

ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE JUVENIS DO CAVALO MARINHO *HIPPOCAMPUS REIDI* (GINSBURG, 1993) PROVENIENTES DE ADULTOS ALIMENTADOS COM ARTEMIAS ADULTAS ALIMENTADAS COM DIFERENTES TIPOS DE ENRIQUECIMENTO

Suyana Karolyne Lino da Rocha¹; Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro²

¹Estudante do Curso de licenciatura em química -CCEN – UFPE; E-mail: suyanarocho@hotmail.com,

²Docente/pesquisador do Depto de Química Fundamental – CCEN – UFPE. E-mail: navarrix@uol.com.br.

Sumário: Este trabalho teve como objetivo de avaliar o perfil de ácidos graxos em proles de juvenis de *H. reidi* provenientes de genitores submetidos a diferentes tratamentos alimentares, um vez que o perfil de ácido graxos em cavalos marinho ainda é desconhecido. Foram analisados os dois tratamentos (A e B), não foi observado a presença de ácidos graxos na fração hexânica e na fração de diclorometano, nos dois tratamentos da fração de diclorometano foram observados ácidos graxos, no tratamento A foram 21 ácidos graxos dos quais 19 foram identificados, no tratamento B foram 22 dos quais 14 foram identificados. Os ácidos em que houve um aumento foram os ácido palmítico que aumentou de $13,4 \pm 2,78$ % para $23,4 \pm 1,10$ % na amostra proveniente do tratamento B. O ácido esteárico que passou de $13,4 \pm 0,25$ % para $16,1 \pm 0,48$ %. De acordo com a literatura os ácidos graxos essenciais são: ácido eicosapentanoico (EPA), ácido docosahexaenóico (DHA), ácido linoleico, ácido linolénico e ácido araquidónico (Sargent et al, 1999a, b; Fleeger, 2005). São de extrema importância para o sobrevivência e crescimento, porém os ácidos araquidônico, ácido eicosapentanoico (EPA) não apresentaram nenhuma diferença, os ácidos docosahexaenóico (DHA) e ácido linoleico diminuíram no tratamento B o que não era esperado já que este tratamento estava enriquecido com ácidos graxos, os ácidos palmítico e esteárico como vimos aumentou porém ainda não se encontra na literatura alguma importância desses ácidos para cavalos marinhos.

Palavras-chave: ácidos graxos, *H. reidi*, esterificação

INTRODUÇÃO

Os cavalos-marinhos são peixes ósseos do gênero Hippocampus (do grego hippos - cavalo e campus – monstro marinho) pertencentes à família Syngnathidae. Apresentando Algumas características que os tornam bastante vulneráveis, tornando-se atrativo ao comércio e com isso a degradação de seus habitats aliados aos seus aspectos biológicos, contribuem para o declínio de suas populações. (Osório, 2008). Segundo Figueiredo, J.L and Menezes, (1980), no Brasil, ocorrem duas espécies de cavalos-marinhos: Hippocampus reidi e Hippocampus erectus, sendo este um dos gêneros de peixes ornamentais marinhos mais comercializados e mais exportados (Neto, 2003). Sendo o Brasil um dos maiores exportadores, devido ao grande comércio irregular desta espécie é necessário criar áreas de proteção, porém o *H. reidi* é uma espécie considerada difícil de ser cultivada (Giwojna, 2002), pela baixa sobrevivência dos juvenis nos primeiros dias de vida (Scarratt, 1995). Alimentação é crucial para a baixa mortalidade, infelizmente pouco se sabe da biologia reprodutiva dos cavalos marinhos, mais alguns estudos mostraram que o perfil de ácidos graxos em ovos do cavalo marinho é semelhante à dieta dos reprodutores, pouco se sabe do

perfil de ácidos graxos em cavalos marinhos, nesse perspectiva o presente estudo teve como objetivo foi avaliar o perfil de ácidos graxos em proles juvenis de *H. reidi* proveniente de genitores submetidos a diferentes tratamentos alimentares, a fim de investigar melhores tratamentos para criação desses indivíduos em cativeiro.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Origem dos cavalos marinhos: As espécies de *Hippocampus reidi* foram coletados na ilha de Itamaracá, no canal de Santa Cruz, PE. A captura e manutenção de *H. reidi* foi aprovada pelo IBAMA/ICMBio conforme autorização número 15213-1 do Sistema de Autorização e informação em Biodiversidade – SISBIO.

1.2 Manutenção dos cavalos marinho: Os casais de cavalo marinho da espécie *H. reidi* foram mantidos no Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia (LACE) na UFPE em aquários de 100 L ligados a um sistema de recirculação de água marinha. As variáveis como temperatura, oxigênio dissolvido e pH da água foram analisadas durante uma vez ao dia (09:00h) com um aparelho multiparâmetro (YSI®). A salinidade foi aferida uma vez ao dia através de um refratômetro manual ótico, e a amônia total sendo aferida uma vez por semana, com um kit comercial (Labcon). Os cavalos marinhos foram alimentados com duas dietas diferentes (descritas do item 4.3), as quais foram ofertadas quatro vezes ao dia. O fundo do aquário foi sifonado diariamente.

1.3 Tratamentos com diferentes tipos de alimentos: Os cavalos marinhos foram devidamente alimentados quatro vezes ao dia *ad libitum* pelo período mínimo de um mês antes da primeira amostragem com duas dietas específicas diferentes, cada uma com um tipo de tratamento.

Tratamento A: Alimentados com adultos de *Artemia franciscana*;

Tratamento B: Alimentados com adultos de *A. franciscana* enriquecidas por três dias com uma emulsão de lipídios comercial (DC HDA Selco, INVE). Tratamento C (tratamento controle): foi analisado como parâmetro de controle os juvenis de reprodutores selvagens. Por esse motivo foi coletado machos “grávidos” de cavalo-marinho no Canal de Santa Cruz-PE, os mesmos foram levados ao laboratório para liberação da prole, logo após a liberação estes fizeram parte do plantel de reprodutores dos demais tratamentos.

1.4 Cultivo dos alimentos vivos: A *A. franciscana* dos tratamentos A e B foi cultivada durante todo o período no LACE. Os cistos foram hidratados durante uma hora em água doce, em seguida incubados em recipientes cilíndricos-cônicos transparentes com capacidade de 5 L de água do mar sob uma forte aeração e iluminação. Mantendo-se uma temperatura entre 26-30°C e a salinidade entre 30-35. Nestas condições, a eclosão dos náuplios geralmente ocorrem entre 20 a 24 horas após o início do processo. Após a separação, os cistos foram descartados e os náuplios lavados com água do mar para remoção de resíduos de incubação. Em seguida sendo colocados em um recipiente com 20 L de água do mar, onde permaneceram sendo alimentados por 15 a 18 dias com Culture Selco (INVE Aquaculture), fermento biológico e no caso do alimento B as artêmias foram enriquecidas três dias antes de serem ofertadas com DC DHA Selco (INVE). Ao término deste processo, as artêmias foram ofertadas aos reprodutores de cavalo marinho.

3.5 Análise da composição de ácidos graxos

3.5.1 Extração : O material biológico obtido no Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia (LACE) na UFPE foi levado para o laboratório de ecologia química (LEQ) na UFPE no Departamento de Química Fundamental. Para realizar a extração o material foi macerado, em seguida, uma solução contendo 4,5 ml de clorofórmio e metanol (2:1 v/v, 3,0 ml: 1,5 ml, respectivamente) foi adicionada. O material foi homogeneizado no ultrassom (BRANSON 3510) por 10 min e em seguida no vortex (modelo QL-901) por 2 min. Posteriormente, 0,83 mL de água destilada foi adicionada e misturada no vortex por 2 min. Para separação das fases, o material foi submetido à centrifugação por 10 min a 2000 rpm

(Bligh e Dyer, 1959), obtendo ao final um sistema bifásico. Para identificação dos lipídios totais a fase de clorofórmio foi coletada e transferida para um novo tubo de ensaio, em seguida um fluxo de nitrogênio foi utilizado a fim de evaporar o solvente e concentrar a amostra. O material foi mantido a -18°C e ressuspentido em 2 mL de clorofórmio para o processo de esterificação.

3.5.2 Esterificação : As amostras foram esterificadas utilizando-se o método de catalise ácida usando trifluoreto de boro (BF_3). Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram extraídos em um funil de separação, após a adição de 4 ml de heptano (Joseph e Ackman, 1992 apud Lima et al., 2013), coletando-se a fase orgânica. A água remanescente foi retirada pela adição de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4). Depois a amostra esterificada foi separada em coluna para obter somente os ácidos graxos.

3.5.3 Análise cromatográfica por CG-EM e GC dos ésteres metílicos de ácido graxo

Os ésteres metílicos foram analisados pela injeção de 1 μl da fase orgânica no cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massa (GC/EM) em um sistema quadrupolo Agilent 5975C Series CG-EM (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA), equipado com uma coluna apolar DB-5 (Agilent J&W; 60 m x 0.25 mm d.i., 0.25 μm espessura da película), realizado no laboratório de cromatografia do Departamento de Química Fundamental (DQF) da UFPE. Para a análise as condições do GC e GCMS foram ajustadas para as condições descritas no projeto de pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As frações hexânicas e de diclorometano de ambos os tratamentos A e B não revelaram a presença de ácidos graxos. Entretanto, 21 ácidos graxos foram encontrados nas frações de hexano:diclorometano do tratamento A, 19 foram identificados, no tratamento B foram encontrados 22 ácidos graxos, 14 foram identificados. Os seguintes ácidos graxos comuns nos dois tratamentos: ácido pentadecanóico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido linoleico, ácido elaidico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido nonadecanóico, ácido araquidônico, ácido araquídico, ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA). A maior diferença observada foi para a produção de ácido palmítico que aumentou de $13,4 \pm 2,78\%$ para $23,4 \pm 1,10\%$ na amostra proveniente do tratamento B. O ácido esteárico também se apresentou em maior quantidade passando de $13,4 \pm 0,25\%$ para $16,1 \pm 0,48\%$ no mesmo tratamento. Os ácidos margárico, elaidico, oleico, araquidônico e eicosapentaenoico (EPA), não apresentaram diferença de produção, em relação aos tratamentos, considerando o desvio padrão (Figura 1). Para os ácidos linoleico, araquídico e docosahexaenoico (DHA) houve queda de suas proporções do tratamento A para o tratamento B. Os ácidos graxos essenciais são o ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), ácido linoleico, ácido linolênico e ácido araquidônico (Sargent et al, 1999a, b; Fleeger, 2005). Estes ácidos graxos não podem ser sintetizados em quantidades suficientes por peixes e camarões, e devem ser adquiridos a partir de uma dieta. (Lilian C.M et al., 2013). Esses ácidos graxos são importantes, pois eles afetam a tolerância ao estresse, crescimento e sobrevivência de peixes e camarões, dessa forma a identificação de ácidos graxos essenciais é relevante porque a partir dela é possível verificar as necessidades nutricionais do organismo (Fleeger, 2005; Abjiboye et al, 2011;.. Drillet et al, 2011 apud Lima et al., 2013).

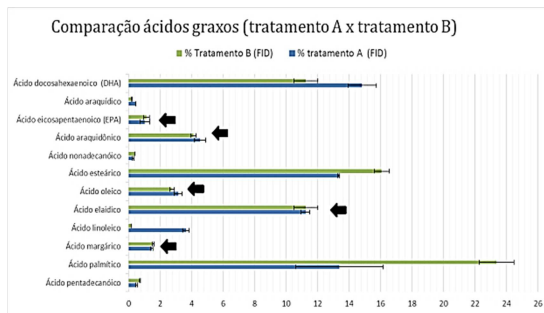


Figura 2: gráfico de comparação dos perfis de ácidos graxos presentes nos dois tratamentos, em porcentagem em massa. Seta preta indica os ácidos graxos que não variaram em suas proporções em relação aos tratamentos comparados.

O ácido DHA diminuiu no tratamento B, assim como o ácido linoleico, o que não foi esperado, já que a alimentação dos cavalos marinhos submetidos ao tratamento B foi enriquecida com emulsão de lipídios comercial (DC HDA Selco, INVE). Os ácidos palmíticos e esteárico aumentaram na amostra proveniente do tratamento B, porém a literatura não trata especialmente da importância desses ácidos para cavalos marinhos.

CONCLUSÕES

O tratamento B aumentou as proporções dos ácidos palmíticos e esteárico de forma bastante significativa. Os ácidos graxos essenciais foram identificados nos dois tratamentos, porém em quantidades diferentes, o DHA, por exemplo, apresentou uma maior proporção no tratamento A em relação ao tratamento B. Novas análises são necessárias para obtenção de replicatas e confirmação dos resultados obtidos, já que é esperado uma maior produção de ácidos graxos nos cavalos marinhos submetidos aos tratamentos alimentares enriquecidos

AGRADECIMENTOS

Ao laboratório de ecologia química e PROPESQ/UFPE e ao CNPq.

REFERÊNCIAS

- Ajiboye, O. O., Yakubu A.F., Adams T.E., Olajl E.D. and Nwogu E.D., 2011. A review of use of copepods in marine fish larviculture. *Rev. Fish Biol. Fisheries*, 21: 225-246.
- Drillet, G., N. O. G. Jorgensen, T. F. Sørensen, H. Ramløv & B. W. Hansen, 2006. Biochemical and technical observations supporting the use of copepods as live feed organisms in marine larviculture. *Aquac. Res.*, 37: 756-772.
- Figueiredo, J.L and Menezes, N. A. (1980). Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. III. Teleostei(2), Museu de Zoologia da Universidade São Paulo, 90.
- Giwojna, P., 2002. Ocean rider: a horse of a different color. *Freshwat Mar Aquar.* v 3, p122-150.
- Fleeger, J. W. 2005. The potential to mass-culture Harpacticoid copepods for use as food for larval fish. In: Lee, C S.; Bryen, P. J. O.; Marcus, N. H. (Eds.) *Copepods in aquaculture*. USA: Blackwell Publishing, pp. 11-24.
- Lima, L. C. M., Navarro D. M. A. F., and Souza-Santos L. P. (2013). Effect of diet on the fatty acid composition of the copepod *Tisbe biminiensis*. *Journal of Crustacean Biology*, 33(3), 372 – 381. doi:10.1163/1937240X-00002135
- Neto, C. M., Cunha L.P.R., and John A.M. (2003). Community structure of surf-zone fishes at cassino beach, Rio Grande do Sul, Brazil. *Journal of Research*, 35, 492-501.
- Osório, F. M. (2008). Population study of the seahorse *Hippocampus Reidi ginsburg*, 1933 (Teleostei: Syngnathidae) in two estuaries of Ceará. <http://www.teses.ufc.br/>. Retrieved from <http://www.repositorio.ufc.br/ri/handle/riufc/1363>
- Scarratt, A. M. 1995. Techniques for raising lined seahorses (*Hippocampus erectus*). *Aquarium Front* 3 (1), 24-29
- Sargent, J.; Bell, G.; McEvoy, L.; Tocher, D.; Estevez, A. 1999a. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177: 191-199.

Sargent, J.; McEvoy, L.; Estevez, A.; Bell, G.; Bell, M.; Henderson, J.; Tocher, D. 1999b. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture* 179: 217-229.