



## PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS EM TILÁPIAS DESAFIADAS COM FUMONISINAS

Bruno Meneguim Artacho<sup>1</sup>, Gabriel Roldi Geraldo<sup>2</sup>, Bruno Lala<sup>3</sup>; Eliane Gasparino<sup>4</sup>,  
Stefania Caroline Claudino da Silva<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Acadêmico do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR. Maringá-PR. Bolsista PIBIC/CNPq-UniCesumar. bruno.artacho@hotmail.com

<sup>2</sup> Acadêmico do Curso de Biomedicina, UNICESUMAR

<sup>3</sup> Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá-PR.

<sup>4</sup> Docente do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – UEM

<sup>5</sup> Docente do Departamento de Medicina Veterinária, UNICESUMAR

### RESUMO

Nos últimos anos tem-se buscado investigar a qualidade sanitária de grãos destinados alimentação animal e humana, identificando possíveis problemas, como a presença de fungos. A micotoxina fumonisina é produzida durante o metabolismo secundário dos fungos *Fusarium verticillioides* e *Fusarium proliferatum* e pode prejudicar as funções do sistema imunológico, causar edemas pulmonares, lesões no fígado e rins, levando o animal à morte, dependendo dos níveis de contaminação e tempo de exposição à toxina. A ação das fumonisinas envolve a alteração da síntese de ceramida pelo bloqueio enzimático da ceramida sintase, promovendo desta forma, redução na síntese de esfingolípídios complexos e acúmulo e precursores metabólicos. Este acúmulo de intermediários pode causar alteração dos ácidos graxos saturados na carcaça, por meio 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. Deste modo, esta pesquisa tem como objetivo avaliar o perfil dos ácidos graxos saturados no músculo de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com níveis crescentes de fumonisina. O perfil dos ácidos graxos saturados será analisado por cromatografia gasosa e os resultados avaliados por análise de variância utilizando o software SAS, a 5% de probabilidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ácido hexadecanoico; ácido Palmítico; lipídios; micotoxinas; peixes.

## 1 INTRODUÇÃO

As Fumonisinas, micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium*, são contaminantes naturais presentes nas diversas culturas de grãos, destacando-se o milho e seus derivados, espalhados ao redor de todo o mundo (JACKSON & JABLONSKI, 2004). No milho, apresentam-se principalmente nas séries FB1, FB2 e FB3, sendo a primeira a mais tóxica e prevalente dentre as amostras de cereais analisadas (SYDENHAM et al., 1991). Seu efeito tóxico foi associado ao surgimento de diversas patologias como câncer esofágico (MUNKVOLD et al., 1997) e hepático (UENO et al., 1997). O mecanismo de ação das fumonisinas está diretamente relacionado à redução na biossíntese de esfingolípídios, ao inibir as enzimas esfinganina e esfingosina N-acetiltransferase (ceramida sintetase); elevando a concentração intracelular de esfinganina e de outros metabólitos. (WANG et al., 1991). Em tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), peixes cuja nutrição é comumente constituída por rações derivadas de milho, acredita-se que a ingestão de fumonisinas possa alterar a síntese de ácidos graxos saturados, destacando-se o ácido palmítico (C16:0), que atua como



precursor dos ácidos graxos naturais saturados e insaturados de cadeias mais extensas (VIANNI et al., 1996). Frente ao exposto, este trabalho tem como objetivo avaliar o perfil dos ácidos graxos saturados na carcaça de tilápias desafiadas com níveis crescentes de fumonisinas.

## 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, durante os meses de junho/2015 e julho/2015. 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, em esquema fatorial 4 x 3. Cada hapa conteve 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 + fumonisinas B2. 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. 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. As concentrações de fumonisina na dieta foram posteriormente avaliadas por análise laboratorial. 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 e Dyer (1959). Para transesterificação dos triacilgliceróis, as amostras foram submetidas à técnica de Hartman and Lago (1973). Para análise estatística do perfil dos ácidos graxos saturados foi utilizado o procedimento REG Statement (SAS Inst. Inc., Cary, NC, EUA) para verificar o efeito de regressão.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

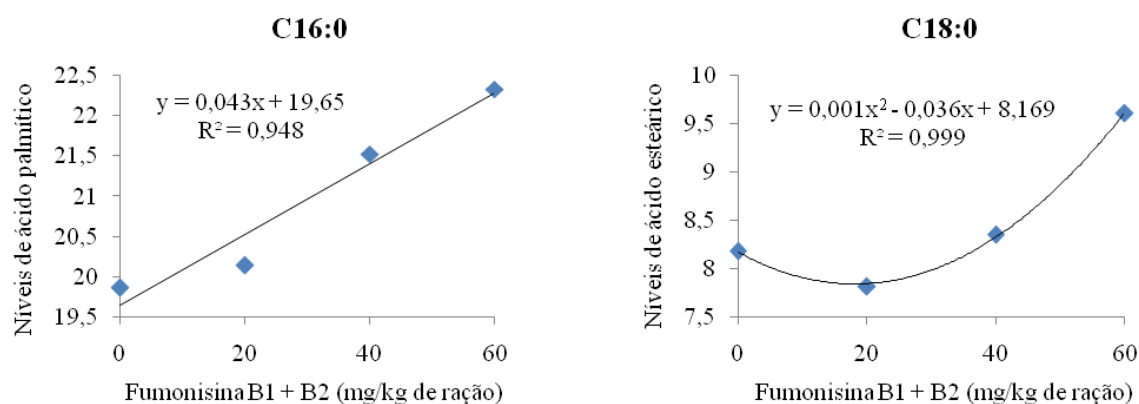
Após a identificação e realização do perfil dos ácidos graxos saturados (AGS) em tilápias da espécie *Oreochromis niloticus* desafiadas com níveis crescentes de fumonisinas (FB1 + FB2), observou-se aumento de forma geral dos níveis dos AGS (Tabela 1).



**Tabela 1:** Perfil de Ácidos Graxos Saturados (AGS) em tilápias desafiadas com diferentes níveis de fumonisinas

AGS	CONTROLE	FB (20mg)	FB(40mg)	FB(60mg)
C10:0	0,033	0,031	0,036	0,045
C13:0	0,021	0,018	0,022	0,053
C14:0	3,276	3,252	3,623	3,492
C15:0	2,956	1,017	1,099	1,414
C16:0	79,463	80,581	86,086	89,307
C17:0	1,862	1,784	2,137	2,503
C18:0	32,715	30,465	33,404	38,428
C21:0	4,378	4,488	4,692	4,752
C22:0	6,335	5,795	6,169	6,634
C24:0	0,076	0,073	0,157	0,262
<b>TOTAL</b>	<b>131,121</b>	<b>127,510</b>	<b>137,427</b>	<b>146,891</b>

A inclusão das fumonisinas na dieta das tilápias promoveu aumento significativo em diversos AGS, destacando-se o ácido palmítico (C16:0) com efeito linear, e o ácido esteárico (C18:0) com efeito quadrático (Gráfico 1).



**Gráfico 1:** Perfil de Ácidos Graxos Saturados C16:0 e C18:0 em tilápias-do-Nilo desafiadas com diferentes níveis de fumonisinas B1 + B2

Fumonisin são conhecidas por alterar o equilíbrio das bases esfingóides, esfinganina e esfingosina, por meio da inibição competitiva da enzima ceramida sintase. O acúmulo de esfinganina pode promover mudanças nas concentrações de ácido palmítico (C16:0), seu precursor natural (Figura 2).

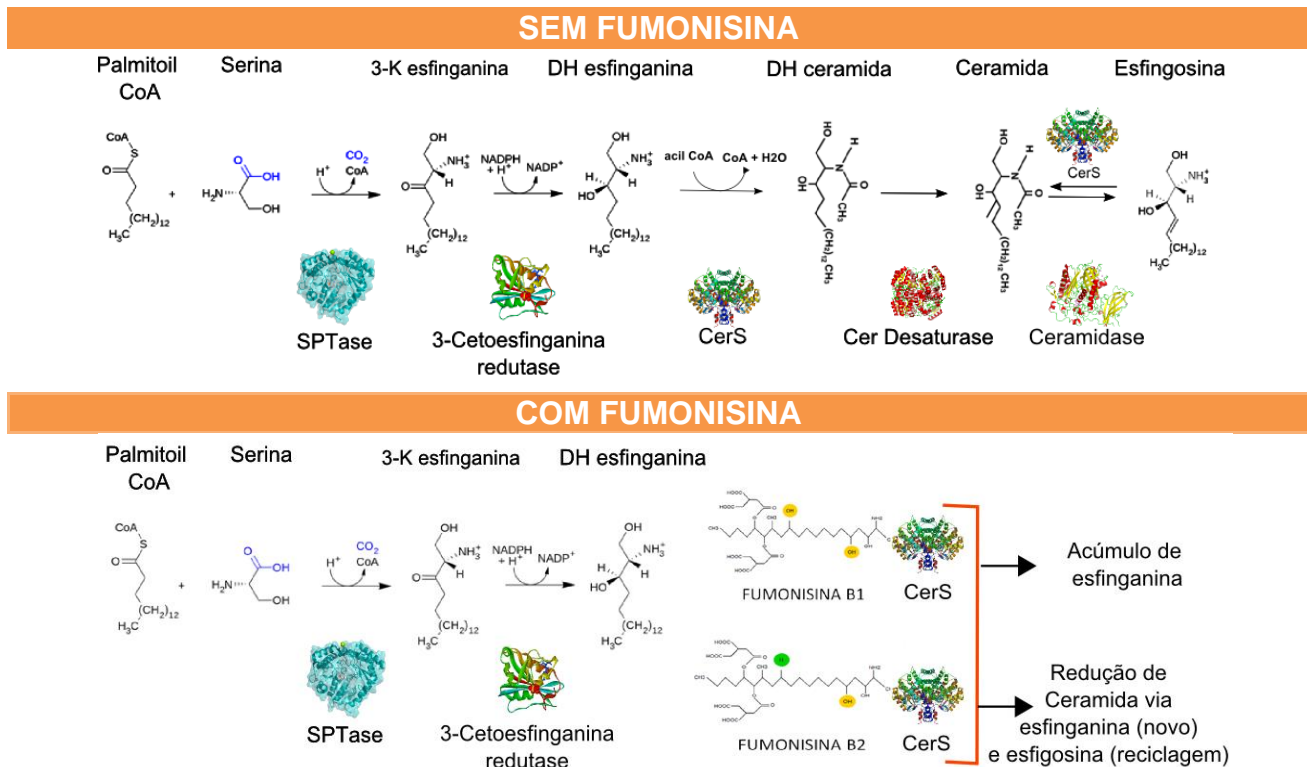


Figura 2. Mecanismos inibição de síntese de ceramida por fumonisinas.

Nesta pesquisa, a concentração de ácido palmítico foi aumentada nas carcaças de tilapia-do-Nilo desafiadas com fumonisina. Em condições normais, o processo de síntese dos ácidos graxos em células animais começa com a formação do intermediário malonil-CoA de três carbonos, pela ação da enzima acetil-CoA-carboxilase. A molécula de malonil é alongada pela enzima ácido-graxo sintase por meio de acilação até a formação do ácido palmítico, um ácido graxo de dezesseis carbonos que é então alongado para formar ácidos graxos de cadeia longa, ou liberado da enzima (Nelson & Cox, 2014). Gelderblom et al., 1996 avaliaram o efeito de dois níveis de fumonisina (150 e 50 µM) sobre a capacidade de incorporação de ácido palmítico em hepatócitos de ratos, e sugeriram que o acúmulo de ácido palmítico possa afetar o perfil de ácidos graxos, uma vez que o ácido palmítico é conhecido como um inibidor natural do complexo ácido graxo sintase (Goodridge 1972).

Gelderblom et al (1996) observaram aumento dos níveis de C16:0 na porção de fosfatidilcolina e diminuição significativa na incorporação deste ácido graxo na porção triglicéridica, sugerindo que fumonisinas podem alterar a mobilização dos ácidos graxos nas diferentes classes lipídicas. Semelhante ao observado por Gelderblom et al. (1996) para fosfatidilcolina, o desafio com fumonisinas promoveu aumento de C16:0 total na carcaça de alevinos de tilapia-do-Nilo desafiadas com níveis crescentes de fumonisina.

Os ácidos graxos ímpares C15:0 e C17:0 são naturalmente sintetizados por microrganismos através da elongação do propionato ou valerato, e por este motivo, geralmente encontrados em produtos de animais ruminantes (Kaneda, 1991). Neste estudo, os níveis de C15:0 na carcaça das tilápias foi significativamente reduzido enquanto C17:0 foi aumentado (de 0,47±0,035 para 0,63± 0,046) pela fumonisina da dieta, influenciando diretamente no conteúdo dos ácidos graxos saturados totais. Os níveis de C17:0 foram avaliados em tilapia-do-Nilo por Santos et al. (2007) que obtiveram um valor médio de 0,49 para este ácido graxo ao incluir ácido linoléico conjugado na



dieta. O aumento de ácidos graxos saturados de cadeia longa nos animais desafiados com fumonisinas pode representar perda em qualidade nutricional, dado que em humanos estão associados à processos trombogênicos (HOAK, 1994). Os níveis de ácido lignocérico (C24:0) aumentaram 243%, para o nível de FB 60mg, quando comparado ao grupo controle.

#### 4 CONCLUSÃO

Com base nos dados encontrados nesta pesquisa é possível concluir que fumonisinas aumentam a concentração de ácidos graxos saturados na carcaça de alevinos de tilapia-do-Nilo, com destaque para os ácidos graxos de cadeia longa, o que reduz a qualidade nutricional desta carcaça.

#### REFERÊNCIAS

BLIGH, M. E. G. & DYER, W. G. (1959). **A rapid method of total lipid extraction and purification.** Can. J. Biochem. Physiol. 37, 91 I.

DOS SANTOS, Lilian Dena et al. **Ácido linoléico conjugado (CLA) em dietas para tilápia-do-nilo: desempenho produtivo, composição química e perfil de ácidos graxos.** 2007.

GELDERBLOM, W. C. A., SMUTSS, C. M., ABEL S., SNYMAN S. D., CAWOOD M. E., VAN DER WESTHUIZEN L. and SWANEVELDER S. **Effect of Fumonisin B, on Protein and Lipid. Synthesis in Primary Rat Hepatocytes.** Food and Chemical Toxicology 34 (1996) 361-369

GOODRIDGE, Alan G. **Regulation of the activity of acetyl coenzyme A carboxylase by palmitoyl coenzyme A and citrate.** Journal of Biological Chemistry, v. 247, n. 21, p. 6946-6952, 1972.

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

HOAK, John C. **Stearic acid, clotting, and thrombosis.** The American journal of clinical nutrition, v. 60, n. 6, p. 1050S-1053S, 1994.

JACKSON, L.; JABLONSKI, J. Fumonisin. In: MAGAN, N.; OLSEN, M. **Mycotoxins in food.** Cambridge: Wood head, 2004. Cap.16, p.367-391.

KANEDA, TOSHI. **Iso-and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance.** Microbiological reviews, v. 55, n. 2, p. 288-302, 1991.

MUNKVOLD, G. P.; DESJARDINS, A. E. **Fumonisin in maize: can we reduce their occurrence?** Plant Disease, Saint Paul, v.81, n.6, p.556-565, jun.1997.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger: Princípios de Bioquímica.** 6º Ed. São Paulo: SARVIER. 2014.



SYDENHAM, E.W., GELDERBLOM, W.C.A., THIEL, P.G., et al. **Evidence for the natural occurrence of fumonisin B1 a mycotoxin produced by Fusarium moniliforme in corn.** J Agric Food Chem, v.39, p.2014-2018, 1991.

UENO, Y.; IJIMA, K.; WANG, S. D.; SUGIURA, Y.; SEKIJIMA, M.; TANAKA, T.; CHEN, C.; YU, S. Z. **Fumonisin as a possible contributory risk factor for primary liver cancer: a 3-year study of corn harvested in Haimen, China, by HPLC and ELISA.** Food and Chemical Toxicology, Oxford, v.35, p.1143-1150, 1997.

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

WANG, E., NORRED, W.P., BACON, C.W., et al. **Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins implications for diseases associated with Fusarium moniliforme.** J Biol Chem, v.266, p.1486-1490, 1991.