



PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS EM TILÁPIAS DESAFIADAS COM FUMONISINAS

Gabriel Roldi Geraldo¹, Bruno Meneguim Artacho², Stefania Caroline Claudino da Silva³, Bruno Lala⁴, Eliane Gasparino⁵

RESUMO: A micotoxina fumonisina é produzida durante o metabolismo secundário dos fungos *Fusarium verticillioides* e *Fusarium proliferatum* e pode causar diversos danos à saúde, levando o animal à morte, dependendo dos níveis de contaminação e tempo de exposição à toxina. A ação da fumonisina envolve a ação direta sobre a mucosa intestinal, além da alteração da síntese de ceramida pelo bloqueio enzimático da ceramida sintase, promovendo desta forma, redução na síntese de esfingolipídios complexos e acúmulo e precursores metabólicos. Os danos à mucosa intestinal e o acúmulo de intermediários esfingóides pode causar alteração nutricionais na carcaça dos animais, como aumento dos ácidos graxos saturados e redução dos ácidos graxos insaturados na carcaça, por meio de menor absorção de nutrientes oriundos da alimentação e do acúmulo de palmitoil CoA. Um estudo realizado no Brasil com amostras de ração oriundas de fazendas de tilápias-do-Nilo demonstrou contaminação por fumonisina B1 em 98% das amostras avaliadas representando um grande risco a estes animais, e os tornando um grupo alvo para estudos. Deste modo, esta pesquisa tem como objetivo avaliar o perfil dos ácidos graxos insaturados no músculo de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com níveis crescentes de fumonisina. O perfil dos ácidos graxos saturados foi analisado por cromatografia gasosa e os resultados avaliados por análise de variância utilizando o software SAS, a 5% de probabilidade. O consumo de níveis crescentes de fumonisina promoveu alteração na maioria dos ácidos graxos avaliados na carcaça de alevinos de tilápia-do-Nilo.

PALAVRAS-CHAVE: Micotoxinas, lipídios, peixes.

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mais*) possui grande participação na alimentação animal como matéria-prima básica na formulação de diversas rações, e a qualidade destes grãos depende de diversos fatores. A micotoxina fumonisina é produzida durante o metabolismo secundário dos fungos *Fusarium verticillioides* e *Fusarium proliferatum* (Turner et al., 1999). Estudos recentes têm demonstrado que as fumonisina promovem alterações no epitélio intestinal, causando fusão, atrofia e redução da altura das vilosidades intestinais em suínos, e em casos mais severos, promove necrose na túnica média de artérias e veias na camada muscular do intestino. Danos ao epitélio intestinal têm sido frequentemente associados à redução de absorção de nutrientes, e mudança no perfil nutricional na carcaça de animais (Diestel et al., 2012).

Ácidos graxos poli-insaturados, principalmente o linoleico (18:2n-6, AL) e o alfa-linolênico (18:3n-3, AAL) são considerados essências, pois sua síntese ocorre em baixas quantidades sendo necessária sua ingestão na alimentação (Youdim et al., 2000). São de extrema importância para o correto funcionamento de diversas atividades biológicas e para a manutenção das propriedades físicas da membrana (Ehringer et al., 1990).

É possível que o consumo de níveis crescentes de fumonisinas por alevinos de tilápia-do-Nilo promova alterações na mucosa intestinal, e conseqüentemente, má absorção de ácidos graxos pelo epitélio intestinal. Além disso, é provável que os níveis de fumonisina absorvidos alterem o metabolismo intracelular dos ácidos graxos insaturados, uma vez que fumonisinas afetam a biossíntese de esfingolipídios por meio da ruptura na bioconversão das bases esfingóides, com provável acúmulo de palmitoil CoA e, consecutivamente, ácido palmítico (16:0), que atua como precursor dos ácidos graxos naturais saturados e insaturados de cadeias mais extensas (Vianni et al, 1996).

Deste modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar o perfil de ácidos graxos insaturados na carcaça de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), desafiados com níveis crescentes de fumonisina

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos neste experimento foram realizados de acordo com regulamento da comissão de ética no uso de animais (CEUA - UniCesumar).

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquicultura em parceria com a Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá – PR. Foram utilizados 180 alevinos revertidos sexualmente para macho, pertencentes ao grupo genético GIFT x Tailandesa, com peso inicial de aproximadamente 2,5g. Os peixes foram distribuídos em



três caixas de fibrocimento com volume útil de 870L cada, com sistema individual de renovação da água (15 %/dia) e aeração constante por meio de pedra porosa acoplada a um soprador central. Em cada tanque foram introduzidos quatro hapas totalizando 12 unidades experimentais com quatro tratamentos e três repetições. Cada hapa continha um volume individual de 217,50L onde foram alojados 15 peixes, totalizando 14,5 L/peixe. Os peixes passaram por um período de adaptação de 15 dias antes do início do experimento.

A temperatura foi aferida duas vezes ao dia em cada tanque, às 9:00 e 17:00 horas. As variáveis oxigênio dissolvido e pH foram aferidas pela manhã durante todo o experimento por meio de kit individual colorimétrico.

Foram elaboradas quatro dietas isocalóricas (aproximadamente 3000 kcal de energia digestível ED/kg de dieta) e isoprotéicas (aproximadamente 33% de proteína bruta), variando apenas quanto à inclusão de diferentes níveis de fumonisina B1 (6,06mg de toxina/g de meio) + fumonisina B2 (1,35mg de toxina/g de meio). O meio de cultura foi obtido e laudado pelo laboratório de análises micotoxicológicas – LAMIC, da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM. As dietas foram elaboradas considerando a concentração de FB1 + FB2, totalizando uma concentração de 7,41mg de toxina/g de meio.

Foram formados quatro grupos experimentais: GRUPO 1 – dieta controle com 0,0 mg de inclusão de FB/kg de ração, GRUPO 2 - 20 mg de inclusão de FB/kg, GRUPO 3 - 40 mg de FB/kg e GRUPO 4 - 60 mg de inclusão de FB/kg. As concentrações de fumonisina na dieta foram avaliadas por análise laboratorial. A dieta foi peletizada, seca em estufa de ventilação forçada a 55°C por 48 horas, desintegrada em moedor manual, as partículas foram classificadas de acordo com a granulometria (1 a 2mm) e distribuída manualmente três vezes/dia até saciedade aparente

Para análise de perfil de ácidos graxos foram utilizadas as carcaças inteiras evisceradas de todos os animais. A extração de lipídios totais das amostras foi realizada utilizando a técnica a frio descrita por Bligh & Dyer (1959). Para transesterificação dos triacilgliceróis, as amostras foram submetidas à técnica de Hartman & Lago (1973).

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados por cromatografia gasosa (Cromatógrafo Trace GC Ultra, Thermo Scientific, EUA) em auto-amostrador, equipado com detector de ionização de chama a 240 °C e coluna capilar de sílica fundida (100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,20 µm, Restek 2560). O fluxo de gases foi de 1,5 mL min⁻¹ de H₂ (gás de arraste), 30 mL min⁻¹ para N₂ (gás auxiliar) e 35 e 350 mL min⁻¹, respectivamente, para o H₂ e ar sintético (gases para chama). A temperatura inicial da coluna foi estabelecida em 65 °C, mantida por 8 minutos, elevada até 170 °C a uma taxa de 50 °C min⁻¹, mantida por 40 minutos, chegando a 240 °C de temperatura final, sendo elevada a uma taxa de 50 °C min⁻¹ e mantida por 28,5 minutos. A quantificação dos ácidos graxos da amostra foi efetuada por comparação com o tempo de retenção de ésteres metílicos de ácidos graxos de amostras padrões (Sigma Aldrich).

A identificação dos ácidos graxos foi efetuada através da comparação dos tempos de retenção com padrões Sigma (EUA), e o cálculo das áreas dos picos determinadas através do software Clarity Lite versão 2.4.1.91. A quantificação destes em mg g⁻¹ de lipídios totais foi efetuada em relação ao padrão interno, tricosanoato de metila (Sigma).

Para avaliar o perfil dos ácidos graxos, os dados provenientes da análise foram linearizados, avaliados usando o procedimento REG Statement (SAS Inst. Inc., Cary, NC, EUA) para avaliar a existência ou não do efeito de regressão. Os resultados foram expressos como médias e desvios-padrão

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Consumo de fumonisinas pelas tilápias alterou a concentração de alguns ácidos graxos insaturados, como demonstrado na tabela 1.

Tabela 1: Perfil de ácidos graxos na carcaça de alevinos de tilápia do Nilo consumindo níveis crescentes de fumonisina.

	Ácidos Graxos Monoinsaturados							
	0,0 mg FB/kg		20 mg FB/kg		40 mg FB/kg		60 mg FB/kg	
C14:1**	0.25	± 0.012	0.05	± 0.004	0.05	± 0.0029	0.07	± 0.005
C15:1**	0.06	± 0.006	0.06	± 0.007	0.08	± 0.0076	0.09	± 0.008
C16:1**	2.03	± 0.066	2.00	± 0.004	2.00	± 0.0306	1.82	± 0.028
C17:1n7**	0.99	± 0.136	0.19	± 0.009	1.32	± 0.0429	1.22	± 0.104
C18:1n9**	24.78	± 0.527	23.27	± 0.287	23.97	± 0.1373	24.14	± 0.195
C20:1*	1.23	± 0.043	1.28	± 0.045	1.24	± 0.0470	1.16	± 0.078
C22:1n9**	1.64	± 0.024	1.56	± 0.024	1.65	± 0.0314	1.70	± 0.030
C24:1**	0.12	± 0.003	0.11	± 0.003	0.11	± 0.0036	0.13	± 0.004



Ácidos Graxos Poliinsaturados

N3

C18:3n3 ^{ns}	1.58 ± 0.060	1.54 ± 0.047	1.70 ± 0.0479	1.59 ± 0.086
C20:3n3 ^{**}	0.05 ± 0.006	0.06 ± 0.008	0.06 ± 0.0023	0.07 ± 0.005
C20:3n3 ^{ns}	0.06 ± 0.004	0.05 ± 0.004	0.06 ± 0.0023	0.07 ± 0.005
C20:5n3 ^{**}	4.70 ± 0.111	4.55 ± 0.152	5.06 ± 0.1264	5.52 ± 0.132
C22:6n3 ^{**}	2.14 ± 0.112	2.08 ± 0.085	2.48 ± 0.0723	2.72 ± 0.038

N6

C18:2n6t*	0.23 ± 0.039	0.24 ± 0.046	0.15 ± 0.0278	0.11 ± 0.004
C18:2n6c*	0.56 ± 0.070	0.53 ± 0.025	0.50 ± 0.0068	0.50 ± 0.034
C18:3n6*	22.04 ± 0.838	21.39 ± 0.339	22.35 ± 0.7415	21.75 ± 0.049
C20:3n6*	0.21 ± 0.011	0.21 ± 0.007	0.20 ± 0.0055	0.20 ± 0.008
C20:4n6 ^{ns}	0.35 ± 0.009	0.35 ± 0.011	0.36 ± 0.0102	0.36 ± 0.009

Dados expressos em função da média e desvio padrão.

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 = p < .05$). ns não significativo ($p \geq .05$)

REFERÊNCIAS

BLIGH, M. E. G. & DYER, W. G. (1959). Can. J. Biochem. Physiol. 37, 91 I.

DIESTEL, Cristina; DOS SANTOS, Mariana; ROMI, Marcela. Tratamento Nutricional nas Doenças Inflamatórias Intestinais. Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto, v. 11, n. 4, 2012..

EHRINGER, William et al. A comparison of the effects of linolenic (18: 3Ω3) and docosahexaenoic (22: 6Ω3) acids on phospholipid bilayers. Chemistry and physics of lipids, v. 54, n. 2, p. 79-88, 1990.

HARTMAN, L., LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. Laboratory Practice, London, v.22, p.475-476, 1973.

TURNER, P. C.; NIKIEMA, P.; WILD, C. P. Fumonisin contamination of food: progress in development of biomarkers to better assess human health risks. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, v. 443, n. 1, p. 81-93, 1999.K.A.

VIANNI, R. et al. Ácidos graxos naturais: Importância e ocorrência em alimentos. Química Nova, 19 (4) 1996.

YOUDIM, A. MARTIN, J.A. JOSEPH. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. Int. J. Dev. Neurosci., 18 (2000), pp. 383–399.