
20:1n9	11	ácido gondóico	ácido-11-eicosenóico
22:1n11	11	ácido cetoléico	ácido-11-docosenóico
22:1n9	13	ácido erúico	ácido-13-docosenóico
24:1n9	15	ácido nervônico	ácido-15-tetracosenóico

c) Ácidos graxos diinsaturados ou dienólicos

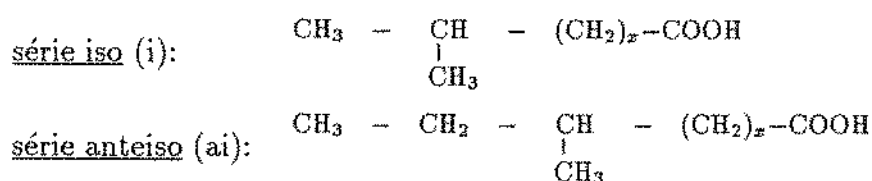
I	II	III	IV
16:2n6	7,10	—	ácido-7,10-hexadecadienóico
18:2n6	9,12	ácido linoléico	ácido-9,12-octadecadienóico
20:2n9	8,11	—	ácido-8,11-eicosadienóico
20:2n6	11,14	—	ácido-11,14-eicosadienóico

d) Ácidos graxos poliinsaturados ou polienólicos ( $n^{\circ}$  duplas ligações  $\geq 3$ )

I	II	III	IV
18:3n6	6,9,12	ácido $\gamma$ -linolênico	ácido-6,9,12-octadecatrienóico
18:3n3	9,12,15	ácido $\alpha$ -linolênico	ácido-9,12,15-octadecatrienóico
20:3n9	5,8,11	ácido "mead"	ácido-5,8,11-eicosatrienóico
20:3n6	8,11,14	ácido dihomog $\gamma$ -linolênico	ácido-8,11,14-eicosatrienóico
20:3n3	11,14,17	—	ácido-11,14,17-eicosatrienóico
18:4n3	6,9,12,15	ácido morótico	ácido-6,9,12,15-octadecatetraenóico
20:4n6	5,8,11,14	ácido araquidônico	ácido-5,8,11,14-eicosatetraenóico
22:4n6	7,10,13,16	ácido adrênico	ácido-7,10,13,16-docosatetraenóico
20:4n3	8,11,14,17	—	ácido-8,11,14,17-eicosatetraenóico
22:4n3	10,13,16,19	—	ácido-10,13,16,19-docosatetraenóico
20:5n3	5,8,11,14,17	ácido timnodônico, EPA	ácido-5,8,11,14,17-eicosapentaenóico
22:5n6	4,7,10,13,16	ácido docosapentaenóico	ácido-4,7,10,13,16-docosapentaenóico
22:5n3	7,10,13,16,19	ácido clupanodônico, DPA	ácido-7,10,13,16,19-docosapentaenóico
22:6n3	4,7,10,13,16,19	ácido cervônico, DHA	ácido-4,7,10,13,16,19-docosahexaenóico

### e) Ácidos graxos ramificados

São considerados ácidos graxos ramificados aqueles contendo um ou mais grupos metílicos ( $-CH_3$ ) ligados a átomos de carbonos da cadeia normal. Os ácidos saturados mono-ramificados das séries iso e anteiso são os mais comuns e têm as seguintes fórmulas estruturais:



Os ácidos graxos ramificados de ocorrências mais comuns em peixes são:

I	III	IV
i-14:0	iso-mirístico	ácido-12-metiltridecanóico
ai-14:0	ai-mirístico	ácido-11-metiltridecanóico
i-15:0	—	ácido-13-metiltetradecanóico
ai-15:0	—	ácido-12-metiltetradecanóico
i-16:0	iso-palmitico	ácido-14-metilpentadecanóico
ai-16:0	ai-palmitico	ácido-13-metilpentadecanóico
i-17:0	iso-margárico	ácido-15-metilhexadecanóico
ai-17:0	ai-margárico	ácido-14-metilhexadecanóico
i-18:0	iso-esteárico	ácido-16-metilheptadecanóico
—	ácido pristânico	ácido-2,6,10,14-tetrametilpentadecanóico
—	ácido ftânico	ácido-3,7,11,15-tetrametilhexadecanóico

## 3.4. Frações Lipídicas em Peixes de Água Doce

### 3.4.1. Caracterização das frações lipídicas

A determinação do teor total de lipídios (LT), também frequentemente chamado de teor de gordura ou óleo, geralmente envolve a extração de

substâncias que são solúveis em um dado solvente orgânico ou numa mistura de solventes. O método de Bligh & Dyer (1959) é muito usado para análise de gordura em pescado. Consiste da extração a frio dos lipídios totais, com uma mistura de clorofórmio-metanol-água (incluída a água muscular natural), na proporção de 1:2:0,8, respectivamente. Posterior diluição com clorofórmio e água, a relação muda para 2:2:18, ocorrendo a separação do homogenizado em duas camadas: a camada de clorofórmio contém os lipídios totais e a camada aquo-metanólica contém os compostos não lipídicos.

Num extrato de lipídios totais de músculo de peixes, pode existir uma grande variedade de substâncias orgânicas lipossolúveis, que são distribuídas em três classes principais: lipídios neutros (LN), fosfolipídios (PL) e glicolipídios (GL).

Os lipídios neutros (Kates, 1972) ou lipídios simples (Christie, 1982) incluem as substâncias ou subclasses chamadas de triacilgliceróis ou triglicerídios (TG), diacilgliceróis ou diglicerídios (DG), monoacilgliceróis ou monoglicerídios (MG), alquil-diacilgliceróis, plasmalogenos neutros, esteróis (principalmente colesterol livre e esterificado), ceras e ácidos graxos livres (AGL).

Para Christie (1982), o termo fosfolipídio, que pode ser classificado como lipídio complexo, denota qualquer composto contendo ácido fosfórico, como mono ou diéster, e assim inclui os glicerofosfolipídios e esfingomielina (SPH) (um esfingolipídio). As principais substâncias ou subclasses de glicerofosfolipídios incluem ácido fosfatídico (PA), fosfatidilglicerol (PG), fosfatidilcolina ou lecitina (PC), lisofosfatidilcolina ou lisolecitina (LPC), fosfatidiletanolamina ou cefalina (PE), lisofosfatidiletanolamina ou lisocefalina (LPE), fosfatidilinositol (PI), fosfatidilserina (PS), cardiolipina (CDL), alquilacilglicerofosfolipídios e plasmalogenos fosforilados.

O termo glicolipídio, segundo Christie (1982) é usado para descrever qualquer composto contendo uma ou mais moléculas de monossacarídios, unidas através de uma ligação glicosídica a uma parte lipídica, e assim engloba os glicoglicerolipídios e alguns esfingolipídios (cerebrosídeos, sulfatídeos e gangliosídeos). Os

glicoglicerolípídios principais são mono e digalactosildiacilglicerois.

Atualmente, a determinação da composição de ácidos graxos deixou de ser realizada apenas em termos de lipídios totais, mas sim em termos das diferentes classes e subclasses (Ota & Takagi, 1977; Mai & Kinsella, 1979b; Ohshima *et al.*, 1982; Weihrauch & Son, 1983; Tocher & Sargent, 1984). Graças a esta abordagem, maiores informações quanto à natureza e ao comportamento destes compostos têm sido obtidas. Foi constatado, por exemplo, que tanto a oxidação como a lipólise de peixe, carne e frango, etc., envolvem principalmente os fosfolipídios e que a maior susceptibilidade à oxidação desta classe de lipídios está diretamente ligada a sua composição de ácidos graxos, tendo concentrações mais altas de insaturados (Braddock & Dugan Jr., 1972; El-Shattory, 1979; Allen & Foegeding, 1981; Shewfelt, 1981; Wu & Sheldon, 1988).

Uma excelente revisão sobre a composição e aspectos bioquímicos de lipídios em peixes de água doce foi realizada por Henderson & Tocher (1987). Esta revisão abrangeu trabalhos reportando os conteúdos de lipídios totais e suas classes, composição de ácidos graxos, síntese de lipídios, metabolismo de lipídios alimentares, o papel dos ácidos graxos essenciais, catabolismo lipídico, desenvolvimento embrionário e larval e lipídios de peixes, influência da dieta, temperatura e salinidade sobre os lipídios.

Na presente revisão, serão apresentados os trabalhos que relataram, em peixes de água doce, a composição de lipídios em músculo ou no peixe inteiro. Inicialmente serão revisados os trabalhos sobre os conteúdos das frações de lipídios, e em seguida, a composição em ácidos graxos das classes e subclasses de lipídios, bem como a influência de alguns fatores responsáveis pela variação dos teores desses componentes.

#### **3.4.2. Conteúdos das frações lipídicas**

Os conteúdos de LT, PL, esteróis e TG foram determinados em 15

espécies de peixes de água doce de rios e lagos de Nova Iorque (EUA) por Kinsella *et al.* (1977a). O conteúdo de LT dos filés variou de 0,7% para “rock bass”, *Ambloplites rupestris*, a 7,2% para “lake trout”, *Salvelinus namaycush*, com a maioria das espécies tendo uma média em torno de 2,0% de LT. A quantidade de PL variou de 185 a 875mg/100g de filé e mostrou uma relação inversa com os LT. Colesterol (COL) foi o único esterol presente, tendo variado de 50-90mg/100g de filé. A proporção de COL em LT aumentou quando o conteúdo de LT no filé do peixe diminuiu. Os teores de TG, que foram obtidos por diferença ( $TG=LT-PL-COL$ ) tiveram variação de 0,26-3,38g/100g de filé. As 4 espécies mais “magras” apresentaram 0,7-0,8% de LT; em duas delas, “rock bass” e “sunfish pumpkinseed”, *Lepomis gibbosus*, os teores de TG (65,7% e 59,4%, respectivamente) foram maiores do que os teores de PL (27,2% e 31,1%, respectivamente) e nas outras duas, “burbot”, *Lota lota* e perca amarela, *Perca flavescens*, o inverso ocorreu, com os teores de PL (51,1% e 49,4%, respectivamente) sendo superiores aos de TG (36,9% e 39,6%, respectivamente).

Uma espécie de água doce da Índia, *Etroplus suratensis*, teve sua composição lipídica estudada por Nair & Gopokumar (1984). Os teores de LT, LN e PL foram de 1,90g/100g, 1,16g/100g e 0,70g/100g de músculo, respectivamente. Dentro da fração de fosfolipídios, PC (57,9%) foi o principal componente, sendo seguido por PE (14,9%) e PS (7,8%); outras subclasses encontradas foram PI, SPH, LPC e LPE, em quantidades variando de 1,3 a 3,1%.

Os lipídios de músculo escuro e branco de “white sucker”, *Catostomus commersoni*, foram investigados por Mai & Kinsella (1979a). O músculo escuro apresentou conteúdos mais altos de LT e LN do que o músculo branco, totalizando, respectivamente, 6,2% e 91,2% no primeiro e 1,4% e 76,5% no segundo. Já o teor de PL foi maior no músculo branco com 22,9%, do que no músculo escuro que teve 8,8%. Também foi constatado que no músculo branco, a porção ventral foi mais rica em LT do que a porção dorsal (1,6% vs. 1,3%). De modo geral, foram notadas diferenças marcantes entre os músculos escuro e branco quanto à composição percentual das subclasses de PL e LN, com exceção de AGL e 1,2-DG.

A diferença entre peixes cultivados e silvestres do Japão, em relação às percentagens das frações lipídicas foi verificada por Ohshima *et al.* (1982) em “ayu”, *Plecoglossus altivelis*. Em geral, foi observado que o conteúdo de LT do peixe cultivado foi maior do que o do peixe silvestre. Este resultado repetiu-se para os LN, cuja média foi de 94,6% para o peixe cultivado contra 91,0% para o não cultivado. Como consequência, o teor de PL foi menor no peixe cultivado (5,4% vs. 9,0%). A análise da fração LN por cromatografia líquida de alta eficiência mostrou que as espécies moleculares de TG em “ayu” cultivado são diferentes daquelas do “ayu” silvestre. Esta mesma técnica foi usada para análise da fração de PL, sendo encontrada uma razão PC/PE de 1,68 para “ayu” cultivado e de 2,26 para o silvestre.

Para Watanabe *et al.* (1974a), o nível de 18:3n3 na dieta exerce pequeno efeito sobre a proporção de lipídios polares e apolares em truta arco-íris, *Salmo gairdneri*. Após 18 meses de ensaio, os peixes alimentados com uma dieta contendo metil laurato (12:0) e outra livre de gordura apresentaram teores de PL ligeiramente mais altos do que os peixes sob uma dieta contendo linolenato e outra contendo uma mistura de óleo de soja e óleo de fígado de bacalhau. Os resultados das 4 dietas mostraram variações de 1,8-2,7% para LT, 15,2-22,6% para PL e 77,4-84,8% para LN.

De 8 diferentes dietas fornecidas para truta arco-íris, durante 15 semanas, apenas as dietas contendo 5% de metil laurato e 4,9% de metil laurato + 0,1% de metil linolenato influenciaram as quantidades de lipídios polares e apolares no músculo do peixe. Com essas dietas, os teores de PL foram de 21,7% e 15,5%, respectivamente, e, os teores de LN foram de 78,3% e 84,5%, respectivamente. Nas outras 6 dietas, os lipídios polares variaram de 10,0 a 13,9% e os apolares de 87,8 a 90,0%. O menor conteúdo de LT (4,4%) aconteceu para a dieta com 12:0, seguido por 5,2% para a dieta com 4,9% 12:0 + 0,1% 18:3n3, e variou de 5,9% a 8,0% para as demais dietas (Watanabe *et al.*, 1974b).

O efeito de duas gorduras alimentares (“tallow” e “menhaden oil”) sobre os níveis de LT, TG, PL e AGL em músculo de “channel catfish”, *Ictalurus*

*punctatus*, foi estudado por Gibson & Worthington (1977). Os teores de LT não foram significativamente influenciados por nenhuma das dietas fornecidas aos peixes. Os valores médios de LT foram de 30,5% (g LT/100g de tecido liofilizado) para os peixes recebendo óleo de “menhaden” e de 29,6% para aqueles recebendo “tallow”. Aproximadamente 77% dos LT eram de TG, 1,85% de PL e 0,25% de AGL.

Mudanças pronunciadas na razão molar entre PC e PE foram observadas nos fosfolipídios mitocondriais da linha lateral de músculo de “goldfish”, *Carassius auratus*, aclimatados em temperaturas de 5°, 20° e 30°C; um decréscimo em PC foi encontrado em baixa temperatura de aclimação, mas sendo compensado por um aumento aproximadamente igual de PE. Os principais PL foram PC, PE e CDL, que juntos somaram 90% do total de fosfolipídios. Outras subclasses encontradas foram: PI, PS, SPH, PA, PG, LPC, LPE e LPA, em teores variando de traços a 3,1% (van den Thillart & de Bruin, 1981).

Satoh *et al.* (1984) investigaram o efeito do jejum e da temperatura ambiental sobre a composição de lipídios em *Tilapia nilotica*, cultivada no Japão. Os peixes foram mantidos com uma dieta comercial suplementada com óleo de milho e depois privados de alimentos durante 82 dias, em tanques sob temperaturas da água de 15° e 20°C. A quantidade de lipídios polares no peixe inteiro foi praticamente constante durante o jejum, não sendo afetada pela temperatura da água. O decréscimo de lipídios totais no tecido foi principalmente devido ao decréscimo de triglicerídeos. No início do experimento, com os peixes pesando em média 43,8g e a temperatura da água de 20°C, os seguintes teores foram encontrados (g/100g de peixe inteiro): LT, 8,30; PL, 0,86; TG, 7,38; AGL, traços; esteróis livres, 0,04; DG, 0,03 e traços de MG.

### 3.4.3. Composição de ácidos graxos das frações lipídicas

Segundo Henderson & Tocher (1987), a composição de ácidos graxos em lipídios totais é obviamente influenciada pelas classes de lipídios constituintes.

Os tecidos ricos em gordura têm os triacilgliceróis como principais constituintes, enquanto os fosfolipídios predominam naqueles de baixos teores de lipídios. Consequentemente, comparações entre diferentes peixes e tecidos, através da composição de ácidos graxos de lipídios totais são de limitados valores.

A maioria dos trabalhos relataram apenas a composição de ácidos graxos de lipídios totais. Nesta revisão, serão relatadas as publicações que investigaram a composição de ácidos graxos em lipídios totais, juntamente com no mínimo, mais uma fração lipídica.

A composição de ácidos graxos de LT, TG, PL, PE e PC de filé e músculo desossado mecanicamente (MDM) de "white sucker", *Catostomus commersoni*, foi determinada por Mai & Kinsella (1979b). A concentração de PL foi mais alta em MDM com 543mg/100g de tecido, do que no filé, que teve 370mg/100g de tecido, mas não houve diferença significativa entre filé e MDM, em termos da composição de ácidos graxos, tanto em PL como em LT. As frações de PL contém mais ácidos graxos poliinsaturados. PE de MDM contém mais ácidos poliinsaturados por causa do elevado teor de 22:6n3. Ácidos palmítico, palmitoléico, oléico, araquidônico, EPA e DHA foram os componentes principais de AGL. Exceto quanto ao conteúdo de 22:6n3, as percentagens de ácidos graxos na subclasse AGL de filés e MDM foram muito semelhantes.

Os lipídios totais de músculo escuro e branco de "white sucker" foram fracionados por cromatografia em camada delgada (CCD) e a composição de ácidos graxos de cada subclasse foi estudada por cromatografia gasosa. Os principais ácidos graxos presentes em LT, TG, PL, MG, 1,2 DG, 1,3 DG, AGL e COLE foram 16:0, 16:1n7, 18:1n9, 20:5n3 e 22:6n3. O músculo branco apresentou percentagens mais altas de AGPs do que o músculo escuro (Mai & Kinsella, 1979a).

A composição de ácidos graxos de LN e PL de *Etroplus suratensis* da Índia foi determinada por Nair & Gopakumar (1984). Os totais de ácidos graxos saturados, monoenóicos, dienóicos e polienóicos foram, respectivamente de 37,2%, 33,8%, 7,4% e 21,6% nos lipídios neutros e de 32,6%, 19,9%, 5,4% e 42,3% nos



fosfolipídios. Os PL foram mais ricos em AGPs comparados com os LN, que por sua vez apresentaram maiores teores de ácidos graxos saturados, monoenólicos e dienólicos.

A composição de ácidos graxos de fosfolipídios isolados do músculo de "goldfish", *Carassius auratus*, aclimatado nas temperaturas de 5°, 20° e 30°C, foi determinada por van den Thillart & de Bruin (1981). Esta classe de lipídio foi caracterizada por uma grande quantidade de ácidos polienólicos, dominado pelo ácido docosahexaenólico. Em temperatura de aclimação mais alta, foi encontrado um decréscimo significativo em 22:6n3. Contudo, o efeito resultante da temperatura ambiental sobre o grau de insaturação foi pequeno, em contraste com o efeito marcante sobre o comprimento médio da cadeia de ácidos graxos. Nas temperaturas de 5°, 20° e 30°C, os índices de insaturações foram de  $249,5 \pm 9,3$ ,  $239,6 \pm 11,4$  e  $219,6 \pm 4,1$ , respectivamente, e os comprimentos médios das cadeias foram de  $20,09 \pm 0,97$ ,  $18,62 \pm 0,08$  e  $17,72 \pm 0,02$ , respectivamente.

Visando conhecer a influência da criação de peixe em cativeiro, a composição em ácidos graxos de LT, LN, PL, PC e PE de "ayu", *Plecoglossus altivelis*, foi determinada em peixes silvestres e cultivados por Ohshima *et al.* (1982). Em LT e LN, as percentagens de 16:0, 18:1 e 18:2 em "ayu" cultivado foram mais elevadas do que aquelas no peixe silvestre, enquanto a percentagem de 18:3n3 foi menor no "ayu" cultivado. Os ácidos graxos de cadeia ímpar 15:0, 17:0 e 19:0 estiveram presentes em níveis mais altos no "ayu" silvestre, comparados com aqueles no cultivado. Em PC, as percentagens de 16:0 e 22:6, no peixe cultivado foram maiores do que no peixe silvestre, enquanto as percentagens de 18:1, 18:2 e 20:5 no cultivado foram mais baixas do que no silvestre. Em PE, os ácidos 16:0 e 18:1 estiveram presentes em altas percentagens no peixe silvestre, enquanto a percentagem de 22:6 foi mais alta no "ayu" cultivado.

Yu & Sinnhuber (1972) estudaram o efeito de vários teores de 18:3n3 e 22:6n3 adicionados a uma dieta livre de gordura, sobre a composição em ácidos graxos de truta arco-íris, *Salmo gairdneri*. O grupo de peixe controle, que não

foi alimentado com AGP n3, revelou um acúmulo de 20:3n9 na fração PL. O nível diminuiu quando 18:3n3 ou 22:6n3 foram incluídos na dieta. Análises mostraram que o 18:3n3 da dieta foi rapidamente convertido pelo peixe para 22:6n3, com uma alta concentração em PL. Houve uma relação direta entre o teor de 22:6n3 alimentar, (0,25%, 0,50% e 1,00%) e a concentração deste ácido nas frações de PL (16,8%, 21,0% e 26,7%, respectivamente) e de LN (2,9%, 5,2% e 7,1%, respectivamente).

Alevinos de truta arco-íris foram mantidos com uma dieta livre de gordura ou suplementada com metil laurato (12:0), metil linolenato (18:3n3) e uma mistura de óleo de soja e óleo de fígado de bacalhau para verificar o efeito dos lipídios alimentares sobre a composição de ácidos graxos em lipídios do corpo do peixe. A dieta livre de gordura e aquela suplementada com 12:0 induziram uma elevação na proporção de AG monoenóicos, especialmente 16:1n7 e 18:1n9. O 18:3n3 alimentar ou os ácidos n3, abaixaram o nível de monoenóicos e elevaram o de 22:6n3. Estas mudanças foram mais notáveis em PL do que nos TG (Watanabe *et al.*, 1974a).

Nove dietas, cada uma contendo diferentes níveis de ácidos linoléico (18:2n6) e linolênico (18:3n3), foram fornecidas para trutas arco-íris durante 14 semanas e a composição em ácidos graxos da gordura neutra e de fosfolipídios foi determinada por Yu & Sinnhuber (1975), visando conhecer o metabolismo lipídico deste peixe. A composição de AG dos lipídios do corpo refletiu a de lipídios na dieta: altas concentrações de n6 no corpo foram encontradas em peixes alimentados com dietas ricas em 18:2n6. Uma alta concentração de 20:3n9 esteve presente nos PL dos peixes, sob duas dietas contendo altos teores de 12:0 (5,9% e 5,5%) mais 18:3n3 (0,1% e 0,5%), indicando uma deficiência de ácido graxo essencial (AGE). Nenhuma quantidade de 20:3n9 foi detectada em tecido de peixe alimentado com dieta contendo 5% de 18:2n6. O ácido 18:2n6 alimentar foi metabolizado através de alongação e dessaturação em AGs da família n6, 18:3, 20:2, 20:3, 20:4 e 22:5, enquanto 18:3n3 alimentar foi convertido em 18:4, 20:4, 20:5, 22:5 e 22:6 da família n3. Em certa extensão, o 18:3n3 da dieta inibiu a conversão de 18:2n6 em 22:5n6, enquanto o metabolismo de 18:3n3 também foi inibido pelo 18:2n6 da dieta, mas em menor grau.

A influência da gordura alimentar (óleo de “menhaden” e “tallow”) sobre a distribuição de ácidos graxos em TG, PL e AGL e da estocagem congelada a  $-18^{\circ}\text{C}$  sobre a composição de ácidos graxos de AGL em “channel catfish”, *Ictalurus punctatus*, foi pesquisada por Gibson & Worthington (1977). Os lipídios presentes na dieta afetaram fortemente os perfis de ácidos graxos em todas as frações de lipídios. Tendo óleo de “menhaden” como dieta, 18:1 surgiu como principal ácido graxo na fração de TG, seguido por 16:1, 18:2, 20:5 e 14:0. A composição de AGL foi quase a mesma de TG, exceto que 18:0 ocupou o lugar de 14:0, na última colocação; nestas duas frações, os teores de 22:6n3 foram de 3,6% e 4,2%, respectivamente. A fração de PL teve 16:0 como ácido graxo majoritário, seguido por 18:1, 22:6, 20:5, 18:0, 16:1 e 18:2. Com a dieta “tallow”, as frações TG, PL e AGL tiveram os mesmos primeiros 4 ácidos graxos principais, 18:1, 16:0, 18:2 e 18:0, embora apresentando teores ligeiramente diferentes, exceto para 18:1, que teve menor valor em PL com 30,4%, em relação aos valores de 46,7% em AGL e 51,7% em TG. Completando a relação dos 6 principais, apareceram 16:1 e 14:0 em TG, 22:6 e 16:1 em PL e 16:1 e 22:5 em AGL.

A composição de ácidos graxos das frações LT, LN e PL foi determinada nos lipídios do corpo inteiro de *Tilapia nilotica*, por Takeuchi *et al.* (1983). O objetivo era comparar o efeito de seis diferentes dietas lipídicas no preenchimento do requerimento de ácidos graxos essenciais deste peixe. O melhor ganho de peso aconteceu quando o peixe recebeu uma dieta contendo 0,5% ou 1% de 18:2n6; ambos, 20:4n6 e AGPs n3, não foram essenciais para a tilápia. Os teores de 22:6n3 foram mais elevados em PL (8,3-21,0%) do que em LT (1,3-7,6%) e LN (0,5-6,1%), sendo essas variações devidas às dietas. Em geral, em cada dieta, a composição de ácidos graxos de PL foi diferente daquela de LT e LN, enquanto a composição de ácidos graxos de LN refletiu aquela de LT.

Satoh *et al.* (1984) pesquisaram o efeito da privação alimentar na composição de LT, TG e PL. A *Tilapia nilotica*, que havia sido previamente alimentada com uma dieta comercial suplementada com óleo de milho foi deixada em jejum por 82 dias em tanques sob diferentes temperaturas da água de  $15^{\circ}$  e  $20^{\circ}\text{C}$ . A

distribuição de AGs nos lipídios foi afetada em alguma extensão pela temperatura da água, no período de jejum. A percentagem de 22:6n3 aumentou em PL do peixe jejuando em temperatura da água mais baixa, embora a quantidade de fosfolipídios no corpo do peixe tenha permanecido quase constante durante período de jejum. A composição de AGs de TG não mudou com o jejum, em ambas as temperaturas, embora no peixe em temperatura mais baixa, a percentagem de 18:2n6 tenha diminuído. Os resultados sugerem que os ácidos graxos utilizados para a energia durante o jejum foram diferentes de espécie a espécie e dependentes da temperatura ambiental.

A influência da temperatura (13°, 19° e 25°C) e da dieta lipídica (adição de 18:2n6 e 18:3n3) sobre a composição de ácidos graxos em “goldfish”, *Carassius auratus*, foi investigada por Reiser *et al.* (1963). Em período de depleção, sob dieta de baixo teor de gordura, a temperatura não afetou a composição de ácidos graxos nos TG; o efeito em PL foi questionável. Após o período de depleção, com uma dieta contendo ácido linoléico, a temperatura novamente não afetou os teores de ácidos graxos de TG. A dieta contribuiu para o aumento de 18:2, 18:3 ( $\gamma$ -linoléico) e 20:4. Nos AG de PL, em temperaturas mais altas, houve um aumento em 18:1, 18:2 e 18:3 e uma diminuição questionável em 20:1, 20:2, 20:4 e 20:5. A dieta provocou um aumento nos teores de 18:2 e 20:4 e uma redução em 18:3 e 20:3. Sob dieta de ácido linolênico (18:3n3), a temperatura também não afetou a composição de AG em TG; o teor de 18:3 no PL foi maior a 13°C. Em decorrência da dieta, 18:3 aumentou tanto nos TG como nos PL; houve redução de 20:4, 22:2 e 22:3 em PL.

### 3.5. Composição em Aminoácidos de Peixes de Água Doce

De acordo com Guha (1962), o pescado contém proteínas de alto valor biológico, comparável com aquelas de ovo, leite e carne, e que, as proteínas de diferentes espécies e variedades de peixes diferem em alguma extensão em sua

composição de aminoácidos.

O teor de proteína bruta em peixes de água doce varia de cerca de 12 a 28% (Dupont, 1958; Lantz, 1966; Gurgel & Freitas, 1972; Mai *et al.*, 1980; Suzuki *et al.*, 1990). Diferentes espécies (Dupont, 1958; Lantz, 1966; Mai *et al.*, 1980) e tipo de músculo, branco ou escuro (Suzuki *et al.*, 1990), podem ser os fatores responsáveis pela amplitude observada nos valores de proteínas desses peixes. Por outro lado, Gurgel & Freitas (1972), verificaram que os teores de proteínas de 12 espécies de peixes foram aproximadamente iguais, entretanto, o cangati, *Trachycorystes sp.* e o mandi, *Pimelodus clarias*, com teores de proteína abaixo de 15% diferiram das demais. Para Maia *et al.* (1983), o teor de proteína bruta não apresentou diferenças significativas com a época e local de captura de curimatá, *Prochilodus scrofa*.

Comumente, 21  $\alpha$ -aminoácidos estão presentes em proteínas naturais, e todos pertencem à série estereoquímica L. Os aminoácidos (AAs) são usualmente designados por símbolos de três letras, que são as seguintes: ácido aspártico (ASP), ácido glutâmico (GLU), alanina (ALA), arginina (ARG), asparagina (ASN), cisteína (CYS), cistina (CYS)<sub>2</sub>, fenilalanina (PHE), glutamina (GLN), glicina (GLY), histidina (HIS), isoleucina (ILE), leucina (LEU), lisina (LYS), metionina (MET), prolina (PRO), serina (SER), treonina (THR), triptofano (TRP), tirosina (TYR) e valina (VAL).

A asparagina e a glutamina, que são, respectivamente, amidas do ácido aspártico e do ácido glutâmico, por ação de ácidos e bases são facilmente hidrolisadas aos respectivos ácidos aspártico e glutâmico, enquanto a cisteína ocorre muitas vezes nas proteínas em sua forma oxidada, a cistina, na qual os grupamentos tiólicos das duas moléculas de cisteína foram oxidadas a dissulfeto, produzindo uma ligação cruzada entre elas (Lehninger, 1976). Esses três aminoácidos, num hidrolisado ácido, são quantificados como ASP, GLU e 1/2CYS, respectivamente. Simpson *et al.* (1976) descreveram um procedimento para determinar a composição completa de aminoácidos de uma proteína, incluindo o conteúdo de grupos - SH livres e das ligações dissulfídicas.

A cisteína e cistina, embora dieteticamente dispensáveis porque o organismo tem a capacidade de sintetizá-las, são consideradas importantes já que a síntese delas se faz no organismo à custa da metionina (aminoácido essencial). Esta inter-relação agrava ainda mais a deficiência de metionina (Sgarbieri, 1987). Segundo ainda o mesmo autor, uma inter-relação idêntica ocorre também com a tirosina (aminoácido dispensável) e fenilalanina (aminoácido indispensável). Por isso, às vezes, esses aminoácidos são computados aos pares, como aminoácidos sulfurados totais (MET+CYS) e aromáticos totais (PHE+TYR), durante a apresentação de dados sobre a composição de aminoácidos.

Poucas alterações na ordem dos seis primeiros AAs presentes em maiores concentrações em músculos ocorreram com peixes de água doce, pesquisados em vários países. Em 11 espécies de peixes da Indonésia (Dupont, 1958), os seguintes teores médios, em gAA/16gN, foram obtidos para os seis aminoácidos presentes em maiores concentrações (principais AAs) (entre parênteses, os teores mínimo e máximo): GLU, 17,5 (6,8-20,2); LEU, 8,1 (6,9-9,1); ARG, 7,4 (5,7-9,3); LYS, 7,1 (6,1-8,1); ILE, 6,0 (5,3-6,7) e ALA, 5,9 (5,2-6,7). O teor de ácido aspártico não foi relatado, e apenas em *Cyprinus carpio*, o ácido glutâmico, com um teor de 6,8g/16gN (bastante baixo em relação à faixa deste AA), não apareceu como o primeiro da lista, sendo substituído pela leucina com 7,7g/16gN (valor normal dentro da faixa deste AA). As outras espécies analisadas foram: *Tilapia mossambica*, *Puntius javanicus*, *Osteochilus hasselti*, *Trichochaster trichopterus*, *T. pectoralis*, *Monopterus albus*, *Helostoma temminckii*, *Osphronemus goramy*, *Chanos chanos* e *Hyriopsis velthuiseni*. Os totais de sulfurados e aromáticos foram de 4,2g/16gN e 8,3g/16gN, respectivamente, e, completando a relação dos aminoácidos essenciais (AAEs), apareceram VAL, 5,3; THR, 4,8; PHE, 4,5; MET, 3,0; HIS, 1,8 e TRP, 1,2g/16gN.

A composição de seis espécies de peixes de água doce do lago Cayuga (Ithaca, NY) foi determinada por Mai *et al.* (1980). Os peixes constaram de "white fish", *Catostomus commersoni*, "burbot", *Lota lota*, "black crappie", *Pomoxis nigromaculatus*, truta arco-íris, *Salmo gairdneri*, "walleye pike", *Stizostedion vitreum* e

“yellow perch”, *Perca flavescens*. Pouca variação na composição foi encontrada entre as espécies, e as seguintes concentrações (g/100g proteína) foram relatadas: GLU, 13,1 (11,7-15,7); ASP, 8,7 (7,7-10,2); LEU, 7,3 (6,6-8,5); LYS, 7,2 (6,1-8,5); ARG, 5,4 (4,8-6,7) e ALA, 4,8 (4,2-5,7). O teor de cistina não foi relatado, sendo o teor de MET de 2,6g/100g proteína, enquanto os aromáticos totais somaram 6,7/100g proteína. Os teores médios dos outros AAEs foram: VAL, 4,4; PHE, 3,6; ILE, 3,6; THR, 3,5; HIS, 2,0 e TRP, 1,0g/100g proteína.

A composição de AA do corpo inteiro de “goldfish”, *Carassius auratus*, “golden shiner”, *Notemigonus crysoleucas* e “fathead minnow”, *Pimephales promelas* cultivados nos Estados Unidos foi investigada por Gatlin III (1987). As três espécies apresentaram um perfil de aminoácidos muito semelhante, com GLU, 14,4 (14,39-14,46) como AA principal, sendo seguido por ASP, 9,3 (9,1-9,5); LYS, 8,8 (8,6-8,9); GLY, 8,0 (7,5-8,6); LEU, 7,6 (7,5-7,8) e ALA, 6,8 (6,6-7,1). Os totais de AAs sulfurados e aromáticos foram de 4,0 e 7,5g/100gAA e os demais AAEs tiveram os seguintes teores: THR, 4,9; VAL, 4,4; PHE, 4,4; ILE, 4,1; MET, 3,1; HIS, 2,6 e TRP, 1,0g/100gAA.

Wilson & Cowey (1985) determinaram a composição em aminoácidos do corpo inteiro de truta arco-íris, *Salmo gairdneri* e de salmão do Atlântico, *Salmo salar* e compararam com a composição de “coho salmon”, “cherry salmon” e “channel catfish” relatada pela literatura. Nenhuma diferença significativa foi observada quando o conteúdo de cada AA foi comparado entre estas duas espécies. Em adição, nenhuma diferença aparente foi encontrada quando os dados foram comparados com a composição de AA do corpo inteiro dos peixes relatados pela literatura. Os principais AAs na truta foram (em g/100gAA): GLU, 14,2; ASP 9,9, LYS, 8,5, GLY, 7,8, LEU, 7,6 e ALA, 6,6. Os sulfurados e aromáticos tiveram 3,7 e 7,8g/100g de AA, enquanto os outros AAEs apresentaram os seguintes teores: ARG, 6,4; VAL, 5,1; THR, 4,8; PHE, 4,4; ILE, 4,3; HIS, 3,0; MET, 2,9 e TRP, 0,9g/100g de AA.

Duas espécies de tilápias de águas tropicais da Índia foram investigadas por Hoffman *et al.* (1977), *Tilapia esculenta* e *T. lidole*. Algumas diferenças

na ordem dos principais aminoácidos foram encontradas, embora suas concentrações estivessem muito próximas. Em comum, essas duas espécies apresentaram apenas o primeiro (GLU) e o último (ALA) AAs principais, com 13,5gGLU/16gN para *T. esculenta* e 15,0gGLU/16gN para *T. lidole* e de 6,0gALA/16gN para *T. esculenta* e 5,9gALA/16gN para *T. lidole*. A ordem dos outros AAs principais foram: *T. esculenta*, ASP, 9,2; LYS, 8,5; LEU, 6,9 e GLY, 6,3. O teor de ARG foi de 5,2g/16gN. *T. lidole*, LYS, 10,2; LEU, 9,9; ASP, 9,6 e ARG, 6,9. O teor de GLY foi de 5,1g/16gN. Os teores de sulfurados, de aromáticos e dos outros AAes nas duas espécies foram muito equivalentes. Os teores de AAes de "Bolti fish", *Tilapia nilotica* (= *Oreochromis nilotica*) também foram muito próximos dos valores descritos acima (Khalil *et al.*, 1980).

Os peixes de águas tropicais parecem estar mais sujeitos às variações na composição de aminoácidos, do que os peixes de águas temperadas, como mostrado nos parágrafos anteriores. Como que confirmando esta observação, a composição em aminoácidos de "pearl spot", *Etrophus suratensis*, reportada por Mukundan & James (1978), foi diferente daquela relatada para as tilápias, e também, bastante diferente daquelas de peixes de águas temperadas. GLU ainda apareceu em primeiro lugar com 12,3g/100g de proteína, sendo seguido por LEU, 9,8; LYS, 9,6; ASP, 7,1; TYR 6,51 e THR, 6,46. Os totais de AAs sulfurados e aromáticos foram de 5,4 e 10,3 g/100g de proteína, valores um pouco mais elevados do que os relatados anteriormente. Os demais AAes apresentaram os seguintes teores: VAL, 5,6; MET, 4,5 (alto em relação aos outros peixes); ILE, 4,2; ARG, 3,9; PHE, 3,8; HIS, 2,6 e TRP, 1,3g/100g de proteína.

No Brasil, a composição em aminoácidos de peixes de água doce também foi investigada. Machado (1989) determinou por cromatografia de troca iônica a composição de AAs de pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895) (= *Piaractus mesopotamicus*), destacando-se como principais, os seguintes aminoácidos, cujos teores foram expressos em g/16gN: GLU (19,8), ASP (10,5), LYS (10,0), LEU (8,8), ARG (6,6) e ALA (5,1). Os totais de AAs sulfurados e aromáticos foram de 3,6 e 8,1g/16gN, respectivamente. O teor de TRP não foi determinado, enquanto os



demais AAes tiveram os seguintes teores: ILE (4,5), PHE (4,3), VAL (3,9), THR (3,8); MET (2,8) e HIS (2,2).

Através de método microbiológico, Lessi (1968) quantificou 8 aminoácidos essenciais e cistina, em músculo de curimatá coletado no rio Mogi-Guaçu (Pirassununga, São Paulo), encontrando os seguintes valores, em g/100g de proteína: ILE (17,9), LYS (10,4), LEU (8,9), MET (5,5), VAL (5,4), THR (4,3), PHE (3,9) e TRP (0,4). O total de aminoácidos sulfurados foi de 5,9g/100g de proteína.

Este mesmo peixe, também proveniente do mesmo rio e local, foi investigado por Maia *et al.* (1983) através de cromatografia por troca iônica. Por esta técnica, 18 aminoácidos foram quantificados (g/16gN). Os seis AAs presentes em maiores concentrações foram: GLU (18,6), ASP (12,9), LYS (11,4), LEU (9,7), ALA (7,8) e ARG (7,8). Os outros AAes apresentaram os seguintes teores: VAL (6,8), ILE (5,7), THR (5,4), PHE (5,2), HIS (3,0), MET (2,7) e TRP (1,3). O total de AAs sulfurados foi de 2,8g/16gN. Segundo os autores, a proteína de curimatá foi rica em lisina e metionina, mas pobre em cistina/cisteína. Estes dois trabalhos mostraram uma boa concordância entre os teores de THR, CYS, VAL, LEU, PHE e LYS; no trabalho de Lessi (1968), os teores de ILE, MET e sulfurados foram maiores, enquanto TRP foi superior no trabalho de Maia e colaboradores. Para Guha (1962), as concentrações de AAs podem variar de acordo com o método de análise empregado.

Lajolo *et al.* (1975), usando cromatografia por troca iônica, analisou os AAes em músculo de tilápia, *T. melanopleura*, encontrando os seguintes valores, em g/100g de proteína: LYS (8,8), LEU (7,3), ILE (4,7), THR (4,5), VAL (4,4), PHE (4,0), MET (2,3) e TRP (1,6). Os totais de AAs sulfurados e aromáticos foram, respectivamente de 3,3 e 7,3g/100g de proteína. O teor de histidina não foi relatado.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Amostras de Peixes

Quatro espécies de peixes foram pesquisadas: pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (Pa1-Pa7), curimatã, *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881) (Cb1-Cb3), tilápia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1857) (Ti1-Ti3) e tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Tb1-Tb3). Dados sobre época de coleta, número de exemplares por amostras, peso total e rendimento em filé estão apresentados na Tabela 1. As amostras de pacu, tilápia e tambaqui foram coletadas no Centro de Pesquisa e Treinamento em Aquicultura (CEPTA), Pirassununga, São Paulo, de tanques de criação medindo 20m de comprimento x 8m de largura x 1,5m de profundidade. Durante o período de cativeiro (março a agosto), os peixes foram alimentados com uma ração de “manutenção comum”, tendo 25% de proteína bruta, 2.600 kcal de energia digestível e a seguinte formulação: 10% de farinha de peixe; 33% de farelo de soja; 17% de farelo de trigo; 38% de milho; 1% de “premix” vitamínico; 1% de “premix” mineral; 50 g de cloreto de colina; 50 g de vitamina C; e 0,8 g de violeta de genciana.

Nesse período de cativeiro, a temperatura média mensal da água nos tanques de criação foram as seguintes: março,  $25,8 \pm 0,9$  (n=8); abril,  $23,0 \pm 2,9$  (n=10); maio,  $17,5 \pm 1,8$  (n=11); junho,  $15,0 \pm 1,9$  (n=12); julho,  $6,9 \pm 1,0$  (n=26) e agosto,  $7,2 \pm 0,7$  (n=22).

As amostras de curimatá foram capturadas na Cachoeira de Emas, Rio Mogi Guassu, Pirassununga, São Paulo.

Para a realização dos testes preliminares de separação das classes de lipídios, foram utilizadas 2 amostras de pacu (um exemplar em cada amostra), 3 de curimatá (um exemplar em cada amostra), um exemplar de tilápia e outro de tambaqui, adquiridos no Frigorífico Tavares (Campinas, São Paulo).

Para fins comparativos, em termos de composição de ácidos graxos, um exemplar de tambaqui, pesando 1.600g foi adquirido em Manaus.

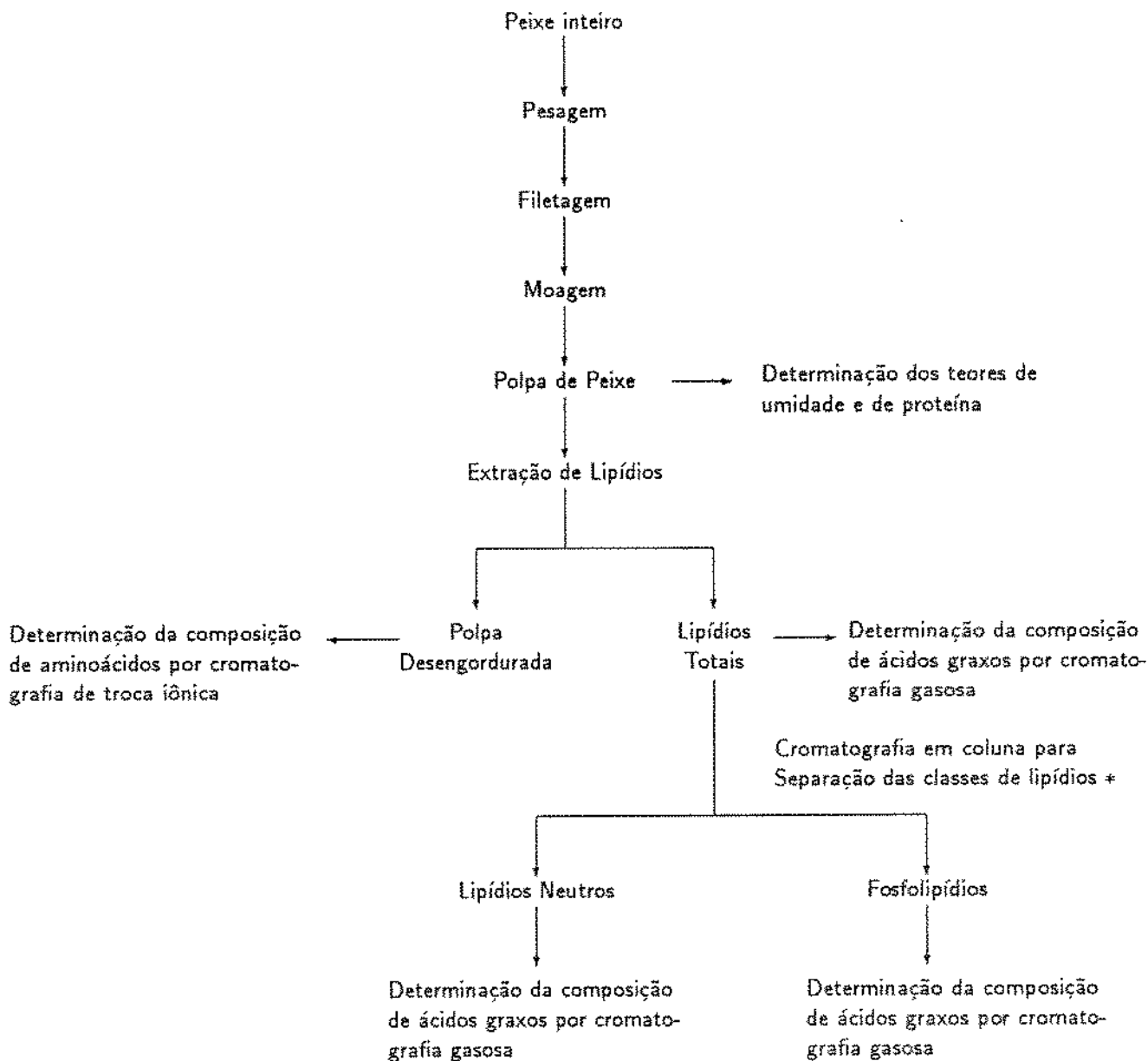
Para a avaliação da técnica de metilação, foram utilizadas uma amostra de sardinha, *Sardinella brasiliensis* (4 exemplares, tendo peso médio de 90g), adquirida no Frigorífico Tavares e outra composta por 3 alevinos de tambaqui, *Colossoma macropomum* (peso médio de 20g), obtida de um cultivo intensivo na UNICAMP.

**Tabela 1** - Dados sobre as amostras de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, curimatá, *Prochilodus scrofa*, tilápia, *Oreochromis niloticus* e tambaqui, *Colossoma macropomum*, provenientes de Pirassununga, São Paulo.

Amostra	Data de coleta	Número de exemplares	Peso total (g)		Rendimentos em filé (%). média ± dp	
			amplitude	média ± dp		
Pacu	Pa1	14/03/90	06	900-1300	1142 ± 150	34,0 ± 2,5
	Pa2	28/03/90	06	765-2000	1299 ± 527	32,6 ± 4,3
	Pa3	16/04/90	06	549-950	664 ± 147	35,0 ± 2,1
	Pa4	11/05/90	06	740-1700	1077 ± 369	36,1 ± 1,8
	Pa5	18/06/90	06	520-1060	725 ± 220	37,2 ± 2,2
	Pa6	10/08/90	06	596-2154	1044 ± 575	36,0 ± 2,0
	Pa7	27/08/90	06	657-3124	1670 ± 1015	43,2 ± 5,2
	média ± dp	-		1089 ± 575	36,4 ± 4,3	
Curimatá	Cb1	16/04/90	06	805-1220	1030 ± 141	40,2 ± 2,1
	Cb2	11/05/90	06	735-1765	1274 ± 380	42,3 ± 2,6
	Cb3	18/06/90	06	1080-2380	1671 ± 511	43,9 ± 1,8
	média ± dp	-		1328 ± 444	42,0 ± 2,6	
Tilápia	Ti1	16/04/90	06	190-510	352 ± 102	29,1 ± 0,3
	Ti2	11/05/90	10	275-585	444 ± 85	29,3 ± 1,1
	Ti3	18/06/90	10	240-590	447 ± 116	nd
	média ± dp	-		424 ± 106	29,2 ± 0,9	
Tambaqui	Tb1	16/04/90	06	675-1065	905 ± 130	36,1 ± 1,4
	Tb2	11/05/90	06	755-1050	894 ± 102	34,4 ± 1,0
	Tb3	18/06/90	06	600-1115	861 ± 176	35,3 ± 0,9
	média ± dp	-		887 ± 132	35,3 ± 1,3	

Abreviaturas: dp - desvio padrão; nd - não determinado

Em laboratório, as amostras especificadas na Tabela 1 foram submetidas à seguinte sequência de análises:



\* A priori, também foi investigada a presença de glicolipídios, mas esta classe de lipídio não foi detectada nas amostras analisadas.

## **4.2. Preparação da Polpa de Peixe**

Para cada amostra, constituída de filés, sem pele, de 6 a 10 exemplares, foi preparada uma polpa de peixe (uma pasta de tecidos musculares contendo fragmentos de espinhas intra-musculares) em moedor de carne de marca Britânia, contendo um disco com furos de aproximadamente 4mm de diâmetro. Porções desta polpa foram utilizadas para as determinações dos teores de umidade, proteína bruta, lipídios totais e composições de ácidos graxos e aminoácidos.

## **4.3. Determinação do Teor de Umidade**

O conteúdo de água presente no tecido muscular do peixe foi determinado, em triplicata, por secagem em estufa a 100-110°C, até atingir peso constante (Umemoto, 1972).

## **4.4. Determinação do Teor de Lipídios Totais**

Empregou-se o método de Bligh & Dyer (1959) para a extração, em duplicata, dos lipídios totais da polpa de pescado, levando-se em conta as proporções recomendadas entre os solventes metanol, clorofórmio e água tissular. A quantidade de lipídios nas amostras foi determinada a partir de três alíquotas de 3ml cada, do extrato de clorofórmio, evaporando-se o solvente em estufa a 100°C por 30 minutos. Após resfriamento em dessecador sob vácuo, procedeu-se a pesagem. O tempo de secagem de 30 minutos mostrou-se suficiente para atingir peso constante. O extrato restante foi concentrado à vácuo em roto-evaporador com banho de água na temperatura de 32-34°C e o concentrado (lipídios em clorofórmio) foi estocado em "freezer" (temperatura: -19 a -23°C) para utilização posterior, num período máximo

de uma semana.

#### **4.5. Determinação do Teor de Proteína Bruta**

O teor de proteína bruta foi determinado, em duplicata, pelo método semi-micro Kjeldahl (Pearson, 1973), utilizando-se o fator de 6,25 para conversão de nitrogênio total em proteína bruta.

#### **4.6. Separação das Classes de Lipídios por Cromatografia em Coluna**

Após vários testes preliminares (ver item 5.1.1. em Resultados e Discussão), o seguinte procedimento foi estabelecido:

As alíquotas de lipídios totais (0,35-1,57g) foram fracionadas em lipídios neutros e fosfolipídios por cromatografia em coluna, num tubo cromatográfico de vidro de 30cm de comprimento por 2,0cm de diâmetro interno, contendo 25g de sílica gel 60 (70-230 mesh, Merck) como adsorvente, de acordo com especificações de Johnston *et al.* (1983).

O adsorvente foi submetido a um pré-tratamento que consistiu, inicialmente, de uma lavagem com metanol e, em seguida, com clorofórmio. A relação exata entre o peso do adsorvente e os volumes de solventes não precisava ser fixa, mas do ponto de vista prático, a mistura devia ser de tal ordem, a permitir a fácil agitação com agitador magnético. O tempo de agitação foi de uma hora para cada solvente. Findo o período de agitação, os solventes foram removidos por filtração com trompa d'água. O adsorvente lavado com clorofórmio foi colocado em dessecador a vácuo até apresentar-se com aspecto bem seco. Uma quantidade grande de adsorvente foi tratada e estocada em recipiente fechado para posterior utilização.

Vinte e cinco gramas do adsorvente pré-tratado foram misturadas com 60ml de clorofórmio. Após o empacotamento, uma camada de 1cm de sulfato de sódio anidro foi colocada no topo e a altura total do leito foi de aproximadamente 12cm.

Utilizou-se a seguinte sequência de eluição para separação das classes de lipídios na coluna cromatográfica: 1) Fração I: lipídios neutros – eluída com 200ml de 20% acetona em clorofórmio. 2) Fração II: fosfolipídios – eluída com 200ml de metanol.

O teor de lipídios de cada fração eluída foi determinada gravimetricamente. O solvente de eluição foi evaporado em roto-evaporador e, com auxílio de um pequeno volume de clorofórmio, o extrato foi transferido para um frasco pré-tratado. O solvente foi parcialmente evaporado com nitrogênio (N<sub>2</sub>) e a secagem total completada em dessecador a vácuo, até atingir peso constante. As percentagens de lipídios neutros e fosfolipídios foram calculadas em relação ao peso de lipídios totais adicionado na coluna. As determinações foram realizadas em duplicatas.

O monitoramento das frações foi realizado por CCD, de sílica gel G de 0,25mm de espessura e ativada a 120°C por 30 minutos. O sistema de solventes de desenvolvimento constou de éter de petróleo: éter etílico: ácido acético (100 : 30 : 1,5, v/v) para a fração de lipídios neutros e clorofórmio: metanol: água (65 : 25 : 4, v/v) para a de fosfolipídios. As manchas foram reveladas com iodo como revelador universal, azul de molibdênio para fosfolipídios e difenilamina, antrona-ácido sulfúrico e fenol-ácido sulfúrico para glicolipídios (Skipski & Barclay, 1969; Krebs *et al.*, 1969).

#### 4.7. Composição de Ácidos Graxos por Cromatografia Gasosa

As amostras de lipídios totais, lipídios neutros e fosfolipídios foram



saponificadas e os ácidos graxos metilados pelo método de Metcalfe *et al.* (1966), usando uma solução 14% de trifluoreto de boro em metanol ( $\text{BF}_3\text{-MeOH}$ ) ou por um método desenvolvido nesta tese, no qual o  $\text{BF}_3\text{-MeOH}$  foi substituído pelo reagente esterificante de Hartman & Lago (1973), composto de cloreto de amônio, ácido sulfúrico e metanol ( $\text{NH}_4\text{Cl-H}_2\text{SO}_4\text{-MeOH}$ ) na proporção de 1:1,5:30, respectivamente, conforme procedimento descrito no Anexo 1.

A cromatografia gasosa foi realizada em Cromatógrafo VARIAN, modelo 3300, equipado com detector de ionização de chama, injetor do tipo "split/split-less" e coluna capilar de sílica fundida (50m de comprimento x 0,22mm de diâmetro interno, WCOT, SGE, Austrália), contendo polietileno glicol (Carbowax 20M) ou 5% fenilmetilsilicone (SE-54,) como fase líquida. Após otimização, foram fixados os seguintes parâmetros de operação:

Para coluna de polietileno glicol:

- Temperatura do detector : 280°C.
- Temperatura do injetor : 250°C.
- Temperatura da coluna : 200°C por 42 min., programada a 2°C/min. até 210°C.
- Gás de arraste : hidrogênio ( $\text{H}_2$ ) (pressão de 21-23 psi) = 0,8ml/min na coluna.
- Gás "make-up" :  $\text{N}_2$  = 30ml/min.
- Técnica de injeção : "split" (com razão de "split" de 100:1).

Para a coluna de fenilmetilsilicone:

- Temperatura do detector : 280°C.
- Temperatura do injetor : 250°C.
- Temperatura da coluna : programada de acordo com a espécie de peixe analisada (ver cromatogramas).

- Gás de arraste : H<sub>2</sub> (pressão de 21-23 psi) = 0,8ml/min na coluna.
- Gás "make-up" : N<sub>2</sub> = 30ml/min.
- Técnica de injeção : "splitless" de Grob, tendo hexano como solvente e período de "splitless" de 0,75 min.

Os dados sobre os tempos de retenção e as percentagens dos ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG) foram obtidos através de um integrador processador INTRALAB 4290, acoplado ao cromatógrafo contendo a coluna de Carbowax 20M.

A identificação dos ácidos graxos realizou-se de acordo com os seguintes procedimentos:

- a) Comparação do tempo de retenção ( $t_r$ ) e do tempo de retenção corrigido ( $t'_r$ ) de EMAG de amostras e padrões.

Os seguintes 38 padrões individuais de ácidos graxos foram adquiridos da Sigma e PolyScience, USA: 18 ácidos graxos saturados (7:0 a 24:0), 9 ácidos graxos monoinsaturados (11:1, 14:1n5, 16:1n7, cis-18:1n9, trans-18:1n9, 18:1n12, 20:1n9, 22:1n9 e 24:1n9), 2 ácidos graxos diinsaturados (18:2n6 e 20:2n6) e 9 ácidos graxos poliinsaturados (18:3n3, 18:3n6, 18:4n3, 20:3n3, 20:3n6, 20:4n6, 20:5n3, 22:3n3 e 22:6n3).

Obtém-se o  $t'_r$ , subtraindo do  $t_r$ , o tempo morto da coluna ( $t_M$ ):  $t'_r = t_r - t_M$ . O tempo morto foi calculado matematicamente pela fórmula descrita por Hansen & Andresen (1968):

$$t_M = \frac{t_{r,n}^2 - t_{r,n-2} \times t_{r,n+2}}{2 \times t_{r,n} - t_{r,n-2} - t_{r,n+2}}$$

onde  $t_{r,n-2}$ ,  $t_{r,n}$  e  $t_{r,n+2}$  são os tempos de retenção de ácidos graxos saturados contendo  $n - 2$ ,  $n$  e  $n + 2$  átomos de carbonos, respectivamente. No presente trabalho,  $t_M$  foi determinado usando-se os  $t_r$  de 14:0, 16:0 e 18:0, naturalmente presentes em todas as amostras de peixes e disponíveis como padrões.

- b) Comparação do tempo de retenção relativo ( $t_{rr}$ ) e do tempo de retenção relativo corrigido ( $t'_{rr}$ ) de EMAG de amostras e padrões.

O composto de referência escolhido foi o 18:2n6, disponível como padrão e encontrado naturalmente em todas as amostras de peixes.

Os  $t_{rr}$  e  $t'_{rr}$  foram calculados da seguinte maneira:

$$t_{rr} = \frac{t_{r,x}}{t_{r,18:2n6}} \quad \text{e} \quad t'_{rr} = \frac{t'_{r,x}}{t'_{r,18:2n6}}, \quad \text{onde}$$

- $t_{r,x}$  = tempo de retenção de um ácido graxo de interesse;  
 $t'_{r,x}$  = tempo de retenção corrigido de um ácido graxo de interesse;  
 $t_{r,18:2n6}$  = tempo de retenção de 18:2n6; e  
 $t'_{r,18:2n6}$  = tempo de retenção corrigido de 18:2n6.

- c) Técnica de co-eluição ("spiking") de padrões junto com a amostra.
- d) Comparação com EMAG de origem marinha (PUFA-1) e de origem animal (PUFA-2) da Supelco (USA).
- e) Comparação com EMAG presentes em óleo de fígado de bacalhau (Sigma, C-5650), recomendado como padrão secundário. Os ácidos graxos presentes neste óleo foram identificados com base nos trabalhos de Ackman & Burgher (1965), Ackman *et al.* (1967a,b), Jangaard *et al.* (1967), Addison *et al.* (1968), Ackman (1969), Ackman & Eaton (1978), Ackman (1987a) e Christie (1988), e também com os padrões disponíveis.
- f) Fatores de separação descritos por Kates (1972).

Para calcular os fatores de separação definidos abaixo, usou-se os  $t_r$  e  $t'_r$  de EMAG padrões e de amostras de peixes.

- i. Fator de separação de dois grupos  $\text{CH}_2$  ( $F^2$ ) = razão entre os tempos de retenção de pares de ácidos graxos de séries homólogas contendo  $n$  e  $n + 2$  átomos de carbonos;
- ii. Fator de separação iso e anteiso = razão entre os tempos de retenção de ácidos iso ou anteiso e o ácido graxo saturado normal, de mesmo número de carbonos;
- iii. Fator de separação monoeno = razão entre os tempos de retenção de ácidos graxos contendo uma dupla ligação e o ácido graxo saturado normal, de mesmo comprimento da cadeia;
- iv. Fator de separação dieno = razão entre os tempos de retenção de ácidos graxos contendo duas duplas ligações e o ácido graxo saturado normal, de mesmo comprimento da cadeia, e
- v. Fator de separação polieno = razão entre os tempos de retenção de ácidos graxos contendo de 3 a 6 duplas ligações e o ácido graxo saturado normal, de mesmo comprimento da cadeia.

g) Fatores de separação descritos por Ackman (1963a) e Ackman & Burgher (1963).

Segundo Ackman (1963a), o fator de separação pode ser obtido dividindo-se o  $t_r$  ou o  $t_{rr}$  de um EMAG pelo  $t_r$  ou  $t_{rr}$  de um outro composto de mesmo comprimento de cadeia. Neste trabalho, optou-se pelo uso do tempo de retenção corrigido relativo ao 18:2n6 ( $t'_{rr}$ ). Os três tipos de fatores de separação sugeridos pelos autores acima foram calculados e são definidos das seguintes maneiras:

- i. Tipo I = razão entre os  $t'_{rr}$  de pares de ácidos graxos de mesmo comprimento da cadeia, mesma família e número de duplas ligações consecutivas;
- ii. TIPO II = razão entre os  $t'_{rr}$  de pares de ácidos graxos de mesmo comprimento da cadeia, mesma posição da primeira dupla ligação em relação ao grupo carboxílico e diferentes famílias; e
- iii. TIPO III = razão entre os  $t'_{rr}$  de pares de ácidos graxos de mesmo comprimento da cadeia, mesmo número de duplas ligações e diferentes famílias.

h) Comparação da ordem de eluição de EMAG em coluna capilar SE-54 (apolar) e Carbowax 20M (polar).

i) Comprimento equivalente da cadeia (ECL).

Os valores de ECL foram calculados pela seguinte fórmula (Miwa *et al.*, 1960; Bannon *et al.*, 1988):

$$ECL' = n + \frac{2 \times (\log t'_{r,x} - \log t'_{r,n})}{\log t'_{r,n+2} - \log t'_{r,n}}, \text{ onde}$$

$n$  = número de átomos de carbonos em ácidos graxos saturados normais ( $n=10, 12, 14, 16, 18, 20$  e  $22$ )

$\log t'_{r,x}$  = logaritmo do tempo de retenção corrigido de um ácido graxo eluindo entre dois ácidos graxos com  $n$  e  $n + 2$  átomos de carbonos;

$\log t'_{r,n}$  = logaritmo do tempo de retenção corrigido de um ácido graxo com  $n$  átomos de carbonos;

$\log t'_{r,n+2}$  = logaritmo do tempo de retenção corrigido de um ácido graxo com  $n + 2$  átomos de carbonos;

Os valores de ECL foram determinados experimentalmente em misturas de ácidos graxos padrões, óleo de fígado de bacalhau, PUFA-2 e nos lipídios totais, lipídios neutros e fosfolipídios de todas as amostras de peixes. Esses valores experimentais foram comparados com aqueles descritos na literatura, usando-se a mesma coluna Carbowax 20M ou equivalente (Flanzy *et al.*, 1976; Kramer *et al.*, 1985; Ackman, 1987b; Christie, 1988).

j) Método gráfico no qual os valores dos dados de retenção dos picos são plotados contra o número de átomos de carbono de ácidos graxos saturados de séries homólogas.

l) Espectrometria de massa

Um sistema cromatógrafo gasoso-espectrômetro de massa Shimadzu QP 2000A foi usado para a obtenção dos espectros de massa. Os EMAG separados em colunas capilares de Carbowax 20M (25m de comprimento  $\times$  0.25mm de diâmetro interno) ou metilsilicone (25 ou 50m de comprimento  $\times$  0.25mm de diâmetro interno) foram fragmentados por impacto eletrônico a 70eV. Os ésteres metílicos de padrões individuais e lipídios totais, lipídios neutros e fosfolipídios de amostras de peixes tiveram seus espectros de massas registrados.

#### **4.8. Composição de Aminoácidos por Cromatografia de Troca Iônica**

A determinação da composição de aminoácidos foi realizada em analisador automático Beckman 119-CL, seguindo os procedimentos padronizados (Beckman Instruments, 1977; Maia *et al.*, 1983).

#### **4.9. Análise Estatística**

Os resultados sobre a comparação de métodos de metilação foram submetidos à análise estatística (ANOVA) pelo procedimento de modelos lineares gerais, aleatorizado (um fator, dois níveis e 3 repetições), usando-se o pacote estatístico SAS.

Os dados mensais sobre a composição de ácidos graxos foram submetidos à comparação múltipla pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Aprimoramento dos Procedimentos Analíticos

#### 5.1.1. Separação das classes de lipídios por cromatografia em coluna

As principais classes de lipídios presentes num óleo ou gordura são os lipídios neutros, os fosfolipídios e os glicolipídios.

A primeira parte da presente pesquisa foi dedicada ao estabelecimento do procedimento para a separação das classes de lipídios. Inicialmente tentou-se utilizar o ácido silícico na cromatografia de coluna, adsorvente este usado por vários pesquisadores (Rouser *et al.*, 1967; Kates, 1972; Kozukue & Kozukue, 1981; Christie, 1982; Osagie & Kates, 1984). No entanto, o ácido silícico precipitado seco (Artigo 657 da Merck), inicialmente utilizado, foi descartado, tendo em vista que algumas características físicas, tais como, quantidade de adsorvente, altura do leito de adsorvente e fluxo dos solventes de eluição não foram adequadas e compatíveis com aquelas descritas pela literatura.

Numa segunda etapa, foi seguido o procedimento descrito por Johnston *et al.* (1983), que utiliza sílica gel 60 (70-230 mesh, artigo 7734 da Merck) como adsorvente e clorofórmio, acetona e metanol, como solventes de eluição.



Os seguintes resultados foram obtidos com uma amostra de curimbatá:

- 1) Peso de lipídios totais = 1,1g.
- 2) Peso das frações = 0,9466g (recuperação de 86%).  
Fração I = 0,8985g → 94,9% (eluída com 200ml de clorofórmio).  
Fração II = 0,0064g → 0,7% (eluída com 50ml de acetona).  
Fração III = 0,0417g → 4,4% (eluída com 100ml de metanol).

O monitoramento das frações realizado por CCD revelou que a fração I se constituía principalmente de lipídios neutros, porém contaminada com algumas substâncias que apresentaram teste positivo com azul de molibdênio. A fração II não era formada de glicolipídios, sendo provavelmente constituída de lipídios neutros, enquanto uma coloração azul característica de fosfolipídios se revelou na fração III.

Tendo em vista que o método de Johnston *et al.* (1983) quando aplicado a nossa amostra, não foi adequado para separar as frações livres de contaminação, procedeu-se a algumas modificações no método, principalmente com relação ao pré-tratamento do adsorvente e aos solventes de eluição das frações.

Verificou-se em várias ocasiões que o adsorvente comercial não poderia ser utilizado diretamente, pois continha impurezas amareladas que eluíam juntos com as frações lipídicas. Portanto, houve necessidade do pré-tratamento como descrito em Material e Métodos.

Com relação aos solventes de eluição das frações, as seguintes composições foram utilizadas:

- Fração I = 200ml de clorofórmio.
- Fração II = 200ml de 20% de acetona em clorofórmio.
- Fração III = 100ml de acetona.
- Fração IV = 200ml de metanol.

Estas modificações foram testadas em 6 exemplares de diferentes peixes (2 pacus, 2 curimatás, uma tilápia e um tambaqui), obtendo-se recuperações das 4 frações que totalizaram 79,7 a 101,7%, com 0,220 a 1,398g de LT adicionados nas colunas.

O monitoramento das frações em CCD e o uso de reagentes específicos de identificação revelou:

- a) A ausência de glicolipídios em todas as amostras investigadas;
- b) As frações I e II eram constituídas de lipídios neutros; e
- c) As frações III e IV eram constituídas de fosfolipídios.

Com base nas observações anteriores, chegou-se ao estabelecimento definitivo do procedimento para a separação das classes de lipídios por cromatografia em coluna, como descrito em Material e Métodos. Com este procedimento a recuperação média foi de 99,7% (98,4-101,0%) (Tabela 9).

### 5.1.2. Técnica de metilação para cromatografia gasosa

Com o desenvolvimento de instrumentos altamente sofisticados, sensíveis e precisos, as etapas anteriores à medida instrumental tornaram-se os passos mais passíveis de erros, portanto, limitantes na obtenção de dados exatos. Erros cometidos nestes passos preliminares não são corrigidos na etapa instrumental por mais moderno e sofisticado que seja o instrumento.

A determinação da composição de ácidos graxos por cromatografia gasosa é uma análise largamente realizada em várias áreas da ciência. Ácidos graxos de cadeia curta podem ser injetados diretamente no cromatógrafo. Ácidos graxos de cadeia longa, no entanto, não são suficientemente voláteis para uma análise direta,

necessitando a sua transformação em ésteres. Duas fontes de erros devem ser evitadas nesta derivação: (1) a conversão incompleta dos ácidos graxos (ligados ou livres) aos ésteres desejados; e (2) alteração da estrutura durante a liberação e esterificação dos ácidos graxos.

Existem vários métodos para a preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos, cada um tendo vantagens e desvantagens. Envolvem uma transesterificação ou uma hidrólise (saponificação) da amostra, seguida de esterificação dos ácidos graxos livres. O método de Metcalfe *et al.* (1966), amplamente utilizado internacionalmente, envolve a hidrólise com hidróxido de sódio e a metilação dos ácidos graxos liberados com  $\text{BF}_3\text{-MeOH}$ . A análise é simples, rápida e realizada em tubo de ensaio. O reagente  $\text{BF}_3\text{-MeOH}$ , porém, é caro (importado), tóxico e tem uma vida útil curta. Quando envelhecido, pode causar a produção de artefatos. Como alternativa, a metilação pode ser efetuada com ácido clorídrico ou ácido sulfúrico metanólico. No Brasil, foi introduzido em 1973 o método de Hartman & Lago (1973), que emprega reagentes comuns, como uma solução de cloreto de amônia, ácido sulfúrico e metanol para esterificação. Requer, no entanto, mais vidrarias (inclusive condensador de água) e maiores manipulações. Aproveitando os aspectos vantajosos dos dois métodos citados, foi experimentado um novo método que proporciona rapidez, simplicidade e baixo custo. Utilizou-se o reagente esterificante de Hartman & Lago e as demais etapas descritas por Metcalfe e colaboradores, sendo que todas as operações foram realizadas em tubos de ensaios, permitindo assim a análise simultânea de um número grande de amostras.

O novo método foi comparado com o de Metcalfe *et al.* (1966) utilizando lipídios totais musculares de pacu e sardinha, cujas composições de ácidos graxos são diferentes (Tabela 2). Os cromatogramas obtidos pelos métodos Metcalfe e colaboradores e o proposto não mostraram nenhuma diferença perceptível, tanto para pacu como para sardinha. Os resultados quantitativos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo procedimento de modelos lineares gerais, aleatorizado (um fator, dois níveis e 3 repetições), usando-se o pacote estatístico SAS. Não houve diferença significativa, a nível de 5%, nas percentagens de 18 ácidos graxos

Tabela 2 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de pacu, *Piaractus mesopotamicus*<sup>1</sup> e sardinha, *Sardinella brasiliensis*<sup>2</sup>. Comparação entre os métodos A e B de metilação<sup>3</sup>.

(continua)

Pico nº	Ácido graxo	Pacu		Sardinha	
		método A	método B	método A	método B
2	11:0	-	-	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01
4	12:0	-	-	0,25 ± 0,01	0,25 ± 0,03
10	14:0	4,03 ± 0,22	3,69 ± 0,23	7,60 ± 0,09	7,69 ± 0,47
13	14:1n5	0,45 ± 0,02	0,42 ± 0,04	-	-
14	i-15:0	-	-	0,09 ± 0,00	0,10 ± 0,01
17	15:0	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,40 ± 0,01	0,39 ± 0,02
20	i-16:0	-	-	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,01
21	16:0DMA	0,20 ± 0,01	0,21 ± 0,01	-	-
23	16:0	26,33 ± 0,43	25,54 ± 0,31	20,60 ± 0,22	20,90 ± 0,59
25	16:1n7	9,12 ± 0,15	9,12 ± 0,13	8,75 ± 0,03	8,92 ± 0,30
27	i-17:0	-	-	0,38 ± 0,02 <sup>4</sup>	0,44 ± 0,02 <sup>4</sup>
28	16:2n7	-	-	0,43 ± 0,02 <sup>4</sup>	0,48 ± 0,02 <sup>4</sup>
32	16:2n4	-	-	1,29 ± 0,02	1,26 ± 0,03
34	17:0	0,19 ± 0,01	0,20 ± 0,02	0,42 ± 0,02	0,45 ± 0,01
35	17:1n11	-	-	1,37 ± 0,10	1,38 ± 0,05
36	17:1n9	0,19 ± 0,01	0,20 ± 0,02	-	-
39	i-18:0	-	-	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,02
41	16:4n3	-	-	2,25 ± 0,07	2,17 ± 0,12
45	18:0	8,19 ± 0,16	8,03 ± 0,20	3,94 ± 0,02	3,93 ± 0,07
47	18:1n9	38,16 ± 0,54	39,65 ± 1,06	11,26 ± 0,06	11,37 ± 0,10
50	18:1n4	-	-	0,40 ± 0,06	0,39 ± 0,01
52	18:2n6	9,55 ± 0,13	9,40 ± 0,05	0,83 ± 0,05	0,79 ± 0,01
53	18:2n4	-	-	0,30 ± 0,06	0,25 ± 0,01
54	18:3n6	0,10 ± 0,02	0,11 ± 0,04	0,26 ± 0,12	0,18 ± 0,04
56	19:1n11	-	-	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,02
58	18:3n3	0,51 ± 0,03	0,48 ± 0,02	0,63 ± 0,01	0,60 ± 0,07
59	18:4n3	-	-	2,52 ± 0,04	2,47 ± 0,06
60	19:2n6	-	-	0,36 ± 0,01	0,35 ± 0,01
63	20:0	-	-	0,28 ± 0,01	0,26 ± 0,02
65	20:1n9	0,66 ± 0,03	0,70 ± 0,05	1,54 ± 0,05	1,43 ± 0,09

Tabela 2 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de pacu, *Piaractus mesopotamicus*<sup>1</sup> e sardinha, *Sardinella brasiliensis*<sup>2</sup>. Comparação entre os métodos A e B de metilação<sup>3</sup>.

(conclusão)					
Pico	Ácido graxo	Pacu		Sardinha	
		método A	método B	método A	método B
69	20:2n9	0,19 ± 0,03	0,18 ± 0,04	0,46 ± 0,01	0,45 ± 0,03
70	20:2n6				
+	+	0,61 ± 0,09	0,64 ± 0,03	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01
71	20:3n9				
75	20:4n6	0,86 ± 0,03	0,76 ± 0,09	1,49 ± 0,04	1,51 ± 0,05
78	20:4n3	-	-	0,86 ± 0,09	0,79 ± 0,06
79	20:5n3	-	-	17,77 ± 0,11	17,67 ± 0,70
81	22:1n11	-	-	0,86 ± 0,06	0,76 ± 0,14
89	22:5n6	-	-	0,22 ± 0,01	0,22 ± 0,02
91	22:5n3	-	-	1,68 ± 0,04	1,68 ± 0,10
92	22:6n3	0,47 ± 0,01	0,50 ± 0,11	10,28 ± 0,08	10,09 ± 0,53

<sup>1</sup> Amostra proveniente de Pirassununga, São Paulo (abril/90). Os valores são médias e desvios padrões de determinações em triplicatas para cada método, a partir de um lote composto por 6 peixes.

<sup>2</sup> Amostra proveniente do Frigorífico Tavares, Campinas, São Paulo. Os valores são médias e desvios padrões de determinações em triplicatas a partir de um lote composto por 4 peixes, tendo peso total médio de 90g.

<sup>3</sup> A - Método de Metcalfe *et al.* (1966).  
B - método proposto.

<sup>4</sup> Significativamente diferentes ao nível de 5%, porém sem diferença significativa ao nível de 1%. Os teores dos demais ácidos graxos não apresentaram diferenças significativas ao nível de 5%.

Abreviaturas: i - iso; DMA - dimetilacetal.

Tabela 3 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros e fosfolipídios de pacu, *Piaractus mesopotamicus*<sup>1</sup>. Comparação entre os métodos A e B de metilação<sup>2</sup>.

Pico nº	Ácido graxo	Lipídios neutros		Fosfolipídios	
		método A	método B	método A	método B
10	14:0	3,9	4,1	0,8	0,6
13	14:1n5	0,5	0,4	-	-
17	15:0	0,2	0,2	-	-
18	15:1n9	-	-	0,6	0,4
21	16:0DMA	-	-	6,4	6,2
23	16:0	26,9	27,0	23,1	20,5
25	16:1n7	9,2	9,1	2,5	2,3
34	17:0	0,2	0,2	-	-
36	17:1n9	0,2	0,2	-	-
40	18:0DMA	-	-	1,4	1,3
43	18:1DMA	-	-	0,9	0,9
45	18:0	8,2	8,1	10,0	9,4
47	18:1n9	40,1	40,1	16,5	19,7
52	18:2n6	9,6	9,6	8,9	8,7
58	18:3n3	0,5	0,5	-	-
65	20:1n9	0,6	0,5	-	-
73	20:3n6	-	-	2,8	2,9
75	20:4n6	-	-	10,6	11,0
89	22:5n6	-	-	5,2	6,1
92	22:6n3	-	-	8,5	9,8

<sup>1</sup> Amostra proveniente de Pirassununga, São Paulo (abril/90). Os valores foram obtidos de uma determinação para cada método, a partir de um lote composto por 6 peixes.

<sup>2</sup> A - Método de Metcalfe *et al.* (1966).

B - método proposto.

Abreviatura: DMA - dimetilacetal.

Tabela 4 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros e fosfolipídios de curimatá, *Prochilodus scrofa*<sup>1</sup>. Comparação entre os métodos A e B de metilação<sup>2</sup>.

(continua)

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	Lipídios neutros		Fosfolipídios	
		método A	método B	método A	método B
4	12:0	0,3	0,3	-	-
5	X1	0,1	0,1	-	-
7	13:0	0,5	0,5	-	-
8	i-14:0	0,4	0,4	-	-
10	14:0	5,5	5,4	0,7	0,7
12	14:1n7	0,1	0,1	-	-
13	14:1n5	0,1	0,1	-	-
14	i-15:0	1,8	1,8	-	-
15	ai-15:0	0,7	0,7	-	-
16	X3	0,2	0,2	-	-
17	15:0	2,9	2,9	1,2	1,2
18	15:1n9	0,2	0,2	0,4	0,4
19	15:1n7	0,2	0,2	-	-
20	i-16:0	0,8	0,8	-	-
21	16:0DMA	-	-	3,0	3,1
23	16:0	22,1	22,0	24,3	24,6
25	16:1n7	15,0	14,9	3,7	3,7
26	16:1n5	1,2	1,2	0,8	0,8
27	i-17:0	1,6	1,6	0,4	0,5
30	ai-17:0	1,0	1,0	0,5	0,6
34	17:0	1,9	1,9	1,2	1,1
36	17:1n9	1,6	1,6	0,4	0,5
39	i-18:0	0,7	0,7	-	-
40	18:0DMA	-	-	1,1	1,1
42	17:2n5	0,4	0,4	-	-
45	18:0	5,1	5,2	7,5	7,4
47	18:1n9	13,7	13,7	8,4	8,3
52	18:2n6	2,9	2,8	2,2	2,2

Tabela 4 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros e fosfolipídios de curimatá, *Prochilodus scrofa*<sup>1</sup>. Comparação entre os métodos A e B de metilação<sup>2</sup>.

Pico nº	Ácido graxo	(conclusão)			
		Lipídios neutros		Fosfolipídios	
		método A	método B	método A	método B
54	18:3n6	0,4	0,3	-	-
55	19:0	0,4	0,3	-	-
56	19:1n11	0,5	0,4	-	-
58	18:3n3	4,6	4,3	2,2	1,9
59	18:4n3	1,0	1,0	-	-
63	20:0	0,5	0,5	-	-
65	20:1n9	1,7	1,9	-	-
70	20:2n6				
+	+	0,6	0,6	-	-
71	20:3n9				
73	20:3n6	0,5	0,6	-	-
75	20:4n6	2,4	2,5	12,2	12,3
76	20:3n3	0,6	0,7	-	-
78	20:4n3	1,5	1,5	-	-
79	20:5n3	2,2	2,4	6,5	6,8
89	22:5n6	-	-	6,0	6,4
91	22:5n3	-	-	2,6	3,1
92	22:6n3	2,0	2,2	14,3	13,0

<sup>1</sup> Amostra proveniente de Pirassununga, São Paulo (abril/90). Os valores foram obtidos de uma determinação para cada método, a partir de um lote composto por 6 peixes.

<sup>2</sup> A - Método de Metcalfe *et al.* (1966).

B - método proposto.

Abreviaturas: X - não identificado; i - iso;  
ai - anteiso; DMA - dimetilacetal.



Tabela 5 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros e fosfolipídios de tilápia, *Oreochromis niloticus*<sup>1</sup>. Comparação entre os métodos A e B de metilação<sup>2</sup>.

(continua)

Pico nº	Ácido graxo	Lipídios neutros		Fosfolipídios	
		método A	método B	método A	método B
4	12:0	0,1	0,1	-	-
10	14:0	5,6	5,9	1,0	1,0
14	i-15:0	0,3	0,3	-	-
17	15:0	0,3	0,3	0,2	0,2
21	16:0DMA	-	-	2,5	2,6
23	16:0	28,6	29,0	29,2	27,8
25	16:1n7	7,3	7,7	1,8	1,9
27	i-17:0	0,1	0,1	-	-
30	ai-17:0	0,1	0,1	-	-
34	17:0	0,2	0,2	0,2	0,2
36	17:1n9	0,2	0,2	0,2	0,2
40	18:0DMA	-	-	0,9	0,9
43	18:1DMA	-	-	1,2	1,5
45	18:0	5,6	5,5	9,4	8,6
46	18:1n11	0,1	0,2	-	-
47	18:1n9	31,2	31,1	17,0	16,4
49	18:1n5	0,1	0,1	-	-
50	18:1n4	0,2	0,2	-	-
52	18:2n6	12,9	13,1	14,5	14,0
54	18:3n6	0,6	0,6	0,3	0,3
58	18:3n3	0,6	0,6	0,2	0,2
63	20:0	0,2	0,2	-	-
65	20:1n9	1,9	1,4	0,3	0,5
70	20:2n6				
+	+	1,0	0,7	1,5	1,6
71	20:3n9				
73	20:3n6	0,6	0,6	2,0	2,2
75	20:4n6	0,7	0,6	7,4	7,8
87	22:4n6	0,6	0,5	-	-
89	22:5n6	0,4	0,4	4,9	5,6

Tabela 5 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros e fosfolipídios de tilápia, *Oreochromis niloticus*<sup>1</sup>. Comparação entre os métodos A e B de metilação<sup>2</sup>.

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	(conclusão)			
		Lipídios neutros		Fosfolipídios	
		método A	método B	método A	método B
91	22:5n3	-	-	0,4	0,7
92	22:6n3	0,5	0,3	4,9	5,8

<sup>1</sup> Amostra proveniente de Pirassununga, São Paulo (abril/90). Os valores foram obtidos de uma determinação para cada método, a partir de um lote composto por 6 peixes.

<sup>2</sup> A - Método de Metcalfe *et al.* (1966).

B - método proposto.

Abreviaturas: i - iso; ai - anteiso; DMA - dimetilacetal.

Tabela 6 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros e fosfolipídios de tambaqui, *Colossoma macropomum*<sup>1</sup>. Comparação entre os métodos A e B de metilação<sup>2</sup>.

Pico nº	Ácido graxo	Lipídios neutros		Fosfolipídios	
		método A	método B	método A	método B
10	14:0	1,5	1,7	-	-
13	14:1n5	0,1	0,1	-	-
17	15:0	0,1	0,1	-	-
21	16:0DMA	-	-	5,4	5,9
23	16:0	29,6	30,4	19,9	21,6
25	16:1n7	6,3	6,6	1,7	2,4
34	17:0	0,2	0,1	-	-
36	17:1n9	-	-	1,3	1,3
45	18:0	10,7	10,4	13,9	11,7
47	18:1n9	40,5	39,9	21,9	22,1
52	18:2n6	8,5	8,5	10,4	10,8
58	18:3n3	0,6	0,5	-	-
65	20:1n9	1,3	1,2	-	-
73	20:3n6	0,4	0,3	3,7	3,3
75	20:4n6	0,2	0,2	8,8	8,9
89	22:5n6	-	-	3,0	3,1
92	22:6n3	-	-	10,0	8,9

<sup>1</sup> Amostra proveniente de Pirassununga, São Paulo (abril/90). Os valores foram obtidos de uma determinação para cada método, a partir de um lote composto por 6 peixes.

<sup>2</sup> A - Método de Metcalfe *et al.* (1966).

B - método proposto.

Abreviatura: DMA - dimetilacetal.

Tabela 7 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de tambaqui, *Colossoma macropomum*<sup>1</sup>. Comparação entre os métodos B e C de metilação<sup>2</sup>.

Pico nº	Ácido graxo	Lipídios totais	
		método B	método C
10	14:0	1,3	1,2
17	15:0	0,2	0,2
21	16:0DMA	0,5	0,6
23	16:0	29,3	29,1
25	16:1n7	5,9	5,2
34	17:0	0,2	0,2
40	18:0DMA	0,2	0,3
45	18:0	8,2	8,9
47	18:1n9	30,6	31,4
52	18:2n6	16,7	16,0
54	18:3n6	0,2	0,2
58	18:3n3	0,8	0,7
65	20:1n9	0,8	1,0
70	20:2n6		
+	+	0,8	0,8
71	20:3n9		
73	20:3n6	0,9	0,9
75	20:4n6	1,4	1,3
89	22:5n6	0,6	0,6
92	22:6n3	1,2	1,2

<sup>1</sup> Amostra proveniente de cultivo intensivo na UNICAMP, Campinas, São Paulo. Os valores foram obtidos de uma determinação para cada método, a partir de uma amostra composta por 3 alevinos, tendo peso total médio de 20g.

<sup>2</sup> B - método proposto.

C - Método de Hartman & Lago (1973).

Abreviatura: DMA - dimetilacetal.

Tabela 8 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, curimatá, *Prochilodus scrofa*, tilápia, *Oreochromis niloticus* e Tambaqui, *Colossoma macropomum*<sup>1</sup>. Comparação entre as técnicas de injeção "split" e "splitless"<sup>2</sup>.

(continua)

Pico nº	Ácido graxo	Pacu		Curimatá		Tilápia		Tambaqui	
		split	splitless	split	splitless	split	splitless	split	splitless
4	12:0	tr	tr	0,2	0,2	tr	0,1	tr	tr
7	13:0	nd	nd	0,5	0,4	nd	nd	tr	tr
8	i-14:0	nd	nd	0,4	0,4	nd	nd	nd	nd
10	14:0	3,6	3,5	4,9	4,4	4,4	4,0	1,5	1,4
12	14:1n7	nd	nd	0,1	0,1	nd	nd	nd	nd
13	14:1n5	tr	tr	0,1	0,1	nd	0,3	nd	nd
14	i-15:0	0,5	0,4	1,6	1,5	tr	tr	0,1	0,1
17	15:0	0,2	0,1	2,8	2,5	0,3	0,3	0,1	0,1
18	15:1n9	tr	tr	0,3	0,2	nd	nd	nd	nd
19	15:1n7	tr	tr	0,2	0,2	tr	0,1	tr	tr
20	i-16:0	nd	nd	0,7	0,6	nd	tr	nd	tr
21	16:0DMA	0,2	0,1	0,3	0,3	0,7	0,5	0,3	0,2
22	15:2n5	nd	0,2	tr	0,2	nd	0,2	nd	0,1
23	16:0	24,9	24,0	21,4	20,0	28,7	28,2	29,2	27,6
25	16:1n7	9,4	9,3	13,4	14,0	5,9	5,5	6,3	6,2
27	i-17:0	tr	tr	1,4	1,5	tr	0,1	tr	tr
30	ai-17:0	0,1	tr	0,8	1,0	tr	0,1	tr	0,1
33	16:3n6	nd	nd	0,6	0,9	tr	tr	tr	tr
34	17:0	0,2	0,2	1,7	1,7	0,2	0,2	0,2	0,1
36	17:1n9	0,2	0,2	1,5	1,7	tr	0,2	0,2	0,1
39	i-18:0	tr	nd	0,6	0,6	tr	tr	tr	tr
42	17:2n5	tr	tr	0,3	0,4	0,2	0,2	nd	nd
43	18:1DMA	tr	tr	tr	tr	0,3	0,3	tr	0,1
45	18:0	7,9	8,2	4,9	4,9	6,5	7,0	10,1	10,6
47	18:1n9	39,0	39,3	12,1	12,4	28,2	25,9	38,9	38,2
51	18:1n3	tr	0,2	0,1	0,2	tr	0,3	nd	nd
52	18:2n6	9,1	9,2	2,6	2,6	13,4	12,3	8,7	8,8
54	18:3n6	0,2	0,2	0,3	0,3	0,6	0,7	0,1	0,1
55	19:0	nd	tr	0,3	0,3	tr	tr	nd	nd
56	19:1n11	nd	tr	0,4	0,4	nd	nd	nd	nd

Tabela 8 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, curimatá, *Prochilodus scrofa*, tilápia, *Oreochromis niloticus* e Tambaqui, *Colossoma macropomum*<sup>1</sup>. Comparação entre as técnicas de injeção "split" e "splitless"<sup>2</sup>.

Pico nº	Ácido graxo	(conclusão)							
		Pacu		Curimatá		Tilápia		Tambaqui	
		split	splitless	split	splitless	split	splitless	split	splitless
58	18:3n3	0,5	0,5	4,0	3,9	0,5	0,5	0,6	0,6
59	18:4n3	0,1	0,1	0,8	0,9	nd	0,1	0,1	0,1
63	20:0	0,1	0,1	0,2	0,4	0,3	0,2	0,1	0,1
65	20:1n9	0,8	0,8	1,5	1,7	1,2	1,1	1,0	1,4
69	20:2n9	0,2	0,2	0,2	0,1	tr	0,2	0,1	0,1
70	20:2n6								
+	+	0,6	0,6	0,5	0,5	0,7	1,0	0,4	0,5
71	20:3n9								
73	20:3n6	0,4	0,4	0,6	0,6	0,9	1,1	0,4	0,6
75	20:4n6	0,7	0,8	2,9	3,2	2,4	2,5	0,5	0,7
76	20:3n3	nd	tr	0,6	0,6	tr	0,1	nd	tr
78	20:4n3	nd	tr	1,4	1,4	nd	tr	nd	tr
79	20:5n3	0,1	0,1	2,5	2,7	nd	tr	tr	0,2
81	22:1n11	nd	tr	tr	0,4	nd	tr	nd	tr
87	22:4n6	tr	0,1	0,4	0,6	0,9	1,2	tr	0,1
89	22:5n6	0,3	0,3	1,4	1,9	1,2	1,8	0,2	0,3
91	22:5n3	tr	0,1	1,1	1,3	0,4	0,4	nd	0,1
92	22:6n3	0,5	0,6	2,8	2,9	1,6	2,1	0,8	0,9

<sup>1</sup> Amostras provenientes de Pirassununga, São Paulo. Os valores foram obtidos de uma determinação para cada técnica de injeção, a partir de um lote composto por 6 peixes.

<sup>2</sup> Coluna: Carbowax 20M; Razão de "split": 1/100; período de "splitless": 0,75 min.

Abreviaturas: tr - traço; nd - não detectado; i - iso; DMA - dimetilacetato; ai - anteíso.

de pacu submetidos à análise estatística. De 36 ácidos graxos de sardinha, apenas em dois ácidos graxos (picos 27 e 28) obteve-se uma diferença significativa, a nível de 5%. Mesmo para estes dois ácidos graxos, a diferença não foi significativa a nível de 1%, portanto, os dois métodos foram considerados equivalentes.

O novo método teve desvios padrões em geral um pouco maiores do que o método de Metcalfe *et al.* (1966). De acordo com AOAC (1990), a diferença entre os resultados para os ácidos graxos principais (>5%), obtidos no mesmo dia, pelo mesmo operador e com a mesma amostra, não devem diferir por mais de 3% relativo e valor absoluto de 1%. Para pacu, os desvios mesmo para o novo método ficaram dentro destas especificações. Para a sardinha, nenhum desvio absoluto foi superior a 1%, mas os desvios relativos foram superiores a 3% para 14:0 (6%), 20:5n3 (4%) e 22:6n3 (5%). No entanto, no decorrer do trabalho, as duplicatas obtidas pelo novo método ficaram dentro das exigências da AOAC.

Os dois métodos também foram aplicados às frações lipídios neutros e fosfolipídios de pacu e de outras espécies (curimatá, tilápia e tambaqui) (Tabelas 3 a 6). Todas as amostras revelaram-se muito semelhantes, demonstrando a ampla aplicabilidade do método proposto.

Este método foi também comparado com o de Hartman & Lago (1973), em uma amostra de tambaqui (Tabela 7), demonstrando a equivalência dos dois métodos.

### 5.1.3. Avaliação das condições em cromatografia gasosa

Os dados obtidos em relação à composição de ácidos graxos de lipídios totais de pacu, curimatá, tilápia e tambaqui, utilizando injeção "split" ou "splitless", mostraram-se bastante semelhantes (Tabela 8). Portanto, qualquer uma destas técnicas pode ser utilizada.

Para os demais parâmetros de operação em cromatografia gasosa de

alta resolução foram adotadas e otimizadas para as nossas condições, as melhores opções recomendadas pela literatura internacional (Flanzy *et al.*, 1976; Jaeger *et al.*, 1981; Kramer *et al.*, 1985; Bannon *et al.*, 1987; Traitler, 1987; Christie, 1988), como a utilização de: a) colunas capilares de sílica fundida; b) H<sub>2</sub> como fase móvel ao invés de N<sub>2</sub>; c) gás “make-up” (N<sub>2</sub>) para aumentar a sensibilidade do detector; d) programação de temperatura; e) modelos recentes de cromatógrafo a gás e integrador.

Tanto a coluna SE-54 como a de Carbowax 20M apresentaram cromatogramas (Figuras 7 a 34) de boa resolução. Optou-se pela Carbowax para a quantificação dos ácidos graxos pois proporcionou uma separação nítida entre os pares de ácidos 18:1n9/18:3n3; 20:1n9/20:3n3 e 22:1n9/22:3n3.

## 5.2. Teores de Umidade, Proteína e Lipídios

Na Tabela 9 estão apresentados os resultados dos teores de umidade, proteína bruta, lipídios totais, neutros e fosfolipídios nas diversas amostras investigadas.

Para as 7 amostras de pacu ( $n=42$  peixes), tendo peso médio de 1.089g (520-3.124g), a média dos teores de umidade, lipídios e proteína corresponderam a 70,5% (68,5-74,7%), 11,0% (6,4-13,1%) e 17,6% (16,3-18,9%), respectivamente. A maior variação ocorreu no teor de lipídios (CV=23,6%), seguido em menor grau por proteína (CV=5,1%) e umidade (CV=3,3%). Os teores de lipídios mostraram uma flutuação irregular em relação à época de coleta dos peixes, indicando que não se trata de variação sazonal. Por outro lado, esta flutuação parece estar relacionada com o peso dos peixes. Os menores teores de gordura estão associados aos peixes com pesos menores e vice-versa. Esta relação também pode ser observada no trabalho de Machado (1989) com 6 lotes de pacu ( $n = 26$  peixes) provenientes do CEPTA (Pirassununga, São Paulo). As amostras tendo pesos médios de 1.050g



Tabela 9 - Dados sobre umidade, proteína total e lipídios de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, curimatá, *Prochilodus scrofa*, tilápia, *Oreochromis niloticus* e tambaqui, *Colossoma macropomum*, provenientes de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

Amostra	Época de coleta	Umidade (%)	Proteína total (%)	Lipídios (%)		
				totais	neutros	fosfolipídios
Pa1	14/03/90	68,8 ± 0,7	17,4 ± 0,5	12,6 ± 0,3	95,2 ± 0,5	4,9 ± 0,3
Pa2	28/03/90	69,0 ± 0,7	17,5 ± 0,0	13,0 ± 0,2	95,9 ± 1,2	5,1 ± 0,2
Pa3	16/04/90	74,7 ± 1,4	18,9 ± 0,3	8,1 ± 0,1	93,5 ± 1,3	6,2 ± 0,2
Pa4	11/05/90	70,9 ± 0,2	17,5 ± 1,3	11,0 ± 0,6	95,4 ± 0,2	4,6 ± 0,1
Pa5	18/06/90	73,9 ± 0,1	17,9 ± 0,8	6,4 ± 0,0	90,4 ± 0,1	8,0 ± 0,3
Pa6	10/08/90	71,0 ± 0,1	17,5 ± 0,7	12,3 ± 1,6	94,1 ± 0,3	4,3 ± 0,6
Pa7	27/08/90	68,5 ± 0,4	16,3 ± 0,1	13,1 ± 0,1	96,1 ± 0,6	4,0 ± 0,2
	média ± dp	70,5 ± 2,3	17,6 ± 0,9	11,0 ± 2,6	94,4 ± 2,0	5,3 ± 1,3
Cb1	16/04/90	74,0 ± 0,3	21,2 ± 0,1	5,3 ± 0,3	87,0 ± 0,1	13,3 ± 1,0
Cb2	11/05/90	73,6 ± 0,2	19,5 ± 0,1	5,0 ± 0,1	86,5 ± 0,6	13,8 ± 0,1
Cb3	18/06/90	72,8 ± 0,2	18,8 ± 0,6	7,8 ± 0,1	90,7 ± 0,6	8,4 ± 0,3
	média ± dp	73,4 ± 0,6	19,8 ± 1,1	6,0 ± 1,4	88,1 ± 2,1	11,8 ± 2,7
Ti1	16/04/90	78,2 ± 0,0	17,4 ± 0,1	1,5 ± 0,0	67,3 ± 0,3	31,9 ± 0,8
Ti2	11/05/90	78,4 ± 0,3	16,9 ± 0,1	1,3 ± 0,1	65,7 ± 0,6	33,9 ± 0,8
Ti3	18/06/90	78,6 ± 0,0	18,0 ± 0,6	1,4 ± 0,1	68,3 ± 0,6	30,5 ± 0,2
	média ± dp	78,4 ± 0,2	17,4 ± 0,6	1,4 ± 0,1	67,1 ± 1,2	32,1 ± 1,6
Tb1	16/04/90	73,1 ± 1,6	18,0 ± 0,3	6,3 ± 0,1	91,3 ± 0,6	8,3 ± 0,4
Tb2	11/05/90	74,0 ± 0,3	16,8 ± 0,0	6,8 ± 0,0	92,0 ± 0,3	7,5 ± 0,1
Tb3	18/06/90	75,5 ± 0,2	16,8 ± 0,3	4,9 ± 0,2	88,7 ± 0,6	10,1 ± 0,6
	média ± dp	74,2 ± 1,3	17,1 ± 0,7	6,0 ± 0,9	90,7 ± 1,6	8,7 ± 1,2

<sup>1</sup> As percentagens de umidade, proteína total e lipídios totais foram calculadas em relação a 100g de músculo "in natura"; para os teores de lipídios neutros e fosfolipídios, as percentagens foram calculadas em relação a 100g de lipídios totais.

<sup>2</sup> Valores médios e desvios padrões (dp) de determinações mensais em triplicata para umidade e em duplicatas para proteína total e lipídios.

e 3.840g, tiveram, respectivamente, 16,6% e 18,2% de lipídios. Teores médios de 13,0% para proteína bruta e de 67,7% para umidade obtidos por Machado (1989) foram ligeiramente inferiores aos conseguidos no atual trabalho.

Junk (1985) relatou flutuações sazonais pronunciadas nos teores de lipídios (2-12%) e de umidade (80-72%) para o pacu branco *Mylossoma duriventris* ( $n=55$  peixes), embora não tenha havido controle da procedência e as variações no mesmo mês foram amplas. O conteúdo de proteína variou de 17 a 19%, sem qualquer sazonalidade. Os peixes foram adquiridos em diferentes pontos comerciais e de pescadores em Manaus, Amazonas.

As amostras de curimatã ( $n=18$  peixes) apresentaram os seguintes valores médios: umidade, 73,4% (72,8-74,0%); lipídios, 6,0% (5,0-7,8%); proteína total, 19,8% (18,8-21,2%) e peso, 1.328g (735-2.380g). Semelhante ao pacu, a maior variação ocorreu nos lipídios ( $CV=23,3\%$ ), seguido por proteína ( $CV=5,5\%$ ) e umidade ( $CV=0,8\%$ ).

Num trabalho anterior (Maia *et al.*, 1983), 6 amostras de curimatã ( $n=26$  peixes), variando de 1 a 8 exemplares, coletadas em diferentes épocas e locais do Estado de São Paulo, apresentaram os seguintes valores médios: umidade, 76,5% (73,6-80,0%); lipídios, 2,3% (0,7-4,0%), proteínas, 20,4% (19,0-21,5%) e peso, 800g (280-1.100g). A discrepância nos teores de lipídios encontrados no trabalho anterior e atual, pode ser atribuída, entre outros fatores (já que as amostras eram de diferentes épocas e procedências), ao tamanho dos peixes.

A relação entre gordura e peso do peixe também foi observada por Gurgel & Freitas (1977) com a curimatã comum ( $n=64$  peixes) coletada no açude Orós (Orós, Ceará). Em 2 anos de análises, o teor médio de gordura foi de 11,1% (3,3-34,4%), variação esta não correlacionada com a época de captura dos peixes.

Em filés de curimatã ( $n=59$  peixes) de Manaus, Amazonas, os conteúdos médios de umidade e gordura flutuam entre 76-82% e 0,5-4,0%, respectivamente, e, para Junk (1985) isto não ocorreu devido à variação sazonal. O conteúdo de

proteína manteve-se num nível de 20%, diminuindo, transitoriamente, para cerca de 17%, nos meses de março e abril.

A composição química da tilápia, diferentemente de pacu e curimatá, permaneceu razoavelmente constante durante os 3 meses de análises. Os valores médios foram de 78,4% (78,2-78,6%) para umidade; 17,4% (16,9-18,0%) para proteína e 1,4% (1,3-1,5%) para lipídios, em amostras com peso médio de 424g (190-590g).

A mesma espécie capturada no açude "Paulo Sarasate" (Reriutaba, Ceará) foi analisada durante 2 anos por Freitas *et al.* (1979). As amostras ( $n = 97$  peixes) com peso médio de 499g (138-1.789g) forneceram os seguintes resultados: umidade, 77,1% (74,0-82,4%); proteína, 20,0% (14,3-22,3%) e lipídios, 1,9% (0,3-5,5%). Os autores observaram não existir relação entre os resultados das análises químicas e a época de captura dos peixes.

Híbridos da tilápia criados em tanques da Estação de Piscicultura da Centrais Energéticas do Estado de São Paulo (CESP) em Promissão, São Paulo, com peso médio de 750g, tiveram 5,4% (3,7-7,5%) de lipídios totais (Nunes, 1981), enquanto os mesmos híbridos oriundos do CEPTA (Pirassununga, São Paulo), com peso médio de 154g ( $n=30$  peixes), apresentaram um teor médio de lipídios de apenas 1,67% (1,4-2,2%) (Neto, 1984). Para os híbridos da CESP, os teores médios de umidade e de proteína corresponderam a 75,7% (74,3-76,4%) e 18,1% (16,6-20,1%), respectivamente, enquanto àqueles do CEPTA, a umidade foi de 78,5% (77,5-79,8%) e proteína de 18,6% (18,58-18,61%).

A exemplo da tilápia, os resultados para o tambaqui também não variaram apreciavelmente. As amostras ( $n=18$  peixes) com peso médio de 887g (600-1.115g), tiveram teores médios de umidade, lipídios e proteína de 74,2% (73,1-75,5%) e 6,0% (4,9-6,8%) e 17,1% (16,8-18,0%), respectivamente.

Tambaquis jovens ( $n = 28$  peixes) com peso médio variando entre 1.000-1.400g foram investigados por Saint-Paul (1984). Os peixes foram coletados

no Lago Manaquiri (Manaus, Amazonas) nos meses de julho a janeiro. Segundo o autor, as análises realizadas nos filés revelaram que os conteúdos de gordura e água permaneceram razoavelmente constantes, enquanto que a proteína diminuiu significativamente de julho a janeiro. A média de 80,0% (72,0-88,3%) para umidade foi superior ao obtido em nosso trabalho. Os teores de gordura e proteína expressos em base seca, no trabalho de Saint-Paul, impedem comparações com os resultados atuais.

Uma diferença sutil pode ser notada quando se comparam os teores de umidade e proteína de tambaquis jovens e adultos, adquiridos no comércio de Manaus, Amazonas (Junk, 1985). Os peixes jovens ( $n=46$  peixes) com peso médio de 1.181g (350-2.710g) e adultos ( $n=32$  peixes) com peso médio de 7.171g (3.800-11.300g), apresentaram, respectivamente, 81,3% e 79,2% de umidade e 17,8% e 18,5% de proteína. Mesmo sendo considerados peixes magros, ainda foi possível notar uma nítida diferença entre os teores de gordura dos tambaquis jovens (0,2%) e adultos (1,5%).

Para Freitas & Gurgel (1985), a composição centesimal do filé de tambaqui ( $n = 43$  peixes) criado em cativeiro (Pentecoste, Ceará), variou pouco durante o ano. As percentagens médias para peso, umidade, gordura e proteína foram de 1.318g (994-1.594g), 76,8% (71,5-79,2%), 1,4% (0,5-3,5%) e 21,0% (19,0-23,0%), respectivamente.

Na sua revisão, Henderson & Tocher (1987) enumeraram 56 peixes de água doce (a maioria proveniente de países com clima temperado), cujos filés ou músculos apresentaram teores de lipídios totais de 0,7-25,8% (base úmida). Em 11 peixes da Grécia, os conteúdos totais de lipídios variaram de 0,6 a 7,6 (Lazos *et al.*, 1989). Os teores nos peixes investigados neste trabalho encaixam-se nas faixas mencionadas.

Na grande maioria dos peixes citados por Henderson & Tocher (1987), não foi determinada a composição das classes de lipídios. Três exemplos de peixes da Coreia analisados por Kim & Lee (1986) (Apud Henderson & Tocher, 1987) fo-

ram citados. O filé de "snakehead" continha 0,9% de lipídios totais dos quais 72% eram de lipídios neutros, 25% de fosfolipídios e 3% de glicolipídios; *Anguila japonica* apresentou 22% de lipídios totais, sendo que 88% eram lipídios neutros; carpa comum teve 1,5% de lipídios totais, consistindo de 77% de lipídios neutros, 22% de fosfolipídios e 2% de glicolipídios. Por sua vez, Mai & Kinsella (1979a) relataram em "white sucker", 2,99% de lipídios totais, dos quais 12,0% eram fosfolipídios. No peixe japonês "ayu" cultivado, os teores de lipídios totais, neutros e fosfolipídios eram 7,5-10,8%, 93,4-95,3% e 4,7-6,6%, respectivamente (Ohshima *et al.*, 1982). O "milkfish" das Filipinas continha 1,7% de lipídios totais, compreendendo de 76,7%, 20,7% e 2,4% de lipídios neutros, fosfolipídios e glicolipídios, respectivamente (Benitez & Gorriceta, 1983).

Nos quatro peixes estudados, esta relação também foi demonstrada. Os lipídios do peixe mais gorduroso, pacu (11,0%), consistiram de 94,4% de lipídios neutros e 5,3% de fosfolipídios. Por outro lado, a tilápia, com apenas 1,4% de lipídios totais, continha 67,1% de lipídios neutros e 32,1% de fosfolipídios. Os peixes com conteúdos intermediários de lipídios totais, curimatá e tambaqui, apresentaram 88,1% e 90,7% de lipídios neutros e 11,8% e 8,7% de fosfolipídios, respectivamente.

### 5.3. Identificação de Ácidos Graxos

#### 5.3.1. Tempo de retenção

Na Tabela 10 estão apresentados os resultados sobre os tempos de retenção ( $t_r$ ) e os tempos de retenção corrigidos ( $t'_r$ ) de EMAG de amostras de peixes e padrões, separados pela coluna de Carbowax 20M, na temperatura de 200°C/42 min., programada a 2°C/min. até 210°C.

Numa análise cromatográfica, o tempo de retenção é frequentemente usado para a identificação provisória de compostos cujas identidades definitivas de-

Tabela 10 - Dados sobre tempo de retenção ( $t_r$ ) e tempo de retenção corrigido ( $t'_r$ ) de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de peixes e de padrões, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

(continua)

Pico	Ácido graxo	amostras			padrões		
		$t_r$ (min)	$t'_r$ (min)	$n^2$	$t_r$ (min)	$t'_r$ (min)	$n$
1	10:0	2,91	0,81	1	2,85	0,71	1
2	11:0	3,14 ± 0,05	1,14 ± 0,04	2	3,11	0,97	1
3	11:1	3,11 ± 0,02	1,15 ± 0,03	3			
4	12:0	3,54 ± 0,08	1,50 ± 0,06	16	3,54 ± 0,12	1,38 ± 0,11	3
6	X2	3,74	1,81	1			
7	13:0	4,12 ± 0,12	2,02 ± 0,07	4			
8	i-14:0	4,42 ± 0,06	2,36 ± 0,05	6			
9	14:0DMA	4,49	2,48	1			
10	14:0	4,83 ± 0,14	2,77 ± 0,13	37	4,78 ± 0,12	2,63 ± 0,11	7
11	14:1n9	4,94	2,87	1			
12	14:1n7	5,02 ± 0,07	2,98 ± 0,07	4			
13	14:1n5	5,21 ± 0,16	3,19 ± 0,18	18	5,05 ± 0,02	2,90 ± 0,04	3
14	i-15:0	5,28 ± 0,07	3,23 ± 0,05	9	5,18	3,04	1
15	ai-15:0	5,41 ± 0,08	3,28 ± 0,05	11			
16	X3	5,55 ± 0,04	3,52 ± 0,07	2			
17	15:0	5,86 ± 0,17	3,82 ± 0,17	32	5,70	3,56	1
18	15:1n9	6,16 ± 0,18	4,07 ± 0,14	18			
19	15:1n7	6,22 ± 0,02	4,12 ± 0,01	2			
20	i-16:0	6,47 ± 0,10	4,43 ± 0,06	12	6,37	4,23	1
21	16:0DMA	6,78 ± 0,24	4,72 ± 0,23	25	6,73	4,59	1
22	15:2n5	6,73	4,74	1	6,74	4,60	1
23	16:0	7,35 ± 0,24	5,29 ± 0,22	37	7,23 ± 0,21	5,09 ± 0,20	7
24	16:1n9	8,06 ± 0,24	5,93 ± 0,28	9			
25	16:1n7	7,82 ± 0,26	5,76 ± 0,24	37	7,71 ± 0,22	5,57 ± 0,21	7
26	16:1n5	8,07 ± 0,28	5,97 ± 0,24	3			
27	i-17:0	8,23 ± 0,22	6,17 ± 0,18	21	8,02	5,88	1
28	16:2n7	8,31 ± 0,15	6,34 ± 0,14	3			
29	16:2n6	8,63 ± 0,22	6,57 ± 0,18	9			
30	ai-17:0	8,46 ± 0,26	6,40 ± 0,22	17	8,31	6,17	1
31	16:2n5	8,64 ± 0,18	6,64 ± 0,18	2			
32	16:2n4	8,85 ± 0,10	6,80 ± 0,07	10	8,70	6,56	1
33	16:3n6	9,04 ± 0,09	6,99 ± 0,07	4	8,91 ± 0,12	6,78 ± 0,13	3
34	17:0	9,31 ± 0,32	7,26 ± 0,30	35	9,28 ± 0,37	7,12 ± 0,36	4
35	17:1n11	9,60 ± 0,10	7,53 ± 0,08	8	9,39	7,25	1

Tabela 10 - Dados sobre tempo de retenção ( $t_r$ ) e tempo de retenção corrigido ( $t'_r$ ) de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de peixes e de padrões, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

(continua)

Pico	Ácido	amostras			padrões				
		n <sup>o</sup>	graxo	$t_r$ (min)	$t'_r$ (min)	n <sup>2</sup>	$t_r$ (min)	$t'_r$ (min)	n
36	17:1n9			9,87 ± 0,30	7,83 ± 0,30	33	9,57	7,43	1
38	16:3n3			10,33 ± 0,13	8,28 ± 0,16	10			
39	i-18:0			10,56 ± 0,13	8,50 ± 0,09	10			
40	18:0DMA			11,04 ± 0,38	8,96 ± 0,33	22	10,96	8,82	1
41	16:4n3			10,79	8,80	1	10,78	8,64	1
42	17:2n5			11,15	9,04	1			
43	18:1DMA			11,56 ± 0,41	9,48 ± 0,36	21	11,70	9,36	1
44	X4			11,96 ± 0,52	9,85 ± 0,44	4			
45	18:0			12,16 ± 0,43	10,10 ± 0,41	37	11,97 ± 0,37	9,82 ± 0,36	7
46	18:1n11			13,27 ± 0,07	11,11 ± 0,06	2			
47	18:1n9			12,87 ± 0,45	10,81 ± 0,43	37	12,66 ± 0,40	10,52 ± 0,39	7
48	18:1n7			13,46 ± 0,53	11,34 ± 0,54	11	12,91	10,78	1
49	18:1n5			13,80 ± 0,58	11,78 ± 0,60	7	12,99	10,85	1
50	18:1n4			13,94 ± 0,51	11,89 ± 0,45	11			
51	18:1n3			14,02 ± 0,11	11,98 ± 0,14	3			
52	18:2n6			14,46 ± 0,53	12,41 ± 0,50	37	14,24 ± 0,46	12,09 ± 0,45	7
53	18:2n4			15,04 ± 0,17	12,98 ± 0,16	9	14,75	12,61	1
54	18:3n6			15,59 ± 0,49	13,52 ± 0,46	27	15,54 ± 0,66	13,38 ± 0,65	4
55	19:0			15,72 ± 0,17	13,69 ± 0,13	6	15,78 ± 0,72	13,63 ± 0,71	4
56	19:1n11			16,28 ± 0,20	14,23 ± 0,15	10			
57	19:1n9			16,51	14,56	1			
58	18:3n3			17,13 ± 0,63	15,08 ± 0,60	35	16,92 ± 0,60	14,78 ± 0,59	6
59	18:4n3			18,32 ± 0,59	16,33 ± 0,58	19	18,36 ± 0,66	16,21 ± 0,65	6
60	19:2n6			18,65	16,66	1			
61	19:2n5			19,25	17,24	1			
63	20:0			21,23 ± 0,76	19,20 ± 0,74	25	21,18 ± 0,94	19,02 ± 0,93	4
65	20:1n9			22,51 ± 0,86	20,45 ± 0,82	37	22,20 ± 0,74	20,05 ± 0,73	7
66	20:1n8			24,53 ± 0,04	22,37 ± 0,03	2			
67	20:1n7			23,23 ± 0,84	21,20 ± 0,78	7			
69	20:2n9			24,16 ± 0,77	22,13 ± 0,73	22			
70	20:2n6			27,48 ± 0,28	25,26 ± 0,25	2	25,48 ± 1,13	23,32 ± 1,12	4

Tabela 10 - Dados sobre tempo de retenção ( $t_r$ ) e tempo de retenção corrigido ( $t'_r$ ) de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de peixes e de padrões, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

(conclusão)

Pico nº	Ácido graxo	amostras			padrões		
		$t_r$ (min)	$t'_r$ (min)	$n^2$	$t_r$ (min)	$t'_r$ (min)	$n$
71	20:3n9	27,68 ± 0,42	25,46 ± 0,39	2			
72	20:2n3	26,24 ± 0,10	24,21 ± 0,07	2	26,48	24,34	1
73	20:3n6	27,59 ± 1,06	25,53 ± 1,03	37	27,39 ± 1,25	25,23 ± 1,24	4
74	21:0				28,56 ± 1,57	26,39 ± 1,56	3
75	20:4n6	29,33 ± 1,12	27,27 ± 1,09	37	28,91 ± 1,06	26,76 ± 1,05	6
76	20:3n3	30,52 ± 0,78	28,47 ± 0,74	12	30,66 ± 1,70	28,50 ± 1,68	3
78	20:4n3	32,60 ± 0,47	30,54 ± 0,42	11	31,91	29,77	1
79	20:5n3	33,95 ± 1,49	32,72 ± 1,01	25	34,06 ± 0,94	32,63 ± 1,19	7
80	22:0	37,00	35,01	1	38,54 ± 1,79	36,38 ± 1,78	4
81	22:1n11	39,35 ± 0,53	37,35 ± 0,50	4	39,04 ± 0,67	36,91 ± 0,68	4
82	22:1n9				40,75 ± 2,36	38,58 ± 2,35	3
86	23:0				50,06 ± 2,05	47,89 ± 2,03	3
87	22:4n6	50,91 ± 1,50	48,83 ± 1,44	26	50,21 ± 0,47	48,07 ± 0,47	2
88	22:3n3				52,79 ± 2,21	50,63 ± 2,20	3
89	22:5n6	54,00 ± 1,66	51,93 ± 1,62	30	51,43	49,29	1
91	22:5n3	58,16 ± 1,41	56,09 ± 1,36	24	56,85	54,71	1
92	22:6n3	62,03 ± 1,75	59,97 ± 1,72	36	61,63 ± 1,61	59,49 ± 1,59	7
93	24:0				63,39 ± 2,16	61,24 ± 2,14	3
94	24:1n9	64,21	62,22	1	65,20 ± 2,43	63,04 ± 2,42	4

<sup>1</sup> temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  210°C.

<sup>2</sup>  $n$  = frequência de detecção do EMAG em 37 e 7 cromatogramas analisados de amostras e padrões, respectivamente.

Abreviaturas: i - iso; ai - anteiso; DMA - dimetilacetal; X - não identificado



verão ser confirmadas por outros métodos mais conclusivos, como por exemplo, espectrometria de massa. Porém, para que os tempos de retenção sejam úteis, devem ser reprodutíveis.

Os dados apresentados abaixo, que são um resumo dos resultados da Tabela 10, mostram a baixa reprodutibilidade das medidas dos tempos de retenção e tempos de retenção corrigidos.

amostra	temperatura (°C)	parâmetro	variação do desvio padrão	coeficiente de variação máximo (%)
padrões	200	$t_r$	0,02 - 2,36	5,8
peixes	200	$t_r$	0,02 - 1,49	4,4
padrões	200	$t'_r$	0,04 - 2,35	8,0
peixes	200	$t'_r$	0,01 - 1,09	5,6
padrões	210	$t_r$	0,47 - 2,43	4,2
peixes	210	$t_r$	1,41 - 1,75	3,1
padrões	210	$t'_r$	0,47 - 2,42	4,3
peixes	210	$t'_r$	1,36 - 1,72	3,1

Os valores máximos dos desvios padrões e coeficientes de variações foram de 2,43 minutos e 8,0%, respectivamente. De acordo com Freeman (1981), para a reprodutibilidade das medidas do tempo de retenção ser considerada boa, usando cromatógrafos gasosos de alta resolução, os desvios padrões obtidos devem estar na faixa de 0,01-0,10%.

A imprecisão das medidas de  $t_r$  e  $t'_r$  chegaram a ser tão acentuadas que, por exemplo, houve uma inversão dos valores médios de retenções entre os seguintes pares de ácidos graxos: 11:0/11:1, 16:1n9/16:1n7, 16:2n6/ai-17:0, 18:0DMA/16:4n3, 20:1n8/20:1n7 e 20:1n8/20:2n9 (Tabela 10).

Outros pares de ácidos graxos que requerem cuidados na identificação provisória, por causa da dispersão das medidas de  $t_r$  e  $t'_r$ , foram os seguintes: 14:1n5/i-15:0, 16:1n5/i-17:0, i-17:0/16:2n7, ai-17:0/16:2n5, 16:3n6/17:0, 16:3n3/i-18:0, 18:0DMA/X4, 18:1n5/18:1n4, 18:1n4/18:1n3 e 20:2n6/20:3n9.

A soma dos desvios padrões dos tempos de retenção dos EMAG das amostras ( $\sum dp = 26,8$ ) e padrões ( $\sum dp = 31,0$ ) e dos tempos de retenção corrigidos das amostras ( $\sum dp = 25,5$ ) e padrões ( $\sum dp = 30,1$ ) mostram que a reprodutibilidade das medidas de  $t'_r$  foi apenas ligeiramente superior às medidas de  $t_r$ . Uma reprodutibilidade bem melhor dos tempos de retenção corrigidos seria esperada. Como isto não aconteceu, a reprodutibilidade do tempo morto foi verificada.

O tempo morto foi determinado de duas maneiras: (a) medido pelo tempo de retenção do metano; (b) calculado através da série homóloga dos EMAG 14:0, 16:0 e 18:0 ou  $t_M$  matemático (Hansen & Andresen, 1968).

A reprodutibilidade do  $t_M$  assim determinada foi de  $2,26 \pm 0,05$  min. com o gás metano e de  $2,08 \pm 0,07$  min. com a série homóloga.

Optou-se pelo  $t_M$  da série homóloga porque: (a) existe uma grande divergência de opinião sobre o uso do metano como uma indicação do  $t_M$ ; (b) o  $t_M$  medido com o metano foi superior ao  $t_M$  matemático; (c) os ácidos graxos usados no cálculo do  $t_M$ , encontravam-se naturalmente presentes nas amostras de peixes, estando assim sujeitos às mesmas condições de temperatura e pressão que os demais ácidos graxos, em cada corrida cromatográfica.

Portanto, a forma de cálculo de  $t_M$  teve uma pequena contribuição na diminuição de reprodutibilidade dos tempos de retenção corrigidos.

De acordo com a literatura (McNair & Bonelli, 1969; Goedert & Guiochon, 1970; Ackman, 1972; Ettre, 1973; Krupcik *et al.*, 1976; Freeman, 1981; Alexander *et al.*, 1985) as principais causas de erros na determinação do tempo de retenção são: mudanças de temperatura e pressão do gás de arraste, queda de pressão, estimativa do tempo morto, sobrecarga de amostra na coluna, resolução incompleta e perda de eficiência da coluna.

Variações na pressão do gás de arraste (21,5-23,5 psi), queda de pressão imprevista durante a corrida cromatográfica, volume de amostra injetada

(1,0-2,5ml) e perda de eficiência da coluna de Carbowax 20M durante 6 meses de uso contínuo, talvez sejam as causas principais, nesta pesquisa, da baixa reprodutibilidade das medidas dos tempos de retenção corrigidos ou não.

Uma excelente reprodutibilidade na determinação do tempo de retenção de ácidos graxos foi obtida por Alexander *et al.* (1985), usando uma coluna capilar SP2560 (100m × 0,25mm) durante 4 meses de análises, injetando regularmente 0,5ml de amostra e controlando bem a taxa de fluxo e a razão de "split".

As diferenças dos tempos de retenção dos padrões e dos correspondentes ácidos graxos nas amostras demonstram o efeito da complexidade da amostra sobre este parâmetro, fato já bem relatado pela literatura, e daí a necessidade da co-cromatografia ("spiking").

Cabe lembrar que, mesmo se houvesse uma boa reprodutibilidade, o tempo de retenção e "spiking" serviriam apenas para uma confirmação negativa conclusiva. A coincidência do tempo de retenção entre padrões e amostras não pode ser considerada uma confirmação definitiva da identidade da amostra.

### 5.3.2. Tempo de retenção relativo ao 18:2n6

Devido às dificuldades para obter os tempos de retenção reprodutíveis, na prática é mais conveniente trabalhar com os tempos de retenção relativos, que são independentes das pequenas flutuações, no dia a dia, das condições de operações de temperatura e taxa de fluxo do gás de arraste. Ele depende da fase líquida usada, da temperatura da coluna e do padrão de referência selecionado (McNair & Bonelli, 1969; Kates, 1972).

Normalmente, na análise de ácidos graxos por cromatografia gasosa, os dados sobre os tempos de retenção relativos são calculados em relação aos ácidos palmítico (16:0), esteárico (18:0) ou oléico (18:1n9) (Míwa *et al.*, 1960; Woodford & van Gent, 1960; Ackman, 1963b, 1969; Ashes *et al.*, 1978; Alexander *et al.*, 1985).

Tabela 11 - Dados sobre tempo de retenção relativo ( $t_{rr}$ ) e tempo de retenção relativo corrigido ( $t'_{rr}$ ) de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de peixes e de padrões, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

(continua)

Pico nº	Ácido graxo	amostras			padrões		
		$t_{rr}$ (min)	$t'_{rr}$ (min)	$n^2$	$t_{rr}$ (min)	$t'_{rr}$ (min)	$n$
1	10:0	0,192	0,062	1	0,204	0,060	1
2	11:0	0,221 ± 0,001	0,094 ± 0,001	2	0,223	0,082	1
3	11:1	0,223 ± 0,001	0,097 ± 0,002	4			
4	12:0	0,246 ± 0,003	0,122 ± 0,004	16	0,247 ± 0,004	0,113 ± 0,002	4
6	X2	0,268	0,150	1			
7	13:0	0,284 ± 0,003	0,162 ± 0,006	4			
8	i-14:0	0,309 ± 0,001	0,193 ± 0,004	6			
9	14:0DMA	0,316	0,203	1			
10	14:0	0,334 ± 0,003	0,223 ± 0,004	37	0,336 ± 0,002	0,218 ± 0,001	7
11	14:1n9	0,349	0,237	1			
12	14:1n7	0,353 ± 0,000	0,244 ± 0,002	4			
13	14:1n5	0,359 ± 0,002	0,255 ± 0,005	18	0,363 ± 0,003	0,247 ± 0,001	3
14	i-15:0	0,370 ± 0,001	0,265 ± 0,003	9	0,372	0,258	1
15	ai-15:0	0,382 ± 0,001	0,278 ± 0,003	11			
16	X3	0,386 ± 0,001	0,286 ± 0,004	2			
17	15:0	0,406 ± 0,002	0,308 ± 0,004	32	0,409	0,302	1
18	15:1n9	0,428 ± 0,002	0,331 ± 0,003	18			
19	15:1n7	0,436 ± 0,000	0,339 ± 0,001	2			
20	i-16:0	0,456 ± 0,001	0,365 ± 0,003	12	0,457	0,358	1
21	16:0DMA	0,470 ± 0,002	0,382 ± 0,004	25	0,471	0,377	1
22	17:2n5	0,482	0,396	1	0,484	0,390	1
23	16:0	0,508 ± 0,002	0,426 ± 0,004	37	0,508 ± 0,002	0,420 ± 0,002	7
24	16:1n9	0,532 ± 0,002	0,455 ± 0,006	9			
25	16:1n7	0,541 ± 0,002	0,464 ± 0,004	37	0,542 ± 0,002	0,460 ± 0,001	7
26	16:1n5	0,554 ± 0,003	0,479 ± 0,002	3			
27	i-17:0	0,573 ± 0,002	0,502 ± 0,002	21	0,575	0,498	1
28	16:2n7	0,589 ± 0,003	0,522 ± 0,004	3			
29	16:2n6	0,591 ± 0,002	0,524 ± 0,003	9			
30	ai-17:0	0,594 ± 0,003	0,525 ± 0,003	17	0,596	0,523	1
31	16:2n5	0,608 ± 0,001	0,544 ± 0,002	2			
32	16:2n4	0,621 ± 0,001	0,557 ± 0,002	10	0,624	0,556	1
33	16:3n6	0,632 ± 0,004	0,571 ± 0,004	4	0,631 ± 0,001	0,565 ± 0,001	3
34	17:0	0,645 ± 0,001	0,586 ± 0,003	35	0,648 ± 0,002	0,585 ± 0,000	4
35	17:1n11	0,672 ± 0,001	0,617 ± 0,001	8	0,674	0,614	1

Tabela 11 - Dados sobre tempo de retenção relativo ( $t_{rr}$ ) e tempo de retenção relativo corrigido ( $t'_{rr}$ ) de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de peixes e de padrões, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

(continua)

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	amostras			padrões		
		$t_{rr}$ (min)	$t'_{rr}$ (min)	$n^2$	$t_{rr}$ (min)	$t'_{rr}$ (min)	$n$
36	17:1n9	0,686 ± 0,002	0,634 ± 0,003	33	0,686	0,630	1
38	16:3n3	0,734 ± 0,003	0,688 ± 0,004	10			
39	i-18:0	0,741 ± 0,002	0,698 ± 0,002	10			
40	18:0DMA	0,766 ± 0,001	0,726 ± 0,002	22	0,766	0,725	1
41	16:4n3	0,772	0,735	1	0,773	0,732	1
42	17:2n5	0,781	0,743	1			
43	18:1DMA	0,802 ± 0,001	0,769 ± 0,001	21	0,804	0,770	1
44	X4	0,821 ± 0,000	0,790 ± 0,000	4			
45	18:0	0,840 ± 0,001	0,814 ± 0,002	37	0,841 ± 0,001	0,812 ± 0,001	7
46	18:1n11	0,868 ± 0,001	0,846 ± 0,001	2			
47	18:1n9	0,889 ± 0,003	0,871 ± 0,004	37	0,889 ± 0,001	0,869 ± 0,002	7
48	18:1n7	0,902 ± 0,001	0,886 ± 0,001	11	0,903	0,886	1
49	18:1n5	0,936 ± 0,004	0,925 ± 0,004	7	0,932	0,919	1
50	18:1n4	0,964 ± 0,001	0,958 ± 0,002	11			
51	18:1n3	0,980 ± 0,002	0,976 ± 0,002	3			
52	18:2n6	1,000	1,000	37	1,000	1,000	7
53	18:2n4	1,058 ± 0,002	1,068 ± 0,003	9	1,058	1,069	1
54	18:3n6	1,080 ± 0,002	1,094 ± 0,003	27	1,084 ± 0,001	1,099 ± 0,002	4
55	19:0	1,106 ± 0,002	1,124 ± 0,003	6	1,108 ± 0,001	1,128 ± 0,002	4
56	19:1n11	1,143 ± 0,001	1,167 ± 0,002	10			
57	19:1n9	1,156	1,181	1			
58	18:3n3	1,186 ± 0,003	1,217 ± 0,004	35	1,189 ± 0,002	1,223 ± 0,003	6
59	18:4n3	1,283 ± 0,006	1,329 ± 0,008	19	1,290 ± 0,002	1,342 ± 0,001	6
60	19:2n6	1,335	1,391	1			
61	19:2n5	1,374	1,437	1			
63	20:0	1,473 ± 0,004	1,550 ± 0,007	25	1,478 ± 0,003	1,563 ± 0,001	4
65	20:1n9	1,555 ± 0,004	1,648 ± 0,007	37	1,559 ± 0,002	1,658 ± 0,002	7
66	20:1n8	1,605 ± 0,004	1,704 ± 0,004	2			
67	20:1n7	1,620 ± 0,005	1,722 ± 0,007	7			
69	20:2n9	1,684 ± 0,006	1,796 ± 0,008	22			
70	20:2n6	1,779 ± 0,004	1,909 ± 0,006	2	1,778 ± 0,005	1,916 ± 0,004	4

Tabela 11 - Dados sobre tempo de retenção relativo ( $t_{rr}$ ) e tempo de retenção relativo corrigido ( $t'_{rr}$ ) de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de peixes e de padrões, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

(conclusão)							
Pico nº	Ácido graxo	amostras			padrões		
		$t_{rr}$ (min)	$t'_{rr}$ (min)	$n^2$	$t_{rr}$ (min)	$t'_{rr}$ (min)	$n$
71	20:3n9	1,792 ± 0,013	1,924 ± 0,016	2			
72	20:2n3	1,846 ± 0,004	1,986 ± 0,006	2	1,852	2,002	1
73	20:3n6	1,907 ± 0,006	2,058 ± 0,010	37	1,911 ± 0,006	2,073 ± 0,004	4
74	21:0	-	-	-	1,991 ± 0,007	2,168 ± 0,003	3
75	20:4n6	2,027 ± 0,007	2,198 ± 0,012	37	2,032 ± 0,005	2,216 ± 0,007	6
76	20:3n3	2,131 ± 0,007	2,321 ± 0,009	12	2,138 ± 0,008	2,341 ± 0,002	3
78	20:4n3	2,293 ± 0,008	2,511 ± 0,011	11	2,289	2,523	1
79	20:5n3	2,436 ± 0,010	2,679 ± 0,016	25	2,442 ± 0,006	2,698 ± 0,004	7
80	22:0	2,658	2,935	1	2,689 ± 0,014	2,989 ± 0,013	4
81	22:1n11	2,781 ± 0,010	3,074 ± 0,016	4	2,756 ± 0,050	3,068 ± 0,060	4
82	22:1n9	-	-	-	2,841 ± 0,018	3,169 ± 0,003	3
86	23:0	-	-	-	3,492 ± 0,038	3,936 ± 0,067	3
87	22:4n6	3,523 ± 0,028	3,948 ± 0,039	26	3,556 ± 0,031	4,013 ± 0,047	2
88	22:3n3	-	-	-	3,682 ± 0,037	4,161 ± 0,068	3
89	22:5n6	3,731 ± 0,030	4,186 ± 0,050	30	3,689	4,177	1
91	22:5n3	4,053 ± 0,030	4,570 ± 0,043	24	4,078	4,636	1
92	22:6n3	4,314 ± 0,091	4,842 ± 0,073	36	4,329 ± 0,036	4,921 ± 0,061	7
93	24:0	-	-	-	4,367 ± 0,029	4,955 ± 0,052	3
94	24:1n9	4,596	5,194	1	4,550 ± 0,028	5,182 ± 0,058	4

<sup>1</sup> temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  210°C.

<sup>2</sup>  $n$  = frequência de detecção do EMAG em 37 e 7 cromatogramas analisados de amostras e padrões, respectivamente.

Abreviaturas: i - iso; ai - anteiso; DMA - dimetilacetal; X - não identificado

No trabalho atual, o ácido linoléico (18:2n6) foi escolhido como referência pelas seguintes razões: (a) facilidade de aquisição comercial do padrão, com pureza superior a 99%; (b) ser encontrado na maioria das amostras naturais de origem vegetal ou animal; (c) apresentar quantidades moderadas, com picos dentro da escala do papel do registrador e permitindo determinar seu tempo de retenção com maior precisão); (d) apresentar picos adjacentes, em quantidades insignificantes (nd-0,2%) que não prejudicaram a resolução e definição do  $t_r$  do 18:2n6.

Os resultados na Tabela 11 mostram os tempos de retenção relativos ( $t_{rr}$ ) e os tempos de retenção relativos corrigidos ( $t'_{rr}$ ) de EMAG de amostras de peixes e padrões, separados pela coluna de Carbowax 20M, na temperatura de 200°C/42min., programada a 2°C/min. até 210°C.

Pode ser visto pela comparação das médias de  $t_{rr}$  e  $t'_{rr}$  que existiu uma boa concordância entre as medidas das retenções relativas dos ácidos graxos de amostras e padrões, embora algumas exceções tenham ocorrido, principalmente com os ácidos graxos eluindo na temperatura de 210°C.

As medidas dos tempos de retenção relativos ( $t_{rr}$  e  $t'_{rr}$ ) foram consideravelmente mais reprodutivas do que as medidas dos tempos de retenção (5.3.1), como se pode constatar pelos dados relacionados a seguir, que são um resumo dos resultados da Tabela 11.

amostra	temperatura (°C)	parâmetro	variação do desvio padrão	coeficiente de variação máximo (%)
padrões	200	$t_{rr}$	0,001 - 0,050	1,81
peixes	200	$t_{rr}$	0,000 - 0,013	1,20
padrões	200	$t'_{rr}$	0,000 - 0,060	1,96
peixes	200	$t'_{rr}$	0,000 - 0,016	3,70
padrões	210	$t_{rr}$	0,028 - 0,038	1,09
peixes	210	$t_{rr}$	0,028 - 0,091	2,10
padrões	210	$t'_{rr}$	0,047 - 0,068	1,70
peixes	210	$t'_{rr}$	0,039 - 0,073	1,51

Os valores máximos dos desvios padrões e coeficientes de variações foram de 0,091 unidades e 3,70%, respectivamente. Os desvios padrões na temperatura de 210°C foram consistentemente maiores do que aqueles na temperatura de 200°C. A reprodutibilidade dos tempos de retenção relativos obtidos neste trabalho foi inferior àquela conseguida por Alexander *et al.* (1985), que encontraram desvio padrão e coeficiente de variação máximo de 0,004 unidades e 0,23%, respectivamente.

Em contraste com os resultados duvidosos dos tempos de retenção, os dados de  $t_{rr}$  e  $t'_{rr}$  revelam que nenhuma inversão ocorreu entre os valores crescentes de qualquer par de ácido graxo. Contudo, por causa da dispersão das medidas e proximidade dos picos, precauções devem ser tomadas durante as identificações tentativas dos seguintes pares de ácidos graxos: 11:0/11:1, 16:2n7/16:2n6, 16:2n6/ai-17:0 e 20:2n6/20:3n9.

A soma dos desvios padrões dos tempos de retenção relativos das amostras ( $\sum dp = 0,356$ ) e padrões ( $\sum dp = 0,360$ ) e dos tempos de retenção relativos corrigidos das amostras ( $\sum dp = 0,462$ ) e padrões ( $\sum dp = 0,480$ ) mostram que a reprodutibilidade das medidas de  $t_{rr}$  foi inesperadamente superior às medidas de  $t'_{rr}$  (Tabela 12), indicando assim um comportamento diferente em relação às medidas dos tempos de retenção. Isso indica que, sendo valores relativos, com os efeitos das pequenas mudanças cromatográficas já corrigidas, o cálculo do tempo morto tornou-se mais crítico.

A melhor performance das retenções relativas em relação aos tempos de retenção confirma as observações de que, em geral, o tempo de retenção relativo depende da temperatura da coluna e independente de flutuações, no dia a dia, da temperatura e pressão do gás de arraste na coluna, do volume da amostra injetada e de perda de eficiência da coluna (McNair & Bonelli, 1969; Kates, 1972).

Em síntese, os dados dos tempos de retenções relativos foram muito mais úteis na identificação provisória de ácidos graxos em amostras complexas de peixes. Os tempos de retenção relativos, junto com o uso de colunas de diferentes polaridades (Jaeger *et al.*, 1981), método gráfico, hidrogenação e CCD (Slover &



Lanza, 1979) e espectrometria de massa (Alexander *et al.*, 1985) foram usados para a identificação conclusiva de ácidos graxos.

### 5.3.3. Comprimento equivalente da cadeia

Os valores de comprimento equivalente da cadeia calculados em relação aos tempos de retenção não corrigidos (ECL) e corrigidos (ECL'), para os EMAG de amostras de peixes e padrões, separados pela coluna de Carbowax 20M, na temperatura de 200°C/42min, programada a 2°C, até 210°C, estão apresentados nas Tabelas 12 e 13.

A série homóloga composta pelos ácidos graxos 14:0 (mirístico), 16:0 (palmítico), 18:0 (esteárico) e 20:0 (araquídico) foi usada para calcular o comprimento equivalente da cadeia dos demais ácidos graxos das amostras de peixes e padrões. Os valores de ECL e ECL' de membros da série homóloga são, por definição, números inteiros e iguais ao número de átomos de carbono na cadeia carbônica dos ácidos, ou seja, 14,00, 16,00, 18,00 e 20,00, respectivamente (Miwa *et al.*, 1960; Woodford & van Gent, 1960).

As linearidades das relações  $\log t_r$  e  $\log t'_r$  versus número de carbonos das séries homólogas (princípio básico para o cálculo de ECL), usadas para as determinações de ECL e ECL', foram confirmadas pelos coeficientes de correlações de 0,988 e 0,999998, respectivamente.

O exame dos dados da Tabela 12 revela que, a exemplo dos tempos de retenção relativos, também houve uma boa concordância dos valores médios de ECL e ECL' entre os ácidos graxos das amostras de peixes e padrões. Para a maioria dos componentes, a diferença típica foi de 0,02 unidades de ECL e ECL', embora variações de até 0,15 unidades de ECL e ECL' foram verificadas para os ácidos graxos 10:0 e 11:0, respectivamente. Segundo Krupcik *et al.* (1972), para se obter precisão da ordem de  $\pm 0,02$  unidades de ECL, foi necessário cromatografar, em quantidades aproximadamente iguais, a mistura de padrões, seguido imediatamente

Tabela 12 - Dados sobre comprimento equivalente da cadeia calculados em relação ao tempo de retenção (ECL) e tempo de retenção corrigido (ECL') de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de peixes e de padrões, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

(continua)

Pico nº	Ácido graxo	amostras			padrões		
		ECL	ECL'	n	ECL	ECL'	n <sup>2</sup>
1	10:0	11,43	10,04	1	11,58	10,12	1
2	11:0	12,00 ± 0,01	11,22 ± 0,01	2	12,00	11,07	1
3	11:1	12,03 ± 0,01	11,28 ± 0,02	3			
4	12:0	12,54 ± 0,02	12,10 ± 0,04	16	12,52 ± 0,02	12,02 ± 0,02	3
6	X2	12,90	12,64	1			
7	13:0	13,20 ± 0,02	13,03 ± 0,03	4			
8	i-14:0	13,60 ± 0,00	13,54 ± 0,01	6			
9	14:0DMA	13,72	13,68	1			
10	14:0	14,00	14,00	37	14,00	14,00	7
11	14:1n9	14,18	14,20	1			
12	14:1n7	14,24 ± 0,01	14,26 ± 0,02	4			
13	14:1n5	14,35 ± 0,02	14,39 ± 0,02	18	14,36 ± 0,01	14,39 ± 0,01	3
14	i-15:0	14,47 ± 0,01	14,51 ± 0,01	9	14,47	14,52	1
15	ai-15:0	14,61 ± 0,01	14,66 ± 0,01	11			
16	X3	14,68 ± 0,01	14,74 ± 0,01	2			
17	15:0	14,93 ± 0,01	14,98 ± 0,01	32	14,94	15,00	1
18	15:1n9	15,18 ± 0,01	15,23 ± 0,01	18			
19	15:1n7	15,26 ± 0,01	15,32 ± 0,01	2			
20	i-16:0	15,48 ± 0,03	15,51 ± 0,02	12	15,47	15,52	1
21	16:0DMA	15,63 ± 0,01	15,66 ± 0,01	25	15,62	15,66	1
22	15:2n5	15,72	15,75	1	15,75	15,78	1
23	16:0	16,00	16,00	37	16,00	16,00	7
24	16:1n9	16,20 ± 0,00	16,21 ± 0,00	9			
25	16:1n7	16,25 ± 0,01	16,26 ± 0,01	37	16,26 ± 0,01	16,27 ± 0,01	7
26	16:1n5	16,35 ± 0,01	16,37 ± 0,01	3			
27	i-17:0	16,47 ± 0,01	16,50 ± 0,01	21	16,49	16,52	1
28	16:2n7	16,57 ± 0,02	16,60 ± 0,02	3			
29	16:2n6	16,61 ± 0,01	16,64 ± 0,01	9			
30	ai-17:0	16,61 ± 0,02	16,65 ± 0,01	17	16,63	16,66	1
31	16:2n5	16,70 ± 0,01	16,74 ± 0,01	2			
32	16:2n4	16,78 ± 0,01	16,82 ± 0,01	10	16,82	16,85	1
33	16:3n6	16,87 ± 0,02	16,90 ± 0,03	4	16,86 ± 0,01	16,90 ± 0,01	3

Tabela 12 - Dados sobre comprimento equivalente da cadeia calculados em relação ao tempo de retenção (ECL) e tempo de retenção corrigido (ECL') de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de peixes e de padrões, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

(continua)

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	amostras			padrões		
		ECL	ECL'	n	ECL	ECL'	n <sup>2</sup>
34	17:0	16,95 ± 0,01	16,98 ± 0,01	35	16,96 ± 0,01	17,00 ± 0,01	4
35	17:1n11	17,10 ± 0,00	17,14 ± 0,00	8	17,12	17,15	1
36	17:1n9	17,19 ± 0,01	17,23 ± 0,01	33	17,19	17,23	1
38	16:3n3	17,46 ± 0,01	17,49 ± 0,01	10			
39	i-18:0	17,50 ± 0,01	17,52 ± 0,01	10			
40	18:0DMA	17,63 ± 0,01	17,65 ± 0,01	22	17,63	17,65	1
41	16:4n3	17,66	17,68	1	17,67	17,68	1
42	17:2n5	17,70	17,72	1			
43	18:1DMA	17,82 ± 0,01	17,83 ± 0,01	21	17,83	17,83	1
44	X4	17,90 ± 0,01	17,91 ± 0,00	4			
45	18:0	18,00	18,00	37	18,00	18,00	7
46	18:1n11	18,12 ± 0,01	18,13 ± 0,00	2			
47	18:1n9	18,20 ± 0,01	18,21 ± 0,01	37	18,20 ± 0,00	18,21 ± 0,01	7
48	18:1n7	18,25 ± 0,00	18,26 ± 0,00	11	18,25	18,27	1
49	18:1n5	18,38 ± 0,01	18,40 ± 0,02	7	18,37	18,39	1
50	18:1n4	18,49 ± 0,00	18,51 ± 0,01	11			
51	18:1n3	18,54 ± 0,01	18,56 ± 0,01	3			
52	18:2n6	18,62 ± 0,01	18,64 ± 0,01	37	18,62 ± 0,00	18,64 ± 0,01	7
53	18:2n4	18,82 ± 0,01	18,84 ± 0,01	9	18,82	18,86	1
54	18:3n6	18,90 ± 0,01	18,92 ± 0,01	27	18,90 ± 0,00	18,93 ± 0,00	4
55	19:0	18,98 ± 0,00	19,00 ± 0,01	6	18,98 ± 0,00	19,00 ± 0,01	4
56	19:1n11	19,09 ± 0,00	19,11 ± 0,00	10			
57	19:1n9	19,14	19,16	1			
58	18:3n3	19,23 ± 0,01	19,25 ± 0,01	35	19,23 ± 0,01	19,26 ± 0,00	6
59	18:4n3	19,51 ± 0,01	19,52 ± 0,02	19	19,52 ± 0,01	19,54 ± 0,01	6
60	19:2n6	19,64	19,65	1			
61	19:2n5	19,75	19,76	1			
63	20:0	20,00	20,00	25	20,00	20,00	4
65	20:1n9	20,19 ± 0,01	20,19 ± 0,01	37	20,19 ± 0,00	20,19 ± 0,01	7
66	20:1n8	20,28 ± 0,00	20,28 ± 0,01	2			
67	20:1n7	20,34 ± 0,01	20,33 ± 0,01	7			
69	20:2n9	20,48 ± 0,01	20,46 ± 0,02	22			

Tabela 12 - Dados sobre comprimento equivalente da cadeia calculados em relação ao tempo de retenção (ECL) e tempo de retenção corrigido (ECL') de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras de peixes e de padrões, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

(conclusão)

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	amostras			padrões		
		ECL	ECL'	n	ECL	ECL'	n <sup>2</sup>
70	20:2n6	20,66 ± 0,02	20,62 ± 0,02	2	20,65 ± 0,01	20,62 ± 0,00	4
71	20:3n9	20,68 ± 0,04	20,65 ± 0,04	2			
72	20:2n3	20,80 ± 0,00	20,76 ± 0,01	2	20,80	20,76	1
73	20:3n6	20,92 ± 0,01	20,88 ± 0,02	37	20,91 ± 0,00	20,86 ± 0,00	4
74	21:0				21,06 ± 0,01	21,00 ± 0,01	3
75	20:4n6	21,14 ± 0,01	21,09 ± 0,02	37	21,13 ± 0,01	21,08 ± 0,02	6
76	20:3n3	21,31 ± 0,01	21,24 ± 0,01	12	21,31 ± 0,01	21,23 ± 0,01	3
78	20:4n3	21,58 ± 0,01	21,49 ± 0,01	11	21,58	21,52	1
79	20:5n3	21,80 ± 0,01	21,70 ± 0,02	25	21,78 ± 0,01	21,69 ± 0,02	7
80	22:0	22,15	22,01	1	22,12 ± 0,01	21,98 ± 0,01	4
81	22:1n11	22,26 ± 0,01	22,12 ± 0,01	4	22,22 ± 0,07	22,10 ± 0,08	4
82	22:1n9				22,32 ± 0,01	22,15 ± 0,06	3
86	23:0				23,05 ± 0,07	22,82 ± 0,06	3
87	22:4n6	23,10 ± 0,06	22,89 ± 0,05	26	23,13 ± 0,06	22,94 ± 0,08	2
88	22:3n3				23,24 ± 0,07	22,99 ± 0,06	3
89	22:5n6	23,31 ± 0,05	23,08 ± 0,05	30	23,28	23,09	1
91	22:5n3	23,60 ± 0,05	23,34 ± 0,05	24	23,65	23,41	1
92	22:6n3	23,81 ± 0,05	23,54 ± 0,06	36	23,83 ± 0,06	23,53 ± 0,05	7
93	24:0				23,85 ± 0,05	23,52 ± 0,04	3
94	24:1n9	24,02	23,71	1	23,99 ± 0,05	23,66 ± 0,04	4

<sup>1</sup> temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  210°C.

<sup>2</sup> n = frequência de detecção do EMAG em 37 e 7 cromatogramas analisados de amostras e padrões, respectivamente.

Abreviaturas: i - iso; ai - anteiso; DMA - dimetilacetal; X - não identificado

da análise dos ácidos graxos de misturas naturais.

Abaixo está apresentado um resumo das informações da Tabela 12, sobre a reprodutibilidade das medidas de ECL e ECL' dos EMAG de amostras de peixes e de padrões.

amostra	temperatura (°C)	parâmetro	variação do desvio padrão	coeficiente de variação máximo (%)
padrões	200	ECL	0,00 - 0,07	0,32
peixes	200	ECL	0,00 - 0,04	0,19
padrões	200	ECL'	0,00 - 0,08	0,36
peixes	200	ECL'	0,00 - 0,04	0,33
padrões	210	ECL	0,01 - 0,07	0,30
peixes	210	ECL	0,05 - 0,06	0,26
padrões	210	ECL'	0,04 - 0,08	0,35
peixes	210	ECL'	0,05 - 0,06	0,25

Os valores máximos dos desvios padrões e coeficientes de variação foram de 0,08 unidades de ECL e 0,36%, respectivamente. Os desvios padrões na temperatura de 210°C foram consistentemente maiores do que aqueles na temperatura de 200°C.

A soma dos desvios padrões dos ECLs das amostras ( $\sum dp = 0,94$ ) e padrões ( $\sum dp = 0,57$ ) e dos ECL's das amostras ( $\sum dp = 0,94$ ) e padrões ( $\sum dp = 0,65$ ) mostram que não houve diferença entre a reprodutibilidade das medidas de ECL e ECL' nas amostras de peixes e que a reprodutibilidade foi melhor para os ECL' dos padrões.

Os coeficientes de variação mais baixos para os parâmetros de comprimento equivalente de cadeia, em relação àqueles dos parâmetros de tempo de retenção relativo, atestam para o melhor desempenho dos ECLs na identificação tentativa dos ácidos graxos nas amostras de peixes. Os pares de ácidos graxos 11:0/11:1, 16:2n7/16:2n6, 16:2n6/ai-17:0 e 20:2n6/20:3n9 puderam ser identificados com mais segurança pelos valores de ECL e ECL'.

Para conseguir ECLs mais reprodutivos, recomenda-se usar o tempo de retenção corrigido no lugar do tempo de retenção (Krupcik *et al.*, 1972, 1976; Ashes *et al.*, 1978; Dorris *et al.*, 1982; Bannon *et al.*, 1988). Todavia, os resultados descritos na Tabela 12, mostram que basicamente não houve diferenças entre os valores de ECLs corrigidos ou não. Bannon *et al.* (1988) consideraram a determinação do tempo morto da coluna e desvios de linearidade da relação  $\log t'_r$  versus número de carbono, como os dois fatores principais de erros no cálculo de ECL'. Variações extraordinariamente baixas nos valores de ECLs ( $CV_{max}=0,07\%$ ) foram conseguidos por Ashes *et al.* (1978), quando o  $t_M$  foi acuradamente estimado através da série homóloga de ésteres metílicos de ácidos graxos  $C_{12}$ - $C_{22}$ , sem desvios aparentes da linearidade.

Além de apresentar uma melhor performance do que os parâmetros anteriores, na identificação dos ácidos graxos de amostras de peixes, o valor do comprimento equivalente da cadeia mostrou-se mais conveniente, por indicar imediatamente a posição de um dado ácido graxo em relação aos ácidos graxos saturados da série homóloga, usados ou não nos cálculos de ECLs. Por exemplo, o ácido i-15:0 (ECL=14,47) foi encontrado entre os ácidos 14:0 (ECL=14,00) e 15:0 (ECL=14,98), enquanto o ácido 20:4n6 (ECL=21,09) eluiu imediatamente após o ácido 21:0 (ECL=21,00).

Na Tabela 13 estão apresentados os valores do comprimento equivalente de cadeia obtidos experimentalmente neste trabalho, com a coluna de Carbowax 20M e aqueles descritos pela literatura para as colunas de Carbowax 20M (I - Christie, 1988; III - Flanzly *et al.*, 1976; IV - Kramer *et al.*, 1985) e Supelcowax-10 (II - Ackman, 1987b) (polaridade equivalente à Carbowax 20M). Os dados experimentais são médias e valores mínimos e máximos dos ECL's (baseados nos tempos de retenção corrigidos) dos EMAG observados nos cromatogramas de amostras de peixes (pacu, curimatá, tilápia, tambaqui e sardinha) e padrões (mistura de padrões individuais, PUFA-2 e "cod liver oil"). Nos dados de literatura, apenas duas fontes (I e II) especificaram a utilização de tempo de retenção corrigido nos cálculos dos ECLs.

Tabela 13 - Valores de comprimento equivalente da cadeia (ECL') de ésteres metílicos de ácidos graxos obtidos experimentalmente e de literatura, em coluna capilar de polietileno glicol.

(continua)

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	ECL' experimental <sup>1</sup>			ECL' literatura <sup>2</sup>			
		média	faixa	n <sup>3</sup>	I	II	III	IV
1	10:0	10,09	10,04-10,12	3	-	-	-	-
2	11:0	11,16	11,07-11,22	4	-	-	-	-
3	11:1	11,28	11,26-11,31	3	-	-	-	-
4	12:0	12,02	11,99-12,04	34	-	-	-	-
5	X1	12,10	12,05-12,17	4	-	-	-	-
6	X2	12,61	12,58-12,64	2	-	-	-	-
7	13:0	13,03	13,01-13,07	12	-	-	-	-
8	i-14:0	13,54	13,53-13,55	12	-	-	13,53	-
9	14:0DMA	13,68	-	1	-	-	-	-
10	14:0	14,00 <sup>4</sup>	-	-	14,00	14,00	-	-
11	14:1n9	14,20	14,20-14,21	2	-	14,20	14,22	-
12	14:1n7	14,27	14,24-14,28	9	-	14,31	14,28	-
13	14:1n5	14,38	14,37-14,40	53	14,37	14,40	14,40	-
14	i-15:0	14,51	14,50-14,53	28	14,52	14,51	14,53	-
15	ai-15:0	14,67	14,65-14,68	24	14,68	14,67	14,67	-
16	X3	14,74	14,73-14,75	6	-	14,75	-	-
17	15:0	14,98	14,96-15,03	83	15,00	15,00	-	-
18	15:1n9	15,23	15,21-15,25	52	-	15,25	-	-
19	15:1n7	15,31	15,31-15,32	6	-	-	-	-
20	i-16:0	15,50	15,48-15,52	30	-	15,49	15,53	-
21	16:0DMA	15,66	15,64-15,68	77	-	-	-	-
22	15:2n5	15,76	15,75-15,78	6	-	-	-	-
23	16:0	16,00 <sup>4</sup>	-	-	16,00	16,00	-	-
24	16:1n9	16,21	16,17-16,23	39	16,18	16,12	16,21	16,17
25	16:1n7	16,27	16,25-16,28	119	16,25	16,26	16,27	16,22
26	16:1n5	16,38	16,36-16,43	14	16,37	16,40	-	-
27	i-17:0	16,50	16,48-16,52	56	16,51	16,50	16,53	-
28	16:2n7	16,60	16,58-16,61	14	-	16,62	-	-
29	16:2n6	16,64	16,62-16,65	17	-	-	-	-
30	ai-17:0	16,66	16,64-16,68	34	16,68	16,70	16,67	-
31	16:2n5	16,74	16,73-16,75	4	-	16,77	-	-
32	16:2n4	16,83	16,81-16,84	25	16,78	16,88	16,85	-
33	16:3n6	16,90	16,87-16,94	19	-	-	-	-
34	17:0	16,98	16,96-17,03	96	17,00	17,00	-	-
35	17:1n11	17,14	17,09-17,16	24	-	-	-	-
36	17:1n9	17,22	17,19-17,25	80	17,19	17,25	17,23	-
37	17:1n7	17,31	17,30-17,31	3	-	-	17,26	-
38	16:3n3	17,49	17,47-17,50	18	17,09	17,31	-	-

Tabela 13 - Valores de comprimento equivalente da cadeia (ECL') de ésteres metílicos de ácidos graxos obtidos experimentalmente e de literatura, em coluna capilar de polietileno glicol.

(continua)

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	ECL' experimental <sup>1</sup>			ECL' literatura <sup>2</sup>			
		média	faixa	n <sup>3</sup>	I	II	III	IV
39	i-18:0	17,52	17,51-17,53	23	-	17,50	17,53	-
40	18:0DMA	17,66	17,63-17,68	66	-	-	-	-
41	16:4n3	17,68	17,67-17,69	10	17,62	17,60	-	-
42	17:2n5	17,72	17,72-17,73	6	-	17,76	17,74	-
43	18:1DMA	17,83	17,81-17,85	57	-	-	-	-
44	X4	17,92	17,91-17,95	9	-	-	-	-
45	18:0	18,00 <sup>4</sup>	-	-	18,00	-	-	-
46	18:1n11	18,12	18,09-18,13	9	18,14	18,15	-	-
47	18:1n9	18,21	18,19-18,25	120	18,16	18,17	18,20	18,18
48	18:1n7	18,26	18,26-18,30	36	18,23	18,29	18,26	18,21
49	18:1n5	18,39	18,38-18,42	24	-	18,41	18,40	-
50	18:1n4	18,51	18,50-18,52	34	-	-	18,50	-
51	18:1n3	18,56	18,56-18,57	11	-	-	18,55	-
52	18:2n6	18,64	18,62-18,66	119	18,58	18,67	18,63	18,60
53	18:2n4	18,84	18,83-18,86	23	18,79	18,87	18,87	-
54	18:3n6	18,92	18,90-18,94	76	18,85	18,97	18,91	18,85
55	19:0	19,00	18,98-18,91	19	-	19,00	-	-
56	19:1n11	19,12	19,11-19,13	25	-	-	19,11	-
57	19:1n9	19,16	19,16	3	19,18	-	-	-
58	18:3n3	19,25	19,23-19,28	105	19,18	19,29	19,25	19,17
59	18:4n3	19,53	19,49-19,56	53	19,45	19,60	19,53	-
60	19:2n6	19,65	19,64-19,68	8	-	-	19,64	-
61	19:2n5	19,76	19,76-19,77	3	-	-	-	-
62	X5	19,86	-	1	-	-	-	-
63	20:0	20,00 <sup>4</sup>	-	-	-	20,00	-	-
64	20:1n11	20,14	20,14-20,15	3	20,08	20,12	20,12	20,12
65	20:1n9	20,20	20,17-20,25	115	20,14	20,17	20,17	20,20
66	20:1n8	20,28	20,26-20,30	4	20,22	20,26	20,25	-
67	20:1n7	20,33	20,32-20,35	12	-	-	20,42	-
68	20:1n5	20,38	-	1	-	-	-	-
69	20:2n9	20,46	20,42-20,53	55	20,38	-	-	-
70	20:2n6	20,63	20,62-20,65	19	20,56	20,64	20,61	20,60
71	20:3n9	20,67	20,66-20,69	10	20,66	-	20,65	20,60
72	20:2n3	20,77	20,76-20,80	12	-	-	20,74 (n5)	-
73	20:3n6	20,88	20,84-20,96	111	20,78	20,91	20,86	20,80
74	21:0	21,00	20,99-21,01	5	-	-	-	-
75	20:4n6	21,09	21,03-21,17	117	20,96	21,12	21,06	21,03
76	20:3n3	21,24	21,22-21,29	27	20,95	21,31	21,22	21,18



Tabela 13 - Valores de comprimento equivalente da cadeia (ECL') de ésteres metílicos de ácidos graxos obtidos experimentalmente e de literatura, em coluna capilar de polietileno glicol.

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	ECL' experimental <sup>1</sup>			ECL' literatura <sup>2</sup>			
		média	faixa	n <sup>3</sup>	I	II	III	IV
77	20:5n6	21,35	-	1	-	-	-	-
78	20:4n3	21,49	21,47-21,53	32	21,37	21,56	21,47	-
79	20:5n3	21,70	21,66-21,75	74	21,55	21,78	21,67	21,62
80	22:0	22,00 <sup>4</sup>	21,98-22,01	8	-	22,00	-	-
81	22:1n11	22,12	21,98-22,19	18	22,04	22,11	22,08	22,09
82	22:1n9	22,16	21,99-22,18	8	22,11	22,19	22,14	22,12
83	21:4n6	22,62	22,60-22,63	7	-	-	-	-
84	21:5n6	22,68	-	1	-	22,81 (n3)	-	-
85	21:6n3	22,86	-	1	-	-	-	-
86	23:0	22,84	22,81-22,87	5	-	-	-	-
87	22:4n6	22,89	22,70-23,23	71	22,90	23,11	23,02	23,00
88	22:3n3	22,99	22,93-23,04	6	-	23,32	-	-
89	22:5n6	23,07	22,90-23,18	86	23,15	23,37	23,28	23,24
90	22:4n3	23,17	23,13-23,21	3	-	23,52	-	-
91	22:5n3	23,34	23,17-23,49	68	23,50	23,75	23,63	23,58
92	22:6n3	23,53	23,30-23,67	102	23,74	24,02	23,90	23,83
93	24:0	23,54	23,48-23,58	6	-	24,00	-	-
94	24:1n9	23,67	23,61-23,74	14	-	24,17	24,14	24,08

<sup>1</sup> Coluna capilar de sílica fundida de Carbowax 20M (50m de comprimento × 0,22mm de diâmetro interno, di), operada a 200°C/35,5-55min, programada a 2°C/min até 210°C; gás de arraste: H<sub>2</sub> a 0,8ml/min.

<sup>2</sup> I Christie (1988): coluna Carbowax 20M (25m de comprimento × 0,22mm de di), operada isotermicamente a 175°C; gás de arraste: H<sub>2</sub> a 1ml/min.

II Ackman (1987b): coluna de sílica fundida Supelcowax-10 (30m de comprimento × 0,25mm de di), operada isotermicamente a 180°C; gás de arraste H<sub>2</sub> a 10psig.

III Flanzly *et al.* (1976): coluna de aço inoxidável de Carbowax 20M(AT) (100m de comprimento × 0,50mm de di), operada isotermicamente a 190°C; gás de arraste H<sub>2</sub> a 2ml/min.

IV Kramer *et al.* (1985): coluna de sílica fundida de Carbowax 20M (30m de comprimento × 0,25mm de di), operada isotermicamente a 195°C.

<sup>3</sup> n = frequência de detecção EMAG nos padrões e amostras de peixes, num total de 119 cromatogramas analisados.

<sup>4</sup> valores teóricos.

Abreviaturas: X - não identificado; DMA - dimetilacetato; i - iso; ai - anteiso.

Esta tabela além de auxiliar na identificação dos ácidos graxos presentes nos peixes investigados, também serviu de guia para numeração e localização dos picos nos cromatogramas (Figuras 7-34), nas Tabelas (2-8, 10-12, 24-35) e no Anexo 2.

Segundo Krupcik *et al.* (1976), a reprodutibilidade dos dados de ECL entre laboratórios são influenciados pela definição e estabilidade da fase estacionária, precisão e exatidão da temperatura de coluna, superposição de picos, não idealidade da fase gasosa e determinação do tempo morto.

#### 5.3.4. Fatores de separação

##### Baseados em Kates (1972)

Nas tabelas 14 a 18, estão apresentados os diversos fatores de separação dos EMAG de amostras de peixes e padrões, separados pela coluna capilar de Carbowax 20M, na temperatura de 200°C/42min, programada a 2°C/min, até 210°C. As tabelas foram preparadas a partir de uma amostragem de 11 cromatogramas de amostras, contendo o maior número possível de ácidos graxos e complementada por alguns dados retirados da Tabela 10.

Os fatores de separação ( $F^2$ ) de pares de ácidos graxos saturados lineares, ramificados e insaturados, cujos comprimentos das cadeias carbônicas diferem entre si através de dois grupos metilenos ( $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ) estão apresentados na Tabela 14. Nota-se que os valores de  $F^2$  dos padrões e amostras foram praticamente iguais em ambos os  $t_r$  e  $t'_r$ . A diferença fundamental foi que os valores de  $F^2$  baseados nos  $t'_r$ , diferentemente daqueles baseados nos  $t_r$ , mantiveram-se razoavelmente constantes, com um valor médio de 1,90, na temperatura de 200°C. Com o aumento da temperatura da coluna para 210°C, os valores de  $F^2$  diminuíram, confirmando os resultados relatados por Kates (1972) e Krupcik *et al.* (1972).

O princípio básico dos fatores de separação é que, para qualquer série

homóloga de compostos, sob condições de temperatura e fluxo de gás constantes, existe uma relação constante entre dois pares de ácidos estruturalmente relacionados (Kates, 1972; Ackman, 1963a). Portanto, os resultados da Tabela 14 confirmam que realmente houve uma relação linear mais perfeita para as séries homólogas relacionadas pelos  $t'_r$  do que pelos  $t_r$ .

Evidências suportando as identificações dos ácidos graxos iso e anteiso ramificados podem ser vistas pelos dados da Tabela 15, principalmente com os valores baseados nos tempos de retenção corrigidos, que se mantiveram constantes e iguais a 0,86 para a série iso e 0,90 para a série anteiso. Os fatores baseados nos  $t_r$  diminuíram com o aumento do número de átomos de carbono do ácido graxo, mas apesar disso, ainda houve uma estreita concordância entre os  $F$  de padrões e amostras.

Na Tabela 16 estão expressos os fatores de separação monoenos (razão entre os tempos de retenção de ácidos graxos monoinsaturados e seus equivalentes saturados) de EMAG em amostras de peixes e padrões, calculados em relação aos tempos de retenção corrigidos ou não. Pode ser visto que existiu uma boa concordância dos  $F_{monoenos}$  entre os padrões e amostras, em ambos,  $t_r$  e  $t'_r$ .

De maneira geral, os fatores de separação aumentaram à medida que a posição da dupla ligação se afasta da extremidade carboxílica, ou seja, com a diminuição do número da série ou família.

Nota-se também que, com a diminuição das séries, progressivamente existiu uma certa tendência para aumentar as diferenças entre os fatores monoenos baseados nos tempos de retenção e tempos de retenção corrigidos. Por exemplo, na série n11, praticamente não existiram diferenças entre os fatores de  $t_r$  e  $t'_r$ ; por outro lado, as diferenças foram mais acentuadas com os membros da série n4.

Nas séries n7 e n5, os valores de  $F$  baseados nos  $t_r$  aumentaram ligeiramente com o aumento do comprimento da cadeia dos ácidos graxos, o mesmo não ocorrendo com os valores de  $F$  baseados nos  $t'_r$ , que se mantiveram praticamente

Tabela 14 - Fator de separação de dois grupos  $\text{CH}_2$  ( $F^2$ ) de séries homólogas de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

(continua)

Razão entre ácidos graxos	$F^2$ baseado no tempo de retenção						$F^2$ baseado no tempo de retenção corrigido					
	padrões			amostras			padrões			amostras		
	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa
Saturados												
14:0/12:0	5	1,36 ± 0,01	1,35-1,38	2	1,36 ± 0,07	1,35-1,36	5	1,92 ± 0,02	1,90-1,94	2	1,89 ± 0,01	1,88-1,90
15:0/13:0				2	1,44 ± 0,01	1,43-1,44				2	1,90 ± 0,01	1,90-1,91
16:0/14:0	9	1,52 ± 0,01	1,50-1,53	11	1,52 ± 0,01	1,51-1,54	9	1,93 ± 0,02	1,89-1,94	11	1,91 ± 0,01	1,89-1,92
17:0/15:0	2	1,59 ± 0,01	1,58-1,60	10	1,59 ± 0,01	1,58-1,60	2	1,90 ± 0,02	1,89-1,92	10	1,91 ± 0,01	1,89-1,92
18:0/16:0	9	1,66 ± 0,01	1,65-1,67	11	1,65 ± 0,01	1,64-1,66	9	1,93 ± 0,02	1,89-1,94	11	1,91 ± 0,01	1,89-1,92
19:0/17:0	5	1,71 ± 0,01	1,70-1,73	3	1,71 ± 0,01	1,71-1,72	5	1,93 ± 0,01	1,92-1,94	3	1,91 ± 0,01	1,90-1,92
20:0/18:0	6	1,76 ± 0,01	1,75-1,77	9	1,75 ± 0,01	1,74-1,76	6	1,92 ± 0,01	1,92-1,93	9	1,90 ± 0,00	1,90-1,91
21:0/19:0	5	1,80 ± 0,01	1,79-1,81				5	1,92 ± 0,00	1,92-1,93			
22:0/20:0	5	1,83 ± 0,01	1,82-1,84				5	1,92 ± 0,00	1,91-1,92			
23:0/21:0	5	1,75 ± 0,02	1,73-1,78				5	1,81 ± 0,03	1,78-1,84			
24:0/22:0	5	1,62 ± 0,02	1,60-1,64				5	1,66 ± 0,02	1,64-1,68			
Iso e Anteiço												
i-16:0/i-14:0				2	1,48 ± 0,01	1,47-1,48				2	1,90 ± 0,01	1,90-1,91
i-17:0/i-15:0	3	1,55 ± 0,01	1,55-1,56	6	1,56 ± 0,01	1,55-1,57	3	1,91 ± 0,02	1,88-1,93	6	1,91 ± 0,02	1,88-1,92
i-18:0/i-16:0				3	1,63 ± 0,00	1,63				3	1,93 ± 0,01	1,92-1,93
ai-17:0/ai-15:0				6	1,56 ± 0,02	1,54-1,58				6	1,90 ± 0,02	1,88-1,92
Monocenos												
18:1n9/16:1n9	1	1,69		2	1,69 ± 0,00		1	1,91		2	1,92 ± 0,00	
20:1n9/18:1n9	8	1,75 ± 0,00	1,75-1,76	11	1,74 ± 0,01	1,72-1,76	8	1,90 ± 0,01	1,88-1,91			
22:1n9/20:1n9	8	1,81 ± 0,02	1,72-1,83				8	1,90 ± 0,02	1,86-1,92			

Tabela 14 - Fator de separação de dois grupos  $\text{CH}_2$  ( $F^2$ ) de séries homólogas de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

Razão entre ácidos graxos	$F^2$ baseado no tempo de retenção						$F^2$ baseado no tempo de retenção corrigido						(conclusão)
	padrões			amostras			padrões			amostras			
	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	
24:1n9/22:1n9	7	1,60 ± 0,02	1,58-1,62				7	1,63 ± 0,02		2	1,91 ± 0,01		
17:1n9/15:1n9				2	1,60 ± 0,00					1	1,87		
19:1n9/17:1n9				1	1,69 ± 0,00					3	1,90 ± 0,02	1,88-1,92	
16:1n7/14:1n7				3	1,55 ± 0,01	1,54-1,55				5	1,91 ± 0,01	1,90-1,92	
18:1n7/16:1n7	1	1,68		5	1,67 ± 0,01	1,66-1,68				1	1,90		
20:1n7/18:1n7	1	1,76		1	1,77					1	1,90		
16:1n5/14:1n5				2	1,56 ± 0,00					2	1,88 ± 0,01	1,88-1,89	
18:1n5/16:1n5	1	1,69		2	1,69 ± 0,00					2	1,91 ± 0,00		
20:1n5/18:1n5				2	1,74 ± 0,01	1,74-1,75				2	1,87 ± 0,00		
Dienos													
18:2n6/16:2n6				1	1,70					1	1,91		
20:2n6/18:2n6	9	1,78 ± 0,01	1,77-1,79	10	1,78 ± 0,01	1,77-1,79				9	1,91 ± 0,01	1,89-1,92	
Poliénos													
20:3n6/18:3n6	6	1,76 ± 0,00	1,76-1,77	10	1,77 ± 0,01	1,76-1,80				6	1,88 ± 0,00	1,88-1,89	
20:3n3/18:3n3	6	1,80 ± 0,00	1,79-1,80	4	1,79 ± 0,00					6	1,91 ± 0,01	1,90-1,92	
20:4n3/18:4n3	3	1,78 ± 0,00		3	1,78 ± 0,00					3	1,87 ± 0,01	1,86-1,88	
22:4n6/20:4n6	3	1,75 ± 0,02	1,73-1,77	8	1,74 ± 0,01	1,73-1,76				3	1,81 ± 0,02	1,79-1,83	
22:5n6/20:5n6				1	1,69					1	1,73		
22:5n3/20:5n3	3	1,65 ± 0,02	1,64-1,67	9	1,66 ± 0,01	1,65-1,68				3	1,69 ± 0,03	1,67-1,72	

<sup>1</sup> Temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  210°C.

Abreviaturas: i - iso; ai - anteiso; dp - desvio padrão.

Tabela 15 - Fatores de separação ( $F$ ) iso e anteiso de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

Razão entre ácidos graxos	$F_{iso}$ e $F_{anteiso}$ baseado no tempo de retenção				$F_{iso}$ e $F_{anteiso}$ baseado no tempo de retenção corrigido					
	n	média ± dp	faixa	amostras	n	média ± dp	faixa	amostras		
i-14:0/14:0				n	média ± dp	faixa	padrões	n	média ± dp	faixa
i-15:0/15:0	2	0,91 ± 0,00		2	0,92 ± 0,00			2	0,86 ± 0,00	
i-16:0/16:0	3	0,90 ± 0,01	0,89-0,90	6	0,91 ± 0,00			2	0,86 ± 0,00	
i-17:0/17:0	2	0,89 ± 0,00		5	0,90 ± 0,00	0,89-0,90		3	0,85 ± 0,00	
i-18:0/18:0				9	0,89 ± 0,00			2	0,86 ± 0,00	
ai-15:0/15:0				3	0,88 ± 0,00			3	0,86 ± 0,00	
ai-17:0/17:0	2	0,92 ± 0,00		7	0,94 ± 0,00			7	0,90 ± 0,00	
				9	0,92 ± 0,00	0,91-0,92		2	0,90 ± 0,00	

<sup>1</sup> Temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  210°C.

Abreviaturas: i - iso; ai - anteiso; dp - desvio padrão.

constantes, exceto o par 20:1n5/20:0.

Os fatores de separação dienos (razão entre tempos de retenção de ácidos graxos diinsaturados e seus equivalentes saturados) estão mostrados na Tabela 17. Excelente concordância existiu entre os fatores dos ácidos graxos padrões e amostras, em ambos,  $t_r$  e  $t'_r$ .

A exemplo dos fatores anteriores, os  $F_{dienes}$  baseados tanto nos  $t_r$ , quanto nos  $t'_r$ , aumentaram com o deslocamento da dupla ligação em direção à extremidade metila, com uma exceção ocorrendo com o par 20:3n3/20:0. Igualmente nota-se que dentro de uma dada série, o  $F_{dieno}$  baseado no  $t_r$  aumentou com o aumento da cadeia carbônica, enquanto o  $F_{dieno}$  baseado no  $t'_r$  não foi influenciado por esta alteração.

Os fatores de separação para os ácidos graxos poliinsaturados, aqui coletivamente denominados de fatores polienos (razão entre os tempos de retenção de ácidos graxos contendo 3 ou mais duplas ligações e seus equivalentes saturados) estão relacionados na Tabela 18.

Nestes fatores, a exemplo dos anteriores, nota-se também uma excelente igualdade entre os  $F_{polienos}$  dos ácidos graxos das amostras e padrões, em ambos,  $t_r$  e  $t'_r$ .

Pode ser visto também pelos dados da Tabela 18, que os  $F_{polienos}$  baseados nos  $t'_r$  foram maiores do aqueles baseados nos  $t_r$ , isto acontecendo com os ácidos graxos, tanto de amostras quanto de padrões.

Os fatores de separação dos pares 22:3n3/22:0, 22:4n6/22:0, 22:5n6/22:0, 22:5n3/22:0 e 22:6n3/22:0 foram sempre inferiores aos fatores de separação dos outros membros de suas séries, resultados esses mostrando o efeito da mudança de temperatura com a programação. Convém lembrar que os ácidos graxos 22:3n3, 22:4n6, 22:5n6, 22:5n3 e 22:6n3 foram cromatografados a 210°C e o ácido 22:0, a 200°C.

Tabela 16 - Fator de separação ( $F$ ) monoeno de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

Razão entre ácidos graxos	$F_{monoeno}$ baseado no tempo de retenção						$F_{monoeno}$ baseado no tempo de retenção corrigido					
	padrões			amostras			padrões			amostras		
	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa
Série n11												
18:1n11/18:0	2	1,04 ± 0,00		2	1,04 ± 0,00		2	1,04 ± 0,00		2	1,04 ± 0,00	
19:1n11/19:0	2	1,03 ± 0,00		2	1,03 ± 0,00		2	1,04 ± 0,00		2	1,04 ± 0,00	
20:1n11/20:0	2	1,04 ± 0,00		2	1,04 ± 0,00		2	1,05 ± 0,00		2	1,05 ± 0,00	
22:1n11/22:0	1	1,04		1	1,04		1	1,04		1	1,04	
Série n9												
14:1n9/14:0	1	1,04		1	1,04		1	1,07		1	1,07	
15:1n9/15:0	8	1,05 ± 0,01	1,05-1,07	8	1,05 ± 0,01	1,05-1,07	8	1,08 ± 0,01	1,08-1,10	8	1,08 ± 0,01	1,08-1,10
16:1n9/16:0	1	1,05		2	1,05 ± 0,00		1	1,06		2	1,06 ± 0,00	
17:1n9/17:0	2	1,06 ± 0,00		11	1,06 ± 0,00	1,05-1,06	2	1,08 ± 0,00		11	1,08 ± 0,01	1,06-1,08
18:1n9/18:0	9	1,06 ± 0,00	1,06-1,07	11	1,06 ± 0,00	1,05-1,06	9	1,07 ± 0,00	1,07-1,08	11	1,07 ± 0,00	1,07-1,08
19:1n9/19:0	1	1,05		1	1,05		1	1,05		1	1,05	
20:1n9/20:0	6	1,06 ± 0,00	1,05-1,06	9	1,06 ± 0,00	1,05-1,06	6	1,06 ± 0,00		9	1,06 ± 0,00	
22:1n9/22:0	5	1,05 ± 0,00	1,05-1,06	1	1,05		5	1,06 ± 0,00		1	1,06	
24:1n9/24:0	5	1,04 ± 0,00					5	1,04 ± 0,00				
Série n7												
14:1n7/14:0	4	1,06 ± 0,01	1,05-1,06	4	1,06 ± 0,01	1,05-1,06	4	1,09 ± 0,00		4	1,09 ± 0,00	
16:1n7/16:0	8	1,07 ± 0,00	1,06-1,07	11	1,06 ± 0,00	1,06-1,07	9	1,10 ± 0,00	1,09-1,10	11	1,09 ± 0,00	
18:1n7/18:0	1	1,08		5	1,07 ± 0,00	1,07-1,08	1	1,10		5	1,09 ± 0,00	
20:1n7/20:0	1	1,08		1	1,08		1	1,08		1	1,08	



Tabela 16 - Fator de separação ( $F$ ) monoeno de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

		$F_{monoeno}$ baseado no tempo de retenção				$F_{monoeno}$ baseado no tempo de retenção corrigido				(conclusão)		
Razão entre		padrões		amostras		padrões		amostras				
ácidos graxos	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa
Série n5												
14:1n5/14:0	5	1,08 ± 0,00	1,07-1,08	5	1,08 ± 0,00	1,07-1,08	5	1,14 ± 0,00	1,13-1,14	5	1,13 ± 0,00	
16:1n5/16:0	1	1,09		3	1,09 ± 0,00		1	1,12		3	1,13 ± 0,01	1,12-1,13
18:1n5/18:0	3	1,12 ± 0,02	1,11-1,14	4	1,11 ± 0,00	1,11-1,12	3	1,13 ± 0,01	1,13-1,14	4	1,14 ± 0,01	1,13-1,14
20:1n5/20:0				3	1,10 ± 0,00					3	1,11 ± 0,00	
Série n4												
18:1n4/18:0				5	1,15 ± 0,00	1,14-1,15				5	1,18 ± 0,00	
Série n3												
18:1n3/18:0				3	1,16 ± 0,01	1,16-1,17				3	1,20 ± 0,00	

<sup>1</sup> Temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  210°C.

Abreviatura: dp - desvio padrão.

Tabela 17 - Fator de separação ( $F$ ) dieno de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

Razão entre ácidos graxos	$F_{dieno}$ baseado no tempo de retenção						$F_{dieno}$ baseado no tempo de retenção corrigido					
	padrões			amostras			padrões			amostras		
	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa
Série n9 20:2n9/20:0	6	1,14 ± 0,00	1,14-1,15				6	1,16 ± 0,00				
Série n7 16:2n7/16:0	1	1,13					1	1,20				
Série n6 16:2n6/16:0	1	1,17					1	1,24				
18:2n6/18:0	9	1,19 ± 0,00		9	1,23 ± 0,00		11	1,23 ± 0,00				
20:2n6/20:0	6	1,20 ± 0,00	1,20-1,22	6	1,23 ± 0,00	1,22-1,23	9	1,23 ± 0,01	1,22-1,24			
Série n5 16:2n5/16:0	1	1,18					1	1,26				
17:2n5/17:0	1	1,21					1	1,27				
Série n4 16:2n4/16:0	2	1,23 ± 0,00	1,23-1,24	2	1,24 ± 0,01	1,23-1,24	2	1,32 ± 0,00				
18:2n4/18:0	3	1,26 ± 0,00		2	1,26 ± 0,00		3	1,31 ± 0,00	1,31-1,32	2	1,32 ± 0,01	1,31-1,32
Série n3 20:2n3/20:0	1	1,25		2	1,25 ± 0,00		1	1,28		2	1,28 ± 0,00	

<sup>1</sup> Temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  210°C.

Abreviatura: dp - desvio padrão.

Tabela 18 - Fator de separação ( $F$ ) polieno de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

Razão entre ácidos graxos	$F_{polieno}$ baseado no tempo de retenção						$F_{polieno}$ baseado no tempo de retenção corrigido					
	padrões			amostras			padrões			amostras		
	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa
Trieno: série n9 20:3n9/20:0	9	1,21 ± 0,01	1,20-1,22	9	1,21 ± 0,01	1,20-1,22	9	1,23 ± 0,01	1,22-1,24	9	1,23 ± 0,01	1,22-1,24
Trieno: série n6 16:3n6/16:0	1	1,23		1	1,23		1	1,32		1	1,32	
18:3n6/18:0	7	1,29 ± 0,00		10	1,28 ± 0,01	1,26-1,29	7	1,35 ± 0,01	1,34-1,36	10	1,34 ± 0,01	1,32-1,35
20:3n6/20:0	6	1,29 ± 0,00	1,29-1,30	9	1,29 ± 0,00	1,29-1,30	6	1,33 ± 0,00	1,32-1,33	9	1,32 ± 0,00	1,32-1,33
Trieno: série n3 16:3n3/16:0	1	1,40		1	1,40		1	1,56		1	1,56	
18:3n3/18:0	8	1,42 ± 0,00	1,41-1,42	11	1,41 ± 0,01	1,40-1,41	8	1,50 ± 0,01	1,49-1,51	11	1,49 ± 0,00	1,49-1,50
20:3n3/20:0	5	1,44 ± 0,00	1,44-1,45	4	1,44 ± 0,00	1,44-1,45	5	1,50 ± 0,00		4	1,50 ± 0,01	1,49-1,50
22:3n3/22:0	5	1,37 ± 0,02	1,35-1,38	5	1,37 ± 0,02	1,35-1,38	5	1,39 ± 0,02	1,36-1,41	5	1,39 ± 0,02	1,36-1,41
Tetraeno: série n6 20:4n6/20:0	6	1,38 ± 0,00	1,37-1,38	9	1,38 ± 0,00	1,37-1,38	6	1,42 ± 0,00	1,42-1,43	9	1,41 ± 0,00	1,41-1,42
22:4n6/22:0	2	1,32 ± 0,02	1,30-1,33	2	1,32 ± 0,02	1,30-1,33	2	1,34 ± 0,02		2	1,34 ± 0,02	1,32-1,35
Tetraeno: série n3 16:4n3/16:0	1	1,47		1	1,47		1	1,66		1	1,66	
18:4n3/18:0	8	1,52 ± 0,01	1,51-1,53	8	1,52 ± 0,01	1,51-1,53	8	1,65 ± 0,00	1,64-1,66	8	1,63 ± 0,01	1,61-1,65
20:4n3/20:0	6	1,56 ± 0,00	1,55-1,56	6	1,56 ± 0,00	1,55-1,56	6	1,62 ± 0,00		6	1,62 ± 0,00	1,61-1,62
Pentaeno: série n6 20:5n6/20:0	1	1,49		1	1,49		1	1,54		1	1,54	
22:5n6/22:0	2	1,39 ± 0,03	1,37-1,43	2	1,39 ± 0,03	1,37-1,43	2	1,42 ± 0,02		2	1,42 ± 0,02	1,40-1,43

Tabela 18 - Fator de separação ( $F$ ) polieno de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1</sup>.

Razão entre ácidos graxos	$F_{polieno}$ baseado no tempo de retenção						$F_{polieno}$ baseado no tempo de retenção corrigido						(conclusão)
	padrões			amostras			padrões			amostras			
	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	n	média ± dp	faixa	
Pentaeno: série n3 20:5n3/20:0	5	1,65 ± 0,00	1,65-1,66	8	1,66 ± 0,00	1,65-1,66	5	1,73 ± 0,00	1,72-1,73	8	1,72 ± 0,00	1,72-1,73	
22:5n3/22:0				2	1,51 ± 0,03	1,49-1,51				2	1,54 ± 0,03	1,52-1,56	
Hexaeno: série n3 22:6n3/22:0	5	1,61 ± 0,02	1,58-1,64	2	1,60 ± 0,02	1,59-1,62	5	1,65 ± 0,02	1,62-1,68	2	1,64 ± 0,03	1,62-1,66	

1 Temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  210°C.

Abreviatura: dp - desvio padrão.

Generalização acerca do comportamento dos  $F_{políenos}$  em cada série não foi possível por causa da programação de temperatura da coluna e do número reduzido de membros dentro das séries. Todavia, considerando o comportamento dos ácidos graxos trienóicos (séries n6 e n3) e tetraenóicos (série n4), nota-se que os  $F_{políenos}$  baseados nos  $t_r$  tendem a crescer com o aumento do peso molecular dos ácidos graxos, enquanto os  $F_{políenos}$  baseados nos  $t'_r$  parecem ser constantes.

### Baseados em Ackman (1963a)

Os três tipos I, II e III dos fatores de separação sistemáticos de Ackman (1963a) estão mostrados nas Tabelas 19, 20 e 21, respectivamente.

É evidente pelos dados da Tabela 19, que os valores de  $F$  do tipo I das amostras e padrões foram praticamente iguais, tendo apenas o par 20:3n6/20:2n6 das amostras, apresentado um valor levemente maior do que o respectivo par de padrões.

Parece existir uma pequena tendência dos valores diminuírem com o aumento de retenção relativo, mas um valor relativamente constante (média de 1,08 para padrões e amostras) foi obtido para todos os pares de ésteres examinados, resultados estes em concordância com os relatados por Ackman (1963a), Ackman & Burgher (1963) e Haken (1966). Um aumento do número de ligações, do comprimento da cadeia ou alteração da família do ácido graxo, que junto com o leve efeito da temperatura, podem ser responsáveis pelas pequenas reduções dos fatores de separação (Ackman, 1963a,c).

Na Tabela 20 são apresentados os fatores de separação do tipo II. Nota-se que os valores de  $F$  dos pares de ácidos graxos em cada uma das séries 3/6, 3/9 e 6/9, mantiveram-se razoavelmente constantes, na temperatura de 200°C. Desvios deste valor constante ocorreram com os pares 22:5n3/22:4n6 e 22:6n3/22:5n6 do  $F$  3/6, mostrando o efeito da variação da temperatura da coluna para 210°C. Percebe-se também uma extraordinária concordância entre os valores de  $F$  de amos-

Tabela 19 - Fator de separação ( $F$ ) do tipo I de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1,2</sup>.

(continua)

Ácido graxo	Padrões		Amostras	
	$t'_{rr18:2n6}$	$F$	$t'_{rr18:2n6}$	$F$
16:2n7			0,52	1,13
16:1n7			0,46	
16:2n5			0,54	1,12
16:1n5			0,48	
16:3n6			0,57	1,10
16:2n6			0,52	
16:4n3			0,74	1,13
16:3n3			0,69	
18:3n6	1,10	1,10	1,09	1,09
18:2n6	1,00		1,00	
18:4n3	1,34	1,10	1,33	1,09
18:3n3	1,22		1,22	
(20:2n9)	(1,81)	(1,09) <sup>3</sup>	1,80	1,09
20:1n9	1,66		1,65	
20:3n6	2,07	1,08	2,09	1,11
20:2n6	1,91		1,89	
20:4n3	2,51	1,08	2,51	1,08
20:3n3	2,33		2,33	
20:4n6	2,22	1,07	2,20	1,05
20:3n6	2,07		2,09	

Tabela 19 - Fator de separação ( $F$ ) do tipo I de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1,2</sup>.

Ácido graxo	Padrões		(conclusão) Amostras	
	$t'_{rr18:2n6}$	$F$	$t'_{rr18:2n6}$	$F$
20:5n3	2,69	1,07	2,68	1,07
20:4n3	2,51		2,51	
22:5n6	4,20	1,06	4,19	1,06
22:4n6	3,97		3,96	
22:5n3	4,54	(1,06) <sup>3</sup>	4,54	1,06
(22:4n3)	(4,28)		4,30	
22:6n3	4,90	1,08	4,85	1,07
22:5n3	4,54		4,54	

<sup>1</sup> Tipo I: Fator de separação envolvendo pares de ácidos graxos de mesmo comprimento da cadeia, mesma família e número de duplas ligações consecutivas.

<sup>2</sup> Temperatura da coluna: 200°C/42min, programada a 2°C/min até 210°C.

<sup>3</sup> O Valor  $F$  de amostra foi usado para determinar o  $t'_{rr18:2n6}$  do padrão dentro do parêntese.

Abreviatura:  $t'_{rr18:2n6}$  - tempo de retenção corrigido relativo ao 18:2n6.

Tabela 20 - Fator de separação ( $F$ ) do tipo II de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1,2</sup>.

(continua)				
Ácido graxo	Padrões		Amostras	
	$t'_{TT18:2n6}$	$F$	$t'_{TT18:2n6}$	$F$
		3/6		3/6
18:3n3	1,22	1,22	1,22	1,22
18:2n6	1,00		1,00	
18:4n3	1,34	1,22	1,33	1,22
18:3n6	1,10		1,09	
20:3n3	2,33	1,22	2,32	1,23
20:2n6	1,91		1,89	
20:4n3	2,51	1,21	2,51	1,20
20:3n6	2,07		2,09	
20:5n3	2,69	1,21	2,68	1,22
20:4n6	2,22		2,20	
22:5n3	4,54	1,14	4,54	1,15
22:4n6	3,97		3,96	
22:6n3	4,90	1,17	4,85	1,16
22:5n6	4,20		4,18	
		3/9		3/9
18:3n3	1,22	1,40	1,22	1,40
18:1n9	0,87		0,87	
20:3n3	2,33	1,40	2,32	1,41
20:1n9	1,66		1,65	
20:4n3	2,51	(1,39) <sup>3</sup>	2,51	1,39
(20:2n9)	(1,79)		1,80	
20:5n3	2,69	(1,40) <sup>3</sup>	2,68	1,40
(20:3n9)	(1,92)		1,92	



Tabela 20 - Fator de separação ( $F$ ) do tipo II de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1,2</sup>.

Ácido graxo	Padrões		(conclusão) Amostras	
	$t'_{rr18:2n6}$	$F$	$t'_{rr18:2n6}$	$F$
		6/9		6/9
16:2n6			0,52	1,13
16:1n9			0,46	
18:2n6	1,00	1,15	1,00	1,15
18:1n9	0,87		0,87	
20:2n6	1,91	1,15	1,89	1,14
20:1n9	1,66		1,65	
20:3n6	2,07	(1,16) <sup>3</sup>	2,09	1,16
(20:2n9)	(1,78)		1,80	
20:4n6	2,22	(1,16) <sup>3</sup>	2,20	1,16
(20:3n9)	(1,91)		1,92	

<sup>1</sup> Tipo II: Fator de separação envolvendo pares de ácidos graxos de mesmo comprimento da cadeia, mesma posição da primeira dupla ligação em relação ao grupo carboxílico e diferentes famílias.

<sup>2</sup> Temperatura da coluna: 200°C/42min, programada a 2°C/min até 210°C.

<sup>3</sup> O valor  $F$  de amostra foi usado para determinar o  $t'_{rr18:2n6}$  do padrão dentro do parêntese.

Abreviatura:  $t'_{rr18:2n6}$  - tempo de retenção corrigido relativo ao 18:2n6.

Tabela 21 - Fator de separação ( $F$ ) do tipo III de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1,2</sup>.

Ácido graxo	Padrões		Amostras	
	$t'_{RT18:2n6}$	$F$	$t'_{RT18:2n6}$	$F$
	5/7		5/7	
(14:1n5)	(0,26)	(1,04) <sup>3</sup>	0,25	1,04
14:1n7	0,25		0,24	
16:1n5	0,49	1,06	0,48	1,04
16:1n7	0,46		0,46	
18:1n5	0,89	1,02	0,92	1,03
18:1n7	0,87		0,89	
(20:1n5)	(1,71)	(1,01) <sup>3</sup>	1,72	1,01
20:1n7	1,69		1,70	
	7/9		7/9	
(14:1n7)	0,25	(1,04) <sup>3</sup>	0,24	1,04
14:1n9	(0,24)		0,23	
(16:1n7)	0,46	(1,00) <sup>3</sup>	0,46	1,00
16:1n9	(0,46)		0,46	
18:1n7	0,89	1,02	0,89	1,02
18:1n9	0,87		0,87	
20:1n7	1,69	1,02	1,70	1,03
20:1n9	1,66		1,65	
	9/11		9/11	
16:1n9			0,46	1,02
16:1n11			0,45	
18:1n9	0,87	(1,02) <sup>3</sup>	0,87	1,02
(18:1n11)	(0,85)		0,85	
20:1n9	1,66	(1,02) <sup>3</sup>	1,65	1,02
(20:1n11)	(1,63)		1,62	

Tabela 21 - Fator de separação ( $F$ ) do tipo III de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões e de amostras de peixes, separados por cromatografia gasosa em coluna capilar de Carbowax 20M<sup>1,2</sup>.

Ácido graxo	Padrões		(conclusão) Amostras	
	$t'_{rr18:2n6}$	$F$	$t'_{rr18:2n6}$	$F$
22:1n9	3,16	1,03	3,13	1,02
22:1n11	3,07		3,08	
		3/6		3/6
18:3n3	1,22	1,11	1,22	1,12
18:3n6	1,10		1,09	
20:3n3	2,33	1,13	2,32	1,11
20:3n6	2,07		2,09	
20:4n3	2,51	1,13	2,51	1,14
20:4n6	2,22		2,20	
20:5n3	2,69	(1,13) <sup>3</sup>	2,68	1,13
(20:5n6)	(2,38)		2,38	
(22:4n3)	(4,33)	(1,09) <sup>3</sup>	4,30	1,09
22:4n6	3,97		3,96	
22:5n3	4,54	1,08	4,54	1,09
22:5n6	4,20		4,18	

<sup>1</sup> Tipo III: Fator de separação envolvendo pares de ácidos graxos de mesmo comprimento da cadeia, mesmo número de duplas ligações e diferentes famílias.

<sup>2</sup> Temperatura da coluna: 200°C/42-45min, programada a 2°C/min até 210°C.

<sup>3</sup> O Valor  $F$  de amostra foi usado para determinar o  $t'_{rr18:2n6}$  do padrão dentro do parêntese.

Abreviatura:  $t'_{rr18:2n6}$  - tempo de retenção corrigido relativo ao 18:2n6.

tras e padrões.

Os valores listados na Tabela 21 são baseados nos pares de ácidos graxos tendo o mesmo comprimento de cadeia e número de duplas ligações, mas sendo de diferentes famílias. Nas famílias diferindo por dois grupos metílicos (5/7, 7/9 e 9/11), os fatores foram praticamente constantes e independentes dos pares de famílias envolvidos. Nota-se uma boa concordância dos fatores de separação dos padrões e amostras.

Valores maiores foram obtidos para os pares de ácidos graxos separados por 3 grupos metílicos (3/6), reflexo natural das maiores diferenças entre as retenções relativas; os fatores a 200°C mantiveram-se bem constantes, enquanto os pares 22:4n3/22:4n6 e 22:5n3/22:5n6 eluídos a 210°C, apresentaram  $F$  constantes, mas inferiores aos dos fatores a 200°C, destacando-se o efeito da temperatura.

Estes resultados demonstram a utilidade dos fatores de separação, tanto pelo procedimento de Kates (1972) como de Ackman (1963a), para a identificação de ácidos graxos, especialmente quando um analista não dispõe de um número grande de ácidos graxos padrões.

### 5.3.5. Método gráfico

Os membros de uma série homóloga de ácidos graxos podem ser identificados por meio do gráfico do  $\log t_r$  contra o número de átomos de carbonos (Ackman, 1969, 1972; McNair & Bonelli, 1969). O princípio básico deste procedimento é que existe uma relação linear entre o logaritmo dos dados de retenção e o comprimento da cadeia para cada série homóloga. Entretanto, desvios dessa linearidade têm sido relatados, especialmente com membros inferiores de diferentes séries homólogas (Smith, 1961; Nelson, 1974; Wainwright *et al.*, 1982) ou quando se introduz uma sobrecarga de amostra na coluna (Ackman & Castell, 1967).

Na impossibilidade de dispor de padrões autênticos de todos os

ácidos graxos de ocorrência natural, a identificação de picos desconhecidos presentes em amostras naturais, tem sido realizada pelo método gráfico, supondo-se a existência de paralelismo entre as várias linhas das séries homólogas de EMAG saturados normais e ramificados, monoinsaturados e poliinsaturados (Ackman, 1963b, 1969; Jamienson, 1975; Flanzky *et al.*, 1976; Heckers *et al.*, 1977; Kinsella *et al.*, 1977b; Maia *et al.*, 1983). Desvios deste paralelismo têm sido relatados por Ackman (1963b), Iverson *et al.* (1965), Nelson (1974) e Flanzky *et al.* (1976), principalmente quando as outras séries homólogas foram comparadas em relação à linha da série de ácidos graxos saturados normais. Tal paralelismo existiu, mas em relação à série de ácidos graxos monoinsaturados.

Aplicando a análise de regressão linear e tabulação gráfica (Figuras 1 a 6), sobre os dados de retenção corrigidos ou não dos EMAG relacionados nas Tabelas 10, 11 e 12, foi testada a existência ou não de linearidade e paralelismo entre as seguintes séries homólogas:

1. série iso ramificados	—	X:0	(X= 14 a 18; n=5);
2. série anteiso ramificados	—	X:0	(X= 15 e 17; n=2);
3. série saturados normais	—	X:0	(X= 13 a 20; n=8);
4. série monoinsaturados n11	—	X:1n11	(X=17,18,19 e 22; n=4);
5. série monoinsaturados n9	—	X:1n9	(X=14 a 20; n=7);
6. série monoinsaturados n7	—	X:1n7	(X=14,15,16,18 e 20; n=5);
7. série monoinsaturados n5	—	X:1n5	(X=14,16, e 18; n=3);
8. série diinsaturados n6	—	X:2n6	(X=16,18 a 20; n=4);
9. série diinsaturados n5	—	X:2n5	(X=15 a 17, e 19; n=4);
10. série diinsaturados n4	—	X:2n4	(X=16 e 18; n=2);
11. série triinsaturados n6	—	X:3n6	(X=16,18 e 20; n=3);
12. série triinsaturados n3	—	X:3n3	(X=18 e 20; n=2).

Por causa da programação de temperatura da coluna, apenas os ésteres metílicos separados na temperatura de 200°C por 42 min. foram incluídos.

Em geral, os gráficos apresentados pela literatura envolveram a relação entre o log do tempo de retenção relativo corrigido ou não contra o número de carbonos; todavia foram encontradas também referências relacionando o log  $t_r$  (Iverson *et al.*, 1965), log  $t'_r$  (Nelson, 1974) e ECL (Porchmann *et al.*, 1982).

Os coeficientes de correlações ( $r$ ) mostrados nas Figuras 1 a 6 revelam a existência de relação linear entre os dados de retenção e o número de carbonos das séries homólogas relacionadas acima, em todos os parâmetros; contudo, as melhores correlações se verificaram com os parâmetros corrigidos pelo tempo morto ( $\log t'_r$ ), ( $\log t'_{rr}$ ) e ECL') e com o ECL não corrigido. Quantitativamente isto pode ser analisado pelos coeficientes de variações dos valores médios de  $r$  de todas as séries homólogas, em cada um dos parâmetros, que foram os seguintes: 0,16% ( $\log t_r$ ), 0,12% ( $\log t_{rr}$ ), 0,07% ( $\log t'_r$ ), 0,02% (ECL) e 0,003% ( $\log t'_{rr}$  e ECL').

Os ácidos graxos 10:0, 11:0 e 12:0 (não incluídos na série homóloga dos n-saturados) apresentaram consideráveis desvios da linearidade para os parâmetros não corrigidos, cujos dados de retenções (experimentais  $\times$  calculados pela equação de regressão), respectivamente, foram os seguintes:  $t_r$  ( $2,91 \times 1,87$ ), ( $3,14 \times 2,37$ ) e ( $3,54 \times 3,00$ );  $t_{rr}$  ( $0,192 \times 0,129$ ), ( $0,221 \times 0,163$ ) e ( $0,246 \times 0,207$ ); e ECL ( $11,43 \times 10,11$ ), ( $12,00 \times 11,09$ ) e ( $12,54 \times 12,08$ ). A correção dos dados de retenção pelo tempo morto apenas atenuou, mas manteve os desvios da linearidade desses ácidos graxos, como se pode ver pelos seguintes resultados:  $t'_r$  ( $0,81 \times 0,77$ ), ( $1,14 \times 1,05$ ), ( $1,50 \times 1,46$ );  $t'_{rr}$  ( $0,062 \times 0,061$ ), ( $0,094 \times 0,084$ ) e ( $0,122 \times 0,116$ ) e ECL' ( $10,04 \times 10,01$ ), ( $11,22 \times 11,01$ ) e ( $12,10 \times 12,01$ ).

Para Nelson (1974), uma equação quadrática se ajusta melhor do que a equação linear, para os dados de  $\log t'_r$  versus número de carbonos da série homóloga dos ácidos graxos saturados variando de 11 a 26 carbonos. Surpreendentemente, os valores de ECL' calculados pela equação linear (ver valores acima) foram praticamente iguais aos valores de 11,034 para 11:0 e 12,020 para 12:0, relatados por Nelson (1974). Convém lembrar que 10,00, 11,00 e 12,00 foram definidos como sendo os valores teóricos de ECL' dos ácidos 10:0, 11:0 e 12:0, respectivamente.

Como esperado, a correção dos dados de retenção pelo tempo morto da coluna, visivelmente melhorou a relação de paralelismo entre as diferentes séries homólogas (Figuras 1 a 6). Pode ser visto nas Figuras 1 e 3 que nenhum paralelismo ocorreu entre as retas envolvendo os  $t_r$  e  $t_{rr}$ . A análise de regressão linear mostrou

○	1.	iso	$r=0,9975$	●	2.	anteiso	-
△	3.	n-saturado	$r=0,996$	▲	4.	1n11	$r=0,9988$
▽	5.	1n9	$r=0,9988$	▼	6.	1n7	$r=0,9990$
□	7.	1n5	$r=0,9984$	■	8.	2n6	$r=0,9995$
◇	9.	2n5	$r=0,9997$	◆	10.	2n4	-
◁	11.	3n6	$r=0,9991$	◀	12.	3n3	-

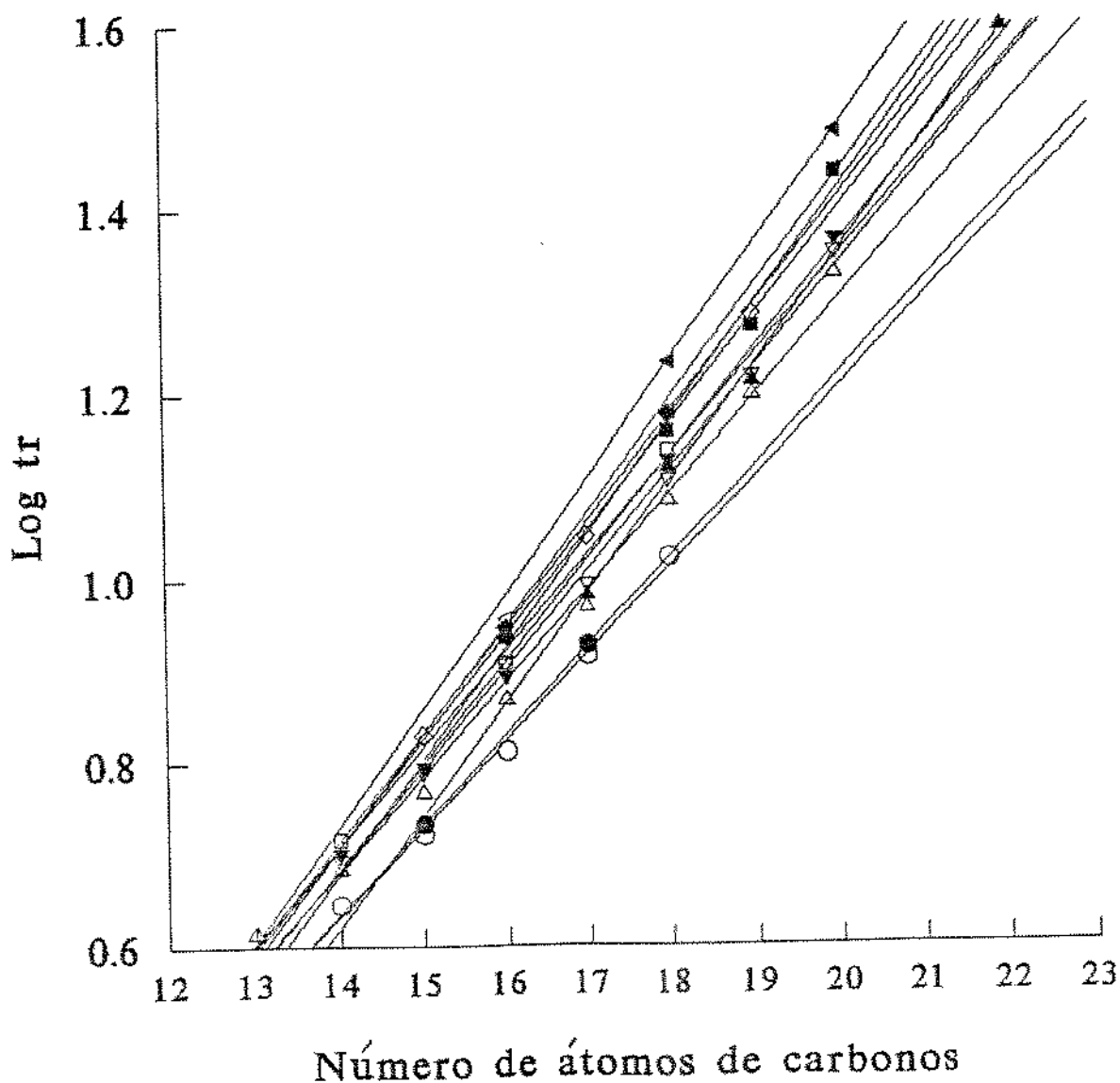


Figura 1 - Gráfico do logaritmo do tempo de retenção versus número de átomos de carbonos de séries homogêneas de ésteres metílicos de ácidos graxos

○	1.	iso	$r=0,99995$	●	2.	anteiso	—
△	3.	n-saturado	$r=0,99997$	▲	4.	1n11	$r=0,9988$
▽	5.	1n9	$r=0,9993$	▼	6.	1n7	$r=0,99990$
□	7.	1n5	$r=0,9997$	■	8.	2n6	$r=0,9920$
◇	9.	2n5	$r=0,99993$	◆	10.	2n4	—
◁	11.	3n6	$r=0,99992$	◀	12.	3n3	—

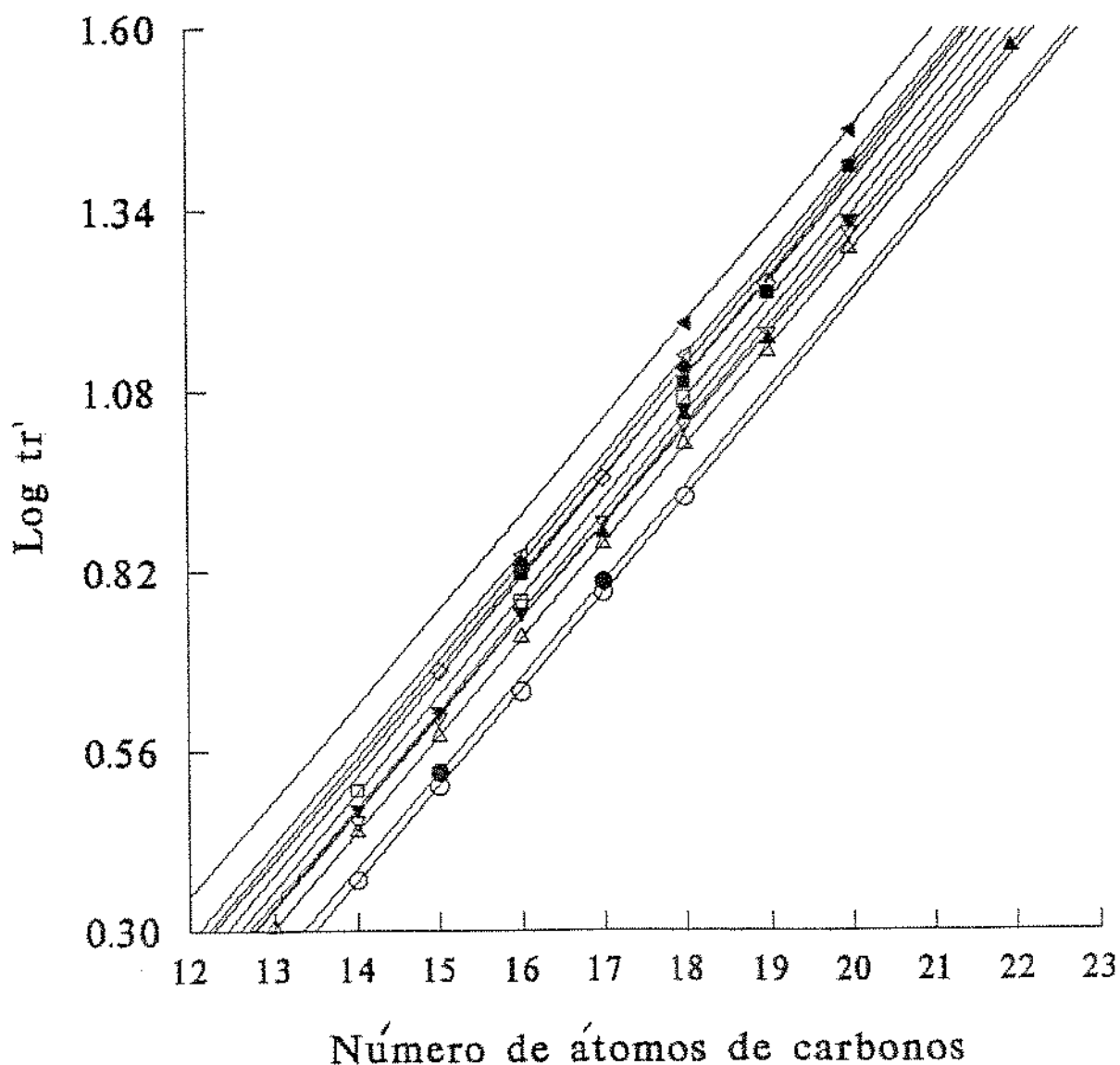


Figura 2 - Gráfico do logaritmo do tempo de retenção corrigido versus número de átomos de carbonos de séries homogêneas de ésteres metílicos de ácidos graxos



○	1.	iso	$r=0,998$	●	2.	anteiso	-
△	3.	n-saturado	$r=0,996$	▲	4.	1n11	$r=0,9996$
▽	5.	1n9	$r=0,998$	▼	6.	1n7	$r=0,998$
□	7.	1n5	$r=0,9986$	■	8.	2n6	$r=0,9997$
◇	9.	2n5	$r=0,9990$	◆	10.	2n4	-
◁	11.	3n6	$r=0,9998$	◀	12.	3n3	-

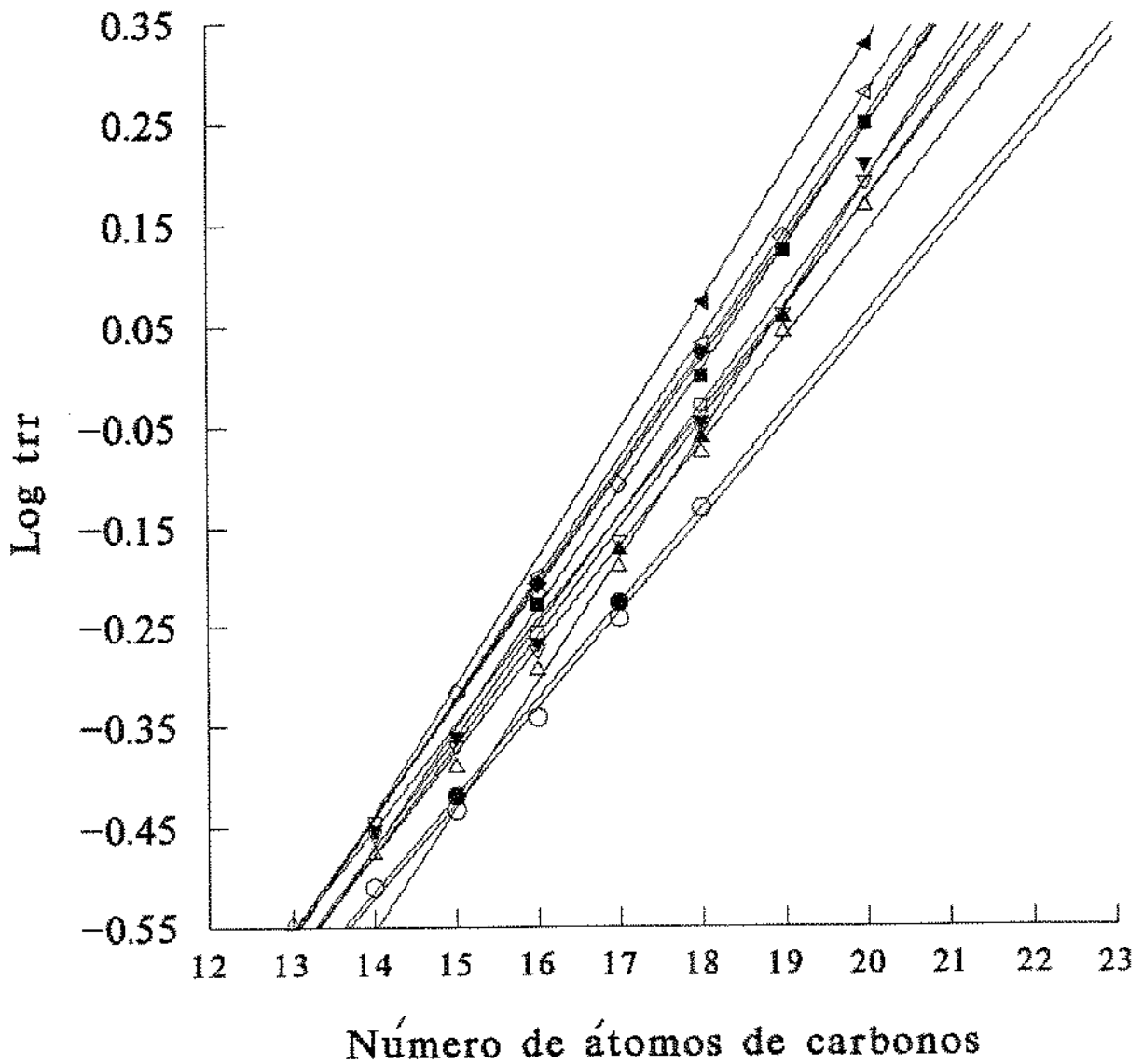


Figura 3 - Gráfico do logaritmo do tempo de retenção relativo versus número de átomos de carbonos de séries homólogas de ésteres metílicos de ácidos graxos

o	1.	iso	$r=0,99997$	•	2.	anteiso	-
△	3.	n-saturado	$r=0,999995$	▲	4.	1n11	$r=0,999990$
▽	5.	1n9	$r=0,99994$	▼	6.	1n7	$r=0,99996$
□	7.	1n5	$r=0,99991$	■	8.	2n6	$r=0,999988$
◇	9.	2n5	$r=0,99992$	◆	10.	2n4	-
◁	11.	3n6	$r=0,99997$	◀	12.	3n3	-

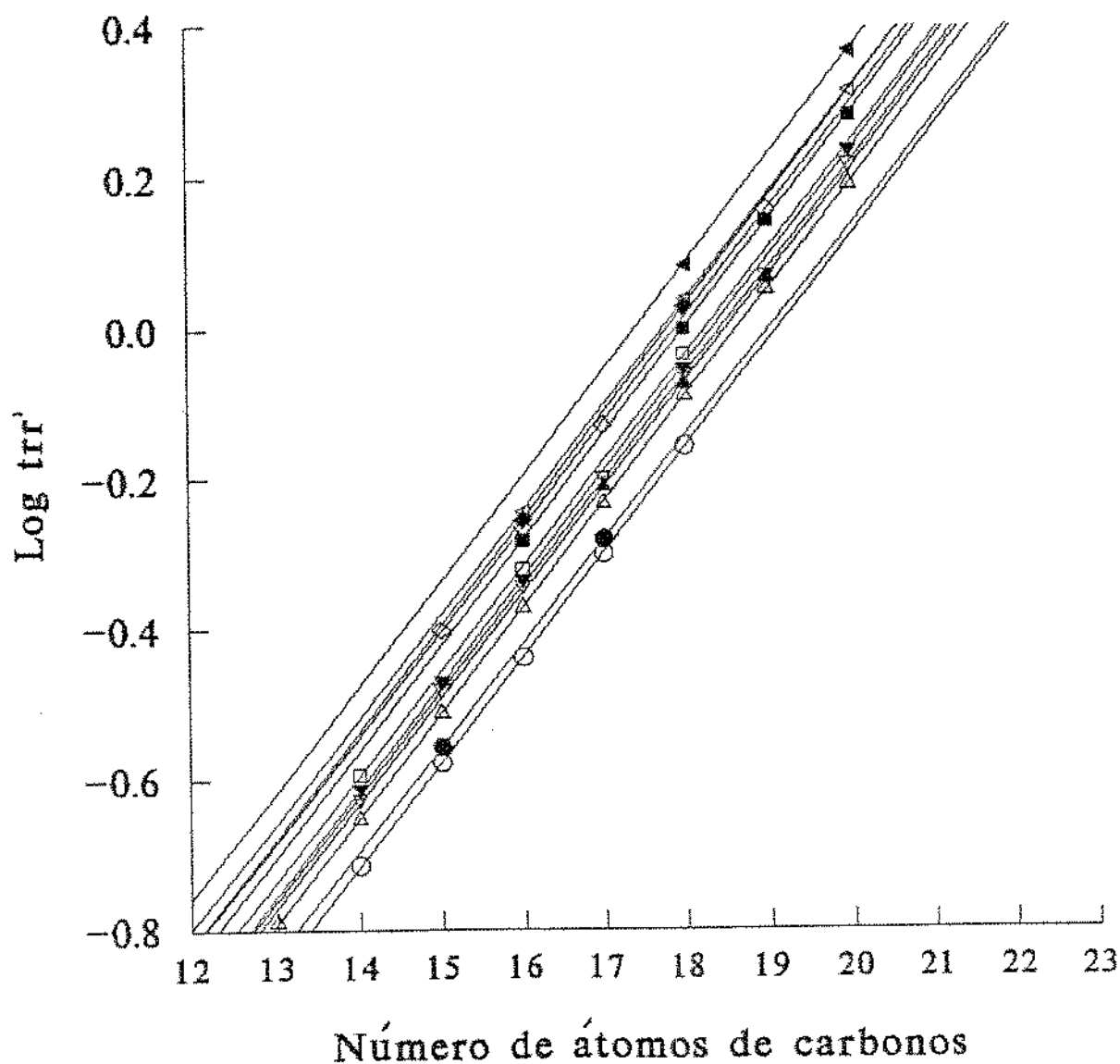


Figura 4 - Gráfico do logaritmo do tempo de retenção relativo corrigido versus número de átomos de carbonos de séries homogêneas de ésteres metílicos de ácidos graxos

○	1.	iso	$r=0,9996$	●	2.	anteiso	—
△	3.	n-saturado	$r=0,9995$	▲	4.	1n11	$r=0,99987$
▽	5.	1n9	$r=0,99996$	▼	6.	1n7	$r=0,99995$
□	7.	1n5	$r=0,999991$	■	8.	2n6	$r=0,999991$
◇	9.	2n5	$r=0,999994$	◆	10.	2n4	—
◁	11.	3n6	$r=0,9999990$	◀	12.	3n3	—

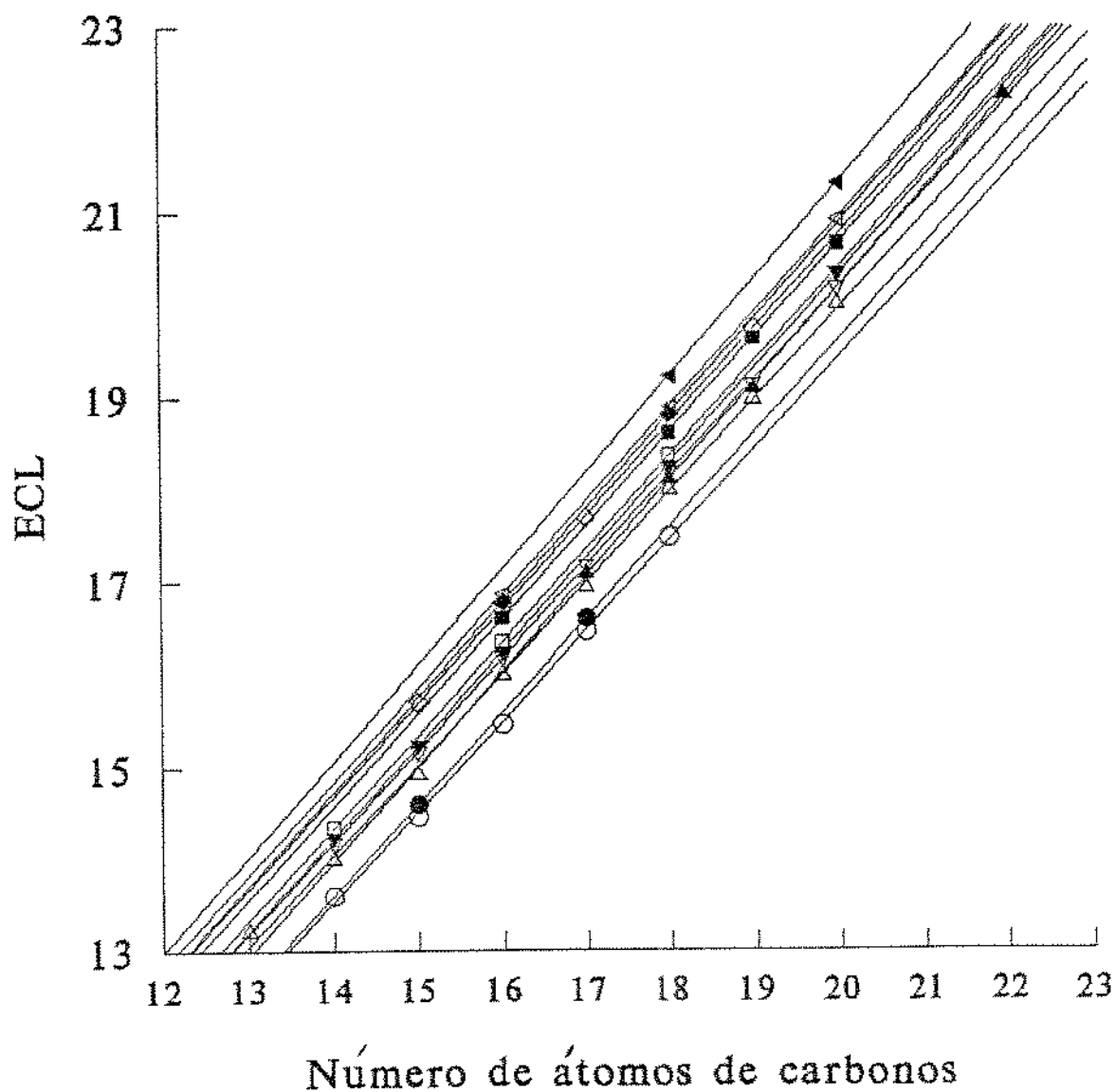


Figura 5 - Gráfico do comprimento equivalente da cadeia versus número de átomos de carbonos de séries homólogas de ésteres metílicos de ácidos graxos

o	1. iso	$r=0,99997$	•	2. anteiso	—
△	3. n-saturado	$r=0,99998$	▲	4. 1n11	$r=0,99998$
▽	5. 1n9	$r=0,99995$	▼	6. 1n7	$r=0,99990$
□	7. 1n5	$r=0,99997$	■	8. 2n6	$r=0,99998$
◇	9. 2n5	$r=0,99995$	◆	10. 2n4	—
◁	11. 3n6	$r=0,99996$	◀	12. 3n3	—

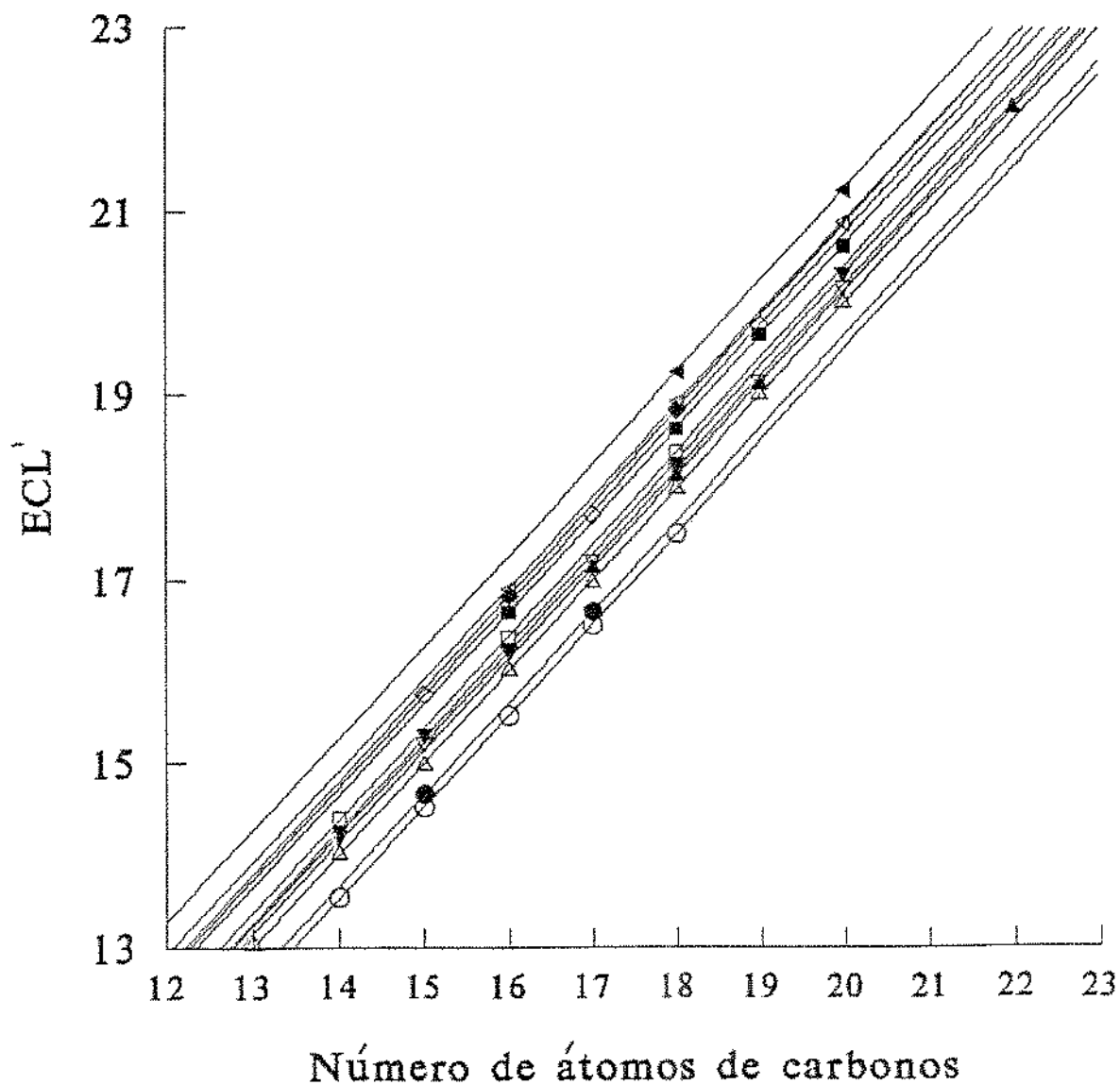


Figura 6 - Gráfico do comprimento equivalente da cadeia corrigido versus número de átomos de carbonos de séries homogêneas de ésteres metílicos de ácidos graxos

que as declividades das retas do  $\log t_r$  (CV=8,9%),  $\log t_{rr}$  (CV=9,0%) foram as que apresentaram as maiores variações, sendo seguido pelas retas de ECL (CV=1,8%),  $\log t'_r$  (CV=1,4%),  $\log t'_{rr}$  (CV=0,7%) e ECL' (CV=0,5%).

Estudando as características de eluições de EMAG de padrões e amostras naturais em colunas capilares, Nelson (1974) concluiu que “nenhuma das séries homólogas são paralelas, porque não existiu relação linear entre o log do tempo de retenção ajustado e o comprimento da cadeia carbônica” e terminou afirmando que “especialmente numa ampla faixa de compostos, todas as identificações tentativas baseadas nas relações de linearidade e paralelismo das diferentes séries homólogas deverão ser realizadas com cuidado”. Contudo, os resultados obtidos neste trabalho mostraram que foi possível atingir boas relações de linearidade e paralelismo, usando os dados de  $\log t'_{rr}$  e ECL'.

### 5.3.6. Eluição dos ácidos graxos em colunas polar e apolar

A ordem de eluição dos EMAG em cromatografia gasosa depende da polaridade da fase líquida na coluna. Em colunas polares, tais como carbowax 20M, Silar 5CP e CP-Sil 84 (Christie, 1988), os ácidos insaturados emergem após os saturados de mesmo comprimento de cadeia, enquanto um comportamento inverso ocorre em colunas apolares, tais como SE-54 (Pörschmann *et al.*, 1982; Christie, 1988), CP-Sil-5 (van der Steege *et al.*, 1987) e Ultra-1 (Hoving *et al.*, 1988).

Neste trabalho, o estudo do comportamento de eluição, em colunas de carbowax 20M (polar) e SE-54 (apolar), de EMAG de padrões autênticos e de óleo de fígado de bacalhau, junto com os resultados relatados pela literatura, usando as mesmas colunas ou similares, também contribuiu para a identificação dos EMAG presentes nas amostras de peixes pesquisados.

Inicialmente, foi investigado o comportamento de eluição de 28 padrões autênticos na coluna de carbowax 20M (Figura 7) e de 32 padrões (a mistura anterior acrescentada de 10:0, 11:0, 13:0 e 15:0) na coluna de SE-54 (Figura 8).

Dos 28 padrões analisados na colunas de Carbowax 20M (CW20M), foram vistos 27 picos, porque o padrão trans-18:1n9 (ácido elaídico) eluiu junto com o cis-18:1n9 (ácido oléico) no pico 47. Por outro lado, dos 32 ácidos graxos analisados na coluna SE-54, foram observados 30 picos; houve uma separação entre os ácidos oléico e elaídico, mas os pares de ácidos cis 18:1n9/18:3n3 (picos 47 e 58) e 20:1n9/20:3n3 (picos 65 e 76) eluíram juntos.

Uma característica interessante da coluna SE-54 foi a nítida separação dos ésteres metílicos em blocos, de acordo com o comprimento da cadeia do ácido graxo. Vê-se na Figura 8 que todos os ácidos contendo 18 átomos de carbonos ficaram agrupados num bloco, C18, o mesmo ocorrendo com os ácidos que formaram cada um dos blocos C16, C20, C22 e C24. Isto deve ocorrer também com os ácidos de cadeias ímpares, pois seus ésteres saturados aparecem no cromatograma isolados dos poliinsaturados dos grupos que os precedem. Esta característica geral não foi observada com a coluna de CW20M. Por exemplo, o ácido 19:0 foi localizado entre 18:3n6 e 18:3n3; o ácido araquidônico (20:4n6) eluiu após o 21:0 e o 23:0 entre os ácidos 22:1n9 e 22:3n3. A desvantagem da coluna SE-54 foi a não separação dos importantes pares n9 e n3, como mostrado acima. Por outro lado, a coluna de Carbowax 20M não separou o par 20:2n6/20:3n9.

Confirmando as observações de James (1959), foi verificado que não somente o número de duplas ligações, mas também a posição da dupla ligação influenciou a ordem de eluição de certos ácidos graxos na coluna SE-54. Por exemplo, os padrões 18:2n6, 18:3n6, 20:2n6 e 20:4n6 (família n6) eluíram, respectivamente antes de 18:3n3, 18:4n3, 20:3n3 e 20:5n3 (família n3). Comportamento idêntico foi relatado por Christie (1988) para os ácidos C22, que eluíram numa coluna de metilsilicone, na seguinte ordem crescente de retenção: 22:5n6, 22:6n3, 22:4n6, 22:5n3, 22:3n9, 22:3n6, 22:1n11 e 22:1n9. Esta ordem auxiliou a identificação dos ácidos graxos presentes no óleo de fígado de bacalhau e nas amostras de peixes pesquisados neste trabalho, pois não se dispunha de padrões autênticos de 22:4n6, 22:5n6, 22:4n3 e 22:5n3.

Resposta do Detector

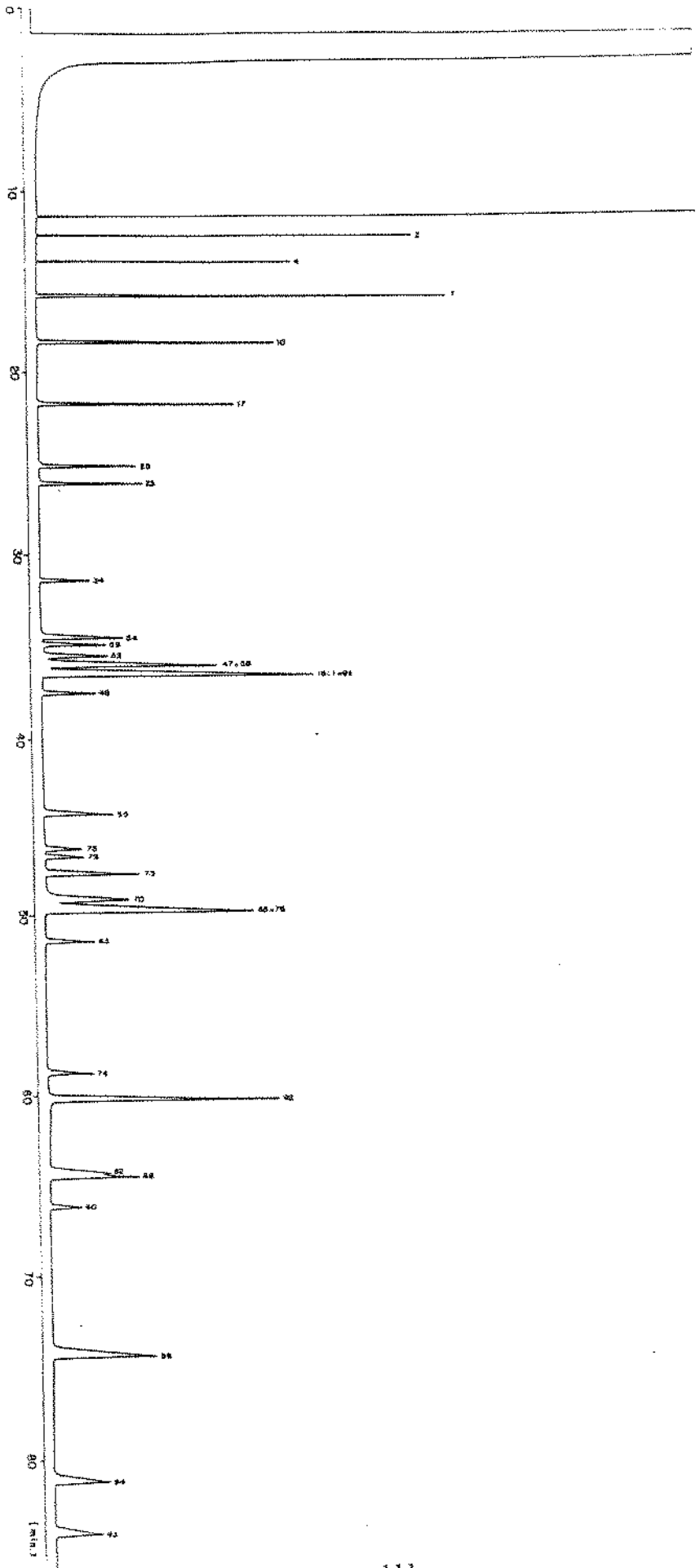


Figura 7 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões, em coluna de Carbowax 20M.  
Temperatura da coluna: 200°C/42min 2°C/min 210°C

Resposta do Detector

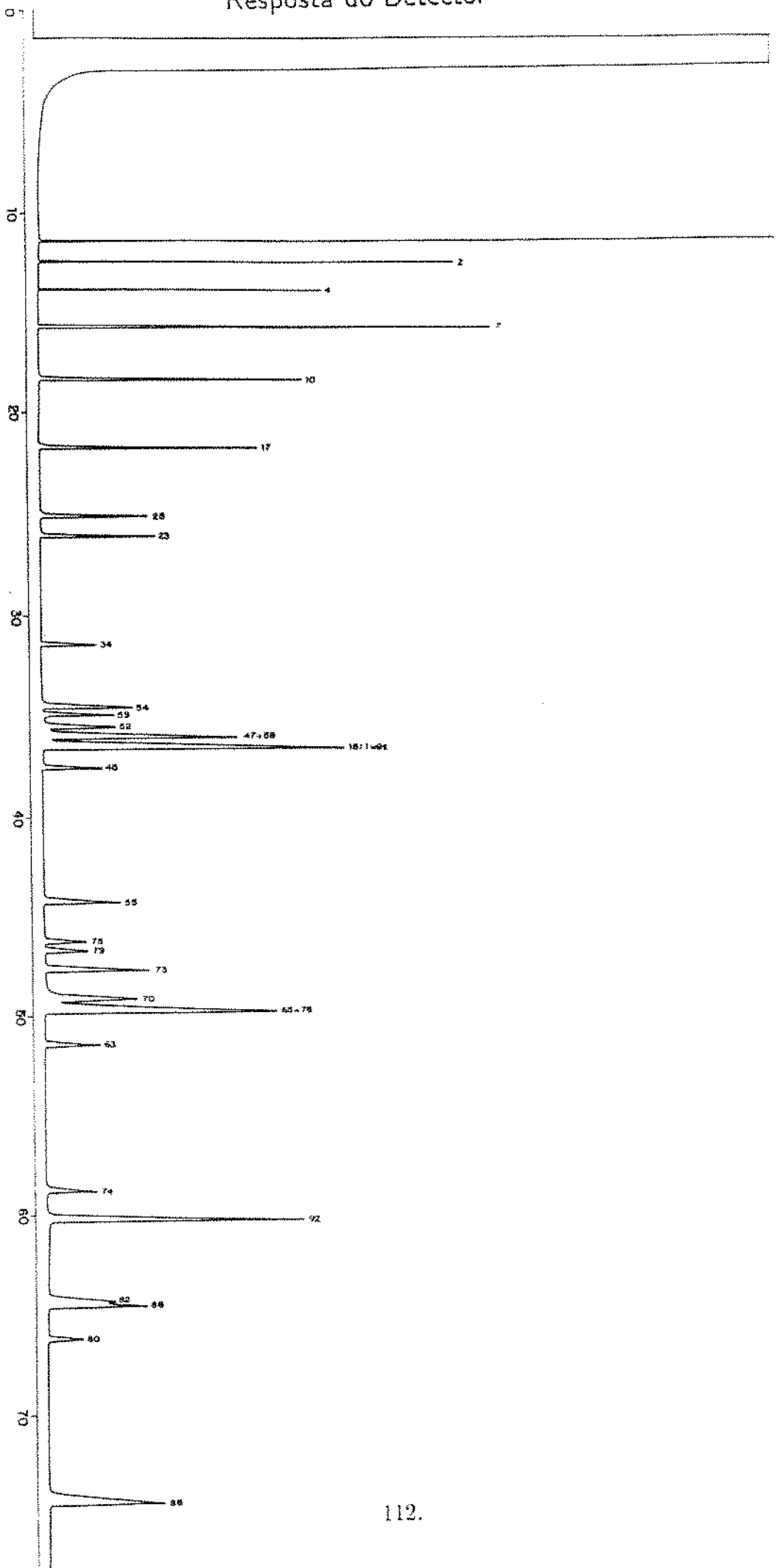


Figura 8 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões, em coluna de SE-54, Temperatura da coluna: 50°C/6min 40°C/min 170°C 1°C/min 230°C



O óleo de fígado de bacalhau ou "cod liver oil" (CLO), considerado como um padrão de referência secundário de ácidos graxos (Ackman & Burgher, 1965) foi cromatografado na coluna de CW20M (Figura 9) e SE-54 (Figura 10). Análise comparativa dos EMAG de CLO, com os 38 padrões autênticos disponíveis, permitiu a identificação dos seguintes 26 ácidos graxos: saturados (11:0 a 20:0), monoinsaturados (14:1n5, 16:1n7, 18:1n9, 20:1n9, 22:1n9 e 24:1n9), diinsaturados (18:2n6 e 20:2n6) e poliinsaturados (18:3n6, 18:3n3, 18:4n3, 20:3n6, 20:3n3, 20:4n6, 20:5n3 e 22:6n3).

O aumento do número de componentes na amostra de CLO tornou mais difícil a identificação dos ácidos graxos separados na coluna de CW20M (Figura 9), principalmente daqueles eluindo entre os ácidos 14:0 e 18:0.

Por outro lado, observando o cromatograma da Figura 10 (coluna SE-54), percebe-se claramente que a maioria dos EMAG no óleo de fígado de bacalhau se agrupou em 9 blocos (C14 a C22), com os blocos pares e ímpares se alternando.

Assim, comparando a ordem de eluição dos EMAG nas Figuras 9 e 10 e auxiliado pela literatura, mostrando a composição dos EMAG de CLO (Ackman & Burgher, 1965; Ackman *et al.*, 1967a,b; Jangaard *et al.*, 1967; Addison *et al.*, 1968; Ackman, 1969; Ackman & Eaton, 1978; Christie *et al.*, 1986; Ackman, 1987a; Christie & Stefanov, 1987; Christie, 1988), e também pela análise cromatográfica gasosa de EMAG de óleo de peixe marinho (PUFA-1, Supelco), cuja composição detalhada foi descrita por Ackman (1987b), e ainda, estudando a ordem de eluição de EMAG presentes em amostras diversas, separadas em coluna de Carbowax 20M (Flanzy *et al.*, 1976; Ackman, 1980b,1981; Ackman & Sipos, 1981; Kramer *et al.*, 1985; Horman & Traitler, 1989) ou em coluna SE-54 e similar (Porschmann *et al.*, 1982; Vannieuwenhuyze & Sandra, 1987; van der Steege *et al.*, 1987; Hoving *et al.*, 1988), foi possível identificar no óleo de fígado de bacalhau mais 32 EMAG (o número do pico entre parênteses): i-14:0 (8), 14:1n7 (12), i-15:0 (14), ai-15:0 (15), i-16:0 (20), 15:2n5 (22), 16:1n9 (24), 16:1n5 (26), i-17:0 (27), 16:2n6 (29), ai-17:0

# Resposta do Detector

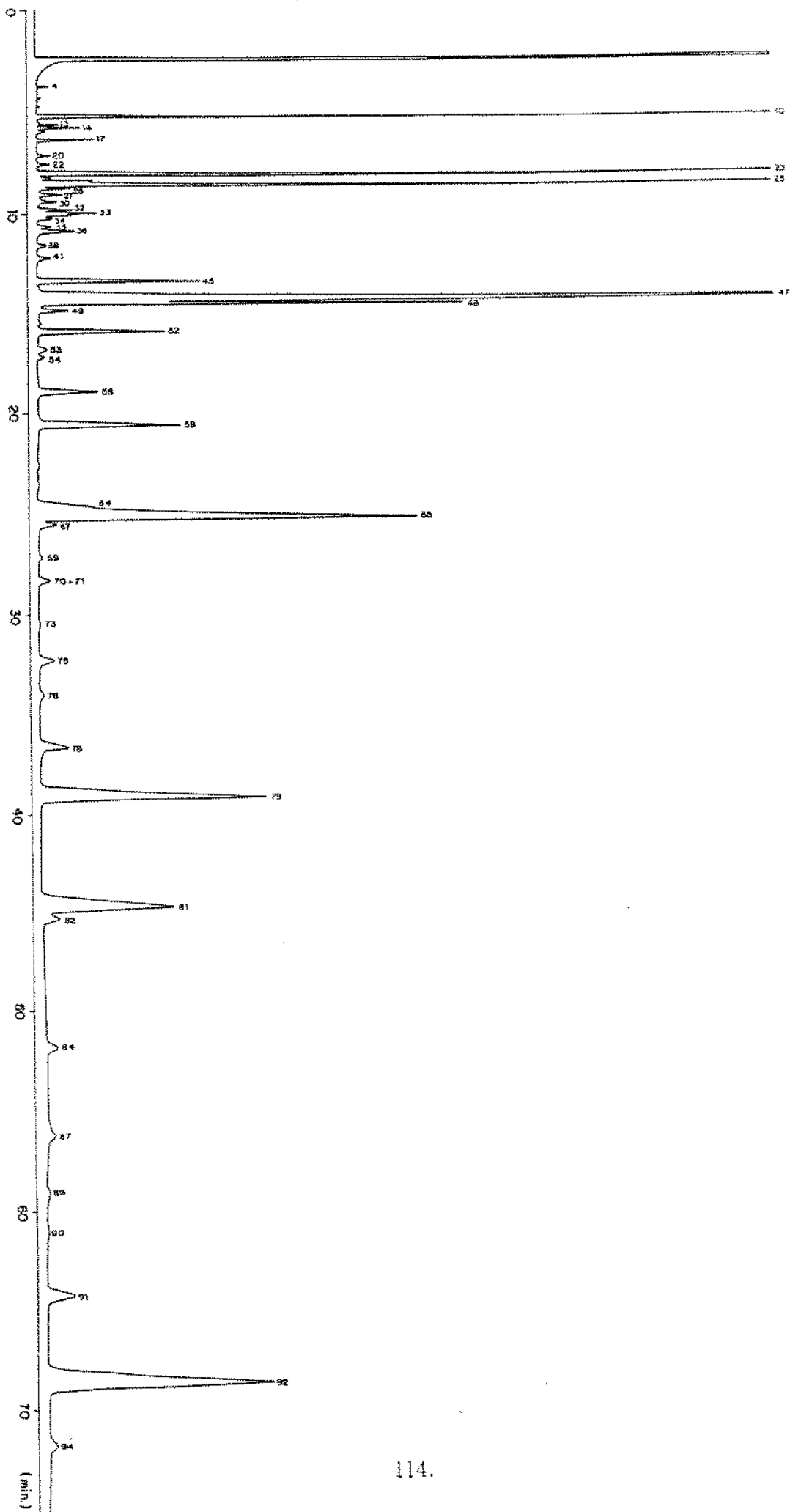


Figura 9 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de óleo de fígado de bacalhau, em coluna de Carbowax 20M.

Temperatura da coluna: 200°C/42min 2°C/min 210°C

Resposta do Detector

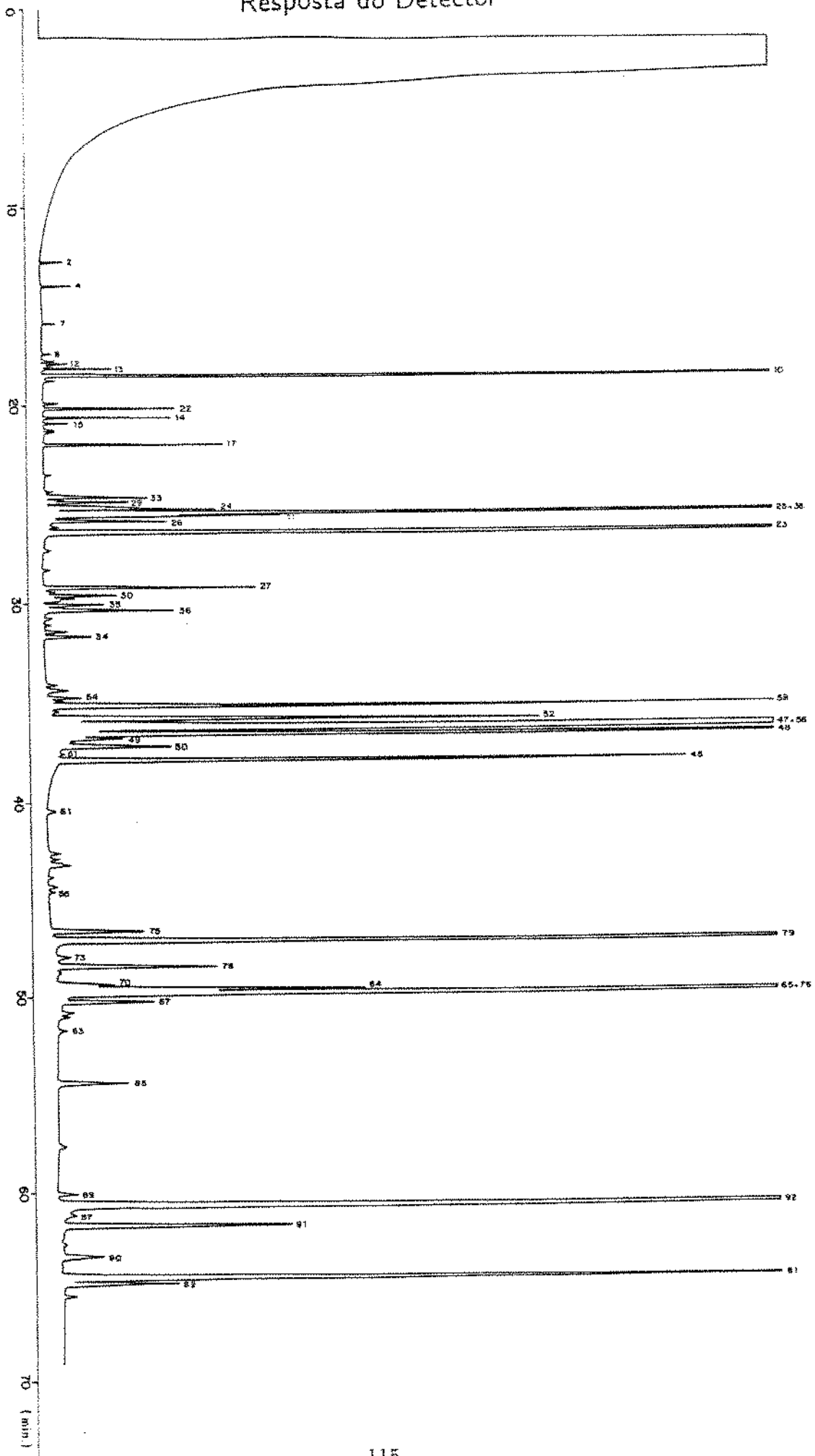


Figura 10 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de óleo de fígado de bacalhau, em coluna de SE-54.

Temperatura da coluna: 50°C/6min → 40°C/min → 170°C → 1°C/min → 230°C

(30), 16:2n4 (32), 16:3n6 (33), 17:1n11 (35), 17:1n9 (36), 16:3n3 (38), 16:4n3 (41), 18:1n7 (48), 18:1n5 (49), 18:1n4 (50), 18:1n3 (51), 18:2n4 (53), 19:2n5 (61), 20:1n11 (64), 20:1n7 (67), 20:2n9 (69), 20:4n3 (78), 22:1n11 (81), 22:4n6 (87), 22:5n6 (89), 22:4n3 (90), 22:5n3 (91).

Algumas características de eluições nas colunas de CW20M e SE-54, que ajudaram a identificar os ácidos graxos relacionados acima, foram as seguintes:

- (a) Os EMAG que constituíram o bloco C22 apresentaram na coluna SE-54 a mesma ordem de eluição daquela descrita por Christie (1988), a saber: 22:5n6 (89), 22:6n3 (92), 22:4n6 (87), 22:5n3 (91), 22:4n3 (90), 22:1n11 (81) e 22:1n9 (82).
- (b) Tanto na coluna de Carbowax como na SE-54, os ácidos monoenoícos de menor família foram os mais retidos; por exemplo, o tempo de retenção de 16:1n9 foi menor do que o de 16:1n7, o mesmo ocorrendo com 18:1n7 e 18:1n5. Assim foi possível identificar os picos 50 e 51, como sendo, respectivamente, 18:1n4 e 18:1n3.
- (c) Os ácidos graxos ramificados tiveram ordens de eluições idênticas nas colunas de Carbowax 20M e SE-54. Em ambas as colunas, os iso e anteiso ramificados apareceram sempre antes dos respectivos saturados de cadeia linear; o tempo de retenção do iso foi menor do que o do anteiso.

Seguindo os mesmos procedimentos descritos acima, para as 4 amostras de peixes, foi possível relacionar os seguintes 26 ácidos graxos, que antes não haviam sido detectados (entre parênteses, o número do pico e localização): 10:0 (1, Tabela 24), 11:1 (3, Tabela 24), 14:1n9 (11, Figura 13), 15:1n9 (18, Figura 13), 15:1n7 (19, Figura 13), 16:2n7 (28, Figura 13), 16:2n5 (31, Figura 17), 17:1n7 (37, Figura 13), i-18:0 (39, Figura 13), 17:2n5 (42, Figura 13), 18:1n11 (46, Figura 21), 19:1n11 (56, Figura 13), 19:1n9 (57, Figura 11), 19:2n6 (60, Figura 11), 20:1n8 (66, Figura 13), 20:1n5 (68, Tabela 28), 20:3n9 (71, Figura 11), 20:2n3 (72, Figura 11), 21:0 (74, Tabela 27), 20:5n6 (77, Tabela 33), 22:0 (80, Tabela 24), 21:4n6 (83, Fi-

gura 21), 21:5n6 (84, Figura 21), 21:6n3 (85, Figura 21), 23:0 (86, Tabela 24) e 22:3n3 (88, Tabela 33).

Além desses, 5 picos permaneceram não identificados X1 (5, Figura 11), X2 (6, Figura 11), X3 (16, Tabela 27), X4 (44, Tabela 27) e X5 (62, Tabela 28) e 4 componentes foram identificados como sendo dimetilacetais 14:0DMA (9, Tabela 29), 16:0DMA (21, Figura 31), 18:0DMA (40, Figura 31) e 18:1DMA (43, Figura 31).

Os dimetilacetais 16:0DMA, 18:0DMA e 18:1DMA, na coluna de CW20M (Figura 31), eluíram antes dos respectivos EMAG 16:0 e 18:0. A presença de uma dupla ligação provocou um aumento de retenção do composto; assim o 18:1DMA eluiu depois do 18:0DMA, comportamento semelhante ao verificado para os EMAG 18:0 e 18:1. Horman & Traitler (1989) relataram idêntico comportamento numa coluna Carbowax 20M-imobilizada, para os dimetilacetais presentes nos fosfolipídios de lipoproteína do plasma humano. Na coluna SE-54, os dimetilacetais eluíram depois dos respectivos ésteres metílicos saturados, enquanto o tempo de retenção do 18:1DMA foi menor do que o do 18:0DMA.

Dos 94 componentes relacionados na Tabela 13, apenas o ácido graxo padrão 24:0 (pico 93, Figura 7) não foi encontrado nas amostras de peixes investigados neste trabalho.

### 5.3.7. Espectrometria de massa

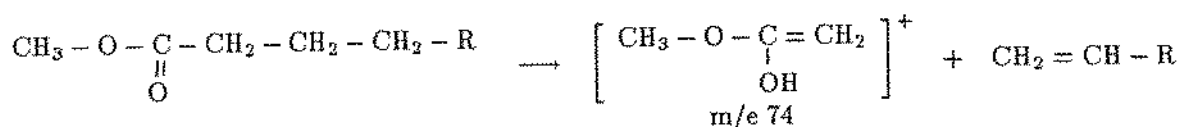
A espectrometria de massa foi uma técnica muito útil na identificação conclusiva de vários ácidos graxos presentes nas amostras de peixes pesquisados neste trabalho. Para isto, foi feito uso de colunas capilares de Carbowax 20M e metilsilicone, acopladas a um espectrômetro de massa, permitindo assim, obter os espectros de massas de 29 EMAG padrões e de 40 componentes em amostras de peixes, cujas razões de massas e abundâncias relativas dos principais fragmentos estão relacionadas nas Tabelas 22 e 23, respectivamente para os ésteres dos padrões

e de peixes.

A identificação de 37 EMAG e de 3 dimetilacetais presentes nas amostras de peixes foram realizadas através das comparações de seus espectros de massas com espectros de massas de padrões autênticos disponíveis e com aqueles relatados pela literatura (as citações das referências aparecerão no transcurso da discussão dos resultados abaixo).

#### a) ácidos graxos saturados normais

Os espectros de massas dos EMAG alifáticos de cadeia linear apresentaram como íons diagnósticos  $m/e$  74 (pico base) e  $M^+$  (íon molecular). O pico base é formado através do rearranjo de McLafferty ou  $\beta$ -clivagem (quebra da ligação 2,3 com simultânea migração de um átomo de hidrogênio para o fragmento perdido) (Ryhage & Stenhagen, 1960; Silverstein *et al.*, 1979):



As intensidades relativas dos íons moleculares aumentaram com o aumento do peso molecular dos ésteres, em consonância com as observações de Ryhage & Stenhagen (1960).

Dentre os demais fragmentos principais (Tabelas 22 e 23), alguns consistiram de íons tendo número de massa ímpar (27,29, 41, 43, 55, 57, 59) típicos de hidrocarbonetos normais e outros de íons  $\left[ \text{R} - \underset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}} - \text{OCH}_3 \right]^+$  (75, 87 e 143), todos sem muita importância para as identificações de ácidos graxos.

#### b) ácidos graxos monoinsaturados

Os espectros de massas dos ésteres metílicos de ácidos monoinsaturados 14:1n5, 16:1n7, 18:1n9, 20:1n9, 22:1n9 e 24:1n9 tiveram como íons diagnósticos

m/e 55 (pico base,  $C_4H_7^+$ ),  $M^+$  (íon molecular),  $M^+ - 32$  (perda de  $CH_3OH$ ) e  $M^+ - 31$  (perda de  $OCH_3$ ). Estes dois últimos fragmentos apareceram nos espectros dos monoinsaturados em intensidades relativas muito baixas; na ausência do íon molecular, como ocorreu por exemplo, com os ácidos 16:1n7, 20:1n9, 22:1n9 e 24:1n9, os íons  $M^+ - 32$  ou  $M^+ - 31$  foram úteis na determinação do íon molecular  $M^+$ .

Picos bases m/e 55 (Alexander *et al.*, 1985; Marzouki *et al.*, 1988) e m/e 264 (Hallgren *et al.*, 1959) foram relatados para o ácido 18:1n9, enquanto Héthelyi *et al.* (1987) descreveram um pico base m/e 83 para o ácido 20:1n9 e m/e 74 para o ácido 20:1n15. Vale destacar que todos os espectros de massas, semelhantes aos nossos, foram obtidos por impacto eletrônico a 70eV, daí outros fatores poderão ser responsáveis por estas diferenças nos picos bases. Nos artigos de Hallgren e de Héthelyi, o fragmento m/e 55 apareceu como o segundo mais intenso.

Os espectros de massas dos ésteres metílicos dos ácidos monoenoícos não apresentaram evidências claras que permitissem a localização da posição das duplas ligações. Neste aspecto, os derivados pirrolidídios (Anderson & Holman, 1974) ou picolinílicos (Christie *et al.*, 1986) são considerados mais adequados.

Semelhante aos espectros de massas dos ácidos graxos saturados, os principais fragmentos de massas dos ácidos monoenoícos, predominantemente consistiram de fragmentos de hidrocarbonetos, exceto os picos em m/e 74 ( $C_3H_5O_2^+$ ) e 87 ( $C_4H_7O_2^+$ ).

### c) ácidos graxos diinsaturados

Dois ésteres metílicos padrões diinsaturados foram disponíveis e tiveram seus espectros de massas registrados. Ambos eram da família n6, 18:2n6 e 20:2n6. Os fragmentos mais característicos desses ácidos graxos foram o pico base m/e 67 e os íons moleculares m/e 294 (4,3%) e m/e 322 (4,0%), respectivamente para o metil linoleato e metil eicosadienoato.

Pico base de m/e 67 também foi relatado para 18:2n6, por Hallgren

Tabela 22 - Razão m/e e abundância relativa dos principais fragmentos de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões, obtidos por meio de espectrometria de massa através de ionização por impacto eletrônico a 70eV.

Pico n°	Ácido graxo	Principais fragmentos de massas															íon molecular
		74	87	43	41	55	29	27	59	75	57	186					
1	10:0	m/e %	100	43,9	43,3	30,8	24,1	20,8	13,1	12,4	10,1	9,5	0,6	200			
2	11:0	m/e %	74	87	43	41	55	29	28	27	57	59	1,0	214			
4	12:0	m/e %	100	44,3	39,9	31,0	21,3	20,9	11,6	11,4	10,7	10,5	2,0	228			
7	13:0	m/e %	74	87	43	41	55	29	75	28	57	27	1,6	242			
10	14:0	m/e %	100	48,5	41,9	33,3	23,8	21,2	12,5	11,9	11,8	10,2	2,0	256			
17	15:0	m/e %	74	87	43	41	55	29	75	57	59	69	2,5	270			
23	16:0	m/e %	100	48,2	41,1	32,9	24,3	21,4	13,5	12,4	10,5	10,0	3,5	284			
34	17:0	m/e %	74	87	43	41	55	29	75	28	57	59	3,6	298			
45	18:0	m/e %	100	51,8	46,0	32,9	25,7	22,0	16,1	15,1	13,5	10,0	5,4	326			
63	20:0	m/e %	74	87	43	41	55	29	57	75	29	143	5,1	368			
86	23:0	m/e %	100	54,5	46,4	30,7	28,8	19,0	17,2	15,7	12,1	10,7	8,9	382			
93	24:0	m/e %	74	87	43	41	55	75	57	29	143	59	7,0	7,0			

Ácido graxo saturado: pico base = 74

(continua)



Tabela 22 - Razão m/e e abundância relativa dos principais fragmentos de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões, obtidos por meio de espectrometria de massa através de ionização por impacto eletrônico a 70eV.

Pico nº	Ácido graxo	Principais fragmentos de massas												íon molecular
		(continua)												
Ácido graxo monoinsaturado: pico base = 55														
13	14:1n5	m/e %	55 100	41 71,4	74 51,8	69 41,3	43 33,7	87 30,7	84 25,4	83 24,9	67 24,2	96 23,2	240 1,7	
25	16:1n7	m/e %	55 100	41 90,6	74 56,3	43 55,3	69 51,4	87 36,5	84 31,1	83 30,6	67 29,7	96 23,1	(M-31=237) 5,7	
47	18:1n9	m/e %	55 100	41 80,7	43 62,6	69 58,5	74 49,9	83 40,9	84 35,1	67 33,1	29 31,7	57 31,4	296 1,5	
65	20:1n9	m/e %	55 100	41 72,8	43 65,6	69 55,3	74 41,7	83 38,3	97 34,1	57 32,2	29 29,9	84 28,8	(M-31=293) 6,0	
82	22:1n9	m/e %	55 100	43 75,3	41 68,2	69 51,8	74 42,3	83 37,6	57 33,1	97 28,8	87 26,5	67 24,6	(M-31=321) 6,1	
94	24:1n9	m/e %	55 100	43 63,1	41 60,8	69 54,8	74 38,9	83 37,2	83 34,9	97 29,1	87 28,3	67 25,6	(M-31=349) 7,1	
Ácido graxo diinsaturado: pico base = 67														
52	18:2n6	m/e %	67 100	41 82,4	55 74,8	81 73,4	54 50,9	68 47,6	95 41,3	82 41,3	29 36,8	79 33,0	294 4,3	
70	20:2n6	m/e %	67 100	55 89,0	41 79,1	81 79,0	82 53,6	54 50,5	68 50,2	95 49,8	43 39,4	96 39,2	322 4,0	

Tabela 22 - Razão m/e e abundância relativa dos principais fragmentos de ésteres metílicos de ácidos graxos padrões, obtidos por meio de espectrometria de massa através de ionização por impacto eletrônico a 70eV.

Pico n°	Ácido graxo	Principais fragmentos de massas												(conclusão)
		Principais fragmentos de massas												
Ácido graxo poliinsaturado n-6: pico base = 41														
54	18:3n6	m/e	41	67	79	80	55	81	29	93	43	91	292	
		%	100	99,1	92,9	70,9	60,6	51,9	51,2	42,8	41,0	36,5	-	
73	20:3n6	m/e	41	67	79	80	55	81	29	43	93	94	320	
		%	100	98,5	82,0	70,2	70,2	57,4	51,5	42,5	42,1	30,7	-	
75	20:4n6	m/e	41	79	67	80	91	55	29	93	43	81	318	
		%	100	81,3	79,8	74,2	67,3	52,2	51,2	36,7	35,4	31,2	0,5	
Ácido graxo poliinsaturado n-3: pico base = 79														
58	18:3n3	m/e	79	41	67	55	93	95	80	81	108	43	292	
		%	100	90,9	75,5	61,1	45,9	44,0	44,0	43,8	29,2	23,7	1,5	
76	20:3n3	m/e	79	41	67	55	80	95	81	93	108	43	(M-31=289)	
		%	100	77,3	73,8	62,1	49,4	49,3	42,4	39,6	32,4	29,0	1,4	
88	22:3n3	m/e	79	41	67	55	95	43	81	80	108	93	348	
		%	100	91,8	80,9	80,5	62,1	51,4	48,3	48,1	38,6	38,2	3,2	
59	18:4n3	m/e	79	41	67	91	93	55	80	77	105	108	(M-69=221)	
		%	100	75,2	53,8	44,8	41,1	38,3	38,3	23,7	22,6	21,0	0,3	
79	20:5n3	m/e	79	41	67	91	55	93	80	77	105	106	-	
		%	100	80,7	65,7	64,7	39,5	39,0	35,1	30,9	28,9	21,7	-	
92	22:6n3	m/e	79	41	67	55	95	43	80	81	108	93	(M-24=318)	
		%	100	88,3	81,3	78,7	57,8	54,8	49,1	46,8	43,2	40,6	2,0	

*et al.* (1959), Khan & Scheinmann (1978), Alexander *et al.* (1985) e Marzouki *et al.* (1988), incluindo nesta última referência, um derivado 2,3 dimetil de 18:2n6. Por outro lado, um pico base 79 foi encontrado por Daikoku *et al.* (1982) para os ácidos 18:2n6 e 20:2 (sem designação da família), cujos espectros foram obtidos com energia de 20eV. Pode ser que esta energia de ionização mais baixa seja a responsável por esta diferença, já que nos espectros de massas de outros ácidos graxos poliinsaturados analisados por Daikoku, todos apresentaram o mesmo pico base m/e 79. Como veremos adiante, este pico foi característico apenas para os poliinsaturados da família n3. A exemplo dos ácidos graxos saturados e monoenos, os picos de hidrocarbonetos também predominaram entre os principais fragmentos de massas.

Um método foi descrito por Fellenberg *et al.* (1987) para auxiliar a definição da família dos ácidos graxos poliinsaturados metileno interrompido, através da simples comparação das intensidades relativas dos três íons de massas m/e 108, 150 e 192. Segundo os autores, os ácidos polienóicos da família n3 apresentaram como característica uma abundância relativa maior para o íon m/e 108, enquanto para os ácidos das famílias n6 e n9, as intensidades relativas foram maiores para os fragmentos m/e 150 e 192, respectivamente. Nota-se pelos resultados abaixo que a técnica de Fellenberg foi confirmada com os ácidos 18:2n6 e 20:2n6, mesmo apresentando intensidades relativas menores do que aquelas relatadas por Fellenberg (as intensidades obtidas por Fellenberg estão entre parênteses):

ácido graxo	m/e 150	m/e 108	m/e 192
18:2n6	6,7 (12,5)	6,4 (10,0)	nd (2,1)
20:2n6	6,5 (10,1)	5,2 (6,0)	1,7 (4,0)

O fragmento M-31 apresentou uma abundância relativa ligeiramente superior ao fragmento M-32, e na ausência do pico do íon molecular, poderão ser úteis na determinação dos íons moleculares dos ésteres metílicos dos ácidos dienóicos. Esses fragmentos tiveram as seguintes razões m/e e abundâncias relativas para os ácidos 18:2n6 e 20:2n6:

ácido graxo	m/e	%
18:2n6	263 (M-31)	4,0
	262 (M-32)	3,1
20:2n6	291 (M-31)	4,0
	290 (M-32)	3,4

Um outro fragmento, m/e 91 ( $C_7H_7^+$ , íon tropílio), formado por rearranjo e ciclização, apresenta como característica um aumento de intensidade relativa, com o aumento do número de duplas ligações, podendo assim ser de utilidade nas identificações de ácidos graxos em amostras complexas (Hallgren *et al.*, 1959; Alexander *et al.*, 1985; Fellenberg *et al.* 1987). Este fragmento não foi observado nos padrões 18:2n6 e 20:2n6, provavelmente por causa da atenuação usada na obtenção dos espectros de massas, uma vez que este íon apresentou-se em intensidades variáveis de 3-26% em vários isômeros de 18:2, e a intensidade relativa do 18:2n6 sendo de 12% (Zeman & Scharmann, 1972).

#### d) ácidos graxos poliinsaturados

Neste trabalho, considera-se poliinsaturados os ácidos graxos contendo 3 ou mais duplas ligações. Entre os padrões disponíveis, 3 ácidos graxos pertenceram à família n6 (18:3n6, 20:3n6 e 20:4n6) e 6 ácidos graxos pertenceram à família n3 (18:3n3, 18:4n3, 20:3n3, 20:5n3, 22:3n3 e 22:6n3).

Independente da família, a maioria dos fragmentos principais (Tabela 22) foram íons do tipo  $R^+$  (hidrocarbonetos), usualmente de pouca importância, exceto os íons picos bases e m/e 91.

Um pico base de m/e 41 ( $C_3H_5^+$ ) foi observado para todos os membros da família n6, enquanto esse pico foi de m/e 79 ( $C_6H_7^+$ ) para os ésteres metílicos da família n3. Esses íons serviram como um diagnóstico das famílias dos ácidos graxos das amostras de peixes, embora alguns dados na literatura sejam conflitantes. Por exemplo, um pico base m/e 41 foi citado por Zeman & Scharmann (1972) para

o ácido 18:3n6 e m/e 79 para 18:3n3, enquanto o fragmento m/e 79 foi descrito por Araki *et al.* (1976), como pico base dos ésteres metílicos de 20:4n6, 22:5n6 e 22:6 (pela ordem de eluição dos ácidos graxos na coluna DEGS usada e por ser o mais comum, este ácido provavelmente trata-se do n3). Em outro estudo, Daikoku *et al.* (1982) encontraram para os ácidos 18:3n3, 20:3n9, 20:4n6, 22:5n6, 22:5n3 e 22:6n3, o pico base m/e 79, independente da família. Já Alexander *et al.* (1985) observaram para os ácidos graxos triinsaturados 18:3n6, 18:3n3, 20:3n6 e 20:3n3 um pico base comum de m/e 67 e um pico m/e 79 único para os ácidos contendo 4 ou mais duplas ligações: 20:4n6, 20:5n3, 22:4n6, 22:5n6, 22:5n3 e 22:6n3. Por outro lado, os resultados de Héthelyi *et al.* (1987) destacaram um pico base m/e 67 para 18:3n6 e m/e 80 para 18:3n3. Finalmente, Hallgren *et al.* (1959) encontraram para o metil linolenato (18:3n3) um pico base de m/e 79, que também foi o pico base de 18:4n3, 20:4n3 e 22:6n3 descrito por Horman & Traitler (1989).

Um bom número de ácidos graxos poliinsaturados apresentaram íons moleculares e/ou outros íons característicos (M-31, M-69 e M-24) (Tabelas 22 e 23) que contribuíram para suas identificações.

Espectros de massas obtidos sob diferentes condições de temperatura e energia de ionização, uso de diferentes sistemas cromatógrafos gasosos - espectrômetros de massas, picos poucos resolvidos ou mesmo identificações equivocadas de ácidos graxos, talvez sejam responsáveis pelas diferenças nos valores dos picos base relatados pela literatura, para os ácidos graxos mono, di e poliinsaturados.

Como mostrado anteriormente, a intensidade relativa do fragmento m/e 91 deve aumentar com o aumento do número de duplas ligações na estrutura química dos ácidos graxos poliinsaturados (Hallgren *et al.*, 1959). Dos 9 padrões de ácidos graxos poliinsaturados analisados neste trabalho, o ácido 22:6n3 apresentou uma abundância relativa baixa de 21,5%; esta percentagem foi inferior àquelas encontradas para os ácidos 18:3n3 e 20:5n3 (ver resultados abaixo), e sendo, inclusive, o pico base no relato de Hallgren *et al.* (1959), mas não no de Horman & Traitler (1989). Na Tabela 23, o fragmento m/e 91 de 22:6n3 foi de 75,8%. As abundâncias

relativas do fragmento m/e 91, em ordem crescente, para os 8 padrões de ácidos poliinsaturados restantes, foram as seguintes: 20:3n3 - 21,0%, 22:3n3 - 21,2%, 18:3n3 - 23,7%, 20:3n6 - 27,3%, 18:3n6 - 36,5%, 18:4n3 - 44,8%, 20:5n3 - 64,7% e 20:4n6 - 67,3%. Além do desvio observado com o 22:6n3, nota-se também uma inversão, não esperada, entre os ácidos 20:4n6 e 20:5n3.

Os íons m/e 108 e 150, sugeridos por Fellenberg *et al.* (1987) como um diagnóstico da família, tiveram as seguintes abundâncias relativas:

família	ácido graxo	m/e 108	m/e 150
n6	18:3n6	8,0	10,0
n6	20:3n6	10,2	12,3
n6	20:4n6	3,4	14,4
n3	18:3n3	29,2	3,5
n3	18:4n3	21,0	nd
n3	20:3n3	32,4	3,8
n3	22:3n3	38,6	3,7
n3	20:5n3	17,4	nd
n3	23:6n3	43,2	3,8

Estes resultados, além de corroborarem com a sugestão de Fellenberg, no sentido de usar estes íons como um diagnóstico da família, também serviram para confirmar que os ácidos graxos poliinsaturados de famílias diferentes apresentam picos bases diferentes, com m/e 41 e 79, respectivamente para as famílias n6 e n3.

#### e) ácidos graxos ramificados

Dos 7 ácidos graxos ramificados (i-14:0, i-15:0, i-16:0, i-17:0, i-18:0, ai-15:0 e ai-17:0) presentes nas amostras de peixes (Tabela 13), somente foi possível obter os espectros de massa de i-14:0, i-15:0 e i-17:0 cujos fragmentos de massa principais encontram-se na Tabela 23.

A exemplo dos ácidos saturados de cadeia linear, os ramificados

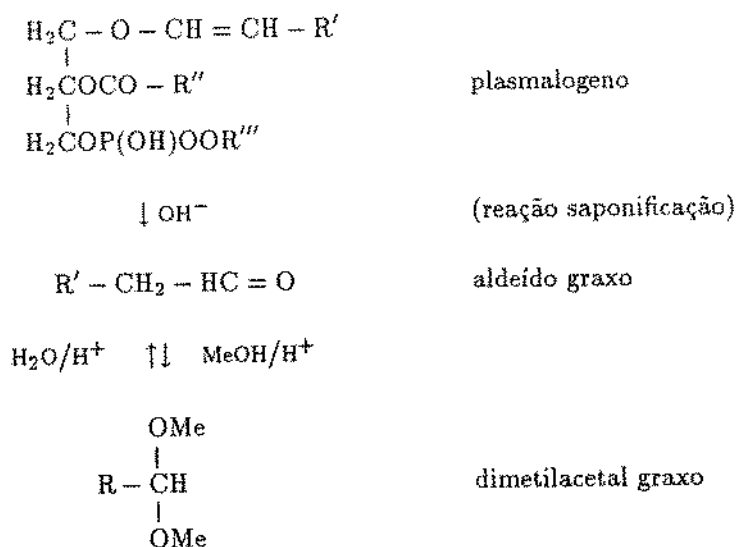
também apresentaram o fragmento m/e 74 como pico base; a maioria dos outros fragmentos principais foi íons hidrocarbonetos, exceto m/e 75, 87 e 199, que foram íons metoxicarbonilas.

Para Marzouki *et al.* (1988), a diferenciação entre os EMAG normais e iso-ramificados pode ser feita pela comparação de altura do fragmento M-43, que, relativamente foi maior para os ácidos ramificados. Além disso, comparações dos fragmentos M-15, M-29 e M-31 também podem fornecer informações adicionais.

As intensidades dos fragmentos M-43 para os ácidos ramificados i-14:0 (7,5%) e i-17:0 (7,5%) e normais 14:0 (5,4%) e 17:0 (5,3%) estão de acordo com o critério sugerido por Marzouki *et al.* (1988), o mesmo não acontecendo para o i-15:0, cuja abundância relativa do fragmento M-43 foi menor do que o do correspondente ácido normal. Os fragmentos M-15, M-29 e M-31 não foram observados em nenhum dos espectros de massa dos ácidos ramificados identificados.

#### f) dimetilacetais

Quatro picos (Tabela 13) observados nos cromatogramas de algumas amostras de peixes foram identificados como dimetilacetais. Segundo Vannieuwenhuyze & Sandra (1987), os dimetilacetais podem se originar de plasmalogenos, de acordo com o seguinte mecanismo:



Os 3 dimetilacetais cujos fragmentos de massas principais estão mostrados na Tabela 24 apresentaram um pico base m/e 75, o que corresponde ao íon  $\text{CH}_3 - \text{O} - \overset{\text{+OH}_2}{\underset{|}{\text{C}}} = \text{CH}_2$  (formado por clivagem 2,3 com rearranjo de 2 átomos de hidrogênio) (Ryhage & Stenhagen, 1963). O quarto componente (14:0DMA), encontrado em quantidades “traços” e frequência muito rara nas amostras de peixes, não teve seu espectro de massa registrado (sua identificação baseou-se nos outros parâmetros).

As intensidades relativas dos outros fragmentos principais (Tabela 23) foram menores do que 23%, em concordância com os resultados descritos por Lin *et al.* (1989). Esses íons se compõem basicamente de fragmentos hidrocarbônicos.

Notou-se também, nos espectros de massa dos dimetilacetais, a ausência de íons moleculares e de picos típicos de EMAG, como o fragmento m/e 74 e os íons contendo o grupo metoxicarbonílico  $[-(\text{CH}_2)_n\text{COOCH}_3]^+$ .

Por outro lado, a presença de fragmentos m/e 255 (1,7%), 283 (1,3%) e 281 (2,2%) para 16:0DMA, 18:0DMA e 18:1DMA, respectivamente (Tabela 23), foram considerados como sendo íons M-31 (perda de  $\text{OCH}_3$ ), com base no trabalho de Marx *et al.* (1989), que encontraram os fragmentos m/e 75 (pico base) e m/e 253



Tabela 23 - Razão m/e e abundância relativa dos principais fragmentos de ésteres metílicos de ácidos graxos de peixes, obtidos por meio de espectrometria de massa através de ionização por impacto eletrônico a 70eV.

Pico n°	Ácido graxo	Principais fragmentos de massas															íon molecular
		74	43	87	41	55	29	57	75	59	199						
8	i-14:0	m/e %	100	56,0	52,9	38,3	26,8	19,7	16,5	16,4	12,4	12,4	12,4	12,4	(M-43=199) 12,4		
10	14:0	m/e %	100	87	43	41	55	29	75	57	59	69	242	2,1	256		
14	i-15:0	m/e %	100	50,0	48,9	37,7	25,9	24,8	16,3	14,7	11,1	10,9	2,2	2,2	256		
17	15:0	m/e %	100	65,2	54,5	44,6	33,3	23,7	20,3	17,6	14,2	14,2	256	2,8	256		
21	16:0DMA	m/e %	100	55,5	53,0	31,9	26,4	16,9	15,8	14,7	11,5	9,1	2,8	2,8	(M-31=255) 1,7		
23	16:0	m/e %	100	10,7	9,9	7,8	7,2	6,6	6,1	4,7	4,6	3,9	270	3,3	270		
25	16:1n7	m/e %	100	52,7	51,1	35,3	28,3	21,7	18,5	16,3	12,8	9,7	268	1,6	268		
27	i-17:0	m/e %	100	63,1	53,9	43,1	35,6	22,4	20,3	20,0	17,2	12,4	284	3,5	284		
29	16:2n6	m/e %	100	67,7	65,9	54,4	40,4	33,2	32,9	29,4	24,2	20,8	266	2,6	266		
33	16:3n6	m/e %	100	93,5	77,0	54,9	43,5	42,5	41,4	38,6	33,7	28,0	264	1,6	264		
34	17:0	m/e %	100	57,5	52,6	34,4	29,0	20,3	20,3	18,3	12,4	12,3	284	4,1	284		
38	16:3n3	m/e %	100	92,7	70,6	60,9	43,0	40,8	36,2	35,4	32,7	32,3	264	-	264		
40	18:0DMA	m/e %	100	43	41	71	55	57	29	47	69	76	(M-31=283) 1,3	1,3	(M-31=283) 1,3		
43	18:1DMA	m/e %	100	22,7	17,6	13,0	12,9	11,6	9,4	8,3	8,2	7,4	(M-31=281) 2,2	2,2	(M-31=281) 2,2		

Tabela 23 - Razão m/e e abundância relativa dos principais fragmentos de ésteres metílicos de ácidos graxos de peixes, obtidos por meio de espectrometria de massa através de ionização por impacto eletrônico a 70eV.

Pico nº	Ácido graxo	Principais fragmentos de massas															íon molecular
		m/e %	74	43	87	41	55	29	75	57	69	143	298				
45	18:0	m/e %	100	59,2	55,4	35,4	29,6	23,9	23,9	23,9	22,1	13,9	12,0	5,4	298		
47	18:1n9	m/e %	100	87,2	68,5	55,4	48,9	47,8	38,6	37,1	32,6	32,4	84	84	(M-31=265)		
48	18:1n7	m/e %	100	86,1	63,3	55,7	43,1	37,5	33,2	27,6	27,3	27,1	87	87	10,5		
52	18:2n6	m/e %	100	98,6	77,3	61,8	53,1	42,6	39,1	37,4	34,7	33,4	95	95	294		
54	18:3n6	m/e %	100	80,9	72,6	56,3	55,7	50,8	45,4	43,3	33,8	33,2	93	93	5,4		
55	19:0	m/e %	100	69,1	59,8	53,8	49,2	40,2	28,3	27,9	26,3	19,0	69	69	292		
56	19:1n11	m/e %	100	71,4	61,7	47,0	39,5	38,7	36,5	29,9	27,9	26,5	84	84	312		
58	18:3n3	m/e %	100	93,5	76,2	73,1	52,1	46,0	44,3	42,0	39,0	32,3	45	45	5,5		
63	20:0	m/e %	100	67,4	67,2	44,6	40,0	32,1	30,6	29,0	21,7	19,0	69	69	-		
65	20:1n9	m/e %	100	78,8	72,6	55,2	39,1	37,8	37,0	33,7	31,7	29,9	84	84	(M+1=325)		
70	20:2n6	m/e %	100	79,6	76,7	71,8	46,9	45,0	43,7	43,5	41,1	35,3	96	96	1,6		
71	20:3n9	m/e %	100	73,7	73,5	70,7	68,2	65,8	55,9	54,9	44,4	43,8	81	81	-		
72	20:2n3	m/e %	100	96,7	75,7	74,3	70,5	51,2	51,0	50,5	46,5	39,5	95	95	-		

Tabela 23 - Razão m/e e abundância relativa dos principais fragmentos de ésteres metílicos de ácidos graxos de peixes, obtidos por meio de espectrometria de massa através de ionização por impacto eletrônico a 70eV.

Pico nº	Ácido graxo	Principais fragmentos de massas															(conclusão)	
		41	67	79	55	80	81	29	43	93	94	320						
73	20:3n6	m/e 100	98,9	82,6	70,5	66,5	54,9	48,9	44,6	42,2	32,9	-	-	-	-	-	-	-
74	22:0	m/e 100	43	87	55	57	41	75	29	71	83	-	-	-	-	-	-	-
75	20:4n6	m/e 100	72,1	63,3	36,9	32,4	31,9	27,5	23,8	17,0	15,9	-	-	-	-	-	-	-
76	20:3n3	m/e 100	41	79	67	80	91	55	29	93	43	81	35,9	-	-	-	-	-
77	20:4n3	m/e 100	90,0	77,0	66,0	61,0	59,0	47,8	45,1	41,8	35,9	-	-	-	-	-	-	-
78	20:4n3	m/e 100	41	55	67	95	80	43	81	93	108	-	-	-	-	-	-	-
79	20:5n3	m/e 100	89,5	78,6	71,9	49,5	46,2	41,8	40,2	40,2	31,6	-	-	-	-	-	-	-
80	22:0	m/e 100	79	41	67	55	80	93	91	81	29	43	27,2	-	-	-	-	-
81	20:5n3	m/e 100	93,7	69,0	58,5	49,5	46,5	43,5	31,5	31,0	27,2	-	-	-	-	-	-	-
82	20:5n3	m/e 100	41	91	67	93	55	80	77	105	106	-	-	-	-	-	-	-
83	21:4n6	m/e 100	78,7	67,1	65,8	40,3	39,2	36,4	32,7	29,7	23,9	-	-	-	-	-	-	-
84	22:0	m/e 100	74	43	87	55	57	41	75	29	71	83	-	-	-	-	-	-
85	21:6n3	m/e 100	72,1	63,3	36,9	32,4	31,9	27,5	23,8	17,0	15,9	-	-	-	-	-	-	-
86	21:4n6	m/e 100	41	79	67	91	55	80	93	29	77	81	-	-	-	-	-	-
87	22:4n6	m/e 100	88,4	73,7	53,6	46,9	39,9	37,7	30,5	29,4	27,4	-	-	-	-	-	-	-
88	21:6n3	m/e 100	41	67	80	55	91	29	93	81	43	-	-	-	-	-	-	-
89	22:5n6	m/e 100	99,1	81,3	66,6	59,8	55,0	50,6	40,5	36,4	28,7	-	-	-	-	-	-	-
90	22:4n6	m/e 100	41	67	79	80	55	91	93	29	81	43	-	-	-	-	-	-
91	22:5n3	m/e 100	89,7	79,5	71,4	66,9	51,4	47,8	45,9	41,4	35,5	-	-	-	-	-	-	-
92	22:5n6	m/e 100	41	79	91	67	80	55	29	77	93	43	-	-	-	-	-	-
93	22:5n3	m/e 100	88,5	70,7	69,5	47,9	43,1	38,7	34,8	34,8	29,3	-	-	-	-	-	-	-
94	22:5n3	m/e 100	79	41	67	91	55	80	93	77	29	81	-	-	-	-	-	-
95	22:6n3	m/e 100	97,0	74,7	58,2	54,5	41,7	40,1	30,7	30,1	29,5	-	-	-	-	-	-	-
96	22:6n3	m/e 100	79	41	91	67	93	55	77	80	105	92	-	-	-	-	-	-
97	22:6n3	m/e 100	94,5	75,8	61,5	38,3	38,2	36,2	30,2	28,7	25,5	-	-	-	-	-	-	-

Abreviaturas: DMA - dimetilacetato; i - íso; ai - anteíso

(M-31) para o composto 9-cis-hexadecenal dimetilacetal (16:1n7 DMA) sintetizado em laboratório.

No espectro de massa de 18:1DMA, não houve fragmentos que conduzissem à localização da posição da dupla ligação.

## 5.4. Composição de Ácidos Graxos de Peixes

Os cromatogramas obtidos para as quatro espécies investigadas (Figuras 11 a 34) demonstram a complexidade da composição de ácidos graxos de peixes, necessitando para a identificação a utilização cautelosa dos vários parâmetros.

### 5.4.1. Composição de ácidos graxos de pacu

No pacu foram detectados 66 ácidos graxos na fração de lipídios totais. Os principais ácidos graxos foram: oléico ( $41,0 \pm 1,7\%$ ), palmítico ( $24,2 \pm 1,2\%$ ), linoléico ( $9,1 \pm 0,5\%$ ), palmitoléico ( $8,9 \pm 0,7\%$ ), esteárico ( $7,7 \pm 0,5\%$ ) e mirístico ( $3,2 \pm 0,5\%$ ) (Tabela 24). Nas Figuras 11 e 12 estão apresentados os cromatogramas típicos de EMAG de lipídios totais de pacu em colunas de Carbowax 20M e SE-54, respectivamente.

Machado (1989) determinou apenas os ácidos graxos principais do pacu, utilizando uma coluna empacotada com 10% DEGS. As porcentagens obtidas assemelham-se às obtidas no presente trabalho: oléico, 42,8%; palmítico, 22,7%; linoléico, 10,3%; palmitoléico, 8,92%; esteárico, 8,1% e mirístico, 2,7%. Foi relatado também 1,8% de ácido linolênico, que no presente trabalho foi obtido apenas ao nível de  $0,5 \pm 0,1\%$ . Esta discrepância é compreensível, uma vez que Machado não analisou os ácidos graxos de concentrações menores, assim aumentando proporcionalmente a porcentagem do ácido linolênico.

Tabela 24 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

Píco nº	Ácido graxo	Verão			Meses intermediários			Inverno			média ± dp
		março	março	abril	maio	junho	agosto	agosto	agosto		
1	10:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
2	11:0	tr	tr	tr	nd	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)
3	11:1	tr	tr	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)
4	12:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
5	X1	tr	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)
6	X2	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
7	13:0	nd	tr	tr	nd	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)
8	i-14:0	nd	tr	tr	nd	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)
10	14:0	3,5ab	3,2b	3,8a	3,4ab	2,6c	3,3ab	2,5c	3,2 ± 0,5	3,2 ± 0,5	3,2 ± 0,5
13	14:1n5	0,4a	0,4a	0,4a	0,4a	0,3a	0,4a	0,3a	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0
14	i-15:0	tr	tr	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)
15	ai-15:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
17	15:0	0,2a	0,2a	0,2a	0,1a	0,1a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
18	15:1n9	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20	i-16:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
21	16:0DMA	0,2a	0,2a	0,2a	0,2a	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
22	15:2n5	tr	tr	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)	(nd-tr)	(nd-tr)
23	16:0	25,0ab	23,8bc	25,8a	25,5a	22,9c	23,7bc	22,9c	24,2 ± 1,2	24,2 ± 1,2	24,2 ± 1,2
25	16:1n7	9,5ab	8,5d	8,9c	9,2bc	9,4ab	9,7a	7,6e	8,9 ± 0,7	8,9 ± 0,7	8,9 ± 0,7
26	16:1n5	0,1	0,1	0,1	nd	nd	nd	nd	(nd-0,1)	(nd-0,1)	(nd-0,1)
27	i-17:0	0,1a	0,1a	0,1a	tra	tra	0,1a	0,1a	(tr-0,1)	(tr-0,1)	(tr-0,1)
30	ai-17:0	0,1ab	0,1ab	0,1ab	trb	trb	0,1ab	0,2a	(tr-0,2)	(tr-0,2)	(tr-0,2)
32	16:2n4	tr	tr	nd	nd	tr	0,1	nd	(nd-0,1)	(nd-0,1)	(nd-0,1)
33	16:3n6	nd	tr	tr	nd	tr	tr	tr	(nd-tr)	(nd-tr)	(nd-tr)
34	17:0	0,2a	0,2a	0,2a	0,2a	0,1a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1

Tabela 24 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

Pico	Ácido graxo	Verão			Meses intermediários			Inverno			média ± dp
		março	março	abril	maio	junho	agosto	agosto	agosto		
36	17:1n9	0,2ab	0,2ab	0,2ab	0,2ab	0,1b	0,2ab	0,3a	0,2 ± 0,1		
38	16:3n3	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr		
40	18:0DMA	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr		
43	18:1DMA	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr		
45	18:0	8,0a	8,0a	7,9a	7,5b	6,7c	7,7ab	7,9a	7,7 ± 0,5		
46	18:1n11	tr	tr	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)		
47	18:1n9	39,8cd	40,6bc	38,6d	41,5bc	44,0a	40,8bc	41,9b	41,0 ± 1,7		
49	18:1n5	0,2a	0,2a	0,3a	0,2a	0,3a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0		
50	18:1n4	0,2a	0,1a	0,2a	0,2a	0,2a	0,1a	0,2a	0,2 ± 0,0		
51	18:1n3	tr	0,1	0,1	nd	nd	nd	nd	(nd-0,1)		
52	18:2n6	9,2bc	8,9cd	9,4ab	9,2bc	8,4d	8,7d	9,8a	9,1 ± 0,5		
53	18:2n4	tr	tr	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)		
54	18:3n6	0,2a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,2a	0,1 ± 0,0		
55	19:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr		
57	19:1n9	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr		
58	18:3n3	0,5ab	0,5ab	0,5ab	0,4b	0,4b	0,4b	0,6a	0,5 ± 0,1		
59	18:4n3	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0		
61	19:2n5	tr	tr	tr	nd	tr	tr	tr	(nd-tr)		
63	20:0	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0		
64	20:1n11	0,1	0,1	tr	nd	nd	nd	nd	(nd-0,1)		
65	20:1n9	0,8b	0,8b	0,6bc	0,5c	0,6bc	0,8b	1,1a	0,7 ± 0,2		
67	20:1n7	tra	0,1a	tra	tra	tra	tra	tra	(tr-0,1)		
69	20:2n9	0,2a	0,2a	0,2a	0,2a	0,1a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0		
70	20:2n6	0,6ab	0,7a	0,6ab	0,6ab	0,5b	0,6ab	0,6ab	0,6 ± 0,1		
+	+										
71	20:3n9										

(continua)

Tabela 24 - Composição percentual de ácidos graxos de lípidios totais de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

Pico	Ácido	Verão			Meses intermediários			Inverno			média ± dp	( conclusão)
		março	março	abril	maio	junho	agosto	agosto	agosto			
nº	graxo	março	março	abril	maio	junho	agosto	agosto	agosto	agosto	média ± dp	( conclusão)
72	20:2n3	nd	tr	tr	nd	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
73	20:3n6	0,4a	0,4a	0,4a	0,3a	0,4a	0,4a	0,4a	0,4a	0,4a	0,4 ± 0,0	
75	20:4n6	0,8ab	0,7b	0,7b	0,7b	0,8ab	0,8ab	0,8ab	0,9a	0,9a	0,8 ± 0,0	
76	20:3n3	nd	tr	tr	nd	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
78	20:4n3	tr	0,1	tr	nd	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-0,1)	
79	20:5n3	0,1a	0,1a	0,1a	tra	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0	
80	22:0	tr	tr	tr	nd	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
81	22:1n11	nd	tr	nd	nd	nd	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
82	22:1n9	nd	tr	nd	nd	nd	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
83	21:4n6	nd	tr	nd	nd	nd	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
84	21:5n6	tr	tr	nd	nd	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
86	23:0	nd	tr	nd	nd	nd	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
87	22:4n6	tra	tra	0,1a	tra	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	(tr-0,1)	
89	22:5n6	0,3ab	0,2b	0,3ab	0,2b	0,4a	0,2ab	0,2ab	0,2ab	0,2ab	0,3 ± 0,1	
91	22:5n3	tra	0,1a	tra	tra	tra	tra	tra	tra	tra	(tr-0,1)	
92	22:6n3	0,6a	0,6a	0,4bc	0,3c	0,6a	0,6a	0,4bc	0,5ab	0,5ab	0,5 ± 0,1	

<sup>1</sup> Para os períodos de verão (março) e inverno (agosto), os valores foram obtidos de determinações em duplicatas, em dois lotes individuais, cada um composto por 6 peixes. Para os meses intermediários, os valores mensais foram obtidos de determinações em duplicatas, em lotes compostos por 6 peixes.

<sup>2</sup> Valores na mesma linha horizontal não mostrando a mesma letra são significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

Abreviaturas: X - não identificado; tr - traço; nd - não detectado; dp - desvio padrão; DMA - dimetilacetato; i - iso; ai - anteiso.

# Resposta do Detector

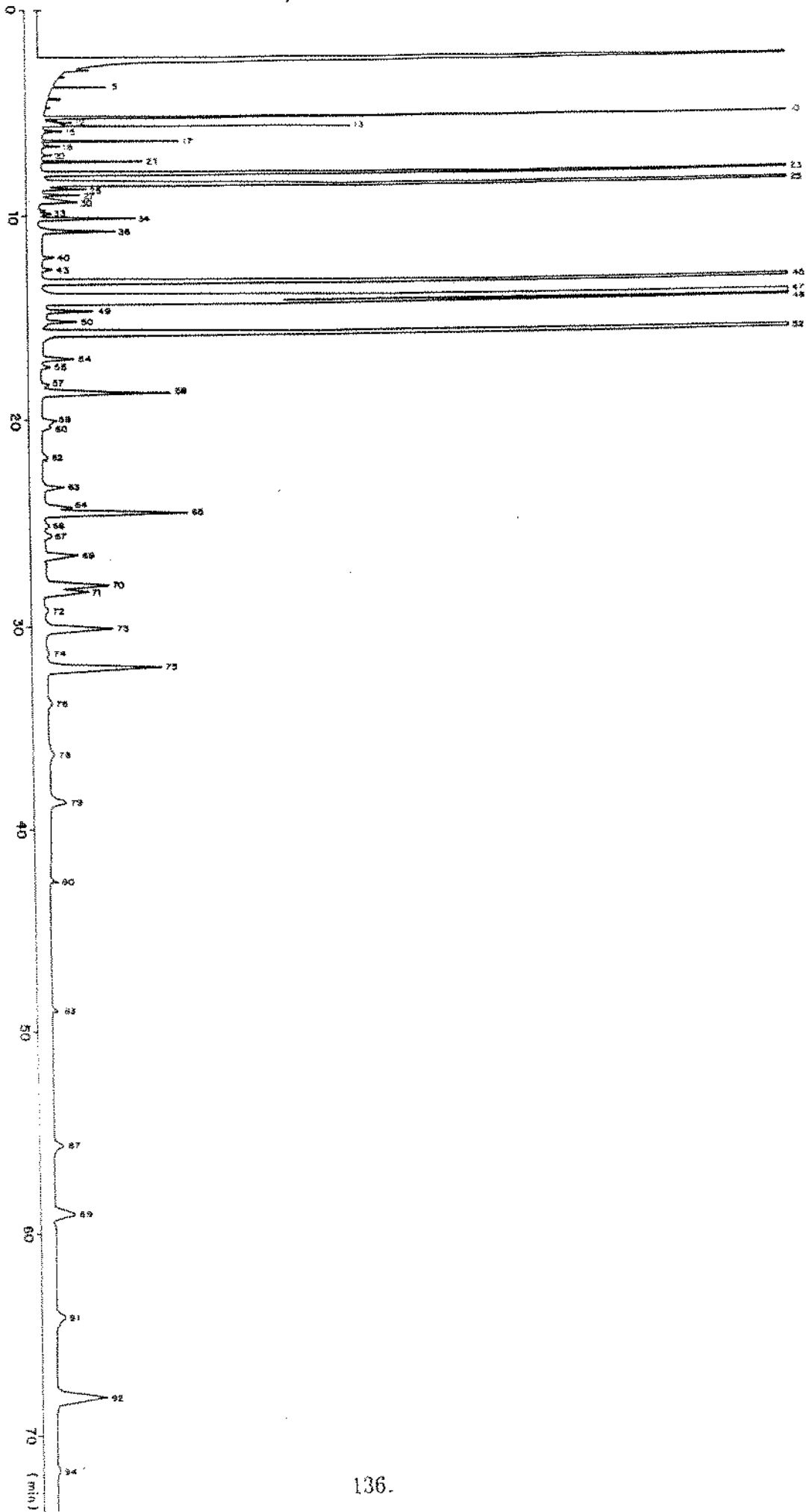


Figura 11 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lípidios totais de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, em coluna de Carbowax 20M.

Temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  210°C



# Resposta do Detector

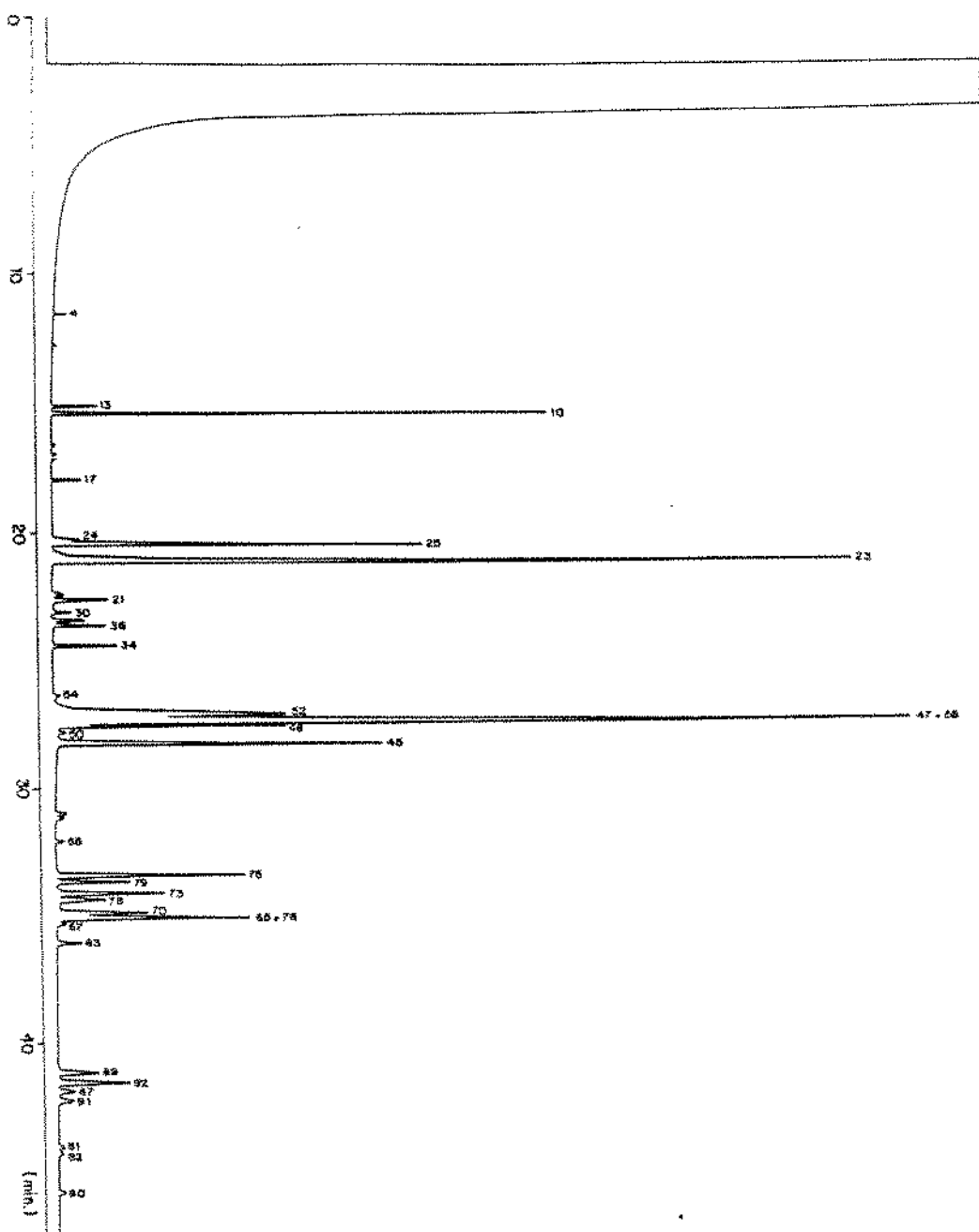


Figura 12 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lípidos totais de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, em coluna de SE-54.

Temperatura da coluna: 50°C/4min  $\xrightarrow{50^\circ\text{C}/\text{min}}$  170°C  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  230°C/10min  $\xrightarrow{5^\circ\text{C}/\text{min}}$  250°C

Em outro estudo, Pezzato (1990), usando uma coluna capilar, identificou 9 picos nos lipídios totais da amostra "controle" de alevinos de pacu (peso médio de  $14,2 \pm 1,8$ g). Os principais ácidos graxos foram: 18:1n7+n9 (39,6%), palmítico (24,0%), 18:1n5 (10,9%), palmitoléico (8,6%), esteárico (6,8%) e mirístico (2,7%). O teor de linoléico foi de 1,0%, extremamente baixo quando comparado com 16,7% para uma amostra de alevinos com peso médio de 20g (Tabela 7) e com 9,1% (Tabela 24) e 10,3% (Machado, 1989) para pacu adulto. Por outro lado, a presença do ácido 18:1n5 com alto teor (10,9%) também relatado por Pezzato, pareceu muito estranho, pois este ácido foi encontrado em baixos teores em peixes marinhos (Eaton *et al.*, 1975) e de água doce (Ackman *et al.*, 1980). Nos lipídios totais do pacu adulto, o teor médio deste ácido foi de  $0,2 \pm 0,0$  (Tabela 24). No trabalho de Pezzato, nem em material e métodos, nem em resultados e discussão foram encontrados menções que explicassem os resultados encontrados para os ácidos 18:1n5 e 18:2n6.

Pezzato (1990) descreveu também a presença de um ácido graxo de ocorrência pouco relatada em peixes, o ácido 21:5n3, que junto com o ácido 22:1n9, participaram com 0,7%. Em pacu adulto, foram detectados os ácidos 21:4n6, 21:5n6 e 22:1n9 somente em quantidades traços (Tabela 24).

A composição da fração de lipídios neutros refletiu o mesmo perfil que o de lipídios totais, com os seguintes ácidos graxos como principais: oléico ( $42,4 \pm 1,9\%$ ), palmítico ( $24,5 \pm 1,1\%$ ), palmitoléico ( $9,2 \pm 0,8\%$ ), linoléico ( $9,0 \pm 0,4\%$ ), esteárico ( $7,6 \pm 0,6\%$ ) e mirístico ( $3,2 \pm 0,4\%$ ) (Tabela 25). Cromatogramas típicos de EMAG de lipídios neutros separados nas colunas de CW20M e SE-54 estão mostrados nas Figuras 13 e 14, respectivamente.

Houve uma grande mudança na composição em relação aos fosfolipídios, com aumento marcante dos poliinsaturados (Figuras 15 e 16). O ácido oléico permaneceu majoritário, mas em porcentagem reduzida ( $17,5 \pm 1,8\%$ ), seguido por ácido palmítico que também diminuiu em proporção, mas em grau menor ( $16,7 \pm 2,0\%$ ) (Tabela 26). Os ácidos 20:4n6 e 22:6n3 que apresentaram apenas  $0,8 \pm 0,0\%$  e  $0,5 \pm 0,1\%$ , respectivamente, nos lipídios totais, aumentaram para

Tabela 25 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(continua)

Pico nº	Ácido graxo	Verão			Meses intermediários			Inverno			média ± dp
		março	março	abril	maio	junho	agosto	agosto	agosto		
1	10:0	tr	tr	tr	nd	nd	nd	tr	tr	(nd-tr)	
2	11:0	nd	nd	tr	nd	nd	nd	tr	tr	(nd-tr)	
5	X1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	
7	13:0	nd	nd	tr	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
8	i-14:0	nd	nd	tr	nd	nd	tr	tr	tr	(nd-tr)	
10	14:0	3,4ab	3,2bc	3,8a	3,2bc	2,8cd	3,7ab	2,6d	2,6d	3,2 ± 0,4	
12	14:1n7	tr	tr	tr	tr	tr	nd	nd	nd	(nd-tr)	
13	14:1n5	0,4a	0,4a	0,4a	0,3ab	0,4a	0,4a	0,2b	0,2b	0,4 ± 0,1	
14	i-15:0	tr	tr	tr	tr	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)	
15	ai-15:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	
17	15:0	0,2a	0,2a	0,2a	0,1a	0,1a	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0	
18	15:1n9	nd	nd	tr	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
20	i-16:0	nd	nd	tr	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
23	16:0	25,2ab	23,9bc	26,5a	24,5bc	23,3c	24,3bc	23,5c	23,5c	24,5 ± 1,1	
25	16:1n7	9,7a	8,7b	9,0b	9,6a	9,9a	10,0a	7,9c	7,9c	9,2 ± 0,8	
26	16:1n5	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)	
27	i-17:0	tra	tra	0,1a	tra	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	(tr-0,1)	
30	ai-17:0	trb	trb	trb	trb	trb	0,1ab	0,2a	0,2a	(tr-0,2)	
32	16:2n4	tr	tr	tr	tr	nd	nd	tr	tr	(nd-tr)	
34	17:0	0,2ab	0,2ab	0,2ab	0,2ab	0,1b	0,2ab	0,3a	0,3a	0,2 ± 0,1	
36	17:1n9	0,2ab	0,2ab	0,2ab	0,2ab	0,1b	0,2ab	0,3a	0,3a	0,2 ± 0,1	
38	16:3n3	nd	nd	nd	nd	nd	tr	tr	tr	(nd-tr)	
45	18:0	7,9a	8,1a	7,8a	7,3ab	6,5b	7,7a	8,0a	8,0a	7,6 ± 0,6	
47	18:1n9	41,5bcd	43,4ab	39,6d	42,9bc	45,6a	41,1cd	43,0bc	43,0bc	42,4 ± 1,9	

Tabela 25 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

Pico nº	Ácido graxo	Verão			Meses intermediários			Inverno			média ± dp
		março	março	abril	maio	junho	agosto	agosto	agosto		
49	18:1n5	tr	0,2	tr	tr	0,2	nd	nd	nd	(nd-0,2)	
50	18:1n4	tr	tr	0,1	tr	0,1	tr	tr	tr	(tr-0,1)	
51	18:1n3	tr	tr	tr	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)	
52	18:2n6	9,3ab	9,0bc	9,4a	9,0bc	8,3d	8,7c	9,5a	9,0 ± 0,4		
53	18:2n4	nd	nd	tr	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)	
54	18:3n6	0,2a	0,2a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0		
55	19:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	
57	19:1n9	nd	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
58	18:3n3	0,5ab	0,5ab	0,5ab	0,4b	0,4b	0,5ab	0,6a	0,5 ± 0,1		
59	18:4n3	tra	tra	tra	tra	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	(tr-0,1)	
61	19:2n5	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	
63	20:0	tra	tra	tra	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	0,1a	(tr-0,1)	
64	20:1n11	tr	tr	tr	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)	
65	20:1n9	0,8b	0,8b	0,6b	0,7b	0,6b	0,9b	1,1a	0,8 ± 0,2		
67	20:1n7	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	0,1	(tr-0,1)	
69	20:2n9	0,2a	0,2a	0,2a	0,2a	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0		
70	20:2n6										
+	+	0,5ab	0,6a	0,6a	0,5ab	0,4b	0,6a	0,6a	0,5 ± 0,1		
71	20:3n9										
73	20:3n6	0,4a	0,4a	0,4a	0,3a	0,3a	0,3a	0,4a	0,4 ± 0,0		
75	20:4n6	0,4ab	0,4ab	0,4ab	0,4ab	0,3b	0,4ab	0,5a	0,4 ± 0,1		
76	20:3n3	nd	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
78	20:4n3	nd	tr	tr	nd	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
79	20:5n3	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	

Tabela 25 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

Pico nº	Ácido graxo	Verão			Meses intermediários			Inverno		média ± dp (conclusão)
		março	março	março	abril	maio	junho	agosto	agosto	
80	22:0	nd	tr	tr	tr	nd	tr	tr	0,1	(nd-0,1)
84	21:2n5	nd	nd	tr	tr	nd	nd	tr	tr	(nd-tr)
87	22:4n6	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	(tr-0,1)
89	22:5n6	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	(tr-0,1)
91	22:5n3	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
92	22:6n3	0,2a	0,2a	trb	trb	trb	trb	trb	0,1ab	0,2a (tr-0,2)

<sup>1</sup> Para os períodos de verão (março) e inverno (agosto), os valores foram obtidos de determinações em duplicatas, em dois lotes individuais, cada um composto por 6 peixes. Para os meses intermediários, os valores mensais foram obtidos de determinações em duplicatas, em lotes compostos por 6 peixes.

<sup>2</sup> Valores na mesma linha horizontal não mostrando a mesma letra são significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

Abreviaturas: X - não identificado; tr - traço; nd - não detectado; dp - desvio padrão; i - iso; ai - anteiso.

Resposta do Detector

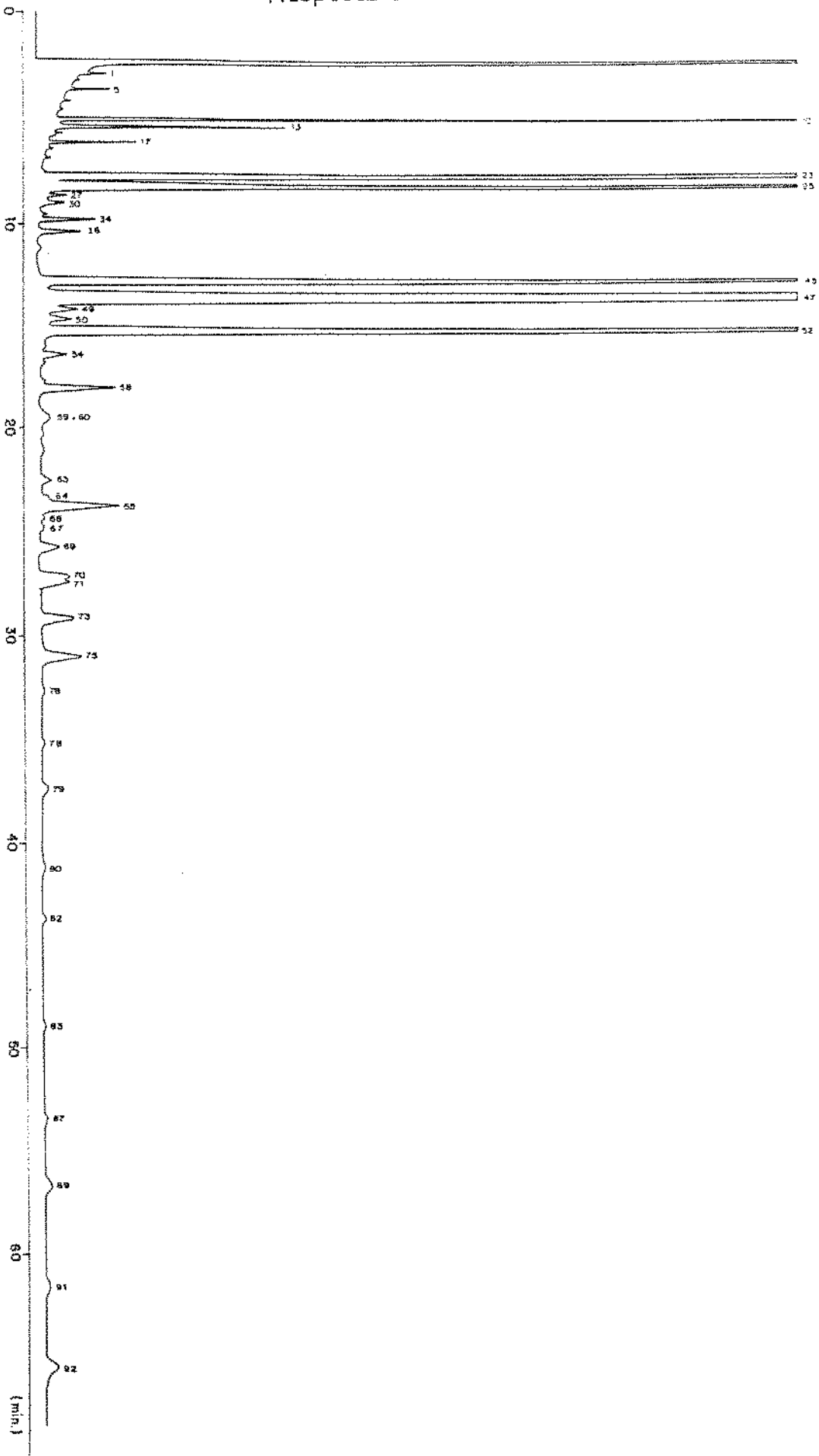


Figura 13 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios neutros de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, em coluna de Carbowax 20M.  
Temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  210°C

Resposta do Detector

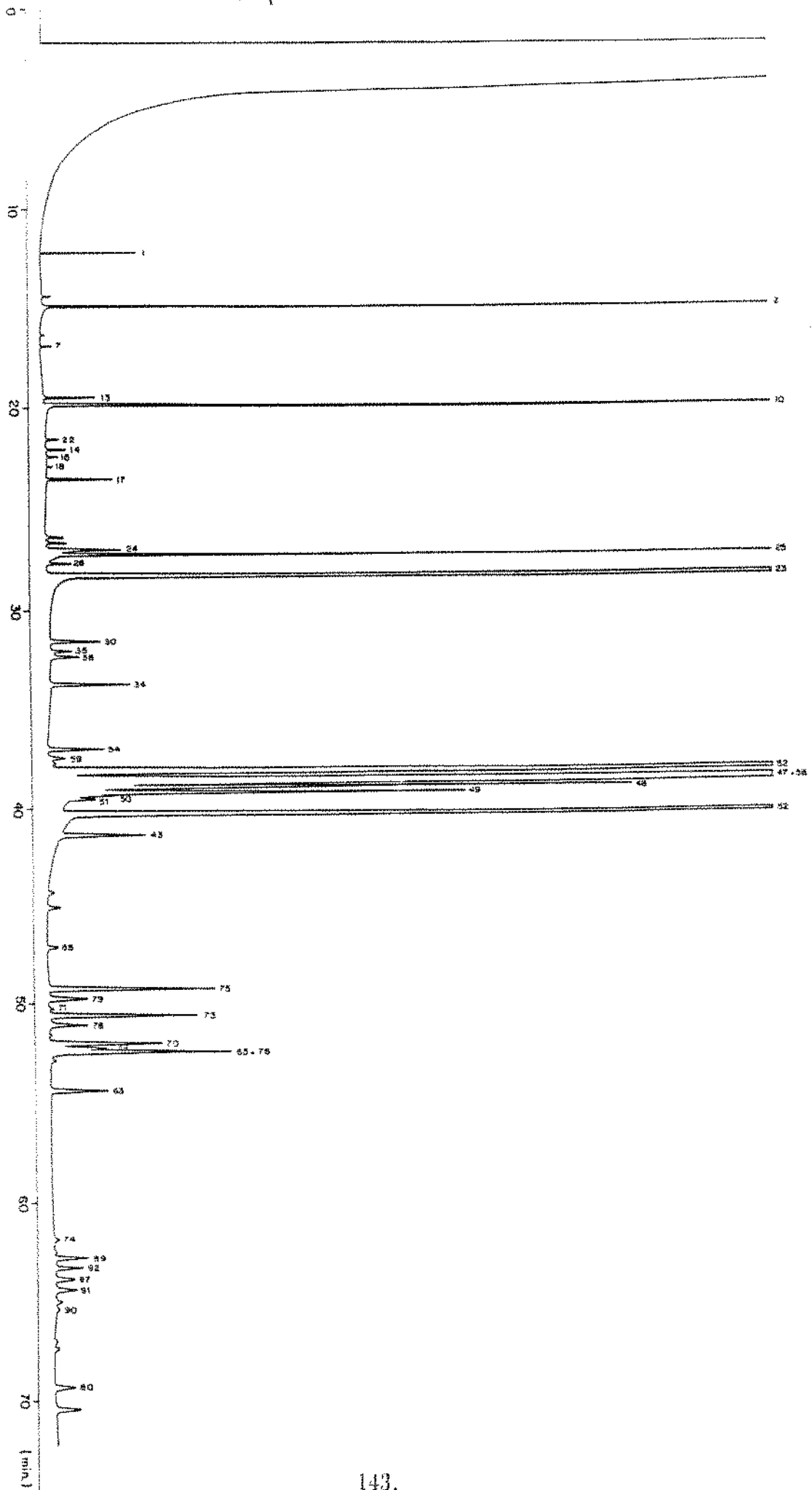


Figura 14 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios neutros de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, em coluna de SE-54.

Temperatura da coluna: 50°C/4min

50°C/min

170°C

2°C/min

230°C/10min

5°C/min

250°C

Resposta do Detector

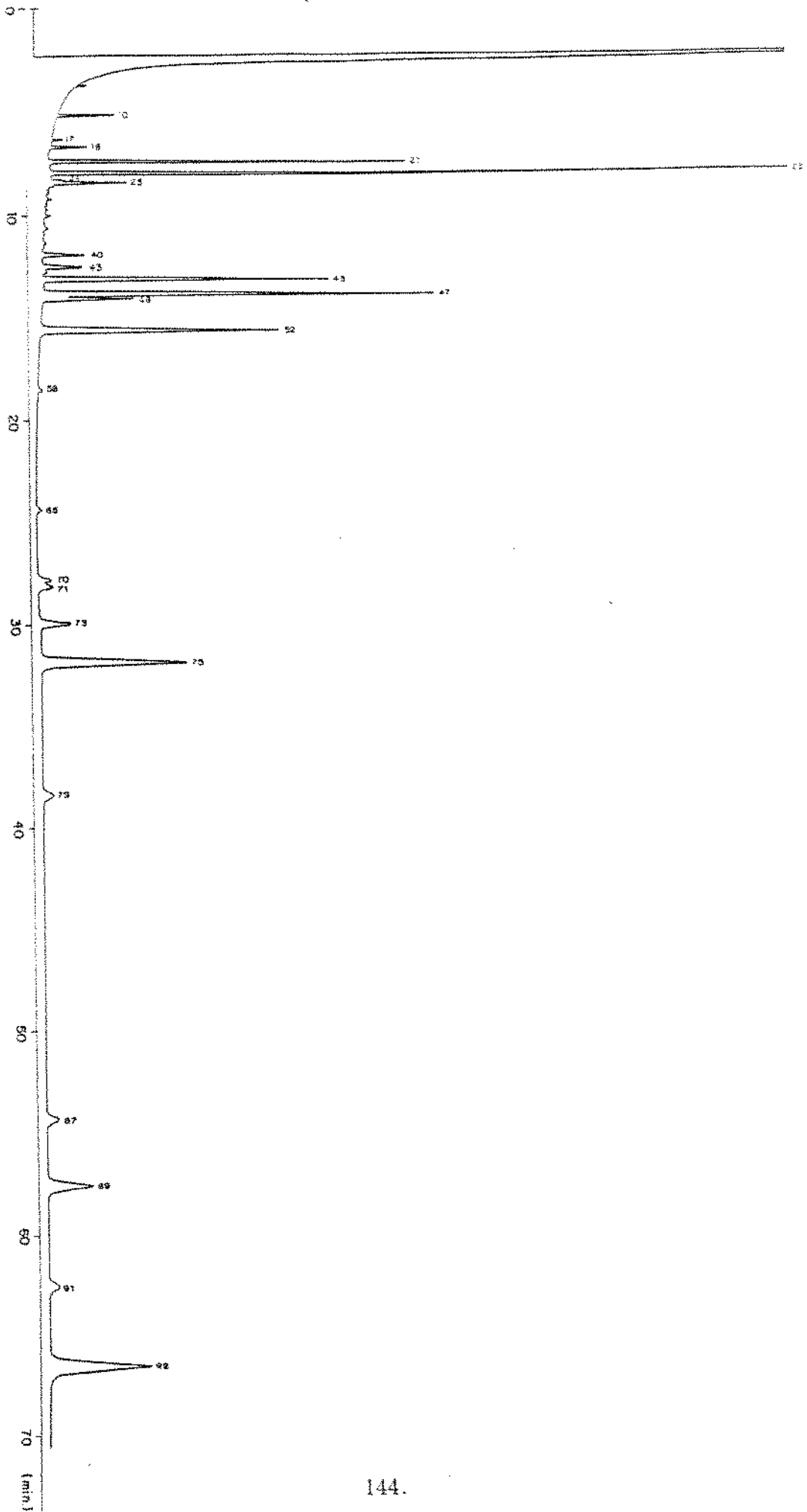


Figura 15

Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolípidios de pacu, *Piaractus mc-sopotamicus*, em coluna de Carbowax 20M.

Temperatura da coluna: 200°C/42min 2°C/min 210°C



Resposta do Detector

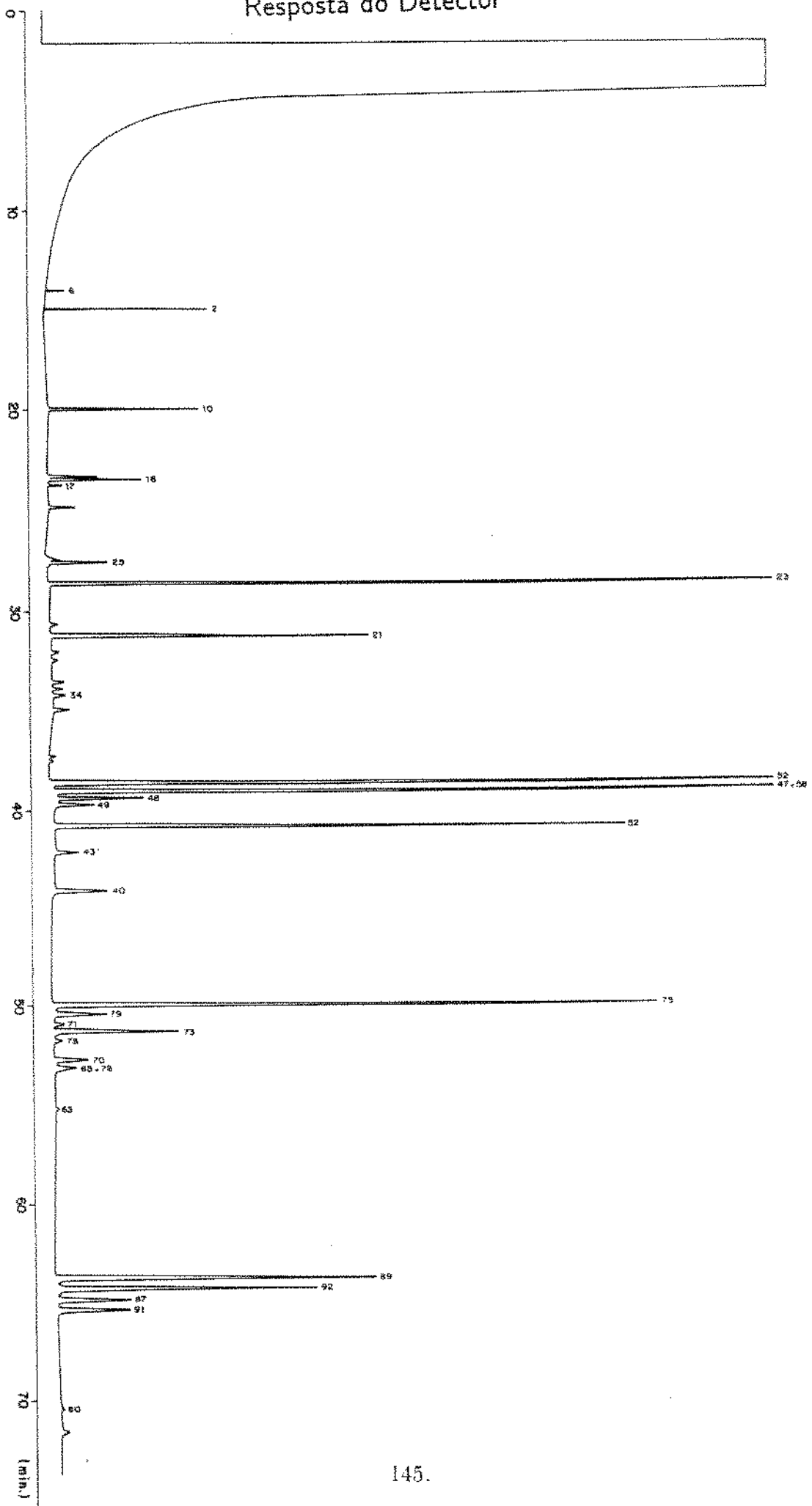


Figura 16 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolípidos de pacu, *Piaractus mc-*

*sopotamicus*, em coluna de SE-54.

Temperatura da coluna: 50°C/6min  $\xrightarrow{40^\circ\text{C}/\text{min}}$  170°C  $\xrightarrow{1^\circ\text{C}/\text{min}}$  230°C

Tabela 26 - Composição percentual de ácidos graxos de fosfolípidios de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(continua)

Pico	Ácido	Verão			Meses intermediários			Inverno			média ± dp
		março	março	abril	maio	junho	agosto	agosto	agosto		
1	10:0	tr	tr	tr	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)	
5	X1	tr	tr	nd	tr	nd	tr	tr	tr	(nd-tr)	
8	i-14:0	nd	nd	tr	tr	tr	nd	tr	tr	(nd-tr)	
10	14:0	0,8ab	0,7b	0,7b	0,5c	0,3d	0,9a	0,4cd	0,4cd	0,6 ± 0,2	
13	14:1n5	nd	nd	nd	nd	tr	tr	tr	nd	(nd-tr)	
15	ai-15:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	
16	X3	tr	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)	
17	15:0	tr	tr	tr	0,1	tr	0,1	tr	tr	(tr-0,1)	
18	15:1n9	0,8a	0,7a	0,6a	1,0a	0,6a	1,0a	1,0a	1,0a	0,8 ± 0,2	
20	i-16:0	tr	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)	
21	16:0DMA	6,3a	6,6a	6,4a	6,3a	4,5b	4,6b	6,1a	6,1a	5,8 ± 0,9	
23	16:0	17,2b	16,6c	20,8a	15,3d	14,8e	16,7c	15,7d	15,7d	16,7 ± 2,0	
25	16:1n7	2,2b	2,2b	2,4b	2,6b	2,6b	3,8a	2,1b	2,1b	2,6 ± 0,6	
27	i-17:0	nd	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
30	ai-17:0	tra	tra	tra	0,1a	tra	0,1a	0,1a	0,1a	(tr-0,1)	
33	16:3n6	nd	tr	nd	tr	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)	
34	17:0	trb	trb	0,2a	0,1ab	trb	0,1ab	0,1ab	0,1ab	(tr-0,2)	
36	17:1n9	trb	trb	0,2a	0,2a	0,2a	0,3a	0,3a	0,3a	(tr-0,3)	
38	16:3n3	trb	trb	trb	0,2a	0,1ab	0,2a	0,2a	0,2a	(tr-0,2)	
40	18:0DMA	1,5a	1,4a	1,4a	1,2b	0,9c	0,8c	1,2b	1,2b	1,2 ± 0,3	
43	18:1DMA	1,2b	1,4a	0,8de	1,0c	0,7e	0,9cd	1,2b	1,2b	1,0 ± 0,2	
44	X4	tr	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	(nd-tr)	
45	18:0	11,0a	9,3b	8,8bc	8,8bc	8,2bc	7,8c	8,2bc	8,2bc	8,9 ± 1,1	
47	18:1n9	16,5bc	16,6bc	18,8ab	17,7ab	20,0a	18,4ab	14,4c	14,4c	17,5 ± 1,8	
49	18:1n5	nd	tr	tr	tr	tr	tr	tr	nd	(nd-tr)	

Tabela 26 - Composição percentual de ácidos graxos de fosfolípidios de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

Pico nº	Ácido graxo	Verão		Meses intermediários				Inverno		média ± dp (conclusão)
		março	março	abril	maio	junho	agosto	agosto		
52	18:2n6	8,7bc	9,1b	8,4c	9,1b	10,2a	8,5c	9,9a	9,1 ± 0,7 (nd-tr)	
54	18:3n6	nd	nd	tr	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
55	19:0	nd	nd	nd	nd	tr	tr	nd	0,2 ± 0,1	
58	18:3n3	0,3a	0,3a	0,2a	0,2a	0,3a	0,2a	0,2a	0,3 ± 0,1	
65	20:1n9	0,4a	0,3a	0,3a	0,4a	0,3a	0,4a	0,3a	(nd-0,2)	
69	20:2n9	nd	tr	nd	tr	tr	0,2	tr	1,7 ± 0,4	
70	20:2n6	1,4c	1,4c	2,3a	1,9b	2,0ab	1,8b	1,4c		
71	20:3n9	nd	tr	nd	tr	tr	tr	tr	(nd-tr)	
72	20:2n3	1,9c	2,4bc	2,6ab	2,5b	3,1a	2,6ab	2,4bc	2,5 ± 0,4	
73	20:3n6	11,2bc	11,6b	10,0c	11,8b	10,7bc	11,6b	14,2a	11,6 ± 1,3	
75	20:4n6	0,8a	1,0a	0,6a	0,7a	1,0a	0,9a	0,9a	0,8 ± 0,2	
79	20:5n3	1,2a	1,6a	1,3a	1,3a	1,2a	1,4a	1,3a	1,3 ± 0,1	
87	22:4n6	5,5bc	4,5d	5,4cd	6,1abc	6,6a	5,9abc	6,4ab	5,8 ± 0,7	
89	22:5n6	1,0a	1,0a	0,8a	1,1a	1,2a	1,0a	1,1a	1,0 ± 0,1	
91	22:5n3	12,1ab	12,6a	8,7d	11,8abc	10,1cd	10,7bc	10,9abc	11,0 ± 1,3	
92	22:6n3									

1 Para os períodos de verão (março) e inverno (agosto), os valores foram obtidos de determinações em duplicatas, em dois lotes individuais, cada um composto por 6 peixes. Para os meses intermediários, os valores mensais foram obtidos de determinações em duplicatas, em lotes compostos por 6 peixes.

2 Valores na mesma linha horizontal não mostrando a mesma letra são significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

Abreviaturas: X - não identificado; tr - traço; nd - não detectado; dp - desvio padrão; DMA - dimetilacetil; i - iso; ai - anteiso.

11,6 ± 1,3% e 11,0 ± 1,3%, respectivamente. Os ácidos linoléico e esteárico tiveram porcentagens comparáveis, 9,1 ± 0,7% e 8,9 ± 1,1%, respectivamente, com as de lipídios totais e neutros. As porcentagens de ácidos palmitoléico (2,6 ± 0,6%) e mirístico (0,6 ± 0,2%) foram menores. A proporção maior de ácidos poliinsaturados na fração de fosfolipídios já foi relatada para peixes marinhos (Addison *et al.*, 1968; Ackman, 1980a; Sasaki *et al.*, 1989) e peixes de água doce (Mai & Kinsella, 1979a,b; Ohshima *et al.*, 1982; Satoh *et al.*, 1984).

Pequenas diferenças, mas significativas, podem ser vistas entre os lotes de amostras, na composição de ácidos graxos dos lipídios totais, neutros e fosfolipídios. Contudo, não existiu uma tendência definida em relação à sazonalidade. Nair & Gopakumar (1981) e Satoh *et al.* (1984) reportaram que a temperatura da água influenciou a composição de ácidos graxos de *Tilapia mossambica* e *Tilapia nilotica*, respectivamente. Viola *et al.* (1988) observaram o efeito da temperatura em carpa, *Cyprinus carpio*, mas não em híbrido de tilápia (*O. aureus* × *O. niloticus*). Assim, a influência da temperatura sobre a composição de ácidos graxos parece ser dependente da espécie, mas não sendo um fator importante no pacu, *P. mesopotamicus*.

Os dimetilacetais (DMAs) apareceram nos lipídios totais em quantidades muito baixas (tr-0,2%) (Tabela 24) e não foram observados nos lipídios neutros (Tabela 25). Uma proporção maior de DMAs ocorreu na fração de fosfolipídios, com teores de 5,8 ± 0,9%, 1,2 ± 0,3% e 1,0 ± 0,2% para 16:0DMA, 18:0DMA e 18:1DMA, respectivamente (Tabela 26). Estes resultados parecem demonstrar que os DMAs de pacu se originaram de plasmalogenos fosforilados. Dimetilacetais derivados de aldeídos com 16 e 18 carbonos foram detectados em 10 peixes marinhos da Austrália, em quantidades que variaram de 0,4 a 3,5% para 16:0DMA e de 0,4 a 1,6% para 18:0DMA (Sinclair *et al.*, 1983).

Resposta do Detector

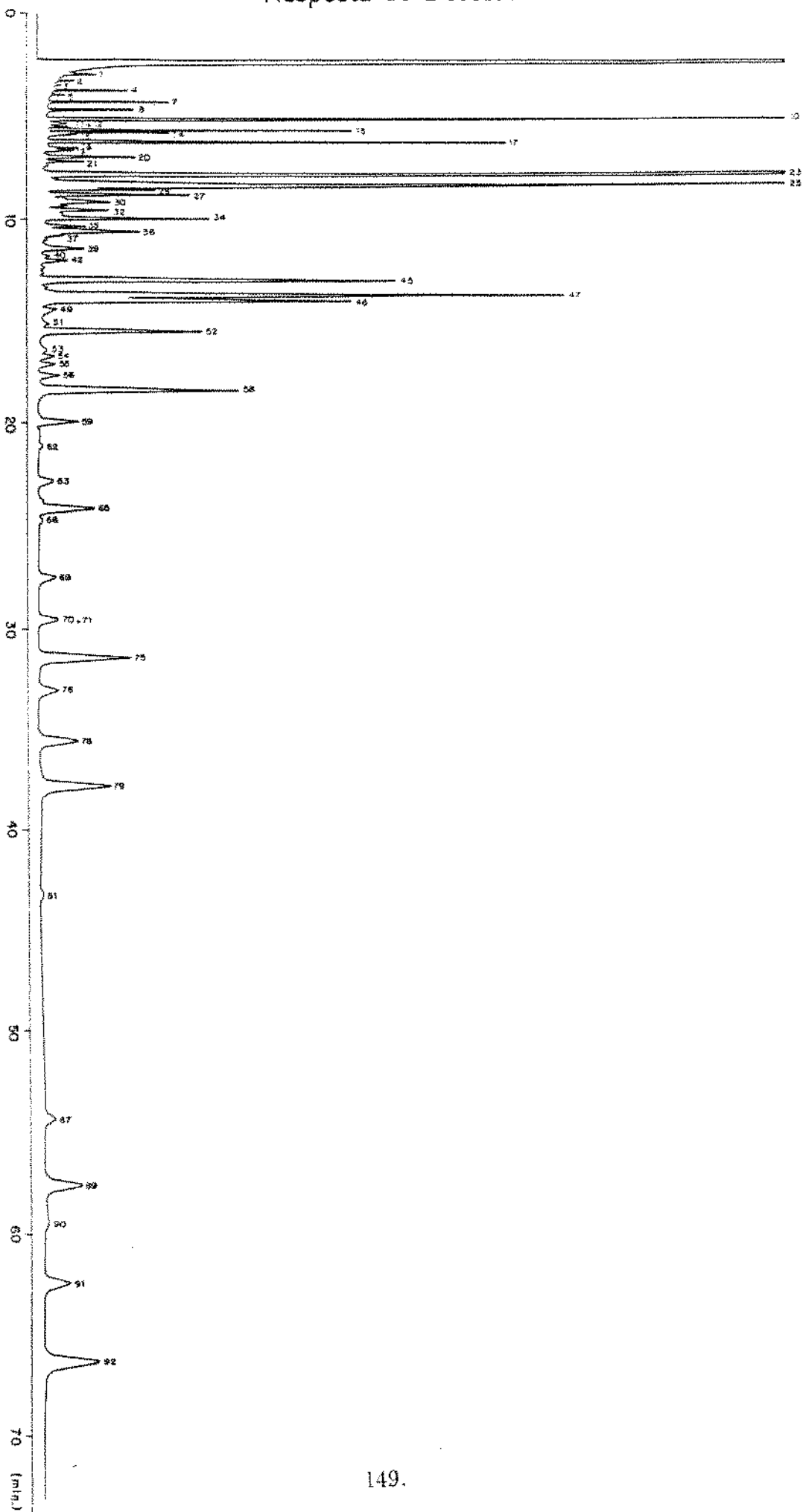


Figura 17 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lípidios totais de curimatá, *Prechlo-*  
*dus scrofa*, em coluna de Carbowax 20M.  
Temperatura da coluna: 209°C/42min  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  210°C

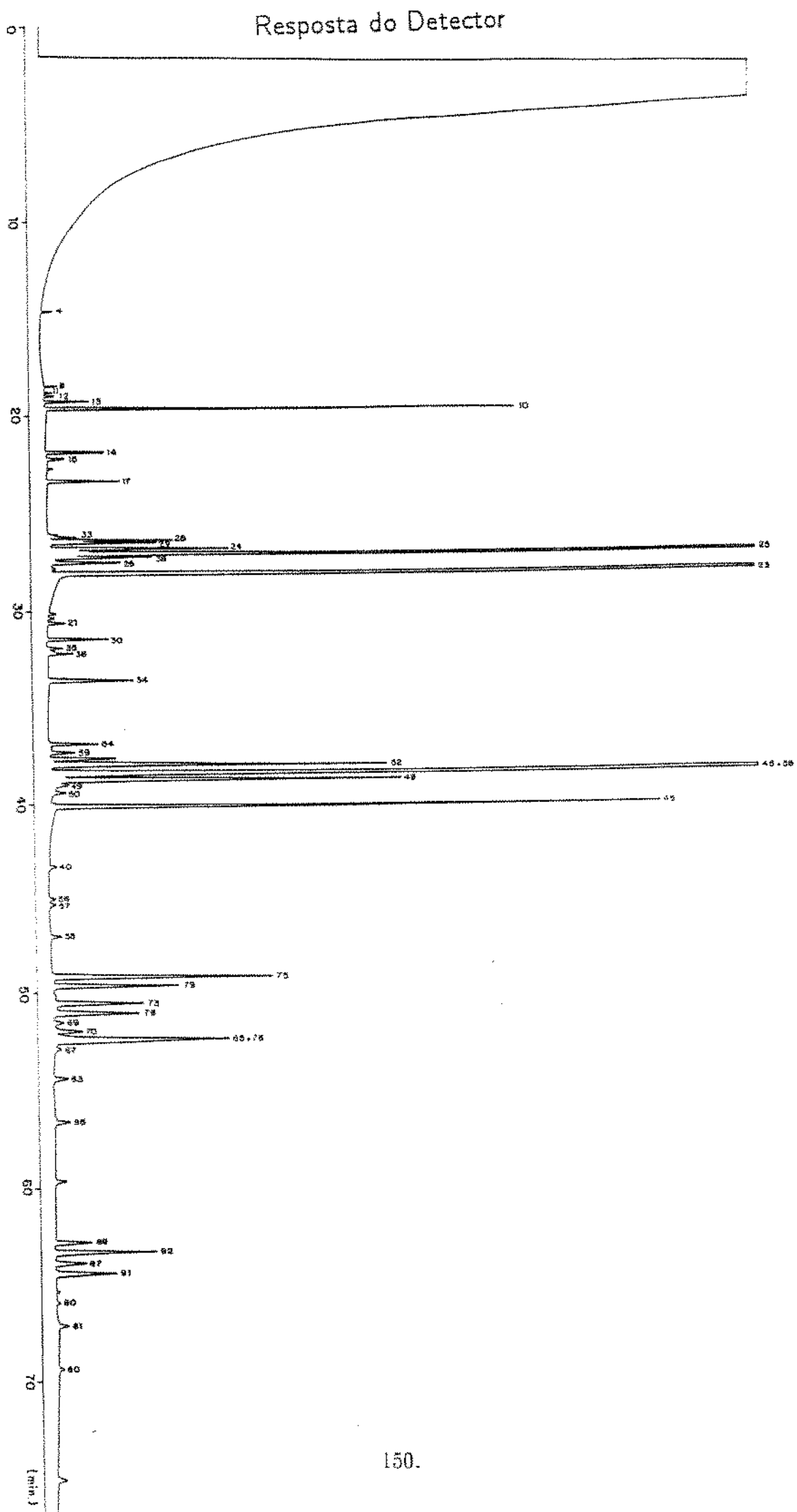


Figura 18 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lípidios totais de curimbatá, Pernambuco, em coluna de SE-54.

Temperatura da coluna: 50°C/6min 40°C/min 170°C 1°C/min 230°C

Tabela 27 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de curimatá, *Prochilodus scrofa*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(continua)

Pico nº	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
1	10:0	tr	tr	tr	tr
2	11:0	tr	tr	tr	tr
3	11:1	tr	tr	tr	tr
4	12:0	0,2a	0,1b	trc	(tr-0,2)
6	X2	tr	tr	tr	tr
7	13:0	0,4a	0,2b	trc	(tr-0,4)
8	i-14:0	0,4a	0,2b	0,1c	0,2 ± 0,1
10	14:0	4,7a	4,7a	3,4b	4,3 ± 0,7
12	14:1n7	0,1a	0,1a	tra	(tr-0,1)
13	14:1n5	0,1a	0,1a	tra	(tr-0,1)
14	i-15:0	1,6a	0,9b	0,3c	0,9 ± 0,6
15	ai-15:0	0,8a	0,5b	0,1c	0,5 ± 0,4
16	X3	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
17	15:0	2,6a	1,5b	0,4c	1,5 ± 1,1
18	15:1n9	0,2a	0,1ab	trb	(tr-0,2)
19	15:1n7	0,2a	0,1ab	trb	(tr-0,2)
20	i-16:0	0,7a	0,4b	0,1c	0,4 ± 0,3
21	16:0DMA	0,3a	0,3a	0,2b	0,3 ± 0,1
23	16:0	21,6c	29,2a	25,3b	25,4 ± 3,8
25	16:1n7	14,0b	17,6a	17,3a	16,3 ± 2,0
26	16:1n5	0,9	nd	nd	(nd-0,9)
27	i-17:0	1,5a	0,6b	0,5b	0,9 ± 0,5
28	16:2n7	0,1b	0,3a	ndc	(nd-0,3)
30	ai-17:0	1,0a	0,5b	0,7ab	0,7 ± 0,2
32	16:2n4	0,2a	trb	trb	(tr-0,2)
33	16:3n6	0,7b	0,9b	1,5a	1,0 ± 0,4
34	17:0	1,7a	1,0b	0,8b	1,2 ± 0,5
35	17:1n11	0,5b	0,6b	1,4a	0,8 ± 0,5
36	17:1n9	1,5a	1,2b	0,9c	1,2 ± 0,3
39	i-18:0	0,6a	0,3b	0,1c	0,3 ± 0,2
40	18:0DMA	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0

Tabela 27 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de curimatá, *Prochilodus scrofa*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(continua)

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
42	17:2n5	0,4a	0,1b	trc	(tr-0,4)
43	18:1DMA	tr	tr	tr	tr
44	X4	tr	tr	tr	tr
45	18:0	4,8b	5,0b	5,7a	5,2 ± 0,5
46	18:1n11	0,1a	0,1a	tra	(tr-0,1)
47	18:1n9	12,6c	15,5b	17,9a	15,3 ± 2,6
49	18:1n5	0,4a	trc	0,2b	(tr-0,4)
50	18:1n4	0,1	nd	nd	(nd-0,1)
51	18:1n3	0,2a	0,1a	0,2a	0,2 ± 0,1
52	18:2n6	2,6a	2,5a	2,4a	2,5 ± 0,1
53	18:2n4	0,2a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,1
54	18:3n6	0,3a	0,3a	0,3a	0,3 ± 0,0
55	19:0	0,3a	0,1b	trc	(tr-0,3)
56	19:1n11	0,4c	0,5b	1,3a	0,7 ± 0,5
58	18:3n3	4,0a	3,6b	3,6b	3,7 ± 0,2
59	18:4n3	0,8a	0,5b	0,4c	0,6 ± 0,2
60	19:2n6	tr	nd	nd	(nd-tr)
61	19:2n5	tr	tr	nd	(nd-tr)
63	20:0	0,4a	0,3b	0,1c	0,3 ± 0,1
64	20:1n11	tr	nd	nd	(nd-tr)
65	20:1n9	1,6b	1,4b	2,2a	1,7 ± 0,4
66	20:1n8	tr	tr	tr	tr
69	20:2n9	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
70	20:2n6				
+	+	0,5a	0,4b	0,3c	0,4 ± 0,1
71	20:3n9				
73	20:3n6	0,6a	0,7a	0,7a	0,7 ± 0,1
74	21:0	tr	tr	tr	tr
75	20:4n6	3,1a	2,6ab	2,0b	2,6 ± 0,5
76	20:3n3	0,6a	0,6a	0,5a	0,6 ± 0,1
78	20:4n3	1,4a	1,1b	0,9b	1,1 ± 0,2
79	20:5n3	2,6c	3,1b	3,6a	3,1 ± 0,5
80	22:0	nd	tr	tr	(nd-tr)



Tabela 27 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de curimatá, *Prochilodus scrofa*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(conclusão)

Pico	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
81	22:1n11	tra	tra	0,1a	(tr-0,1)
82	22:1n9	tr	tr	nd	(nd-tr)
83	21:4n6	tr	tr	nd	(nd-tr)
84	21:5n6	tr	tr	tr	tr
85	21:6n3	tr	tr	tr	tr
86	23:0	tr	nd	nd	(nd-tr)
87	22:4n6	0,3a	0,4a	0,4a	0,4 ± 0,1
89	22:5n6	1,5a	0,9b	0,3c	0,9 ± 0,6
90	22:4n3	0,2a	trb	trb	(tr-0,2)
91	22:5n3	1,2c	1,5b	1,9a	1,5 ± 0,3
92	22:6n3	2,8a	2,3a	2,0a	2,4 ± 0,4

<sup>1</sup> As determinações mensais foram realizadas em duplicatas, a partir de lotes compostos por 6 peixes.

<sup>2</sup> Valores na mesma linha horizontal não mostrando a mesma letra são significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

Abreviaturas: X - não identificado; tr - traço;  
nd - não detectado; dp - desvio padrão;  
DMA - dimetilacetal; i - iso; ai - anteíso.

#### 5.4.2. Composição de ácidos graxos do curimatá

Nos lipídios totais de curimatá foram detectados 74 ácidos graxos (Figuras 17 e 18) portanto, uma composição mais complexa que a do pacu. O perfil foi diferente daquele do pacu, com os seguintes ácidos graxos principais: palmítico ( $25,4 \pm 3,8\%$ ), palmitoléico ( $16,3 \pm 2,0\%$ ), oléico ( $15,3 \pm 2,6\%$ ), esteárico ( $5,2 \pm 0,5\%$ ), mirístico ( $4,3 \pm 0,7\%$ ), linolênico ( $3,7\% \pm 0,2$ ), 20:5n3 ( $3,1 \pm 0,5\%$ ), 20:4n6 ( $2,6 \pm 0,5\%$ ) e linoléico ( $2,5 \pm 0,1\%$ ) (Tabela 27).

Num trabalho anterior (Maia *et al.*, 1983) no qual colunas empacotadas de 10% de EGSSX ou 10% de DEGS foram utilizadas, 35 ácidos graxos foram detectados (39 ácidos graxos a menos que o presente trabalho, que utilizou coluna capilar); o ácido palmítico apareceu majoritariamente, porém com um teor mais elevado ( $32,4 \pm 2,4\%$ ), seguido agora pelo ácido oléico ( $23,2 \pm 2,1\%$ ), enquanto o ácido palmitoléico passou a ser o terceiro principal ( $13,9 \pm 1,3\%$ ). Os outros ácidos graxos principais foram: esteárico ( $8,1 \pm 1,1\%$ ), linolênico ( $7,7 \pm 1,4\%$ ), linoléico ( $5,4 \pm 1,5\%$ ) e mirístico ( $3,4 \pm 0,4\%$ ). Também foi encontrado em quantidades variadas (tr-5,7%) o ácido 20:3 (sem designação da família). No atual trabalho foram detectados os ácidos 20:3n6 ( $0,7 \pm 0,1\%$ ) e 20:3n3 ( $0,6 \pm 0,1\%$ ). As percentagens maiores dos ácidos graxos principais na composição obtida através de colunas empacotadas é compreensível, uma vez que os ácidos menores não são levados em conta no cálculo.

Dos 9 ácidos graxos principais, apenas os ácidos oléico e 20:5n3 apresentaram uma variação significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os três lotes analisados. Vários componentes tiveram teores significativamente diferentes, entre eles, os ácidos graxos ramificados, 18:4n3 e 22:5n6 que diminuíram e o 22:5n3, que aumentou de abril para junho. O ácido 22:6n3 não apresentou diferenças significativas entre os lotes.

A exemplo do que foi verificado para o pacu, a composição dos lipídios neutros seguiu o mesmo perfil (Figuras 19 e 20) que a dos lipídios totais, com uma pequena inversão entre 20:4n6 e linoléico:palmítico ( $24,2 \pm 3,6\%$ ), palmitoléico

# Resposta do Detector

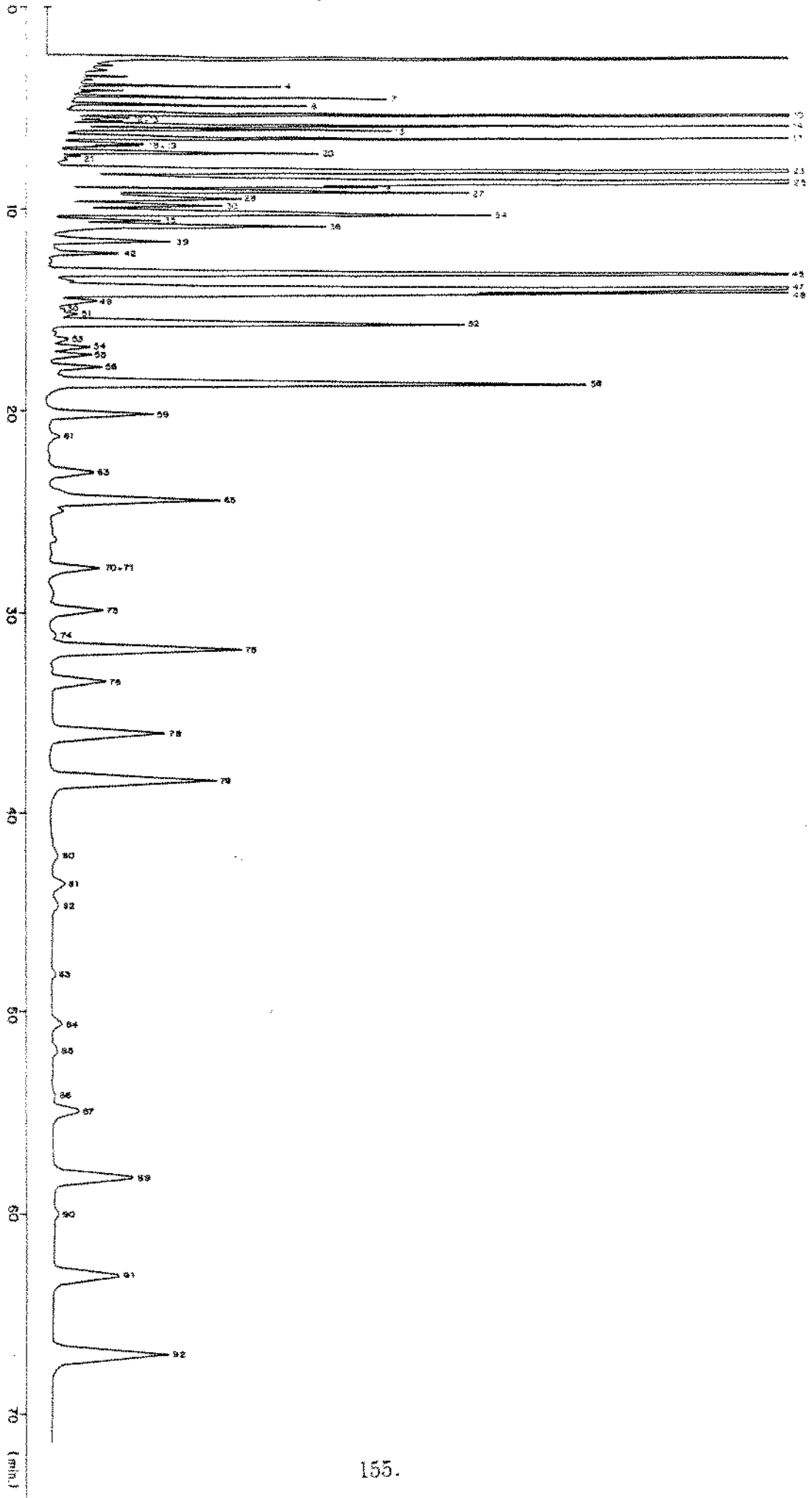


Figura 10

Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios neutros de curimatá, *Prochilodus scrofa*, em coluna de Carbowax 20M.

Temperatura da coluna: 200°C/42min 2°C/min 210°C

Resposta do Detector

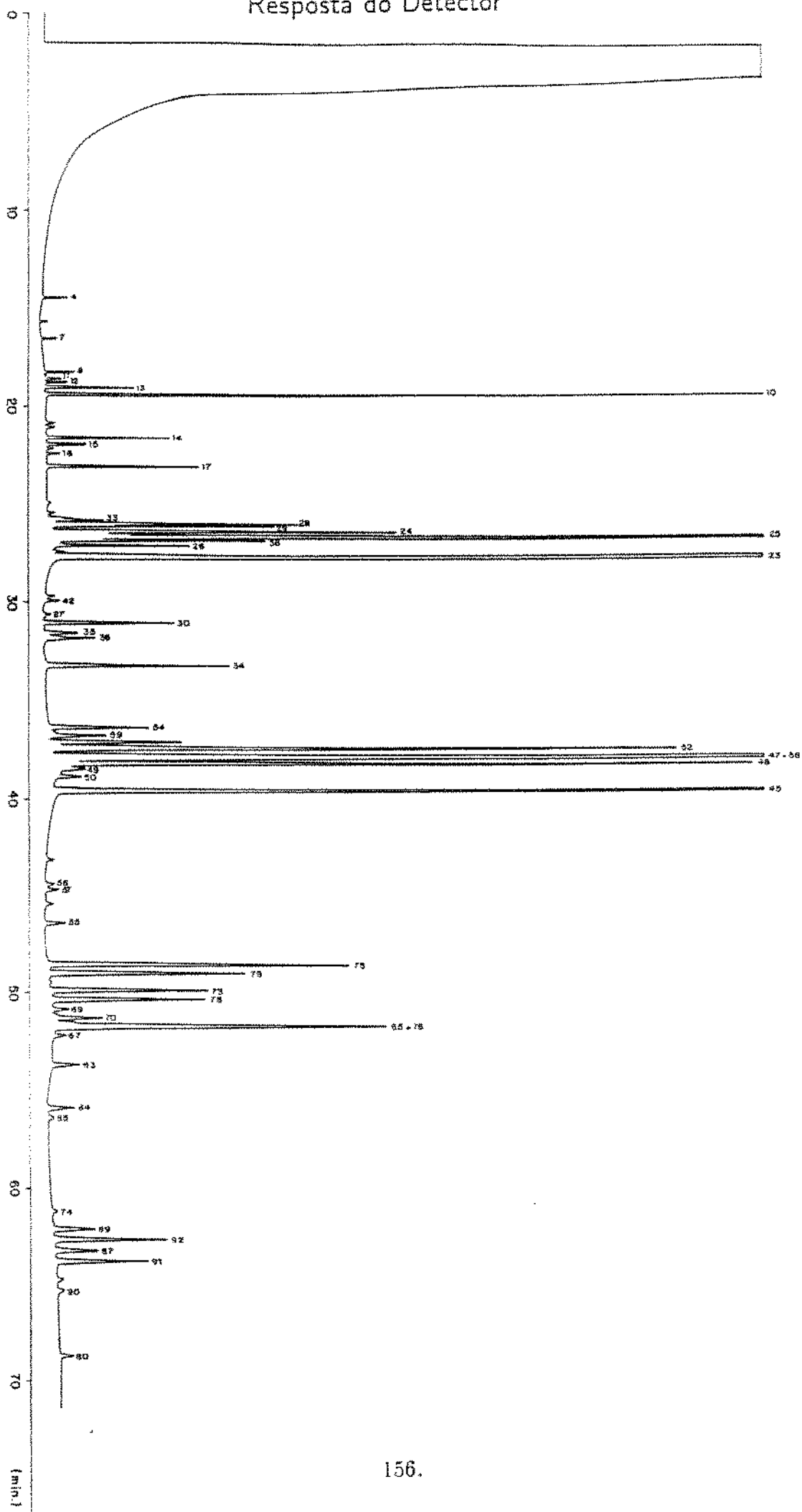


Figura 20 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lípidos neutros de curimbatá, *Prochilodus scrofa*, em coluna de SE-54.

Temperatura da coluna: 50°C/6min

40°C/min 170°C 1°C/min 230°C

Tabela 28 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros de curimatá, *Prochilodus scrofa*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(continua)

Pico nº	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
1	10:0	0,1	tr	nd	(nd - 0,1)
2	11:0	tr	tr	tr	tr
3	11:1	tr	tr	tr	tr
4	12:0	0,2a	0,2a	trb	(tr-0,2)
5	X1	tr	tr	tr	tr
6	X2	tr	tr	nd	(nd-tr)
7	13:0	0,4a	0,2b	trc	(tr-0,4)
8	i-14:0	0,4a	0,2b	0,1c	0,2 ± 0,1
10	14:0	5,0a	4,7a	3,6b	4,4 ± 0,8
12	14:1n7	0,1a	tra	tra	(tr-0,1)
13	14:1n5	0,1a	tra	tra	(tr-0,1)
14	i-15:0	1,6a	1,0b	0,4c	1,0 ± 0,6
15	ai-15:0	0,7a	0,5b	0,1c	0,4 ± 0,3
16	X3	0,2a	trb	trb	(tr-0,2)
17	15:0	2,7a	1,6b	0,4c	1,6 ± 1,1
18	15:1n9	0,2a	0,2a	0,1b	0,2 ± 0,1
19	15:1n7	0,2a	0,2a	trb	(tr-0,2)
20	i-16:0	0,7a	0,3b	0,2c	0,4 ± 0,3
23	16:0	20,2b	27,2a	25,3a	24,2 ± 3,6
25	16:1n7	14,2b	19,1a	17,3a	16,9 ± 2,5
26	16:1n5	1,0	nd	nd	(nd-1,0)
27	i-17:0	1,6a	0,6b	0,6b	0,9 ± 0,6
28	16:2n7	0,1	tr	nd	(nd-0,1)
30	ai-17:0	1,0a	0,6b	1,0a	0,9 ± 0,2
32	16:2n4	0,2a	trb	trb	(tr-0,2)
33	16:3n6	0,9b	0,9b	1,6a	1,1 ± 0,4
34	17:0	1,8a	1,0b	0,8b	1,2 ± 0,5
35	17:1n11	0,5b	0,7b	1,6a	0,9 ± 0,6
36	17:1n9	1,8a	1,3b	0,9b	1,3 ± 0,4
37	17:1n7	0,1	nd	nd	(nd-0,1)
39	i-18:0	0,7a	0,3b	0,2c	0,4 ± 0,3
42	17:2n5	0,3a	trb	trb	(tr-0,3)

Tabela 28 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros de curimatá, *Prochilodus scrofa*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(continua)

Pico nº	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
45	18:0	4,8b	5,0b	5,6a	5,1 ± 0,4
46	18:1n11	0,1	nd	nd	(nd-0,1)
47	18:1n9	12,8c	16,0b	18,6a	15,8 ± 3,0
49	18:1n5	0,4a	trb	0,1b	(tr-0,4)
50	18:1n4	0,1	nd	nd	(nd-0,1)
51	18:1n3	0,2a	trb	0,2a	(tr-0,2)
52	18:2n6	2,7a	2,7a	2,5a	2,6 ± 0,1
53	18:2n4	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
54	18:3n6	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0
55	19:0	0,2a	trb	trb	(tr-0,2)
56	19:1n11	0,4c	0,6b	1,3a	0,8 ± 0,5
58	18:3n3	4,2a	4,0ab	3,7b	4,0 ± 0,2
59	18:4n3	0,9a	0,6b	0,4c	0,6 ± 0,2
61	19:2n5	0,1	tr	nd	(nd-0,1)
62	X5	tr	nd	nd	(nd-tr)
63	20:0	0,5a	0,3b	0,1c	0,3 ± 0,2
64	20:1n11	0,1	nd	nd	(nd-0,1)
65	20:1n9	1,9ab	1,3b	2,5a	1,9 ± 0,6
66	20:1n8	tr	tr	nd	(nd-tr)
68	20:1n5	tr	nd	nd	(nd-tr)
69	20:2n9	tr	tr	0,1	(tr-0,1)
70	20:2n6				
+	+	0,5a	0,4ab	0,2b	0,4 ± 0,1
71	20:3n9				
73	20:3n6	0,6a	0,6a	0,6a	0,6 ± 0,0
75	20:4n6	2,4a	2,0b	1,6c	2,0 ± 0,4
76	20:3n3	0,7a	0,3c	0,5b	0,5 ± 0,2
78	20:4n3	1,4a	1,0b	0,9b	1,1 ± 0,3
79	20:5n3	2,3c	2,7b	3,1a	2,7 ± 0,4
80	22:0	0,1a	0,1a	ndb	(nd-0,1)
81	22:1n11	0,2a	trb	trb	(tr-0,2)
82	22:1n9	tr	tr	nd	(nd-tr)

Tabela 28 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros de curimatá, *Prochilodus scrofa*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(conclusão)

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
83	21:4n6	tr	tr	nd	(nd-tr)
84	21:5n6	tr	tr	tr	tr
85	21:6n3	tr	tr	tr	tr
87	22:4n6	0,4a	trc	0,2b	(tr-0,4)
89	22:5n6	1,1a	0,6b	0,2c	0,6 ± 0,4
90	22:4n3	tr	tr	tr	tr
91	22:5n3	1,0a	1,3a	1,5a	1,3 ± 0,2
92	22:6n3	1,8a	1,2b	1,3b	1,4 ± 0,3

<sup>1</sup> As determinações mensais foram realizadas em duplicatas, a partir de lotes compostos por 6 peixes.

<sup>2</sup> Valores na mesma linha horizontal não mostrando a mesma letra são significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

Abreviaturas: X - não identificado; tr - traço;  
nd - não detectado; dp - desvio padrão;  
i - iso; ai - anteiso.

Tabela 29 - Composição percentual de ácidos graxos de fosfolipídios de curimatá, *Prochilodus scrofa*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(continua)

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
1	10:0	tr	tr	nd	(nd-tr)
2	11:0	tr	tr	nd	(nd-tr)
4	12:0	tr	tr	nd	(nd-tr)
7	13:0	tr	tr	nd	(nd-tr)
8	i-14:0	tr	tr	nd	(nd-tr)
9	14:0DMA	tr	tr	nd	(nd-tr)
10	14:0	0,7a	0,7a	0,5b	0,6 ± 0,1
12	14:1n7	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
14	i-15:0	0,2a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,1
15	ai-15:0	0,2a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,1
17	15:0	1,1a	0,6b	0,1c	0,6 ± 0,5
19	15:1n7	0,3a	0,4a	0,4a	0,4 ± 0,1
20	i-16:0	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
21	16:0DMA	2,9a	3,0a	2,6b	2,8 ± 0,2
23	16:0	24,2a	23,4a	23,5a	23,7 ± 0,4
25	16:1n7	3,7a	4,9a	4,7a	4,4 ± 0,6
26	16:1n5	0,7a	0,5b	0,2c	0,5 ± 0,2
27	i-17:0	0,4a	0,4a	0,2b	0,3 ± 0,1
30	ai-17:0	0,6a	0,7a	0,5a	0,6 ± 0,1
33	16:3n6	trb	0,2a	0,3a	(tr-0,3)
34	17:0	1,1a	0,8ab	0,5b	0,8 ± 0,3
35	17:1n11	trb	trb	0,2a	(tr-0,2)
36	17:1n9	0,3b	0,6a	0,3b	0,4 ± 0,2
37	17:1n7	tr	tr	nd	(nd-tr)
39	i-18:0	trb	0,2a	0,2a	(tr-0,2)
40	18:0DMA	1,0b	1,3a	1,3a	1,2 ± 0,2
42	17:2n5	0,2a	ndb	ndb	(nd-0,2)
43	18:1DMA	0,5b	0,6b	0,8a	0,6 ± 0,1
44	X4	0,5a	0,4a	0,5a	0,5 ± 0,1
45	18:0	7,4a	6,5b	6,8b	6,9 ± 0,5
47	18:1n9	3,9b	3,5c	4,5a	4,0 ± 0,5
48	18:1n7	4,4a	4,6a	4,0a	4,3 ± 0,3
49	18:1n5	tr	tr	tr	tr
51	18:1n3	tr	tr	tr	tr
52	18:2n6	2,2a	1,9b	2,1a	2,1 ± 0,1



Tabela 29 - Composição percentual de ácidos graxos de fosfolípidios de curimatá, *Prochilodus scrofa*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(conclusão)

Pico	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
53	18:2n4	tr	tr	tr	tr
54	18:3n6	0,1a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,1
55	19:0	0,4a	0,2b	0,1b	0,2 ± 0,1
56	19:1n11	0,2b	0,3b	0,6a	0,4 ± 0,2
58	18:3n3	1,7a	1,6a	1,9a	1,7 ± 0,1
59	18:4n3	tra	0,1a	0,1a	(tr-0,1)
60	19:2n6	nd	tr	tr	(nd-tr)
61	19:2n5	tr	tr	tr	tr
63	20:0	0,2a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,1
65	20:1n9	1,0a	0,7b	0,7b	0,8 ± 0,2
69	20:2n9	tr	nd	tr	(nd-tr)
70	20:2n6				
+	+	0,3a	0,4a	0,3b	0,3 ± 0,1
71	20:3n9				
73	20:3n6	0,9a	1,0a	1,1a	1,0 ± 0,1
75	20:4n6	12,2a	10,3b	9,0c	10,5 ± 1,6
76	20:3n3	0,8a	0,5b	0,5b	0,6 ± 0,2
78	20:4n3	1,0a	0,9a	0,8a	0,9 ± 0,1
79	20:5n3	6,3c	7,9b	10,6a	8,3 ± 2,2
81	22:1n11	0,2a	trb	trb	(tr-0,2)
82	22:1n9	tr	tr	nd	(nd-tr)
84	21:5n6	nd	tr	tr	(nd-tr)
87	22:4n6	1,2a	1,0a	1,2a	1,1 ± 0,1
89	22:5n6	6,0a	3,9b	1,9c	3,9 ± 2,0
90	22:4n3	nd	tr	tr	(nd-tr)
91	22:5n3	2,3b	3,6ab	4,9a	3,6 ± 1,3
92	22:6n3	11,9b	12,9a	11,7b	12,2 ± 0,6

<sup>1</sup> As determinações mensais foram realizadas em duplicatas, a partir de lotes compostos por 6 peixes.

<sup>2</sup> Valores na mesma linha horizontal não mostrando a mesma letra são significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

Abreviaturas: X - não identificado; tr - traço;  
DMA - dimetilacetal; i - iso; ai - anteiso.  
nd - não detectado; dp - desvio padrão.

Resposta do Detector

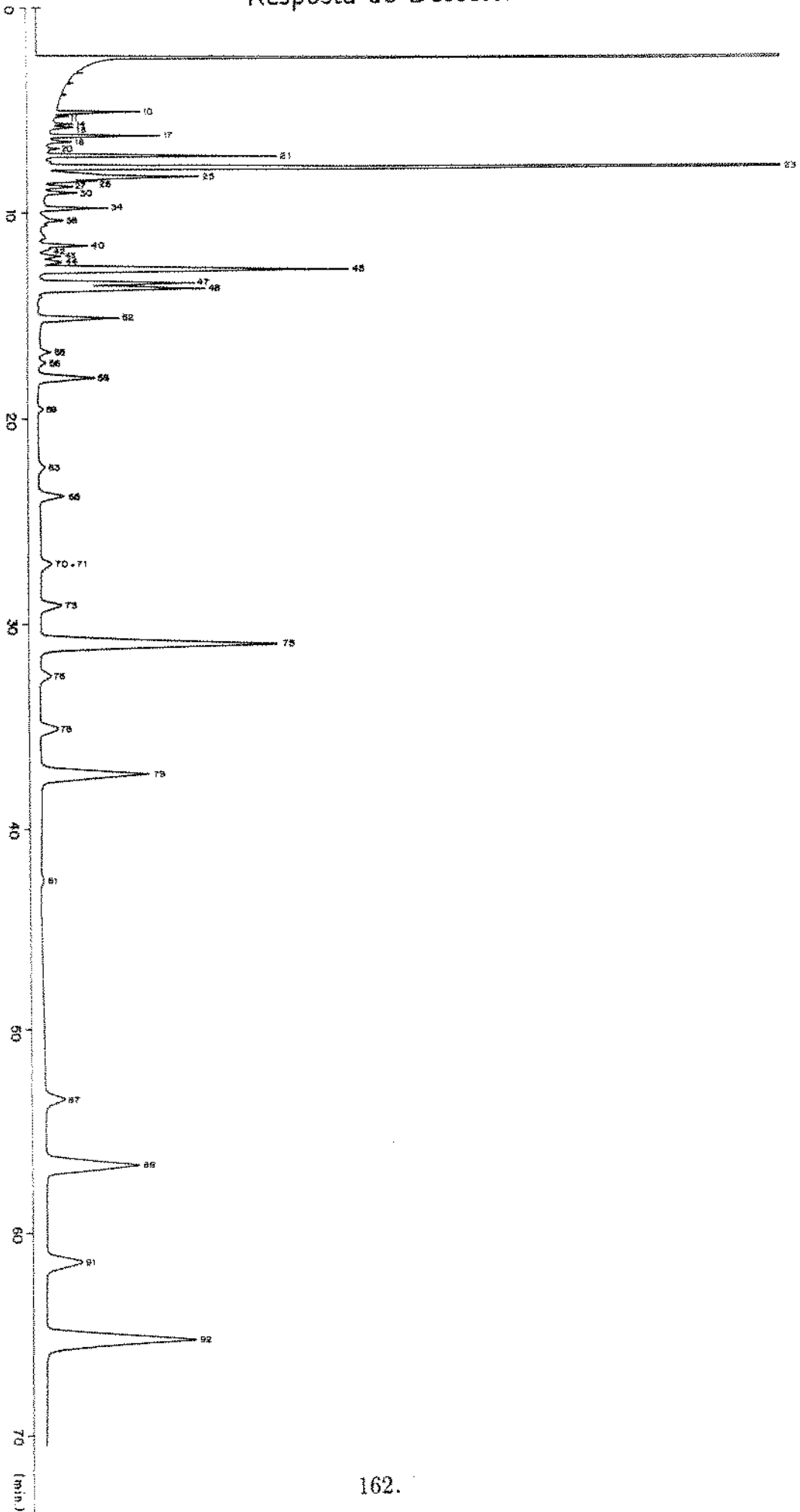


Figura 21

Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolípidos de curimatã, *Prochilodus scrofa*, em coluna de Carbowax 20M.

Temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  210°C

Resposta do Detector

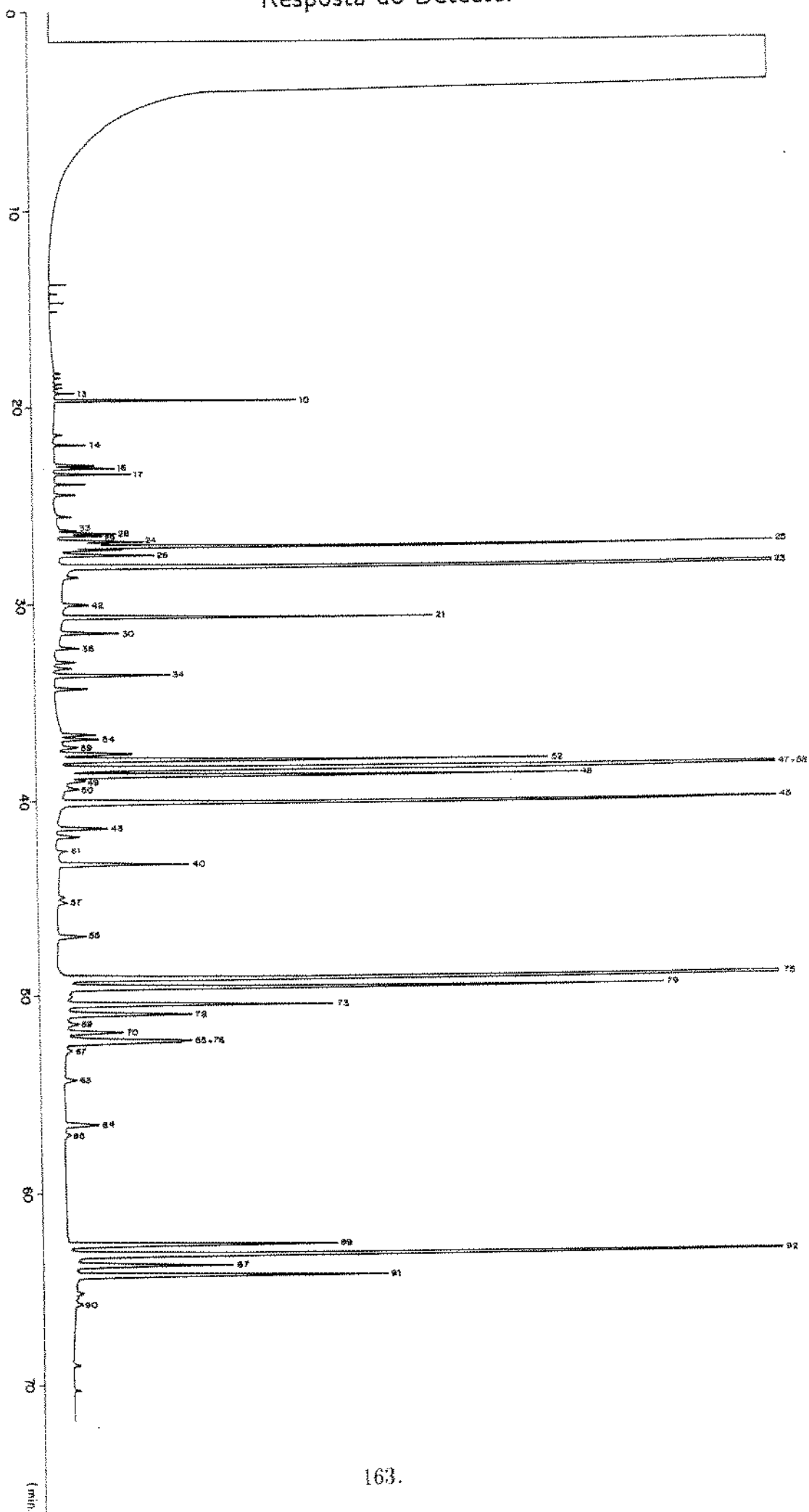


Figura 22

Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolipídios de curimbatá, *Prochilodus scrofa*, em coluna de SE-54.

Temperatura da coluna: 50°C/6min → 40°C/min → 170°C → 1°C/min → 230°C

( $16,9 \pm 2,5\%$ ), oléico ( $15,8 \pm 3,0\%$ ), esteárico ( $5,1 \pm 0,4\%$ ), mirístico ( $4,4 \pm 0,8\%$ ), linolênico ( $4,0 \pm 0,2\%$ ), 20:5n3 ( $2,7 \pm 0,4\%$ ), linoléico ( $2,6 \pm 0,1\%$ ) e 20:4n6 ( $2,0 \pm 0,4\%$ ) (Tabela 28).

Diferenças significativas foram vistas entre os 3 lotes de amostras. Contudo, os desvios padrões foram pequenos e comparáveis aos encontrados por Suzuki *et al.* (1986) para carpa silvestre, truta arco-íris e enguia (três amostras de cada espécie coletadas no mesmo rio ou lago), porém maiores do que aqueles obtidos para "channel catfish" cultivado (Nettleton *et al.*, 1990).

Os fosfolipídios de curimatá (Tabela 29) também demonstram uma proporção substancial dos poliinsaturados. O ácido palmítico mostrou a maior porcentagem ( $23,7 \pm 0,4\%$ ), seguido por 22:6n3 ( $12,2 \pm 0,6\%$ ), 20:4n6 ( $10,5 \pm 1,6\%$ ) e 20:5n3 ( $8,3 \pm 2,2\%$ ) que apresentaram-se apenas com  $1,4 \pm 0,3\%$ ;  $2,0\% \pm 0,4$  e  $2,7 \pm 0,4\%$ , respectivamente, nos lipídios neutros. Diferenças significativas entre os 3 lotes ocorreram com os ácidos 20:4n6 e 22:5n6 que diminuíram e com o ácido 20:5n3 que aumentou de abril para junho. Os teores de 22:5n3 aumentaram progressivamente entre os 3 lotes, mas não diferiram significativamente. O ácido 22:6n3 não apresentou variações apreciáveis. Cromatogramas típicos em colunas de CW20M e SE-54 estão mostrados nas Figuras 21 e 22, respectivamente.

A exemplo do pacu, os dimetilacetais também foram encontrados nos lipídios totais e fosfolipídios e estiveram ausentes nos lipídios neutros de curimatá. Nos lipídios totais, o principal componente foi o 16:0DMA ( $0,3 \pm 0,1\%$ ), enquanto o 18:0DMA teve  $0,1 \pm 0,0\%$  e o 18:1DMA foi encontrado no máximo em "traços" (Tabela 28). Com  $2,8 \pm 0,2\%$ , 16:0DMA foi o principal DMA nos PL de curimatá, seguido por 18:0DMA ( $1,2 \pm 0,2\%$ ) e 18:1DMA ( $0,6 \pm 0,1\%$ ). Além desses, também foi constatada a presença de 14:0DMA em traços, nos meses de abril e maio (Tabela 29).

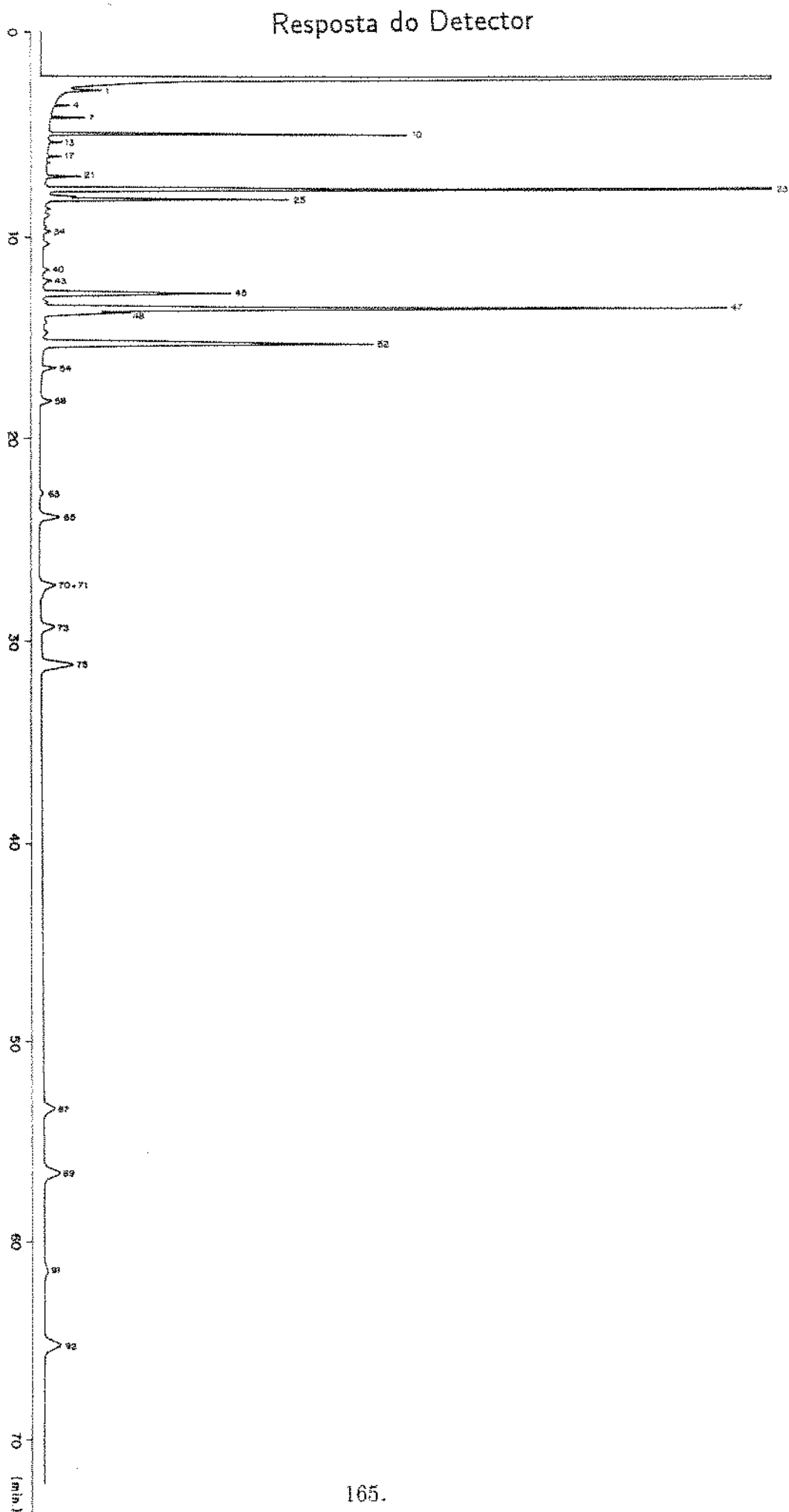


Figura 23

- Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lípidios totais de tilápia, *Oreochromis niloticus*, em coluna de Carbowax 20M.

Temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  210°C

# Resposta do Detector

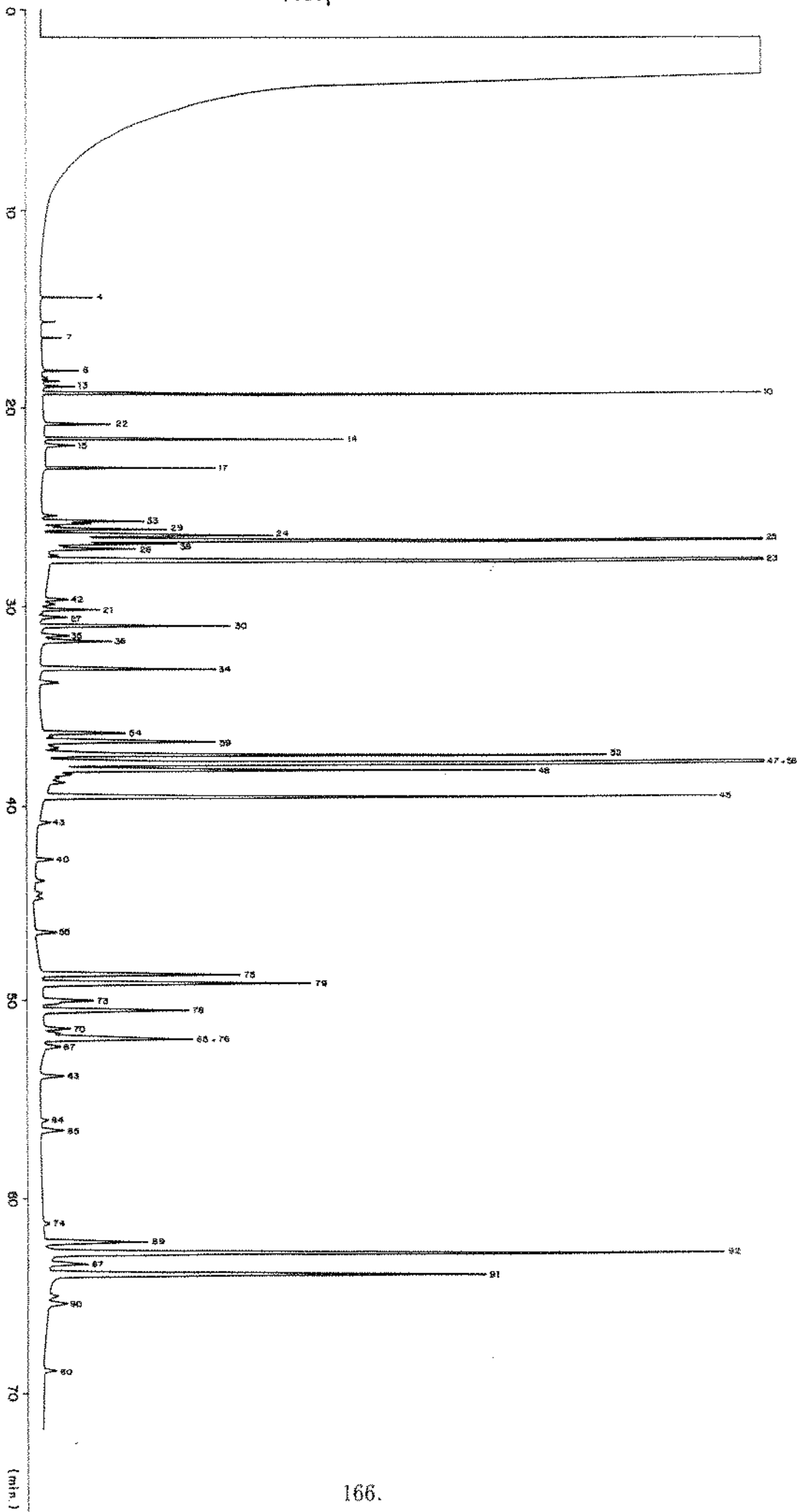


Figura 24 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lípidos totais de tilápia, *Oreochromis niloticus*, em coluna de SE-54.

Temperatura da coluna: 50°C/6min → 40°C/min → 170°C → 1°C/min → 230°C

Tabela 30 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de tilápia, *Oreochromis niloticus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(continua)

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
4	12:0	0,1	tr	tr	(tr - 0,1)
7	13:0	nd	tr	tr	(nd-tr)
10	14:0	4,4a	4,1b	3,9c	4,1 ± 0,2
13	14:1n5	trb	0,2a	0,2a	(tr-0,2)
14	i-15:0	nd	tr	tr	(nd-tr)
15	ai-15:0	nd	tr	tr	(nd-tr)
17	15:0	0,3a	0,2b	0,2b	0,2 ± 0,1
19	15:1n7	0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)
20	i-16:0	nd	tr	tr	(nd-tr)
21	16:0DMA	0,7a	0,6b	0,7a	0,7 ± 0,1
23	16:0	28,7ab	29,8a	28,1b	28,9 ± 0,9
25	16:1n7	5,9b	5,5c	6,5a	6,0 ± 0,5
27	i-17:0	0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)
30	ai-17:0	0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)
31	16:2n5	tr	nd	tr	(nd-tr)
34	17:0	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0
36	17:1n9	0,3a	0,2b	0,2b	0,2 ± 0,1
38	16:3n3	tr	tr	tr	tr
40	18:0DMA	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0
43	18:1DMA	0,3a	0,3a	0,3a	0,3 ± 0,0
45	18:0	6,3ab	6,7a	6,0b	6,3 ± 0,3
46	18:1n11	tr	tr	tr	tr
47	18:1n9	27,8a	28,6a	28,3a	28,2 ± 0,4
49	18:1n5	0,3	tr	tr	(tr-0,3)
50	18:1n4	0,3a	0,1c	0,2b	0,2 ± 0,1
52	18:2n6	13,2b	13,9a	13,2b	13,4 ± 0,4

Tabela 30 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de tilápia, *Oreochromis niloticus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(conclusão)						
Pico	Ácido	Época de captura			média ± dp	
		nº	graxo	abril		maio
54	18:3n6		0,6a	0,5a	0,5a	0,5 ± 0,1
55	19:0		tr	nd	tr	(nd-tr)
58	18:3n3		0,5a	0,4a	0,5a	0,5 ± 0,1
59	18:4n3		nd	tr	tr	(nd-tr)
63	20:0		0,2a	trb	0,2a	(tr-0,2)
65	20:1n9		1,2a	1,2a	1,2a	1,2 ± 0,0
67	20:1n7		nd	tr	0,1	(nd-0,1)
69	20:2n9		0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0
70	20:2n6					
+	+		0,9a	0,9a	1,0a	0,9 ± 0,1
71	20:3n9					
72	20,3n3		tr	tr	0,1	(tr-0,1)
73	20:3n6		1,0a	1,0a	1,0a	1,0 ± 0,0
75	20:4n6		2,4a	2,5a	2,6a	2,5 ± 0,1
76	20:3n3		0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)
79	20:5n3		nd	tr	tr	(nd-tr)
87	22:4n6		1,1a	0,9a	1,1a	1,0 ± 0,1
89	22:5n6		1,8a	1,5b	1,9a	1,7 ± 0,2
91	22:5n3		0,4a	trc	0,2b	(tr-0,4)
92	22:6n3		1,8a	1,1b	1,8a	1,6 ± 0,4

<sup>1</sup> As determinações mensais foram realizadas em duplicatas, a partir de lotes compostos por 6 peixes em abril e 10 peixes em maio e junho.

<sup>2</sup> Valores na mesma linha horizontal não mostrando a mesma letra são significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

Abreviaturas: tr - traço; i - iso; ai - anteiso;  
nd - não detectado; dp - desvio padrão;  
DMA - dimetilacetal.



### 5.4.3. Composição de ácidos graxos da tilápia

A composição da tilápia foi mais simples (Figuras 23 e 24) do que a de pacu e curimatá, consistindo de 50 componentes. Os ácidos graxos principais nos lipídios totais foram: palmítico ( $28,9 \pm 0,9\%$ ), oléico ( $28,2 \pm 0,4\%$ ), linoléico ( $13,4 \pm 0,4\%$ ), esteárico ( $6,3 \pm 0,3\%$ ), palmitoléico ( $6,0 \pm 0,5\%$ ), mirístico ( $4,1 \pm 0,2\%$ ), 20:4n6 ( $2,5 \pm 0,1\%$ ), 22:5n6 ( $1,7 \pm 0,2\%$ ) e 22:6n3 ( $1,6 \pm 0,4\%$ ) (Tabela 30).

Usando uma coluna empacotada com 15% DEGS, Gopakumar (1975) conseguiu determinar 23 ácidos graxos nos LT de tilápia, *Tilapia mosambica*, da Índia. O ácido palmítico com um teor de 29,7% foi também o ácido graxo principal, sendo seguido pelo oléico (19,8%), palmitoléico (13,8%), esteárico (5,4%), mirístico (4,7%), linoléico (4,1%) e linolênico (4,0%). Com exceção do ácido palmítico, individualmente houve algumas inversões qualitativas e quantitativas entre os ácidos graxos principais de *T. mosambica* e *O. niloticus*. Diferenças também ocorreram nos totais de ácidos dienóicos (4,6% vs. 13,6%) e polienóicos (13,5% vs. 8,8%), o mesmo não acontecendo com os totais de ácidos saturados (44,4% vs. 39,7%) e monoinsaturados (37,5% vs. 35,8%). Os dados para *O. niloticus* foram retirados da Tabela 37.

Ao contrário do pacu e curimatá, os lipídios neutros da tilápia não seguiram a mesma ordem que os lipídios totais. Houve uma inversão entre os ácidos graxos palmítico/oléico e esteárico/palmitoléico. A ordem foi: oléico ( $32,1 \pm 0,5\%$ ), palmítico ( $28,5 \pm 0,3\%$ ), linoléico ( $12,9 \pm 0,2\%$ ), palmitoléico ( $7,6 \pm 0,4\%$ ), esteárico ( $5,4 \pm 0,3\%$ ), mirístico ( $5,2 \pm 0,2\%$ ) e 20:1n9 ( $1,7 \pm 0,2\%$ ) (Tabela 31). Nas Figuras 25 e 26 são mostrados cromatogramas típicos em colunas CW20M e SE-54, respectivamente.

Também diferentemente do pacu e curimatá, os fosfolipídios de tilápia mantiveram a mesma ordem que os lipídios totais até o quarto ácido graxo majoritário; só depois foi que os ácidos poliinsaturados surgiram. Os principais foram: palmítico, ( $26,7 \pm 3,2\%$ ); oléico ( $16,8 \pm 0,7\%$ ); linoléico ( $14,3 \pm 0,7\%$ );

Tabela 31 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros de tilápia, *Oreochromis niloticus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(continua)

Pico nº	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
1	10:0	tr	tr	tr	tr
3	11:1	tr	tr	tr	tr
4	12:0	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
7	13:0	tr	tr	tr	tr
8	i-14:0	tr	tr	tr	tr
10	14:0	5,4a	5,0a	5,3a	5,2 ± 0,2
12	14:1n7	tr	tr	tr	tr
14	i-15:0	0,3a	0,2b	0,2b	0,2 ± 0,1
15	ai-15:0	tr	tr	tr	tr
16	X3	tr	tr	tr	tr
17	15:0	0,3a	0,2b	0,2b	0,2 ± 0,1
18	15:1n9	tr	tr	tr	tr
20	i-16:0	tr	tr	0,1	(tr-0,1)
21	16:0DMA	tr	tr	tr	tr
23	16:0	28,3a	28,8a	28,4a	28,5 ± 0,3
25	16:1n7	7,2b	7,5ab	8,0a	7,6 ± 0,4
27	i-17:0	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0
30	ai-17:0	0,1a	0,2a	0,1a	0,2 ± 0,1
34	17:0	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0
36	17:1n9	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0
38	16:3n3	tr	tr	tr	tr
45	18:0	5,8a	5,4a	5,1a	5,4 ± 0,3
46	18:1n11	0,2a	0,1b	trc	(tr-0,2)
47	18:1n9	31,5a	32,3a	32,4a	32,1 ± 0,5
49	18:1n5	0,1	tr	tr	(tr-0,1)
50	18:1n4	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0
52	18:2n6	12,8b	13,2a	12,8b	12,9 ± 0,2

Tabela 31 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros de tilápia, *Oreochromis niloticus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(conclusão)

Pico nº	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
54	18:3n6	0,6a	0,5b	0,5b	0,5 ± 0,1
55	19:0	tr	tr	tr	tr
58	18:3n3	0,6a	0,5b	0,6a	0,6 ± 0,1
59	18:4n3	tr	tr	tr	tr
63	20:0	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0
65	20:1n9	1,9a	1,5b	1,8a	1,7 ± 0,2
66	20:1n8	0,1	tr	tr	(tr-0,1)
67	20:1n7	tr	tr	0,1	(tr-0,1)
69	20:2n9	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0
70	20:2n6				
+	+	1,0a	0,9b	0,8b	0,9 ± 0,1
71	20:3n9				
72	20:2n3	tr	tr	tr	tr
73	20:3n6	0,6a	0,5a	0,6a	0,6 ± 0,1
75	20:4n6	0,8a	0,5a	0,6a	0,6 ± 0,1
76	20:3n3	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
79	20:5n3	tr	tr	tr	tr
81	22:1n11	tr	tr	tr	tr
82	22:1n9	tr	tr	tr	tr
83	21:4n6	tr	tr	tr	tr
87	22:4n6	0,4a	0,5a	0,5a	0,5 ± 0,1
89	22:5n6	0,4a	0,4a	0,2b	0,3 ± 0,1
91	22:5n3	trc	0,2a	0,1b	(tr-0,2)
92	22:6n3	0,3b	0,4a	0,4a	0,4 ± 0,1

<sup>1</sup> As determinações mensais foram realizadas em duplicatas, a partir de lotes compostos por 6 peixes em abril e 10 peixes em maio e junho.

<sup>2</sup> Valores na mesma linha horizontal não mostrando a mesma letra são significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

Abreviaturas: X - não identificado; tr - traço;  
nd - não detectado; dp - desvio padrão;  
DMA - dimetilacetil; i - iso; ai - anteiso.

# Resposta do Detector

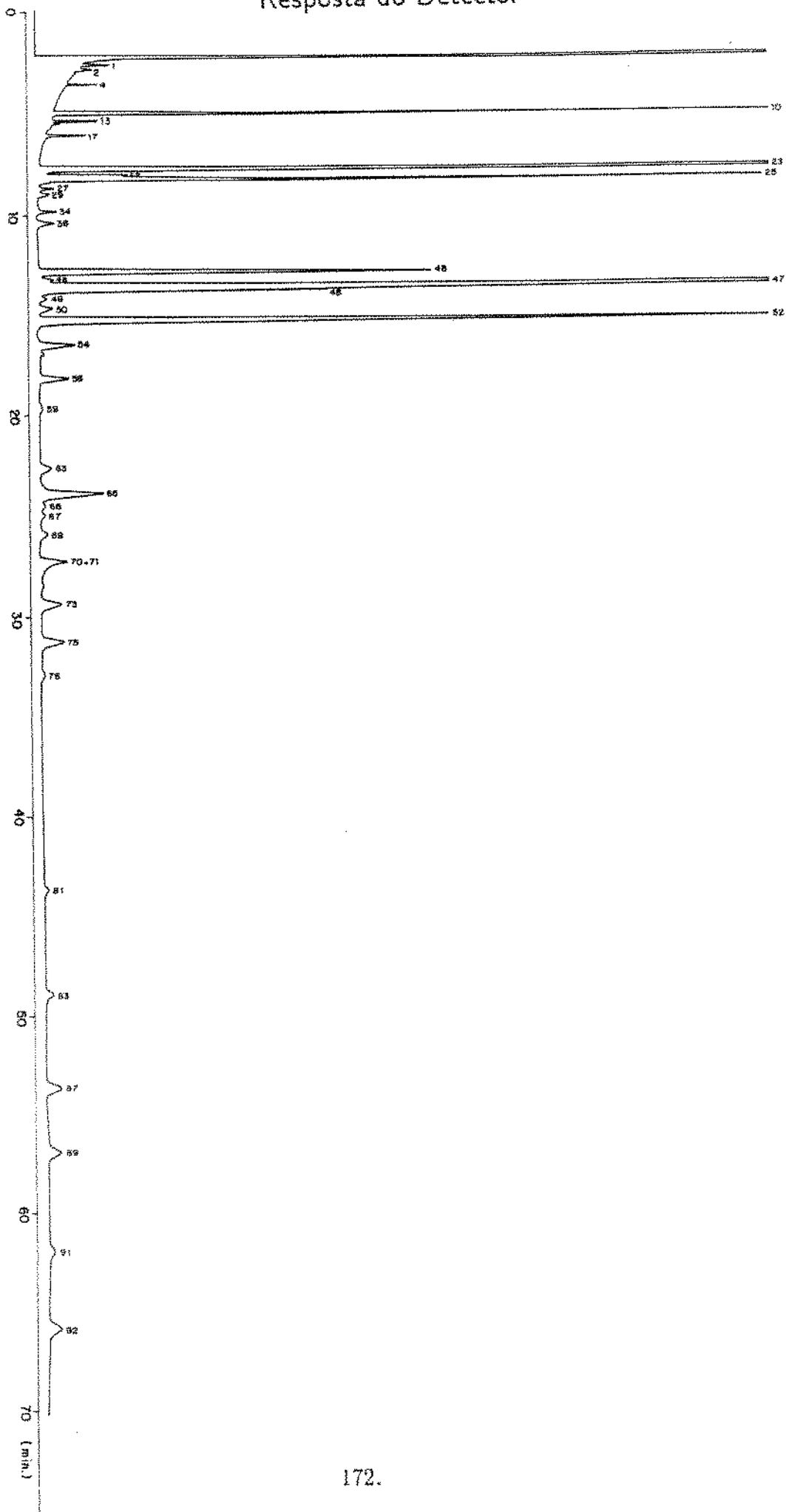


Figura 25 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lípidos neutros de tilápia, *Oreochromis niloticus*, em coluna de Carbowax 20M.  
Temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  210°C

Resposta do Detector

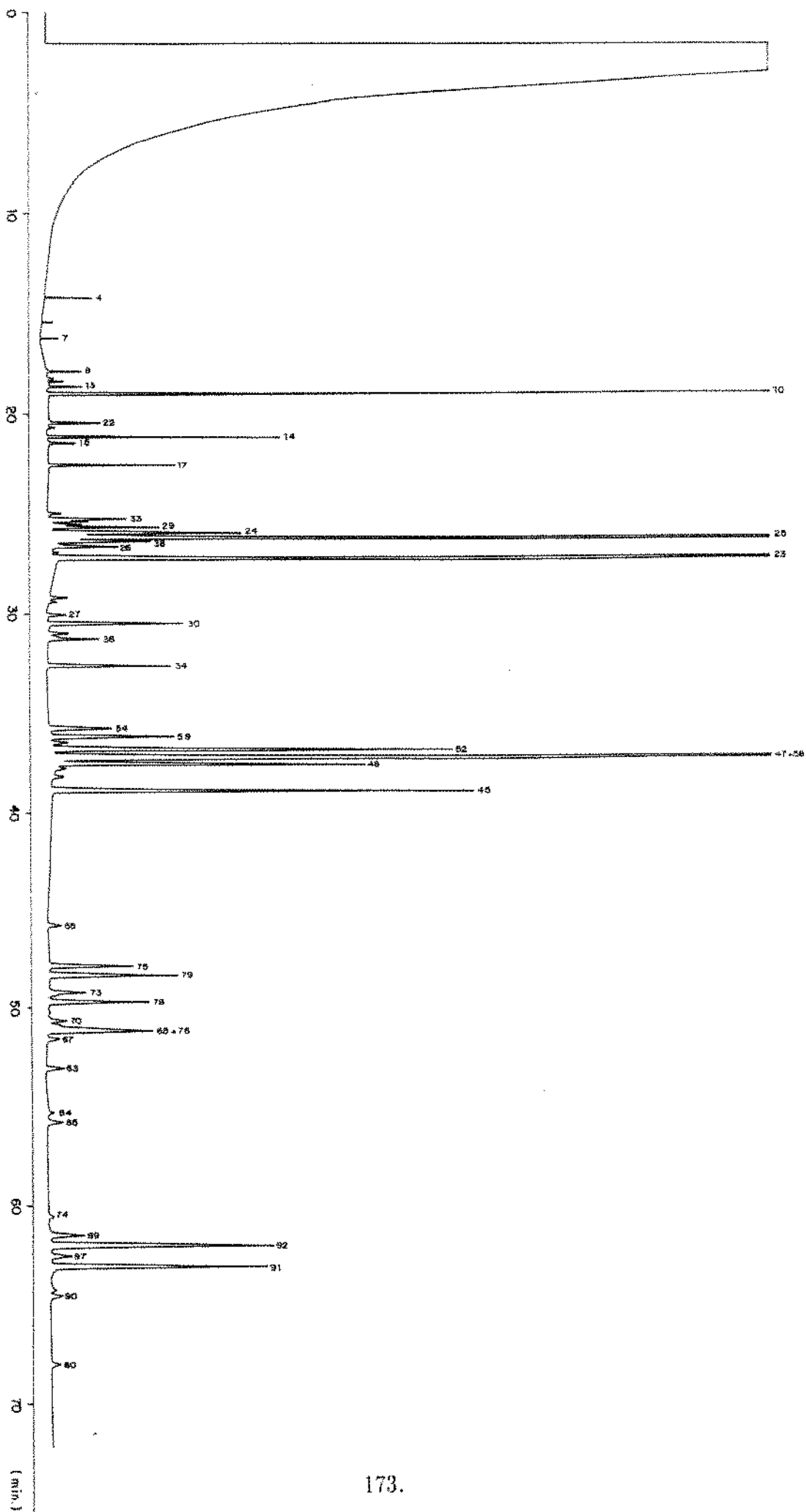


Figura 26 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lipídios neutros de tilápia, *Oreochromis niloticus*, em coluna de SE-54.  
Temperatura da coluna: 50°C/6min 40°C/min 170°C 1°C/min 230°C

Tabela 32 - Composição percentual de ácidos graxos de fosfolipídios de tilápia, *Oreochromis niloticus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(continua)

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
9	14:0DMA	tr	tr	tr	tr
10	14:0	0,9a	0,9a	0,7a	0,8 ± 0,1
12	14:1n7	tr	tr	tr	tr
16	X3	tr	tr	tr	tr
17	15:0	0,2a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,1
18	15:1n9	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0
21	16:0DMA	2,5a	2,2a	2,3a	2,3 ± 0,1
23	16:0	27,2b	29,7a	23,3c	26,7 ± 3,2
25	16:1n7	1,8b	1,8b	2,6a	2,1 ± 0,5
27	i-17:0	0,1	tr	tr	(tr-0,1)
30	ai-17:0	0,2a	trc	0,1b	(tr-0,2)
34	17:0	0,2a	0,2a	0,1a	0,2 ± 0,1
36	17:1n9	0,2a	0,2a	0,1a	0,2 ± 0,1
38	16:3n3	0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)
40	18:0DMA	0,9a	0,8a	0,9a	0,9 ± 0,1
43	18:1DMA	1,3a	1,0b	1,4a	1,2 ± 0,2
44	X4	tr	tr	tr	tr
45	18:0	9,0a	8,1b	7,9b	8,3 ± 0,6
47	18:1n9	16,7ab	17,5a	16,1b	16,8 ± 0,7
49	18:1n5	tr	tr	tr	tr
50	18:1n4	0,3a	trb	0,1b	(tr-0,3)
52	18:2n6	14,1ab	15,1a	13,8b	14,3 ± 0,7
54	18:3n6	0,3a	0,3a	0,3a	0,3 ± 0,0
55	19:0	tr	tr	tr	tr
58	18:3n3	0,2a	0,2a	0,3a	0,2 ± 0,1
63	20:0	0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)

Tabela 32 - Composição percentual de ácidos graxos de fosfolipídios de tilápia, *Oreochromis niloticus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

Pico nº	Ácido graxo	Época de captura				(conclusão)
		abril	maio	junho	média ± dp	
65	20:1n9	0,5a	0,5a	0,6a	0,5 ± 0,1	
69	20:2n9	0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)	
70	20:2n6					
+	+	1,6a	1,3b	1,3b	1,4 ± 0,2	
71	20:3n9					
72	20:2n3	0,2b	0,3a	0,3a	0,3 ± 0,1	
73	20:3n6	2,1a	2,1a	2,4a	2,2 ± 0,2	
75	20:4n6	7,6b	6,8c	8,4a	7,6 ± 0,8	
76	20:3n3	0,1	tr	tr	(tr-0,1)	
79	20:5n3	0,2a	trb	0,2a	(tr-0,2)	
81	22:1n11	tr	tr	nd	(nd-tr)	
87	22:4n6	2,6ab	2,1b	2,8a	2,5 ± 0,4	
89	22:5n6	5,5b	4,3c	6,4a	5,4 ± 1,0	
91	22:5n3	0,7a	0,4a	0,9a	0,7 ± 0,2	
92	22:6n3	5,7a	3,9b	6,3a	5,3 ± 1,2	

<sup>1</sup> As determinações mensais foram realizadas em duplicatas, a partir de lotes compostos por 6 peixes em abril e 10 peixes em maio e junho.

<sup>2</sup> Valores na mesma linha horizontal não mostrando a mesma letra são significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

Abreviaturas: X - não identificado; tr - traço;  
nd - não detectado; dp - desvio padrão;  
DMA - dimetilacetal; i - iso; ai - anteiso.

Resposta do Detector

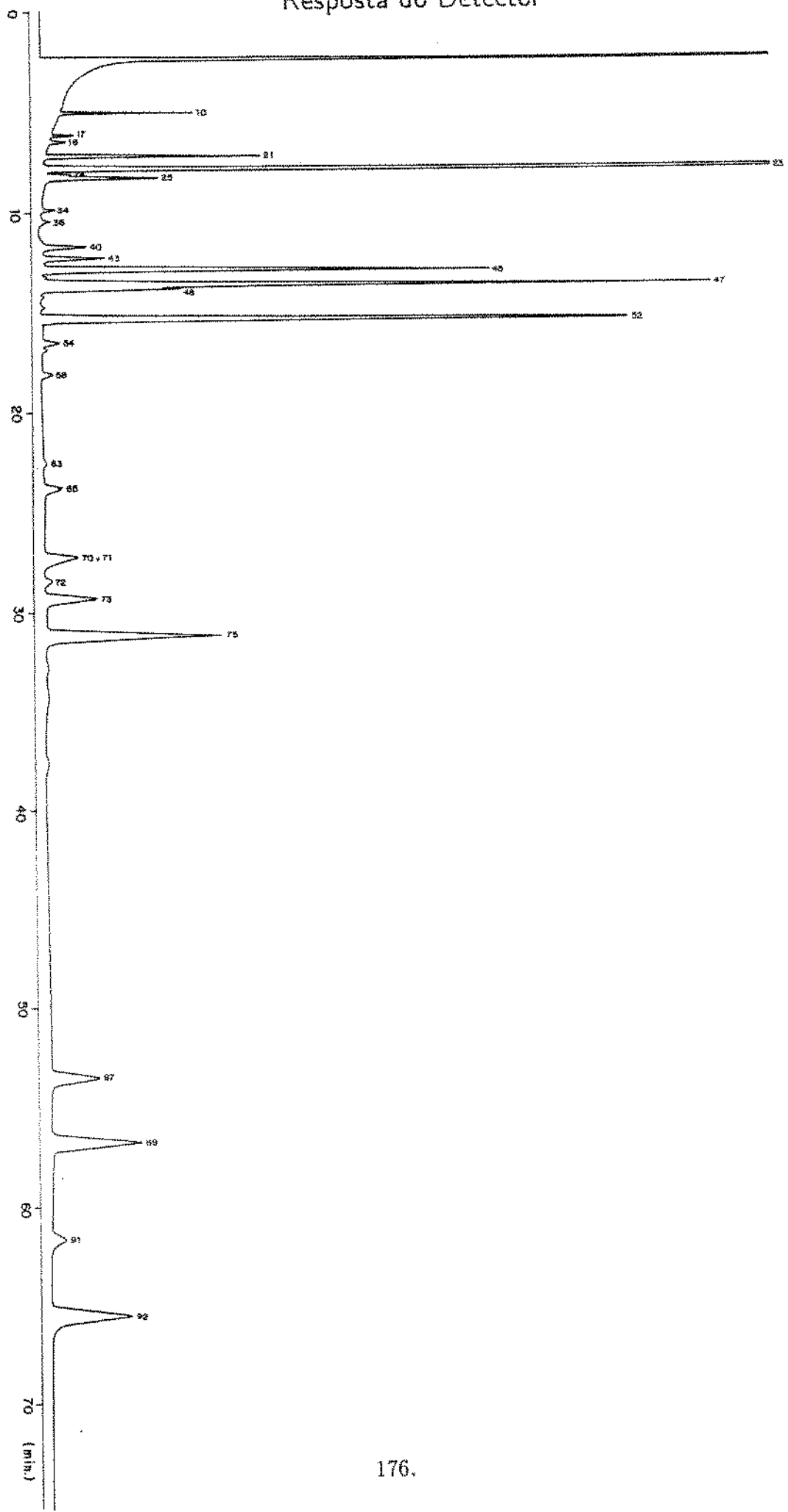


Figura 27 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolípidios de tilápia, *Oreochromis niloticus*, em coluna de Carbowax 20M.  
Temperatura da coluna: 200°C/42min 210°C



Resposta do Detector

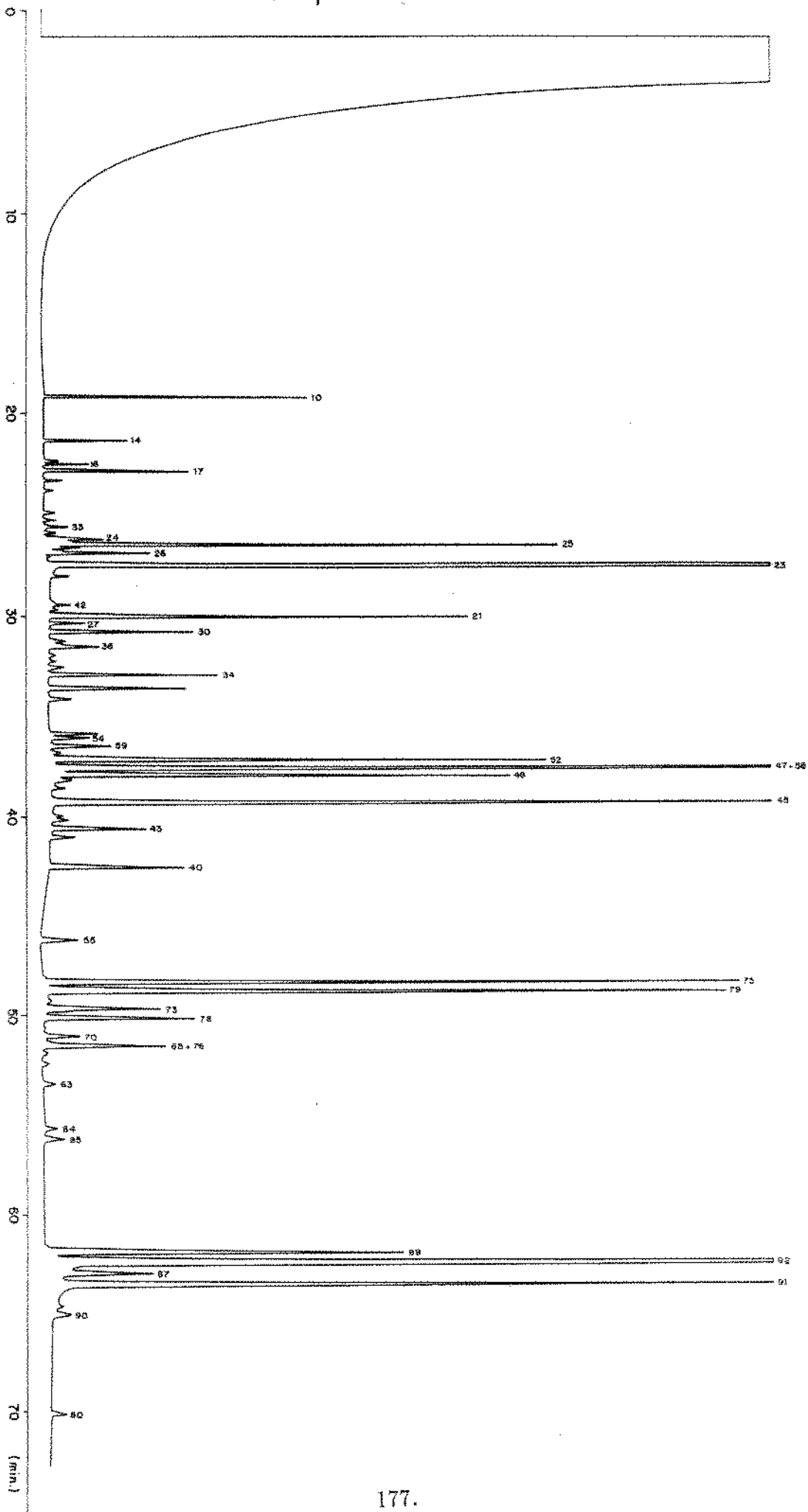


Figura 28 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolípidios de tilápia, *Oreochromis niloticus*, em coluna de SE-54.

Temperatura da coluna: 40°C/min 170°C 1°C/min 220°C

esteárico ( $8,3 \pm 0,6\%$ ); 20:4n6 ( $7,6 \pm 0,8\%$ ); 22:5n6 ( $5,4 \pm 1,0\%$ ); 22:6n3 ( $5,3 \pm 1,2\%$ ); 22:4n6 ( $2,5 \pm 0,4\%$ ); 16:0DMA ( $2,3 \pm 0,1\%$ ); 20:3n6 ( $2,2 \pm 0,2\%$ ); e palmitoléico ( $2,1 \pm 0,5\%$ ) (Tabela 32). Cromatogramas típicos nas colunas de CW20M e SE-54 são mostrados nas Figuras 27 e 28, respectivamente.

Como no caso do pacu, as amostras de tilápia foram cultivadas e não houve diferenças significativas entre os três lotes de amostras. Entre todos os ácidos graxos principais presentes nos LT, LN e PL, apenas o ácido mirístico nos LT apresentou uma variação significativa nos 3 lotes de amostras. A temperatura da água tem influenciado a composição de ácidos graxos da *T. mosambica* (Nair & Gopakumar, 1981) e da *T. nilotica* (= *O. niloticus*) (Satoh *et al.*, 1984).

Os mesmos DMAs encontrados no curimatá também foram detectados na tilápia. Nos lipídios totais (Tabela 30), o principal componente ainda foi o 16:0DMA ( $0,7 \pm 0,1\%$ ), agora seguido por 18:1DMA ( $0,3 \pm 0,0\%$ ), ao invés de 18:0DMA ( $0,2 \pm 0,0\%$ ). Idêntica sequência foi encontrada na fração de fosfolipídios, porém os teores foram mais elevados: 16:0DMA ( $2,3 \pm 0,1\%$ ), 18:1DMA ( $1,2 \pm 0,2\%$ ) e 18:0DMA ( $0,9 \pm 0,1\%$ ) (Tabela 33). Nos PL e LN foram detectados em “traços”, nos 3 lotes analisados, 14:0DMA e 16:0DMA, respectivamente.

#### 5.4.4. Composição de ácidos graxos de tambaqui

Foram detectados 46 ácidos graxos no tambaqui. Os ácidos graxos principais nos lipídios totais das amostras de Pirassununga foram: oléico ( $40,1 \pm 1,2\%$ ), palmítico ( $28,8 \pm 1,2\%$ ), esteárico ( $9,8 \pm 0,4\%$ ), linoléico ( $8,9 \pm 0,3\%$ ) e palmitoléico ( $6,3 \pm 0,1\%$ ) (Tabela 33). Os ácidos graxos saturados totalizaram 40,2%, os monoenoícos, 47,5%, os dienóicos, 8,9% e os polienoícos, 2,5% (Tabela 36). Os EMAG de LT separados pelas colunas de CW20M e SE-54 estão mostrados nas Figuras 29 e 30, respectivamente.

A composição dos lipídios totais de uma amostra proveniente de Manaus foi marcadamente diferente (Tabela 33). Os principais ácidos graxos tiveram

Tabela 33 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de tambaqui, *Colossoma macropomum*, proveniente de Pirassununga, São Paulo e Manaus, Amazonas<sup>1,2</sup>.

(continua)

Pico n <sup>o</sup>	Ácido graxo	Proveniente de Pirassununga				Proveniente de Manaus
		abril	maio	junho	média ± dp	novembro
4	12:0	tr	tr	tr	tr	0,1
10	14:0	1,5a	1,4a	1,1b	1,3 ± 0,2	0,7
13	14:1n5	0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)	tr
17	15:0	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0	0,2
18	15:1n9	tr	tr	tr	tr	0,1
20	i-16:0	tr	nd	tr	(nd-tr)	tr
21	16:0DMA	0,3ab	0,2b	0,3a	0,3 ± 0,1	0,8
22	15:2n5	0,1	nd	nd	(nd-0,1)	0,1
23	16:0	29,1a	29,8a	27,4a	28,8 ± 1,2	14,6
25	16:1n7	6,3a	6,4a	6,3a	6,3 ± 0,1	1,2
27	i-17:0	tr	tr	tr	tr	0,1
30	ai-17:0	0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)	0,1
31	16:2n5	tr	nd	nd	(nd-tr)	nd
34	17:0	0,2a	0,2a	0,1a	0,2 ± 0,1	0,2
36	17:1n9	0,1a	0,2a	0,1a	0,1 ± 0,1	0,1
38	16:3n3	tr	tr	tr	tr	tr
40	18:0DMA	tr	tr	0,1	(tr-0,1)	0,3
43	18:1DMA	0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)	tr
45	18:0	10,3a	9,8a	9,4a	9,8 ± 0,4	8,2
47	18:1n9	38,8b	41,2a	40,2ab	40,1 ± 1,2	28,6
49	18:1n5	0,1	tr	tr	(tr-0,1)	tr
51	18:1n3	tr	nd	tr	(nd-tr)	0,2
52	18:2n6	8,7a	9,2a	8,7a	8,9 ± 0,3	26,1
54	18:3n6	0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)	0,2
55	19:0	tr	tr	tr	tr	0,1
58	18:3n3	0,6a	0,5ab	0,5b	0,5 ± 0,1	9,1
59	18:4n3	0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)	0,6
63	20:0	0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)	0,4
65	20:1n9	1,1a	1,0a	1,0a	1,0 ± 0,1	0,6

Tabela 33 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais de tambaqui, *Colossoma macropomum*, proveniente de Pirassununga, São Paulo e Manaus, Amazonas<sup>1,2</sup>.

Pico nº	Ácido graxo	Proveniente de Pirassununga				(conclusão)	
		abril	maio	junho	média ± dp	Proveniente de Manaus novembro	
69	20:2n9	0,1a	tra	0,1a	(tr-0,1)	tr	
70	20:2n6						
+	+	0,5a	0,5a	0,5a	0,5 ± 0,0	0,6	
71	20:3n9						
72	20:2n3	tr	nd	tr	(nd-tr)	tr	
73	20:3n6	0,5a	0,5a	0,5a	0,5 ± 0,0	0,5	
75	20:4n6	0,6a	0,6a	0,8a	0,7 ± 0,1	1,8	
76	20:3n3	tr	nd	tr	(nd-tr)	0,3	
77	20:5n6	nd	nd	nd	nd	0,2	
78	20:4n3	tr	nd	tr	(nd-tr)	0,2	
79	20:5n3	0,2a	trb	0,1b	(tr-0,2)	0,5	
80	22:0	nd	tr	tr	(nd-tr)	0,2	
86	23:0	nd	nd	nd	nd	tr	
87	22:4n6	0,1	tr	tr	(tr-0,1)	0,2	
88	22:3n3	0,3	nd	nd	(nd-0,3)	nd	
89	22:5n6	0,3a	trb	0,3a	(tr-0,3)	0,7	
91	22:5n3	0,1	tr	tr	(tr-0,1)	0,4	
92	22:6n3	0,9a	0,6b	0,9a	0,8 ± 0,2	1,6	

<sup>1</sup> Para as amostras de Pirassununga, as determinações mensais foram realizadas em duplicatas, a partir de lotes compostos por 6 peixes. Para a amostra proveniente de Manaus, a determinação foi realizada em triplicata, em um único peixe

<sup>2</sup> Valores na mesma linha horizontal não mostrando a mesma letra são significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

Abreviaturas: tr - traço;

nd - não detectado; dp - desvio padrão;

DMA - dimetilacetal; i - iso; ai - anteiso.

# Resposta do Detector

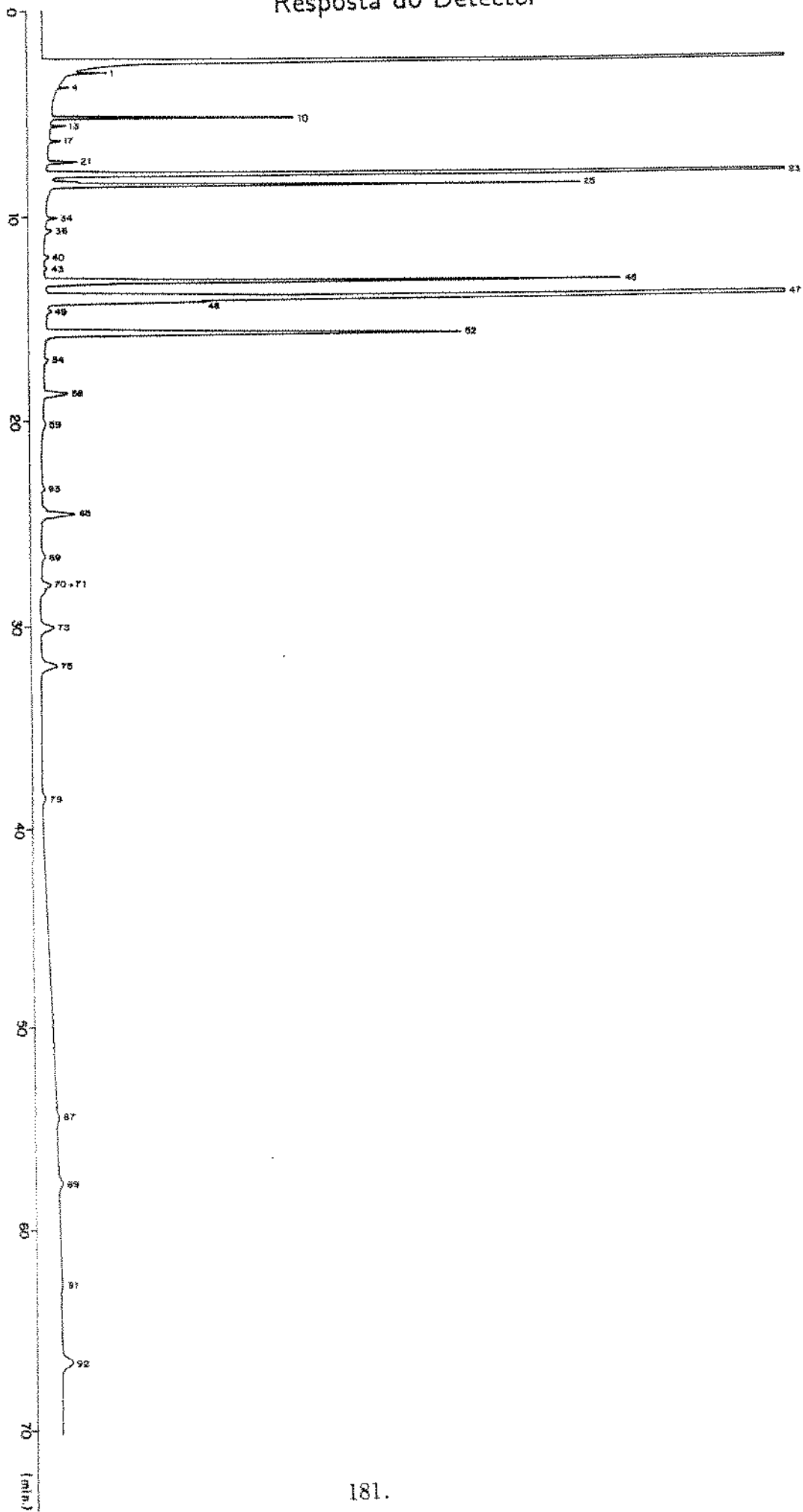


Figura 29 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lípidos totais de tabbaqui, *Colossoma macropomum*, em coluna de Carbowax 20M.  
Temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  210°C

# Resposta do Detector

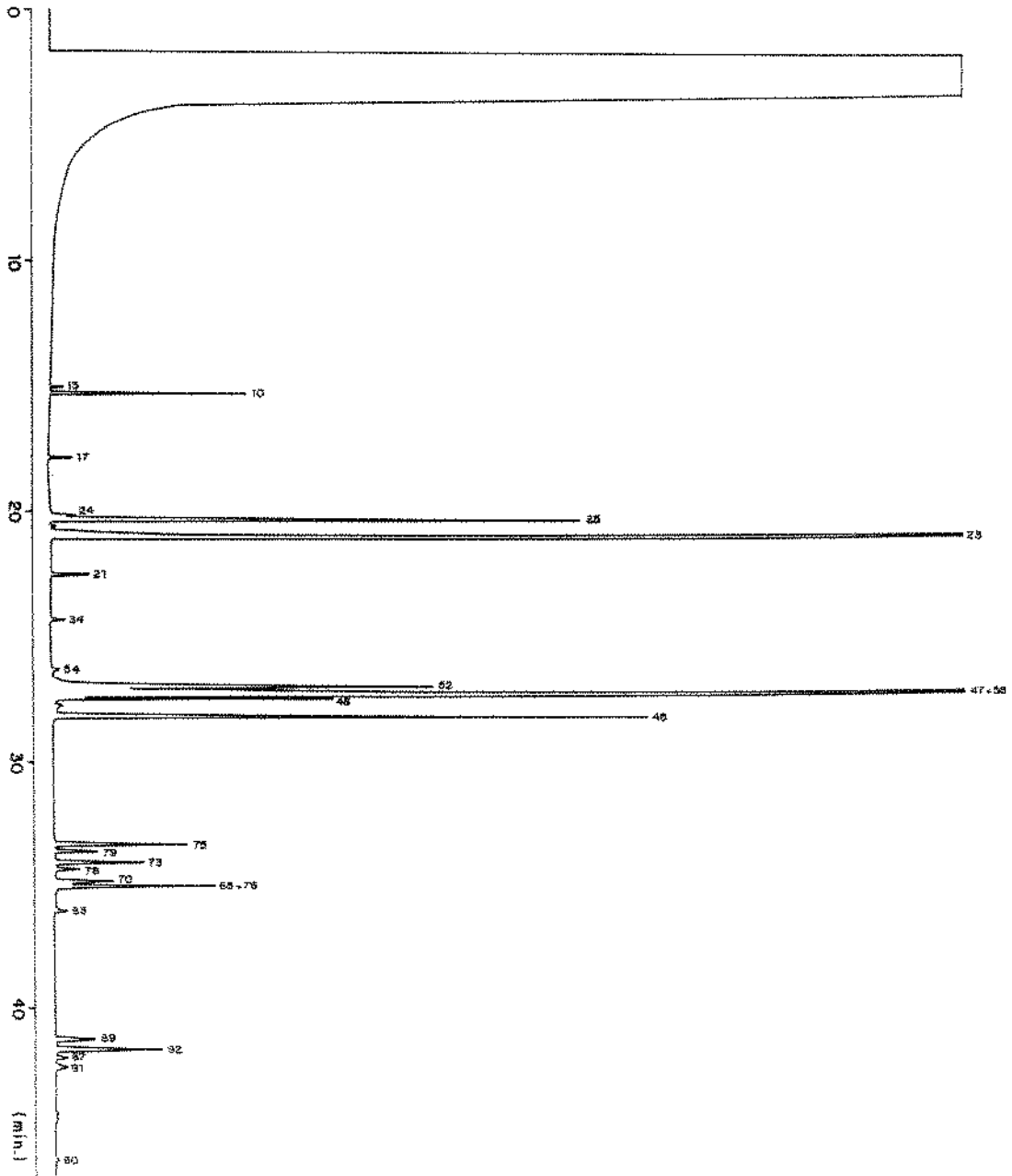


Figura 30 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lípidios totais de tambaqui, *Colossoma macropomum*, em coluna de SE-54.  
Temperatura da coluna: 50°C/4min  $\xrightarrow{50^\circ\text{C}/\text{min}}$  170°C  $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$  230°C/10min  $\xrightarrow{5^\circ\text{C}/\text{min}}$  250°C

as seguintes porcentagens: oléico (28,6%), linoléico (26,1%), palmítico (14,6%), linolênico (9,1%) e esteárico (8,2%). Os ácidos graxos saturados totalizaram 24,9%, os monoinsaturados, 30,8%, os diinsaturados, 26,2% e os poliinsaturados, 16,3%. Por outro lado, Castelo *et al.* (1980) utilizando uma coluna empacotada de 17% PEGS na análise da gordura muscular do tambaqui oriundo também de Manaus, conseguiram separar 22 ácidos graxos, tendo figurado como principais, os ácidos oléico (43,8%), palmítico (19,0%), esteárico (15,0%), linoléico (12,6%) e palmitoléico (4,4%). Os teores totais de ácidos saturados, monoenóicos, dienóicos e polienóicos foram de 35,5%, 49,2%, 13,0% e 2,2%, respectivamente. Esta composição se assemelha mais a dos tambaquis de Pirassununga.

Os ácidos graxos majoritários nos lipídios neutros foram exatamente os mesmos: oléico ( $40,9 \pm 0,8\%$ ), palmítico ( $28,5 \pm 0,6\%$ ), esteárico ( $10,2 \pm 0,7\%$ ), linoléico ( $8,6 \pm 0,1\%$ ) e palmitoléico ( $6,6 \pm 0,4\%$ ) (Tabela 34). Cromatogramas típicos estão apresentados nas Figuras 31 e 32 para as colunas CW20M e SE-54, respectivamente.

Nos fosfolipídios houve uma inversão entre oléico e palmítico, com uma diminuição marcante da percentagem do ácido oléico. Logo depois do esteárico, apareceram os poliinsaturados. As porcentagens foram: palmítico,  $18,6 \pm 0,3\%$ ; oléico,  $17,9 \pm 2,9\%$ ; esteárico,  $10,7 \pm 1,1\%$ ; 22:6n3,  $10,6 \pm 1,7\%$ ; linoléico,  $9,9 \pm 0,6\%$ ; 20:4n6,  $9,1 \pm 0,9\%$ ; 16:0DMA,  $5,7 \pm 0,4\%$ ; 22:5n6,  $3,9 \pm 1,0\%$  e 20:3n6,  $3,4 \pm 0,2\%$  (Tabela 35). Cromatogramas típicos dos EMAG separados nas colunas CW20M e SE-54 estão apresentados nas Figuras 33 e 34, respectivamente.

Reforçando as observações feitas com pacu e tilápia, não houve diferença significativa entre os teores mensais para a maioria dos ácidos graxos presentes nos lipídios totais, lipídios neutros e fosfolipídios, exceção ocorrendo apenas com o ácido 22:5n6 de PL, cujos teores mensais apresentaram aumentos significativos de abril para junho.

A exemplo de pacu e curimatá, os DMAs não foram encontrados na fração de lipídios neutros de tambaqui (Tabela 34). Nos lipídios totais (Tabela 33),

Tabela 34 - Composição percentual de ácidos graxos de lipídios neutros de tambaqui, *Colossoma macropomum*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(continua)

Pico	Ácido nº	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
4	12:0	tr	tr	tr	tr
7	13:0	tr	tr	tr	tr
8	i-14:0	tr	tr	tr	tr
10	14:0	1,4a	1,2a	1,2a	1,3 ± 0,1
13	14:1n5	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
14	i-15:0	tr	tr	tr	tr
15	ai-15:0	tr	tr	tr	tr
17	15:0	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
23	16:0	27,9a	28,5a	29,2a	28,5 ± 0,6
25	16:1n7	6,2b	6,6ab	7,1a	6,6 ± 0,4
27	i-17:0	tr	tr	tr	tr
30	ai-17:0	0,1a	0,1a	tra	(tr-0,1)
31	16:2n5	tr	nd	tr	(nd-tr)
34	17:0	0,2a	0,2a	0,1b	0,2 ± 0,1
36	17:1n9	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
38	16:3n3	tr	tr	tr	tr
45	18:0	11,0a	9,9b	9,8b	10,2 ± 0,7
47	18:1n9	40,4a	41,8a	40,5a	40,9 ± 0,8
49	18:1n5	0,1	tr	tr	(tr-0,1)
50	18:1n4	tr	tr	tr	tr
51	18:1n3	tr	tr	tr	tr
52	18:2n6	8,6a	8,7a	8,6a	8,6 ± 0,1
54	18:3n6	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
55	19:0	tr	tr	tr	tr
57	19:1n9	tr	tr	tr	tr
58	18:3n3	0,6a	0,4b	0,5ab	0,5 ± 0,1



Tabela 34 - Composição percentual de ácidos graxos de lípidios neutros de tambaqui, *Colossoma macropomum*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(conclusão)

Pico nº	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
59	18:4n3	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
63	20:0	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
65	20:1n9	1,4a	1,1a	1,1a	1,2 ± 0,2
67	20:1n7	tr	tr	tr	tr
69	20:2n9	0,1a	0,1a	0,1a	0,1 ± 0,0
70	20:2n6				
+	+	0,5a	0,4a	0,4a	0,4 ± 0,1
71	20:3n9				
73	20:3n6	0,4a	0,3a	0,3a	0,3 ± 0,1
75	20:4n6	0,2a	0,2a	0,2a	0,2 ± 0,0
76	20:3n3	tr	tr	tr	tr
78	20:4n3	tr	tr	tr	tr
79	20:5n3	tr	tr	tr	tr
81	22:1n11	0,1	tr	tr	(tr-0,1)
87	22:4n6	tr	tr	tr	tr
89	22:5n6	0,1	tr	tr	(tr-0,1)
91	22:5n3	tr	tr	tr	tr
92	22:6n3	0,3a	0,1b	0,1b	0,2 ± 0,1

<sup>1</sup> As determinações mensais foram realizadas em duplicatas, a partir de lotes compostos por 6 peixes.

<sup>2</sup> Valores na mesma linha horizontal não mostrando a mesma letra são significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

Abreviaturas: tr - traço; i - iso; ai - anteíso;  
nd - não detectado; dp - desvio padrão;  
DMA - dimetilacetal.

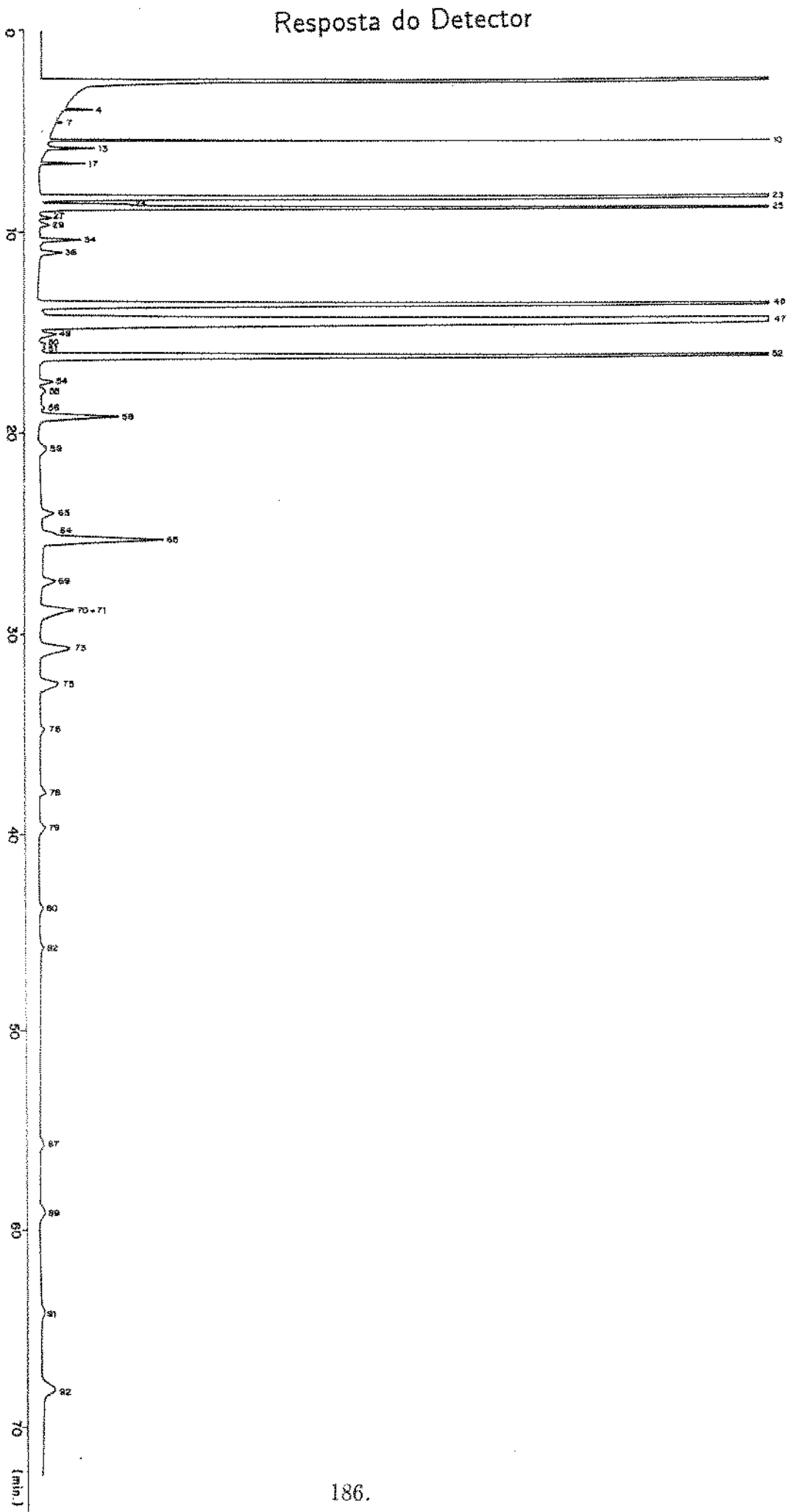


Figura 31 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lípidios neutros de tambaqui, *Colasoma macropomum*, em coluna de Carbowax 20M.  
 Temperatura da coluna: 200°C/42min 2°C/min 210°C

# Resposta do Detector

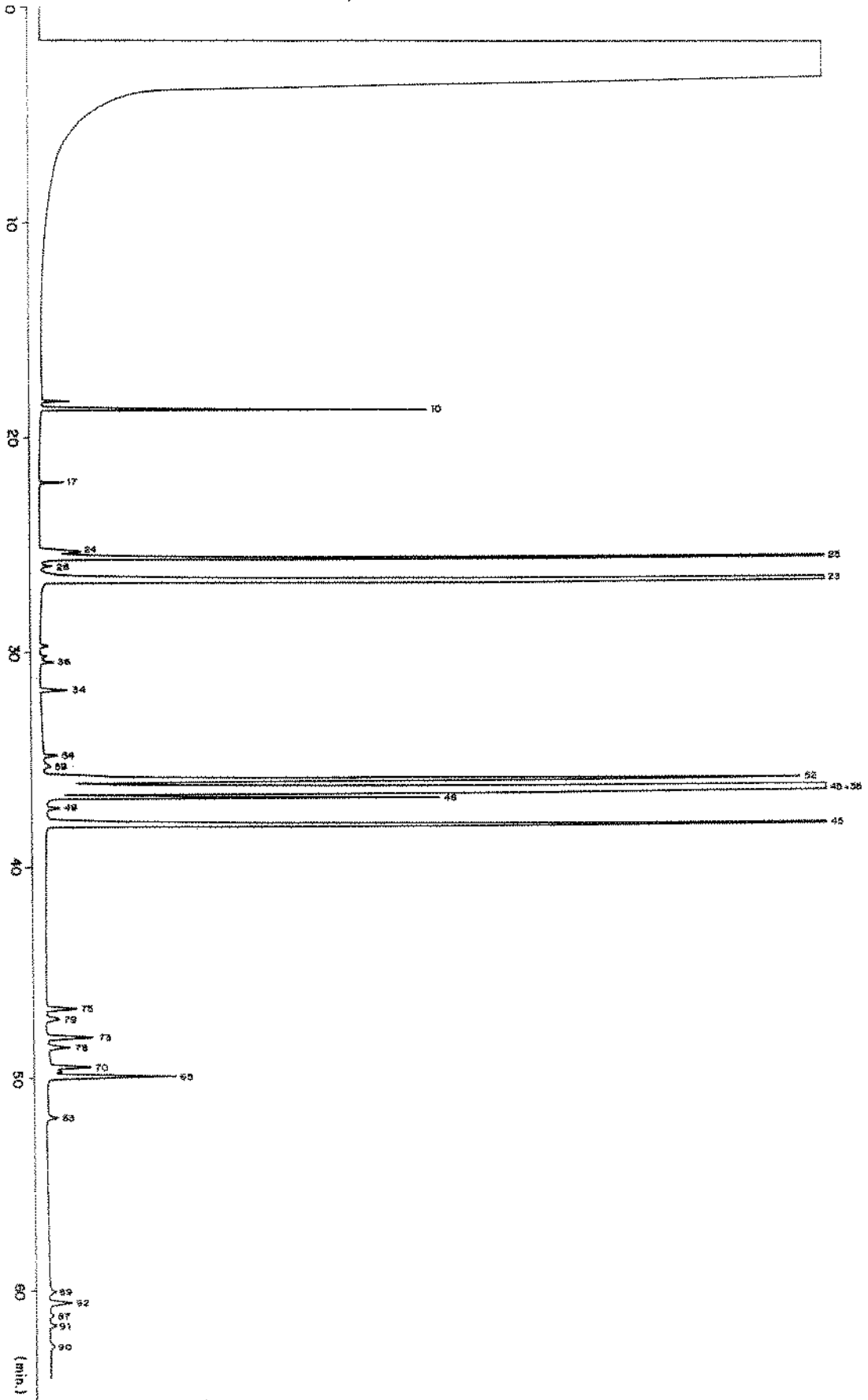


Figura 32 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de lípidos neutros de tabaqui, *Colas-soma macroponum*, em coluna de SE-54.

Temperatura da coluna: 50°C/6min 40°C/min 170°C 1°C/min 230°C

Tabela 35 - Composição percentual de ácidos graxos de fosfolipídios de tambaqui, *Colossoma macropomum*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

(continua)

Pico nº	Ácido graxo	Época de captura			média ± dp
		abril	maio	junho	
9	14:0DMA	nd	tr	tr	(nd-tr)
10	14:0	0,4a	0,3b	0,2c	0,3 ± 0,1
17	15:0	tr	tr	tr	tr
19	15:1n7	0,7b	1,1a	0,9ab	0,9 ± 0,2
21	16:0DMA	5,6ab	5,3b	6,1a	5,7 ± 0,4
23	16:0	18,9a	18,6a	18,3a	18,6 ± 0,3
25	16:1n7	2,2a	2,0ab	1,6b	1,9 ± 0,3
27	i-17:0	nd	tr	tr	(nd-tr)
30	ai-17:0	tr	tr	tr	tr
34	17:0	0,3a	0,1b	trc	0,1 ± 0,1
36	17:1n9	trc	0,3a	0,2b	(tr-0,3)
38	16:3n3	tra	0,1a	0,1a	(tr-0,1)
40	18:0DMA	1,2a	1,2a	1,3a	1,2 ± 0,1
43	18:1DMA	1,0a	1,0a	1,0a	1,0 ± 0,0
45	18:0	12,0a	10,3b	9,8b	10,7 ± 1,1
47	18:1n9	20,0a	19,0a	14,6b	17,9 ± 2,9
52	18:2n6	9,9b	10,6a	9,3c	9,9 ± 0,6
54	18:3n6	nd	tr	tr	(nd-tr)
58	18:3n3	tr	0,2	tr	(tr-0,2)
65	20:1n9	1,0a	0,8b	0,6c	0,8 ± 0,2
67	20:1n7	nd	tr	tr	(nd-tr)
69	20:2n9	nd	tr	tr	(nd-tr)
70	20:2n6				
+	+	1,9a	1,9a	1,9a	1,9 ± 0,0
71	20:3n9				
72	20:2n3	tr	tr	tr	tr
73	20:3n6	3,2a	3,6a	3,5a	3,4 ± 0,2
75	20:4n6	8,1b	9,1ab	10,0a	9,1 ± 0,9
76	20:3n3	nd	tr	nd	(nd-tr)
78	20:4n3	nd	tr	tr	(nd-tr)

Tabela 35 - Composição percentual de ácidos graxos de fosfolípidios de tambaqui, *Colossoma macropomum*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1,2</sup>.

Pico	Ácido graxo	Época de captura				(conclusão)
		abril	maio	junho	média ± dp	
79	20:5n3	1,5a	1,2a	1,3a	1,3 ± 0,1	
87	22:4n6	0,8a	1,0a	1,0a	0,9 ± 0,1	
89	22:5n6	2,9c	3,8b	4,9a	3,9 ± 1,0	
91	22:5n3	trb	0,9a	0,9a	(tr-0,9)	
92	22:6n3	9,5b	9,7b	12,5a	10,6 ± 1,7	

1 As determinações mensais foram realizadas em duplicatas, a partir de lotes compostos por 6 peixes.

2 Valores na mesma linha horizontal não mostrando a mesma letra são significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ).

Abreviaturas: tr - traço; i - iso; ai - anteiso;  
nd - não detectado; dp - desvio padrão;  
DMA - dimetilacetal.

Resposta do Detector

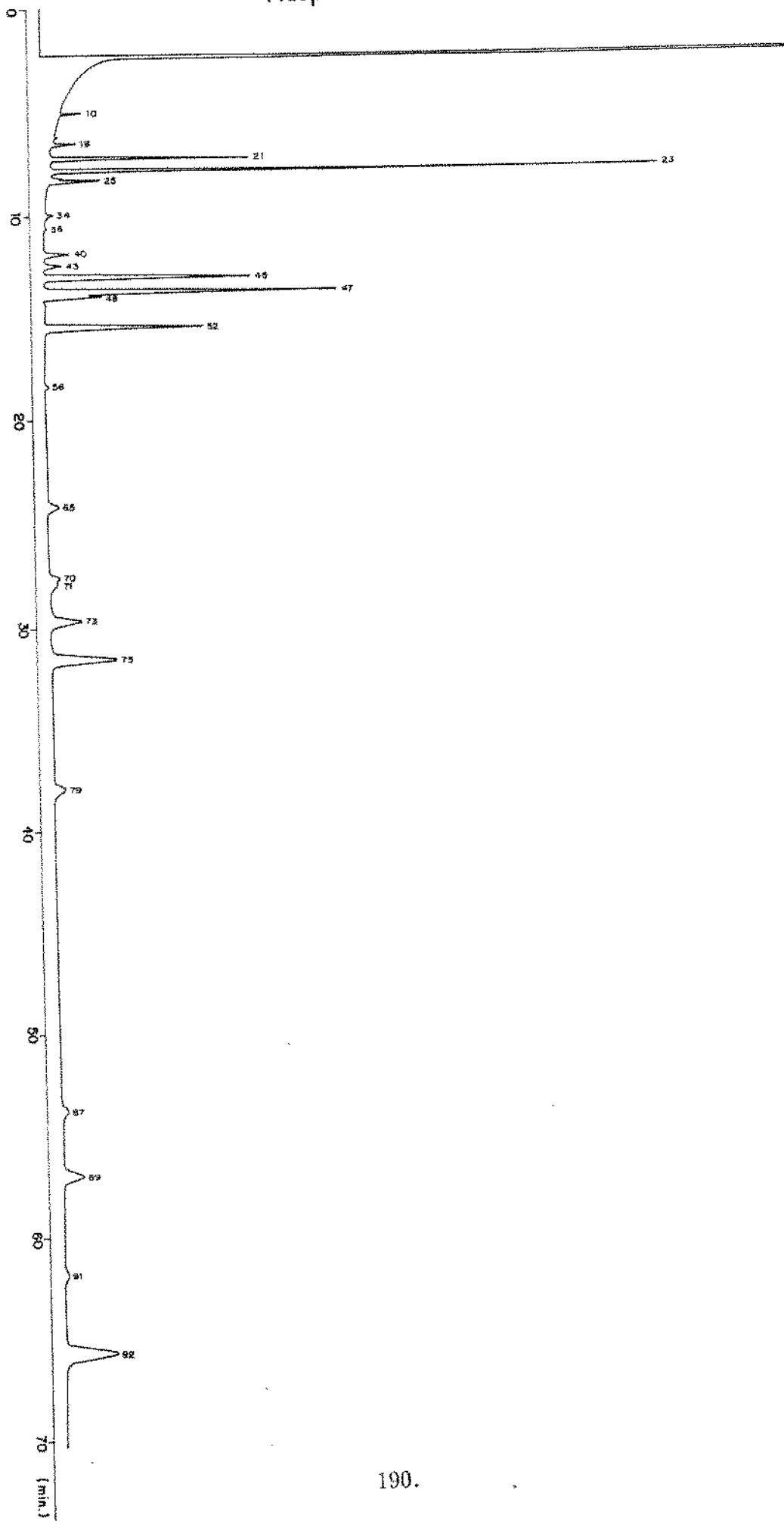


Figura 33 - Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolípídios de tambaqui, *Colossoma macropomum*, em coluna de Carbowax 20M.  
Temperatura da coluna: 200°C/42min  $\xrightarrow{210^\circ\text{C}}$  210°C

# Resposta do Detector

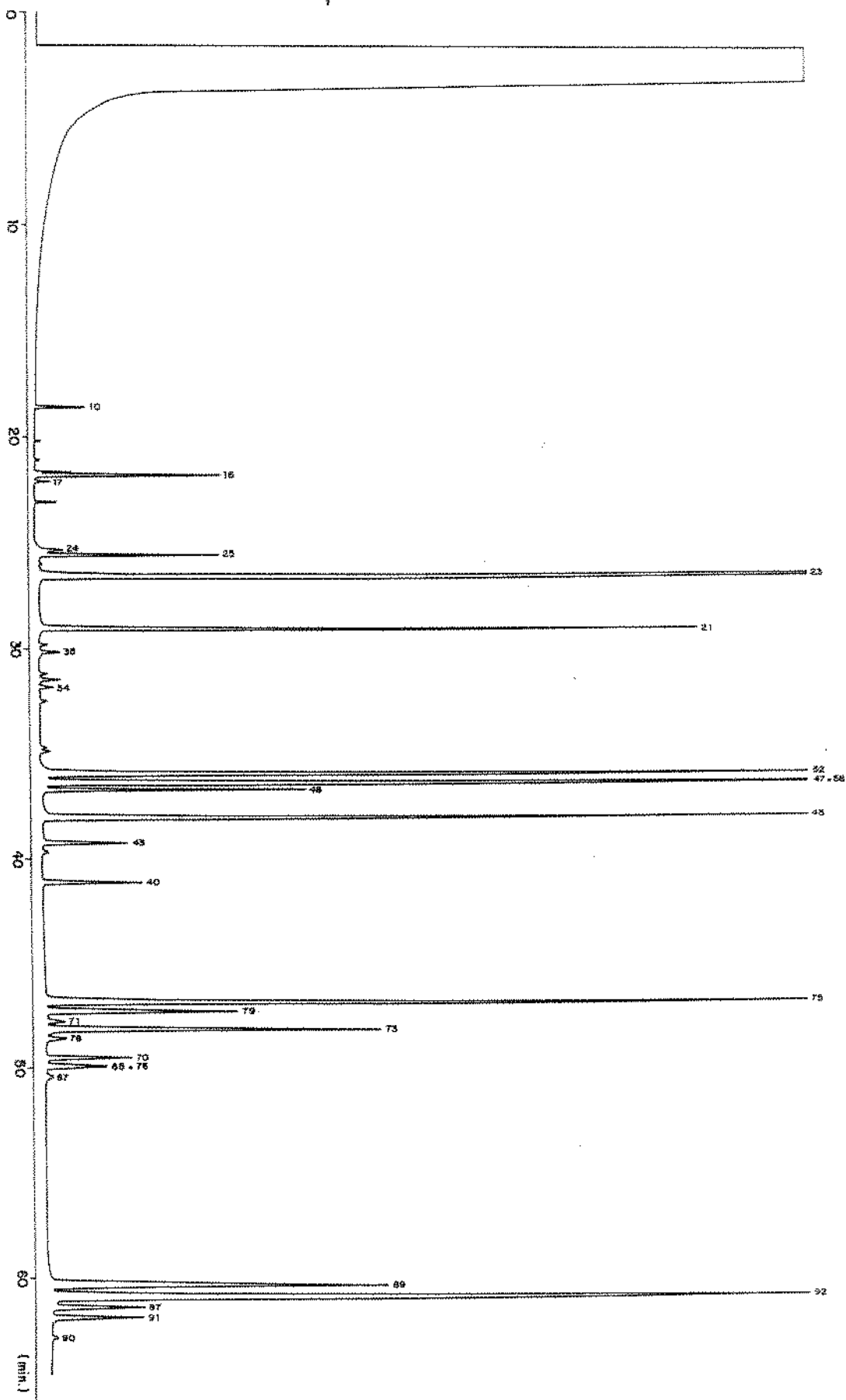


Figura 34

Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos graxos de fosfolípidios de tambaqui, *Colossoma macropomum*, em coluna de SE-54.

Temperatura da coluna: 50°C/6min → 40°C/min → 170°C → 1°C/min → 230°C

com teores de  $0,3 \pm 0,1\%$  e  $0,8\%$ , respectivamente, para os peixes provenientes de Pirassununga e Manaus, o 16:0DMA generalizou-se como o principal DMA dos peixes de água doce analisados neste trabalho; para 18:0DMA, o maior valor foi de  $0,3\%$  para o tambaqui de Manaus, enquanto os de Pirassununga variaram de tr a  $0,1\%$ ; esta variação também foi observada para 18:1DMA no tambaqui de São Paulo e em traços no tambaqui de Manaus. Na fração de fosfolipídios, a composição de DMA do tambaqui (Tabela 35) foi bastante semelhante à do pacu: 16:0DMA ( $5,7 \pm 0,4\%$ ), 18:0DMA ( $1,2 \pm 0,1\%$ ) e 18:1DMA ( $1,0 \pm 0,0\%$ ). Nos meses de maio e junho, o 14:0DMA foi encontrado em traços nos fosfolipídios.

#### 5.4.5. Comparação entre as espécies de peixes

Os 6 ácidos graxos principais totalizaram 70,2%, 86,9%, 94,1% e 95,2% da composição total de curimatá, tilápia, pacu e tambaqui, respectivamente (Tabela 36). Diferentes espécies e origens (cultivado ou silvestre) podem ser os fatores responsáveis por estas diferenças. Embora diferindo nos teores de gordura (11% vs. 6%), os ácidos graxos principais de pacu e tambaqui foram semelhantes, reflexo talvez da relação de parentesco entre si, pois ambos pertencem à mesma família *Characidae* (subfamília *Serrasalminae*). O ácido oléico (18:1n9) foi o majoritário em pacu (41,0%) e tambaqui (40,1%), enquanto o ácido palmítico (16:0) predominou em curimatá (25,4%) e tilápia (28,9%).

Os conteúdos totais dos ácidos graxos saturados normais e ramificados variaram de 35,6% a 41,8%, sendo menor no pacu e maior em curimatá. Dentre os saturados, o ácido palmítico predominou em todas as espécies com 24,2% no pacu, 25,4% no curimatá, 28,8% no tambaqui e 28,9% na tilápia. Nos peixes de água doce tropicais da Índia (Gopakumar, 1975; Nair & Gopakumar, 1978) e do Brasil (Andrade, 1978; Castelo *et al.*, 1980; Maia *et al.*, 1983; Pezzato, 1990), o total de ácidos graxos saturados variou de 34% a 49%. Para os peixes de água doce temperadas da América do Norte (Gruger *et al.*, 1964; Ackman, 1967; Wang *et al.*, 1990), da Escócia (Gunstone *et al.*, 1978), do Japão (Yamada & Hayashi, 1975) e



Tabela 36 - Comparação entre as espécies de peixes provenientes de Pirassununga, São Paulo (Lipídios totais).

	Pacu	Curimbatá	Tilápia	Tambaqui
<u>Ácidos graxos principais (%)</u> :				
18:1n9	(41,0)	(25,4)	(28,9)	(40,1)
16:0	(24,2)	(16,3)	(28,2)	(28,8)
18:2n6	(9,1)	(15,3)	(13,4)	(9,8)
16:1n7	(8,9)	(5,2)	(6,3)	(8,9)
18:0	(7,7)	(4,3)	(6,0)	(6,3)
14:0	(3,2)	(3,7)	(4,1)	(1,3)
<u>% EPA (média ± dp):</u>	0,1 ± 0,0	3,1 ± 0,5	(nd-tr)	(tr-0,2)
<u>% DHA (média ± dp):</u>	0,5 ± 0,1	2,4 ± 0,4	1,6 ± 0,4	0,8 ± 0,2
<u>Totais (%)</u> :				
saturados	35,6	41,8	39,7	40,2
monoenóicos	51,6	36,2	35,8	47,5
diênóicos	9,3	2,7	13,6	8,9
polienóicos	2,8	18,9	8,8	2,5
família n9	42,1	18,3	29,8	41,2
família n6	10,7	8,4	20,1	10,1
família n3	1,2	13,2	2,1	1,3
<u>Proporção:</u>				
n9/n6	3,9	2,2	1,5	4,1
n9/n3	35,1	1,4	14,2	31,7
n6/n3	8,9	0,6	9,6	7,8

da Austrália (Gibson, 1983), os ácidos graxos saturados tendem a ser inferiores aos dos peixes tropicais, podendo variar de 9% a 38%.

A participação dos monoinsaturados nos lipídios totais de cada espécie de peixe, em ordem crescente, foi a seguinte: 35,8% na tilápia, 36,2% no curimbatá, 47,5% no tambaqui e 51,6% no pacu. Nos peixes cultivados, o ácido oléico foi o majoritário com 28,2% na tilápia, 40,1% no tambaqui e 41,0% no pacu. Por outro lado, o ácido palmitoléico (16:1n7) predominou no curimbatá silvestre com 16,3%, seguido pelo oléico com 15,3%. Nota-se outra vez, a proximidade de valores entre pacu e tambaqui.

Os peixes cultivados (pacu, tilápia e tambaqui) apresentaram conteúdos de dienóicos mais elevados do que o não cultivado (curimbatá). Os resultados, em ordem crescente, foram de 2,7% no curimbatá, 8,9% no tambaqui, 9,3% no pacu e 13,6% na tilápia. O ácido linoléico foi o principal dienóico encontrado nas 4 espécies de peixes, participando com 2,5% no curimbatá, 8,9% no tambaqui, 9,1% no pacu e 13,4% na tilápia. As percentagens deste ácido graxo no pacu e tambaqui, a exemplo do 16:1n7, foram quase equivalentes. O conteúdo de 18:2n6 em peixes de águas temperadas pode variar de 1,7% a 12% (Gruger *et al.*, 1964; Ackman, 1967; Yamada & Hayashi, 1975; Gunstone *et al.*, 1978; Gibson, 1983; Wang *et al.*, 1990) e nos peixes de águas tropicais, de 2,1% a 23,3% (Gopakumar, 1975; Nair & Gopakumar, 1978; Andrade, 1978). Alguns fatores responsáveis pelas variações dos teores do ácido linoléico em peixes de água doce, podem ser devido às espécies (Gruger *et al.*, 1964; Ackman, 1967; Gopakumar, 1975; Gunstone *et al.*, 1978; Nair & Gopakumar, 1978; Wang *et al.*, 1990), dietas (Watanabe *et al.*, 1974b; Nair & Gopakumar, 1981; Satoh *et al.*, 1989; Pezzato, 1990) e época do ano (Andrade, 1978).

Os totais dos ácidos polienóicos dentro dos lipídios totais foram quase iguais em pacu (2,8%) e tambaqui (2,5%). Conteúdos mais elevados foram encontrados em tilápia (8,8%) e curimbatá (18,9%). Em peixes de águas temperadas onde a temperatura da água é mais baixa, os teores de ácidos graxos poliinsaturados ten-

dem a ser superiores (18,8-59,7%) (Gruger *et al.*, 1964; Ackman, 1967; Yamada & Hayashi, 1975; Gunstone *et al.*, 1978; Gibson, 1983; Wang *et al.*, 1990) aos encontrados em peixes de águas tropicais (2,2-28,9%) (Gopakumar, 1975; Andrade, 1978; Nair & Gopakumar, 1978; Castelo *et al.*, 1980; Maia *et al.*, 1983).

O ácido araquidônico (20:4n6) foi o principal polienóico no pacu, com 0,8%, seguido por 18:3n3 e 22:6n3, ambos com 0,5%. O araquidônico, com 2,5%, apareceu novamente como componente principal na tilápia, mas agora acompanhado pelo 22:5n6 com 1,7%. No curimatá, o ácido linolênico (18:3n3), com 3,7%, se apresentou como o principal polienóico, seguido por 20:5n3 com 3,1%. O ácido docosahexaenóico (22:6n3), com 0,8%, seguido de perto pelo 20:4n6, com 0,7%, revelaram-se como os principais ácidos poliinsaturados no tambaqui. Os resultados acima evidenciaram a presença, entre os dois ácidos graxos principais, de membros da família n3 e n6 em pacu e tambaqui, somente da família n3 no curimatá e n6 na tilápia. Estudos com tilápia confirmam que este peixe requer ácidos graxos de família n6 ao invés de n3 (Jauncey & Ross, 1982; Watanabe, 1982; Kanazawa, 1985). A família n3, com conteúdos variando de 14,3% a 43,3% predominou em todos os 21 peixes de águas doce temperadas investigados por Ackman (1967), Gunstone *et al.* (1978), Gibson (1983) e Wang *et al.* (1990). A participação dos membros da família n6 variou de 3,0% a 17,1%.

Segundo Henderson & Tocher (1987), a razão n6/n3 de ácidos graxos poliinsaturados em lipídios totais de peixes de água doce, tipicamente varia de 0,3 a 2,0. Nos peixes investigados neste trabalho, apenas o curimatá com uma proporção de 0,6 enquadrou-se dentro desta faixa. A proporção n6/n3 foi bastante elevada nos peixes cultivados, sendo de 7,8 no tambaqui, 8,9 no pacu e 9,6 na tilápia, evidenciando uma incorporação de ácidos graxos da família n6 nos lipídios musculares desses peixes. A dieta, provavelmente, pode ser responsável por este fato, pois a composição de ácidos graxos da ração artificial fornecida era rica em ácidos graxos da série n6 e pobre em n3 (Anexo 2). Na ração, a razão n6/n3 foi de 14,5, sendo de apenas 3,1% o total de ácidos graxos poliinsaturados n3.

Peixes em seu habitat natural tendem a ser mais ricos em ácidos graxos poliinsaturados n3 do que os cultivados, pois a sua dieta contém maiores teores destes ácidos graxos (Haumann, 1989). De fato, dos peixes de Pirassununga analisados neste trabalho, o curimbatá, o único não cultivado, apresentou maior teor de n3 (13,2%). Uma amostra de tambaqui coletada em seu habitat natural e proveniente de Manaus (Tabela 33), também apresentou um total de ácido da família n3 (12,9%) mais elevado do que o tambaqui cultivado (1,3%).

É reconhecido que as concentrações de ácidos graxos poliinsaturados no músculo de peixes varia de espécie a espécie e depende, também, diretamente da dieta do peixe e da temperatura da água. Espécies marinhas de águas quentes requerem ácidos graxos n6 e aquelas de águas frias necessitam poliinsaturados n3 de cadeia longa, porém, não conseguem alongar e dessaturar a cadeia com facilidade. No entanto, peixes de águas doce e fria, como a truta, utilizam ácido linolênico (18:3n3) porque são capazes de alongação e dessaturação (Haumann, 1989). De qualquer forma, os peixes de águas quentes igualmente requerem bem menos ácidos graxos essenciais que os de águas frias (Watanabe, 1982).

As condições cromatográficas utilizadas neste trabalho mostraram-se adequadas para a determinação de ácidos poliinsaturados, como os ácidos eicosa-pentaenóico (EPA ou 20:5n3) e docosahexaenóico (DHA ou 22:6n3), ácidos graxos de maior importância na saúde humana. Os teores destes ácidos graxos nos lipídios totais, no entanto, foram baixos nas quatro espécies de peixes estudadas (Tabela 36). O curimbatá foi o que teve os maiores níveis ( $3,1 \pm 0,5\%$  de EPA e  $2,4 \pm 0,4\%$  de DHA). O pacu apresentou-se com  $0,1 \pm 0,0\%$  de EPA e  $0,5 \pm 0,1\%$  de DHA. A tilápia, além de ter baixo teor de lipídios totais (1,4%), apareceu apenas com traços de EPA e  $1,6 \pm 0,4\%$  de DHA. O tambaqui teve  $0,2\%$  de EPA e  $0,8 \pm 0,2\%$  de DHA. No tambaqui de Manaus, os teores de EPA e DHA foram de 0,5% e 1,6%, respectivamente. Uma modificação da dieta poderá ser necessária para o tambaqui visando corrigir esta deficiência de ácidos graxos poliinsaturados. Esta pode ser uma das causas da mortandade de alevinos de tambaqui em cativeiro. (Ferrari *et al.*, 1986).

Uma porção de 100g de músculo de pacu, curimbatá, tilápia e tambaqui fornece, respectivamente, 11mg, 186mg, traços e (tr-12mg) de EPA e 55mg, 144mg, 22,4mg e 48mg de DHA, assim sensivelmente mais baixos do que os fornecidos pelos peixes de Lago Superior (EUA) (100-1.200mg de EPA e 200-1800mg de DHA por 100g de porção) (Wang *et al.*, 1990). Aparentemente, o meio ambiente mais frio dos peixes do Lago Superior resulta num maior grau de poliinsaturação do que os peixes tropicais (Nair & Gopakumar, 1978; Gibson, 1983; Vlieg & Body, 1988).

Os principais ácidos graxos e suas percentagens nos lipídios neutros (Tabela 37) refletiu o mesmo perfil dos lipídios totais, com os seguintes valores para cada espécie: 70,4% no curimbatá, 91,7% na tilápia, 95,9% no pacu e 96,1% no tambaqui.

Também semelhante aos lipídios totais, foram os valores para os totais de ácidos graxos saturados, monoenóicos e dienóicos, que tiveram os ácidos palmítico, oléico (exceto curimbatá que teve palmitoléico) e linoléico como majoritários, respectivamente. Os ácidos polienóicos apresentaram, em relação aos lipídios totais, valores um pouco inferiores, sendo a diferença mais acentuada para a tilápia, que teve o menor teor de lipídios neutros que os demais peixes. Os ácidos monoenóicos foram os majoritários, seguidos pelos saturados, dienóicos e polienóicos (exceto curimbatá onde os poliinsaturados suplantaram os diinsaturados). Este pareceu ser o comportamento geral para peixes de água doce cultivados ou não (Watanabe *et al.*, 1974a; Gibson & Worthington, 1977; Mai & Kinsella, 1979a, Takeuchi *et al.*, 1983; Satoh *et al.*, 1984). Exceções a esta regra geral aconteceu em peixes de águas tropicais (Nair & Gopakumar, 1984) e de águas temperadas (Ohshima *et al.*, 1982), onde a proporção dos saturados excedeu aos monoinsaturados.

A razão n6/n3 para os peixes cultivados variou de 11,5 a 19,8 e no curimbatá, a razão foi de 0,6, indicando, no curimbatá, uma maior quantidade de ácidos graxos da família n3. Segundo Henderson & Tocher (1987) a razão n6/n3 de LN para a maioria dos peixes de água doce varia de 0,3 a 0,9.

Tabela 37 - Comparação entre as espécies de peixes provenientes de Pirassununga, São Paulo (Lipídios neutros).

	Pacu	Curimbata	Tilápia	Tambaqui
<u>Ácidos graxos principais (%)</u> :				
18:1n9	(42,4)	(24,2)	(32,1)	(40,9)
16:0	(24,5)	(16,9)	(28,5)	(28,5)
16:1n7	(9,2)	(15,8)	(12,9)	(10,2)
18:2n6	(9,0)	(5,1)	(7,6)	(8,6)
18:0	(7,6)	(4,4)	(5,4)	(6,6)
14:0	(3,2)	(4,0)	(5,2)	(1,3)
<u>% EPA (média ± dp):</u>	tr	2,7 ± 0,4	tr	tr
<u>% DHA (média ± dp):</u>	(tr-0,2)	1,4 ± 0,3	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,1
<u>Totais (%)</u> :				
saturados	35,7	41,0	40,4	40,4
monoenoicos	53,0	37,8	41,8	48,9
dienoicos	9,2	2,7	13,1	8,7
polienoicos	1,4	16,1	3,6	1,4
família n9	43,6	19,2	34,2	42,3
família n6	9,9	7,1	15,4	9,2
família n3	0,5	11,6	1,1	0,8
<u>Proporção:</u>				
n9/n6	4,4	2,7	2,2	4,6
n9/n3	86,8	1,7	31,1	52,9
n6/n3	19,8	0,6	14,0	11,5

Em termos de EPA e DHA, a fração de lipídios neutros se caracterizou por apresentar valores ainda mais baixos do que os encontrados em lipídios totais. O máximo teor foi de  $2,7 \pm 0,4\%$  para o EPA no curimatá. Este peixe apresentou também maior conteúdo de DHA com  $1,4 \pm 0,3\%$ . Nos peixes cultivados, o 20:5n3 esteve presente somente em traços e os teores de 22:6n3 variaram de tr-0,2% no pacu, de  $0,4 \pm 0,1\%$  na tilápia e de  $0,2 \pm 0,1\%$  no tambaqui.

Os 6 ácidos graxos principais totalizaram 69,9%, 74,8%, 76,8% e 79,1% da composição de fosfolipídios de curimatá, pacu, tambaqui e tilápia, respectivamente (Tabela 38).

Em comparação com os lipídios neutros, os fosfolipídios contém níveis mais elevados de ácidos polienóicos (24,2% a 40,0%), mais baixos de saturados (26,2% a 36,1%) e monoenóicos (15,3% a 21,5%) e equivalentes em dienóicos (2,1% a 14,6%). Os ácidos graxos majoritários, em cada grupo de ácidos graxos e espécies de peixes foram o palmítico nos saturados, oléico nos monoinsaturados, linoléico nos diinsaturados nas 4 espécies, e nos poliinsaturados, os ácidos araquidônico em pacu e tilápia e docosahexaenóico em curimatá e tambaqui. No músculo de espécies de águas temperadas, o 22:6n3 foi o polienóico predominante, com sua proporção relativa variando com a espécie, dieta (Watanabe *et al.*, 1974b; Gibson & Worthington, 1977; Takeuchi *et al.*, 1983), época de captura (Ota & Takagi, 1977; Ohshima *et al.*, 1982), tipo de músculo claro ou escuro (Mai & Kinsella, 1979a) e temperatura da água (Sato *et al.*, 1984). No fígado de "Northern pike", *Esox lucius*, os teores de 20:4n6 (17,0%) e 20:5n3 (14,5%) superaram o de 22:6n3 (12,9%) (Glass *et al.*, 1974). Na única bibliografia disponível (Gopakumar, 1975), o peixe de água tropical da Índia, *Etroplus suratensis*, também apresentou 22:6n3 (14,1%) como majoritário, sendo seguido por 20:4n6 (10,1%).

As proporções n6/n3 na fração de fosfolipídios nos peixes cultivados foram bem inferiores àquelas encontradas em lipídios neutros; ambos, pacu e tambaqui, tiveram a mesma proporção de 2,3; na tilápia foi de 5,0 e apenas 0,7 no curimatá, indicando ser este último peixe o mais rico em ácidos graxos da família

Tabela 38 - Comparação entre as espécies de peixes provenientes de Pirassununga, São Paulo (Fosfolípidios).

	Pacu	Curimbata	Tilápia	Tambaqui
<u>Ácidos graxos principais (%)</u> :				
18:1n9	(17,5)	(23,7)	(26,7)	(18,6)
16:0	(16,7)	(12,2)	(16,8)	(17,9)
20:4n6	(11,6)	(10,5)	(14,3)	(10,7)
22:6n3	(11,0)	(8,3)	(8,3)	(10,6)
18:2n6	(9,1)	(8,3)	(7,6)	(9,9)
18:0	(8,9)	(6,9)	(5,4)	(9,1)
<u>% EPA (média ± dp):</u>	0,8 ± 0,2	8,3 ± 2,2	(tr-0,2)	1,3 ± 0,1
<u>% DHA (média ± dp):</u>	11,0 ± 1,3	12,2 ± 0,6	5,3 ± 1,2	10,6 ± 1,7
<u>Totais (%)</u> :				
saturados	26,2	34,1	36,1	29,7
monoenoicos	21,2	15,3	19,8	21,5
dienoicos	9,1	2,1	14,6	9,9
polienoicos	34,2	44,0	24,2	29,2
família n9	18,6	9,5	17,7	18,7
família n6	30,3	18,8	32,3	27,3
família n3	13,0	27,3	6,5	11,9
<u>Proporção:</u>				
n9/n6	0,6	0,5	0,5	0,7
n9/n3	1,4	0,3	2,7	1,6
n6/n3	2,3	0,7	5,0	2,3



n3. Segundo Henderson & Tocher (1987), a razão n6/n3 entre ácidos poliinsaturados de fosfolipídios em peixes de água doce não cultivados encontra-se entre 0,5 e 0,6.

É um fato conhecido que os fosfolipídios apresentam maiores teores de AGPs. Isto foi confirmado neste estudo, em todas as espécies pesquisadas. Contudo, os resultados comparativos entre as espécies demonstraram não existir uma relação definida entre os teores de AGPs e fosfolipídios totais. Por exemplo, pode ser visto na Tabela 9, que a tilápia teve o maior teor de PL (11,8%), mas apresentou o menor teor de ácidos graxos polienóicos (24,2%). Por outro lado, o curimatá, com a segunda maior concentração de fosfolipídios (11,8%), apresentou a maior quantidade de ácidos polienóicos. Já o tambaqui (8,4%) teve maior teor de fosfolipídios do que o pacu (5,3%), mas, em compensação, o teor de polienóicos foi menor no tambaqui (29,2%) do que no pacu (34,2%).

Na fração de fosfolipídios, ao contrário de lipídios totais e neutros, a concentração de DHA foi bem mais elevada em todos os peixes, com teores de  $5,3 \pm 1,2\%$  na tilápia,  $10,6 \pm 1,7\%$  no tambaqui,  $11,0 \pm 1,3\%$  no pacu e  $12,2 \pm 0,6\%$  no curimatá. Em termos de EPA, as quantidades também foram maiores nos fosfolipídios do que nas outras frações de lipídios, porém em concentração mais baixas do que DHA. Os valores foram de (tr-0,2%) na tilápia, de  $0,8 \pm 0,2\%$  no pacu, de  $1,3 \pm 0,1\%$  no tambaqui e de  $8,3 \pm 2,2\%$  no curimatá.

## 5.5. Composição em Aminoácidos de Peixes

Ao longo do tempo tem-se notado que as proteínas em geral podem diferir entre si em sua qualidade nutricional, e que, isto está associado primariamente às diferenças nos conteúdos de seus aminoácidos, especialmente daqueles considerados essenciais. O conhecimento em si dos conteúdos de aminoácidos essenciais (AAEs) não é conclusivo para caracterizar a qualidade de uma determinada proteína, pois segundo Sgarbieri (1987), alguns índices baseados em métodos químicos, mi-

crobiológicos e biológicos, melhor estabelecem certas correlações entre a composição da proteína e sua qualidade nutricional. Para Sgarbieri, entre outros, vale a pena destacar os seguintes índices: Escore Químico (EQ), Digestibilidade da Proteína, Biodisponibilidade de Aminoácidos Limitantes e Quociente de Eficiência Protéica (PER). Todavia, neste trabalho pretende-se apenas obter uma caracterização dos perfis de aminoácidos nas quatro espécies estudadas, para então comparar os resultados entre si e com os de outros peixes e proteínas padrões de referência descritos pela literatura. Por isso, a qualidade nutricional das proteínas desses peixes será discutida basicamente em termos de escore químico, mesmo sabendo de sua limitação como índice único de qualidade.

De acordo com Mayer (1962), em ratos são considerados como essenciais os seguintes dez aminoácidos: lisina, triptofano, fenilalanina, leucina, isoleucina, treonina, metionina, valina, arginina e histidina. Isoladamente, cistina e tirosina não têm atividades essenciais, mas na presença de metionina e fenilalanina, respectivamente, esses aminoácidos devem ser computados juntos na estimativa dos requerimentos de AAEs, por causa de suas inter-relações metabólicas, (Sgarbieri, 1987).

Independente da origem do peixe (marinho, água doce e cultivado ou não) os mesmos 10 aminoácidos relacionados acima para ratos também foram considerados essenciais em peixes (Cabbat & Standal, 1965; Deelstra *et al.*, 1974; Lajolo *et al.*, 1975; Ketola, 1982; Wilson & Poe, 1985; Teshima *et al.*, 1986; Gatlin III, 1987; Steffens, 1987; Santiago & Lovell, 1988; Haumann, 1989).

No presente trabalho, devido ao método de hidrólise ácida utilizado, não foi determinado o teor de triptofano. É conhecido que a hidrólise de proteína com 6N ácido clorídrico provoca uma destruição do anel indólico por reações paralelas (via N-formilquinurenina), não sendo possível quantificar o triptofano por meios cromatográficos convencionais (Amaya-Farfan, 1980). Outros métodos são disponíveis (Spies, 1967; Liu & Chang, 1971; Simpson *et al.*, 1976), mas nenhum foi usado para quantificação de triptofano nas amostras de peixes estudados neste

trabalho.

A qualidade das proteínas totais dos peixes estudados foi avaliada calculando-se o escore químico (EQ) entre os teores de AAEs presentes nas amostras e no padrão teórico de referência. Segundo Sgarbieri (1987), este quociente indicará, em relação à proteína de referência ou padrão, a ordem dos aminoácidos limitantes na proteína em estudo, sendo o valor encontrado para o aminoácido mais limitante uma estimativa do valor biológico ou nutritivo da proteína em estudo. A proteína padrão foi definida pelo National Research Council - NRC (1980) como tendo as seguintes concentrações para os AAEs (g/16gN): histidina, 1,7; lisina, 5,1; treonina, 3,5; isoleucina, 4,2; triptofano, 1,1; leucina, 7,0; valina, 4,8; sulfurados totais (MET + CYS), 2,6 e aromáticos totais (PHE + TYR), 7,3.

#### 5.5.1. Composição em aminoácidos de pacu

A Tabela 39 mostra a composição em aminoácidos (AA) de músculo desengordurado de amostras de pacu provenientes do CEPTA (Pirassununga, São Paulo). Os resultados são expressos em termos de g AA/16g de nitrogênio (N) (ou seja, por 100g de proteína). Os principais aminoácidos foram: ácido glutâmico ( $21,8 \pm 2,1$ ), ácido aspártico ( $12,9 \pm 1,4$ ), lisina ( $12,5 \pm 1,0$ ), leucina ( $11,3 \pm 1,1$ ), arginina ( $8,2 \pm 0,8$ ) e alanina ( $7,8 \pm 0,4$ ). Em outro trabalho, Machado (1989) analisando amostras de pacus coletados também no CEPTA e em frigoríficos comerciais de Campinas (Campinas, São Paulo), encontrou essa mesma ordem, porém em concentrações mais baixas (5,1 - 19,8g/16gN). Além disso, com exceções de metionina (2,79) e prolina (4,73), com teores superiores, e de 1/2 cistina (0,81), com igual quantidade, os demais aminoácidos do pacu pesquisado por Machado apresentaram valores inferiores aos obtidos no presente trabalho.

Comparando os dados para cada um dos 17 aminoácidos, nota-se que houve um aumento bem definido nas concentrações de 4 aminoácidos (ácido aspártico, treonina, ácido glutâmico e metionina), pouca ou nenhuma variação em

Tabela 39 - Composição em aminoácidos (gAA/16g de nitrogênio) de músculo de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1</sup>.

Aminoácido	Verão			Meses intermediários			Inverno			média ± dp
	março	março	abril	maio	junho	agosto	agosto	agosto		
Ácido aspártico	10,6	11,8	12,1	13,8	13,3	14,4	14,0	14,0	12,9 ± 1,4	
Treonina	5,9	5,8	5,4	6,5	3,9	6,5	6,8	6,8	5,8 ± 1,0	
Serina	5,4	5,6	5,1	5,5	2,6	4,9	5,2	5,2	4,9 ± 1,0	
Ácido glutâmico	18,5	19,4	23,6	21,1	23,6	23,4	23,0	23,0	21,8 ± 2,1	
Prolina	4,5	4,5	4,6	4,7	5,1	4,1	4,1	4,1	4,5 ± 0,3	
Glicina	6,1	5,5	6,3	6,1	6,2	5,5	5,3	5,3	5,9 ± 0,4	
Alanina	7,8	7,7	7,5	8,3	8,2	8,0	7,1	7,1	7,8 ± 0,4	
1/2 Cistina	0,8	0,8	0,9	0,7	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8 ± 0,1	
Valina	7,1	6,8	6,2	7,0	7,1	7,3	7,4	7,4	7,0 ± 0,4	
Metionina	1,1	0,9	0,8	2,6	3,0	2,8	3,0	3,0	2,0 ± 1,0	
Isoleucina	7,2	6,6	5,8	5,0	6,3	6,3	6,2	6,2	6,2 ± 0,7	
Leucina	12,7	13,0	10,7	10,5	10,5	10,6	11,3	11,3	11,3 ± 1,1	
Tirosina	6,2	7,4	3,9	4,5	4,4	3,7	4,0	4,0	4,9 ± 1,4	
Fenilalanina	6,7	6,5	5,5	5,8	5,7	5,3	5,3	5,3	5,8 ± 0,6	
Histidina	4,3	4,2	4,1	3,1	2,8	3,0	3,4	3,4	3,6 ± 0,6	
Lisina	12,5	13,5	14,1	12,9	11,1	12,0	11,7	11,7	12,5 ± 1,0	
Arginina	9,2	9,2	8,8	7,9	8,0	7,4	7,2	7,2	8,2 ± 0,8	
Amônia	3,7	2,3	1,8	2,2	2,6	1,8	1,6	1,6	2,3 ± 0,7	

<sup>1</sup> Para os períodos de verão (março) e inverno (agosto), os valores foram obtidos de uma determinação no músculo desengordurado, em dois lotes individuais, cada um composto por 6 peixes. Para os meses intermediários, os valores mensais foram obtidos de uma determinação, em lotes compostos por 6 peixes.

Abreviatura: dp - desvio padrão.

7 aminoácidos (serina, prolina, glicina, alanina, 1/2 cistina, valina e isoleucina) e uma diminuição em 6 aminoácidos (leucina, tirosina, fenilalanina, histidina, lisina e arginina), de março para agosto. A temperatura média mensal da água nos tanques de criação de peixes em março (verão) foi de 25,8°C e em agosto (inverno) de 7,2°C. Porém, uma relação definida entre temperatura e concentração de aminoácidos não pode ser deduzida já que apenas uma determinação foi efetuada para cada lote mensal. Por este último motivo, não foi possível aplicar uma análise estatística sobre os dados descritos na Tabela 39.

Nenhuma referência foi encontrada que discutisse a influência da temperatura sobre os teores de aminoácidos em peixes. Apenas, citações foram anotadas onde a temperatura estava relacionada com a absorção dos alimentos, metabolismo de rotina e crescimento da *Tilapia rendalli* (Caulton, 1977, 1978, 1982) e com a síntese de proteína em carpa, *Cyprinus carpio* (Watt *et al.*, 1988) - peixes de água doce - e em cinco espécies de peixes das Ilhas Galápagos e Perlas do Oceano Pacífico (Haschemeyer *et al.*, 1979).

Em termos de aminoácidos essenciais, sem considerar o triptofano, que não foi determinado, os seguintes valores médios (g/16g N), em ordem crescente, foram encontrados em pacu (entre parênteses, o EQ): metionina, 2,0; histidina, 3,6 (2,12); fenilalanina, 5,8 ± 0,6; treonina, 5,8 ± 1,0 (1,66); isoleucina, 6,2 (1,47); valina, 7,0 (1,46); arginina, 8,2; leucina, 11,3 (1,61) e lisina, 12,5 (2,45). O total de aminoácidos sulfurados (MET + CYS) e aromáticos (PHE + TYR), foram, respectivamente, de 2,8g/16g N (1,08) e 10,7g/16g N (1,46) contra 3,60g/16g N e 8,12g/16g N encontrado por Machado (1989). No pacu investigado por Machado, a valina foi encontrada como sendo o único aminoácido limitante, com escore químico de 0,81. Em referência à proteína do NRC (1980), a proteína do pacu apresentou-se como uma proteína de alta qualidade, com escores químicos variando de 1,08 a 2,45. Os três AAEs mais ricos, em ordem crescente, foram treonina, histidina e lisina.

### 5.5.2. Composição em aminoácidos de curimbatá

A composição em aminoácidos (AA) de músculo desengordurado de amostras de curimbatá coletados no Rio Mogi Guassu (Pirassununga, São Paulo) está apresentada na Tabela 40. As concentrações, expressas em g AA/16g N, dos seis principais aminoácidos do curimbatá foram as seguintes (entre parênteses, o EQ): ácido glutâmico,  $20,4 \pm 1,0$ ; ácido aspártico,  $13,4 \pm 0,6$ ; lisina,  $11,9 \pm 0,8$  (2,33), leucina,  $10,6 \pm 0,5$  (1,51) alanina,  $7,7 \pm 0,7$  e arginina,  $7,4 \pm 0,5$ . Nota-se a presença na relação acima, de 3 AAEs, que juntos com os 7 seguintes caracterizam o valor nutritivo da proteína de curimbatá: valina,  $6,6 \pm 0,4$  (1,37); isoleucina,  $6,1 \pm 0,3$  (1,45); treonina,  $5,0 \pm 2,1$  (1,43); histidina,  $3,2 \pm 0,2$  (1,88); sulfurados totais, 1,9 (0,73) e aromáticos totais, 9,4 (1,29).

Em um outro trabalho com curimbatá (Maia *et al.*, 1983) pode ser visto pelos desvios padrões dos teores de aminoácidos que não existiram diferenças marcantes entre as amostras provenientes de Pirassununga e de frigoríficos comerciais (Campinas, São Paulo), e destes, em relação ao curimbatá investigado presentemente. No trabalho de Maia *et al.* (1983), triptofano com  $1,32 \pm 0,04$ g/16g N apresentou-se 4,4 vezes superior ao encontrado por Lessi (1968), e, com um escore químico de 1,20, não foi caracterizado como AAE limitante. O teor médio de metionina ( $2,69 \pm 0,38$ g/16g N) foi cerca de 2,1 vezes superior ao encontrado para o curimbatá atual e aproximadamente 50% inferior ao relatado por Lessi (1968). Em peixes de água doce a concentração de metionina tem variado de 1,1-4,5g/16g N (Dupont, 1958; Lajolo *et al.*, 1975; Mukundan & James, 1978; Khalil *et al.*, 1980; Mai *et al.*, 1980; Maia *et al.*, 1983; Gatlin III, 1987).

Tabela 40 - Composição em aminoácidos (gAA/16g de nitrogênio) de músculo de curimatá, *Prochilodus scrofa*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1</sup>.

Aminoácido	abril	maio	junho	média ± dp
Ácido aspártico	13,5	14,0	12,8	13,4 ± 0,6
Treonina	6,3	6,2	2,6	5,0 ± 2,1
Serina	5,6	5,7	1,1	4,1 ± 2,6
Ácido glutâmico	19,9	19,7	21,5	20,4 ± 1,0
Prolina	3,2	4,7	4,4	4,1 ± 0,8
Glicina	5,8	6,1	5,8	5,9 ± 0,2
Alanina	7,2	8,5	7,5	7,7 ± 0,7
1/2 Cistina	0,6	0,7	0,4	0,6 ± 0,1
Valina	6,1	6,9	6,8	6,6 ± 0,4
Metionina	2,4	1,0	0,5	1,3 ± 1,0
Isoleucina	6,3	5,7	6,2	6,1 ± 0,3
Leucina	10,1	11,1	10,5	10,6 ± 0,5
Tirosina	4,0	4,7	3,7	4,1 ± 0,5
Fenilalanina	5,0	5,7	5,1	5,3 ± 0,4
Histidina	3,4	3,1	3,1	3,2 ± 0,2
Lisina	11,9	12,8	11,1	11,9 ± 0,8
Arginina	7,3	7,9	6,9	7,4 ± 0,5
Amônia	2,4	2,4	3,0	2,9 ± 0,8

<sup>1</sup> Os valores mensais foram obtidos de uma determinação no músculo desengordurado, de lotes compostos por 6 peixes.

Abreviatura: dp - desvio padrão.

### 5.5.3. Composição em aminoácidos de tilápia

Entre as quatro espécies, a tilápia tem sido o peixe mais pesquisado. Foram realizados estudos sobre a composição de aminoácidos por Dupont (1958), Lajolo *et al.* (1975), Hoffman *et al.* (1977) e Khalil *et al.* (1980), requerimentos de aminoácidos para crescimento do peixe (Santiago & Lovell, 1988), efeitos de dietas sobre o crescimento, conversão alimentar, utilização de proteína e composição do corpo (Jackson *et al.*, 1982; Jauncey, 1982; Teshima *et al.*, 1986) e o efeito do processamento e estocagem sobre os teores de aminoácidos (Hoffman *et al.*, 1977).

A composição em aminoácidos (AA) de músculo desengordurado de tilápia proveniente do CEPTA (Pirassununga, São Paulo) está referida na Tabela 41. Os principais aminoácidos foram (g AA/16g N) (entre parênteses, o EQ): ácido glutâmico,  $19 \pm 1,7$ ; ácido aspártico,  $11,1 \pm 1,0$ ; lisina,  $10,2 \pm 1,6$  (2,00); leucina,  $9,8 \pm 0,2$  (1,40), arginina,  $7,2 \pm 0,5$  e alanina,  $7,1 \pm 0,5$ . Além da lisina, leucina e arginina, os demais AAEs apresentaram os seguintes conteúdos: valina,  $6,3 \pm 0,4$  (1,31); isoleucina,  $5,8 \pm 0,5$  (1,38), treonina,  $3,9 \pm 1,8$  (1,11), histidina,  $3,1 \pm 0,4$  (1,82), aromáticos totais, 9,0 (1,23) e sulfurados totais, 1,8 (0,69).

Dos 4 trabalhos citados acima sobre a composição em aminoácidos de tilápia, apenas Hoffman *et al.* (1977) determinaram a composição completa em *Tilapia sculenta* e *T. lidole*. Algumas inversões qualitativas e quantitativas entre os principais aminoácidos de *O. niloticus*, em relação a essas duas espécies, podem ser notadas, mas de modo geral, a composição das três espécies foi muito semelhante.

Com um EQ=0,69, os aminoácidos sulfurados totais foram os limitantes no músculo de tilápia, *O. niloticus*. Em *T. mossambica* (Dupont, 1958), *T. melanopleura* (Lajolo *et al.*, 1975) e *T. sculenta* e *T. lidole* (Hoffman *et al.*, 1977) não foi encontrado nenhum AAE limitante. Nessas espécies, os sulfurados totais foram, respectivamente, de 4,1g/16gN (2,8 MET + 1,3 CYS), 3,3g/16gN (2,3 MET + 1,0 CYS), 3,7g/16gN (2,7 MET + 1,0 CYS) e 4,1g/16gN (3,0 MET + 1,1 CYS), sendo superiores a 1,8g/16gN (1,3 MET + 0,5 CYS) em *O. niloticus*. Esta limitação em aminoácidos sulfurados pode ser uma característica da tilápia nilótica, pois embora sem ter fornecido o total desses aminoácidos, o baixo valor para metionina (1,1g/16gN) encontrado por Khalil *et al.* (1980) para *T. nilotica* (= *O. niloticus*) poderá ser um indicativo dessa deficiência.



Tabela 41 - Composição em aminoácidos (gAA/16g de nitrogênio) de músculo de tilápia, *Oreochromis niloticus*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1</sup>.

Aminoácido	abril	maio	junho	média ± dp
Ácido aspártico	10,0	11,3	12,0	11,1 ± 1,0
Treonina	4,8	5,0	1,8	3,9 ± 1,8
Serina	4,3	4,2	0,6	3,0 ± 2,1
Ácido glutâmico	19,6	17,2	20,4	19,1 ± 1,7
Prolina	2,5	3,8	4,0	3,4 ± 0,8
Glicina	5,1	4,9	5,1	5,0 ± 0,1
Alanina	6,8	6,8	7,6	7,1 ± 0,5
1/2 Cistina	0,6	0,8	0,0	0,5 ± 0,4
Valina	6,0	6,2	6,7	6,3 ± 0,4
Metionina	1,5	1,6	0,7	1,3 ± 0,5
Isoleucina	5,9	5,2	6,2	5,8 ± 0,5
Leucina	9,8	9,5	10,0	9,8 ± 0,2
Tirosina	3,5	3,8	4,2	3,8 ± 0,3
Fenilalanina	5,2	5,0	5,4	5,2 ± 0,2
Histidina	3,5	2,8	2,9	3,1 ± 0,4
Lisina	8,4	11,6	10,7	10,2 ± 1,6
Arginina	7,8	7,0	6,9	7,2 ± 0,5
Amônia	1,6	1,8	3,3	2,2 ± 0,9

<sup>1</sup> Os valores mensais foram obtidos de uma determinação no músculo desengordurado, de lotes compostos por 6 peixes no mês de abril e 10 peixes nos meses de maio e junho.

Abreviatura: dp - desvio padrão.

#### 5.5.4. Composição em aminoácidos de tambaqui

Na Tabela 42 está relacionada a composição em aminoácidos do músculo desengordurado de tambaqui proveniente do CEPTA (Pirassununga, São Paulo). Os seis aminoácidos presentes em maiores concentrações, em ordem decrescente, foram ácido glutâmico, ácido aspártico, lisina, leucina, arginina e alanina, com teores médios variando de 7,0-20,4gAA/16gN. Os escores químicos sempre maiores do que a unidade, revelaram que no músculo de tambaqui, nenhum aminoácido

essencial apresentou-se em deficiência em relação ao padrão NRC (1980). O total de AAes sulfurados e aromáticos foi de 2,6g/16gN e 8,6g/16gN, respectivamente.

Treonina ( $4,1 \pm 1,8$ g/16gN), serina ( $3,1 \pm 2,1$ g/16gN) e prolina foram os AA que apresentaram as maiores variações; os dois primeiros diminuíram e o último aumentou progressivamente seus teores mensais de abril para junho.

Nenhuma literatura foi encontrada referindo-se à composição em aminoácidos de tabaqui.

**Tabela 42** - Composição em aminoácidos (gAA/16g de nitrogênio) de músculo de tabaqui, *Colossoma macropomum*, proveniente de Pirassununga, São Paulo<sup>1</sup>.

Aminoácido	abril	maio	junho	média $\pm$ dp
Ácido aspártico	11,4	10,7	12,5	$11,5 \pm 0,9$
Treonina	5,2	5,1	2,0	$4,1 \pm 1,8$
Serina	4,8	3,9	0,7	$3,1 \pm 2,1$
Ácido glutâmico	20,7	18,8	21,7	$20,4 \pm 1,5$
Prolina	2,2	3,7	4,6	$2,9 \pm 1,1$
Glicina	4,8	5,3	5,1	$5,1 \pm 0,2$
Alanina	6,7	6,9	7,3	$7,0 \pm 0,3$
1/2 Cistina	0,4	tr	tr	(tr-0,4)
Valina	5,4	6,2	6,0	$5,9 \pm 0,4$
Metionina	2,8	2,8	2,2	$2,6 \pm 0,3$
Isoleucina	5,0	6,1	4,8	$5,3 \pm 0,7$
Leucina	9,0	9,0	9,1	$9,0 \pm 0,1$
Tirosina	3,4	3,4	4,4	$3,7 \pm 0,6$
Fenilalanina	4,5	4,9	5,4	$4,9 \pm 0,4$
Histidina	3,3	2,8	2,5	$2,9 \pm 0,4$
Lisina	9,7	10,2	10,1	$10,0 \pm 0,3$
Arginina	7,5	7,0	6,8	$7,1 \pm 0,4$
Amônia	1,8	2,3	2,8	$2,3 \pm 0,5$

<sup>1</sup> Os valores mensais foram obtidos de uma determinação no músculo desengordurado, de lotes compostos por 6 peixes.

Abreviatura: dp - desvio padrão.

### 5.5.5. Comparação entre as espécies de peixes

Os perfis de aminoácidos dos quatro peixes estudados foram muito semelhantes, com ácido glutâmico como principal na faixa de 19-22g/16gN, seguido por ácido aspártico (11-14g/16gN), lisina (10-13g/16gN), leucina (9-12g/16gN), arginina (7-9g/16gN) e alanina (7-8g/16gN). Somente o curimatá apresentou uma inversão na ordem, entre os dois últimos aminoácidos, todavia os valores foram muito próximos, não podendo assim, servir como uma característica desse peixe. Os quatro peixes destacaram-se pelos altos teores de lisina, cujos escores químicos foram os maiores (1,96-2,45) entre todos os AAEs; o menor escore químico ocorreu para tambaqui e o maior para pacu. Em peixes de água doce, a lisina apareceu também como o AAE mais rico, variando de 6-12g/16gN (Dupont, 1958; Lajolo *et al.*, 1975; Hoffman *et al.*, 1977; Mukundan & James, 1978; Mai & Kinsella, 1979b; Khalil *et al.*, 1980; Mai *et al.*, 1980; Maia *et al.*, 1983; Wilson & Poe, 1985; Gatlin III, 1987). Portanto, o consumo de peixe pode ser recomendado em complemento aos alimentos de origem vegetal deficientes em lisina, como o arroz, aveia e milho. As mesmas referências citadas acima serão utilizadas para mostrar as variações dos teores de histidina, aminoácidos sulfurados e triptofano, discutidos a seguir.

A histidina apareceu em segundo lugar, cujos teores nas quatro espécies foram de 2,9g/16gN, 3,1g/16gN, 3,2g/16gN e 3,6g/16gN, respectivamente para tambaqui, tilápia, curimatá e pacu. Peixes de carne escura (atuns, bonitos, sardinhas, etc) têm altos conteúdos de histidina. O potencial histaminogênico do alimento está relacionado com seu conteúdo de histidina livre. Por exemplo, os peixes tunídeos que contêm 1,5-2,5% de histidina livre foram considerados potencialmente histaminogênico, mas para que a histidina seja convertida em histamina é necessária a presença da enzima histidina descarboxilase e de condições ambientais favoráveis (Ienistea, 1973). Em peixes de água doce, a concentração de histidina das proteínas musculares tem variado entre 1-3g/16gN.

Constatou-se pelo escore químico que apenas o total de aminoácidos sulfurados (MET + CYS) foi limitante em tilápia (EQ = 69%) e curimatá (EQ = 73%), equivalente em tambaqui (EQ = 1,00) e ligeiramente superior em pacu (EQ = 1,08). Sua variação foi de 1,8-3,2g/16gN, tendo metionina como principal, com teores de 1,3g/16gN em curimatá e tilápia, 2,0g/16gN em pacu e 2,6g/16gN em tambaqui. Cistina variou de traços a 0,8g/16gN. Os sulfurados totais, metionina e cistina, em peixes de água doce variaram, respectivamente de 3-6g/16gN, 1-5g/16gN e 0,5-2g/16gN.

Na ração fornecida para pacu, tilápia e tambaqui, os aminoácidos cistina e metionina foram encontrados em traços e 2,3 g/16gN (EQ=0,88), respectivamente (Anexo 3). Entretanto, nenhuma relação com a limitação desses aminoácidos nos peixes pode ser deduzida, pois não foi objetivo deste trabalho. Além disso, o curimatá (não alimentado com esta ração) também foi deficiente em aminoácidos sulfurados.

Em relação aos peixes de água doce analisados em outros países, os quatro peixes investigados assemelham-se aos perfis de aminoácidos de *Catostomus commersoni* (Mai & Kinsella, 1979b), *Pomoxis nigromaculatus*, *Salmo gairdneri*, *Stizostedion vitreum*, *Lota lota*, *Perca flavescens* (Mai et al., 1980), *Ictalurus punctatus* (Wilson & Poe, 1985), *Oncorhynchus kisutch* (Hata et al., 1988).

## 6. CONCLUSÕES

1. O reagente  $\text{BF}_3\text{-MeOH}$  pode ser substituído por  $\text{NH}_4\text{Cl-H}_2\text{SO}_4\text{-MeOH}$  na metilação de ácidos graxos para análise por cromatografia gasosa pelo método de Metcalfe, sem comprometer a confiabilidade dos resultados.
2. A análise quantitativa de ésteres metílicos de ácidos graxos de peixes, em coluna de Carbowax 20M (CW20M) mostra-se superior à coluna SE-54, devido ao melhor poder de resolução dos ácidos graxos, em especial dos pares 18:1n9/18:3n3, 20:1n9/20:3n3 e 22:1n9/22:3n3, que não foram separados na coluna SE-54. Entretanto, o uso de coluna SE-54, junto com a CW20M é útil para a identificação de alguns ácidos graxos conflitantes.
3. A composição química das quatro espécies encontra-se dentro dos padrões normais de peixes em geral, com os conteúdos variando entre 68-79% para umidade, 16-22% para proteína, 1-14% para lipídios totais (LT), 65-97% para lipídios neutros (LN) e 4-34% para fosfolipídios (PL).
4. As variações nos teores de LT, LN, PL e composição de ácidos graxos de pacu podem estar associadas ao peso dos peixes, não tendo influência sazonal.
5. Como único critério para a identificação dos AG, a determinação do comprimento equivalente da cadeia e a análise por espectrometria de massa são os parâmetros mais confiáveis. Em conjunto, os parâmetros se reforçam mutuamente, permitindo identificar 64, 71, 45 e 46 ácidos graxos nos lipídios totais de pacu, curimatá, tilápia e tambaqui, respectivamente.

6. Nas 4 espécies de peixes analisadas os mesmos 7 ácidos graxos majoritários compõem ambas as frações de LT e LN: ácidos mirístico, palmítico, palmitoléico, esteárico, oléico, linoléico e linolênico. O ácido oléico é o principal em LT de pacu e tambaqui e em LN de pacu, tilápia e tambaqui; o ácido palmítico é o majoritário em LT de curimbatá e tilápia e em LN de curimbatá.
7. Na fração de PL, os ácidos palmítico, esteárico, oléico e araquidônico encontram-se entre os majoritários em todos os peixes. O ácido palmítico predomina em curimbatá, tilápia e tambaqui, enquanto o ácido oléico é o principal em pacu. Completando a lista dos seis ácidos graxos majoritários, aparecem DHA e 18:2n6 em pacu e tambaqui, DHA e EPA em curimbatá e 18:2n6 e DPA em tilápia.
8. Em LT, LN e PL de pacu, tilápia e tambaqui, os ácidos graxos da família n6 predominam em relação aos da família n3; o contrário ocorre nas três frações de curimbatá.
9. Em LT e LN das quatro espécies de peixes, os ácidos graxos da família n9 superam os da família n6; na fração de PL, os ácidos graxos da família n6 predominam.
10. Somente nos PL de curimbatá, os teores de ácidos graxos da família n3 foram superiores aos da família n9.
11. Os mesmos 6 aminoácidos majoritários são encontrados nas 4 espécies de peixes analisadas. Em ordem crescente (exceto para o curimbatá onde há uma troca entre arginina e alanina) estes aminoácidos são: alanina, arginina, leucina, lisina, ácido aspártico e ácido glutâmico.
12. Todos os peixes analisados podem ser considerados como uma boa fonte de aminoácidos essenciais, com exceção dos aminoácidos sulfurados que são limitantes em curimbatá e tilápia.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKMAN, R.G. 1963a. An analysis of separation factors applicable in the gas-liquid chromatography of unsaturated fatty acid methyl esters on a polyester substrate. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **40**: 564-67.
- ACKMAN, R.G. 1963b. Structural correlation of unsaturated fatty acid esters through graphical comparison of gas-liquid chromatographic retention times on a polyester substrate. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **40**: 558-64.
- ACKMAN, R.G. 1963c. Influence of column temperature in the gas-liquid chromatographic separation of methyl esters of fatty acids on polyesters substrates. *J. Gas Chromatog.*, **1**: 11-16.
- ACKMAN, R.G. 1967. Characteristics of the fatty acid composition and biochemistry of some fresh-water fish oils and lipids in comparison with marine oils and lipids. *Comp. Biochem. Physiol.*, **22B**: 907-22
- ACKMAN, R.G. 1969. Gas-liquid chromatography of fatty acids and esters. In: Lowenstein, J.M. ed., *Methods in Enzymology*, vol. **XIV**, p. 329-81. Academic Press, London.
- ACKMAN, R.G. 1972. The analysis of fatty acids and related materials by gas-liquid chromatography. *Prog. Chem. Fats Lip.*, **12**: 165-284.

- ACKMAN, R.G. 1980a. Fish lipids. Part. I. In: Connel, J.J.ed. *Advances in Fish Science and Technology*, p. 86-103. Fishing News (Books) Ltd, London.
- ACKMAN, R.G. 1980b. Potential for more efficient methods for lipid-analysis. *Fette seifen Anstrichmittel*, **82**: 351-57.
- ACKMAN, R.G. 1981. Problems in introducing new chromatographic techniques for lipid analysis. *Chem. Ind.*, **17**: 715-22.
- ACKMAN, R.G. 1987a. Simplification of analysis of fatty acids in fish lipids and related lipid samples. *Acta Med. Scand.*, **222**: 99-103.
- ACKMAN, R.G. 1987b. WCOT (capillary) gas-liquid chromatography. In: Hamilton, R.J. and Rossell, J.B. eds., *Analysis of Oils and Fats*, p.137-206. Elsevier Applied Science, Essex.
- ACKMAN, R.G. 1989. Nutritional composition of fats in seafoods. *Prog. Food Nutr. Sci.*, **13**: 161-241.
- ACKMAN, R.G. & BURGHER, R.D. 1963. A proposed basis for the systematic identification of unsaturated fatty acid esters through gas-liquid chromatography on polyester substrates. *J. Chromatog.*, **11**: 185-94.
- ACKMAN, R.G. & BURGHER, R.D. 1965. Cod liver oil fatty acids as secondary reference standards in the GLC of polyunsaturated fatty acids of animal origin: Analysis of a dermal oil of the Atlantic leatherback turtle. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **42**: 38-42.
- ACKMAN, R.G. & CASTELL, J.D. 1966. Isomeric monoethylenic fatty acids in herring oil. *Lipids* **1**: 341-48
- ACKMAN, R.G. & CASTELL, J.D. 1967. A generalized study of the effect of structure and other factors in open tubular gas chromatography of fatty acids on a polyester liquid phase with particular reference to monoethylenic fatty acid isomers. *J. Gas Chromatog.*, **5**: 489-96.



- ACKMAN, R.G. & EATON, C.A. 1978. Some contemporary applications of open-tubular gas liquid chromatography in analysis of methyl esters of longer-chain fatty acids. *Fette seifen Anstrichmittel*, **80**: 21-37.
- ACKMAN, R.G. & SIPOS, J.C. 1981. Standard wall-coated open-tubular columns for fatty acid analysis: Is flexible fused silica the answer? *Prog. Lip. Res.*, **20**: 773-75.
- ACKMAN, R.G.; SIPOS, J.C. & JANGAARD, R.M. 1967a. A quantitation problem in the open tubular gas chromatography of fatty acid esters from cod liver lipids. *Lipids*, **2**: 251-57.
- ACKMAN, R.G.; SIPOS, J.C. & TOCHER, C.S. 1967b. Some linear, iso, anteiso, and multiple-branched fatty acids of marine origin: analysis on packed and open-tubular gas-liquid chromatographic columns with particular reference to pristanic and phytanic acids. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **24**: 635-50.
- ACKMAN, R.G.; SEBEDIO, J.L. & KOVACS, M.I.P. 1980. Role of eicosenoic and docosenoic fatty acids in freshwater and marine lipids. *Marine Chemistry*, **9**: 157-64.
- ADDISON, R.F.; ACKMAN, R.G. & HINGLEY, J. 1968. Distribution of fatty acids in cod flesh lipids. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **25**: 2083-90.
- ALEXANDER, L.R.; JUSTICE, Jr., J.B. & MADDEN, J. 1985. Fatty acid composition of human erythrocyte membranes by capillary gas chromatography - mass spectrometry. *J. Chromatog.*, **342**: 1-12.
- ALLEN, C.E. & FOEGEDING, E.A. 1981. Some lipid characteristics and interactions in muscle foods - a review. *Food Technol.*, **35**: 253-57.
- AMAYA-FARFÁN, J. 1980. *Química de proteínas aplicada à ciência e tecnologia dos alimentos*, p. 99. Editora da UNICAMP, Campinas.
- ANDERSSON, B.A. & HOLMAN, R.T. 1974. Pyrrolidides for mass spectrometric determination of the position of the double bond in monounsaturated fatty acids. *Lipids*, **9**: 185-90.

- ANDRADE, M.O. 1978. Estudo da fração lipídica de mandis (*Pimelodus clarias* Bloch) "in natura" e processados. Tese de Doutorado, 135p. FCF-USP, São Paulo.
- AOAC. 1990. *Official methods of analysis*, 15th ed., p. 964-65. Association of Official Analytical Chemists, Arlington.
- ARAKI, E.; ARIGA, T. & MURATA, T. 1976. Chemical ionization mass spectrometry of polyunsaturated fatty acids of human serum. *Biomed. Mass Spectrom.*, **3**: 261-64.
- ASHES, J.R.; MILLS, S.C. & HAKEN, J.K. 1978. Use of various homologous series in dead-time calculations. *J. Chromatog.*, **166**: 391-96.
- AZEVEDO, P.de. 1972. Principais peixes das águas interiores de São Paulo - Hábito de vida. In: *Poluição e Piscicultura*, p. 109-112. CIBPU/FSP-USP/IP-CPRN-SA, São Paulo.
- BALARIN, J.D. & HATTON, J.P. 1979. *Tilapia - A guide to their biology & culture in Africa*, 111 p. University of Stirling, Scotland.
- BANNON, C.D.; CRASKE, J.D.; FELDER, D.L.; GARLAND, I.J. & NORMAN, L.M. 1987. Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability. VI. Rapid analysis by split injection capillary gas-liquid chromatography. *J. Chromatog.*, **407**: 231-41.
- BANNON, C.D.; CRASKE, J.D. & NORMAN, L.M. 1988. Effect of overload of capillary gas-liquid chromatographic columns on the equivalent chain lengths of C<sub>18</sub> unsaturated fatty acid methyl esters. *J. Chromatog.*, **44**: 43-52.
- BECKMAN INSTRUMENTS, Spinco Division. 1977. *Amino Acid Analyzer Instruction Manual.*, Palo Alto, CA., USA.
- BENITEZ, L.V. & GORRICETA, I.R. 1983. Lipid composition of milkfish grown in ponds by traditional aquaculture. In: Cho, C.Y.; Cowey, C.B. e Watanabe, T. eds., *Finfish Nutrition in Asia - Methodological Approaches to Research and Development*, p. 145.

- BLIGH, E.G. & DYER, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**: 911-17.
- BOND, C.E. 1979. *Biology of fishes*, p. 134-210. Saunders College Publs, Philadelphia.
- BOWEN, S.H. 1982. Feeding, digestion and growth-qualitative considerations. In: Pullin, R.S.V. and Lowe-McConnell, R.H. eds., *The biology and culture of tilapias*. ICLARM Conference Proceedings 7, p. 141-56. ICLARM, Manila.
- BRADDOCK, R.J. & DUGAN, Jr., L.R. 1972. Phospholipid changes in muscle from frozen stored lake Michigan coho salmon. *J. Food Sci.*, **37**: 426-29.
- BRITSKI, H.A. 1972. Peixes de água doce do Estado de São Paulo - Sistemática. In: *Polução e Piscicultura*, p. 79-108. CIBPU/FSP-USP/IP-CPRN-SA, São Paulo.
- BRONGEEST-SCHOOTE, H.C., van gent, C.M., LUTEN, J.B. & RUITTER, A. 1981. The effects of various intakes of n-3 fatty acids on the blood lipid composition in healthy human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**: 1752-57.
- BUDOWSKI, P. 1981. Nutritional effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Isr. J. Med. Sci.*, **17**: 223-31.
- BURR, M.L. 1989. Fish and the cardiovascular system. *Prog. Food Nutr. Sci.*, **13**: 291-316.
- CABBAT, F.S. & STANDAL, B.R. 1965. The composition of essential and certain nonessential amino acids in selected Hawaii fish. *J. Food Sci.*, **30**: 172-77.
- CASTELO, F.P.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. & STRONG III, F.C. 1980. Aproveitamento e características da gordura cavitária do tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818. *Acta Amazonica*, **10**: 557-76.
- CAULTON, M.S. 1977. The effect of temperature on routine metabolism in *Tilapia rendalli* Boulenger. *J. Fish. Biol.*, **11**: 549-53.

- CAULTON, M.S. 1978. The importance of habitat temperatures for growth in the tropical cichlid *Tilapia rendalli* Boulenger. *J. Fish. Biol.*, **13**: 99-112.
- CAULTON, M.S. 1982. Feeding, metabolism and growth of Tilapias: some quantitative considerations. In: Pullin, R.S.V. and Lowe-McConnell, R.H. eds., *The biology and culture of tilapias*. ICLARM Conference Proceedings 7, p. 157-80. ICLARM, Manila.
- CHRISTIE, W.W. 1982. *Lipid Analysis*, 2nd ed., 207p. Pergamon Press, Oxford, England.
- CHRISTIE, W.W. 1988. Equivalent chain-lengths of methyl ester derivatives of fatty acids on gas-chromatography. *J. Chromatog.*, **447**: 305-14.
- CHRISTIE, W.W. & STEFANOV, K. 1987. Separation of picolinyl ester derivatives of fatty acids by high-performance liquid chromatography for identification by mass spectrometry. *J. Chromatog.*, **392**: 259-65.
- CHRISTIE, W.W.; BRECHANY, E.Y.; JOHNSON, S.B. & HOLMAN, R.T. 1986. A comparison of pyrrolidide and picolinyl ester derivatives for the identification of fatty acids in natural samples by GC-MS. *Lipids*, **21**: 657-61.
- DAIKOKU, T.; YANO, I. & MASUI, M. 1982. Lipid and fatty acid compositions and their changes in the different organs and tissues of guppy, *Poecilia reticulata* on sea water adaptation. *Comp. Biochem. Physiol.*, **73A**: 167-74.
- DEELSTRA, H.A.; WHITE, O. & WIGGANS, D.S. 1974. Nutritive value of fish of lake Tanganyika I. Amino acid composition. *Afr. J. Trop. Hydrob. Fish.*, **3**: 161-66.
- DORRIS, G.M.; DOUEK, M. & ALLEN, L.H. 1982. Operating variables in the analysis of tall oil acids by capillary gas chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **59**: 494-500.
- DUPONT, A. 1958. Amino acid content of Indonesian fresh water fish. *Biochem. Z.*, **330**: 174-76.

- DYERBERG, J. 1981. Platelet vessel wall interaction: influence of diet. *Phil. Trans. Royal Soc. London*, **B294**: 373.
- DYERBERG, J. & BANG, H.O. 1979. Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. *Lancet*, **ii**: 433-35.
- DYERBERG, J.; BANG, H.O.; STOFFERSEN, E.; MARCADA, S. & VANE, J.R. 1978. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and arteriosclerosis. *Lancet*, **ii**: 117-19.
- EATON, C.A.; ACKMAN, R.G.; TOCHER, C.S. & SPENCER, K.D. 1975. Canadian capelin 1972-1973. Fat and moisture composition, and fatty acids of some oils and lipid extract triglycerides. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **32**: 507-13.
- EL-SHATTORY, Y. 1979. Review on fish phospholipids. *Die Nahrung*, **23**: 179-86.
- ETTRE, L.S. 1973. The retention index system; its utilization for substance identification and liquid phase characterization. *Chromatographia*, **6**: 489-95.
- FELLENBERG, A.J.; JOHNSON, D.W.; POULOS, A. & SHARP, P. 1987. Simple mass spectrometric differentiation of the n-3, n-6 and n-9 series of methylene interrupted polyenoic acids. *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, **14**: 127-29.
- FERRARI, V.A.; BERNARDINO, G.; MELO, J.S.C. de; NASCIMENTO, V.M.C. & FIJAN, K. 1986. Monocultivo do tambaqui, *Colossoma macropomum*: I - In: *Síntese dos trabalhos realizados com espécies do Gênero Colossoma* p. 20. março/82 a abril/86. CEPTA, São Paulo.
- FLANZY, J.; BOUDON, M.; LEGER, C. & PIHET, J. 1976. Application of carbowax 20M as an open-tubular liquid phase in analyses of nutritionally important fats and oils. *J. Chromatog. Sci.*, **14**: 17-24.
- FREEMAN, R.R. 1981. *High Resolution Gas Chromatography*, 2nd ed., 197p. Hewlett-Packard Company.
- FREITAS, J.V.F. & GURGEL, J.J.S. 1985. Estudo de alguns parâmetros biométricos e da composição química do tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818

- e pirapitinga, *Colossoma brachypomum* Cuvier, 1818, criados em cativeiro. *Bol. Técn. DNOCS*, **43**: 47-66.
- FREITAS, J.V.F.; GURGEL, J.J.S. & MACHADO, Z.L. 1979. Estudos de alguns parâmetros biométricos e da composição química, inclusive sua variação sazonal, da tilápia do Nilo, *Sarotherodon niloticus* (L.), do açude público "Paulo Sarasate" (Reriutaba, Ceará, Brasil), durante os anos de 1978 e 1979. *Bol. Técn. DNOCS*, **37**: 135-51.
- GATLIN III, D.M. 1987. Whole-body amino acid composition and comparative aspects of amino acid nutrition of the goldfish, golden shiner and fathead minnow. *Aquaculture*, **60**: 223-29.
- GÈRY, J. 1986. Notes de characologie néotropical 1. Progrès dans la systématique des genres *Colossoma* et *Piaractus*. *Revue fr. Aquariol.*, **12**: 97-102.
- GIBSON, R.A. 1983. Australian fish - An excellent source of both arachidonic acid and  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, **18**: 743-52.
- GIBSON, T.A. & WORTHINGTON, R.E. 1977. Lipid changes in frozen stored channel catfish grown by tank culture: Effects of dietary fat, freezing method, and storage temperature. *J. Food Sci.*, **42**: 355-58.
- GLASS, R.L.; KRICK, T.P. & ECKHARDT, A.E. 1974. New series of fatty acids in northern pike (*Esox lucius*). *Lipids*, **9**: 1004-08.
- GODOY, M.P.de. 1975. *Peixes do Brasil*. Subordem *Characoidei*, Bacia do Rio Mogi Guassu, vol IV, 1a. ed., p. 631-847. Editora Franciscana, Piracicaba, SP.
- GOEDERT, M. & GUIOCHON, G. 1970. Sources of error in measurement of retention times. *Anal. Chem.*, **42**: 962-68.
- GOODNIGHT, S.H.Jr.; HARRIS, W.S.; CONNOR, W.E. & ALLINGWORTH, R.D. 1982. Polyunsaturated fatty acids, hyperlipidemia and thrombosis. *Arteriosclerosis*, **2**: 87-113.

- GOPAKUMAR, K. 1975. Fatty acid composition of three species of freshwater fishes. *Fish. Technol.*, **12**: 21-24.
- GOULDING, M. 1980. The fruit - and seed - eating large characins. In: *The Fishes and the Forest Explorations in Amazonian Natural History*, p. 55. University of California Press, California.
- GRUGER Jr., E.H.; NELSON, R.W. & STANSBY, M.E. 1964. Fatty acid composition of oils from 21 species of marine fish, freshwater fish and shellfish. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **41**: 662-67.
- GUHA, B.C. 1962. The role of fish in human nutrition. In: Heen, E. and Kreuzer, R. eds., *Fish in Nutrition*, p. 39-42. Fishing News (Books) Ltd., London.
- GUNSTONE, F.D.; WIJESUNDERA, R.C. & SCRIMGEOUR, C.M. 1978. The component acids of lipids from marine and freshwater species with special reference to furan-containing acids. *J. Sci. Fd. Agric.*, **29**: 539-50.
- GURGEL, J.J.S. & FREITAS, J.V.F. 1972. Sobre a composição química de doze espécies de peixe de valor comercial de águas do nordeste brasileiro. *Bol. Tec. DNOCS*, **30**: 49-57.
- GURGEL, J.J.S. & FREITAS, J.V.F. 1977. Variação estacional do teor de gordura da curimatã, *Prochilodus cearensis* Steindachner, pescada do Piauí, *Plagioscion squamosissimus* (Heckel) e traíra, *Hoplias malabaricus* (Bloch) no açude Orós, em Orós, Ceará. *Bol. Técn. DNOCS*, **35**: 149-63.
- HAKEN, J.K. 1966. Retention time relationships in the gas chromatography of the methyl esters of fatty acids. *J. Chromatog.*, **23**: 375-81.
- HALLGREN, B.; RYHAGE, R. & STENHAGEN, E. 1959. The mass spectra of methyl oleate, methyl linoleate, and methyl linolenate. *Acta Chem. Scand.*, **13**: 845-47.
- HANSEN, H.L. & ANDRESEN, K. 1968. Calculation of the retention time of the "air peak" in gas chromatograms. *J. Chromatog.*, **34**: 246-48

- HARDY, R. 1980. Fish lipids. Part II. In: Connel, J.J. ed., *Advances in Fish Science and Technology*, p. 103-111, Fishing News (Books) Ltd., London.
- HARTMAN, L. & LAGO, R.C.A. 1973. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Lab. Prac.*, **22**: 475-76, 94.
- HASCHEMEYER, A.E.V.; PERSELL, R. & SMITH, M.A.K. 1979. Effect of temperature on protein synthesis in fish of the Galápagos and Perlas Islands. *Comp. Biochem. Physiol.*, **64B**: 91-95.
- HATA, M.; SATO, Y.; YAMAGUCHI, T.; ITO, M. & KUNO, Y. 1988. The chemical and amino acid compositions in tissues of cultured and wild coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**: 1365-70.
- HAUMANN, B.F. 1989. Aquaculture: New markets for meals, fats and oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **66**: 1530-43.
- HEARN, T.L.; SGOUTAS, S.A.; HEARN, J.A. & SGOUTAS, D.S. 1987. Polyunsaturated fatty acids and fat in fish flesh for selecting species for health benefits. *J. Food Sci.*, **52**: 1209-11.
- HECKERS, H.; DITTMAR, K.; MELCHER, F.W. & KALINOWSKI, H.O. 1977. Silar 10C, silar 9CP. SP2340 and OV-275 in the gas-liquid chromatography of fatty acid methyl esters on packed columns. *J. Chromatog.*, **135**: 93-107.
- HENDERSON, R.J. & TOCHER, D.R. 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid Res.*, **26**: 281-347.
- HEROLD, P.M. & KINSELLA, J.E. 1986. Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease: a comparison of findings from animal and human feeding trial. *Am. J. Clin. Nutr.* **43**: 566-98.
- HETHELYI, E.; TETENYI, P; DABI, E. & DÁNOS, B. 1987. The role of mass spectrometry in medicinal plant research. *Biom. Environ. Mass Spectrom.*, **14**: 627-32.



- HOFFMAN, A.; BARRANCO, A.; FRANCIS, B.J. & DISNEY, J.G. 1977. The effect of processing and storage upon the nutritive value of smoked fish from Africa. *Tropical Sci.*, **19**: 41-53.
- HONDA, E.M.S. 1974. Contribuição ao conhecimento da biologia de peixes do Amazonas. II - Alimentação de tambaqui, *Colossoma bidens* (Spix). *Acta Amazonica*, **4**: 47-53.
- HORMAN, I & TRAITLER, H. 1989. Routine gas chromatographic/mass spectrometric analysis of fatty acid methyl esters using the ion trap detector. *Biom. Environ. Mass Spectrom.*, **18**: 1016-22.
- HOVING, E.B.; JANSEN, G.; VOLMER, M.; van DOORMAAL, J.J. & MUSKIET, F.A.J. 1988. Profiling of plasma cholesterol ester and triglyceride fatty acids as their methyl esters by capillary gas chromatography, preceded by a rapid aminopropyl-silica column chromatographic separation of lipid classes. *J. Chromatog.*, **434**: 395-409.
- IBGE. 1976. *Anuário Estatístico do Brasil*. vol. **37**, p. 158. Rio de Janeiro.
- IBGE. 1985. *Anuário Estatístico do Brasil*. vol. **46**, p. 376. Rio de Janeiro.
- IENISTEA, C. 1973. Significance and detection of histamine in food. In: Hobbs, B.C. and Christian, J.H.B., ed., *The Microbiological Safety of Food*, p. 327-43. Academic Press, London.
- IVERSON, J.L.; FIRESTONE, D. & EISNER, J. 1965. Evaluation of methods for identifying fatty acid esters separated by gas chromatography. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **48**: 482-89.
- JACKSON, A.J.; CAPPER, B.S. & MATTY, A.J. 1982. Evaluation of some plant proteins in complete diets for the tilapia *Sarotherodon mossambicus*. *Aquaculture*, **27**: 97-109.
- JAEGER, H.; KLOER, H.U.; DITSCHUNEIT, H. & FRANK, H. 1981. Glass capillary gas-liquid chromatography of fatty acids. In: Jennings, W.G., ed.,

- Application of Glass Capillary Gas Chromatography, Chromatogr. Sci. Series*,  
15: 395-453. Marcel Dekker, Inc., New York.
- JAMES, A.T. 1959. Determination of the degree of unsaturation of long chain fatty acid by gas-liquid chromatography. *J. Chromatog.*, 2: 552-61.
- JAMIESON, J. 1975. GLC identification techniques for long-chain unsaturated fatty acids. *J. Chromatog. Sci.*, 13: 491-97.
- JANGAARD, P.M.; ACKMAN, R.G. & SIPOS, J.C. 1967. Seasonal changes in fatty acid composition of cod liver, flesh, roe and milt lipids. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 24: 613-27.
- JAUNCEY, K. 1982. The effects of varying dietary protein level on the growth, food conversion, protein utilization and body composition of juvenile tilapias (*Sarotherodon mossambicus*). *Aquaculture*, 27: 43-54.
- JAUNCEY, K. & ROSS, B. 1982. *A Guide to Tilapia Feeds and Feeding*, 111p. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland, UK.
- JOHNSTON, J.J.; GHANBARI, H.A.; WHEELER, W.B. & KIRK, J.R. 1983. Characterization of shrimp lipids. *J. Food Sci.*, 48: 33-35.
- JORGENSEN, K.A. & DYERBERG, J. 1983. Platelets and arteriosclerosis. *Adv. Nutr. Res.*, 5: 57.
- JUNK, W.J. 1985. Temporary fat storage, an adaptation of some fish species to the water level fluctuations and related environmental changes of the Amazon river. *Amazoniana*, IX: 315-51.
- KAGAWA, Y., NISHIZAWA, M. & SUZUKI, M. 1982. Eicosenoic acid of serum of Japanese Islanders with low cardiovascular disease. *J. Nutr. Sci.*, 24: 441.
- KANAZAWA, A. 1985. Essential fatty acid and lipid requirement of fish. In: Cowey, C.B.; Mackie, A.M. and Bell, J.G. eds., *Nutrition and Feeding in Fish*, p. 281-98. Academic Press, London.

- KATES, M. 1972. *Techniques of Lipidology*, p. 269-610. North Holland/ American Elsevier Publ. Co., London.
- KETOLA, H.G. 1982. Amino acid nutrition of fishes: Requirements and supplementation of diets. *Comp. Biochem. Physiol.*, **73B**: 17-24.
- KHALIL, M.E.; MOUSTAFA, E.K. & OSMAN, H.O.A. 1980. Composition of boliti (*Tilapia nilotica*) muscle proteins. *Food Chem.*, **5**: 175-84.
- KHAN, G.R. & SCHEINMANN, F. 1978. Some recent advances in physical methods for analysis and characterization of polyunsaturated fatty acids. *Prog. Chem. Fats Lip.*, **15**: 343-67.
- KIM, K.S. & LEE, E.H. 1986. *Bull. Korean Fish. Soc.*, como citado por Henderson, R.J. & Tocher, D.R. 1987. *Prog. Lipid Res.*, **26**: 281-347.
- KINSELLA, J.E. 1981. Dietary fat and prostaglandins: Possible beneficial relationships between food processing and public health. *Food Technol.*, **35**: 89-98.
- KINSELLA, J.E. 1986. Food components with potential therapeutic benefits: The n-3 polyunsaturated fatty acids of fish oils. *Food Technol.*, **40**: 89-97, 146.
- KINSELLA, J.E.; SHIMP, J.L.; MAI, J. & WEIHRAUCH, J. 1977a. Sterol, phospholipid, mineral content and approximate composition of filets of select freshwater fish species. *J. Food Biochem.*, **1**: 131-40.
- KINSELLA, J.E.; SHIMP, J.L.; MAI, J. & WEIHRAUCH, J. 1977b. Fatty acid content and composition of freshwater finfish. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **54**: 424-29.
- KOZUKUE, E. & KOZUKUE, N. 1981. Lipid content and fatty acid composition in bamboo shoots. *J. Food Sci.*, **46**: 751-55.
- KRAMER, J.K.G.; FOUCHARD, R.C. & JENKINS, K.J. 1985. Differences in chromatographic properties of fused silica capillary columns, coated, crosslinked, bonded, or crosslinked and bonded with polyethylene glycols (carbowax

- 20M) using complex fatty acid methyl ester mixtures. *J. Chromatog. Sci.*, **23**: 54-56.
- KREBS, K.G.; HEUSSER, D. & WIMMER, H. 1969. Spray reagents. In: Stahl, E. ed., *Thin-Layer Chromatography. A Laboratory Handbook*, 2nd. ed., p. 854-909. Springer-Verlag, Berlin.
- KRUPCÍK, J.; HRIVNÁK, J.; BARNOKY, L. & JANÁK, J. 1972. Effect of temperature on the separation on the esters of fatty acids by open tubular gas chromatography. *J. Chromatog.*, **65**: 323-32.
- KRUPCÍK, J.; HRIVNÁK, J. & JANÁK, J. 1976. Analytical aspects of capillary gas chromatography of lower fatty acids [up to C18]. *J. Chromatog. Sci.*, **14**: 4-17.
- LAGLER, K.F.; BARDACH, J.E., MILLER, R.R. & MAY PASSINO, D.R. 1977. *Ichthyology*, 2nd. ed., 506p. John Wiley & Sons, New York.
- LAJOLO, F.M.; ZUCAS, S.M. & DOMINGUES, J.B. 1975. Estudo bromatológico de concentrados proteicos obtidos a partir da *Sardinella aurita* e da *Tilapia melanopleura* I. Ensaio das proteínas. *Arch. Latinoam. Nutr.*, **25**: 67-78.
- LANTZ, A.W. 1966. Special products from freshwater fish. *Bull. Fish. Res. Bd. Can.*, (151), 45p.
- LAUDER, G.V. & LIEM, K.F. 1983. The evolution and interrelationships of the Actinopterygian fishes. *Bull. Mus. Comp. Zool.*, **150**: 95-197.
- LAZOS, E.S.; AGGELOUSIS, G. & ALEXAKIS, A. 1989. Metal and proximate composition of the edible portion of 11 freshwater fish species. *J. Food Comp. Anal.*, **2**: 371-81.
- LEHNINGER, A.L. 1976. *Bioquímica*, 2a. ed., vol. 1, p. 49-66. Editora Edgard Blücher Ltda, São Paulo.

- LESSI, E. 1968. Aspectos químico-bromatológico do corimbatá (*Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881) - Estudo da fração proteica. *Rev. Fac. Farm. Odont. Araraquara*, **2**: 121-32.
- LIN, S.-T.; TIEN, L.-L. & CHANG, N.-C. 1989. Mass spectra of some acetals. *Analyst*, **114**:1083-85.
- LIU, T.-Y & CHANG, Y.H. 1971. Hydrolysis of proteins with p-toluenesulfonic acid. Determination of tryptophan. *J. Biol. Chem.*, **246**: 2842-48.
- MACHADO, M.G.S. 1989. Composição em nutrientes e caracterização das proteínas do filé do pacu (*Colossoma mitrei*, Berg 1895). Tese de Mestrado, 63 p. Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, São Paulo.
- MACHADO-ALLISON, A. 1982. Estudios sobre la subfamilia *Serrasalminae* (*Teleostei*, *Characidae*). Parte 1. Estudio comparado de los juveniles de las "cachamas" de Venezuela (Generos *Colossoma* y *Piaractus*). *Acta. Biol. Venez.*, **11**: 1-101.
- MAI, J. & KINSELLA, J.E. 1979a. Lipid composition of dark and white muscle from white sucker (*Catostomus commersoni*). *J. Food Sci.*, **44**: 1101-09.
- MAI, J. & KINSELLA, J.E. 1979b. Composition of lipids and proteins of deboned minced and filleted white sucker (*Catostomus commersoni*). *J. Food Biochem.*, **3**: 229-39.
- MAI, J.; SHETTY, J.K.; KAN, T.M. & KINSELLA, J.E. 1980. Protein and amino acid composition of select freshwater fish. *J. Agric. Food Chem.*, **28**: 884-85.
- MAIA, E.L., RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. & AMAYA-FARFÁN, J. 1983. Proximate, fatty acid and amino acid composition of the Brazilian freshwater fish *Prochilodus scrofa*. *Food Chem.*, **12**: 275-86.
- MARX, M.H.; WILEY, R.A.; SATCHELL, D.G. & MAGUIRE, M.H. 1989. Darmstoff analogues. 3. Actions of choline esters of acetal phosphatidic acids on visceral smooth muscle. *J. Med. Chem.*, **32**: 1319-22.

- MARZOUKI, Z.M.H.; TAHA, A.M. & GOMAA, K.S. 1988. Fatty acid profiles of sebaceous triglycerides by capillary gas chromatography with mass-selective detection. *J. Chromatog.*, **425**: 11-24.
- MAYER, J. 1962. Fish proteins in nutrition and their importance in the prevention of protein malnutrition. In: Hearn, E. and Kreuzer, R., eds., *Fish in Nutrition*, p. 248-56. Fishing News (Books) Ltd, London.
- McNAIR, H.M. & BONELLI, E.J. 1969. *Basic Gas Chromatography*, 5th ed., p.123. Varian Instrument, Palo Alto, California, USA.
- METCALFE, L.D.; SCHMITZ, A.A. & PELKA, J.R. 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, **38**: 514-15.
- MIWA, T.K.; MIKOLAJCZAK, K.L.; EARLE, F.R. & WOLFF, I.A. 1960. Gas chromatographic characterization of fatty acids. Identification constants for mono - and dicarboxylic methyl esters. *Anal. Chem.*, **32**: 1739-42.
- MUKUNDAN, M.K. & JAMES, M.A. 1978. Nutritional quality of some food fish. *Fish. Technol.*, **15**: 85-87.
- MUKUNDAN, M.K.; RADHAKRISHNAN, A.G.; JAMES, M.A. & NAIR, M.R. 1981. Comparative study of the nutrient content of fish and shell fish. *Fish. Technol.*, **18**: 129-32.
- NAIR, P.G.V. & GOPAKUMAR, K. 1978. Fatty acid composition of 15 species of fish from tropical waters. *J. Food Sic.*, **43**: 1162-64.
- NAIR, K.G.R. & GOPAKUMAR, K. 1981. Influence of sex, spawning, starvation and water temperature on fatty acid composition in *Tilapia mossambica*. *Fish Technol.*, **18**: 123-27.
- NAIR, P.G.V. & GOPAKUMAR, K. 1984. Lipid and fatty acid composition of fish and shellfish. *J. Food Sci. Technol.*, **21**: 389-92.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1980. *Recommended dietary allowances*, 9th ed., p. 39-54. National Academy of Sciences, Washington.
- NEEDLEMAN, P.; PAZ, A.; MINKES, M.S.; FERRANDELLI, J.A. & SPRECHER, H. 1979. Trieno prostaglandins, prostacyclin and thromboxane biosynthesis and unique biological properties. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)* **76**: 944-48.
- NELSON, G.J. 1974. Elution characteristics of fatty acid methyl esters on capillary columns. *Lipids*, **9**: 254-63.
- NETO, F.M. 1984. Modificações químicas, bioquímicas e sensoriais do híbrido de tilápia estocado em gelo. Tese de Mestrado, 79 p. Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, UNICAMP, Campinas, São Paulo.
- NETTLETON, J.A.; ALLEN, W.H.Jr.; KLATT, L.V.; RATNAYAKE, W.M.N. & ACKMAN, R.G. 1990. Nutrients and chemical residues in one-to two pound Mississippi farm-raised channel catfish (*Ictalurus punctatus*) *J. Food Sci.*, **55**: 954-58.
- NUNES M.L. 1981. Hidrolisado proteico de pescado: obtenção de um produto funcional. Tese de Mestrado, 100 p. Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, UNICAMP, São Paulo.
- OHSHIMA, T.; WIDJAJA, D.; WADA, S. & KOIZUMI, C. 1982. A comparison between cultured and wild ayu lipids. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **48**: 1795-801.
- OSAGIE, A.U. & KATES, M. 1984. Lipid composition of millet (*Pennisetum americanum*) seeds. *Lipids*, **19**: 958-65.
- OTA, T. & TAKAGI, T. 1977. A comparative study on the lipid class composition and the fatty acid composition of sweet smelt, *Plecoglossus altivelis*, from marine and freshwater habitat. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **28**: 47-56.
- PAULA, J.E.de; MORAIS FILHO, M.B.; BERNARDINO, G.; MELO, J.S.C. & FERRARI, V.A. 1989. Estudo da vegetação relacionada com a alimentação

- do "pacu" (*Colossoma mitrei* - Berg, 1895) no Pantanal Mato-Grossense. *Acta Bot. Bras.* (suplemento), 2: 73-96.
- PEARSON, D. 1973. *Laboratory techniques in food analysis* p. 27-77. John Wiley & Sons, New York.
- PEZZATO, L.E. 1990. Efeito de diferentes níveis de gordura de origem animal e vegetal sobre o desempenho e deposição de ácidos graxos em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Tese de Doutorado, 102p. Fac. Ciên. Agr. Veter., UNESP, Jaboticabal, São Paulo.
- PHILIPPART, J.-CL. & RUWET, J.-CL. 1982. Ecology and distribution of tilapias. In: Pullin, R.S.V. and Lowe-McConnell, R.H. eds., *The biology and culture of tilapias*. ICLARM Conference Proceedings 7, p. 15-59. ICLARM, Manila.
- PÖRSCHMANN, J.; WELSCH, T.; HERZSCHUH, R.; ENGEWALD, W. & MÜLLER, K. 1982. Analysis of fatty acids by combined application of chemical chromatographic and spectroscopic methods. *J. Chromatog.*, 241: 73-87.
- REISER, R.; STEVENSON, B; KAYAMA, M.; CHOUDHURY, R.B.R. & HOOD, D.W. 1963. The influence of dietary fatty acids and environmental temperature on the fatty acid composition of teleost fish. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 40: 507-13.
- ROUSER, G.; KRITCHEVSKY, G.; SIMON, G. & NELSON, G.J. 1967. Quantitative analysis of brain and spinach leaf lipids employing silicic acid column chromatography and acetone for elution of glycolipids. *Lipids*, 2: 37-40.
- RYHAGE, R. & STENHAGEN, E. 1960. Mass spectrometry in lipid research. *J. Lipid Res.*, 1: 361-90.
- RYHAGE, R. & STENHAGEN, E. 1963. Mass spectrometry of long-chain esters. In: McLafferty, F.W., ed., *Mass Spectrometry of Organic Ions*, p. 399-452. Academic Press, New York.



- SAINT-PAUL, U. 1984. Investigations on the seasonal changes in the chemical composition of liver and condition from a neotropical characoid fish *Colossoma macropomum* (Serrasalminidae). *Amazoniana*, **IX**: 147-58.
- SANTIAGO, C.B. & LOVELL, R.T. 1988. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. *J. Nutrition*, **118**: 1540-46.
- SANTOS, G.M.dos. 1986/87. Composição do pescado e situação da pesca no Estado de Rondônia. *Acta Amazonica* (suplemento), **16/17**: 43-84.
- SASAKI, S.; OTA, T. & TAKAGI, T. 1989. Composition of fatty acids in the lipids of masu salmon and pink salmon, and latter canned flesh. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**: 1655-60
- SATOH, S.; TAKEUCHI, T. & WATANABE, T. 1984. Effects of starvation and environmental temperature on proximate and fatty acid composition of *Tilapia nilotica*. *Bull. Jap. Soc. Sci Fish.*, **50**: 79-84.
- SATOH, S.; POE, W.E. & WILSON, R.P. 1989. Studies on the essential fatty acid requirement of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, **79**: 121-28.
- SGARBIERI, V.C. 1987. *Alimentação e Nutrição: Fator de saúde e desenvolvimento*, p.19 e 243. Ed. UNICAMP/ALMED, Campinas, São Paulo.
- SHEWFELT, R.L. 1981. Fish muscle lipolysis - A review. *J. Food Biochem.*, **5**: 79-100.
- SILVA, A.J. 1987. Aspectos da alimentação do pacu adulto, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895) (*Pisces, Characidae*), no pantanal de Mato Grosso. Tese de Mestrado, 118 p. UFRJ, Rio de Janeiro, RJ.
- SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C. & MORRIL, T.C. 1979. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*, 3a. ed., p. 4-64. Editora Guanabara Dois S.A., Rio de Janeiro, RJ.
- SIMPSON, R.J.; NEUBERGER, M.R. & LIU, T. -Y. 1976. Complete amino acid analysis of proteins from a single hydrolysate. *J. Biol. Chem.*, **251**: 1936-40.

- SINCLAIR, A.J.; O'DEA, K. & NAUGHTON, J.M. 1983. Elevated levels of arachidonic acid in fish from northern Australian coastal waters. *Lipids*, **18**: 877-881.
- SKIPSKI, V.P. & BARCLAY, M. 1969. Thin-layer chromatography of lipids. In: Lowenstein, J.M. ed., *Methods in enzymology*, vol. **XIV**, p. 530-98. Academic Press, London.
- SLOVER, H.T. & LANZA, E. 1979. Quantitative analysis of food fatty acids by capillary gas chromatography. *J. Assoc. Off Anal. Chem.*, **56**: 933-43.
- SMITH, L.M. 1961. Quantitative fatty acid analysis of milk fat by gas-liquid chromatography. *J. Dairy Sci.*, **44**: 607-22.
- SPIES, J.R. 1967. Determination of tryptophan in proteins. *Anal. Chem.*, **39**: 1412-16
- STEFFENS, W. 1987. *Principios fundamentales de la alimentación de los peces*, p. 51. Editorial ACRIBIA, S.A., Zaragoza.
- SUZUKI, H.; OKAZAKI, K.; HAYAKAWA, S.; WADA, S. & TAMURA, S. 1986. Influence of commercial dietary fatty acids on polyunsaturated fatty acids of cultured freshwater fish and comparison with those of wild fish of the same species. *J. Agric. Food Chem.*, **34**: 58-60.
- SUZUKI T.; HIRANO, T. & SHIRAI, T. 1990. Distribution of extractive nitrogenous constituents in white and dark muscles of fresh-water fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, **96B**: 107-11.
- TAKEUCHI, T.; SATOH, S. & WATANABE, T. 1983 Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **49**: 1127-34.
- TESHIMA, S.-i; KANAZAWA, A. & UCHIYAMA, Y. 1986. Effect of several protein sources and other factors on the growth of *Tilapia nilotica*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **52** 525-30.

- TOCHER, D.R. & SARGENT, J.R. 1984. Analysis of lipids and fatty acids in ripe roes of some northwest European marine fish. *Lipids*, **19**: 492-499.
- TRAITLER, H. 1987. Recent advances in capillary gas chromatography applied to lipid analysis. *Prog. Lipid Res.*, **26**: 257-80.
- TREWAVAS, E. 1982. Tilapias: Taxonomy and speciation. In: Pullin, R.S.V. and Lowe-McConnell, R.H. eds., *The biology and culture of tilapias*. ICLARM Conference Proceedings 7, p.3-13. ICLARM, Manila.
- UMEMOTO, S. 1972. Fundamentals of chemical experiments. In: Okada, M.; Hirao, S.; Noguchi, E.; Suzuki, T. & Yokosuki, M. eds., *Utilization of marine products*, p. 147-158. Overseas Technical Cooperation Agency, Tokyo.
- van den THILLART, G. & de BRUIN, G. 1981. Influence of environmental temperature on mitochondrial membranes. *Biochem. Biophys. Acta*, **640**: 439-47.
- van der STEEGE, G.; MUSKIET, F.A.J.; MARTINI, I.A.; HUTTER, N.H. & BOERSMA, E.R. 1987. Simultaneous quantification of total medium-and long-chain fatty acids in human milk by capillary gas chromatography with split injection. *J. Chromatog.*, **415**: 1-11.
- VANNIEUWENHUYZE, F. & SANDRA, P. 1987. Selectivity optimization for the capillary gas chromatographic analysis of bacterial cellular fatty acids. *Chromatographia*, **23**: 850-55.
- VIOLA, S.; MOKADY, S.; BEHAR, D. & COGAN, U. 1988. Effects of polyunsaturated fatty acids in feeds of tilapia and carp. 1. Body composition and fatty acid profiles at different environmental temperatures. *Aquaculture*, **75**: 127-137.
- VLIEG, P. & BODY, D.R. 1988. Lipid contents and fatty acid composition of some New Zealand freshwater finfish and marine finfish, shellfish, and roes. *New Zealand J. Mar. Fresh. Res.*, **22**: 151-62.

- WAINWRIGHT, M.S.; HAKEN, J.K. & SRISUKH, D. 1982. Linearity of plots of gas chromatographic retention data for oxygen - containing organic compounds on porous polymers. *J. Chromatog.*, **236**: 1-9.
- WANG, Y.J.; MILLER, L.A.; PERREN, M. & ADDIS, P.B. 1990. Omega-3 fatty acids in Lake Superior fish. *J. Food Sci.*, **55**: 71-73, 76
- WATANABE, T. 1982. Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, **73B**: 3-15.
- WATANABE, T.; KOBAYASHI, I.; UTSUE, O. & OGINO, C. 1974a. Effect of dietary methyl linolenate on fatty acid composition of lipids in rainbow trout. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **40**: 387-92.
- WATANABE, T.; OGINO, C.; KOSHIISHI, Y. & MATSUNAGA, T. 1974b. Requirement of rainbow trout for essential fatty acids. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **40**: 493-99.
- WATT, P.W.; MARSHALL, P.A.; HEAP, S.P.; LOUGHNA, P.T. & GOLDSPIK, G. 1988. Protein synthesis in tissues of fed and starved carp, acclimated to different temperatures. *Fish Physiol. Biochem.*, **4**: 165-73.
- WEIHRAUCH, J.L. & SON, Y.S. 1983. The phospholipid content of foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **60**: 1971-78.
- WILSON, R.P. & COWEY, C.B. 1985. Amino acid composition of whole body tissue of rainbow trout and Atlantic salmon. *Aquaculture*, **48**: 373-76.
- WILSON, R.P. & POE, W.E. 1985. Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **80B**: 385-88.
- WOODFORD, F.P. & van GENT, C.M. 1960. Gas-liquid chromatography of fatty acid methyl esters: the "carbon-number" as a parameter for comparison of columns. *J. Lip. Res.*, **1**: 188-90.

- WU, T.C. & SHELDON, B.W. 1988. Influence of phospholipids on the development of oxidized off flavors in cooked turkey rolls. *J. Food Sci.*, **53**: 55-61.
- YAMADA, M. & HAYASHI, K. 1975. Fatty acid composition of lipids from 22 species of fish and mollusk. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **41**: 1143-52.
- YU, T.C. & SINNHUBER, R.O. 1972. Effect of dietary linolenic acid and docosahexaenoic acid on growth and fatty acid composition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Lipids*, **7**: 450-54.
- YU, T.C. & SINNHUBER, R.O. 1975. Effects of dietary linolenic and linoleic acids upon growth and lipid metabolism of rainbow trout (*salmo gaindneri*). *Lipids*, **10**: 63-66.
- ZEMAN, von A. & SCHARMANN, H. 1972. Massenspektrometric von lipiden (eine zusammenfassung) I. *Fette seifen Anstrichmittel*, **74**: 509-19.

# ANEXO 1

## PROCEDIMENTO PARA METILAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS

(adaptação dos métodos de Metcalfe *et al.*, 1976 e Hartman e Lago, 1973)

### 1. REAGENTES E MATERIAIS

1.1. Solução 0,5N NaOH em metanol (MeOH) p.a.

1.2. Solução  $\text{NH}_4\text{Cl-H}_2\text{SO}_4\text{-MeOH}$  (reagente esterificante)

- 10g de cloreto de amônio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) são adicionados a 300ml de MeOH, seguido por 15ml de ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) (adicionar em pequenas porções, com agitação manual). (Usar um balão de fundo redondo e boca esmerilhada).
- adaptar o balão a um condensador de água (de preferência Liebig) e refluir a mistura até dissolução total de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (15-20min.), usando um sistema de aquecimento (chapa, manta, etc.) com reostato para controlar a taxa de aquecimento, que deve ser estabilizada quando iniciar a ebulição da mistura. O reagente é estável por várias semanas.

1.3. Solução saturada de NaCl.

1.4. Hexano.

1.5. Sistema de aquecimento para obter água em ebulição.

1.6. Tubo de ensaio de 17ml (Pyrex nº 9825) com tampa rosqueável, que evite vazamentos.

## 2. PROCEDIMENTO

- Pesar entre 30-100mg de amostra dentro do tubo de ensaio (isenta de solvente) (não é necessário conhecer o peso exato, mas é recomendado uma certa padronização do peso nas várias amostras).
- adicionar 4ml da solução 0,5N de hidróxido de sódio em metanol
- fechar bem o tubo de ensaio (evitar vazamento) e aquecer em banho de água em ebulição até dissolver os glóbulos de gordura e a solução ficar transparente (3-5min.). Se necessário, agitar ocasionalmente o tubo.
- esfriar o tubo sob água corrente, o mais rápido possível.
- adicionar 5ml do reagente esterificante, fechar e agitar o tubo de ensaio.
- aquecer em banho de água fervente por 5 minutos.
- esfriar o tubo sob água corrente, o mais rápido possível.
- adicionar 4ml de solução saturada de cloreto de sódio. Agitar com força por 30 segundos.
- adicionar 5ml do solvente (hexano, éter de petróleo, etc.) e agitar com força por 30 segundos.
- deixar em repouso. O sobrenadante (ésteres metílicos) será usado para injetar no cromatógrafo. Se não for injetar imediatamente, é aconselhável colocar o sobrenadante dentro de frasco escuro bem fechado e guardar em "freezer" até uso.



## ANEXO 2

Composição percentual de ácidos graxos de lipídios totais da ração de manutenção fornecida aos peixes provenientes de Pirassununga, São Paulo<sup>1</sup>.

Pico nº	Ácido graxo	média ± dp	Pico nº	Ácido graxo	média ± dp
4	12:0	tr	45	18:0	2,9 ± 0,1
7	13:0	tr	47	18:1n9	25,0 ± 0,2
10	14:0	1,4 ± 0,1	52	18:2n6	44,8 ± 0,1
13	14:1n5	tr	54	18:3n6	0,1
14	i-15:0	tr	58	18:3n3	2,6 ± 0,0
17	15:0	0,3 ± 0,0	59	18:4n3	tr
18	15:1n9	tr	63	20:0	0,3 ± 0,1
20	i-16:0	tr	65	20:1n9	0,4 ± 0,0
23	16:0	19,0 ± 0,8	70+71	20:2n6+20:3n9	tr
25	16:1n7	1,6 ± 0,0	75	20:4n6	tr
32	16:2n4	0,1 ± 0,0	79	20:5n3	0,1 ± 0,1
34	17:0	0,3 ± 0,0	80	22:0	0,3 ± 0,1
36	17:1n9	0,1 ± 0,0	92	22:6n3	0,4 ± 0,2
38	16:3n3	tr	94	24:1n9	tr
42	17:2n5	tr			

<sup>1</sup> Os valores são médias e desvios padrões de uma determinação realizada em duplicata, da ração descrita em Material e Métodos.

Abreviaturas: dp - desvio padrão; tr - traço.

### ANEXO 3

Composição em aminoácidos da ração de manutenção fornecida aos peixes provenientes de Pirassununga, São Paulo<sup>1</sup>.

Aminoácido	gAA/16gN
Ácido aspártico	14,8
Treonina	5,0
Serina	4,1
Ácido glutâmico	27,4
Prolina	8,1
Glicina	8,0
Alanina	8,0
1/2 Cistina	tr
Valina	8,7
Metionina	2,3
Isoleucina	7,1
Leucina	11,1
Tirosina	3,7
Fenilalanina	7,3
Histidina	3,9
Lisina	8,7
Arginina	9,3
Amônia	4,0

<sup>1</sup> Os valores foram obtidos de uma determinação, na ração descrita em Material e Métodos.

Abreviaturas: gAA/16gN - grama de aminoácido por 16 gramas de Nitrogênio;  
tr - traço.