

CAROLINA ESTEVAM FERNANDES

Valor nutricional e perfil lipídico das espécies de peixes: cavala
(*Scomberomorus cavalla*), agulha-branca (*Hemiramphus brasiliensis*),
agulha-preta (*Hyporhamphus unifasciatus*) e sardinha-laje
(*Opisthonema oglinum*)

RECIFE
2014

Carolina Estevam Fernandes

Valor Nutricional e perfil lipídico das espécies de peixes: cavala
(*Scomberomorus cavalla*), agulha-branca (*Hemiramphus brasiliensis*),
agulha preta (*Hyporhamphus unifasciatus*) e sardinha-laje
(*Opisthonema oglinum*)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutor em Nutrição.

Orientadora: Profa. Dra. Leonie Asfora Sarubbo

Co-orientadora: Profa. Dra. Margarida Angélica Vasconcelos

Recife
2014

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

F363v

Fernandes, Carolina Estevam.

Valor nutricional e perfil lipídico das espécies de peixes: cavala (*Scomberomorus cavalla*), agulha-branca (*Hemiramphus brasiliensis*), agulha preta (*Hyporhamphus unifasciatus*) e sardinha-laje (*Opisthonema oglinum*) / Carolina Estevam Fernandes. – Recife: O autor, 2014.

76 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Leonie Asfora Sarubbo.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2014.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Ácidos graxos. 2. Cromatografia. 3. Peixes. I. Sarubbo, Leonie Asfora (Orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2014-078)

CAROLINA ESTEVAM FERNANDES

Valor nutricional e perfil lipídico das espécies de peixes: cavala (*Scomberomorus cavalla*), agulha-branca (*Hemiramphus brasiliensis*), agulha preta (*Hyporhamphus unifasciatus*) e sardinha-laje (*Opisthonema oglinum*).

Tese aprovada em: 11 de abril de 2014

BANCA EXAMINADORA:

Dr.^a Tânia Lúcia Montenegro Stamford/UFPE

Dr.^a Silvana Magalhães Salgado/UFPE

Dr.^a Samara Alvachian CardosoAndrade/UFPE

Dr.^a Jennyfer Medeiros Campos/UFPE

Dr.^a Thayza Christina Montenegro Stamford/UFPE

Recife-PE
2014

*Dedico este trabalho ao meu querido pai (em memória),
com todo meu amor.*

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, essa força maior que me ilumina e me orienta;

À minha mãe **Maria do Socorro**, por ser tão companheira e presente no apoio aos meus ideais;

À minha irmã **Carina**, e aos **meus familiares** por tudo que representam;

À professora **Leonie Asfora Sarubbo**, orientadora desta tese, por ter me aceitado como orientanda e por todo o apoio sempre que necessário;

À professora **Margarida Angélica Vasconcelos**, pela co-orientação e atenção em todos os momentos;

À professora **Marisilda de Almeida Ribeiro**, minha eterna orientadora, pela orientação provocadora e ao mesmo tempo generosa, por sua paciência, amizade, carinho nos momentos de dúvida e pelos momentos de trabalho descontraídos e gratificantes;

À professora **Samara Andrade** pela disponibilidade em ensinar e o apoio na análise estatística dos dados;

Aos professores **Lúcio e Alexandre** da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental/UFPE pela amizade, paciência e auxílio nas análises cromatográficas;

Ao **Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos Nonete Barbosa Guerra-LEAAL** pela disponibilidade dos reagentes e vidrarias necessários as análises e aos Técnicos do LEAAL: **Artur, Alexandre, Camilo e Moisés**, pela amizade, profissionalismo e ensinamento desde a época de estagiária;

Aos pescadores, das colônias de pescadores do Pina, de Itamaracá e de Porto de Galinhas, pela dedicação, paciência e lição de vida durante a coleta das espécies;

Aos meus colegas de trabalho do IASC/ Prefeitura do Recife, da SEDUC-PE, do Codai/UFRPE, da UNINASSAU, da Faculdade São Miguel e da UNIVERSO, por todo o apoio essencial para finalização desta etapa;

A todos meus estagiários, **Gisele, Bárbara, Fernanda, Leidjane, Amanda, Diógenes, Roberta, Kézia, Jisemn, Janete, Isabella, Eloí e Fabiana**, que em muito me auxiliaram na execução das atividades diárias, sempre com dedicação e responsabilidade;

Às minhas amigas e incentivadoras, **Camila, Renatinha, Gláucia, Carol e Rebeca**, pelos estímulos constantes e o mais importante, pela presença e amizade;

Aos amigos de todas as horas, **Dodo, Manu, Poliana, Marília, Karyane, Elayne, Elliz, Maíra, Leon, Henrique, Tayza e Fernanda**;

Aos meus companheiros do doutorado **Jennyfer, Carlos Eduardo e Emilia** pela amizade sincera e pelo apoio nos momentos de dificuldade;

À **Neci Maria e Cecília Arruda**, pela atenção dispensada durante todo o período que estive na Pós-Graduação em Nutrição.

À **Pós-Graduação em Nutrição da UFPE** e a todos os **professores** desse Programa, especialmente àqueles da área de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, que muito contribuíram para a minha formação.

Resumo

O peixe faz parte da dieta de vários grupos populacionais, não apenas como fonte de proteínas de alta qualidade nutricional, mas ainda como reserva significativa de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) especialmente o ácido eicosapentanóico (EPA-C20: 5 ω-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA-C22: 6 ω-3), aos quais são atribuídos numerosos benefícios à saúde. O perfil lipídico de peixes de água salgada é influenciado por vários fatores, entre eles a gametogênese, espécie, idade, condição fisiológica, alimentação, condições ambientais, época e meios utilizados durante sua captura. Apesar de muitos estudos relatarem o conteúdo de ácidos graxos de várias espécies de peixes em todo o mundo e da diversidade ictiofauna rica e extenso Sistema hidrográfico brasileiro, há poucas informações disponíveis sobre a composição química, bem como perfil lipídico de peixes regionais. Nesse contexto este estudo teve como objetivo traçar o valor nutricional e o perfil lipídico de agulha preta (*Hemiramphus brasiliensis*), agulha branca (*Hyporhamphus unifasciatus*), cavala (*Scomberomorus cavalla*) e sardinha laje (*Opisthonema oglinum*), quatro espécies de peixes que se destacam entre as mais comercializadas no Estado de Pernambuco, avaliando os índices da qualidade nutricional dos lipídios e comparando o perfil lipídico em duas diferentes estações do ano, verão e inverno. Foram utilizados métodos gravimétricos, Kjeldahl e Bligh & Dyer para determinação da composição centesimal, e cromatografia gasosa para perfil lipídico. Valores (g/100g) de umidade, proteínas, lipídios totais e cinzas variaram de 71,13 a 78,39; 18,10 a 19,87; 1,05 a 9,03; 1,03 a 1,73, respectivamente. Entre os ácidos graxos saturados o palmítico foi prevalente (10,89 a 20,38%), e o oléico (4,26 a 15,77%) o principal ácido graxo monoinsaturado identificado. Dentre os poliinsaturados destacaram-se o eicosapentaenóico-EPA (6,41 a 10,66%) e docosahexaenóico-DHA (9,12 a 30,20%). Valores médios indicativos de qualidade nutricional apontaram: polinsaturados/saturados (P/S) (1,11 a 1,47), ω6/ω3 (0,08 a 0,21), ácidos hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos (H/H) (0,87 a 2,43), índice de aterogenicidade (IA) (0,26 a 0,60) e índice de trombogenicidade (IT) (0,20 a 0,44), permitindo atribuir às espécies, excelente qualidade nutricional sob o ponto de vista do perfil lipídico. Com relação a influencia da sazonalidade sobre o perfil lipídico verificou-se que o período do inverno favorece o aumento de lipídeos nas espécies de peixes deste estudo, sendo os maiores teores encontrados na sardinha-laje que também apresentou o melhor perfil lipídico. Todas as espécies analisadas continham razões ω-3/ω-6 e ω-6/ω-3 recomendadas nutricionalmente. Portanto podem ser consideradas fontes de lipídios de boa qualidade, independente se capturadas no inverno ou no verão, devendo ser incentivado seu consumo regular.

Palavras-chave: Ácidos graxos. Cromatografia. Peixes.

Abstract

The fish part of the diet of various population groups, not only as a source of high quality protein nutrition, but also as a significant reserve of polyunsaturated fatty acids (PUFA), especially eicosapentaenoic acid (EPA, C20: 5 ω-3) and acid Docosahexaenoic acid (DHA, C22: 6 ω-3), which are attributed to numerous health benefits. The lipid profile of saltwater fish is influenced by several factors, including gametogenesis, species, age, physiological condition, nutrition, environmental conditions, time and resources used during his capture. Although many studies have reported the fatty acid content of several species of fish worldwide and diversity rich fish fauna and extensive Brazilian hydrographic system, there is little information available on the chemical composition and lipid profile of regional fish. Hence, this study evaluated the chemical composition and lipid profiles in black needle (*Hemiramphus brasiliensis*), white needle (*Hyporhamphus unifasciatus*), mackerel (*Scomberomorus cavalla*), and sardines (*Opisthonema oglinum*), which are the most important commercial fish species in the state of Pernambuco, evaluating indices of nutritional quality of lipids and comparing the lipid profile in two different seasons, summer and winter. Gravimetric methods were used Kjeldahl and Bligh & Dyer to determine the chemical composition, and gas chromatography for lipid profile. Values (g/100g) of moisture, protein, total fat and ash content ranged from 71.13 to 78.39, 18.10 to 19.87, 1.05 to 9.03, 1.03 to 1.73, respectively. Among the saturated fatty acids palmitic was prevalent (10.89 to 20.38%), and oleic (4.26 to 15.77%) identified the main monounsaturated. Among the highlights were the polyunsaturated eicosapentaenoic acid -EPA (6.41 to 10.66%) and docosahexaenoic-DHA (9.12 to 30.20%). Indicative average quality nutritional values indicated: Polyunsaturated / saturated (P / S) (1.11 to 1.47), ω6/ω3 (0.08 to 0.21), hypocholesterolemic acids/hypercholesterolemic (H/H) (0.87 to 2.43), atherogenicity index (AI) (0.26 to 0.60) and index of thrombogenicity (IT) (0.20 to 0.44), allowing you to assign species, excellent nutritional quality from the point of view of the lipid profile. Regarding the influence of season on the lipid profile showed that the winter period favors the increase of lipids in fish species, the highest levels being found in sardine-slab, which also had the best lipid profile. All species tested contained reasons ω-3/ω-6 ω-6/ω-3 nutritionally recommended, and may be considered fat sources of good quality, regardless if caught in winter or summer, and should be encouraged their regular consumption.

Keywords: Fatty acids. Chromatography. Fish.

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO.....	10
2. REVISÃO DA LITERATURA	12
3. MÉTODOS	27
3.1. Amostra de peixes	27
3.2. Análise de Composição Aproximada	27
3.3. Determinação do perfil de ácidos graxos	27
3.4. Índices de qualidade nutricional dos lipídeos.....	28
3.5. Análise estatística	28
4. RESULTADOS	29
4.1 Artigos Originais.....	29
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
REFERÊNCIAS	31
APÊNDICES	39
ANEXOS.....	54

1. APRESENTAÇÃO

O peixe faz parte da dieta humana de vários grupos populacionais, não apenas como fonte de proteínas de alta qualidade nutricional, mas ainda como reserva significativa de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) especialmente o ácido eicosapentanóico (EPA-C20:5 ω -3) e o ácido docosahexaenóico (DHA-C22:6 ω -3) da série ômega 3 (ω -3), aos quais são atribuídos numerosos benefícios à saúde humana (CALDER et al., 2009; HOOPER et al., 2009; MILTE et al., 2009; KOTWAL et al., 2012; COCKBAIN et al., 2012; LI et al., 2013).

Os ácidos ω -3 e ω -6 são precursores dos ácidos eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanas e leucotrienos) e são essencialmente fornecidos pela dieta, uma vez que não são sintetizados pelo organismo humano. A dieta ocidental tem sido considerada uma dieta desequilibrada por conter altos níveis de ω -6 e baixos níveis de ω -3, apresentando elevado conteúdo de carne vermelha, cereais refinados e produtos industrializados (SWANSON et al., 2012; SANTOS, et al., 2013).

Peixes de água doce são geralmente caracterizados por elevados níveis de ácidos graxos poliinsaturados ω -6, principalmente o ácido linoléico (18:2 ω -6) e ácido araquidônico (20:4 ω -6), enquanto os peixes marinhos apresentam uma maior proporção de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa ω -3, isto se deve ao alto conteúdo desses PUFAs presentes em algumas espécies de fitoplâncton marinho, contidos em sua dieta (RAHMAN et al., 1995; BRENNNA et al., 2002). Em geral, peixes marinhos são caracterizados por apresentar uma relação ω -3/ ω -6 alta, variando entre 4,7-14,4, enquanto que para peixes de água doce esta relação varia entre 0,5 e 3,8 (UYBAL et al., 2011).

A composição de ácidos graxos de tecidos de peixes não varia apenas entre espécies, mas também dentro da mesma espécie dependendo da dieta, tamanho, idade, gênero, ciclo reprodutivo, local de captura, época e condições do meio ambiente (GRUGER, 1967; SHIRAI, et al., 2001; SHIRAI, et al., 2002; LUZIA, et al., 2003). Assim, muitos estudos realizam análises químicas comparando peixes capturados em diferentes estações do ano (SHIRAI et al., 2002; SYNNES & KJERSTAD, 2007; ZLATANOS & LASKARIDIS, 2007; ZOTOS & VOUZANIDOU, 2012).

O Brasil apresenta um dos mais baixos índices de consumo de pescado. Segundo dados do Ministério da Pesca e Aquicultura (2009) cada brasileiro consome em média 9kg por

ano, abaixo dos 13 kg por habitante/ano recomendados pela Organização Mundial de Saúde. No estado de Pernambuco, a pesca é uma atividade econômica e socialmente importante, diante do grande número de empregos diretos e indiretos gerados e à oferta de proteína nobre de origem animal. O estado possui um litoral de 187 km de extensão, onde estão localizados 14 municípios costeiros e 33 comunidades pesqueiras, com áreas estuarinas presentes em praticamente toda a costa, que se estende desde o município de Goiana, ao norte, no limite com a Paraíba, até o município de São José da Coroa Grande, ao sul, no limite com o estado de Alagoas (MONTEIRO, 2009).

Dentre as espécies de peixe de maior representatividade e importância sócio-econômica para o Estado de Pernambuco, segundo o estudo de Dinâmica de Populações e Avaliação dos Estoques dos Recursos Pesqueiros do Nordeste do Brasil: Outras Espécies (2009) destacam-se: agulha branca (*Hemiramphus brasiliensis*), agulha preta (*Hyporhamphus unifasciatus*), cavala (*Scomberomorus cavalla*) e sardinha-laje (*Opisthonema oglinum*).

Apesar de muitos estudos relatarem o conteúdo de ácidos graxos de várias espécies de peixes em todo o mundo e da diversidade ictiofauna rica e extenso Sistema hidrográfico brasileiro, há poucas informações disponíveis sobre a composição química, bem como perfil lipídico de peixes regionais, prejudicando o estabelecimento de dietas balanceadas para diversas coletividades (MAIA et al., 1994). Das principais fontes de dados utilizadas, apenas algumas são publicadas no país, mesmo assim com dados copilados de tabelas estrangeiras (LAJOLO, 1995).

Dados sobre a composição de peixes são imprescindíveis para nutricionistas, biólogos e cientistas que trabalham com alimentos, para auxiliar na formulação de dietas, classificação nutricional, processamento e conservação do peixe, pesquisas ecológicas e para aquicultura. Nesse contexto esta pesquisa teve como objetivo traçar o valor nutricional e o perfil lipídico de quatro espécies de peixes comercializadas no Estado de Pernambuco, avaliando os índices da qualidade nutricional (IQN) dos lipídios e comparando o perfil lipídico em duas diferentes estações do ano.

2. REVISÃO DA LITERATURA

A composição química dos alimentos é muito importante para o esclarecimento dos seus valores nutritivos, bem como para subsidiar a determinação de dietas adequadas a certos grupos populacionais. As estruturas químicas dos compostos que integram os alimentos são, em geral, as responsáveis pelo seu desempenho metabólico, respondendo pelos aspectos nutricionais verificados após o seu uso. E, em inúmeros casos, as características físicas e físico-químicas dos alimentos têm significado sobre as respostas metabólicas obtidas pelos organismos que os consomem, por isso sua importância no estudo de alimentos (ÇELIK et al., 2005; ERKAN et al., 2007).

Pesquisas sobre a importância da composição química e seu valor nutricional datam de 1894, quando W. O. Atwater elaborou a primeira tabela de composição de alimentos, a qual possibilitou o desenvolvimento dos primeiros conceitos sobre a relação entre dieta e saúde da população, iniciando o estudo das necessidades nutricionais (ITO, 2003). Durante a década de 90 inúmeros avanços baseados em dados epidemiológicos esclareceram o papel das dietas na prevenção e controle da morbidade e da mortalidade prematura resultante de doenças crônicas não-transmissíveis como obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares, hipertensão e alguns tipos de câncer (CALDER et al., 2009). Esses avanços só foram possíveis graças à evolução dos métodos analíticos que, cada vez mais, tornaram-se capazes de fornecer informações fidedignas sobre a composição química dos alimentos.

Em virtude de novos conceitos científicos surgidos em Nutrição e Ciência dos Alimentos e do reconhecimento da importância da análise sobre os nutrientes em alimentos brasileiros, o interesse para conhecer melhor nossos alimentos do ponto de vista nutricional começou a renovar-se. Com isto, a obtenção de dados referentes à composição e qualificação de alimentos brasileiros tem sido estimulada, com o objetivo de reunir informações atualizadas, confiáveis e adequadas à realidade nacional (TORRES et al., 2000).

Trabalhos de comparação de dados entre as diversas tabelas de composição de alimentos disponíveis e utilizadas para planejamento e avaliação de dietas, registram a escassez de informações a cerca de alimentos regionais. Logo, devido à importância da análise de alimentos, torna-se imperativa a elaboração de tabelas completas e atualizadas, as quais devem contemplar nutrientes e não-nutrientes, estarem de acordo com a realidade local

dos alimentos consumidos, considerando os métodos analíticos e adotarem uma linguagem padrão para facilitar o intercâmbio de dados (RIBEIRO et al., 2003).

Dados específicos sobre a composição química de alimentos de origem marinha são muito importantes, devido a diversos fatores. O estudo intitulado *Consumo Per Capita Aparente de Pescado no Brasil (1996-2009)* indicou que o padrão de consumo de organismos marinhos, no país, mudou significativamente, houve um crescimento anual de 6,46kg para 9,03kg por habitante entre 2003 e 2009, ainda abaixo dos 13kg recomendados, mas representando um aumento de 39,78% nos últimos sete anos, sendo o aspecto nutritivo, citado pelos consumidores, como o principal motivo de atração pelo consumo de organismos marinhos (BORGHETTI et al., 2003; MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA DO BRASIL, 2010).

A importância da avaliação química também se deve ao fato que para a mesma espécie, a composição química do pescado pode variar bastante devido a características ambientais, ou ainda abundância e tipo de alimento disponível aos organismos (GRUGER, 1967; LUZIA, et al., 2003). Bruschi (2001) ressalta que devido a essa variação de uma região para a outra, o uso de valores da composição obtidos somente através de literaturas podem causar erros na avaliação de consumo de nutrientes, fazendo com que seja necessário proceder à análise de alimentos locais.

2.1 Composição e valor nutricional de peixes marinhos

O pescado constitui um alimento de excelente valor nutritivo, apresentando em sua composição proteínas de alto valor biológico, vitaminas, principalmente A e D, além da qualidade da fração lipídica, rica em ácidos graxos insaturados e baixo teor de colesterol (GERMANO et al, 2003; HUYNH et al., 2009).

Comparando as carnes de pescado e de mamíferos, verificam-se diferenças estruturais, como no caso das fibras musculares que, no pescado, são mais curtas e apresentam menor quantidade de tecido conectivo, características que lhes conferem uma maior digestibilidade (LUZIA et al., 2003). Outra questão, que vem corroborar o elevado valor nutritivo da carne do pescado, é que se verifica em sua composição, um perfil completo e balanceado em termos de aminoácidos essenciais. Em comparação ao colágeno bovino, a carne de peixe apresenta 43%

a mais desses aminoácidos, além da composição em miosina apresentar abundância em ácido glutâmico, ácido aspártico, lisina, leucina e isoleucina fato esse que pode aumentar o valor biológico das dietas (SYNNES et al., 2007).

Alguns estudos relatam a composição centesimal de peixes brasileiros marinhos. CAULA et al. (2008) analisaram o pargo marinho, *Lutjanus purpureus*, cujos os teores médios obtidos foram: 80,7% de umidade; 18,46% de proteína total; 1,0% de lipídio total; 0,7; % de cinza, e 0,5% de carboidratos. O valor energético médio ($\text{kcal.}100\text{ g}^{-1}$) foi de 83,6 e o teor médio de colesterol ($\text{mg.}100\text{ g}^{-1}$) apresentado foi 33,5 .

Já Furlong et al., (2006), estudando a composição bromatológica de peixe-porco (*Balistes capriscus*) e do peixe papa terra (*Meticirrhinus littoralis*) obteve respectivamente valores médios de 78,5 e 78,0 % de umidade; 1,4 e 1,2 % de cinzas; 18,8 e 17,6 % de proteína; 0,77 e 0,82 % de lipídios.

A composição de lipídeos do peixe é responsável pelas maiores diferenças observadas, variando bastante entre as diferentes espécies e também dentro da mesma espécie, durante fases do ano. Os peixes onívoros ou herbívoros, migradores, com desova total uma vez no ano, apresentam grande variação de gordura entre os períodos de inverno e verão. Esta variação é menor ou ausente nos peixes carnívoros, os quais ocupam o fim da cadeia alimentar, não migram tanto e têm desova contínua (RIBEIRO, 2002).

Com relação ao conteúdo de lipídeos os peixes podem ser classificados em: magros (menos de 2% de gordura); de baixo teor (2-4% de gordura); medianamente gordos (4-8% de gordura) e altamente gordos (mais de 8% de gordura) (ACKMAN, 1989).

O filé representa a principal parte comestível do pescado, sendo constituído por músculo, tecido conectivo, tecido adiposo e pequenos ossos intermusculares, representando, em geral, a metade do peso total do pescado. Atualmente há uma crescente tendência do consumidor em reduzir o consumo de gordura de origem animal. Assim, o elevado teor de gordura nos filés pode prejudicar a imagem do produto. (SANTOS et al., 2013).

Segundo Meurer et al., (2002) o excesso de gordura na carcaça é indesejável, pois pode afetar as características organolépticas da carne. Além disso, o acúmulo de gordura na cavidade abdominal diminui o rendimento de filé e, consequentemente, o valor comercial do peixe. Uma característica da fração lipídica dos peixes é seu alto teor em ácidos graxos

insaturados que, apesar de ser uma vantagem nutricional, apresenta maior predisposição à rancidez oxidativa.

Extensa investigação a respeito do teor de lipídios de peixe, bem como da composição de ácidos graxos de muitas espécies de peixes é descrita por: ACKMAN, (1989); EXLER, KINSELLA, & WATT, (1975); STANDSBY, (1967). Existem inúmeros estudos que foram publicados sobre o perfil de ácidos graxos de peixe em várias espécies de diversas regiões do mundo. Foram investigadas diferentes espécies de pescada, como a pescada do Atlântico Sudoeste (*Merluccius hubbsi*) (MENDEZ & GONZALEZ, 1997), das águas da Espanha (*Merluccius vulgaris*) (SORIGUEZ et al., 1997) e do pacífico (*Merluccius productus*) (KITTS, 2009). Do mesmo modo, teor de lipídeos do arenque (*Clupea harengus*) foi descrito a partir de peixes capturados em águas ao largo da Dinamarca (JENSEN et al., 2007), de Georges Bank e do Golfo de St. Lawrence (BUDGE et al., 2002) e de arenque (*Clupea harengus pallasi*) do Extremo Oriente da Rússia (GLADYSHEV et al., 2007). A composição de ácidos graxos do salmão rosa (*Onchorhynchus gorbuscha*), originário do Japão, foi relatada por Takama et al. (1999), assim como do malhado (*Centroscymnus coelolepis*), do bacalhau (*Mora moro*) entre outras espécies (SYNNES et al., 2007). Variação sazonal na composição dos ácidos graxos da sardinha japonesa (*Sardinops melanostictus*) e do Mediterrâneo (*Sardina pilchardus*) foi também investigada (SHIRAI et al., 2002; ZLATANOS et al., 2007). E a determinação do perfil lipídico de espécies de peixe de importância comercial foi realizada na Turquia (OZOGUL et al., 2007) e na Malásia (OSMAN et al., 2001).

No Brasil foram pesquisados o perfil lipídico do barbado (*Pinirampus pinirampu*), carpa (*Cyprinus carpio*), cascudo abacaxi (*Megalancistrus aculeatus*), cascudo cachorro (*Pterodoras granulosus*), corvina (*Plagioscion squamosissimus*), curimba (*Prochilodus lineatus*), dourado (*Salminus maxillosus*), jurupoca (*Hemisorubim plathyrrhinchos*), mahdi (*Pimelodus maculatus*), pacu (*ColDssoma mitrei*), tilapia (*Oreochromis niloticus*), trafra (*Hoplias malabaricus*) e truta (*Salmus* sp.) do Estado do Paraná (ANDRADE et al., 1995); Da sardinha (*Sardinella brasiliensis*) de São Paulo (SALDANHA et al., 2008); E da carpa (*Cyprinus carpio*), Pacu(*Piaractus mesopotamicus*) e Tambaqui (*colossoma macropomum*) de Minas Gerais (CASTRO et al., 2007). O teor de colesterol e a composição centesimal do pargo marinho, (*Lutjanus purpureus*), tilápia do Nilo, (*Oreochromis niloticus*), curimatã,

(*Prochilodus cearensis*) e da sardinha (*Triploportheus angulatus*) de Fortaleza também foram determinados por Caula et al.,(2008).

Ramos-Filho et al., (2008) avaliando o perfil lipídico dos peixes: pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e dourado (*Salminus maxillosus*), nativos do Rio Miranda na região do Pantanal Sul-Mato-Grossense, verificaram que, o ácido oléico foi predominante (20,25 a 37,25%), seguido do ácido palmítico (19,96 a 21,37%) e esteárico (7,39 a 9,82%). O somatório dos teores dos diferentes ácidos graxos poliinsaturados variou de 5,24% no pacu a 17,33% no pintado, e dos ácidos graxos saturados de 32,91 a 38,89%. As espécies cachara, pintado e dourado mostraram igual proporção de ácidos graxos ômega-3 (média 7,80%) e de ácidos graxos ômega-6 (média 8,40%), enquanto o pacu mostrou os menores teores (1,13 e 4,11%), respectivamente. Ainda na avaliação da qualidade nutricional dos lipídeos, todas as amostras estudadas mostraram os índices $\omega 6/\omega 3$ favoráveis quanto ao consumo alimentar.

Inhamus et al., (2007) pesquisaram os níveis dos ácidos graxos essenciais da série ômega-3, EPA e DHA no tecido muscular do mapará (*Hypophthalmus sp*) e no Tucunaré (*Cichla sp.*), duas espécies de peixes do Amazonas. O mapará (*Hypophthalmus sp*) apresentou elevadas concentrações de EPA (20 ± 3 mg/g) e DHA (18 ± 3 mg/g), enquanto que no Tucunaré (*Cichla sp.*), foram detectadas concentrações elevadas de DHA (55 ± 9 mg/g), mas reduzidas de EPA (5 ± 1 mg/g), sendo ambas as espécies estudadas consideradas boas fontes de ácidos graxos essenciais.

A composição quantitativa de EPA e DHA foi avaliada também em diferentes partes do corpo de espécies de peixes marinhos da costa brasileira: atum (*Thunus tynnus*), bonito (*Katsuwonus pellonis*), olho de boi (*Seriola lalandi*), cavalinha (*Scomber japonicus*), sardinha (*Sardinella brasiliensis*) e serra (*Sarda sarda*). Os teores de EPA e DHA foram analisados no olho (órbita ocular e material gorduroso da cavidade ocular) e filés, sendo significativas as diferenças entre as mesmas. Os teores de DHA para uma determinada espécie foram sempre superiores no olho em relação ao filé, sendo o mesmo observado para o EPA em quatro das espécies (olho de boi, cavalinha, sardinha e serra). Comparando-se a mesma espécie e partes do corpo dos peixes, observou-se que os teores de DHA foram superiores aos teores de EPA, exceto para a sardinha. A somatória dos níveis de EPA e DHA em filés foram maiores para as espécies sardinha e bonito, mostrando serem uma boa fonte alimentar destes ácidos,

especialmente a sardinha por ser uma fonte com preço acessível no Brasil (VISENTAINER et al., 2000).

A variação nas quantidades centesimais dos macronutrientes em alimentos é muito importante pois, em conjunto com outros fatores, determinam a qualidade do pescado comercializado, bem como subsidiam o planejamento de programas que visam fornecer ou suplementar a dieta de grupos populacionais específicos como o de idosos, pré-escolares, obesos, diabéticos entre outros (ÇELIK et al., 2005).

2.2 Ácidos Graxos essenciais

Os componentes lipídicos, especialmente os ácidos graxos, estão presentes nas mais diversas formas de vida, desempenhando importantes funções na estrutura das membranas celulares e nos processos metabólicos. A essencialidade de certos ácidos graxos foi descrita pela primeira vez por Burr (1929) e reafirmada por inúmeros trabalhos de pesquisa, sendo determinada pela impossibilidade dos animais (diferente dos vegetais) em sintetizar estes ácidos graxos a partir de precursores estruturalmente mais simples (SPECHER, 1981; COCKBAIN et al., 2012).

O ácido graxo essencial mais conhecido é o ácido linoléico (C18:2), presente em grande quantidade no óleo de milho e de soja e pertencente ao grupo dos ácidos graxos ômega-6. O outro ácido graxo essencial é o α -linolênico, composto de 18 átomos de carbono e 3 duplas ligações (C18:3), denominado ômega-3 ou n-3 Poliinsaturado (PUFAs) que está presente em óleos de peixes marinhos e também em alguns óleos vegetais (óleos de canola e linhaça), ainda que em menor proporção que o ácido linoléico, sendo encontrado também nas hortaliças, em espécies com folhas de coloração verde-escura, por ser um importante componente da fração dos lipídios polares contidos nos cloroplastos (INNIS, 2003; CALDER, 2006; SWANSON et al., 2012).

O metabolismo animal não tem capacidade de converter os membros de uma família ômega em outra e são incapazes de produzir endogenamente as famílias ômega-6 e ômega-3 que devem ser supridas pela alimentação. Somente o ácido araquidônico pode sofrer síntese no organismo, desde que haja suprimento adequado de linoléico na dieta. Os ácidos linoléico e araquidônico possuem em comum uma dupla ligação entre os carbonos 6 e 7 (série linoléica

ou n-6), o que possibilita a síntese do araquidônico a partir do linoléico, mas não o contrário (JAMES et al., 2003).

Dois dos mais importantes ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 de cadeia longa (LC- PUFAs) (superior a 18 carbonos), são o ácido eicosapentaenóico (EPA; C20:5) e o ácido docosahexaenóico (DHA; C22:6) que podem ser absorvidos diretamente pelos ciclos metabólicos dos seres humanos e são biologicamente mais potentes em relação ao ácido α -linolênico. Muitas plantas marinhas, especialmente algas unicelulares no fitoplâncton, executam a elongação da cadeia, e, desse modo, a dessaturação do ácido α -linolênico gera o ácido graxo poliinsaturado ômega-3, com 20 e 22 carbonos e 5 ou 6 duplas ligações. É a formação desses LC- PUFAs por algas marinhas e sua transferência por meio da cadeia alimentar que promove a abundância do EPA e DHA nos peixes marinhos, como sardinha e salmão, diferente de peixes oriundos de águas continentais (CALDER, 2002; BRENNNA et al., 2002).

Na espécie humana, os tecidos que têm a capacidade de biossintetizar o EPA e DHA são o fígado, as gônadas, e em menor escala, o cérebro e o tecido adiposo, e o fazem a partir do precursor ácido α -linolênico, através de sistemas enzimáticos de alongamento e dessaturação (HAAG, 2003). Embora essas enzimas apresentem maior afinidade pelos ácidos da família ω -3, a conversão do ácido α -linolênico em LC- PUFAs é fortemente influenciada pelos níveis de ácido linoléico na dieta. Assim, a razão entre a ingestão diária de alimento fontes de ácidos graxos ω -6 e ω -3 assume grande importância na nutrição humana (SIMOPOULOS, 2002; SANTOS, 2008).

Estima-se que a razão ω -6/ ω -3 na dieta das pessoas que viveram no período que antecedeu a industrialização, estava em torno de 1:1 a 2:1, devido ao consumo abundante de vegetais e de alimentos de origem marinha, contendo ácidos graxos ω -3. Com a industrialização, ocorreu um aumento progressivo dessa razão, devido, principalmente, à produção de óleos refinados oriundos de espécies oleaginosas com alto teor de acido linoléico e à diminuição da ingestão de frutas e verduras, resultando em dietas com quantidades inadequadas de ácidos graxos ω -3. Nas últimas décadas tem-se determinado, em diversos países, que a ingestão média de ácidos graxos resulta em relações ω -6/ ω -3 que estão entre 10:1 a 20:1, ocorrendo registros de até 50:1 (SIMOPOULOS, 2004; SIDDIQUI, 2007).

As razões de 2:1 a 3:1 têm sido recomendadas, por possibilitar uma maior conversão do ácido α -linolênico em DHA, que alcança o seu valor máximo em torno de 2,3:1. Assim, as razões entre 2:1 e 4:1 têm maior importância para pessoas com hábitos alimentares que resultam em uma baixa ingestão de EPA e DHA. Por outro lado, dietas baseadas em razões ω -6/ ω -3 inferiores a 1:1 não são recomendadas, por inibir a transformação do ácido linoléico em LC-PUFAs, assim como, quantidades acima de 7:1 podem exercer grandes danos à saúde, como o agravamento de processos inflamatórios (LUMENG et al., 2011; FRESNO et al., 2011).

2.3 Ácidos graxos ômega-3 e suas implicações na saúde humana

Os primeiros estudos epidemiológicos, referentes aos efeitos dos ácidos graxos ω -3 sobre a saúde, datam da época de 70, quando um grupo de pesquisadores comparou a incidência de morte repentina por doença cardiovascular em dinamarqueses, com a verificada entre esquimós da Groenlândia. A taxa de óbitos entre os esquimós revelou-se bem mais baixa. Os pesquisadores concluíram que a diferença poderia estar relacionada com o tipo de gordura ingerida pelos esquimós, ao invés da quantidade, já que a dieta dos esquimós apresentava um teor tão ou mais alto de gordura do que a dos dinamarqueses, mas o peixe e os mamíferos, marinhos, na dieta daqueles, continham cinco vezes mais ácidos graxos ômega-3 do que a dieta dinamarquesa (BANG et al., 1972; DYERBERG et al., 1975).

Desde então, muitas investigações vêm sendo desenvolvidas a respeito do mecanismo de ação dos ácidos graxos ω -3 no tratamento de doença cardiovascular, de hiperlipidemia, artrite reumatóide e na prevenção de parto prematuro, de câncer entre outros benefícios (HOOPER et al., 2009; CALDER, 2009; CETIN et al., 2009; COCKBAIN et al., 2012; KOTWAL, et al., 2012; BEYDOUN et al., 2013).

Um clássico estudo randomizado foi o *Diet and Reinfarction Trial* (DART), que demonstrou uma redução de 29% na mortalidade total, em um período de seguimento de dois anos, em homens pós-infarto agudo do miocárdio (IAM), aos quais foi recomendado ingerir 200 a 400g de peixes gordurosos por semana, correspondendo a um adicional de 500 a 800mg/dia de ácidos graxos ômega-3 (BURR et al., 1989).

Mais recentemente numerosos estudos prospectivos e retrospectivos de muitos países, demonstraram que o consumo moderado de óleo de peixe diminui o risco de eventos cardiovasculares, tais como infarto do miocárdio (MI), morte cardíaca repentina (SCD), doença cardíaca coronária (CHD), fibrilação atrial (FA) e, a morte em pacientes com insuficiência cardíaca (IC) (YOKOYAMA et al., 2007; LEE et al., 2008; KROMHOUT et al., 2012).

Em várias publicações, os mecanismos potencialmente responsáveis por esses efeitos foram analisados (VON SCHACKY, 2003; HARRIS, 2005). Portanto, uma série de mudanças na função das células pode ser observada no momento da incorporação de EPA e DHA na membrana celular, tais como: a modulação do sistema eicosanóides para vasodilatação, efeitos antiarrítmicos, reduções de citocinas pró-aterogênicas e fatores de crescimento, entre outros (RAUCH et al., 2010).

Tem sido sugerido que o consumo elevado de ácidos graxos ômega-3 LC-PUFAS possui efeito anti-aterosclerótico. Estudos realizados com homens japoneses e caucasianos que residem nos Estados Unidos indicaram que os japoneses têm níveis significantemente mais baixos de aterosclerose, fato associado ao tipo de dieta rica em ômega -3 (SEIKIKAWA et al., 2007; 2008; WILLIAM, 2008).

Em modelos de aterosclerose em camundongos, vários estudos relatam que óleo de peixe e o EPA atenuam o processo aterosclerótico (CASÓS et al., 2008; MATSUMOTO et al., 2008). Em um ensaio randomizado com pacientes com doença arterial coronariana, a suplementação com aproximadamente 1,5 g/dia de ácido graxo Ômega-3 por dois anos provocou menos progressão e mais regressão da aterosclerose coronariana, em relação ao uso de placebo (VON SCHACKY et al., 1999).

O metabolismo lipídico e lipoproteico altera-se de forma significativa com o consumo regular de pescado e suplementação nutricional com ácido graxo ômega-3. Avaliando o efeito do EPA e DHA sobre o perfil lipídico foi demonstrado, de modo geral, redução das VLDL (lipoproteínas de densidade muito baixa) e da trigliceridemia, devido a redução da síntese hepática de triglicerídios e aumento hepático da beta-oxidação de ácidos graxos (HARRIS et al., 2003; VON SCHACKY, 2003; CASTRO et al., 2007).

Estudos clínicos mostram que a suplementação com 2 a 4 g de EPA/DHA ao dia pode diminuir os níveis de triglicérides (TG) em até 25% a 30% e aumentar discretamente os de

HDL colesterol (1% a 3%) (BELK et al., 2006). A capacidade de reduzir os níveis de TG depende da dose, com uma redução aproximada de 5% a 10% para cada 1 g de EPA/DHA consumido ao dia (MILLER et al, 2011) e é maior nos indivíduos com níveis basais mais elevados de TG (JACOBSON, 2008).

Em doses elevadas, EPA e DHA reduzem também a pressão arterial e o ativo composto parece ser DHA, pelo menos, quando administrado em 4g/dia. No entanto, a redução da pressão arterial provocada por 1g / dia de EPA e DHA, a dose mais comum, não parece ser de importância clínica. EPA e DHA ambos inibem ligeiramente a agregação plaquetária, com o DHA sendo mais eficaz, possuindo também efeito anticoagulante (HARRIS, 2005; MORGAN et al., 2006).

Na Conferência de Biologia Experimental de 2002, nos EUA, foram apresentados resultados de pesquisas biomédicas revelando que o óleo de alguns peixes, rico em ômegas-3, produziu um significante aumento na sensibilidade à insulina em pacientes com sobrepeso. Itoh et al., (2007) encontraram resultados semelhantes quando administraram em pacientes obesos doses de 1,8g de EPA promovendo o aumento os níveis de adiponectina, e consequentemente melhorando a sensibilidade à insulina. Existem evidências de que concentrações plasmáticas mais elevadas de EPA/DHA possam se associar a menor chance de novos casos de diabetes (DJOUSSÉ, et al., 2011).

Estudos referem que os LC-PUFAs afetam favoravelmente a inflamação e as doenças inflamatórias. As propriedades anti-inflamatórias desses ácidos graxos, especialmente EPA, são devido à competição com o ácido araquidônico, da família ômega-6, que é convertido em prostaglandinas inflamatórias e leucotrienos, através das enzimas ciclooxygenase e lipoxigenases, respectivamente. O aumento da ingestão de ômega-3 reduz a incorporação do ácido araquidônico em membranas celulares, promovendo assim um resposta anti-inflamatória (CALDER, 2006; SCHWAB et al., 2007; SERHAN et al., 2007).

Além disso, este ácido graxo diminui significativamente os marcadores inflamatórios potentes, incluindo leucotrienos, prostaglandinas, interleucinas e fator de necrose tumoral, apresentando, portanto efeitos marcantes na prevenção e/ou redução dos sintomas das artrites e outras enfermidades de origem inflamatória (GRIMBLE et al., 2005; ZHAO et al., 2007).

Estudos experimentais têm evidenciado que incorporação de ácidos graxos ômega-3 modifica reações inflamatórias e imunes, tornando-os agentes terapêuticos em potencial para

doenças inflamatórias e autoimunes. Seus efeitos são provocados pela modulação do tipo e quantidade de eicosanoides e citocinas e, alteração na expressão genética (SIMOPOULOS, 2002). Uma série de estudos tem sido realizada em pacientes com doença cardíaca coronariana, câncer, artrite, doença inflamatória intestinal, psoríase, asma, lúpus eritematoso e depressão bipolar (SURETTE, 2008; SIMOPOULOS, 2008; LI et al., 2013). A suplementação com ácidos graxos ômega-3, quer como uma alternativa ou terapia coadjuvante é potencialmente importante, especialmente porque terapias atuais com as drogas têm muitos efeitos colaterais (WHELAN, 2009).

Os ácidos graxos EPA e DHA têm impacto no câncer, atuando na inibição da carcinogênese, no retardo do crescimento de tumores e no aumento da eficácia da radioterapia e de várias drogas quimioterápicas, conforme demonstrado por estudos in vitro, experimentais com animais e alguns ensaios clínicos. Vários mecanismos de ação foram propostos para explicar como os ácidos graxos ômega-3 podem modificar o processo de carcinogênese, destacando-se a supressão da biossíntese dos eicosanoides derivados do ácido araquidônico; a influência na atividade do fator de transcrição nuclear, na expressão gênica e nas vias de transdução de sinais; a alteração do metabolismo do estrogênio; o aumento ou diminuição da produção de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (HARDMAN, 2004; JATOI, 2005; WANG et al., 2006; SIDDIQUI et al., 2007; LIM et al., 2008; COCKBAIN et al., 2012).

Benefícios em esportistas e atletas também são relatados, uma vez que os ácidos ômega-3 quando incorporados à alimentação, promovem um melhor desempenho aeróbico, isto é, conseguem um aumento da capacidade do organismo em absorver oxigênio, porque atuam na diminuição da viscosidade sanguínea. Fica entendido, portanto, que estes ácidos graxos colaboram para que haja ganhos na distribuição de oxigênio e nutrientes pelos músculos e demais tecidos do corpo (CALDER et al., 2009).

Os ácidos graxos ômega 3 são considerados importantes “*from womb to tomb*”, ou seja, “*do útero à sepultura*”, pois seus benefícios são verificados na fase gestacional, nos primeiros meses após o nascimento e na terceira idade (SWANSON et al., 2012).

O uso de ômega-3 na gravidez tem se mostrado promissor no prolongamento da gestação e na prevenção de parto prematuro em diferentes estudos (SMUTS et al. 2003; OLSEN et al., 2007). Além disso, há evidências que a ingestão de LC-PUFAs pode

influenciar a saúde fetal, materna e infantil, por causa de sua benéfica ação sobre a função vascular e sobre o desenvolvimento do cérebro e da retina (CETIN, 2009).

Durante a gestação, tanto os estoques maternos quanto a ingestão dietética materna de ácidos graxos n-3 são de importância fundamental para assegurar ao neonato o fornecimento adequado dos mesmos. Todos estes ácidos graxos poliinsaturados, incluindo DHA, são transferidos através da placenta em direção ao sangue fetal (RAMAKRISHNAN et al., 2010). Uma característica importante do cérebro e retina em desenvolvimento é a baixa concentração de ácido linoléico (C18:2 n-6) e ácido α -linolênico (C18:3 n-3), geralmente menor que 2% dos ácidos graxos totais, em contraste com a maior concentração de seus produtos, araquidônico (AA; C20:4 n-6) e docosahexaenóico (DHA; C22:6 n-3), respectivamente (HAAG, 2003).

Durante o último trimestre da gestação, a necessidade dos ácidos graxos araquidônico e DHA está especialmente aumentada no feto, para atender à síntese acelerada dos tecidos cerebrais (AL et al., 2000). Para obter esses ácidos graxos, o feto depende primariamente da transferência placentária e, portanto, do suprimento destes pela mãe.

Na prática, recomenda-se que as mulheres grávidas e lactantes alcancem um consumo médio de pelo menos 200mg/dia de DHA para obter um resultado desejável, neste caso as mulheres devem consumir peixes gordurosos duas vezes por semana durante a gravidez (KOLETZKO et al. 2007). Na impossibilidade do consumo de alimentos marinhos, o óleo de soja e de canola são boas fontes de α -linolênico e seu uso deve ser estimulado (SIMOPUOLOS, 2002). Para o lactente, o leite humano, que contém EPA, DHA e α -linolênico, continua sendo considerado o alimento ideal para satisfazer suas necessidades de PUFA n-3 durante o período pós-natal. Fórmulas enriquecidas são indicadas nos casos em que mulheres não realizam a amamentação ou que tenham contra-indicações ao aleitamento materno (INNIS et al., 2001).

Na terceira idade, os efeitos benéficos do ômega-3 enfatizam atualmente na prevenção da doença de Alzheimer, uma desordem neurodegenerativa, que afeta atualmente milhões de idosos em todo mundo. Os fatores de risco para a Doença de Alzheimer vêm sendo analisados, e em muitos estudos um padrão alimentar caracterizado por um maior consumo de molho para salada, nozes, peixe, tomate, aves, verduras, frutas e vegetais de folhas verdes

escuras e um menor consumo de laticínios ricos em gordura, carne vermelha, carne de vísceras, e de manteiga, possuía efeito protetor (SCARMEAS et al, 2006; YIAN et al., 2010).

Um evento central na doença de Alzheimer é a ativação de várias células inflamatórias que liberam fatores como IL-1B, IL-6 e TNF-a, que podem levar à disfunção dos neurônios no cérebro (LIM et al., 2005). Em um estudo, pacientes com doença de Alzheimer tratados com suplementação de EPA + DHA apresentaram menor liberação dos fatores inflamatórios IL-1B e IL-6 (FREUND-LEVI et al., 2009).

O DHA da família ômega-3 promove um aumento na LR 11, uma proteína de classificação neuronal, que quando presente em níveis baixos representa risco para esta doença. Estudos também destacaram seu impacto na progressão da doença, sugerindo que o DHA pode ser mais útil para intervenção precoce (FREUND-LEVI et al., 2006; QIU-LAN MA, et al., 2007).

2.4 Excesso do ômega-3 e seus efeitos

Apesar de todos os seus benefícios, a ingestão dos ácidos graxos ômega-3 não deve exceder 3000 mg/dia devido os possíveis efeitos adversos relacionados ao controle glicêmico, uma maior tendência ao sangramento e a elevação no nível da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (BELK et al., 2006; SURETTE, 2008).

Os poucos efeitos adversos reconhecidos decorrentes do excesso da ingestão do ômega-3 estão relacionados quase que exclusivamente devido à administração de suplementos em cápsula ou forma de pílula. Estudos analisando o aumento da ingestão desse ácido graxo pela dieta (comer mais peixe, semente de linhaça óleo de linhaça, etc) não indicaram efeito adverso (HARRIS, 2007; YASHODHARA et al., 2009). Em teoria, o excesso de doses de ômega-3 pode também aumentar o tempo de sangramento por ser um nutriente anti-coagulante, ocasionando hemorragias em pessoas com predisposição à esse problema, no entanto, clinicamente este efeito é mínimo, não existem casos documentados de sangramento anormal, como resultado da suplementação com óleo de peixe, mesmo em altas doses e em associação com outros medicamentos anticoagulantes (WATSON et al., 2009).

Os efeitos colaterais da suplementação de ácido graxo Ômega-3 mais comumente relatados são os relacionados com o trato gastrointestinal, tais como diarréia leve, indigestão e

náuseas, que podem ocorrer em 4% em dosagens < 3 g/dia e em até 20% em dosagens de 4g/dia (HE et al., 2004; BAYS, 2006).

2.5 Recomendações de ingestão diária de ômega-3

As recomendações dietéticas disponíveis atualmente indicam a proporção ideal de consumo destes ácidos graxos em relação ao valor calórico total (VCT) da dieta. Segundo o documento publicado pela Food and Agriculture Organization/Word Health Organization (FAO/WHO, 2008) o consumo adequado de ácidos graxos poliinsaturados deve ser entre 6% e 11% do VCT. Em uma dieta de 2000 kcal, esta porcentagem corresponde a aproximadamente 13g a 24g de gorduras poliinsaturadas. Já as quantidades específicas de ômega-6 e de ômega-3 em uma dieta de 2000 kcal, segundo as recomendações da FAO (2,5-9% e 0,5-2% do VCT, respectivamente) seriam de 6g a 20g de ômega-6, e de 1g a 4g de ômega-3.

Segundo Santos et al., (2013) pelo menos duas refeições a base de peixe por semana, como parte de uma dieta saudável, são recomendadas para diminuir o risco de doença cardiovascular. A suplementação com ômega-3 marinho (2-4 g/dia) deve ser recomendada para hipertrigliceridemia grave (> 500 mg/dL), com risco de pancreatite, refratária a medidas não farmacológicas e tratamento medicamentoso e a suplementação com Ômega-3 marinho (~1 g/dia) pode ser recomendada para diminuir o risco cardiovascular em indivíduos de risco baixo a moderado que não consomem duas refeições a base de peixe por semana.

A suplementação consistente pode ser difícil de atingir através da ingestão, por causa das diferenças de conteúdo desse ácido graxo em diferentes espécies de peixes e por causa das técnicas de preparação de alimentos. Além disso, os hábitos alimentares são bem estabelecidos e difíceis de mudar. Em consequência, a maioria das pessoas é relutante em incluir regularmente várias porções de peixes por semana em suas dietas, existindo também preocupações de que peixes contêm contaminantes ambientais, tais como metais pesados e metil-mercúrio (FORAN et al., 2003; YASHODHARA et al., 2009).

Uma maneira eficaz de aumentar ingestão de ácido graxo ômega-3 sem alterar os hábitos alimentares é através do consumo de suplementos alimentares de óleo de peixe, porém, é necessário o consumo de 1-3 cápsulas de óleo de peixe diariamente para atingir a

ingestão recomendada. A quantidade de EPA e DHA por cápsula de óleo de peixe é variável, alcançando 90% ou 1000mg nas apresentações mais concentradas, o restante da cápsula é composto por outros ácidos graxos poli-insaturados, monoinsaturados e saturados, além de gelatina e glicerina (SIDHU, 2003; INHAMUS et al., 2007; SANTOS et al., 2013).

Devido o aumento na procura por ácidos graxos essenciais nos últimos anos, um número crescente de alimentos que são enriquecidos com ômega-3 principalmente a partir de óleos de peixe, tornou-se disponíveis (SURETTE, 2008; INHAMUS et al., 2008).

3. MÉTODOS

3.1. Amostras de peixes

As amostras para o estudo foram obtidas junto às colônias de pescadores do Estado, localizadas no litoral sul (Ipojuca), norte (Itamaracá) e centro (Recife), de acordo com as capturas específicas realizadas.

As coletas foram realizadas durante os meses de fevereiro, março, junho e julho do ano de 2011, sendo obtidos cerca de 4 kg por espécie a cada coleta, designados “lotes”. Estes foram coletados no início e final de cada mês, totalizando oito lotes para cada espécie de peixe.

Após a coleta, as espécies *in natura* foram conduzidas em caixas isotérmicas com gelo para o Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos Nonete Barbosa Guerra (LEAAL) no Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e cada espécie de peixe teve seu peso e comprimento total aferidos. Em seguida foram descabeçados, eviscerados, filetados e triturados em processador de alimentos, até a formação de uma massa homogênea. Assim preparadas, as amostras seguiram para a realização das análises.

3.2 Análise de composição aproximada

A umidade foi determinada de acordo com método da AOAC (2002) por gravimetria, após secagem do material em estufa a 105°C. Os lipídios totais foram determinados pelo método Bligh e Dyer (1989) e o conteúdo de proteína foi determinado segundo método de Kjeldahl descrito na AOAC (2002). A determinação dos resíduos minerais foi realizada por gravimetria após incineração do material em mufla a 550°C (AOAC, 2002).

3.3 Determinação do perfil de ácidos graxos

A partir do método Bligh Dyer (1959), o extrato lipídico de cada amostra obtido foi esterificado segundo a metodologia proposta por HARTMAN & LAGO (1973). Em seguida este foi armazenado em tubo de vidro âmbar, devidamente identificado e submetido a congelamento (-18°C), até o momento da leitura cromatográfica.

O perfil de ácidos graxos foi analizado em cromatógrafo CG 17A / QP – 5050 (Shimadzu), equipado com, injetor do tipo “split/splitless” (1:10), coluna capilar DB-5MS (30m x 0,25mm), com temperatura do injetor e detector de 250 e 280°C, respectivamente, fluxo do Helio 1,3mL.mim⁻¹, programa de temperatura (140-200°/1°C por minuto, 200-280°C/0,8°C por minuto, permanecendo a 280°C por 5 minutos). O intervalo (m/z) do detector EM foi de 40 à 600. A identificação dos ácidos graxos foi realizada pela comparação com o banco de dados WILEY 229/1995. A Quantificação dos ácidos graxos foi obtida por normalização das áreas dos ésteres metílicos, cujos resultados foram expressos em porcentual de área (%).

3.4 Índices da qualidade nutricional (IQN) dos lipídios

A qualidade nutricional da fração lipídica foi avaliada por cinco índices considerando os dados de composição em ácidos graxos, por meio dos seguintes cálculos: Índice de Aterogenidade (IA) = [(C12:0 + (4 x C14:0) + C16:0)]/ΣÁcidos Graxos Monoinsaturados (AGMI) + Σω6 + Σω3); Índice de Trombogenicidade (IT) = (C14:0 + C16:0 + C18:0)/[(0,5 x ΣAGMI) + (0,5 x Σω6 + (3 x Σω3) + (Σω3/Σω6)]; Razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) = (C18:1N-9 + C18:2N-6 + C20:4N-6 + C18:3N-3 + C20:5N-3 + C22:5N-3 + C22:6N-3)/(C14:0 + 16:0); Razão entre ácidos graxos poliinsaturados e saturados (P/S)= (Σ Poliinsaturados/ Σ saturados); e Razão entre os ácidos graxos da família ω6 e ω3 = (Σω6 / Σω3) (SANTOS-SILVA, 2002).

3.5 Análise estatística

Os valores da composição centesimal e do perfil de ácidos graxos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância através do software “Statistic for Windows 6.1” (STATSOF, 1997).

Para analisar a influência da sazonalidade, os valores da composição centesimal e do perfil de ácidos graxos foram submetidos ao teste “t” student ao nível de 5% de significância. Para verificar as relações entre os ácidos graxos e o peixes pesquisados na estação verão e inverno foi realizada a análise de componente principal, utilizando o programa “Statistic for Windows” (STATSOF, 1997).

4. RESULTADOS

A partir deste estudo, dois artigos originais foram elaborados. Dentro os artigos, o primeiro já está publicado e outro foi submetido à revista internacional. Os mesmos serão apresentados a seguir em ordem cronológica e estão localizados respectivamente nos anexos e nos apêndices.

4.1 Artigos Originais

Artigo 1 - Artigo publicado - Nutritional and lipid profiles in marine fish species from Brazil. Food Chemistry, v.160, p.67- 71, 2014. FERNANDES, C. E., VASCONCELOS, M. A. S., RIBEIRO, M. A., SARUBBO, L. A., ANDRADE, S. A. C., FILHO, A. B. M. A revista apresenta fator de impacto 3,334. O texto completo do artigo encontra-se no ANEXO A.

Artigo 2 - Influence of season on the lipid profile of fish in the Northeast of Brazil. Carolina E. Fernandes, Margarida, A. S. Vasconcelos, Marisilda, A. Ribeiro, Leonie A. Sarubbo, Samara, A. C. Andrade, Arthur, B. M. Filho (APÊNDICE A). Artigo submetido à revista Journal of Food Composition and Analysis, que apresenta fator de impacto 2,088 sendo classificada com Qualis internacional B1 na área de Nutrição pela CAPES 2013 (ANEXO B).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As espécies de peixes: cavala (*Scomberomorus cavalla*), agulha-branca (*Hemiramphus brasiliensis*), agulha-preta (*Hyprhamphus unifasciatus*) e sardinha-laje (*Opisthonema oglinum*), possuem um perfil lipídico com qualidade nutricional satisfatória. Mas é preciso que haja consumo suficiente de gordura desses peixes para que as recomendações nutricionais sejam alcançadas, bem como os efeitos benéficos dos ácidos graxos essenciais, especialmente da cavala e agulhas branca e preta, classificadas como espécies magras.

Todas as espécies continham maior proporção de ω -3 do que de ω -6, resultando em razões ω -3/ ω -6 e ω -6/ ω -3 benéficas a saúde humana, independente do período de captura das mesmas.

As razões P/S, ω 6/ ω 3, HH, IA e IT, indicadores da qualidade nutricional dos lipídios em alimentos, apontam que o consumo alimentar destas espécies é benéfico à saúde humana, apresentando proporcionalidade entre os componentes lipídicos.

Dessa forma, deve ser estimulada a inclusão de peixes marinhos na dieta humana, sobretudo das espécies desse estudo.

Recomendam-se mais estudos avaliando perfil lipídico e nutricional de outras espécies de peixes da Região Nordeste do Brasil e ainda estudos sobre a disponibilidade do EPA e DHA, considerando as formas de preparo e parte do peixe a ser consumida. Além da realização de campanhas educativas que promovam o aumento de consumo de peixe no Estado, através da divulgação de informações sobre valor nutricional do pescado.

REFERÊNCIAS

- AL, M.D. M; VAN HOUWELINGEN, A.C; HORNSTRA, G. Long-chai polyunsaturated fatty acids, pregnancy, and pregnancy outcome. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 471(suppl), p. 285S-91S, 2000.
- ANDRADE, A. D.; RUBIRA, A.F.; SOUZA, N.E. ω -3 Fatty Acids in Freshwater Fish from South Brazil. *JAOCs*, v.72, n. 10. 1995.
- BALK, E.M.; LICHTENSTEIN, A.H.; CHUNG, M.; KUPELNICK, B.; CHEW, P.; LAU, J. Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: a systematic review. *Atherosclerosis*. v.189, n.1, p.19-30, 2006.
- BANG, H.O.; DYERBERG, J.; NIELSEN, A.B. Plasma lipid and lipoprotein pattern in Greenlandic west-coast eskimos. *Lancet*, v.5, p.1143-5, 1972.
- BAYS, H. Clinical overview of Omacor: a concentrated formulation of omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Am J Cardiol.* v.98, p.71-6, 2006.
- BRENNAN, J. T. Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man. *Clin Nutr Metab.* v.5, p.127–32, 2002.
- BORGHETTI, N. R. B. et al. *Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo*. Curitiba: Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais, 2003.
- BRUSCHI, F.L.F. *Rendimento, composição centesimal e perfil de ácidos graxos de pescados e seus resíduos*. Itajaí, 2001. 134p. Monografia (graduação em oceanografia)-Centro de Ciências Tecnológicas da terra e do mar, Universidade do vale do Itajaí.
- BURDGE, M. S.; IVERSON, J. S.; BOWEN, D. W.; ACKMAN, G. R. Among and within-species variability in fatty acid signatures of marine fish and invertebrates on the Scotian Shelf, George Bank, and Southern Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v.59, p.886–898, 2002.
- BURR, M.L. et al. Effects of changes in fat, fish and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet*, v.2, n.8666, p.757-761, 1989.
- CALDER, P.C. N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr*, v.83, p.1505S-19S, 2006.
- CALDER, P. C.; YAGOON, P. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and human health outcome. *BioFactors*, v.35, n.3, p.266-272, 2009.

- CASÓS, K.; SÁIZ, M. P.; RUIZ-SANZ, J. I.; MITJAVILA, M.T. Atherosclerosis prevention by a fish oil-rich diet in apoE(-/-) mice is associated with a reduction of endothelial adhesion molecules. *Atherosclerosis*. v.201, n.2, p.306-17, 2008.
- CASTRO, F. A. F.; SANT'ANA, H. M. P.; CAMPOS, F. M.; COSTA, N. M. B.; SALARO, A. N. Fatty acid composition of three freshwater fishes under different storage and cooking processes. *Food Chemistry*, v. 103, p.1080-1090, 2007.
- CETIN, I.; ALVINO, G.; CARDELLICCHIO, M. Long chain fatty acids and dietary fats in fetal nutrition. *J Physiol.* v. 587, n.14, p.3441–3451, 2009.
- COCKBAIN, K. J. TOOGOOD, G. J. HULL, M.A. Omega-3 polyunsaturated fatty acids for the treatment and prevention of colorectal cancer. *Gut*, v. 6, p.135 – 149, 2012.
- COLE, G. M.; FRAUTSCHY, S. A. Docosahexaenoic acid protects from amyloid and dendritic pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Nutr Health*. v.18, p.249–259, 2006.
- DYERBERG, J.; BANG, H. O.; HJORNE, N. Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *Am J Clin Nutr*, v.28, p.958–66, 1975.
- DJOUSSÉ, L. ; BIGGS, M. L. ; LEMAITRE, R.N. ; KING, I. B.; SONG, X., et al. Plasma omega-3 fatty acids and incident diabetes in older adults. *Am J Clin Nutr*. v.94, n.2, p.527-33, 2011.
- EXLER, J.; KINSELLA, J. E.; WATT, B. K. Lipids and fatty acids of important finfish: New data for nutrients tables. *Journal of American Oil Chemist's Society*, v.52, p.154–159, 1975.
- FORAN, S. E.; FLOOD, J.G.; LEWANDROWSKI, K. B. Measurement of mercury levels in concentrated over-the-counter fish oil preparations. *Arch Pathol Lab Med* v.127,p.1603–5, 2003.
- FRESNO, M., ALVAREZ, R., CUESTA, N. Toll-like receptors, inflammation, metabolism and obesity. *Arch Physiol Biochem*. v.117, n.3, p.151-64, 2011.
- FREUND-LEVI, Y.; ERIKSDOTTER-JONHAGEN, M.; CEDERHOLM, T.; BASUN H.; FAXEN- IRVING, G, Omega-3 fatty acid treatment in 174 patients with mild to moderate Alzheimer disease: Omeg AD study: a randomized double-blind trial. *Arch Neurol*, v. 63, p.1402–1408, 2006.
- FREUND-LEVI, Y., HJORTH, E., LINDBERG, C., CEDERHOLM, T., et al. Effects of omega-3 fatty acids on inflammatory markers in cerebrospinal fluid and plasma in Alzheimer's disease: the OmegAD study. *Dement Geriatr Cogn Disord*. v.27, p.481–90, 2009.

FURLONG, E.B.; BASTOS, A.L.; BAISCH, A. L.M. Caracterização química de pescados empregados para tratamento de Asma brônquica na Região Sul do Rio Grande do Sul. *Ciências Agrárias*, v.27, n.3, p.415-422, 2006.

GLADYSHEV, M.; SUSHCHIK, N. N.; GUBANENKO, G. A.; DEMIRCHIEVA, S. M., KALACHOVA, G. S. Effect of boiling and frying on the content of essential polyunsaturated fatty acids in muscle tissue of four fish species. *Food Chemistry*, v.101, p.1694–1700, 2007.

GRIMBLE, B., et al. The ability of fish oil to suppress tumor necrosis factor alpha-production by peripheral blood mononuclear cells in healthy men is associated with polymorphisms in genes that influence tumor necrosis factor alpha-production. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.76, p. 454-459, 2005.

GRUGER, E. H. JR. *Fatty acid composition*. In M. E. Stansby (Ed.), Fish oils (pp. 3). Westport, CT: AVI Publishing Co. 1967.

HAAG, M. Essential Fatty Acids and the Brain. *Can. J. Psychiatry*. v. 48, p.195-203, 2003.

HARDMAN, W.E. (n-3) fatty acids and cancer therapy. *J Nutr*, v.134, p.3427–30, 2004.

HARRIS, W.S. Extending the cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids. *Curr Atheroscler Rep*, v.7, p.375–80, 2003.

HARRIS, W. S. Extending the cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids. *Curr Atheroscler Rep*. v.2, p.375–80, 2005.

HARRIS, W. S. Expert opinion: omega-3 fatty acids and bleedin cause for concern? *Am J Cardiol*. v.99, p.44–46.2007.

HE, K., SONG, Y., DAVIGLUS, M. L., LIU, K., VAN HORN, L., DYER, A. R., et al. Accumulated evidence on fish consumption and coronary heart disease mortality: a meta-analysis of cohort studies. *Circulation*. v.109, n.22, p.2705-11, 2009.

HOLDEN, J. M. *Assment of the quality of data in nutritional databases*. Bol. SBCTA,v.32, n.2, p.105-8, 1997.

HOOPER, L.; THOMPSON, R.L.; HARRISON, R.A.; SUMMERBELL, C.D. et al. Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systematic review. *Br Med J*, v.332, p.752–60, 2009.

INNIS, S. M.; GILLEY, J.; WERKER, J. Are human milk longchain polyunsaturated acids related to visual and neural development in breast-fed term infants? *J Pediatr*, v.139, p. 532– 8, 2001.

INNIS, S. H. Perinatal biochemistry and physiology of long-chain polyunsaturated fatty acids. *J Pediatr.* v. 143, n.4, p.:1-8. 2003.

ITO, M.S.B. *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos-USP: Banco de dados de alimentos industrializados.* São Paulo, 2003. 149p. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

ITOH, M.; SUGANAMI, T.; SATOH, N. et al. Increased adiponectin secretion by highly purified eicosapentaenoic acid in rodent models of obesity and human obese subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v.27, p.1918–25, 2007.

JACOBSON, T. A. Role of n-3 fatty acids in the treatment of hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* v. 87, n.6, p.981S-90S, 2008.

JAMES, M. J.; URSIN, V. M.; CLELAND, L. G. Metabolism of stearidonic acid in human subjects: comparison with the metabolism of other n-3 fatty acids. *Am J Clin Nutr.* v.77, p.1140–5, 2003.

JATOI, A. Fish oil, lean tissue, and cancer: is there a role for eicosapentaenoic acid in treating the cancer anorexia/weight loss syndrome? *Crit Rev Oncol Hematol*, v.55, p.37-43, 2005.

KOLETZKO, B.; CETIN, I.; BRENNNA, J.T.; Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. *Br J Nutr*, v. 98, p.873–877. 2007.

KOTWAL, S.; JUN, M.; SULLIVAN, D.; PERKOVIC, V.; NEAL, B. Omega 3 Fatty Acids and Cardiovascular Outcomes: Systematic Review and Meta-Analysis. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* v. 5, p.808 – 818, 2012.

KROMHOUT, D.; YASUDA, S.; GELEIINSE, J. M ; SHIMOKAWA, H. Fish oil and omega-3 fatty acids in cardiovascular disease: do they really work? *Eur. Heart J.*, v. 33, p.436 – 443, 2012.

LAJOLO, F. M. Grupo de Trabalho: composição de alimentos. *Bol. SBCTA*, V. 29, n.1, p.57-69,1995.

LEE, J.H.; O'KEEFE, J.H.; LAVIE, C.J.; MARCHIOLI, R.; HARRIS, W.S. Omega-3 fatty acids for cardioprotection. *Mayo Clin Proc.* v.83, p.324–32, 2008.

LI, J.; XUN, P.; ZAMORA, D.; SOOD, A.; LIU, K., et al., Intakes of long-chain omega-3 (n-3) PUFAs and fish in relation to incidence of asthma among American young adults: the CARDIA study. *Am J Clin Nutr.* v. 97, p. 173 – 178, 2013.

LIM, G. P., CALON, F., MORIHARA, T., YANG, F., TETER, B., UBEDA, O., SALEM, N., FRAUTSCHY, S. A., COLE, G.M. A diet enriched with the omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid reduces amyloid burden in an aged Alzheimer mouse model. *J Neurosci.* v.25, p.3032–40, 2005.

- LIM, K.; HAN, C.; XU, L.; ISSE, K.; DEMETRIS, A. J.; WU, T. Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin E2 activates betacatenin in human cholangiocarcinoma cells: evidence for inhibition of these signaling pathways by omega 3 polyunsaturated fatty acids. *Cancer Res*, v. 68, n.2, p.:553-60, 2008.
- LUMENG, C.N., SALTIEL, A. R. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest*. v.121, n.6, p.2111-7, 2011.
- MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; FRANCO, A. M. R. B. Fatty acids of the total, neutral, and phospholipids of the Brazilian freshwater Prochilodus scrofa. *Journal Food Composition and Analysis*, v.7, n.4, p. 240–251,1994.
- MATSUMOTO, M.; SATA, M.; FUKUDA, D. ; TANAKA, K.; SOMA, M.; HIRATA, Y, et al. Orally administered eicosapentaenoic acid reduces and stabilizes atherosclerotic lesions in ApoE-deficient mice. *Atherosclerosis*. v.197, n.2, p.524-33, 2008.
- MEURER, F. et al. Lipídeos na alimentação de laevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Ver. Brás. Zootecnia*, v.31, p.566-573, 2002.
- MILLER, M.; STONE, N. J.; BALLANTYNE, C. ; BITTNER ,V.; CRIQUI, M. H. ; GINSBERG, H. N. et al.; American Heart Association Clinical Lipidology, Thrombosis, and Prevention Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism, Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology, Council on Cardiovascular N. Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. v.123, n.20, p. 2292-333, 2011.
- MILTE, C. M. SINN, N. HOWE, P. R.C. Polyunsaturated fatty acid status in attention deficit hyperactivity disorder, depression, and Alzheimer's disease: towards an omega-3 index for mental health? *Nutrition Reviews*, v.67, n.10, p.573-590, 2009.
- MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. Consumo per capita Aparente de Pescado no Brasil de 1996 a 2009. O Brasileiro está comendo mais Pescado. Brasil, 2010. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br>> Acesso : 23 de agosto de 2010.
- MORGAN, D.R.; DIXON, L.J.; HANRATTY, C.G. et al. Effects of dietary omega-3 fatty acid supplementation on endothelium-dependent vasodilation in patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol* , v.97, p.547–51, 2006.
- OLSEN, S. F.; SECHER, N. J.; TABOR, A.; WEBER, T.; WALKER, J. J. C. Ensaio clínico randomizado. Suplementação de óleo de peixe em gestações de alto risco. Óleo de peixe na gravidez Trials FOTIP Team. *BJOG*, v.107, p. 382-95, 2007.
- OSMAN. H.; SURIAH, A. R.; LAW, E.C. Fatty acid composition and cholesterol content of selected marine fish in Malaysian waters. *Food Chemistry*, v.73. p. 55-60, 2001.

QIU-LAN, M. A.; BRUCE, T. M. et al. Omega-3 Fatty Acid Docosahexaenoic Acid Increases SorLA/LR11, a Sorting Protein with Reduced Expression in Sporadic Alzheimer's Disease (AD): Relevance to AD Prevention. *The Journal of Neuroscience*, v. 27, n.52, p.14299 –14307, 2007.

RAHMAN, S. A.; HUAH, T. S.; HASSAN, O.; DAUD, N. M. Fatty acid composition of some Malaysian freshwater fish. *Food Chemistry*, v.54, p.45–49, 1995.

RAMAKRISHNAN, U. ; STEIN, A. D. ; PARRA-CABRERA, S. ; WANG, M. ; IMHOFF-KUNSCH, B. ; JUAREZ-MARQUEZ, S. ; RIVERA, J; MARTORELL, R. Effects of docosahexaenoic acid supplementation during pregnancy on gestational age and size at birth: randomized, double-blind, placebo-controlled trial in Mexico. *Food Nutr Bull.* v.31, p.S108–16, 2010.

RAUCH, B.; SCHIELE, R.; SCHNEIDER, S.; DILLER, F., VICTOR, N.; GOHLKE, H, et al.; OMEGA Study Group. OMEGA, a randomized, placebo-controlled trial to test the effect of highly purified omega-3 fatty acids on top of modern guideline-adjusted therapy after myocardial infarction. *Circulation*. v.122, n.21, p.2152-9, 2010.

RIBEIRO, A. C. B. *Idade e Crescimento na agulha-branca (*hyporhaphus unifasciatus*) (Ranzani, 1842) com a Utilização da Microestrutura do otólito Lápilo na Costa do Estado de Pernambuco*. Monografia. Departamento de Engenharia de Pesca. Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE. 2002. 102p.

RIBEIRO, P.; MORAIS, T.B.; COLUGNATI, F. A. B.; SIGULEM, D. M. Tabelas de composição Química de Alimentos: análise comparativa com resultados laboratoriais. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, V.37, n.2, p.216-225, 2003.

SANTOS, L. E. S.; BORTOLOZO, E. A. F. Q. Ingestão de ômega 3: considerações sobre potenciais benefícios no metabolismo lipídico. *Exact earth sci., agr. Sci. Eng.*, Ponta Grossa, v.14, n.2, p. 161-170, 2008.

SCARMEAS, N.; STERN, Y.; TANG, MX.; MAYEUX, R.; LUCHSINGER, J. A. Mediterranean diet and risk for Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, v. 59, p.912–921, 2006.

SCHWAB, J. M.; CHIANG, N.; ARITA, M.; SERHAN, C. N. Resolvin E1 and protectin D1 activate inflammation-resolution programmes. *Nature*. v.447, p.869–74, 2007.

SEIKIKAWA, A.; UESHIMA, H.; KADOWAKI, T. et al. Less subclinical atherosclerosis in Japanese men in Japan than in white men in the United States in the post–WorldWar II birth cohort. *Am J Epidemiol*, v.165, p.617–24, 2007.

SEIKIKAWA, A.; CURB, J. D.; UESHIMA, H. Marine-derived n-3 fatty acids and atherosclerosis in Japanese, Japanese-American, and white men: a cross-sectional study. *J Am Coll Cardiol*, v.52, p.417–24, 2008.

SERHAN, C.N.; BRAIN, S.D. et al. Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. *FASEB J.* v.21, p.325–32, 2007.

SHIRAI, N.; SUZUKI, H.; TOKAIRIN, S. Spawning and season affect lipid content and fatty acid composition of ovary and liver in Japanese catfish (*Silurus asotus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, v.129, n.1, p.185–195, 2001.

SHIRAI, N.; TERAYAMA, M.; TAKEDA, H. Effect of season on the fatty acid composition and free amino acid content of the sardine *Sardinops melanosticlus*. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, v.131, p.387–393, 2002.

SIDDQUI, R. A.; HARVEY, K.A.; ZALOGA, G.P. Modulation of Lipid Rafts by omega-3 Fatty Acids in Inflammation and Cancer: Implications for Use of Lipids During Nutritional Support. *Nutr Clin Pract*, v. 22, p.74-88, 2007.

SIDHU, K. S. Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v.38, n.3, 336–344, 2003.

SIMOPOULOS, A. P, Leaf A, Salem N. Essentiality and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Ann Nutr Metabol.* v.43, n.3, p.127-30, 1999.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in wild plants, nuts and seeds. *Asia Pacific J Clin Nutr.* v.11, n.6, p.163-73, 2002.

SIMOPOULOS, A.P. Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Rev Inter.* v. 20, n.1, p.:77-9, 2004.

SIMOPOULOS, A. P. The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Exp Biol Med*, v.233, p.674–688, 2008.

SMUTS, C. M.; HUANG, M.; MUNDY, PLASSE, D. T.; MAJOR, S.; CARLSON, S. E. Um estudo randomizado de suplementação com ácido docosahexaenoico durante o terceiro trimestre da gravidez. *Obstet Gynecol*, v.101, p.469-79, 2003.

SORIGUEZ, F., SERNA, S., VALVERDE, et al. Lipid, protein, and calorie content of different Atlantic and Mediterranean fish, shellfish, and mollusks commonly eaten in the south of Spain. *European Journal of Epidemiology*, v.13, p.451–463, 1997.

SPECHER, H. Biochemistry of essential fatty acids. *Progress in Lipid Research*. v. 20, p. 217-225. 1981.

STANDSBY, M. E. Fatty acid patterns in marine, freshwater and anadromous fish. *Journal of American Oil Chemist's Society*, v.44, p.64–74, 1967.

SURETTE, MARC. E. The science behind dietary omega-3 fatty acids-REVIEW. *Canadian Medical Association or its licensors*, v. 2 p.177-179, 2008.

SWANSON, D.; BLOCK, R.; MOUSA, S. A. Omega-3 Fatty Acids EPA and DHA: Health Benefits Throughout Life. *Adv Nutr*, v.3, p.1 –7, 2012.

VISENTAINER, J. V.; CARVALHO, P. O.; IKEGAKI, M.; PARK, Y. K. Concentração de ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) em peixes marinhos da costa brasileira. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* vol.20, n.1,Campinas, Apr.2000.

VON SCHACKY, C.; ANGERER, P.; KOTHNY, W.; THEISEN, K.; MUDRA, H. The effect of dietary omega-3 fatty acids on coronary atherosclerosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* v.130, n.7, p.554-62, 1999.

VON SCHACKY, C. The role of omega-3 fatty acids in cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep*, v.5, p.139–45, 2003.

WANG, D.; DUBOIS, R. N. Prostaglandins and cancer. *Gut*. v.55, p.115–22, 2006.

WATSON, P. D.; JOY, P.S.; NKONDE, C.; HESSEN, S. E.; KARALIS, D.G. Comparison of bleeding complications with omega-3 fatty acids + aspirin + clopidogrel--versus--aspirin + clopidogrel in patients with cardiovascular disease. *Am J Cardiol.* v.104, n.8,1052-4, 2009.

WHELAN, J.; RUST, C. Innovative dietary sources of n-3 fatty acids. *Annu Rev Nutrv.*26, p.75-103, 2006.

WILLIAM, H. Omega-3 fatty acids: the “Japanese” factor? *J Am Coll Cardiol*, v.52, p.425–7, 2008.

YASHODHARA, B. M.; UMAKANTH, S.; PAPPACHAN, J. M.; BHAT,S. K.; KAMATH, R.; CHOO, B. H. Omega-3 fatty acids: a comprehensive review of their role in health and disease. *Postgrad. Med. J.*; v.85, p.84 – 90, 2009.

YIAN, G. U.; JERI, W. N. et al. Food Combination and Alzheimer Disease Risk A Protective Diet. *Arch Neurol.* v.67, n.6, p.699-706, 2010.

YOKOYAMA, M.; ORIGASA, H.; MATSUZAKI, M. et al. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis. *Lancet*, v.369, p.1090–8, 2007.

ZHAO, G.; ETHERTON, T.D.; MARTIN, K.R.; GILLES, P.J.; WEST, S.G; KRIS-ETHERTON, P. M. Dietary alpha-linolenic acid inhibits proinflammatory cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in hyper- cholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr*, v.85, p.385–91, 2007.

Apêndices

APÊNDICE A

Seasonal influence on lipid profiles of fish in Northeastern Brazil

Carolina Estevam Fernandes¹, Margarida Angélica da Silva Vasconcelos^{1,*}, Marisilda Ribeiro de Almeida², Leonie Asfora Sarubbo⁴, Samara Alvachian Cardoso Andrade³, Artur Bibiano de Melo Filho¹

¹Department of Nutrition at the Federal University of Pernambuco-UFPE. Prof. Moraes Rego Avenue, 1235 – Cidade Universitária, - CEP: 50670-901. Recife-PE, Brazil.

² Department of Nutrition at the Vitória Academic Center from the Federal University of Pernambuco-UFPE. Alto do Reservatório Street, S/N – Bela Vista CEP: 55608-680 Vitória de Santo Antão – PE, Brazil.

³ Department of Chemical Engineering at the Federal University of Pernambuco-UFPE. Prof. Moraes Rego Avenue, 1235 – Cidade Universitária, CEP: 50670-901. Recife-PE, Brazil.

⁴ Science and Technology Center at the Catholic University of Pernambuco, Nunes Machado Street, 42, Bloco J, Térreo, Boa Vista CEP 50050-590. Recife- PE, Brazil.

Corresponding author: Tel: 55 - 81- 86923615

E-mail: angelica@ufpe.br (Margarida Angélica da Silva Vasconcelos)

ABSTRACT

This study evaluated the influence of summer and winter on the content of total lipids and fatty acids profiles in four fish species: white needle (*Hemiramphus brasiliensis*), black needle (*Hyporhamphus unifasciatus*), mackerel (*Scomberomorus cavalla*), and sardines (*Opisthonema oglinum*). Total lipids were determined through the Bligh and Dyer method (1989) and fatty acids through gas chromatography. The statistical analysis showed that fatty acid values were higher in the winter in all analyzed species, however without significant difference between seasons, except in the pentanoic fatty acid (C:15) content, which showed significantly higher value in mackerel, in the summer. The highest contents of docosahexaenoic and eicosapentanoic acids were observed in sardines during the winter. All examined species contained ω -3/ ω -6 and ω -6/ ω -3 ratios that are nutritionally recommended.

Keywords: fish, lipids, fatty acids, *Hemiramphus brasiliensis*, *Hyporhamphus unifasciatus*, *Scomberomorus cavalla*, *Opisthonema oglinum*.

INTRODUCTION

Many marine fish species are known to be excellent sources of essential fatty acids that are important for human beings, especially polyunsaturated the fatty acids from the omega-3 series (AGPI N3), eicosapentaenoic acid (EPA, C20: 5n3), and docosahexaenoic acid (DHA, C22: 6n3) (HUYNH et al., 2007).

These fatty acids are known to reduce risk factors associated with cardiovascular diseases, protect against chronic inflammatory diseases such as arthritis, psoriasis, and asthma, reduce the incidence of several types of cancer, and improve the visual function (VILA NOVA et al., 2005; CALDER & YAGO, 2009; LECERF, 2009; MILTE et al., 2009).

The fatty acid composition in fish can vary between species and between individuals of the same species as the result of diet, reproductive cycle, capturing site, and seasons, among others (MOREIRA et al., 2001; ERKAN et al., 2007). Thus, many studies perform comparative chemical analyses in fish caught in different seasons (SHIRAI et al., 2002;

SYNNES & KJERSTAD, 2007; ZLATANOS & LASKARIDIS, 2007; ZOTOS & VOUZANIDOU, 2012).

The DHA/EPA ratio daily intake recommendation for humans is 0.5 g for infants and 1 g/day for adults and patients with heart disease according to the American Heart Association (KRIS-ETHERTON, HARRIS, & APPEL, 2002).

In Brazil, regardless of the existence of a wide variety of marine species, the actual contribution of fish to the human diet remains small. According to data from the Ministry of Fisheries and Aquaculture (2009), each Brazilian consumes an average of 9 kg of fish per year compared to the amount of 13 kg per inhabitant/year recommended by the World Health Organization.

Data on fish composition are indispensable for nutritionists, biologists, and scientists to assist in diet formulation, fish processing and conservation, ecological research, aquaculture, and dissemination of nutritional information that can stimulate change in dietary habits. Therefore, this study aimed to compare lipid profiles in four species of marine fish captured in two different seasons.

MATERIAL AND METHODS

2.1 Fish samples

The studied species, white needle (*Hemiramphus brasiliensis*), black needle (*Hyporhamphus unifasciatus*), mackerel (*Scomberomorus cavalla*), and sardine (*Opisthonema oglinum*) are the most representative species of socio-economic importance in Northeastern Brazil (MONTEIRO et al., 2009). Fresh samples were obtained from local fishermen in the coast of the State of Pernambuco, Northeastern Brazil.

About 4 kg per species (considered as one batch in this study) were collected during summer (January and February) and winter (June and July) in 2011. Sampling campaigns occurred at the beginning and end of each month, totaling eight sample batches for each species. The numbers of collected fish per species were: white needle $n = 45-50$, black needle $n = 45-50$, sardine $n = 15-20$, and mackerel $n = 3-5$.

2.2 Sample preparation

After collection, the fish samples were immediately transported *in natura* in coolers with ice to the laboratory. The biometric measurements (weight and length) taken were: white needle (79.35 ± 3.53 g and 17.48 ± 0.85 cm), black needle (81.88 ± 5.27 g and 18.56 ± 1.58 cm), sardine (254.73 ± 44.65 g and 23.04 ± 1.17 cm), and mackerel ($1,478.86 \pm 52.26$ g and 74.39 ± 3.12 cm). Edible parts (fillet) were separated and homogenized in a food processor until the formation of a homogeneous mass that was subsequently used in the analysis.

2.3 Determination of total lipids and fatty acids profiles

Total lipids were determined by the Bligh and Dyer method (1989); the lipid extract obtained from each sample was saponified and esterified according to the methodology proposed by Hartman & Lago (1973). This extract was placed in an amber glass tube, identified, and stored at -18°C until the chromatographic reading.

The procedures for separation, detection, and identification of fatty acids were conducted on the CG 17A / QP – 5050 (Shimadzu), chromatograph equipped with a "split/splitless" injector (1:10) and DB-5MS capillary column (30 m x 0.25 mm) with injector and detector temperatures of 250 and 280°C , respectively, 1.3 mL.mim $^{-1}$ 88 Helium flow, and programmed temperature ($140\text{--}200^{\circ}\text{C}/1^{\circ}\text{C}$ per minute, $200\text{--}280^{\circ}\text{C}/0.8^{\circ}\text{C}$ per minute, maintained at 280°C for 5 minutes). The range (m/z) of the EM detector was from 40 to 600. Fatty acids were identified by comparison using the WILEY database and quantified after normalizing the methyl esters areas; the results were expressed as a percentage of the area (%).

2.4 Statistical analysis

The centesimal composition values and fatty acid profiles were submitted to the Student "t" test at the 5% level of significance. The main component analysis was performed to verify relationships between fatty acids and the studied fish in the summer and winter seasons using the program "Statistics for Windows" (STATSOF, 1997).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Total lipid content

The lipid content in fish may vary according to the species, diet, geographical origin, and season (RASOARAHONA, et al., 2005).

Significant differences were observed between lipids contents in all species collected in different seasons (Table 1).

Luzia et al., (2003) analyzed the lipid profile of Brazilian fish of marine species, sardines (*Sardinella spp*) and croaker (*Micropogonias furnieri*), and fresh water species, curimbatá (*Prochilodus spp.*) and tilapia (*Oreochromis spp.*) from different regions in the country and concluded that the values of total saturated and unsaturated lipids were not influenced by seasonality.

Krzynowek (1985) reported that the amount of fat in some species can vary up to 10% depending on the time of capture.

The smallest lipids values were found in the white and black needles during summer. Herbivorous fish like the white needle (*Hemiramphus brasiliensis*) and black needle (*Hyporhamphus unifasciatus*) can show fat variation between summer and winter because they are migratory species that require energy expenditure, which also varies seasonally (RIBEIRO, 2002).

Conversely, carnivorous fish such as mackerel (*Scomberomorus cavalla*), although not considered migratory, spawn continuously with favorable environmental factors such as temperature (around 26 °C in the Northeastern region of Brazil, FONTELES SON, 1988). Monteiro et al. (2009) verified a more intense spawning between October and March at this site for this species. This information may explain the reduction in lipid content during the summer months (Table 1), suggesting the influence of the reproductive cycle on lipid content in fish.

Inhamus et al. (2008) studied the Brazilian species tucunaré (*Cichla sp.*) and mapará (*Hypophthalmus SP.*) during periods of rain (January to June) and drought (July to December) that are considered as summer and winter seasons in the Amazon, respectively. The authors found contradictory results between fat content increase and reduction, in these two species in two seasons, and attributed the differences to different reproductive periods between the species.

Huynh et al., (2007) found lipids content values of 10.7% in the summer and 2.4% in the winter in Pacific herring (*Clupeaharengus pallasi*), which spawning period occurs in the

winter. Thus, the lipid content of many fish may vary year round and can relate to the life cycle of the species (LOVE, 1997).

Sardines (*Opisthonema oglinum*) are plankton eaters and present their peak in reproduction and population expansion in the winter, when the species store greater amounts of fat compared to during summer (MONTEIRO et al., 2009).

3.2 Fatty acid composition

The compositions of fatty acids in the total lipids contents, in the studied species in summer and winter, are shown in Tables 2 and 3, respectively. Twenty-one fatty acids were identified (C12:0 to C22:6 ω -3) corresponding to approximately 80% of total lipids; values above 0.1% of fatty acids were observed in at least one of the samples.

All species showed amounts of fatty acids that were greater in the winter than in the summer, except for C:15 in mackerel ($p > 0.05$). Significant differences were observed between C:14 and C20:1n-9 acids in black needles only; significant differences were observed between C:12, C:14, C:20:1n-9, C:20:1n-11, C:22 n-11, C18:3 n-3, and C20:5n-3 acids in sardines.

All species showed high proportions of ω -3 PUFA, predominantly C20:5n-3 (EPA) and C22:6n-3 (DHA), along with substantial proportions of the C18:1n-9 monounsaturated fatty acid and C16:0 saturated fatty acid.

The C18:1 n-9 oleic acid was the predominant fatty acid in white and black needles that presented the pattern of MUFA > PUFA > SFA. The oleic acid was also found as predominant among MUFAs lipids in other species of marine fish (ÖZOGUL et al., 2007, ÖZOGUL et al., 2009).

In the summer, DHA (22:6 N-3) was the predominant fatty acid in sardines and pentadecanoic acid (C:15:0) was predominant in mackerel. Both species followed the same PUFA > SFA > MUFA pattern.

The percentage of DHA content (C22:6 N-3) exceeded those of EPA (C20: 5n3) in all studied species. Similar results were also reported in the Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*) studied by Iverson et al. (2002) and Burdge et al. (2002), respectively. Such findings contradict those of Özogul et al., (2009) who observed a DHA/EPA ratio of 0.33 in marine species from the Mediterranean.

Sardines presented the greatest EPA and DHA sum during the winter among the examined species, which is in agreement with the results reported by Luzia et al. (2003) in another species of sardines (*Sardinella spp*).

The ω -3 contents were not influenced by the seasons, however, the highest values were observed in sardines and mackerel during the winter. The results of high ω -3/ ω -6 ratios observed in all species (Tables 2 and 3) corroborate results reported in other studies, and are expected in marine fish (DIRAMAN & DIBEKLIOGLU, 2009; USYDUS et al., 2011).

According to Pigott and Tucker (1990), the ω -3/ ω -6 ratio is a useful indicator to compare the nutritional value of fish from different species. High ω -3/ ω -6 and ω -6/ ω -3 ratios when less than 4.0, are beneficial to human health (HMSO HAS, 1994, GOODSTINE et al., 2003). Therefore, the analyzed species could be considered sources of good quality lipids, independent if captured in the winter or summer, and its regular consumption should be encouraged.

The analysis of the first main component (PC1) (Figure 1) shows that it reproduces 87.85% of the information and that X and Z have negative scores featuring all studies species independent of the season, being summer or winter. These results can be verified in Tables 2 and 3, and show that despite the weather, all fish showed high X (Total N-3) and Z (EPA + DHA) values. The analysis of the second main component (PC2) (Figure 1) shows that it represents 11.69% of the information and that the fatty acid I (C18:1N-9) presents a positive score, characterizing the needle fish, regardless of climate and species (white or black). Conversely, sardines and mackerel, regardless of climate, present low levels of fatty acid I (C18:1N-9); nevertheless, mackerel and sardines are characterized by fatty acid V (C22:6N-3) with a negative score (Tables 2).

4.CONCLUSIONS

The results in this study allow concluding that the winter season favors the increase in lipids in all four studied species; sardines presented the highest lipid contents and the best lipid profile.

The ω -3/ ω -6 and ω -6/ ω -3 ratios observed in the studied species are beneficial to human health, regardless of the capturing period.

The importance of including fish in the human diet and the regular consumption of these species are noteworthy.

REFERENCES

1. Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). Rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
2. Burdge, G. C., Jones, A. E., Wootton, S. A. (2002). Eicosapentaenoic and docosapentaenoic acids are the principal products of alpha-linolenic acid metabolism in young men. *Br J Nutr.* 88 (4),355-63.
3. Calder, P.C., & Yagoob, P. (2009). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and human health outcome. *BioFactors*, 35(3), 266-272.
4. Diraman, H., & Dibeklioglu, H. (2009). Chemometric characterization and classification of selected freshwater and marine fishes from Turkey based on their fatty acid profiles. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86, 235–246.
5. Erkan, N., & Ozden, O. (2007). Proximate composition and mineral contents in aqua cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*), sea bream (*Sparus aurata*) analyzed by ICP-MS. *Food Chemistry*, 102 (3),721–725.
6. Fonteles Filho, A. A. Sinopse de informações sobre a cavala, *Scomberomorus cavalla* (Cuvier) e a serra, *Scomberomorus brasiliensis* Collette, (1988). Russo & Zavala-Camin (Pisces: Scombridae), no estado do Ceará, Brasil. *Arq. Est. Biol. Mar. Univ. Fed. Ceará*, 27, 21-48.
7. Goodstine, S. L., Zheng, T., Holford, T. R., et al.(2003). Dietary (n-3)/(n-6) fatty acid ratio: possible relationship to premenopausal but not post-menopausal breast cancer risk in U.S. women. *The Journal of Nutrition* 133 (5),1409-1414.
8. Hartman, L., & Lago, R. C. A. (1973). Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids, *Lab. Practice*, 22 (8), 475-477.
9. HMSO, UK. (1994). Nutritional aspects of cardiovascular disease (report on healthand social subjects N. (46). London: HMSO.

10. Huynh, M. D., Kitts, D. D., Hu, C., & Trites, A. W. (2007). Comparison of fatty acid profiles of spawning and non-spawning Pacific herring, *Clupea harengus pallasi*. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 146, 504–511.
11. Inhamus, A. J., & Franco, M. R. B.(2008). EPA and DHA quantification in two species of freshwater fish from Central Amazonia. *Food Chemistry*, 107, 587–591.
12. Iverson, S. J., Frost, K. J., Lang, S. L. C. (2002). Fat content and fatty acid composition of forage fish and invertebrates in Prince William Sound, Alaska: Factors contributing to among and within species variability. *Marine Ecology Progress Series*, 241, 161–181.
13. Krzynowek, J. Sterols and fatty acids in seafood.(1985). *Food Technology*, 39, 61–68.
14. Kris-etherton, P. M., Harris, W. S., Appel, L. J. (2003). Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: New recommendations from the American Heart Association. *Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biology*, 23, 151–152.
15. Lecerf, J. M. Fatty acids and cardiovascular disease. (2009). *Nutrition Reviews*, 67, (5), 273-283.
16. Love, R. M. (1997). Biochemical dynamics and the quality of fresh and frozen fish. In: Hall GM (ed.) *Fish ProcessingTechnology*. London: Blackie Academic and Professional, 1–31.
17. Luzia, L. A., Sampaio, G. R., Castellucci, C. M. N., Torres, E. A. F. S.(2003). The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. *Food Chemistry*, 83(1), 93–97.
18. Milte, C. M., Sinn, N., Howe, P. R.C. (2009). Polyunsaturated fatty acid status in attention deficit hyperactivity disorder, depression, and Alzheimer's disease: towards an omega-3 index for mental health? *Nutrition Reviews*, 67 (10), 573-590.
19. Ministério de Pesca e Aquicultura.(2009). Consumo Per capita aparente de pescado no Brasil de 1996 -2009. Boletim estatístico de Pesca e Aquicultura Brasil.
20. Monteiro, A., Nóbrega, M. F., Ribeiro, A., Lessa, R.(2009). *Dinâmica de Populações e Avaliação dos Estoques dos Recursos Pesqueiros do Nordeste do Brasil: Outras Espécies*. 1 ed. Fortaleza: Martins & Cordeiro LTDA, v. 5.
21. Moreira, A. B., Visentainer, J. V., de Souza, N. E., & Matsushita, M. (2001). Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian Brycon freshwater fishes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14, 565–574.

22. Özogul, Y., Özogul, F., & Alagoz, S. (2007). Fatty acids profiles and fat contents of commercially important seawater and freshwater fish species of Turkey: A comparative study. *Food Chemistry*, 103, 217–223.
23. Özogul, Y., Özogul, F., Çek, E., Polat, A., & Kuley, E. (2009). Fat content and fatty acid compositions of 34 marine water fish species from the Mediterranean Sea. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(6), 464–475.
24. Pigott, G. M., & Tucker, B. W. (1990). Seafood effects of technology on nutrition. Inc. New York: Marcel Dekker, pp. 359.
25. Rasoarahona, J. R. E., Barnathan, G., Bianchini, J-P., & Gaydou, E. M. (2005). Influence of season on the lipid content and fatty acid profiles of three tilapia species (*Oreochromis niloticus*, *O. macrochir* and *Tilapia rendalli*) from Madagascar. *Food Chemistry*, 91, 683–694.
26. Ribeiro, A. C. B. (2002). *Idade e Crescimento na agulha-branca hyporhaphus unifasciatus (Ranzani, 1842) com a Utilização da Microestrutura do otólito Lápilo na Costa do Estado de Pernambuco*. Monografia. Departamento de Engenharia de Pesca. Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE. 102p.
27. Shirai, N., Terayama, M., & Takeda, H. (2002). Effect of season on the fatty acid composition and free amino acid content of the sardine *Sardinops melanosticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 131, 387–393.
28. Synnes, M.; Kjerstad, W.E.L.M. (2007). Chemical characterization and properties of five deep-sea fish species. *LWT*, 40, 1049–1055.
29. STATSOFT, Inc. *STATISTICA for Windows* [Computer program manual]. Tulsa, OK. StatSoft, 1997.
30. Usydus, Z., Szlinder-Richert, J., Adamczyk, M., & Szatkowska, U. (2011). Marine and farmed fish in the Polish market: Comparison of the nutritional value. *Food Chemistry*, 126, 78–84.
31. Vila nova, C. M. V. M., Godoy, H. T., Aldrigue, M. L. (2005). Composição química, teor de colesterol e caracterização dos lipídios totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e pargo (*Lutjanus purpureus*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 25 (3), 430-436..

32. Zlatanos, S., & Laskaridis, K. (2007). Seasonal variation in the fatty acid composition of three Mediterranean fish – sardine (*Sardina pilchardus*), anchovy (*Engraulis encrasicholus*) and picarel (*Spicara smaris*). *Food Chemistry*, 3, 725–728.
33. Zotos, A., Vouzianidou, M.(2012). Seasonal changes in composition, fatty acid, cholesterol and mineral content of six highly commercial fish species of Greece. *Food Science and Technology International* 18(2), 137-149

TABLES

Table 1. Lipid values determined in the summer and winter in the studied species.

Species	Lipids (% wet weight)	
	SUMMER	WINTER
White needle	0.50 ±0.08	1.60 ±0.02*
Black needle	0.72 ±0.06	1.70 ±0.05*
Sardine	7.93 ±0.57	10.14±0.15*
Mackerel	1.40 ±0.04	2.52 ±0.07*

Average of four batches analyzed in triplicate. Averages with asterisks in the same row and for each season differ significantly based on the Student's t test ($p < 0.05$).

Table 2. Main fatty acids (%) from total lipids in white needle, black needle, sardines, and mackerel during summer and winter.

Fatty acids (%)	White needle		Black needle		Sardine		Mackerel	
	summer	winter	summer	winter	summer	winter	summer	winter
Saturates								
C:12:0	0,00±0,00 ^a	0,06±0,04 ^a	0,00±0,00 ^a	0,02±0,07 ^a	0,10±0,04 ^b	0,36±0,04 ^a	1,13±0,13 ^a	1,24±0,08 ^a
C:14:0	1,66±0,20 ^a	1,68±0,08 ^a	1,58±0,06 ^b	1,90±0,07 ^a	4,16±0,14 ^a	4,40±0,07 ^a	1,32±0,03 ^a	1,45±0,06 ^a
C:15:0	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,15±0,03 ^a	0,00±0,00 ^b	6,12±0,02 ^a	0,00±0,00 ^b
C:16:0	10,88±0,11 ^a	10,91±0,04 ^a	10,94±0,10 ^a	10,98±0,04 ^a	20,31±2,59 ^a	20,45±1,60 ^a	16,34±0,42 ^a	16,40±0,08 ^a
C:17:0	0,68±0,14 ^a	0,71±0,08 ^a	1,03±0,01 ^a	1,08±0,01 ^a	0,35±0,08 ^a	0,45±0,04 ^a	1,15±0,05 ^a	1,29±0,03 ^a
C:18:0	4,98±0,04 ^a	5,02±0,03 ^a	5,80±0,23 ^a	5,87±0,08 ^a	7,87±0,05 ^a	7,94±0,04 ^a	6,74±0,12 ^a	6,79±0,04 ^a
Monounsaturates								
C16:1N-7	9,14±0,06 ^a	9,16±0,01 ^a	9,19±0,01 ^a	9,22±0,04 ^a	7,41±0,11 ^a	7,50±0,10 ^a	2,70±0,06 ^a	2,75±0,05 ^a
C17:1	2,11±0,04 ^a	2,13±0,06 ^a	2,03±0,15 ^a	2,06±0,03 ^a	1,05±0,05 ^a	1,09±0,03 ^a	0,28±0,01 ^a	0,37±0,06 ^a
C18:1N-9	15,44±0,07 ^a	15,68±0,11 ^a	15,71±0,27 ^a	15,83±0,10 ^a	4,25±0,08 ^a	4,27±0,09 ^a	10,08±0,05 ^a	10,13±0,04 ^a
C20:1N-9	10,17±0,03 ^a	10,18±0,10 ^a	10,08±0,06 ^b	10,31±0,04 ^a	0,74±0,05 ^b	0,98±0,06 ^a	0,56±0,11 ^a	0,61±0,04 ^a
C20:1N-11	0,14±0,12 ^a	0,20±0,04 ^a	0,12±0,01 ^a	0,16±0,01 ^a	0,04±0,03 ^b	0,16±0,03 ^a	0,13±0,01 ^a	0,12±0,01 ^a
C22:1N-9	1,23±0,01 ^a	1,29±0,03 ^a	1,20±0,03 ^a	1,31±0,04 ^a	0,11±0,02 ^a	0,17±0,01 ^a	0,06±0,05 ^a	0,07±0,04 ^a
C22:1N-11	9,85±0,06 ^a	9,91±0,06 ^a	9,56±0,03 ^a	9,60±0,08 ^a	0,13±0,01 ^b	0,30±0,04 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
Polyunsaturated								
C18:2N-6	1,43±0,04 ^a	1,44±0,04 ^a	1,35±0,04 ^a	1,39±0,03 ^a	1,80±0,08 ^a	1,89±0,03 ^a	3,33±0,11 ^a	3,37±0,10 ^a
C18:3N-3	1,05±0,01 ^a	1,07±0,07 ^a	1,07±0,03 ^a	1,15±0,04 ^a	0,61±0,01 ^b	0,73±0,02 ^a	1,50±0,06 ^a	1,62±0,03 ^a
C20:2N-6	0,30±0,13 ^a	0,32±0,08 ^a	0,62±0,11 ^a	0,75±0,03 ^a	0,57±0,13 ^a	0,66±0,01 ^a	0,31±0,06 ^a	0,40±0,04 ^a
C20:4N-6	0,65±0,03 ^a	0,72±0,04 ^a	0,57±0,08 ^a	0,61±0,06 ^a	1,01±0,06 ^a	1,07±0,06 ^a	1,30±0,05 ^a	1,38±0,08 ^a
C20:4N-3	0,30±0,08 ^a	0,36±0,06 ^a	0,21±0,06 ^a	0,25±0,07 ^a	0,77±0,03 ^a	0,84±0,05 ^a	0,10±0,01 ^a	0,16±0,01 ^a
C20:5N-3	6,38±0,10 ^a	6,44±0,07 ^a	6,79±0,17 ^a	6,82±0,08 ^a	10,59±0,02 ^b	10,73±0,03 ^a	7,50±0,11 ^a	7,53±0,17 ^a
C22:5N-3	0,89±0,07 ^a	0,95±0,11 ^a	0,58±0,10 ^a	0,69±0,06 ^a	2,93±0,13 ^a	3,03±0,01 ^a	1,87±0,20 ^a	1,88±0,01 ^a
C22:6N-3	9,10±0,04 ^a	9,14±0,04 ^a	9,90±0,04 ^a	9,92±0,04 ^a	30,18±0,15 ^a	30,22±0,11 ^a	27,53±0,07 ^a	27,56±0,02 ^a
Total N3	17,72±0,14 ^a	17,96±0,35 ^a	18,55±0,39 ^a	18,83±0,13 ^a	45,08±0,04 ^a	45,55±0,15 ^a	38,50±0,29 ^a	38,75±0,19 ^a
Total N6	2,38±0,20 ^a	2,94±0,57 ^a	2,54±0,24 ^a	3,25±0,76 ^a	3,38±0,01 ^a	3,62±0,09 ^a	4,94±0,23 ^a	4,27±1,10 ^a
EPA+DHA	15,48±0,14 ^a	15,58±0,11 ^a	16,69±0,21 ^a	16,74±0,04 ^a	40,77±0,13 ^a	40,95±0,08 ^a	35,03±0,17 ^a	35,09±0,20 ^a

Médias seguidas de mesma letra na horizontal na mesma espécie de peixe não apresentam diferença estatisticamente significante ($p>0,05$) de acordo com o teste "t" de Student;

FIGURAS

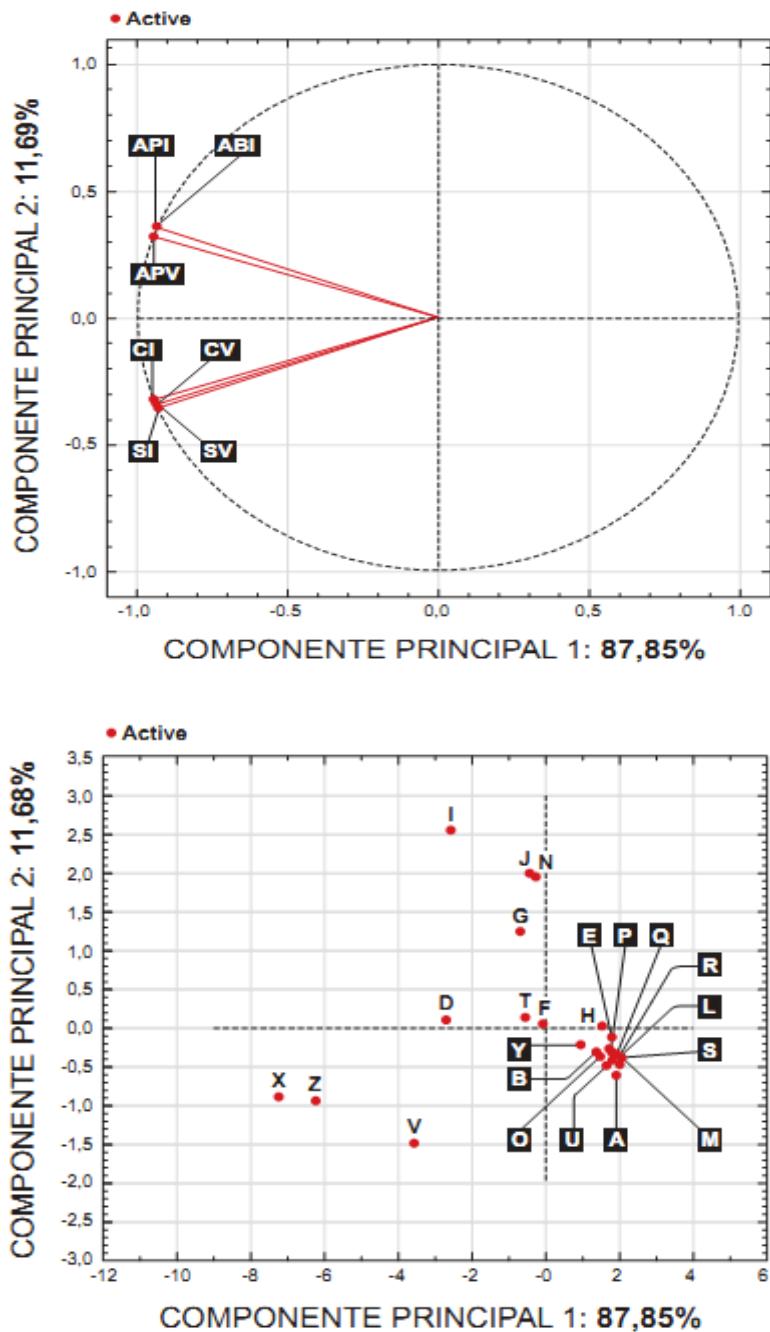


Figura 1. Projeção dos scores e loadings de Analise de Componentes Principais dos ácidos graxos de diversos peixes pesquisados. ABV: Agulha Branca no verão; ABI: Agulha Branca no inverno; APV: Agulha Preta no verão; API: Agulha Preta no inverno; SV: Sardinha no verão; SI: sardinha no inverno; CV: Cavala no verão; CI: Cavala no inverno. A (C:12:0); B(C:14:0); C(C:15:0); D(C:16:0); E(C:17:0); F(C:18:0); G(C16:1N-7); H(C17:1); I(C18:1N-9); J(C20:1N-9); L(C20:1N-11); M(C22:1N-9); N(C22:1N-11); O(C18:2N-6); P(C18:3N-3); Q(C20:2N-6); R(C20:4N-6); S(C20:4N-3); T(C20:5N-3); U(C22:5N-3); V(C22:6N-3); X(Total N3); Y(Total N6); Z (EPA+DHA).

Anexos

ANEXO A – Artigo original publicado

Nutritional and lipid profiles in marine fish species from Brazil

Carolina Estevam Fernandes¹, Margarida Angélica da Silva Vasconcelos^{1,*}, Marisilda Ribeiro de Almeida², Leonie Asfora Sarubbo³, Samara Alvachian Cardoso Andrade⁴, Artur Bibiano de Melo Filho¹

¹Department of Nutrition at the Federal University of Pernambuco-UFPE. Prof. Moraes Rego Avenue, 1235 – Cidade Universitária, - CEP: 50670-901. Recife-PE, Brazil.

²Department of Nutrition at the Vitória Academic Center from the Federal University of Pernambuco-UFPE. Alto do Reservatório Street, S/N – Bela Vista CEP: 55608-680 Vitória de Santo Antão – PE, Brazil.

³Science and Technology Center at the Catholic University of Pernambuco, Nunes Machado Street, 42, Bloco J, Térreo, Boa Vista CEP 50050-590. Recife- PE, Brazil.

⁴Department of Chemical Engineering at the Federal University of Pernambuco-UFPE. Prof. Moraes Rego Avenue, 1235 – Cidade Universitária, CEP: 50670-901. Recife-PE, Brazil.

Corresponding author: Tel : 55 - 81- 86923615

E-mail: angelica@ufpe.br (Margarida Angélica da Silva Vasconcelos)

ABSTRACT

Centesimal composition and lipid profiles were evaluated in muscle tissue of four species of Brazilian fish using the Kjeldahl and Bligh & Dyer gravimetric methods and gas chromatography, respectively. The moisture, protein, total lipid, and ash values (g/100 g) ranged from 71.13 to 78.39; 18.10 to 19.87; 1.05 to 9.03; and 1.03 to 1.73, respectively. Palmitic acid was prevalent among the saturated fatty acids (10.89 to 20.38%) and oleic acid was the main monounsaturated acid identified (4.26 to 15.77%). The eicosapentaenoic-EPA (6.41 to 10.66%) and docosahexaenoic-DHA (9.12 to 30.20%) acids were the most prevalent polyunsaturated acids. The average values, which are indicative of nutritional quality, were: Polyunsaturated/saturated (P/S) (1.11 to 1.47), $\omega 6/\omega 3$ (0.08 to 0.21), hypocholesterolemic/hypercholesterolemic acid ratios (HH) (0.87 to 2.43), atherogenicity index (IA) (0.26 to 0.60), and thrombogenicity index (IT) (0.20 to 0.44). These results demonstrated that the lipid profiles of the studied species are of nutritional quality.

Keywords: fatty acids; CG; marine fish; EPA; DHA

1. INTRODUCTION

Fish is not only a source of high nutritional quality protein, but also a significant reserve of polyunsaturated fatty acids, especially the eicosapentanoic (EPA-C20: 5 ω -3) and docosahexaenoic (DHA-C22: 6 ω -3) acids. These two fatty acids are known to present health benefits to humans because they reduce risk factors associated with cardiovascular disease, hypertension, general inflammation, asthma, arthritis, psoriasis, and various types of cancer. The ω -3 and ω -6 fatty acids are primarily supplied in the diet because they are not synthesized by the human body (Calder, 2009; Hooper et al., 2009).

The ω -6/ ω -3 ratio in human food was recorded in ratios between 1:1 and 2:1 before the agricultural and food industrialization revolution. Currently, this ratio has varied between 15:1 and 40:1 and is strongly correlated to increased incidence of chronic non-transmissible diseases (Simopoulos, 2002; Santos et al., 2013). Therefore, the Western diet, composed of high contents of red meat, refined flours, and industrial products, consequently with high levels of ω -6 and low levels of ω -3, is considered an unbalanced diet. Therefore, increasing ω -3 and reducing ω -6 consumption to mitigate the ω -6/ ω -3 ratio has been suggested as being beneficial to health (Kris-Etherton et al., 2010). However, the validity of only using the ω -6/ ω -3 ratio in clinical practice as one of the cardiovascular risk indicators has been questioned by experts who suggest that dietary recommendations should be made not only based on the ω -6/ ω -3 ratio, but also on the basis of total consumption of each polyunsaturated fatty acid (Griffin, 2008).

Marine fish are a source of ω -3 long-chain polyunsaturated fatty acids and contain a higher proportion of this nutrient than freshwater fish, which are usually characterized by high levels of ω -6 polyunsaturated fatty acids, especially linoleic (18:2 ω -6) and arachidonic acids (20:4 ω -6) (Ozogul, et al., 2007; Huynh et al., 2009).

The fatty acid composition in tissues of marine fish can vary among species and among individuals, depending on their diet, size, age, gender, environmental conditions, season, and method of capture (Luzia, et al., 2003; Erkan & Özden 2007).

Brazil has about 8,500 km of coastline with tropical and subtropical environmental conditions and waters with high temperature and salinity (Monteiro et al., 2009). Nevertheless, regardless of Brazil's highly diverse ichthyofauna and extensive hydrographic systems, information about chemical composition and lipid profiles in marine fish species is

scarce. Most of the published studies about lipid content have analyzed fish species from the Pacific, Mediterranean, and Indian oceans (Zotos et al., 2012; Huynh et al., 2009; Ozogul et al., 2007; Zuraini et al., 2006).

Statistical reports indicate a clear expansion of the fishing sector in Brazil (extractive fishing and aquaculture); however, the "per capita" consumption of fish at the national level has not been growing at the same rate (Brasil, 2012). This could be attributed to lack of information on the nutritional composition of Brazilian fish, a factor which could represent an important stimulus for the consumption of this food, such as recommended in the Mediterranean Diet Guide.

Hence, this study evaluated the chemical composition and lipid profiles in black needle (*Hemiramphus brasiliensis*), white needle (*Hyporhamphus unifasciatus*), mackerel (*Scomberomorus cavalla*), and sardines (*Opisthonema oglinum*), which are the most important commercial fish species in northeastern Brazil.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 Sample collection and preparation

The study samples were obtained from fishing communities located on the coastline of Pernambuco State, Northeastern Brazil.

Batches of 4 kg per studied species were collected at the beginning and end of February, March, June, and July 2011, a total of eight batches per species. Samples were transported to the laboratory in coolers with ice where all fish were weighted and lengths (standard) were measured (Table 1).

Heads and guts were removed, and fillets were ground in a food processor until formation of a homogeneous mass, which was used for the analyses.

2.2 Proximate analysis

Moisture was determined by gravimetry after drying the material in an oven at 105 °C according to the AOAC method (2002). Total lipids were determined using the Bligh and Dyer (1989) method, and protein content was determined according to the Kjeldahl method described in AOAC (2002). The determination of mineral residues was performed by gravimetry after burning the material in a muffle furnace at 550 °C (AOAC, 2002). All analyses were performed in triplicates.

2.3 Determination of fatty acids profiles

Lipid extracts were esterified according to the method proposed by Hartman & Lago (1973). Extracts were stored in amber glass tubes and frozen (-18 °C) until chromatographic readings were performed.

Fatty acid profiles were analyzed in a GC 17A / QP – 5050 (Shimadzu), chromatograph equipped with a "split/splitless" injector (1:10) and DB-5MS capillary column (30 m x 0.25 mm) with injector and detector temperatures of 250 and 280 °C, respectively, 1.3 mL.mim⁻¹ Helium flow, and programmed temperature (140-200 °C/1 °C per minute, 200-280 °C/0.8 °C per minute, maintained at 280 °C for 5 minutes). The range (m/z) of the MS detector was from 40 to 600. Fatty acids were identified by comparison using the WILEY 221/1995 database and quantified after normalizing the methyl esters areas; the results were expressed as percentage of the area (%).

2.4 Lipids nutritional quality indexes (IQN)

The data from fatty acids composition analysis were used to determine the nutritional quality of the lipid fraction. Nutritional quality was assessed by three indexes using the following calculations:

(1) Atherogenicity index (AI) = $[(C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0)] / (\Sigma AGMI + \Sigma \omega 6 + \Sigma \omega 3)$ (Ulbricht & Southgate, 1991)

(2) Thrombogenicity index (IT) = $(C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0.5 \times \Sigma AGMI) + (0.5 \times \Sigma \omega 6 + (3 \times \Sigma \omega 3) + (\Sigma \omega 3 / \Sigma \omega 6))]$ (Ulbricht & Southgate, 1991)

(3) Fatty acids hypocholesterolemic/hypercholesterolemic ratios (HH) = $(C18:1cis9 + C18:2\omega 6 + C20:4\omega 6 + C18:3\omega 3 + C20:5\omega 3 + C22:5\omega 3 + C22:6\omega 3) / (C14:0 + 16:0)$ (Santos-Silva, 2002).

2.5 Statistical analysis

The data from centesimal composition and fatty acid profiles were subjected to analysis of variance (ANOVA) and compared by the Tukey's test at 5% level of significance using the "Statistic for Windows 6.1" software (STATSOFT, 1997).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Proximate analysis

The chemical composition of fish fillets is shown in Table 2. The moisture values obtained were within ranges previously established for fish (70% and 90%) (Çelik et al., 2005).

Protein content among the four species studied varied significantly. Protein composition of fish can vary according to the species, size, gender, and season. However,

muscle generally contains about 20% protein (Erkan et al., 2007). In this study, protein values ranged from 18.10 to 19.87% consistent with literature findings (Caula et al., 2008; Zotos et al., 2012; Synnes et al., 2007).

The moisture, ash, and protein contents presented in Table 2 are similar to values reported in muscle of other fish species such as pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*), dourado (*Salminus maxillosus*) (Ramos-Filho, et al., 2008), and snapper (*Lutjanus purpureus* marine) (Caula et al., 2008).

Significant differences ($p \leq 0.05$) between muscle tissue lipid contents of sardines and mackerel (< 2%) were observed. These results, along with those of Ackman (1989), suggest that sardines could be classified as high fat content fish (> 8%) and the other species as lean fish (< 2%).

Huynh et al., (2009), observed variations in lipid content in Pacific fish species between 0.73% in whiting filet (*Merluccius productus*) and 10.78% in herring fillet (*Clupeaharengus pallasi*). These results are similar to those observed in the marine species from the Atlantic Ocean analyzed in this study.

In this study, the lipid content detected in sardines (9.03%) was higher than that reported in other sardine species such as *Sardinella brasiliensis* (4.6%), captured in salt water during the month of September, and *Triploportheus angulatus* (8.9%) captured in fresh water between January and May (Caula et al., 2008; Saldanha et al., 2008). Luzia et al., (2003) reported lipid content values of 10.6% in *Sardinella sp.* captured in the month of July (winter) in the Southeastern region of the Brazilian coast. These data confirm the influence of species

and seasonality on the lipid content of sardines and corroborate results found by Bandarra et al., (1997).

The average ash content presented significant differences ($p \leq 0.05$) among the studied species, however, the values agreed with data reported in the literature for marine fish (Erkan & Özden, 2007). The ash values obtained in mackerel (*Scomberomorus cavalla*), white needle (*Hemiramphus brasiliensis*), and black needle (*Hyporhamphus unifasciatus*) were within the range reported in lean fish, between 0.5% and 1.5% (Zotos et al., 2012).

The carbohydrate contents ranged from 0.01 to 0.65% in the studied species, while Karakoltsidis et al. (1995) report values ranging from 0.3 to 6%.

The highest caloric value was observed in sardines and the lowest in white needles.

3.2 Fatty acids profiles

The fatty acid compositions in total lipids of the studied species are presented in Table 3. Twenty-one fatty acids, composed of C12:0 to C22: 6 ω -3, that exceeded the minimum of 0.1% of the total fatty acids in at least one of the fish samples, were identified and compared. These ranged from 79.91 to 96.17% of the total identified lipid fatty acids. Unidentified fatty acids with concentrations of 3.83 to 20.09% were not considered in the calculation.

The results showed that the studied species presented elevated proportions of ω -3 PUFA, predominantly C20: 5 ω -3 (EPA) and C22: 6 ω -3 (DHA) along with substantial proportions of C18:1 ω -9 monounsaturated fatty acid and C16:0 saturated fatty acid. Sardines and mackerel followed the same PUFA>SFA>MUFA relative pattern, and the black and white needle showed the MUFA>PUFA>SFA pattern.

In the recent decades, the WHO has recommended reduced consumption of saturated fatty acids based on their effects in increasing LDL-c and risks of heart diseases (Santos et al.,

2013). Thus, the comparison between the observed patterns in the studied species shows that the black and white needle presents the best fatty acids profile because they carry the lowest amount of saturated fatty acids in their composition. However, the amount of polyunsaturated fatty acids exhibited in sardines and mackerel was significant even with their saturated fat content being higher than that observed in black and white needle.

3.2.1 Saturated fatty acids

Palmitic acid (C16: 0) was the most abundant saturated fatty acid (10.89 to 20.38%) followed by stearic acid (C18:0, 5.00 to 7.90%); Zuraini et al., (2006) report similar results. The sum of all identified saturated fatty acids ranged from 18.28 and 33.26%, which is in agreement with values reported in other species (Ozogul et al., 2007; Luzia et al., 2003; Shirai et al., 2002). The lauric (C12:0) and myristic (C14:0) fatty acids, which promote hypercholesterolemia, were detected at low concentrations in the studied species demonstrating a positive factor in their consumption.

3.2.2 Monounsaturated fatty acids

The monounsaturated fatty acid contents in white and black needle constituted about half of the total fatty acids; sardines and mackerel contained very low proportions of MUFAS, with an average of 14.01%. The main MUFAS were: C16:1 ω -7, C18:1 ω -9, C20: 1 ω -9, and C22:1 ω -11, with high variation among the studied species. Oleic acid (C18: 1 ω -9) was abundant in black and white needle, and mackerel while the lowest concentration was observed in sardines, which is classified as a fat fish. These results are consistent with those obtained by Huynh et al., (2009) who demonstrated higher oleic acid content (7.18% to 12.15%) in fish species with low fat content, and lower oleic acid content (4.16 the 4.97%) in

fish with lipid content above 4%. Mendez & Gonzalez (1997) also report high oleic acid content in lean fish (17.6% in whiting fillet *Merluccius hubbsi*) from Southwestern Atlantic.

C20: 1 ω-9 and C22: 1ω -11 acids contents of black and white needle were significantly different from the other examined species. The low content in both monounsaturated acids observed in sardines agrees with the values reported (0.8-1.8% and 0.5-2.7%) in Japanese sardines (*Sardinops melanosticus*) (Shirai et al., 2002).

3.2.3 Polyunsaturated fatty acids

Sardines contained the highest proportion of PUFAS (48.81%). The correlation between low fat and low levels of PUFAS in fish is reported by Coperman and Parrish (2004) and was observed in white and black needle in this study. However, the PUFAS results observed in mackerel (35.66%), a species classified as a lean fish, contradict this statement. Menezes et al., (2006) analyzed mackerel (*Scomberomorus cavalla*) captured on the northeastern coast of Brazil and also observed high percentage of PUFAS (40.89%), consistent with the data presented in Table 3.

All examined species contained a higher proportion of ω-3 than ω-6 PUFA, a result which was expected because these are marine fish. Nevertheless, ω -3 PUFAs DHA (C22: 6 ω-3) and EPA (C20: 5 ω -3) were predominant (80%) among the total n-3 PUFAs.

The DHA proportion varied among the studied species and the highest content (30.20%) was observed in sardines. Similar results were reported for Japanese sardines (*Sardinops melanosticus*) (32.5%) (SHIRAI et al., 2002), and European sardines (*Sardina pilchardus*) (22.19%) (Bandarra et al., 1997). Shirai et al. (2002) suggest that the fatty acid composition in different species of sardines is significantly influenced by the plankton ingested, which, in turn, depends on the geographical area they inhabit.

The EPA content of lean species was 6.41% to 8.51% and showed smaller variation; the EPA content of sardine was 10.66. The percentage of DHA content exceeded those of EPA in all studied species. DHA levels (25.9% and 22.8%) that were higher than EPA levels (13.7% and 11.2%) were reported in total lipid content of species of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) (Iverson et al., 2002) and Atlantic cod (*Gadus morhua*) (BUDGE et al., 2002), respectively. In this study, the DHA/EPA ratio ranged between 1.42 and 2.83%; sardines showed the highest ratio.

The essential a-linolenic acid (C18: 3 ω -3) was present at low concentrations (<3%) in all studied species. This result is supported by the findings of Ozogul et al. (2007), who noted that lipid profiles in marine fish are influenced by diets with a predominance of C20: 5n-3 and C22: 6n-3 and small quantities of C18: 2 n-6 and C18: 3n-3.

Among the n-6 PUFAS observed, linoleic acid (C18: 2 ω -6) was the most abundant ranging from 1.37 to 4.35%; arachidonic acid (C20: 4 ω -6) was the next most abundant (0.59% to 1.34%).

The consumption of foods that contain relatively high levels of ω -3 PUFA and small amounts of ω -6 PUFA provides a high ω 3/ ω 6 ratio that is favorable to human health and has been used as an indicator to compare fish nutritional values (Simopoulos, 2002).

3.2 Lipids nutritional quality indexes (IQN)

The nutritional quality of lipid profiles observed in the studied species was evaluated by different indexes as described in Table 4.

Foods with polyunsaturated and saturated fatty acids (P/S) ratios below 0.45 have been considered undesirable for the human diet (Department of health and social security, 1994)

because of their potential to induce cholesterol increase in the blood. In this study, P/S ratios ranged from 1.11 in white needle to 1.47 in mackerel.

The HH index refers to the Σ hypercholesterolemic fatty acids/ Σ hypercholesterolemic fatty acids ratio and is related to cholesterol metabolism. Nutritionally, higher HH values are considered more beneficial for human health. HH values obtained in this study ranged from 0.87 to 2.46 with the black and white needle showing the highest values. Similar results were reported in other marine fish (Testi et al., 2006).

According to Turan et al. (2007), the atherogenicity (IA) and thrombogenicity (IT) indexes indicate potential for stimulating platelet aggregation. Thus, the smaller the IA and IT values, the greater the protective potential for coronary artery disease.

In this study, the IA values ranged between 0.26 and 0.60 with black and white needle showing the lowest observed values. Values of 0.21 to 0.29 are reported by Senso et al. (2007) for the marine fish *Sparus aurata*. The lowest thrombogenicity index (IT) value of 0.2 was observed in sardines. Our results are within the range of expected values for the IA and IT indexes, at 1 and 0.5, respectively.

Values of the ω_6/ω_3 ratio below 4.0 in a diet indicate desirable quantities for cardiovascular risk prevention (Department of health and social security, 1994). The ω_6/ω_3 ratio ranged from 0.08 in sardines to 0.20 in mackerel, suggesting that these species could be categorized as beneficial to human health consumption.

4. CONCLUSIONS

According to our results, sardines were classified as fat fish while mackerel and white and black needle were classified as lean fish.

All species showed elevated proportions of n-3 PUFA, predominantly C20:5 ω-3 (EPA) and C22:6 ω-3 (DHA) and substantial proportions of the C18: 1 ω-9 monounsaturated fatty acid and C16:0 saturated fatty acid.

The proportion of polyunsaturated fatty acids was greater in sardines and mackerel, while the black and white needle presented the highest levels of monounsaturated acids.

The P/S ratios, ω6/ω3, HH, IA, and IT, which are indicators of lipids nutritional quality in food, indicated that the consumption of these species could be beneficial to human health because they present proportionality between lipid components.

BIBLIOGRAPHICAL REFERENCES

34. Ackman, R.G. (1989). Seafood lipids and fatty acids. *Food Reviews International*, 6, 617–646.
35. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (2002). *Official methods of analysis of AOAC international*. 17^a ed. Arlington.
36. Bandarra, N. M., Batista, I., Nunes, M. L., Empis, J. M., & Christie, W. W. (1997). Seasonal Change in Lipid Composition of Sardine (*Sardina pilchardus*). *Journal of Food Science*, 62, 40-42.
37. Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). Rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
38. Brasil. (2012). Ministério da Pesca e Aquicultura. *Boletim estatístico da pesca e aquicultura Brasil 2010*. Brasília: MPA.
39. Budge, M. S., Iverson, J. S., Bowen, D. W., & Ackman, G. R. (2002). Among and within species variability in fatty acid signatures of marine fish and invertebrates on

- the Scotian Shelf, George Bank, and Southern Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59, 886–898.
40. Calder, P. C., & Yagoob, P. (2009). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and human health outcome. *BioFactors*, 35, 266-272.
41. Caula, F. C. B., Oliveira, M. P., & Maia, E. L. (2008). Teor de colesterol e composição centesimal de algumas espécies de peixes do estado do Ceará. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 28, 959-963.
42. Çelik, M., Diler, A., & Küçükgülmez, A. (2005). A comparison of the proximate compositions and fatty acid profiles of zander (*Sander lucioperca*) from two different regions and climatic conditions. *Food Chemistry*, Champaign, 92 (4), 637-641.
43. Coperman, L. A., & Parrish, C. C. (2004). Lipid classes, Fatty acids, and sterols in seafood from Gilbert Bay, Southern Labrador. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 4872–4881.
44. Department of Health and Social Security. Diet and cardiovascular disease. (1984). *Report on Health and social subjects*, HMSO, London, 28, 443-456.
45. Erkan, N., & Özden, O. (2007). Proximate composition and mineral contents in aqua cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*), sea bream (*Sparus aurata*) analyzed by ICP-MS. *Food Chemistry*, 102(3), 721–725.
46. Griffin, B. A. (2008). How relevant is the ratio of dietary n-6 to n-3 polyunsaturated fatty acids to cardiovascular disease risk? Evidence from the OPTILIP study. *Curr Opin Lipidol.*, 19 (1), 57-62.
47. Hartman, L., & Lago, R. C. A. (1973). Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids, *Lab. Practice*, 22 (8), 475-477.

48. Hooper, L., Thompson, R. L., Harrison, R. A., Summerbell, C. D. et al. (2009). Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systematic review. *Br Med J*, 332, 752–60.
49. Huynh, M. D., & Kitts, D. D. (2009). Evaluating nutritional quality of pacific fish species from fatty acid signatures. *Food Chemistry*, 114, 912–918.
50. Iverson, S. J., Frost, K. J., & Lang, S. L. C. (2002). Fat content and fatty acid composition of forage fish and invertebrates in Prince William Sound, Alaska: Factors contributing to among and within species variability. *Marine Ecology Progress Series*, 241, 161–181.
51. Karakoltsidis, P. A., Zotos, A., & Constantinides, S. M. (1995). Composition of the commercially important Mediterranean finfish, crustaceans, and molluscs. *Journal of Food Composition and Analysis*, 8, (3), 258-273.
52. Kris-Etherton, P., Fleming, J., & Harris, W. S. (2010). The debate about n-6 polyunsaturated fatty acid recommendations for cardiovascular health. *J Am Diet Assoc.*, 110 (2), 201-4.
53. Luzia, L. A., Sampaio, G. R., Castellucci, C. M. N., & Torres, E. A. F. S. (2003). The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. *Food Chemistry*, 83(1), 93–97.
54. Mendez, E., & Gonzalez, R. M. (1997). Seasonal changes in the chemical and lipid composition of fillets of the Southwest Atlantic hake (*Merluccius hubbsi*). *Food Chemistry*, 59, 213–217.

55. Menezes, M. E. S. (2006). *Valor nutricional de espécies de peixes do Estado de Alagoas*. Dissertação de mestrado em Química e Biotecnologia. Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Exatas e Naturais, Instituto de Química.
56. Monteiro, A., Nóbrega, M. F., Ribeiro, A., & Lessa, R. (2009). *Dinâmica de Populações e Avaliação dos Estoques dos Recursos Pesqueiros do Nordeste do Brasil: Outras Espécies*. 1 ed. Fortaleza: Martins & Cordeiro LTDA, v. 5.
57. Ozogul, Y., & Ozogul, F. (2007). Fatty acid profiles of commercially important fish species from the Mediterranean, Aegean and Black Seas. *Food Chemistry*, 100, 1634–1638.
58. Ozogul, Y., Ozogul, F., & Alagoz, S. (2007). Fatty acid profiles and fat contents of commercially important seawater and freshwater fish species of Turkey: A comparative study. *Food Chemistry*, 103, 217–223.
59. Ramos-Filho, M. M., Ramos, M. I. L., Hiane, P. A., & Souza, E. M. T. (2008). Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira de Mato Grosso do Sul. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, 28 (2), 361-365.
60. Saldanha, T., Benassi, M. T., & Bragagnolo, N. (2008). Fatty acid contents evolution and cholesterol oxides formation in Brazilian sardines (*Sardinella brasiliensis*) as a result of frozen storage followed by grilling. *LWT*, 4, 1301–1309.
61. Santos, R. D., Gagliardi, A. C. M., Xavier, H. T., et al.(2013). Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. *Arq Bras Cardiol.*, 100(1Supl.3):1-40.

62. Santos-Silva, J., Bessa, R. J. B., & Santos-Silva, F. (2002). Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science, Roma*, 77 (2/3), 187-194.
63. Senso, I., Suarez, M. D., Ruiz-Cara, T., & Garcia-Gallego, M. (2007). On the possible effects of harvesting season and chilled storage on the fatty acid profile of the fillet of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Food Chemistry*, Champaign, 101, 298-307.
64. Shirai, N., Suzuki, H., Tokairin, S., et al. (2002). Dietary and seasonal effects on the dorsal meat lipid composition of Japanese (*Silurus asotus*) and Thai catfish (*Clarias macrocephalus* and hybrid *Clarias macrocephalus* and *Clarias galipinus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 132, 3, 609–619.
65. Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/ omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother*, 56(8), 365-79.
66. STATSOFT, Inc. *STATISTICA for Windows* [Computer program manual]. (1997). Tulsa, OK. StatSoft.
67. Synnes, M., Larssen, W. E., & Kjerstad, M. (2007). Chemical characterization and properties of five deep-sea fish species. *LWT*, 40,1049-1055.
68. Tarley, R. T., Visentainer, J. V., Matsushita, M., & Souza, N. E. (2004) Proximate composition, cholesterol and fatty acids profile of canned sardines (*Sardinella brasiliensis*) in soybean oil and tomato sauce. *Food Chemistry* 88, 1–6.
69. Testi, S. et al.(2006). Nutritional traits of dorsal and ventral fillets from three farmed fish species. *Food Chemistry*, Champaign, 98, 1, 104-111.

70. Turan, H., Sonmez, G., & Kaya, Y., (2007). Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black sea. *Journal of Fisheries Sciences*, 1, 97-103.
71. Ulbricht, T. L.V., & Southgate, D. A. T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, London, 338 (8773), 985-992.
72. Zotos, A., & Vouzandou, M. (2012). Seasonal changes in composition, fatty acid, cholesterol and mineral content of six highly commercial fish species of Greece. *Food Science and Technology International*, 18(2), 139–149.
73. Zuraini, A., Somchit, M. N., & Solihah, M. H. (2006). Fatty acid and amino acid composition of three local Malaysian Channa spp. Fish. *Food Chem.*, 97, 674-678.

TABLES

Table 1. Biometric data of the studied fish species

Period (Month/Year)	Species							
	White needle		Black needle		Sardine		Mackerel	
	weight (g)*	length (cm)*		weight (g)*	length (cm)*		weight (g) *	length (cm)*
02/11	73.2	16.3	84.2	19.4	186.2	22.3	1562.5	77.0
02/11	83.5	18.1	90.1	20.1	270.3	23.6	1537.1	80.3
03/11	80.2	18.4	84.8	19.2	312.2	22.0	1434.5	70.6
03/11	83.1	17.6	86.0	20.7	220.8	21.2	1460.0	72.2
06/11	76.8	16.5	75.2	16.2	307.2	23.8	1438.7	74.0
06/11	77.4	17.0	76.1	17.0	279.6	24.6	1413.8	72.4
07/11	78.6	17.4	77.7	17.3	226.0	22.7	1482.0	73.0
07/11	82.0	18.6	81.0	18.6	235.6	24.1	1502.3	75.6

*Averages in analyzed batches.

Table 2. Approximate composition and total energy value (VET) in 100 g of muscle tissue from white needle, black needle, sardines, and mackerel fillets.

Essay	Species			
	White needle	Black needle	Sardines	Mackerel
	* mean ± SD	* mean ± SD	* mean ± SD	* mean ± SD
Moisture	79.40 ^a ±1.18	78.39 ^b ±1.29	71.13 ^d ±2.25	76.37 ^c ±1.22
Protein	18.36 ^b ±0.17	19.34 ^a ±0.33	18.10 ^b ±0.13	19.87 ^a ±0.38
Lipids	1.05 ^c ±0.61	1.21 ^c ±0.54	9.03 ^a ±0.36	1.96 ^b ±0.06
Ashes	1.06 ^c ±0.13	1.03 ^c ±0.20	1.73 ^a ±0.40	1.14 ^b ±0.14
VET (calories)	83.41 ^d ±0.19	88.35 ^c ±0.14	153.76 ^a ±0.22	99.74 ^b ±0.10

* Average of four batches analyzed in triplicate. Different letters in the same row differ significantly in the Tukey's test ($p \leq 0.05$).

Table 3. Fatty acid composition in muscle tissue of white needle, black needle, sardines, and mackerel fillets expressed as percentages of total lipids

	Species			
FATTY ACIDS	White Needle * mean ± SD	Black Needle * mean ± SD	Sardines * mean ± SD	Mackerel * mean ± SD
C12: 0	0.03±0.04 ^c	0.01±0.01 ^c	0.23±0.15 ^b	1.18±0.11 ^a
C14: 0	1.67±0.13 ^c	1.74±0.19 ^c	4.28±0.16 ^a	1.38±0.08 ^b
C15: 0	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.08±0.02 ^b	3.06±0.13 ^a
C16: 0	10.89±0.07 ^c	10.96±0.07 ^c	20.38±1.76 ^a	16.37±0.25 ^b
C17: 0	0.69±0.10 ^c	1.05±0.03 ^b	0.40±0.08 ^d	1.22±0.08 ^a
C18: 0	5.00±0.04 ^d	5.83±0.14 ^c	7.91±0.05 ^a	6.77±0.08 ^b
Σ Saturated	18.28	19.59	33.26	30.29
C16: 1N-7	9.15±0.03 ^a	9.20±0.06 ^a	7.45±0.10 ^b	2.72±0.05 ^c
C17: 1	2.12±0.04 ^a	2.04±0.09 ^a	1.07±0.04 ^b	0.32±0.06 ^c
C18: 1N-9	15.56±0.16 ^b	15.77±0.18 ^a	4.26±0.08 ^d	10.10±0.05 ^c
C20: 1N-9	10.17±0.06 ^a	10.19±0.14 ^a	0.86±0.14 ^b	0.59±0.07 ^c
C20: 1N-11	0.17±0.08 ^a	0.14±0.02 ^a	0.10±0.07 ^a	0.10±0.04 ^a
C22: 1N-9	1.26±0.04 ^a	1.25±0.07 ^a	0.14±0.03 ^b	0.06±0.04 ^c
C22: 1N-11	9.88±0.06 ^a	9.58±0.06 ^b	0.16±0.11 ^c	0.00±0.00 ^d
Σ Monounsaturated	48.31	48.17	14.10	13.96
C18: 2N-6	1.43±0.03 ^c	1.37±0.04 ^c	1.84±0.07 ^b	3.35±0.09 ^a
C18: 3N-3	1.06±0.04 ^b	1.11±0.05 ^b	0.67±0.07 ^c	1.56±0.08 ^a
C20: 2N-6	0.31±0.09 ^b	0.68±0.10 ^a	0.61±0.09 ^a	0.35±0.07 ^b
C20: 4N-6	0.68±0.05 ^c	0.59±0.06 ^c	1.04±0.06 ^b	1.34±0.07 ^a
C20: 4N-3	0.33±0.07 ^b	0.23±0.06 ^c	0.80±0.05 ^a	0.13±0.04 ^d
C20: 5N-3	6.41±0.08 ^d	6.80±0.11 ^c	10.66±0.08 ^a	7.51±0.12 ^b
C22: 5N-3	0.92±0.08 ^c	0.63±0.09 ^d	2.98±0.09 ^a	1.87±0.11 ^b
C22: 6N-3	9.12±0.04 ^d	9.91±0.04 ^c	30.20±0.11 ^a	27.54±0.04 ^b
Σ Polyunsaturated	20.26	21.32	48.81	35.66
TOTAL N-3	17.84±0.26 ^d	18.69±0.29 ^c	45.31±0.29 ^a	38.62±0.25 ^b
TOTAL N-6	2.41±0.14 ^c	2.64±0.19 ^c	3.50±0.15 ^b	4.90±0.20 ^a
EPA + DHA	15.53±0.07 ^d	16.71±0.07 ^c	40.86±0.07 ^a	35.06±0.07 ^b

* Average of four batches analyzed in triplicate. Values followed by same letters in the same row do not differ significantly by the Tukey's test ($p \leq 0.05$).

Table 4. Nutritional quality indexes of the lipid fraction in fillets of white needle, black needle, mackerel, and sardines.

Species	P/S	ω6/ω3	H/H	AI	TI
White needle	1.11	0.13	2.43	0.26	0.44
Black needle	1.09	0.14	2.46	0.26	0.21
Sardines	1.47	0.08	0.87	0.60	0.20
Mackerel	1.18	0.20	1.56	0.48	0.24

P/S = Polyunsaturated/saturated; ω6/ω3 = Σ of the Omega 6 series/Σ of the Omega 3 series; HH = Σ hypcholesterolemic/Σ hypercholesterolemic; AI = atherogenicity index; and TI = thrombogenicity index. (ULBRICHT; SOUTHGATE, 1991).

ANEXO B- Documentação de envio do artigo 2

Adding ORCID to Co-Authored submission

↑ ↓ ×



Journal of Food Composition and Analysis (jfca.elsevier@gmail.com) Adicionar aos contatos 25/11/2013 |▶
Para: carolina_estevam@hotmail.com ✉

Dear Dr. Carolina Fernandes,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Journal of Food Composition and Analysis

Title: Influence of season on the lipid profile of fish in the Northeast of Brazil

Corresponding Author: Margarida Vasconcelos

Co-Authors: Carolina Fernandes, Master; Marisilda Almeida, Doctor; Leonie Sarubbo, Doctor; Samara Andrade, Doctor; Artur Melo Filho, Master

We would like to invite you to link your ORCID to this submission. If the submission is accepted, then your ORCID will be transferred to ScienceDirect and CrossRef and will be updated on your ORCID account.

To go to a dedicated page in EES where you can link an existing ORCID, or sign-up for an ORCID, please click the following link:

<http://ees.elsevier.com/jfca/1.asp?i=26457&l=50N9EV1C>

Please note: If you did not co-author this submission, please do not follow the above link but instead contact the Corresponding Author of this submission at angelica@ufpe.br;margaridangelica@hotmail.com.