

Para meu filho Felipe Crexi da Paz,
por sua compreensão, amor, carinho e por
ser o maior incentivo da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram nesta conquista.

A meu filho Felipe

.... pelo amor, carinho, por tudo!

A minha mãe

.... pelo amor, incentivo e dedicação.

Ao meu marido Fabricio

.... pela paciência, amor, carinho e principalmente pelo companheirismo e dedicação .

Ao professor Luiz Antonio de Almeida Pinto

..... pela sua dedicação, sabedoria, amizade, apoio nas decisões pessoais e exemplo de profissional.

A bolsista Michele Legemann

....pela competência, dedicação e responsabilidade na realização dos experimentos, sem os quais, o trabalho não teria o êxito atingido. O meu sincero Muito Obrigado.

Aos amigos do laboratório em especial a Elizangela, Mery Luiza, Sidney, Catarina, Kelly e Bruna.

.... pela a amizade, alegria e companheirismo.

Aos técnicos do laboratório Jaques Rizzi e Luiz Carlos dos Santos, e a secretária Islanda Passos.

.... pela disposição na solução dos problemas e amizade.

A Universidade Federal do Rio Grande

.... pela disponibilidade de seus laboratórios, professores e funcionários para o desenvolvimento do trabalho.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Muito obrigado!

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi analisar as características e os perfis lipídicos dos óleos brutos e refinados de rejeitos de carpa comum (*Cyprinus carpio*), obtidos através dos processos de ensilagem ácida e termomecânico de farinha de pescado. Também foram realizados o estudo da reação de alcoólise química do óleo de carpa e obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), através da reação de complexação com uréia. O rendimento obtido em óleo bruto para ambos os processos foi em torno de 85% em relação ao óleo presente nas vísceras de carpa. Os óleos brutos obtidos através do processo de ensilagem e do processo termomecânico apresentaram diferenças significantivas ($P < 0,05$) para ácidos graxos livres, índice de peróxido, valor do ácido tiobarbitúrico e cor Lovibond. Entretanto, os óleos refinados obtidos por ambos os processos não apresentaram diferença significativa para a cor Lovibond, ácidos graxos livres e valores do ácido tiobarbitúrico. Os principais ácidos graxos identificados nos óleos bruto, branqueado e refinado de vísceras de carpa foram oléico, palmítico, palmitoléico, linoléico e linolênico constituindo aproximadamente 69,6% dos ácidos graxo totais do óleo refinado. A relação $\omega 3/\omega 6$ foi de aproximadamente 1,05 para o óleo refinado. Assim, o óleo refinado das vísceras de carpa pode ser considerado uma rica fonte de ácidos graxos essenciais do grupo $\omega 3$ e $\omega 6$. No estudo da reação de alcoólise química e obtenção dos concentrados de ácidos graxos poliinsaturados, foi realizada a comparação de três tratamentos para reação de alcoólise variando-se a concentração molar óleo:álcool (1:21, 1:27 e 1:39). Os tratamentos apresentaram diferenças significantivas para as respostas rendimento em massa de ácidos graxos livres e índice de acidez. O maior rendimento para a reação de alcoólise foi utilizando a concentração molar de 1:39 (óleo:álcool). Na fração não complexada com uréia obteve-se aumento percentual de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados de 31,9%, redução de saturados de 75%, e aumento do conteúdo dos ácidos graxos eicosapentaenóico e docosahexaenóico (EPA+DHA) de 85,3%. A fração não complexada com uréia pode ser considerada uma rica fonte de ácidos graxos poliinsaturados e insaturados com um total de 88,9% desses ácidos graxos.

Palavras-chave: carpa, ensilagem, óleo de pescado, perfil de ácidos graxos, processo termomecânico, rejeitos de pescado.

ABSTRACT

CARP (*Cyprinus Carpio*) OILS: OBTAINING, REFINEMENT AND PRODUCTION OF CONCENTRATED POLYUNSATURATED FATTY ACIDS

The aim of this work were to analyze the characteristics and lipids profiles of oils crude and refined carp residues (*Cyprinus carpio*) by ensilage acid and fishmeal processes. The oils were accomplished of the reaction chemical alcoholysis of the oil carp and obtaining of concentrate of PUFAs by urea reaction complexation. Recovery yield of crude oils was approximately 85% in relation to carp viscera oil. Crude oils obtained by the three processes resulted in significant difference ($P < 0.05$) for free fatty acids, peroxide, thiobarbituric acid and Lovibond colour values. However, refined oils obtained by the two processes did not present significant difference ($P > 0.05$) for Lovibond colour, free fatty acids, and thiobarbituric acid values. The major fatty acids identified in the carp crude, bleached and refined oils were oleic, palmitic, palmitoleic, linoleic and linolenic, constituting approximately 69.6% of the total fatty acids of the oils. The $\omega 3/\omega 6$ ratio was approximately 1.05 for refined oil. Therefore, carp viscera refined oil can be considered a rich source of essential fatty acids of the $\omega 3$ and $\omega 6$ series. In the study of the alcoholysis chemical reaction and obtaintion polyunsaturated fatty acids concentrate, it was available the comparison of three treatments for alcoholysis reaction and variation of oil:alcohol molar concentration (1:21, 1:27 e 1:39). The treatments presented significant differences for yield in free fatty acids mass and acidity. The high yield was alcoholysis reaction using molar concentration 1:39 (oil:alcohol). In the no-urea-complexed fraction was obtained increase unsaturated and polyunsaturated fatty acids of 31.9%, saturated reduction of 75%, and increase EPA+DHA content of 85.3%. The no-urea-complexed fraction can be considered a rich source of unsaturated and polyunsaturated fatty acids with total 88.9% those fatty acids.

keywords: carp, ensilage, fish oil, fatty acids profiles, fishmeal processes, fish residues

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	ii
RESUMO	iv
SUMÁRIO	vi
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos	3
3 JUSTIFICATIVAS	4
Histórico da linha de pesquisa	5
4 REVISÃO DE LITERATURA	7
4.1 Aquicultura	7
4.2 Carpa	8
4.3 Processos de obtenção de óleo de pescado	9
4.3.1 Processos termomecânico e de ensilagem	10
4.4 Óleo de Pescado e ácidos graxos poliinsaturados	12
4.5 Refino do óleo bruto de pescado	15
4.6 Métodos de concentração de ácidos graxos poliinsaturados	16
4.6.1 Alcoólise química	17
4.6.2 Método de Complexação com Uréia	21
5 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO	23
5.1 ARTIGO 1 ÓLEOS DE CARPA COMUM (<i>CYPRINUS CARPIO</i>) OBTIDOS ATRAVÉS DOS PROCESSOS DE FARINHA DE PESCADO E DE ENSILAGEM: CARACTERÍSTICAS E PERFÍS LIPÍDICOS	24
5.1.1 Resumo	25
Abstract	25
5.1.2 Introdução	26
5.1.3 Material e Métodos	27
Matéria-prima	27
Metodologia do processo de ensilagem ácida	28
Metodologia do processo termomecânico de farinha de pescado	28

Rendimento de óleo bruto.....	29
Metodologia analítica.....	29
Análise estatística.....	31
5.1.4 Resultados e Discussão.....	31
Caracterização da matéria-prima.....	31
Caracterização do óleo de pescado.....	32
Perfis de ácidos graxos.....	35
5.1.5 Conclusão.....	39
5.1.6 Agradecimentos.....	39
5.1.7 Referências Bibliográficas.....	39
5.2 ARTIGO 2 PRODUÇÃO E REFINO DO ÓLEO OBTIDO A PARTIR DE	
VÍSCERAS DE CARPA COMUM (<i>CYPRINUS CARPIO</i>).....	44
5.2.1 Resumo.....	45
Abstract.....	45
5.2.2 Introdução.....	46
5.2.3 Materiais e métodos.....	47
Metodologia do processo de ensilagem ácida.....	47
Metodologia do processo de farinha de pescado.....	48
Metodologia do refino de óleo.....	48
Metodologia analítica.....	49
Metodologia estatística.....	51
5.2.4 Resultados e Discussão.....	52
Características dos óleos de pescado.....	52
Perfis de ácidos graxos.....	57
5.2.5 Conclusão.....	62
5.2.6 Agradecimentos.....	62
5.2.7 Referências Bibliográficas.....	63
5.3 ARTIGO 3 CONCENTRADOS DE ÁCIDOS GRAXOS	
POLIINSATURADOS DE ÓLEO DE CARPA COMUM (<i>Cyprinus carpio</i>):	
COMPARAÇÃO DE TRATAMENTOS PARA A REAÇÃO DE ALCOÓLISE E	
COMPLEXAÇÃO COM URÉIAS.....	67
5.3.1 Resumo.....	68
Abstract.....	68
5.3.2 Introdução.....	69
5.3.3 Material e Métodos.....	71

Matéria-prima.....	71
Metodologia do processo de farinha de pescado	71
Metodologia do refino de óleo.....	71
Rendimentos das reações de alcoólise química	72
Metodologia para calcular a massa molar do óleo de pescado	72
Metodologia para o cálculo da variação do percentual de ácidos graxos após reação de complexação com uréia.....	73
Metodologia da reação de alcoólise química.....	73
Condições estabelecidas para a reação e procedimento utilizado	74
Metodologia da reação de complexação com uréia	75
Metodologia analítica	77
Análise estatística	78
5.3.4 Resultados e Discussão	78
Caracterização da matéria-prima.....	78
Caracterização do óleo de pescado.....	79
Reação de alcoólise química	83
Complexação com uréia	85
5.3.5 Conclusão	87
5.3.6 Agradecimentos	87
5.3.7 Referências Bibliográficas	87
5.4 ARTIGO 4 CONCENTRADOS DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS A PARTIR DE ÓLEO DE PESCADO PARA ELABORAÇÃO DE LIPÍDIOS ESTRUTURADOS	92
5.4.1 Resumo.....	93
5.4.2 Introdução	93
5.4.3 Desenvolvimento do Trabalho	95
Ácidos graxos poliinsaturados e óleo de pescado.....	95
Método de concentração de ácidos graxos poliinsaturados	99
Lipídios estruturados.....	102
Interesterificação química	103
Produtos e mercados.....	105
5.4.4 Conclusão	107
5.4.5 Referências bibliográficas.....	108
6 CONCLUSÃO.....	113
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	114

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	115
9 APÊNDICES.....	130
10 ANEXOS.....	131

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma para obtenção do óleo bruto de pescado através do processo termomecânico de farinha.....	10
Figura 2 – Fluxograma para obtenção do óleo bruto de pescado através do processo de ensilagem.....	12
Figura 3 – Fluxograma das etapas de refino do óleo bruto de pescado.....	15
Figura 4 – Reação geral para a alcoólise de um triacilglicerol.....	18

ARTIGO 3 CONCENTRADOS DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS DE ÓLEO DE CARPA (*Cyprinus carpio*): COMPARAÇÃO DE TRATAMENTOS PARA A ALCOÓLISE QUÍMICA E COMPLEXAÇÃO COM URÉIA

Figura 2 – Fluxograma utilizado para obtenção dos ácidos graxos livres.....	75
Figura 1- Fluxograma simplificado da elaboração de concentrados ω -3 por complexação com uréia.....	76

ARTIGO 4 CONCENTRADOS DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS A PARTIR DE ÓLEO DE PESCADO PARA ELABORAÇÃO DE LIPÍDIOS ESTRUTURADOS.

Figura 1- Fluxograma simplificado da elaboração de concentrados ω -3 por complexação com uréia.....	101
--	-----

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1 ÓLEOS DE CARPA (*Cyprinus carpio*) OBTIDOS ATRAVÉS DOS PROCESSOS DE FARINHA DE PESCADO E DE ENSILAGEM: CARACTERÍSTICAS E PERFÍS LIPÍDICOS

Tabela 1- Características dos óleos brutos de carpa obtidos através do método de extração por Bligh e Dyer e dos processos termomecânico de farinha e de ensilagem.....	32
Tabela 2 – Perfis de ácidos graxos dos óleos brutos obtidos através de ambos processos.....	36
Tabela 3 – Classe dos lipídios nos óleos brutos de carpa obtidos através de ambos processos.....	38

ARTIGO 2 PRODUÇÃO E REFINO DO ÓLEO OBTIDO A PARTIR DE VÍSCERAS DE CARPA (*Cyprinus carpio*)

Tabela 1 – Características dos óleos de carpa obtidos de ambos os processos nas etapas do refino.....	53
Tabela 2 – Perfis de ácidos graxos dos óleos de carpa provenientes dos processos termomecânicos de farinha de pescado e ensilagem ácida nas etapas do refino.....	58
Tabela 3 – Classe de lipídios (% total de ácidos graxos) nos óleos bruto, branqueado e refinado obtidos por ambos os processos.....	60

ARTIGO 3 CONCENTRADOS DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS DE ÓLEO DE CARPA (*Cyprinus carpio*): COMPARAÇÃO DE TRATAMENTOS PARA ALCOÓLISE QUÍMICA E COMPLEXAÇÃO COM URÉIA

Tabela 1 – Características do óleo bruto e do óleo branqueado proveniente de cabeças de carpa.....	79
Tabela 2- Perfis de ácidos graxos dos óleos bruto e branqueado de carpa obtidos através do processo de farinha de pescado.....	81
Tabela 3 – Rendimentos, ácidos graxos livres e índices de peróxido para os tratamentos utilizados nas reação de alcoólise química.....	84
Tabela 4 – Perfis de ácidos graxos do óleo branqueado e da fração não complexada com uréia.....	85

ARTIGO 4 CONCENTRADOS DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS A PARTIR DE ÓLEO DE PESCADO PARA ELABORAÇÃO DE LIPÍDIOS ESTRUTURADOS.

Tabela 1: Composição em ácidos graxos de óleos de pescado marinhos % mássica.....98

1 INTRODUÇÃO

A exploração indiscriminada do estoque pesqueiro natural e a crescente diferença entre a quantidade de pescado capturado e a demanda de consumo, tornaram a aquicultura uma das alternativas mais viáveis no mundo para produção de alimentos, para consumo humano de alto valor protéico (ABIMORAD *et al.*, 2009).

A carpa e a tilápia são as espécies mais representativas da piscicultura na região Sul, contribuindo com a maior parcela na produção nacional, tendo maiores produções concentradas nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná (IBAMA, 2008). A Carpa (*Cyprinus carpio*) tem sido amplamente cultivada por toda parte do mundo devido à sua taxa de crescimento rápida e cultivo fácil, sendo uma das principais espécies de peixe produzidas na piscicultura mundial (GULER *et al.*, 2008; VANDEPUTTE *et al.*, 2008).

Os rejeitos gerados durante o processamento da carpa podem totalizar 60% da matéria-prima. O aproveitamento desses rejeitos através da obtenção de óleo bruto, utilizando os processos termomecânico de produção de farinha (ARVANITOYANNIS & KASSAVETI, 2008) ou de ensilagem ácida (ZHOU *et al.*, (1995; REECE, 1981), são uma ótima alternativa para evitar desperdícios e impedir a contaminação ambiental local, podendo esse óleo ser utilizado para alimentação animal ou humana. Entretanto, o óleo bruto apresenta impurezas, necessitando passar por um processo de refino (degomagem, neutralização, lavagem, branqueamento e desodorização) obtendo-se um produto adequado para a alimentação humana (CREXI *et al.*, 2007).

Óleos de pescado são considerados a principal fonte de ácidos graxos poliinsaturados ω -3, especialmente o ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5) e o ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6). Esses ácidos graxos têm destaque nas comunidades científicas e industriais devido aos benefícios à saúde humana, pois são essenciais para o desenvolvimento e funcionalidade de certos órgãos e para algumas respostas bioquímicas e fisiológicas do organismo (FOURNIER *et al.*, 2007; ZHONG *et al.*, 2007 LIU *et al.*, 2006).

Devido à importância nutricional e farmacêutica desses ácidos graxos poliinsaturados, cresce o interesse no desenvolvimento de processos que visam concentrar esses constituintes do óleo de pescado (CUNHA *et al.*, 2009; CUNHA *et al.*, 2007; PADILHA & RUIZ, 2007). Entre os procedimentos para o enriquecimento de ácidos graxos poliinsaturados, está a “complexação com uréia”, que é um método químico e de cristalização fracionada (inclusão) que se baseia na separação pelo grau de insaturação, sendo os ácidos graxos mais insaturados menos complexados com a uréia. Esse procedimento é a técnica mais simples e a mais eficiente para obter concentrados de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), através de ácidos graxos livres (LIU *et al.*, 2006; CARVALHO *et al.*, 2003). Entretanto, para se obter os ácidos graxos livres para posterior complexação com uréia, primeiramente realiza-se uma reação de alcoólise.

A alcoólise, reação entre óleos e/ou gorduras e um álcool, oferece meios de preparação de ésteres através do deslocamento do glicerol pelo álcool, na presença de catalisadores (MOURA *et al.*, 2006; MEHER *et al.*, 2006). Os produtos dessa reação, ésteres etílicos ou metílicos, são acidificados obtendo-se assim os ácidos graxos livres (LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999) utilizados como matéria-prima para a elaboração dos concentrados de ácidos graxos poliinsaturados via reação de complexação com uréia.

A alcoólise de óleos vegetais, já é bastante conhecida. Entre os óleos vegetais usados nessa reação destaca-se o óleo de soja, visto que quase 90% da produção de óleo no Brasil provém dessa leguminosa (FERRARI *et al.*, 2005). Entretanto, poucos trabalhos são encontrados na literatura referentes à reação de alcoólise para elaboração de ácidos graxos livres a partir de óleos de origem animal como o óleo de pescado (LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve por objetivo a obtenção dos óleos brutos e refinados de rejeitos de carpa comum (*Cyprinus carpio*) através dos processos de ensilagem ácida e termomecânico de farinha de pescado, e comparar suas características e perfis de ácidos graxos. Também foi realizado o estudo da reação de alcoólise química do óleo branqueado de carpa, e obtenção de concentrados de PUFAs através da reação de complexação com uréia.

2.2 Objetivos específicos

(i) Caracterizar as vísceras e cabeças de carpa através das análises químicas (umidade, proteína, cinzas e lipídios);

(ii) Obter o óleo bruto de rejeitos de carpa através dos processos de ensilagem e termomecânico de produção de farinha de pescado;

(iii) Refinar os óleos brutos de carpa, provenientes dos processos de ensilagem e termomecânico, utilizando o refino químico (degomagem, neutralização, branqueamento, winterização e desodorização);

(iv) Caracterizar os óleos brutos, degomados, neutralizados, branqueados, winterizados e desodorizados, obtidos dos rejeitos de carpa, através de análises químicas (ácidos graxos livres, teste do ácido tiobarbitúrico, índice de peróxido, anisidina, conteúdo de fósforo, índice de iodo, índice de saponificação) e da análise de cor Lovibond. Caracterizar os óleos bruto, branqueado e refinado através dos perfis de ácidos graxos.

(v) Comparar três tratamentos utilizados para a reação de alcoólise química do óleo branqueado proveniente de cabeças de carpa (razão molar álcool etanol/óleo) através do teste de Tukey;

(vi) Avaliar a qualidade oxidativa dos produtos da reação de alcoólise química através da análise do índice de peróxido e acompanhar o rendimento da reação através da análise de ácidos graxos livres e massa.

(vii) Realizar a reação de complexação com uréia no produto obtido do melhor tratamento utilizado no estudo da alcoólise química e avaliar o rendimento da reação de complexação com uréia através da análise dos perfis de ácidos graxos.

3 JUSTIFICATIVAS

A demanda por pescado vem aumentando nos últimos anos, impulsionada principalmente pelo crescimento da população e pela tendência mundial em busca de alimentos saudáveis. A aquicultura é uma alternativa viável no mundo para produção desse alimento de alto valor protéico. O Brasil é considerado um dos países com maior potencial para a expansão da aquicultura principalmente pela extensão dos recursos hídricos. A região Sul contribui com a maior parcela na produção nacional com 32,9%, sendo a carpa uma das espécies mais representativas, tendo suas maiores produções concentradas nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná.

A carpa é amplamente cultivada devido a sua taxa de crescimento rápida e cultivo fácil. Dessa maneira, existe potencial para produzir óleo a partir de rejeitos do processamento de carpa, tais como cabeças, peles e vísceras, sendo a utilização desses rejeitos uma ótima alternativa para evitar desperdícios e impedir a contaminação ambiental local.

A Universidade Federal do Rio Grande devido à sua localização geográfica desenvolve inúmeros projetos de pesquisas relacionados à valoração de recursos hidrobiológicos. No Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos dessa instituição tem-se a linha de pesquisa voltada para o estudo do aproveitamento de rejeitos de pescado, onde se desenvolvem projetos que envolvem a obtenção e refino do óleo de pescado. Dessa maneira, esta tese justifica-se pela continuidade dos trabalhos realizados nesta linha de pesquisa.

As classes de lipídios e os perfis de ácido graxos nos tecidos de músculo das principais espécies de pescados foram determinados; entretanto, há muito poucos estudos nas classes de lipídios e perfis de ácidos graxos de vísceras e cabeças de carpa.

Atualmente, existe no mercado mundial crescente inclusão de óleos de pescado de alta qualidade em alimentos e suplementos alimentares de ácidos graxos poliinsaturados para consumo humano. Assim, devido ao grande potencial que o mercado proporciona nesta área, pesquisas têm relatado métodos visando à obtenção destes concentrados.

O óleo de pescado é reconhecido mundialmente por suas propriedades benéficas à saúde, por constituir uma importante fonte de ácidos graxos poliinsaturados, este pode ser utilizado como matéria-prima para preparar os concentrados de PUFAs. Entretanto, poucos trabalhos são encontrados na literatura referentes à reação de alcoólise para elaboração de ácidos graxos livres, e posterior complexação com uréia a partir de óleos de origem animal como o óleo de pescado. Assim, o estudo da reação de alcoólise torna-se necessário para se obterem rendimentos maiores em concentrados de ácidos graxos poliinsaturados, via complexação com uréia, visando também, a obtenção de produtos de melhor qualidade.

Dessa maneira, com o objetivo de utilizar o óleo de pescado como fonte de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente EPA e DHA, como suplementos alimentares de ácidos graxos poliinsaturados e/ ou de produtos nos quais estes ácidos são incorporados, torna-se importante o avanço destas pesquisas. Utilizando as técnicas de extração e refino desenvolvidas anteriormente, e realizando estudos com os rejeitos provenientes da piscicultura obtendo-se o óleo de pescado de água doce para a produção dos concentrados de ácidos graxos poliinsaturados, através do estudo da reação de alcoólise e posterior complexação com uréia.

Histórico da linha de pesquisa

No Laboratório de Operações Unitárias da Universidade Federal do Rio Grande a linha de pesquisa sobre aproveitamento de rejeitos para obtenção de óleo de pescado, teve sua origem em 1997 com o projeto Refino de Óleo de Pescado (CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), tendo continuidade até o presente.

Os resultados alcançados estão descritos a seguir:

1997 a 2000: Início do estudo do processo de refino de óleo de pescado e defesa da dissertação de mestrado intitulada: Estudo do processo de refino de óleo de pescado. Este trabalho foi desenvolvido pelo aluno de mestrado Marcílio Machado Morais.

1999: Desenvolvimento de trabalho de conclusão de curso de Engenharia de Alimentos: Estudo do fracionamento físico do óleo de pescado

2000 a 2002: Desenvolvimento e defesa da dissertação de mestrado da aluna Daniele Colembergue da Cunha. Este trabalho teve como título: Estudo de métodos de Fracionamento do Óleo de Pescado via “Winterização” para fins Farmacêuticos.

2002 a 2005: Trabalho de mestrado intitulado: Refino de óleos de pescado provenientes dos processos de silagem ácida e termomecânico de farinha. Esta dissertação foi desenvolvida pela aluna Valéria Terra Crexi.

Durante este período houve também o envolvimento de alunos de iniciação científica, com o apoio de bolsas: PROBIC/ FURG (1999), FAPERGS (2000 a 2003), CNPq (2004 a 2006), PIBIC/FURG (2009 a 2010). As melhores práticas do grupo estão apresentadas nos vários trabalhos publicados ao longo destes anos, tanto em eventos técnico-científicos regionais e nacionais (CBCTA, SLACA, ENEMP, COBEC, COBEQ-IC, CRICTE, MPU/FURG, CIC/UFPEL) como também nos periódicos nacionais e internacionais (Adolfo Lutz, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Vetor, International Journal of Food Science & Technology, Food Chemistry, O&G Alimentos e Brazilian Journal of Food Technology).

4 REVISÃO DE LITERATURA

Neste capítulo será apresentada uma revisão sobre aquicultura, a carpa, processos de obtenção do óleo de pescado, óleo de pescado e ácidos graxos poliinsaturados, refino de óleo e métodos de concentração de ácidos graxos poliinsaturados.

4.1 Aquicultura

A aquicultura é definida como o estudo que trata do cultivo de organismos aquáticos, sob condições controladas ou semi-controladas (GUILHERME *et al.*, 2007). Esta atividade tem participado cada vez mais da produção pesqueira mundial, principalmente devido à redução dos estoques naturais e ao aumento da demanda por alimentos mais saudáveis (ABIMORAD *et al.*, 2009). A piscicultura corresponde ao ramo desta atividade a qual tem como objetivo a produção de peixes (BALDISSEROTTO, 2009).

O Brasil é considerado um dos países com maior potencial para a expansão da aquicultura, principalmente pela extensão dos recursos hídricos. O país apresenta a maior riqueza de espécies de peixes de água doce do mundo, com mais de 3000 espécies, o que é dez vezes superior ao número de espécies de peixes de todos os rios e lagos da Europa, que é cerca de 320 espécies (CARNEIRO *et al.*, 2004).

De acordo com o IBAMA (2008), a produção de pescado de água doce no país apresentou um crescimento acentuado, elevando-se de 179.746 t em 2005 para 191.183,5 t em 2006, um crescimento de 6,4%, o que corresponde a 18,2% da produção brasileira total de pescado. Em 2006 a aquicultura continental apresentou crescimento na região Norte de 12,1%, na Nordeste de 2,1%, na Sudeste de 13,2%, na Sul de 6,1% e na Centro-Oeste de 1,3%. As principais espécies de peixes utilizadas na aquicultura dessas regiões são: tilápia, carpa, tambaqui, tambacu e curimatã.

A região Sul produziu, através da aquicultura continental, 62.823,5 t de pescado em 2006, e continua contribuindo com a maior parcela da produção nacional com 32,9%. A carpa e a tilápia são as espécies mais representativas, tendo suas

maiores produções concentradas nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná. A produção total de pescado no Rio Grande do Sul em 2006 foi de 65.062,0 t, representada por 60,1% da pesca marinha, 37,3% do cultivo continental e 2,6% da pesca continental. Da produção de pescado cultivado em água doce na região sul do Brasil, o estado do Rio Grande do Sul foi o mais produtivo, com 24.245,0 t, sendo esta produção atribuída à piscicultura (IBAMA, 2008).

4.2 Carpa

Com o significativo crescimento da piscicultura nos últimos anos, algumas espécies têm alcançado grande destaque por serem economicamente exploráveis e fornecerem à população uma alternativa de alimento de elevado teor protéico (SOUZA *et al.*, 2006). A partir de meados dos anos 80, a criação de peixes em cativeiro passou a ser encarada como alternativa econômica da propriedade rural no Rio Grande do Sul, e dentre os peixes cultivados, destacaram-se as carpas (SCHERER *et al.*, 2004).

Diversas razões contribuem para que as carpas sejam consideradas excelentes peixes para a piscicultura, e explicam a sua distribuição por todo o planeta: toleram baixos níveis de oxigênio dissolvido na água, apresentam tolerância à variações de temperatura, desde 4°C até 35°C (MELO & STIPP, 2001; CASTAGNOLLI, 1992), são rústicas, possuem rápido crescimento, facilidade de manejo e os custos para sua criação não são muito elevados (ECHEVENGUÁ *et al.*, 2007). Vários fatores afetam a produtividade e o custo, tais como: taxa de estocagem; quantidade e qualidade de alimento natural produzido por fertilização; qualidade da ração no caso de alimentação artificial; temperatura da água; quantidade e disponibilidade de oxigênio dissolvido na água e linhagem do peixe estocado (MELO & STIPP, 2001).

As carpas são peixes criados em sistemas de monocultivo e policultivo, cujo objetivo é a produção de uma quantidade ótima de peixes com peso comercial, com o mínimo de custo (MELO & STIPP, 2001; MOREIRA *et al.*, 2001;), inclusive com espécies nativas, uma vez que espécies distintas apresentam diferentes hábitos alimentares, como por exemplo, a carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) herbívora, a carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) fitoplantófaga e a carpa cabeça grande (*Aristichthys nobilis*) zooplantófaga (CASTAGNOLLI, 1992). Estas espécies podem

alimentar-se de lodo, dejetos, ração ou ainda algas, aguapés ou gramíneas (JHINGRAN & PULLIN, 1998), visando obter o máximo de produção por área, em termos de biomassa, aproveitando-se todos os recursos disponíveis no tanque (MELO & STIPP, 2001).

Os diferentes tipos de carpas fazem parte de um grande grupo de peixes chamados Ciprinídeos. No Brasil as Carpas de maior importância comercial são: carpa comum, carpa capim e carpa cabeça grande (MOREIRA *et al.*, 2001).

A carpa comum (*Cyprinus carpio*) é uma espécie exótica, nativa dos rios e lagos asiáticos, e umas das principais espécies de peixe da aquicultura mundial. É cultivada exclusivamente em lagoas tradicionais extensas (VANDEPUTTE *et al.*, 2008). A carpa comum é um peixe de hábito alimentar onívoro, elevada resistência às condições adversas do meio e às enfermidades, além de possuir uma carne com elevada aceitabilidade no mercado. Em um ano de cultivo atinge peso médio de 1,0 kg (PILARSKI, *et al.*, 2004).

4.3 Processos de obtenção de óleo de pescado

Os rejeitos gerados durante o beneficiamento de pescado podem totalizar 60% da matéria-prima. As partes que constituem esses rejeitos são principalmente peles, cabeças e espinhaços (KOLODZIEJSKA *et al.*, 2008).

A silagem e a farinha de pescado constituem-se de fontes de proteínas e produtos de alto valor biológico para a alimentação animal, podendo ser obtidas a partir de espécies subutilizadas na indústria de pescado, ou a partir de peixes e rejeitos da indústria (GERON *et al.*, 2007).

O óleo de pescado pode ser obtido a partir de rejeitos de pescados através do processo de ensilagem ácida (ZHOU *et al.*, 1995; REECE, 1981) e do processo termomecânico de farinha de pescado (ZHONG *et al.*, 2007). Estes processos são uma ótima alternativa para evitar desperdícios e reduzir a contaminação ambiental local, podendo esse óleo ser utilizado para alimentação animal ou humana.

4.3.1 Processos termomecânico e de ensilagem

A produção da farinha de pescado é um dos principais processos de aproveitamento de rejeitos do beneficiamento de pescado (KOŁODZIEJSKA *et al.*, 2008). O processo termomecânico de produção de farinha de pescado consiste basicamente na separação parcial de três componentes principais: sólido, óleo e água. Nesta separação os rejeitos de pescado passam por um processo industrial, onde a matéria-prima segue as etapas de moagem, cocção, prensagem, secagem e moagem (BRODY, 1965).

Na operação de prensagem o líquido resultante, conhecido como licor de prensa é, então centrifugado, obtendo-se o óleo de pescado. A fração sólida é seca e moída obtendo-se a farinha de pescado.

A Figura 1 apresenta o fluxograma de obtenção do óleo bruto de pescado, através da processo termomecânico de farinha de pescado.

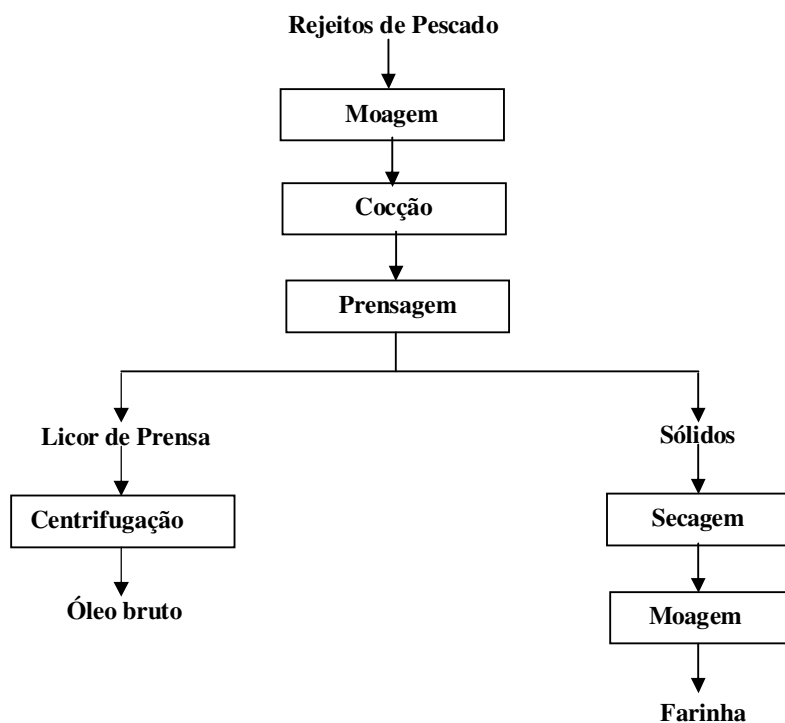


Figura 1- Fluxograma para obtenção do óleo bruto de pescado através do processo termomecânico.

Fonte: BRODY, 1965.

A silagem de pescado é fonte de minerais, ácidos graxos e proteína de alta qualidade. É um alimento bastante versátil, que pode ser utilizado como suplemento em rações para vários animais, como peixes, suínos, aves, ovelhas e gado (ABIMORAD *et al.*, 2009; RANGACHARYULU *et al.*, 2003; VIDOTTI *et al.*, 2003). É, também, uma das formas de aproveitamento dos rejeitos da produção, industrialização e comercialização do pescado, os quais constituem matéria-prima de alta qualidade e cujo aproveitamento na forma de silagem é ecologicamente recomendável, em razão da alta quantidade de matéria orgânica que é descartada no ambiente quando esses resíduos não são aproveitados (ABIMORAD *et al.*, 2009; DE ARRUDA *et al.*, 2007).

A tecnologia do processo de ensilagem é simples, não implica na utilização de maquinários específicos. Necessita apenas de triturador e recipientes de plástico (silos), e não exige mão de obra especializada. O ensilado de pescado é um processo conhecido há muito tempo e consiste basicamente em acidificar a massa triturada, deixando-a livre da ação das enzimas próprias dos tecidos e de microrganismos patogênicos, que deterioram o produto. A acidificação da silagem pode ser obtida pela adição de ácidos minerais ou orgânicos ou pelo uso de microrganismos produtores de ácido láctico (ABIMORAD *et al.*, 2009).

A Figura 2 apresenta o fluxograma de obtenção do óleo bruto de pescado através do processo de ensilagem ácida.

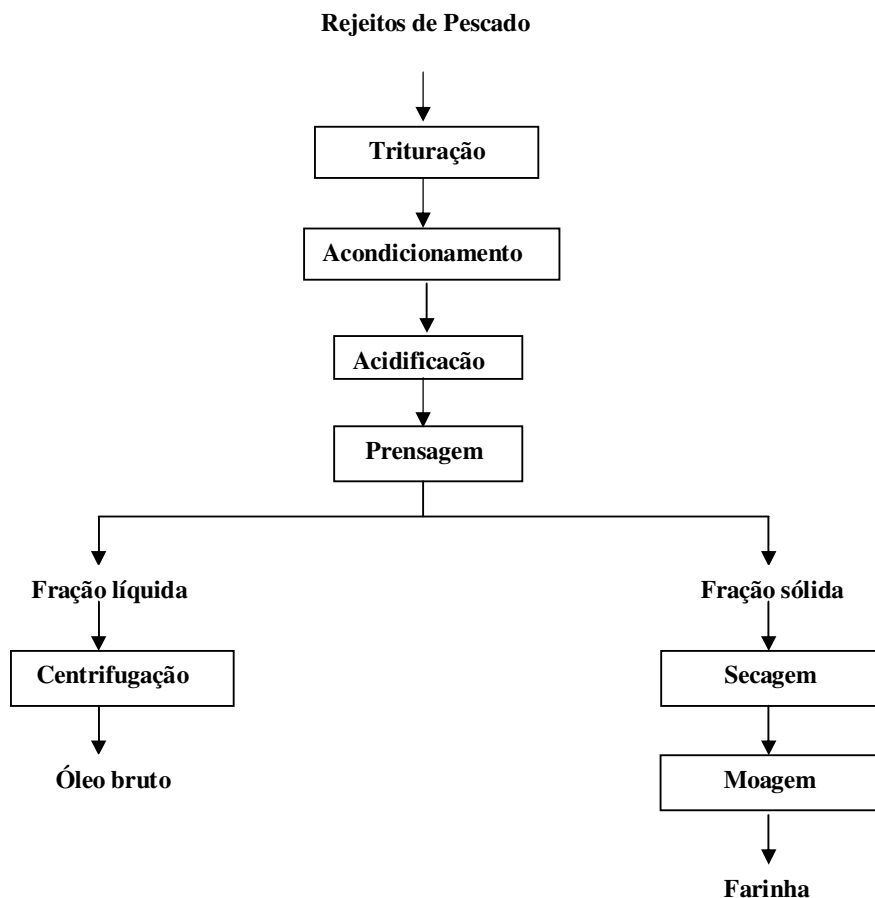


Figura 2- Fluxograma para obtenção do óleo bruto de pescado através do processo de ensilagem.

Fonte: NUNES, 2001.

4.4 Óleo de Pescado e ácidos graxos poliinsaturados

As fontes mais ricas em ácidos graxos poliinsaturados são os óleos de pescado e a carne de peixes (CORRÊA, 2003). A composição em ácidos graxos do óleo de pescado varia em virtude de muitos fatores, como sexo, tamanho, dieta, localização geográfica, temperatura do ambiente e estação do ano (GONÇALVES & SOUZA-SOARES, 1988). Esses ácidos graxos poliinsaturados, principalmente EPA e DHA são originalmente provenientes de algas marinhas as quais são fontes de alimento para os peixes típicos de águas frias. A alta quantidade de ω -3 PUFAs presente nestes peixes é consequência da adaptação destes a águas frias (CORRÊA, 2003).

A importância dos lipídios na nutrição e no desenvolvimento humano é reconhecida há muitas décadas. Os ácidos graxos (AG) são constituintes estruturais das membranas celulares, cumprem funções energéticas e de reservas metabólicas, além de formarem hormônios e sais biliares (AHMED *et al.*, 2009; CHAKRABORTY *et al.*, 2009).

Os ácidos graxos linolênico (ω -3) e linoléico (ω -6) pertencem a dois grupos diferentes de ácidos graxos poliinsaturados que não são sintetizados pelo organismo, mas são indispensáveis para manter a saúde humana e por isso têm que serem complementados pela alimentação (AHMED *et al.*, 2009). Esses ácidos graxos são considerados precursores dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa: ácido araquidônico (AA), ácido eicosapentaenóico (EPA), e ácido docosahexaenóico (DHA) (EL-BRADY *et al.*, 2007).

As famílias de ácidos graxos ω -3 e ω -6 consistem de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs-Polyunsaturated Fatty Acids) contendo de 18 a 22 carbonos. A designação de ômega tem relação com a posição da primeira dupla ligação, contando a partir do grupo metílico final da molécula de ácido graxo. Os ácidos graxos ω -3 apresentam a primeira dupla ligação entre o terceiro e o quarto átomo de carbono, enquanto os ácidos graxos ω -6 têm a primeira dupla ligação entre o sexto e o sétimo átomo de carbono (CORRÊA, 2003; SUÁREZ-MAHECHA *et al.*, 2002)

O ácido linoléico (ω -6) e o ácido linolênico (ω -3) são ácidos graxos poliinsaturados essenciais porque as duplas ligações, situadas no terceiro e sexto átomos de carbono, não podem ser produzidas pelo organismo humano, logo precisam ser adquiridos através da dieta. A partir destes são sintetizados no organismo outros PUFAs de fundamental importância para o corpo: o ácido araquidônico a partir do ácido linoléico (ω -6) e os ácidos eicosapentaenóico e docosahexaenóico ambos formados a partir do ácido linolênico (EL-BADRY *et al.*, 2007; CORRÊA, 2003; SUÁREZ-MAHECHA *et al.*, 2002). Embora possam ser produzidos pelo organismo, estudos revelam que apenas 10-15% do ácido linolênico é convertido em EPA e a síntese de DHA é limitada, sendo insuficiente para suprir as necessidades do organismo (CORRÊA, 2003).

Entre as principais funções dos ácidos graxos estão o depósito de energia e a conformação das membranas celulares, sendo também precursores de substâncias, como as prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos (LIN, *et al.*, 2006; LIU *et al.*, 2006; GÁMES-MEZA *et al.*, 2003). O número e a posição das duplas ligações determinam as propriedades físicas e químicas dos PUFAs. As famílias ω -6 e ω -3 têm diferentes funções fisiológicas e atuam em conjunto para regular os processos biológicos (SUÁREZ-MAHECHA *et al.*, 2002).

Duas linhas de pesquisa têm focado o importante papel dos ácidos graxos poliinsaturados ω -3 na dieta alimentar. Uma, na promoção do desenvolvimento do sistema cerebral e retina de crianças, e a outra na prevenção de doenças cardiovasculares nos adultos. Diferente do sistema muscular esquelético, que é rico em proteínas e minerais, o componente estrutural principal do tecido neuronal dos mamíferos são os lipídios. O peso seco do cérebro compreende aproximadamente 600g lipídios/kg, e apresenta um perfil único de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente em ω -3 (CORRÊA, 2003). Assim, para o desenvolvimento e manutenção das funções do sistema nervoso central, os ácidos graxos poliinsaturados são de vital importância. No feto, o sistema nervoso e o sistema cardiovascular são as duas regiões de maior importância para o seu crescimento, logo os PUFAs são relevantes para o seu desenvolvimento. No sistema cerebral, foi demonstrado que a ingestão de dietas ricas em ω -3 pode aumentar o coeficiente de inteligência de crianças, diminuir casos de hiperatividade, conter comportamento agressivo de humanos sob período de estresse, e reduzir casos de depressão e de esquizofrenia (LIU *et al.*, 2006; KLINKERSORN *et al.*, 2004; CORRÊA, 2003; GÁMES-MEZA *et al.*, 2003).

De uma forma geral, estudos em humanos indicam que o consumo regular de peixes oleosos ou de ácidos graxos poliinsaturados do tipo EPA e DHA diminuem o risco de mortes por doenças cardíacas (LIU *et al.*, 2006; KLINKERSORN *et al.*, 2004). Este efeito protetor foi constatado através de várias pesquisas feitas com pessoas de diversos países, tanto em homens que já apresentavam doença cardíaca no início do estudo, quanto em homens inicialmente saudáveis (CORRÊA, 2003). Os ácidos graxos poliinsaturados ω -3, possuem ação benéfica também no tratamento e prevenção da hipertensão, arteriosclerose, arritmia e artrite (LIU *et al.*, 2006; KLINKERSORN *et al.*, 2004; GÁMES-MEZA *et al.*, 2003).

4.5 Refino do óleo bruto de pescado

No seu estado bruto, o óleo de pescado pode apresentar impurezas e compostos como ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis, fosfatídeos e produtos de oxidação lipídica, que o tornam inadequado para o consumo humano (CREXI *et al.*, 2007; MORAIS, *et al.*, 2001). Dessa maneira, os óleos brutos requerem refino para satisfazer os padrões de qualidade para a produção de óleos e gerar produtos aceitáveis para o consumo humano (HAFIDI *et al.*, 2005).

As operações de refino têm por objetivo remover compostos indesejáveis, proporcionando assim produtos satisfatoriamente puros e com características de estabilidade (acidez, cor, oxidação e sensorial). O refino químico ou alcalino inclui as seguintes etapas: degomagem, neutralização, lavagem, secagem, branqueamento, winterização e desodorização (CREXI *et al.*, 2007; MORAIS, *et al.*, 2001).

A Figura 3 apresenta o fluxograma das etapas de refino do óleo de pescado.

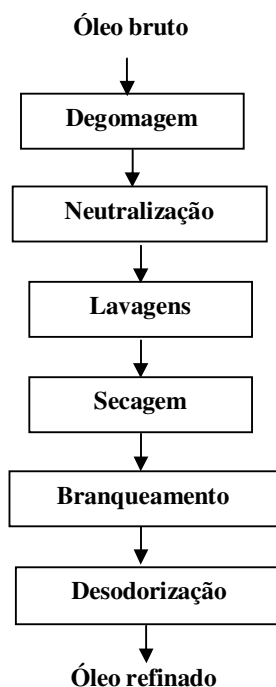


Figura 3 - Fluxograma das etapas de refino do óleo bruto de pescado.

Fonte: BRODY, 1965

A etapa de degomagem consiste basicamente na remoção de gomas (fosfolipídios), através da adição de água, soluções salinas ou ácidas, como ácido fosfórico e o ácido cítrico, sendo a degomagem ácida é mais eficiente (CARELLI *et al.*, 2002).

Na etapa de neutralização, os ácidos graxos são neutralizados por solução aquosa de álcali em excesso. Neste processo, os ácidos graxos livres combinados com álcali formam sabões (HAFIDI *et al.*, 2005; AZBAR & YONAR, 2004).

A etapa de branqueamento tem por objetivo principal obter óleos com coloração mais clara, removendo pigmentos como carotenóides, ácidos graxos livres, sabões, traços de metais, fosfolipídios e produtos de oxidação, através da utilização de materiais adsorventes como terras ativadas, carvão ativado e sílica sintética (SABAH *et al.*, 2007).

A winterização é uma etapa adicional no refino do óleo, realizada antes da etapa desodorização, e é usada para concentrar PUFAs, especialmente o ácido eicosapentaenóico e o ácido docosahexaenóico (CUNHA *et al.*, 2007).

A etapa de desodorização consiste na vaporização de substâncias que causam odor ao óleo como ácidos graxos livres, aldeídos, cetonas, álcoois e outros compostos, aplicando altas temperaturas e baixas pressões (BERDEAUX *et al.*, 2007; HAFIDI *et al.*, 2005).

4.6 Métodos de concentração de ácidos graxos poliinsaturados

Em vista do grande potencial que o mercado proporciona em suplementos alimentares de ácidos graxos poliinsaturados ω -3 e de produtos nos quais estes ácidos são incorporados, pesquisas voltadas a esta área tem relatado métodos visando à obtenção destes concentrados (LIU *et al.*, 2006; CARVALHO *et al.*, 2003; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999).

O óleo de pescado por constituir uma importante fonte de ácidos graxos poliinsaturados é usado preferencialmente como matéria-prima para preparar

concentrados de ω -3 PUFA (CUNHA *et al.*, 2009; CUNHA *et al.*, 2007; PADILHA & RUIZ, 2007).

Os concentrados de PUFA podem ser produzidos por diversos métodos, incluindo a cristalização por resfriamento, a complexação por uréia, a destilação molecular, a extração com fluido supercrítico e a concentração por lipase (LIU *et al.*, 2006). Entretanto, a técnica mais simples e a mais eficiente para obter concentrados de PUFAs através de ácidos graxos livres é complexação com uréia (LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999). Na elaboração dos concentrados ω -3 de ácidos graxos, primeiramente realiza-se uma hidrólise química ou enzimática dos óleos marinhos (GAMEZ-MEZA *et al.*, 2003), obtendo-se os ácidos graxos livres para posterior complexação com uréia (LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999).

Os ácidos graxos livres obtidos por hidrólise enzimática ou química são misturados então com uma solução alcoólica (metanol ou etanol) de uréia para que ocorra a complexação. Os ácidos graxos saturados e monoinsaturados complexam facilmente com a uréia, e são cristalizados sob refrigeração a uma dada temperatura dependendo do grau de concentração desejado. Após a cristalização os ácidos graxos saturados e monoinsaturados são removidos por filtração, sendo que a fração líquida ou não complexada de uréia é a enriquecida com ω -3 PUFA (LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999).

4.6.1 Alcoólise química

Transesterificação é um termo geral usado para descrever uma importante classe de reações orgânicas onde um éster é transformado em outro através da troca do resíduo alcoila. Quando o éster original reage com um álcool, o processo de transesterificação é denominado alcoólise (GERIS *et al.*, 2007). Nesta reação diacilgliceróis e monoacilgliceróis são os intermediários deste processo (MEHER *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2006). A alcoólise química pode ser catalisada por ácido ou base, que acelera a conversão, como também contribui para aumentar o rendimento da mesma. Entretanto a transesterificação é mais rápida quando se utiliza um catalisador básico (GERIS *et al.*, 2007; MEHER *et al.*, 2006).

As etapas das reações que ocorrem durante a alcoólise química são reversíveis, e um pequeno excesso de álcool é usado para alterar o equilíbrio para a formação de ésteres. Na Figura 4 é apresentada a reação geral para a alcoólise de um triacilglicerol. A primeira etapa envolve o ataque do íon alcóxido ao carbono carbonílico de um dos grupos acila ao triacilglicerol, formando um intermediário tetraédrico. Na última etapa o rearranjo do intermediário tetraédrico dá origem a um éster e um diacilglicerol. O diacilglicerol pode reagir em um segundo ciclo e formar mais uma molécula do éster e o monoacilglicerol, que, por sua vez, passa por transesterificação fornecendo uma nova molécula do éster e o glicerol (MEHER *et al.*, 2006; GERIS *et al.*, 2007).

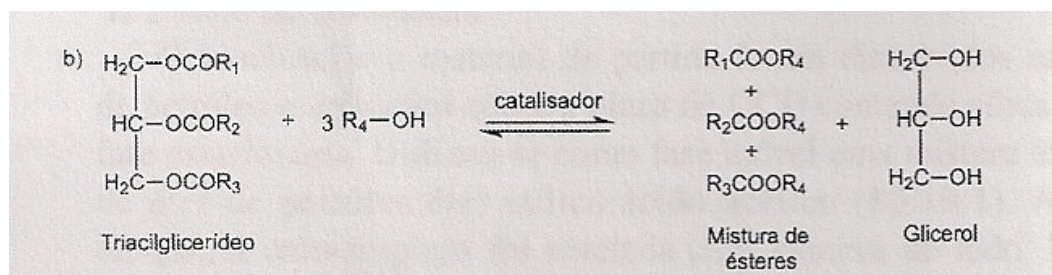


Figura 4 - Reação geral para a alcoólise de um triacilglicerol.

Fonte: GERIS *et al.*, 2007.

O processo de alcoólise química é afetado por vários fatores que dependem das condições de reação. Os efeitos destes fatores são descritos abaixo.

a) Efeito dos ácidos graxos livres e umidade

O conteúdo de ácidos graxos livres e o de umidade são parâmetros fundamentais por determinar a viabilidade do processo de alcoólise química. Para realizar a reação completa de catalise básica; o valor de acidez livre (AGL) deve ser menor que 3% pois, valores maiores de acidez reduzem a eficiência de conversão (MEHER *et al.*, 2006).

Altos teores de ácidos graxos livres ocasionam a formação de sabões que, além de consumirem parte do catalisador durante sua formação, acaba gerando emulsões e dificultando a separação dos produtos (ésteres e glicerol) no final da

reação. O mesmo ocorre quando existe quantidade considerável de água no meio reacional, pois, está leva à formação de ácidos graxos livres pela hidrólise dos ésteres presentes (SUAREZ *et al.*, 2007).

b) Tipo e concentração de catalisador

A reação de alcoólise pode ser realizada tanto em meio ácido como básico ou utilizando enzimas. Entre os catalisadores básicos estão os hidróxidos de metais alcalinos, carbonatos e alcóxidos de metais alcalinos (metóxido de sódio, etóxido de sódio, propóxido de sódio e butóxido de sódio) (GERIS *et al.*, 2007; MEHER *et al.*, 2006). A maior parte dos trabalhos descritos na literatura empregam catalisadores básicos, tais como KOH e NaOH (GERIS *et al.*, 2007). Estes catalisadores são os mais utilizados por aumentar a velocidade da reação, e permitir que o processo seja conduzido em condições moderadas de temperatura e pressão (BONDIOLI, 2004; VICENTE *et al.*, 2004).

Os catalisadores ácidos são utilizados quando o triacilglicerol possui alto conteúdo de ácidos graxos livres e umidade. Entretanto, a reação é muito lenta e requer altas temperaturas (superiores a 100°C) e mais de 3h para completar a reação (MEHER *et al.*, 2006). Uma estratégia conhecida desde a década de 40 e ainda usada para óleos vegetais que contém alto conteúdo de ácidos graxos livres é o uso combinado das duas classes de catalisadores tradicionais, fazendo-se, inicialmente, uma esterificação dos ácidos graxos livres presentes através da catalise ácida, seguida da transesterificação dos triacilgliceróis em meio alcalino (SUAREZ *et al.*, 2007; MEHER *et al.*, 2006). Ácido sulfúrico, ácidos sulfônicos e ácido clorídrico são geralmente empregados como catalisadores ácidos (GERIS *et al.*, 2007; MEHER *et al.*, 2006).

O uso de enzimas, tais como as lípases, para alcoólise de triacilgliceróis vem sendo estudado por diversos autores, no sentido de se estabelecerem condições reacionais (solvente, temperatura, pH, tipos de microrganismos que geram as enzimas etc) que constituem características satisfatórias para alcoólise industrial das diversas fontes de triacilgliceróis. Porém, os esforços esbarram no fato destas enzimas serem, caras e extremamente sensíveis ao metanol e etanol, ocorrendo uma rápida desativação (SUAREZ *et al.*, 2007).

Verifica-se na literatura que a concentração de catalisadores alcalinos utilizados para alcoólise de óleos vegetais tem variado desde 0,4 a 2,0% (p/p) de óleo. A grande variação nas concentrações utilizadas pode ser atribuída às diferenças existentes nos diversos sistemas reacionais utilizados, tais como, tipo e razão molar do álcool utilizado, configuração do reator e matéria-prima (MEHER *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2006). Para óleos de pescado, verifica-se na literatura que a concentração de catalisadores alcalinos é bem superior, em torno de 22% (LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999; SHAHIDI & WANASUNDARA, 1998).

c) Relação molar álcool:óleo para a reação

Uma das variáveis mais importantes na reação de alcoólise química, que afetam a conversão de triacilgliceróis em ésteres é a razão molar entre álcool e triacilglicerol. A razão estequiométrica para alcoólise requer três moles de álcool e um de triacilglicerol para a produção de três moles de ésteres e um de glicerol. No entanto, a reação de alcoólise, devido ao seu caráter reversível, requer um excesso de álcool para que haja um deslocamento da reação para a direita (MEHER *et al.*, 2006). Contudo, um elevado excesso de álcool interfere na separação do glicerol, devido ao aumento da solubilidade do éster graxo no glicerol (LEUNG & GUO, 2006, MEHER *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2006).

Com relação ao agente transesterificante, o processo reacional ocorre preferencialmente com alcoóis de baixa massa molar, como por exemplo, metanol, etanol, propanol, butanol e álcool amílico, mas metanol e etanol são os mais freqüentemente empregados (GERIS *et al.*, 2007). Metanol é o mais utilizado devido ao seu baixo custo na maioria dos países e às suas vantagens físicas e químicas (polaridade, álcool de cadeia mais curta, reage rapidamente com triacilgliceróis e dissolve facilmente o catalisador básico). Além disso, permite a separação simultânea do glicerol (GERIS *et al.*, 2007, MEHER *et al.*, 2006). Entretanto, devido a toxicidade do metanol, o uso no Brasil de etanol para esta reação apresenta um grande potencial devido a sua baixa toxicidade e fácil disponibilidade.

4.6.2 Método de Complexação com Uréia

O método de fracionamento com complexação (inclusão) com uréia baseia-se na separação pelo grau de insaturação, sendo que os ácidos graxos mais insaturados são menos incluídos nos adutos de uréia (CARVALHO *et al.*, 2003). Na presença de moléculas de cadeias retas e longas a uréia cristaliza-se em uma estrutura hexagonal de canais de diâmetro de 8-12 Å. Esses canais formados, na presença das moléculas de cadeias sem ramificações, são suficientemente grandes para acomodar correntes alifáticas. Dessa forma, enquanto os ácidos graxos saturados de cadeias retas com seis átomos de carbono ou maior quantidade são mais prontamente incluídos nos adutos de uréia, a presença de ligações duplas na cadeia do carbono aumenta o volume da molécula e reduz a probabilidade de sua complexação com a uréia. (SHAHIDI & WANASUNDARA, 1998). Esta é uma técnica bem estabelecida para a eliminação de ácidos graxos saturados e monoinsaturados (LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999; SHAHIDI & WANASUNDARA, 1998).

Os ácidos graxos monoinsaturados são mais prontamente complexados em comparação aos diinsaturados que, por sua vez, são mais complexados do que triinsaturados. Conseqüentemente, a estabilidade do ácido graxo-uréia conduz a geometria das moléculas envolvidas. Todo o desvio de um arranjo da cadeia reta enfraquece a estabilidade de inclusão. Conseqüentemente, a formação dos compostos de inclusão na uréia depende do grau de insaturação dos ácidos graxos (SHAHIDI & WANASUNDARA, 1998).

As condições de processamento para a complexação com uréia variam de acordo com a concentração da solução de uréia, a relação ácido-graxo uréia, o decréscimo da temperatura de cristalização e o tempo de cristalização. Na técnica de complexação da uréia, tem-se a vantagem que os cristais complexados são extremamente estáveis, e a filtração não tem que necessariamente ser realizada em temperaturas muito baixas como é requerido na cristalização de ácidos graxos com solvente (CUNHA *et al.*, 2007; LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI 1999).

Liu *et al.* (2006) relataram o método de complexação com uréia utilizando óleo de atum. Os autores trabalharam com uma solução alcoólica de uréia 10% (p/v) em etanol 95%, homogeneizando a mistura uréia-óleo a temperatura de 60 a 70 °C sob

agitação, onde obtiveram aumento total de DHA e EPA de 85,02% com relação ácido graxo-uréia de 15 mol/mol, temperatura de cristalização de -5 °C, e tempo de cristalização de 20 h.

Wanasundara & Shahidi (1999) em seus estudos, realizaram a complexação com uréia utilizando uma solução alcoólica 20% (p/v) em etanol 95%, homogeneizando a mistura uréia-óleo a temperatura de 60 °C, sob agitação. Os autores obtiveram um total de ácidos graxos ω -3 de 88,2% utilizando as condições de relação ácido graxo-uréia de 4,5 (p/p), tempo de cristalização de 24 h, e temperatura de cristalização de -10°C.

5 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

O trabalho foi desenvolvido em quatro artigos:

O primeiro é intitulado **ÓLEOS DE CARPA (*Cyprinus carpio*) OBTIDOS ATRAVÉS DOS PROCESSOS DE FARINHA DE PESCADO E DE ENSILAGEM: CARACTERÍSTICAS E PERFÍS LIPÍDICOS**, neste trabalho foram obtidos e avaliados os óleos brutos de vísceras de carpa através do processo de ensilagem e do processo termomecânico de farinha de pescado, sendo estes óleos comparados com o óleo bruto extraído através do método de Bligh e Dyer;

O segundo artigo é intitulado **PRODUÇÃO E REFINO DO ÓLEO OBTIDO A PARTIR DE VÍSCERAS DE CARPA (*Cyprinus carpio*)**, neste trabalho os óleos brutos de vísceras de carpa (*Cyprinus carpio*) obtidos através dos processos de ensilagem e termomecânico de farinha de pescado foram refinados e comparados em relação as características e aos perfis de ácidos graxos dos óleos brutos, neutralizados, branqueados, winterizados e desodorizados;

O terceiro artigo cujo título é **CONCENTRADOS DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS DE ÓLEO DE CARPA (*Cyprinus carpio*): COMPARAÇÃO DE TRATAMENTOS PARA ALCOÓLISE QUÍMICA E COMPLEXAÇÃO COM URÉIA**, neste trabalho foram comparados três tratamentos utilizados para a reação de alcoólise química no óleo branqueado de carpa (*Cyprinus carpio*) e obtido os concentrados de ácidos graxos poliinsaturados através da reação de complexação com uréia;

O quarto artigo é intitulado **CONCENTRADOS DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS A PARTIR DE ÓLEO DE PESCADO PARA ELABORAÇÃO DE LIPÍDIOS ESTRUTURADOS**, neste trabalho se realizou uma revisão sobre ácidos graxos poliinsaturados presentes em óleos de pescados, concentração de ácidos graxos poliinsaturados através do método de complexação com uréia, lipídios estruturados, interesterificação química, produtos e mercado.

5.1 ARTIGO 1

**ÓLEOS DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*) OBTIDOS ATRAVÉS DOS
PROCESSOS DE FARINHA DE PESCADO E DE ENSILAGEM:
CARACTERÍSTICAS E PERFÍS LIPÍDICOS**

**Artigo publicado na revista International Journal of Food Science and
Technology, 44, p.1642-1648, 2009.**

ÓLEOS DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*) OBTIDOS ATRAVÉS DOS PROCESSOS DE FARINHA DE PESCADO E DE ENSILAGEM: CARACTERÍSTICAS E PERFÍS LIPÍDICOS

5.1.1 Resumo

Óleos de peixe são considerados importantes fontes de ácidos graxos poliinsaturados ω -3, especialmente o ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5) e o ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6). A carpa (*Cyprinus carpio*) é uma das principais espécies de peixe produzidas na piscicultura mundial. O objetivo do presente estudo foi obter os óleos brutos de vísceras de carpa através do processo de ensilagem e do processo termomecânico de farinha de peixe. Os óleos brutos obtidos por ambos os processos foram comparados com o óleo bruto extraído através do método de Bligh e Dyer. Os óleos brutos obtidos através dos três processos apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) para ácidos graxos livres, índice de peróxido, valor do ácido de tiobarbitúrico e para a cor Lovibond; porém, os valores dos índices de iodo e saponificação não foram afetados significativamente ($P > 0,05$). O rendimento obtido em óleo bruto para ambos os processos foi em torno de 85% em relação ao óleo presente nas vísceras. Os óleos brutos obtidos de vísceras de carpa através dos processos de ensilagem e termomecânico apresentaram alto conteúdo de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados (67,4%), e a relação ω -3/ ω -6 em torno de 1,15. Analisando as características dos óleos e os perfis de ácidos graxos, verifica-se que estes óleos podem ser usados em dietas de peixes; porém os óleos brutos requerem refino para gerar um produto aceitável para consumo humano.

Palavras - chave: cor, ácidos graxos, lipídios, óleos.

CARP (*Cyprinus carpio*) OILS OBTAINED BY FISHMEAL AND ENSILAGE PROCESSES: CHARACTERISTICS AND LIPID PROFILES

Abstract

Fish oil is an important source of long-chain ω -3 polyunsaturated fatty acid. The common carp (*Cyprinus carpio*) is a major fish species in world aquaculture production. This study aimed towards obtaining carp viscera oil by ensilage and fishmeal

processes. Characteristics of crude oils obtained were also compared with oil extracted by Bligh and Dyer methods. Crude oils obtained by the three processes resulted in significant difference ($P < 0.05$) for free fatty acids, peroxide, thiobarbituric acid and Lovibond colour values; however, iodine and saponification values were not significantly affected ($P > 0.05$). Recovery yield of crude oils was approximately 85% in relation to carp viscera oil. Carp crude oils obtained by the ensilage and fishmeal processes resulted in high unsaturated and polyunsaturated fatty acid contents (67.4%), and ω -3 / ω -6 ratios around 1.15. These oils are applicable in fish diets; however, crude oils require refinement for human consumption.

Keywords: Colour, fatty acids, fish, lipids, oils.

5.1.2 Introdução

A carpa comum (*Cyprinus carpio*) é uma das principais espécies de peixes da aquicultura mundial. É cultivada exclusivamente em lagoas tradicionais extensas ou semi-intensivas, onde o seu crescimento depende (50% ou mais) da alimentação natural (VANDEPUTTE *et al.*, 2008). Entre as várias alternativas de fontes para a alimentação animal, os rejeitos de carpa apresentam elevada qualidade nutricional (GERON *et al.*, 2007).

A silagem e a farinha de pescado são fontes de proteínas e produtos de alto valor biológico para alimentação animal, podem ser obtidas a partir de espécies subutilizadas na indústria de pescado, ou a partir de peixes marinhos e rejeitos da indústria. Estes materiais considerados de baixa qualidade, quando não utilizados podem causar problemas ambientais, sanitários e econômicos (GERON *et al.*, 2007). O óleo de pescado pode ser obtido a partir de rejeitos de pescados através do processo de ensilagem ácida (ZHOU *et al.*, 1995; REECE, 1981) e do processo termomecânico de farinha de pescado (ARVANITTOYANNIS & KASSAVETI, 2008).

Os lipídios são importantes na dieta de peixes devido ao fornecimento de energia para o seu crescimento, e também por serem transportadores de vitaminas lipossolúveis. Óleos de pescados contêm grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (ω 3-PUFAs), com composição nutricional semelhantemente a dieta natural necessária para peixes durante a fase marinha do

seu ciclo de vida (PENG *et al.*, 2008; MILLER *et al.*, 2007;). Recentemente, estudos avaliaram a substituição de óleo de pescado na produção de alimentos para peixes por óleos vegetais e animais, e por óleos obtidos a partir de células de organismos como microalgas. Porém, dietas contendo como substituintes do óleo de pescado plantas terrestres e óleos de origem animal reduziram as concentrações dos ácidos graxos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA). Também, os óleos extraídos de células de biomassa apresentam maiores custos na produção comercial de alimentos para peixes (MILLER *et al.*, 2007). Dessa maneira, o óleo de pescado é uma alternativa econômica em relação a plantas terrestres e óleos animais, para o uso na alimentação de peixes, pois representam uma fonte de lipídios com elevado conteúdo de PUFAs.

Também existe no mercado mundial crescente inclusão de óleos de pescado de alta qualidade em alimentos e suplementos dietéticos para consumo humano. Atualmente, os óleos de pescados disponíveis são produzidos por prensagem e aquecimento dos rejeitos, ocorrendo à liberação do óleo que está concentrado principalmente no interior da carne do pescado (ZHONG *et al.*, 2007).

Poucos trabalhos foram publicados sobre as características do óleo bruto de carpa e sua composição em ácidos graxos (GULER *et al.*, 2008; DRUZIAN *et al.*, 2007; RASOARAHOMA *et al.*, 2004). Os objetivos deste trabalho foram obter o óleo bruto de vísceras de carpa (*Cyprinus carpio*) através dos processos de ensilagem e termomecânico de farinha de pescado, e comparar as características e os perfis de ácidos graxos desses óleos.

5.1.3 Material e Métodos

Matéria-prima

A matéria-prima utilizada foram vísceras de carpa comum (*Cyprinus carpio*) obtidas de uma planta comercial de processamento de pescado; estes rejeitos foram imediatamente refrigerados e transportados em recipientes de plástico até o Laboratório de Operações de Unidade / FURG.

Metodologia do processo de ensilagem ácida

Para elaboração da ensilagem, 35 kg de vísceras de carpa foram descongeladas a temperatura ambiente durante a noite, após foram moídas, em moedor de carne, acondicionadas em recipientes plásticos de 5 L e acidificadas com ácido acético glacial 10% (v/p); 250 mg kg⁻¹ de antioxidante butil hidroxitolueno terciário (BHT) foram acrescentadas para prevenir a oxidação lipídica. Durante o período inicial de liquefação, a silagem foi revolvida ocasionalmente. O período de liquefação foi de 15 dias sob temperatura entre 25 a 35 °C. Após 15 dias realizou-se o peneiramento da silagem em peneira tyler 14 para remoção da fração sólida e posterior centrifugação.

Para separação do óleo da silagem a temperatura da silagem foi elevada a 50 °C em banho termostatizado (modelo QUIMIS Q 304-264, Diadema, Brasil); após, o material foi centrifugado durante 20 min a 7000xg (modelo SIGMA 6-15, D- 37250, Sigma, Osterode, Alemanha). O produto resultante incluiu três frações: uma sólida no fundo, uma camada aquosa no meio e uma camada superior de óleo. As frações de óleo foram separadas e armazenadas em recipientes âmbar a 20 °C para posterior análise.

Metodologia do processo termomecânico de farinha de pescado

O processamento das vísceras para a extração do óleo bruto ocorreu sob condições semelhantes à de uma planta comercial de processamento de pescado, em escala de laboratório através das seguintes etapas: moagem, cocção, peneiramento e centrifugação.

Para elaboração da farinha de pescado, foram utilizadas 35 kg de vísceras de carpa, estas foram descongeladas durante a noite a temperatura ambiente e moídas em moedor de carne. Após, o material bruto passou por um processo de cocção a 95 - 100 °C durante 30 min e então peneirado em peneira tyler 14 para a remoção da fração sólida. A separação das frações por centrifugação e o armazenamento da fração de óleo foi realizada sob condições semelhantes ao processo de ensilagem.

Rendimento de óleo bruto

O rendimento foi expresso como porcentagem de óleo bruto recuperado em relação ao óleo bruto presente nas vísceras de carpa. O rendimento foi calculado como apresentado na equação 1:

$$\% \text{ Rendimento} = \frac{P_{OBR}}{P_{OBD}} \times 100 \quad (1)$$

Onde P_{OBR} é o peso de óleo bruto recuperado dos processos de ensilagem ácida e farinha de pescado e P_{OBD} é o peso do óleo extraído através do método de Bligh e Dyer.

Metodologia analítica

A matéria-prima, vísceras de carpa, foi caracterizada em duplicada, através dos seguintes parâmetros: umidade (método 925.10) e proteína (método 960.52), de acordo com as metodologias da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995), para a determinação de lipídios foi utilizado o método descrito por Bligh e Dyer, (1959).

Para os óleos brutos, os seguintes parâmetros foram determinados em triplicata: Ácidos graxos livres (Ca 5a – 40), Índice de peróxido (Cd 8-53), Índice de iodo (Cd 1-25) e Índice de saponificação (Cd 36–76). As metodologias analíticas utilizadas foram realizadas conforme a American Oil Chemists' Society (AOCS, 1980).

O método utilizado para a determinação de ácidos graxos livres baseia-se na titulação da amostra (diluída em uma solução de éter-álcool etílico) com uma solução de hidróxido de sódio, utilizando como indicador fenolftaleína. Os resultados são expressos em percentual de ácido oléico. Para a determinação do índice de peróxido o método utilizado, baseia-se na titulação da amostra (diluída em uma solução de ácido acético-clorofórmio) com uma solução de tiosulfato de sódio. Os resultados são expressos em meq kg⁻¹. Na determinação do índice de iodo, titula-se a amostra diluída em uma solução de clorofórmio tratada com uma solução de solução de Wijs e iodeto de potássio, em uma solução de tiosulfato de sódio, usando amido como indicador.

Os resultados são expressos em $\text{cgl}_2 \text{ g}^{-1}$. O método utilizado para determinação do índice de saponificação baseia-se na titulação com ácido clorídrico da amostra diluída em uma solução de hidróxido de potássio, utilizando fenolftaleína como indicador. Os resultados são expressos em mg KOH g^{-1} .

O valor de TBA (ácido tiobarbitúrico) foi determinado conforme metodologia proposta por Vyncke (1970), utilizando o método espectrofotométrico (espectrofotômetro modelo QUIMIS Q-108 DRM, Diadema, Brasil). Neste método calcula-se o valor de TBA utilizando-se uma curva padrão que é obtida reagindo quantidades conhecidas de 1,1,3,3 tetrametoxipropano e TBA. Os resultados são expressos como $\text{mg malonaldeído kg}^{-1} \text{ óleo}$.

A cor dos óleos foi determinada utilizando-se o método Lovibond (Lovibond Colour Staler Tintometer; modelo F, Amesbury, Reino Unido), fixando-se a cor amarelo em 30 unidades e variando-se a cor vermelho, conforme descrito por Windsor & Barlow (1984). As amostras foram colocadas em uma cubeta e inseridas no espaço dentro do tintometro. A cor dos óleos refletida foi determinada combinando diferentes variações de vermelhos e amarelos, até que a cor refletida foi igual à combinação das variações. Os valores das variações das cores de amarelo e vermelho foram repetidos três vezes para cada amostra.

O preparo das amostras para a realização da análise cromatografia para determinação do perfil de ácidos graxos dos óleos foi realizado segundo metodologia descrita por Metcalfe & Schimitz (1966), este método permite a injeção da amostra no equipamento na forma de ésteres metílicos de ácidos graxos.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados por cromatografia gasosa (CG) em cromatógrafo (modelo VARIAN- 3400 CX, Palo Alto, Califórnia, USA) equipado com coluna capilar DB-17 J&W Scientific (50% fenil metilpolisiloxano). A análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada em duplicata injetando 1,0 μL razão SPLIT 1:50, na coluna capilar (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno com um filme de 0,25 μm de espessura). As condições do cromatógrafo foram: temperatura do injetor 250 °C, temperatura do detector de ionização de chama 300 °C, o gás de arraste foi hélio com fluxo de 1,00 mL min^{-1} , velocidade linear de 24 cm s^{-1} . e temperatura inicial da coluna de 100 °C, permanecendo nesta temperatura por 1 min.,

após aumento da temperatura a 6°C/min para 160°C e 230°C. Os ácidos graxos de ésteres metílicos foram identificados pela comparação direta dos tempos de retenção com padrões (SUPELCO TM 37, Bellefonte, Palo Alto, EUA), e quantificados por normalização das áreas.

Análise Estatística

As características dos óleos brutos, bem como, os perfis de ácidos graxos, foram comparadas usando o teste de Tukey de diferença de médias (BOX *et. al.*, 1978), utilizando-se o software Statistica *for Windows* 6.0 (StatSoft Inc., Tulsa, Okla, EUA). Os valores foram considerados significativos a um nível de $P < 0,05$.

5.1.4 Resultados e Discussão

Caracterização da matéria-prima

Os resultados da caracterização da matéria-prima (vísceras de carpa) usados nos processos termomecânico de farinha de pescado e de ensilagem foram: conteúdo de umidade de $75 \pm 2\%$, conteúdo de proteína de $12 \pm 1\%$ e conteúdo de lipídio de $13 \pm 1\%$. Os resultados apresentados para a matéria-prima utilizada neste trabalho foram comparados com os de Druzian *et al.* (2007), estes autores estudaram a composição proximal da carne de carpa e obtiveram como resultados conteúdos de umidade, proteína e lipídios de aproximadamente 72,2%, 14,8% e 9,9%, respectivamente. Pode-se verificar no presente estudo que as vísceras de carpa apresentaram menor conteúdo de proteínas e maiores conteúdos de umidade e lipídios que os relatados por esses autores. Estas variações estão relacionadas com a matéria-prima utilizada; Druzian *et al.* (2007) estudaram o pescado inteiro, enquanto neste estudo utilizaram-se apenas as vísceras da carpa. Fatores naturais como escassez de comida, ou fatores fisiológicos como desova ou migrações, também influenciam na composição química, ocorrendo maior variação da fração de lipídios (DE SILVA *et al.*, 1997; BORLONGAN & BENITEZ, 1992).

Foram recuperados 11,0 g e 11,1g por 100 g de vísceras dos óleos brutos obtidos através dos processos termomecânico de farinha de pescado e de ensilagem, respectivamente. Verifica-se que os rendimentos de recuperação desses óleos brutos

(Equação 1) foram de aproximadamente 85%. Reece (1980) estudou a recuperação do óleo da silagem de pescado obtendo quantidade máxima de óleo de aproximadamente 11,4 g por 100 g de vísceras, conteúdo este similar ao encontrado neste estudo.

Caracterização do óleo de pescado

As características do óleo bruto de carpa extraído através do método de Bligh e Dyer e dos óleos obtidos através do processo termomecânico de farinha de pescado e do processo de ensilagem são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Características dos óleos brutos de carpa comum obtidos através do método de extração por Bligh and Dyer e dos processos termomecânico de farinha e ensilagem.

Índices	Bligh and Dyer	Processo Termomecânico *	Processo Ensilagem *
AGL (% acid. oléico)	4,26 ±0,02 ^a	3,35±0,02 ^b	6,63±0,01 ^c
IP (meq peroxide kg ⁻¹)	3,50±0,02 ^a	3,38±0,05 ^b	3,68±0,02 ^c
TBA (mg _{malonaldeído} kg ⁻¹ óleo)	1,22±0,02 ^a	6,69±0,05 ^b	1,17±0,01 ^c
II (cg I ₂ g ⁻¹)	115± 2 ^a	115 ± 1 ^a	114±2 ^a
IS (mg KOH g ⁻¹)	205± 1 ^a	204±2 ^a	205±3 ^a
CL vermelho (30 amarelo)	10,5±0.1 ^a	5,0 ±0,1 ^b	16±0.2 ^c

*Letras com sobrescritos diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa ($P < 0,05$). AGL, ácidos graxos livres; IP, índice de peróxido; TBA, ácido tiobarbitúrico; II, índice de iodo; IS, índice de saponificação; CL, cor Lovibond. * valor médio ± erro padrão (em triplicata)

Na Tabela 1 verifica-se que houve diferença significativa ($P < 0,05$) para os valores de ácidos graxos livres (AGL), índice de peróxido (IP), valor do ácido tiobarbitúrico (TBA) e cor Lovibond (CL) para o óleo bruto extraído pelo método de Bligh and Dyer e para os óleos obtidos por ambos os processos.

Em relação ao conteúdo de AGL, observa-se maior valor para o óleo obtido através do processo de ensilagem (Tabela 1). O aumento do conteúdo de AGL no óleo recuperado da silagem de pescado esta associado à liberação dos ácidos graxos livres do material sólido durante a liquefação das vísceras do pescado (REECE, 1981).

Grande parte da acidez livre inicial esta relacionada com a ação das enzimas endógenas presentes nas vísceras, que atuam durante o período de liquefação da silagem. Zhou *et al.* (1995) estudaram o conteúdo de AGL dos lipídios durante o processo de ensilagem ácida de arenque; neste estudo, o nível máximo de AGL foi de aproximadamente 6%.

O óleo bruto obtido através do método de Bligh and Dyer apresentou maior conteúdo de AGL do que o óleo bruto obtido através do processo de farinha de pescado (Tabela 1). O conteúdo de AGL no óleo de pescado proveniente do processo termomecânico de farinha de pescado apresentado na Tabela 1 é similar ao encontrado por Chantachum *et al.* (2000). Estes autores estudaram a separação e a qualidade do óleo de pescado obtido de cabeças de atum, comparando as condições de pré-cozimento e sem pré-cozimento das cabeças de atum, neste estudo os autores obtiveram aproximadamente 3% de AGL sem o pré-cozimento das cabeças a 95 °C durante 30 min.

Austreng & Gjerfsen (1981) estudaram o efeito do nível de AGL como critério de qualidade de óleos e gorduras em dietas para salmão, utilizando óleos de capelin com conteúdos de AGL variando de 0,1 a 11,0%. Estes autores verificaram que não existe relação entre a mortalidade de peixes e o nível de AGL no óleo de pescado. Neste estudo proteínas, digestibilidade da gordura e o total de energia da dieta não foram influenciados pelo conteúdo de AGL. Entretanto, vários experimentos com AGL em peixes relatam que a utilização de dietas com baixo conteúdo de AGL, aumenta o conteúdo de gordura nos peixes. Publicações mostram grande divergência dos resultados para a mesma espécie e entre espécies, o que faz com que seja impossível generalizar o uso de AGL em alimentos (VIOLA & AMIDAN, 1978; STICKNEY & ANDREWS, 1972). Desta maneira, o efeito do nível de AGL como um critério de qualidade de óleos e gorduras em dietas de peixes deveria ser avaliado para cada espécie.

Em relação ao IP, pode ser observado na Tabela 1 que este valor é maior para os óleos brutos obtidos através do método de extração de Bligh and Dyer e do processo de ensilagem ácida. O IP indica o estágio inicial da oxidação lipídica; tal oxidação é importante por definir o estado de deterioração, especialmente a presença de compostos de baixo peso molecular provenientes da degradação dos lipídios

(MANRAL *et al.*, 2008; BORAN *et al.*, 2006). O IP está dentro do padrão requerido para a qualidade e aceitabilidade de óleos para consumo humano, de $8 \text{ meq kg}^{-1}_{\text{óleo}}$ (BORAN *et al.*, 2006). Neste estudo, o IP para o óleo bruto de carpa ficou abaixo dos resultados citados por Ganga *et al.* (1998), de $4,02 \text{ meq kg}^{-1}$ para óleo de sardinha.

Neste estudo, o valor do ácido de tiobarbitúrico (TBA) para o óleo obtido pelo processo de farinha de pescado foi maior que o obtido através do método de extração por Bligh and Dyer e do processo de ensilagem (Tabela 1). O valor de TBA é extensamente usado como um indicador do grau de oxidação lipídica, com decomposição de hidroperóxidos e formação de produtos secundários de oxidação como aldeídos, cetonas e álcoois (BORAN *et al.*, 2006). O uso de altas temperaturas durante o processo termomecânico de farinha de pescado potencializa a oxidação lipídica. Porém, o valor de TBA está de acordo o requerido para qualidade e aceitabilidade de óleos para consumo humano de 7 a 8 de $\text{mg}_{\text{malonaldeído}} \text{ kg}^{-1}_{\text{óleo}}$ (BORAN *et al.*, 2006).

A cor Lovibond dos óleos obtidos através do método de Bligh Dyer e do processo de ensilagem ácida é maior que a do óleo obtido através do processo de farinha de pescado (Tabela 1). A pigmentação do óleo da ensilagem ácida pode ser devido à liberação dos produtos da hidrólise ácida como a hemoglobina (REECE, 1981). As proteínas são consideradas o principal objetivo dos AGL tornando-se altamente unidas estes constituintes. Geralmente acredita-se que as interações entre proteínas e AGL acontecem principalmente por ligações eletrostáticas de Van der Walls e pontes de hidrogênio unidas por forças hidrofóbicas (SEQUEIRA-MUNOZ *et al.*, 2006). O método de extração por Bligh and Dyer e o processo de ensilagem ácida não utilizam temperatura altas como o processo de farinha de pescado. Dessa maneira, o baixo valor da CL observado no óleo bruto obtido através do processo de farinha de pescado pode ser atribuído a maior remoção de voláteis e destruição de pigmentos, que aconteceu devido às altas temperaturas empregadas durante este processo. Também, no óleo extraído por método de Bligh and Dyer verifica-se que o conteúdo de AGL presente é maior que do óleo obtido através do processo de farinha de pescado, com a formação dos complexos de lipídio-proteína e conseqüente aumenta da cor do óleo obtido através do método de Bligh and Dyer.

De acordo com a Tabela 1, verifica-se que os valores dos índices de iodo e de saponificação não foram significativamente diferentes ($P > 0,05$) para os óleos brutos. Estes valores estão associados, respectivamente, com o grau de insaturação e com o peso molecular dos ácidos graxos esterificados ao glicerol. Assim, os óleos apresentam composições similares em termos do grau de insaturação dos ácidos graxos e do conteúdo de matéria saponificável. Isto pode ser atribuído ao fato de que estes óleos são originados da mesma matéria-prima. Desta maneira, os processos utilizados para obter os óleos de carpa não afetam a composição de ácidos graxos. Os valores dos índices de iodo e de saponificação para os óleos brutos obtidos através do método de extração de Bligh and Dyer e dos processos de ensilagem ácida e farinha de pescado não estão dentro da faixa citada por Bernardini (1986) para diferentes espécies de peixes marinhos de $120\text{--}190 \text{ cgl}_2\text{g}^{-1}$ e $160\text{--}190 \text{ mg}_{\text{KOH}}\text{g}^{-1}$, respectivamente. Tais variações podem ocorrer devido à temperatura da água e salinidade (DE SILVA *et al.*, 1997; BORLONGAN & BENITEZ, 1992).

Perfis Ácidos Graxos

A Tabela 2 apresenta os perfis de ácidos graxos dos óleos obtidos através dos processos de ensilagem ácida e de farinha de pescado. Nesta tabela, através do teste de Tukey's HSD de diferença de médias, verifica-se que os óleos brutos obtidos de ambos os processos não são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Tabela 2: Perfis de ácidos graxos dos óleos brutos obtidos através de ambos os processos.

Ácidos graxos	Processo Termomecânico (%) [*]	Processo de Ensilagem (%) [*]
C11:0	0,08±0,01 ^a	0,08±0,01 ^a
C12:0	0,30±0,01 ^a	0,31±0,02 ^a
C13:0	0,24±0,01 ^a	0,25±0,01 ^a
C14:0	3,79±0,02 ^a	3,82±0,03 ^a
C15:0	1,20±0,03 ^a	1,20±0,01 ^a
C16:0	16,19±0,03 ^a	16,14±0,04 ^a
C17:0	1,11±0,01 ^a	1,10±0,02 ^a
C18:0	3,15±0,01 ^a	3,17±0,02 ^a
C20:0	0,25±0,01 ^a	0,25±0,01 ^a
C21:0	0,17±0,02 ^a	0,18±0,01 ^a
C22:0	0,18±0,02 ^a	0,17±0,02 ^a
C23:0	0,20±0,01 ^a	0,20±0,01 ^a
C14:1ω5	0,17±0,01 ^a	0,18±0,01 ^a
C15:1ω5	0,42±0,01 ^a	0,43±0,02 ^a
C16:1ω7	8,08±0,04 ^a	8,04±0,03 ^a
C17:1ω7	1,27±0,03 ^a	1,30±0,01 ^a
C18:1ω9	26,05±0,03 ^a	26,01±0,02 ^a
C20:1ω9	1,83±0,05 ^a	1,85±0,03 ^a
C22:1ω9	0,08±0,01 ^a	0,08±0,02 ^a
C 24:1 ω9	3,99±0,02 ^a	3,99±0,01 ^a
C18:2 ω6	9,48±0,01 ^a	9,47±0,01 ^a
C 18:3ω6	0,34±0,02 ^a	0,32±0,01 ^a
C18:3 ω3	7,16±0,01 ^a	7,17±0,01 ^a
C 20:2ω6	0,43±0,02 ^a	0,42±0,01 ^a
C20:3 ω6	0,42±0,02 ^a	0,43±0,02 ^a
C20:3ω3	1,43±0,01 ^a	1,44±0,02 ^a
C20:4ω6 (AA)	1,24±0,02 ^a	1,22±0,01 ^a
C20:5ω3 (EPA)	3,82±0,01 ^a	3,81±0,2 ^a
C22:2ω6	0,02±0,01 ^a	0,02±0,01 ^a
C22:6ω3 (DHA)	1,20±0,02 ^a	1,20±0,01 ^a
Σ ni**	5,73±0,03	5,71±0,02

^{*} valor médio ± erro padrão (n = 3 replica). ^{**}Σ ni - somatório de não identificados, AA: ácido araquidônico. EPA: ácido eicosapentaenóico; DHA: ácido docosahexaenóico. Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Na Tabela 2, o maior conteúdo de ácidos graxos identificados no óleo de carpa são C18:1 ω9 (oléico), C16:0 (palmítico), C16:1 (palmitoléico), C18:2 ω6 (linoléico), C18:3 ω3 (linolênico), constituindo aproximadamente 67% dos óleos da ensilagem ácida e da farinha de pescado.

Os peixes requerem ω-3 PUFA, em particular EPA e DHA e também ácido araquidônico (AA), pois o alongamento e capacidade de dessaturação do ácido α-linolênico (ALA 18:3 ω3) são insuficientes para satisfazer as necessidades dos peixes

(MILLER *et al.*, 2007). Na Tabela 2, observa-se que os conteúdos de DHA e de AA nos óleos provenientes da farinha de pescado e da ensilagem são menores que os valores citados por Rasoarahoma *et al.* (2004) para o óleo de carpa, 6,7% e 5,9% respectivamente; e maiores que os citados por Druzian *et al.* (2007), de 1,02% e 1,16% respectivamente. Porém, o conteúdo de EPA é maior que os citados por estes autores de 3,4% e 2,4%, respectivamente. A causa para esta variação nos resultados observados para PUFAs, EPA, DHA e AA é provavelmente devido à alimentação destes peixes. Os percentuais de PUFA, como EPA, e DHA, no músculo de peixe, dependem da dieta. Variações na composição de ácidos graxos podem estar relacionadas por mudanças nos hábitos nutricionais do peixe (ARTS *et al.*, 2001; DE SILVA *et al.*, 1997; BORLONGAN & BENITEZ, 1992).

O ácido palmítico foi o ácido graxo saturado (AGS) mais abundante (Tabela 2). Em geral, o conteúdo de AGS (<30%) nos peixes é relativamente baixo, com exceção de certas espécies. Isto pode ser verificado na Tabela 2 onde o conteúdo de AGS ficou em torno de 28,9%. O ácido oléico foi o ácido graxo monoinsaturado (AGM) encontrado em maior abundância nos óleos provenientes da farinha de pescado e da ensilagem ácida. Ao pesquisar o efeito do clima na composição de ácidos graxos, Guler *et al.* (2008) e Kolakowska *et al.* (2000) encontraram resultados similares para os conteúdos de ácido palmítico e de ácido oléico no óleo de carpa. Estes ácidos graxos são importantes fontes de energia. O ácido palmitoléico é o segundo AGM mais encontrado nos óleos provenientes da farinha de pescado e da ensilagem. Quantidades maiores dos ácidos graxos oléico, palmitoléico e araquidênico são propriedades características de peixes de água doce (ANDRADE *et al.*, 1995). O conteúdo de AGM (aproximadamente 41,9%) é maior que o de AGS (aproximadamente 26,9%) nos óleos provenientes da farinha de pescado e da ensilagem. Guler *et al.* (2008) e Druzian *et al.* (2007) encontraram resultados semelhantes para óleo de carpa no inverno, de 41,1% e 43,12%, respectivamente.

A Tabela 3 apresenta a classe de lipídios dos óleos de carpa obtidos por ambos os processos.

Tabela 3: Classe de lipídios nos óleos brutos de carpa obtidos através de ambos os processos.

Ácidos graxos	Processo de Farinha	Processo de Ensilagem
Σ AGS (%)	26,86±0,19	26,87±0,20
Σ AGM (%)	41,89±0,20	41,88±0,15
Σ AGPs (%)	25,54±0,15	25,50±0,13
ω3 (%)	13,61	13,62
ω6 (%)	11,93	11,88
ω3/ω6	1,14	1,15

Σ AGS: somatório de saturados; Σ AGM: somatório de monoinsaturados; Σ AGPs: somatório de poliinsaturados.

Neste estudo (Tabela 3), o conteúdo de AGPs nos óleos da farinha de pescado e da ensilagem (aproximadamente 25,5%) foi maior que o encontrado por Druzian *et al.* (2007) de 23%. O conteúdo de AGPs pode variar em extensas faixas: 11,6 a 15,7% (BIENIARZ *et al.*, 2000) e 32,3 a 34,5% (GERI *et al.*, 1995) do total de ácidos graxos. Os conteúdos de AGM e AGPs da farinha de pescado e da ensilagem representam aproximadamente 67,4% do total de ácidos graxos, o que faz estes óleos uma rica fonte de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados.

Diferentes concentrações na dieta de AA, EPA e relação ω3/ω6 podem influenciar na fisiologia e na saúde, devido aos complexos efeitos da síntese de vários eicosaeinóicos de AA e EPA (MILLER *et al.*, 2007). A composição em ácidos graxos, essencialmente de AGPs, e a relação ω3/ω6 nos diferentes tecidos é afetada pela salinidade. Esta relação é maior em peixes marinhos que em peixes de água doce. As relações de ω3-AGPs e de ω6-AGPs nos lipídios totais de peixes de água doce variam entre 0,5 e 3,8, considerando que para peixes marinhos esta variação pode ser de 4,7 para 14,4. A relação ω3/ω6 é sugerida como um útil indicador de valores nutricionais relativos para óleo de pescado (GULER *et al.*, 2008). Neste estudo, os conteúdos de ω3 e ω6 na farinha de pescado e na ensilagem foram de 13,61%, 13,62% e 11,93%, 11,88%, respectivamente. A relação ω3/ω6 na farinha de pescado e na ensilagem foi de aproximadamente 1,14 e 1,15 respectivamente, superior à relação citada por Guler *et al.* (2008) para óleos de carpa, de aproximadamente 1,06.

5.1.5 Conclusão

Os óleos brutos obtidos de vísceras de carpa (*Cyprinus carpio*) através dos processos de farinha de pescado e de ensilagem e do método de extração de Bligh and Dyer, apresentam as seguintes características, respectivamente: valores de AGL de 3,35%, 6,63% e 4,26%; IP de 3,38, 3,68 e 3,50 meq_{peróxido}kg⁻¹; valor de TBA de 6,69, 1,17 e 1,22 mg_{malonaldeído} kg⁻¹_{óleo}; CL de 5 vermelho e 30 amarelo, 16 vermelho e 30 amarelo e 10,5 vermelho e 30 amarelo. Os óleos brutos obtidos através dos dois processos e do método de extração de Bligh and Dyer apresentaram diferenças significantes ($P < 0,05$) para AGL, IP, TBA e CL. Os índices de iodo e de saponificação não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) entre os dois processos e o método de extração de Bligh and Dyer. A recuperação de óleos brutos obtidos através dos processos de farinha de pescado e de ensilagem foi de 11 g por 100g de vísceras, tendo-se um rendimento aproximadamente 85% em relação ao óleo presente nas vísceras de carpa. Os principais ácidos graxos identificados nos óleos brutos de carpa foram C18:1 ω 9 (oléico), C16:0 (palmítico), C16:1 (palmitoléico), C18:2 ω 6 (linoleico), C18:3 ω 3 (linolênico), constituindo aproximadamente 67% do total de ácidos graxos nos óleos brutos obtidos através dos processos de ensilagem e de farinha de pescado, e também conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados (AGS + AGPs), de aproximadamente 67,4% do total de ácidos graxos. Os óleos brutos de carpa apresentaram qualidade para serem usados em dietas de peixes; porém estes óleos requerem refino para gerar um produto aceitável para consumo humano.

5.1.6 Agradecimentos

Os agradecem a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo suporte financeiro.

5.1.7 Referências Bibliográficas

American Oil Chemists' Society (AOCS) (1980). **Official and Tentative Methods of American Oil Chemists' Society**, 3rd edn. Champaign, IL, USA: AOCS.

Andrade, A.D., Rubira, A.F., Matsushita, M. & Souza, N.E. (1995). Omega-3 fatty acids in freshwater from South Brazil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 72, 1207–1210.

Arts, M.T., Ackman, R.G. & Holub, B.J. (2001). 'Essential fatty acids' in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 58, 122–137.

Arvanitoyannis, I.S. & Kassaveti, A. (2008). Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses. **International Journal of Food Science & Technology**, 43, 726–745.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1995). **Official Methods of Analysis**, 16th edn. Arlington, VA: AOAC.

Austreng, E. & Gjerfsen, T. (1981). Fish oils with different contents of free fatty acids in diets for rainbow trout fingerlings and salmon parr. **Aquaculture**, 25, 173–183.

Bernardini, E. (1986). **Tecnologia de aceites y grasas**. Pp. 234–261. Madrid, Spain: Alhambra S.A.

Bieniarz, K., Koldras, M., Kaminski, J. & Mejza, T. (2000). Fatty acids and cholesterol in some freshwater fish species in Poland. **Folia Universitas Agriculture Stetinensis**, 27, 21–44.

Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, 27, 911–917.

Boran, G., Karacam, H. & Boran, M. (2006). Changes in the quality of fish oils due to storage temperature and time. **Food Chemistry**, 98, 693–698.

Borlongan, I.G. & Benitez, L.V. (1992). Lipids and fatty acid composition of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) grown in freshwater and seawater. **Aquaculture**, 104, 79–89.

Box, G.E.P., Hunter, W.G. & Hunter, J.S. (1978). **Statistics for Experiments: An Introduction to Design, Data Analysis and Model Building**. New York: John Wiley & Sons.

Chantachum, S., Benjakul, S. & Sriwirat, N. (2000). Separation and quality of fish oil precooked and non-precooked tuna heads. **Food Chemistry**, 69, 2089–2294.

De Silva, S.S., Gunasekera, R.M. & Austin, C.M. (1997). Changes in fatty acid profile of hybrid red tilapia *Oreochromis mossambicus* X *O. niloticus*, subjected to short-term starvation and comparison with changes in seawater raised fish. **Aquaculture**, 153, 273–290.

Druzian, J.I., Marchesi, C.M. & Scamparini, A.R.P. (2007). Fatty acid profile and proximate composition of carp (*Cyprinus carpio*) feed artificial food and pig manure. **Ciência Rural**, 37, 539–544.

Ganga, A., Nieto, S., Sanhuez, J., Romo, C., Speisky, H. & Valenauela, A. (1998). Concentration and stabilization of n-3 polyunsaturated fatty acids sardine oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 75, 733–736.

Geri, G., Poli, B.M., Gualtieri, M., Lupi, P. & Parisi, G. (1995). Body traits and chemical composition of muscle in the common carp (*Cyprinus carpio*) as influenced by age and rearing environment. **Aquaculture**, 129, 329–333.

Geron, L.J.V., Zeoula, L.M. & Vidotti, R.M. (2007). Chemical characterization, dry matter and crude protein ruminal degradability in vitro intestinal digestion of acid and fermented silage from tilapia filleting residue. **Animal Feed Science and Technology**, 136, 226–239.

Guler, G.O., Kiztanir, B., Aktumsek, A., Citil, O.B. & Ozparlak, H. (2008). Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and ω_3/ω_6 ratios of carp (*Cyprinus carpio* L.) muscle lipids in Beysehir Lake (Turkey). **Food Chemistry**, 108, 689–694.

Kolakowska, A., Szczygielski, M., Bienkiewicz, G. & Zienkiewicz, L. (2000). Some of fish species as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids. **Acta Ichthyologica Piscatoria**, 30, 59–70.

Manral, M., Pandey, M.C., Jayathilakan, K., Radhakrishna, K. & Bawa, A.S. (2008). Effect of fish (*Catla catla*) fring on the quality characteristics of sunflower oil. **Food Chemistry**, 106, 634–639.

Metcalf, L.D.A.A. & Schimitz, J.R. (1966). Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, 38, 510.

Miller, M.R., Nichols, P.D. & Cater, C.G. (2007). Replacement of fish oil with thraustochytrid *Schizochytrium* sp. L oil in Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L) diets. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 148, 382–392.

Peng, S., Chen, L. & Qin, J.G. (2008). Effects of replacement of dietary fish oil by soybean oil on growth performance and liver biochemical composition in juvenile black seabream, *Acanthopagrus schlegeli*. **Aquaculture**, 276, 154–161.

Rasoarahoma, J.R., Barnathan, G., Bianchini, J.P. & Gaydou, E.M. (2004). Annual evolution of fatty acid profile from muscle lipids of the common carp (*Cyprinus carpio*) in Madagascar inland waters. **Journal Agriculture Food Chemistry**, 52, 7339–7344.

Reece, P. (1980). Control and reduction of free fatty acid concentration in oil recovered 449 from fish silage prepared from sprat. **Journal Science Food Agriculture**, 31, 147–155.

Reece, P. (1981). Recovery of high quality oil from mackerel and sprat by silage process. **Journal Science Food Agriculture**, 32, 531–538.

Sequeira-Munoz, A., Chevalier, D., LeBail, A., Ramaswamy, H.S. & Simpson, B.K. (2006). Physicochemical changes induced in carp (*Cyprinus carpio*) fillets by high pressure processing at low temperature. **Innovative Food Science Emerging Technologies**, 7, 13–18.

Stickney, R.R. & Andrews, J.W. (1972). Effects of dietary lipids on growth, food conversion, lipid and fatty acid composition of channel catfish. **Journal of Nutrition**, 102, 249–258.

Vandeputte, M., Kocour, M., Mauger, S., Rodina, M., Launay, A., Gela, D., Dupont-Nivet, M., Hulak, M. & Linhart, O. (2008). Genetic variation for growth at one and two summers of age in the common carp (*Cyprinus carpio L.*): heritability estimates and response to selection. **Aquaculture**, 277, 7–13.

Viola, S. & Amidan, G. (1978). The effects of different dietary oil supplements on the composition of carp's body fat. **Bamidgeh**, 30, 104–109.

Vyncke, W. (1970). Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette-Seifen Anstrichmittel**, 12, 1084–1087.

Windsor, M. & Barlow, S. (1984). **Introduction to the Fishing Products**. Pp. 99–109, Zaragoza, Spain: Acribia Publishing House.

Zhong, Y., Madhujith, T., Mahfouz, N. & Shahidi, F. (2007). Compositional characteristics of muscle and visceral oil from steelhead trout and their oxidative stability. **Food Chemistry**, 104, 602–608.

Zhou, S., Paulson, A.T. & Ackman, R.G. (1995). Release of free fatty acids from lipids during ensilation of herring mince: the possible role of ethoxyquin. **Journal Food Lipids**, 3, 121–134.

5.2 ARTIGO 2
PRODUÇÃO E REFINO DO ÓLEO OBTIDO A PARTIR DE VÍSCERAS DE
CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*)

Artigo publicado na revista Food Chemistry 119, p.945-950, 2010.

PRODUÇÃO E REFINO DO ÓLEO OBTIDO A PARTIR DE VÍSCERAS DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*)

5.2.1 Resumo

O óleo de vísceras de carpa pode ser obtido através dos processos de ensilagem ou de farinha de pescado. Este estudo avaliou o refino dos óleos de carpa (*Cyprinus carpio*) obtidos por ambos os processos, e comparou as características e os perfis lipídicos dos óleos brutos, neutralizados, branqueados, winterizados e desodorizados. Os óleos refinados obtidos por ambos os processos não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) para a cor Lovibond, ácidos graxos livres e valores do ácido tiobarbitúrico. Os principais ácidos graxos identificados nos óleos de carpa bruto, branqueado e refinado foram oléico, palmítico, palmitoléico, linoléico e linolênico constituindo aproximadamente 69,6% dos ácidos graxo totais desses óleos. A relação $\omega 3/\omega 6$ foi de aproximadamente 1,05 para o óleo refinado. Assim, o óleo refinado das vísceras de carpa pode ser considerado uma rica fonte de ácidos graxos essenciais do grupo $\omega 3$ e $\omega 6$.

Palavras-chave: óleo de carpa, ensilagem, processo termomecânico, óleo refinado.

Abstract

Carp viscera oil can be obtained by both ensilage and fishmeal processes. This study examined the refinement of carp (*Cyprinus carpio*) oils obtained by both processes, and compared crude, neutralised, bleached, winterised and deodorised oils' characteristics and lipid profiles. Refined oils obtained by the two processes did not present significant difference ($P > 0.05$) for Lovibond colour, free fatty acids, and thiobarbituric acid values. The major fatty acids identified in the carp crude, bleached and refined oils were oleic, palmitic, palmitoleic, linoleic and linolenic, constituting approximately 69.6% of the total fatty acids of the oils. The $\omega 3/\omega 6$ ratio was approximately 1.05 for refined oil. Therefore, carp viscera refined oil can be considered a rich source of essential fatty acids of the $\omega 3$ and $\omega 6$ series.

Keywords: Carp oil, Ensilage process, Fishmeal process, Refined oil.

5.2.2 Introdução

A carpa comum (*Cyprinus carpio*) é cultivada exclusivamente em lagoas tradicionais extensas ou semi-intensivas (VANDEPUTTE *et al.*, 2008), sendo uma das principais espécies de peixe da aquicultura mundial. Dessa maneira, existe potencial para produzir óleo a partir de rejeitos do processamento da carpa comum, tais como cabeças, peles e vísceras. Estudos relatam a produção de óleos de pescado de qualidade a partir de rejeitos de arenque (AIDOS *et al.*, 2003) e catfish (SATHIVEL *et al.*, 2003). Óleos de pescado são considerados a principal fonte de ácidos graxos poliinsaturados ω -3, especialmente o ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5) e o ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6). Esses ácidos graxos têm destaque nas comunidades científicas e industriais devido aos benefícios que trazem à saúde humana (FOURNIER *et al.*, 2007; ZHONG *et al.*, 2007).

O óleo de pescado pode ser obtido a partir de rejeitos de pescados através do processo de ensilagem ácida (ZHOU *et al.*, 1995; REECE, 1981) e do processo termomecânico de farinha de pescado (ZHONG *et al.*, 2007). Entretanto, os óleos brutos requerem refino para satisfazer os padrões de qualidade e gerar produtos aceitáveis para o consumo humano (HAFIDI *et al.*, 2005). As operações de refino têm por objetivo remover compostos indesejáveis, proporcionando assim produtos satisfatoriamente puros e com características de estabilidade (acidez, cor, oxidação e sensorial). O refino químico ou alcalino inclui as seguintes etapas: degomagem com a remoção das gomas, neutralização utilizando hidróxido de sódio para a remoção dos ácidos graxos livres (AGL), lavagem, secagem, branqueamento para a remoção das borras de neutralização e traços de metais e desodorização por destilação a vácuo para a remoção de ácidos graxos livres, aldeídos, cetonas, álcoois e outros compostos (BERDEAUX *et al.*, 2007; HAFIDI *et al.*, 2005; ANTONIASSI *et al.*, 1998). A winterização é uma etapa adicional no refino do óleo, usada para concentrar ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), especialmente o ácido eicosapentaenóico e o ácido docosahexaenóico (GANGA *et al.*, 1998).

Os ácidos graxos poliinsaturados ω -3 (PUFAs), especialmente (C20:5n 3) e (C22:6n 3), possuem efeitos bioquímicos na prevenção ou tratamento de várias doenças. O EPA é precursor de prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos. DHA é um componente da membrana de fosfolípidios do cérebro e células da retina; sendo

conseqüentemente, essencial para saúde humana (FOURNIER *et al.*, 2007; ZHONG *et al.*, 2007).

As classes de lipídios e os perfis de ácido graxos nos tecidos de músculo das principais espécies de pescados foram determinados; entretanto, há muito poucos estudos nas classes de lipídio e perfil de ácidos graxos de vísceras e outros rejeitos (ZHONG *et al.*, 2007). Devido a estes fatos, parece necessário realizar um estudo nas características e perfil de ácidos graxos dos óleos brutos e refinados obtidos de vísceras de carpa. Os objetivos deste trabalho foram estudar o refino dos óleos brutos de vísceras de carpa (*Cyprinus carpio*) obtidos através dos processos de ensilagem acida e termomecânico de farinha de pescado, e comparar as características e os perfis de lipídio destes óleos.

5.2.3 Materiais e métodos

As vísceras de carpa (*Cyprinus carpio*), provenientes de peixes de aproximadamente 1,30 kg e idade acima de 2 anos, obtidas de uma planta comercial de processamento de pescado, foram utilizadas como matéria-prima para extração do óleo através dos processos de ensilagem e termomecânico de farinha de pescado; estes rejeitos foram refrigerados e imediatamente transportados em recipientes de plástico ao Laboratório de Operações de Unitárias/FURG.

Metodologia do processo de ensilagem ácida

Inicialmente, 35 kg de vísceras de carpa foram descongeladas durante a noite a temperatura ambiente e moídas em moedor de carne, acondicionou-se estes rejeitos em recipientes plásticos de 5L e logo após realizou-se acidificação com ácido acético glacial 10% (v/p); também foi adicionado, antioxidante BHT (250 ppm) para prevenir a oxidação lipídica. Durante o período de liquefação inicial, a silagem foi revolvida ocasionalmente, a temperatura durante liquefação variou entre 25 a 35 °C. Após 15 dias realizou-se o peneiramento da silagem em peneira tyler 14 para remoção da fração sólida e posterior centrifugação.

Para separar o óleo da silagem a temperatura da silagem foi elevada a 50°C em banho termostatizado (modelo QUIMIS Q 304-264, Diadema, Brasil); após, o

material foi centrifugado durante 20 min a 7000xg (modelo SIGMA 6-15, D- 37250, Sigma, Osterode, Alemanha). O produto resultante incluiu três frações: uma sólida no fundo, uma camada aquosa no meio e uma camada superior de óleo. As frações de óleo foram separadas e armazenadas em recipiente âmbar a 20 °C para posterior análise.

Metodologia do processo de farinha de pescado

Para a extração do óleo bruto o processamento das vísceras foi realizado sob condições semelhantes à de uma planta comercial de processamento de pescado, em escala de laboratório através das seguintes etapas: moagem, cocção, peneiramento e centrifugação.

Na elaboração da farinha de pescado, foram utilizadas 35 kg de vísceras de carpa, estas foram descongeladas durante a noite a temperatura ambiente e moídas em moedor de carne. Após, o material bruto passou por um processo de cocção a 95 - 100 °C durante 30 min e então peneirado em peneira tyler 14 para a remoção da fração sólida. A separação das frações por centrifugação e o armazenamento do óleo foi realizada sob condições semelhantes ao processo de ensilagem.

Metodologia do refino de óleo

As etapas do processo de refino do óleo bruto (degomagem, neutralização, lavagem, secagem, branqueamento, winterização e desodorização) foram realizadas empregando as condições descritas a seguir.

A etapa de degomagem foi realizada durante 30 min, a temperatura de 80 °C e agitação de 500 rpm, com adição de 1,0% de ácido fosfórico (85% v/v) em relação à massa de óleo. A etapa de neutralização ocorreu durante 20 min, a 40 °C e agitação de 500 rpm, com adição de solução de hidróxido de sódio (20% p/p, usando 4,0% de excesso em relação ao índice acidez determinado após a etapa de degomagem). Após cada etapa, o material foi centrifugado por 20 min a 7000g, para separação do óleo.

A etapa de lavagem consistiu em adicionar 10% de água em relação à massa de óleo a 95 °C durante um tempo de contato de 10 min, com agitação de 500 rpm e temperatura de 50 °C. Esta etapa foi realizada três vezes. A etapa de secagem ocorreu durante 20 min à temperatura a 90–95 °C e agitação de 500 rpm. A etapa de branqueamento foi realizada a 70 °C e agitação de 40 rpm, com a adição de 5% de adsorvente (mistura de terra ativada e carvão ativado na relação de 9:1), sendo o tempo de contato de 20 min. Após foi realizada a filtração em funil de Büchner com uma pré-camada de terra de diatomácea. Todas as etapas do processo de refino (degomagem, neutralização, lavagem, secagem e branqueamento) foram realizadas com pressão manométrica de vácuo de aproximadamente 720 mm Hg.

A etapa de winterização foi realizada em três estágios. No primeiro estágio de nucleação, o processo ocorreu em banho refrigerado com uma mistura de água e álcool, de 30 °C até 5 °C, taxa de refrigeração de 0,62 °C/min e agitação de 500 rpm. Os segundo e terceiro estágios, de cristalização, ocorreram de 5 °C até -4 °C com uma taxa de resfriamento de 2,7 °C/h, e de -4 °C a -5 °C com uma taxa de resfriamento 0,25 °C/h, respectivamente. A cristalização deve ser realizada sob refrigeração lenta para facilitar a formação de cristais grandes e formas polimórficas estáveis, pois cristais pequenos, formados durante o resfriamento rápido, podem não ser facilmente filtrados. A separação da fração líquida oleína e da fração sólida estearina foi realizada por centrifugação a 7000g durante 20 min.

Na etapa de desodorização, o óleo foi colocado em recipiente sob vácuo (750 mm Hg) com duas aberturas, uma destas conectada a um condensador para remover os voláteis do sistema, e a outra conectada a uma caldeira com fluxo controlado por válvula para a injeção de vapor. A desodorização dos óleos winterizados foi realizada a temperatura de 220 °C durante 60 min com injeção de 5% vapor (5% de vapor em relação à massa de óleo).

Metodologia Analítica

O conteúdo de ácidos graxos livres (AGL, Ca 5a – 40) e o valor do índice de peróxido (IP, Cd 8-53) foram determinados conforme as metodologias da American Oil Chemists' Society (AOCS) (1980). O valor de anisidina (VA, Cd 18-90) e o conteúdo

de fósforo (CF, Ca 12-55) foram determinados de acordo com as metodologias descritas por American Oil Chemists' Society (AOCS) (1997).

O método utilizado para a determinação de ácidos graxos livres baseia-se na titulação da amostra (diluída em uma solução de éter-álcool etílico) com uma solução de hidróxido de sódio, utilizando como indicador fenolftaleína. Os resultados são expressos em percentual de ácido oléico.

Para a determinação do índice de peróxido o método utilizado, baseia-se na titulação da amostra (diluída em uma solução de ácido acético-clorofórmio) com uma solução de tiosulfato de sódio. Os resultados são expressos em meq kg⁻¹.

O valor de anisidina (VA) determinado no óleo de pescado foi realizado utilizando espectrofotômetro (modelo Quimis Q-108 DRM, Diadema, Brasil), este método está baseado na reação entre aldeídos α,β insaturados (principalmente 2-alquenal) e o reagente de p-anisidina. O valor de anisidina é expresso como 100 vezes a absorvância medida a 350 nm numa cubeta de 1 cm.

O valor do ácido tiobarbitúrico (TBA) foi determinado conforme metodologia proposta por Vyncke (1970), utilizando o método espectrofotométrico (espectrofotômetro modelo QUIMIS Q-108 DRM, Diadema, Brasil), este valor foi calculado utilizando-se uma curva padrão obtida reagindo quantidades conhecidas de 1,1,3,3 tetrametoxipropano e TBA. Os resultados são expressos como mg_{malonaldeído} kg⁻¹_{óleo}.

O conteúdo de fósforo (CF) foi determinado nos óleos de pescado utilizando o método espectrofotométrico (espectrofotômetro modelo Quimis Q-108 DRM, Diadema, Brasil).

A cor do óleo foi determinada utilizando-se o método Lovibond (Lovibond Colour Staler Tintometer; modelo F, Amesbury, Reino Unido), conforme descrito por Windsor & Barlow (1984), fixando-se a cor amarelo em 30 unidades e variando-se a cor vermelho.

As análises de AGL, IP, VA, TBA, CF e CL nos óleos bruto, degomado, neutralizado, branqueado, winterizado e desodorizado foram determinadas em triplicata.

Para a identificação e quantificação dos ácidos graxos, realizou-se a análise cromatográfica dos óleos de carpa brutos, branqueados e refinados. Para injeção no equipamento, os ésteres metílicos foram preparados conforme metodologia descrita por Metcalfe e Schimitz (1966).

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados por cromatografia gasosa (CG) em cromatógrafo (modelo VARIAN-3400 CX, Palo Alto, Califórnia, USA) equipado com coluna capilar DB-17 J&W Scientific (50% fenil metilpolisiloxano). A análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada em duplicata injetando 1,0 μL razão SPLIT 1:50, na coluna capilar (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno com um filme de 0,25 μm de espessura). As condições do cromatógrafo foram: temperatura do injetor 250°C, temperatura do detector de ionização de chama 300°C, o gás de arraste foi hélio com fluxo de 1,00 mL min^{-1} , velocidade linear de 24 cm s^{-1} . e temperatura inicial da coluna de 100°C, permanecendo nesta temperatura por 1 min., após aumento da temperatura a 6°C/min para 160°C e 230°C. Os ácidos graxos de ésteres metílicos foram identificados pela comparação direta dos tempos de retenção com padrões (SUPELCO TM 37, Bellefonte, Palo Alto, EUA), e quantificados por normalização de áreas.

Metodologia Estatística

As características dos óleos de carpa brutos, neutralizados, degomados, branqueados, winterizados e desodorizados e também os perfis de ácidos graxos, foram comparados através do teste Tukey de diferença de médias (BOX *et al.*, 1978), utilizando-se o software *Statística for Windows 6.0* (Statsoft Inc., Tulsa, Okla, EUA). Os valores foram considerados significativos a um nível de $P < 0,05$.

5.2.4 Resultados e Discussão

Características dos óleos de pescado

A Tabela 1 apresenta o percentual de ácidos graxos livres (AGL), o índice de peróxido (IP), valor de anisidina (VA), valor do ácido tiobarbitúrico (TBA), conteúdo de fósforo (CF) e cor Lovibond (CL) para os óleos brutos, degomados, neutralizados, branqueados, winterizados e desodorizados para os óleos obtidos através do processo termomecânico de farinha de pescado e do processo de ensilagem. Também nesta tabela foram realizadas as comparações das características destes óleos utilizando o teste Tukey de diferenças de médias.

Tabela 1: Características dos óleos de carpa obtidos por ambos os processos nas etapas de refino.

Etapas/ Índices	Óleo Termo.						Óleo Ensil.					
	Bruto	Degom.	Neutr.	Branq.	Winter.	Desodor.	Bruto	Degom.	Neutr.	Branq.	Winter.	Desodor.
AGL												
% ác. oléico	3,35±0,02 ^a	5,31±0,02 ^b	0,56±0,02 ^c	0,45±0,02 ^d	0,47±0,02 ^d	0,08±0,01 ^e	6,63±0,01 ^f	7,23±0,01 ^g	0,52±0,01 ^h	0,44±0,01 ^d	0,46±0,01 ^d	0,09±0,02 ^e
IP m eq Kg	3,38±0,1 ^a	2,5±0,1 ^b	1,85±0,3 ^c	1,79±0,1 ^d	1,78±0,1 ^d	4,0±0,3 ^e	3,68±0,2 ^a	2,80±0,2 ^b	2,02±0,2 ^c	1,80±0,01 ^d	1,79±0,1 ^d	4,20 ±0,3 ^e
Anisidina	13,4±0,4 ^a	12,3±0,3 ^b	8,2±0,3 ^c	4,8±0,2 ^d	4,7±0,1 ^d	9,1±0,3 ^e	10,3±0,3 ^f	9,8±0,2 ^g	7,4±0,4 ^h	3,1±0,03 ⁱ	2,9±0,2 ⁱ	8,6±0,3 ^e
TBA (mg MDA/kg oil)	6,7±0,1 ^a	5,6±0,1 ^b	3,2±0,1 ^c	1,5±0,3 ^d	1,49±0,1 ^d	6,1±0,3 ^e	1,10±0,1 ^f	0,77±0,1 ^g	0,58±0,1 ^h	0,40±0,2 ^j	0,41 ±0,2 ^j	6,0±0,3 ^e
Fósforo ppm	201,36 ^a	94,2 ^b	--	--	--	--	251,29 ^f	120,54 ^g	--	--	--	--
Cor V (30 A)	5,0 ±0,1 ^a	7,3 ±0,1 ^b	4,0 ±0,2 ^c	2,4±0,2 ^c	2,3±0,2 ^c	4,0 ±0,1 ^d	16±0,2 ^f	18±0,2 ^g	11,3±0,2 ^h	2,0±0,2 ^c	2,1±0,2 ^c	4,2±0,2 ^d

* valor médio ± erro padrão (n = 3 replica), Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Óleo Termo., óleo obtido do processo termomecânico; Óleo Ensil., óleo obtido do processo de ensilagem

Degom., óleo degomado; Neutr., óleo neutralizado; Branq., óleo branqueado; Winter., óleo winterizado; Desodor., óleo desodorizado

AGL, ácidos graxos livres; IP, índice de peróxido; TBA, ácido tiobarbitúrico;

Os óleos brutos (Tabela 1) dos processos apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) para AGL, VA, TBA, CF e CL. Os valores do IP para ambos os processos não foram significativamente diferentes ($P > 0,05$). Para ambos os processos a neutralização dos óleos afetou significativamente ($P < 0,05$) os valores de AGL, IP, VA, TBA, CF e CL.

O óleo bruto obtido do processo de ensilagem apresentou valores de ácidos graxos livres maiores que o do óleo bruto do processo de farinha de pescado (Tabela 1). Os conteúdos de AGL estão normalmente associados com flavour indesejável e mudança na textura quando presentes em óleos e gorduras. Na indústria de processamento de óleos, os AGL são determinados para prever a quantidade de álcali usada para remoção destes ácidos graxos através da formação de sabões durante o processo de refino (SATHIVEL *et al.*, 2003).

O conteúdo inicial de ácidos graxos livres no óleo bruto da ensilagem deve-se a ação das enzimas endógenas presentes nas vísceras antes da acidificação (REECE, 1981). Zhou *et al.* (1995) estudaram o conteúdo de AGL dos lipídios de arenque moído provenientes do processo de ensilagem ácida; neste estudo, o nível máximo de AGL foi de aproximadamente 6%. O conteúdo de AGL do óleo bruto da farinha de pescado apresentado na Tabela 1 é similar ao encontrado por Chantachum *et al.* (2000). Estes autores estudaram a separação e a qualidade do óleo de pescado obtido de cabeças de atum pré-cozidas e sem pré-cozimento, obtendo um conteúdo de AGL de aproximadamente 3% para óleos separados sem pré-cozimento das cabeças com aquecimento a 95°C durante 30 min.

Na Tabela 1 observa-se diferença significativa ($P < 0,05$) entre os óleos bruto e degomado nos dois processos, verificando-se um aumento nos valores de AGL e CL após a degomagem do óleo. A etapa de degomagem remove efetivamente o CF e a redução nos IP, VA e TBA. Os traços de ácido fosfórico que permanecem no óleo após o tratamento ácido são responsáveis pelo aumento da acidez observada no óleo degomado. As reduções nos IP, VA e TBA provavelmente são devido à absorção de produtos de oxidação primária e secundária pela goma hidratada.

Para os óleos neutralizado, branqueado, winterizado e desodorizado (Tabela 1) obtidos de ambos os processos, foi observado uma redução de AGL em relação ao

óleo bruto; isto é coerente visto que a função da etapa de neutralização é remover a maioria dos AGL; na etapa de branqueamento ocorre a remoção dos resíduos da borra de neutralização (ROSSI *et al.*, 2003) e durante a etapa de desodorização ocorre a vaporização de compostos que causam odor e ácidos graxos livres (CERIANE & MEIRELLESS, 2007). Em condições apropriadas de processo o conteúdo de AGL pode ser reduzido em até 50% durante a desodorização. O nível aceitável de AGL no óleo de pescado refinado está entre 1,8% e 3,5% (SATHIVEL *et al.*, 2003).

Os óleos winterizados (Tabela 1) não diferiram ($P > 0,05$) entre ambos os processos. A etapa de winterização é usada para concentrar PUFA's (GANGA *et al.*, 1998). Assim, os parâmetros analisados na Tabela 1 não são afetados pela etapa de winterização.

A primeira fase do processo de oxidação é caracterizada pela produção de hidroperóxidos, os quais são normalmente avaliados através do valor de peróxido (AIDOS *et al.*, 2003). Após as etapas de degomagem e neutralização, os óleos branqueados e winterizados obtidos através dos processos de farinha de pescado e de ensilagem apresentaram redução no IP em relação ao óleo bruto de 47% e 43%, respectivamente. Isto é consistente, pois a função da terra no branqueamento é remover impurezas, como produtos primários da oxidação. A remoção destas impurezas melhora a qualidade sensorial e estabilidade oxidativa do óleo refinado (ROSSI *et al.*, 2003). O IP está abaixo do nível exigido para óleos destinados ao consumo humano de 8 meq/kg (BORAN *et al.*, 2006), assim para ambos os óleos brutos este índice está dentro dos padrões aceitáveis de qualidade oxidativa.

No presente estudo, os valores de anisidina (VA) e do ácido tiobarbitúrico (TBA) para o óleo bruto proveniente do processo de farinha de pescado são maiores que os valores para o óleo bruto da ensilagem (Tabela 1); isto deve-se as altas temperaturas utilizadas durante o processo industrial de farinha de pescado, que causam aumento na oxidação. Após, as etapas de degomagem e neutralização, os óleos branqueados e winterizados obtidos por ambos os processos apresentaram menores VA em relação ao óleo bruto de aproximadamente 65% e 72%, respectivamente. Observa-se redução do valor de TBA em relação ao óleo bruto de aproximadamente 79% e 71%, respectivamente.

O valor de anisidina (VA) está associado com a segunda fase da oxidação, que é representada por degradação adicional de lipídios através de um processo de oxidação iniciado por o radical hidroperóxido. Este valor é o resultado dos produtos finais secundários não voláteis (compostos carbonil de alto peso molecular saturado e insaturados) (AIDOS *et al.*, 2003). O valor de TBA é extensamente usado como um indicador do grau de oxidação lipídica, com a decomposição de hidroperóxidos e formação de produtos secundários de oxidação como aldeídos, cetonas e álcoois (BORAN *et al.*, 2006). O VA aceitável para óleos de pescado de boa qualidade são menores que 20 (HAMILTON *et al.*, 1988). Na Tabela 1, o VA encontrado para os óleos desodorizados foi semelhante aos resultados citados por Aidos *et al.* (2003), de 8,9 para óleo de arenque. O TBA avaliado na Tabela 1 está de acordo com os padrões exigidos para qualidade e aceitabilidade de óleos para consumo humano, de 7–8 mg malonaldeído/Kg óleo (BORAN *et al.*, 2006). Desta maneira, o VA e o valor do ácido tiobarbitúrico (TBA) indicam que ambos os óleos desodorizados possuem boa qualidade oxidativa.

Nos óleos desodorizados há um aumento no IP, VA e TBA em relação aos óleos branqueados e winterizados. O aumento desses valores é devido às altas temperaturas utilizadas na etapa de desodorização. O aumento da exposição do óleo ao aquecimento aumenta a suscetibilidade a oxidação e formação de peróxido, decomposição de hidroperóxidos, com a formação de produtos secundários de oxidação, como aldeídos, cetonas e álcoois (MANRAL *et al.*, 2008; CERIANE & MEIRELLESS, 2007).

Na etapa de degomagem ocorreu uma redução no conteúdo de fósforo (Tabela 1) nos óleos obtidos através dos processos de ensilagem e de farinha de pescado de aproximadamente 53% e 52%, respectivamente. Após a etapa de neutralização todo o fósforo foi removido. Os valores para os óleos brutos ficaram abaixo dos resultados citados por Immanuel *et al.* (2009), para o óleo de *Sufflamen capistratus* (343 ppm). Sathivel *et al.* (2003) estudaram a produção de óleo de vísceras de catfish e encontraram concentrações de fósforo de 107,6 ppm e 99,2 ppm nos óleos bruto e degomado (ácido cítrico), respectivamente. Após a etapa de neutralização todo fósforo foi removido.

A cor Lovibond (CL) apresentou-se maior no óleo bruto da ensilagem do que no óleo bruto obtido através do processo de farinha de pescado (Tabela 1). A pigmentação do óleo durante o processo de ensilagem ocorre devido à liberação dos produtos da hidrólise ácida da hemoglobina do grupamento heme (REECE, 1981). No óleo da ensilagem ocorreu um aumento do conteúdo de ácidos graxos livres (AGL), este resultado deve-se a formação de complexos de lipídio-proteína, e por consequência ocorre um aumento na cor.

Na Tabela 1, observa-se uma redução da cor em relação ao óleo bruto após as etapas de neutralização e branqueamento. A redução da cor nos óleos branqueados deve-se ao fato dos adsorventes utilizados no branqueamento removerem pigmentos e outras impurezas, como traços de metais, fosfolipídios e produtos de oxidação (ROSSI *et al.*, 2003). Entretanto, a alteração na cor final com o aumento na CL nos óleos refinados (Tabela 1) está relacionada à oxidação de compostos menores ou da fixação de pigmentos coloridos devido às altas temperaturas (ANTONIASSI *et al.*, 1998).

A cor amarelo-laranja característica do óleo de pescado é o resultado da deposição dos carotenóides da dieta (LUTEROTTI *et al.*, 1999). Carotenóides são antioxidantes lipossolúveis e suas propriedades biológicas estão relacionadas com suas estruturas. A única e dupla ligação repetida na sua cadeia determina suas propriedades antioxidantes (HIDALGO *et al.*, 2006). A cor do óleo depende da temperatura a qual é submetido. O aumento da intensidade da cor deve-se ao acúmulo de produtos de oxidação não voláteis com triacilgliceróis e AGL (ANTONIASSI *et al.*, 1998). Os óleos refinados de ambos os processos (Tabela 1) são semelhantes para AGL, IP, VA e TBA, os valores de CL, IP, VA, TBA e CL aumentaram após a etapa de desodorização.

Perfis de ácidos graxos

Os perfis de ácidos graxos do óleo de carpa nas etapas do refino são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Perfis de ácidos graxos dos óleos de carpa provenientes dos processos termomecânico de farinha de pescado e de ensilagem ácida nas etapas de refino.

Ácidos graxos	Óleo		Termomecânico		Óleo		Ensilagem
	Bruto *	Branqueado*	Refinado *	Bruto *	Branqueado *	Refinado *	Refinado *
11:0	0,08±0,01 ^a	0,08±0,01 ^a	0,06±0,01 ^{ab}	0,08±0,01 ^a	0,08±0,01 ^a	0,05±0,01 ^b	0,05±0,01 ^b
12:0	0,30±0,01 ^{ad}	0,29±0,01 ^{ad}	0,28±0,01 ^a	0,31±0,02 ^{ad}	0,32±0,02 ^d	0,29±0,01 ^{ad}	0,29±0,01 ^{ad}
13:0	0,24±0,01 ^a	0,23±0,01 ^a	0,20±0,01 ^d	0,25±0,01 ^a	0,23±0,02 ^a	0,20±0,01 ^d	0,20±0,01 ^d
14:0	3,79±0,02 ^a	3,80±0,01 ^a	3,11±0,02 ^d	3,82±0,03 ^a	3,81±0,01 ^a	3,10±0,01 ^d	3,10±0,01 ^d
15:0	1,20±0,03 ^a	1,22±0,01 ^a	1,20±0,01 ^a	1,20±0,01 ^a	1,21±0,01 ^a	1,20±0,01 ^a	1,20±0,01 ^a
16:0	16,19±0,03 ^a	16,20±0,02 ^a	15,50±0,01 ^d	16,14±0,04 ^a	16,16±0,01 ^a	15,50±0,01 ^d	15,50±0,01 ^d
17:0	1,11±0,01 ^a	1,10±0,02 ^a	1,00±0,01 ^d	1,10±0,02 ^a	1,12±0,01 ^a	1,00±0,01 ^d	1,00±0,01 ^d
18:0	3,15±0,01 ^a	3,13±0,02 ^{abc}	3,10±0,01 ^d	3,17±0,02 ^a	3,15±0,01 ^a	3,11±0,01 ^{bc}	3,11±0,01 ^{bc}
20:0	0,25±0,01 ^a	0,25±0,01 ^a	0,26±0,01 ^a	0,25±0,01 ^a	0,24±0,01 ^a	0,25±0,01 ^a	0,25±0,01 ^a
21:0	0,17±0,02 ^a	0,18±0,01 ^a	0,18±0,01 ^a	0,18±0,01 ^a	0,17±0,01 ^a	0,17±0,01 ^a	0,17±0,01 ^a
22:0	0,18±0,02 ^a	0,17±0,01 ^a	0,18±0,02 ^a	0,17±0,02 ^a	0,17±0,01 ^a	0,18±0,02 ^a	0,18±0,02 ^a
23:0	0,20±0,01 ^a	0,20±0,01 ^a	0,20±0,01 ^a	0,20±0,01 ^a	0,20±0,01 ^a	0,20±0,01 ^a	0,20±0,01 ^a
14:1ω5	0,17±0,01 ^a	0,16±0,01 ^{ab}	0,14±0,01 ^d	0,18±0,01 ^a	0,15±0,03 ^{abc}	0,14±0,01 ^{bc}	0,14±0,01 ^{bc}
15:1ω5	0,42±0,01 ^a	0,43±0,01 ^a	0,35±0,01 ^d	0,43±0,02 ^a	0,44±0,01 ^a	0,36±0,02 ^b	0,36±0,02 ^b
16:1ω7	8,08±0,04 ^a	8,06±0,02 ^a	7,64±0,01 ^d	8,04±0,03 ^a	8,09±0,02 ^a	7,65±0,01 ^d	7,65±0,01 ^d
17:1ω7	1,27±0,03 ^a	1,28±0,01 ^a	1,20±0,01 ^d	1,30±0,03 ^a	1,26±0,04 ^a	1,43±0,01 ^c	1,43±0,01 ^c
18:1ω9 cis	25,82±0,03 ^a	25,84±0,01 ^a	26,45±0,01 ^d	25,80±0,02 ^a	25,82±0,01 ^a	26,47±0,01 ^d	26,47±0,01 ^d
18:1ω9 trans	0,23±0,02 ^a	0,25±0,01 ^a	0,35±0,01 ^d	0,21±0,02 ^a	0,23±0,02 ^a	0,33±0,01 ^d	0,33±0,01 ^d
20:1ω9	1,83±0,05 ^a	1,80±0,02 ^a	1,92±0,01 ^d	1,85±0,03 ^a	1,83±0,01 ^a	1,90±0,01 ^d	1,90±0,01 ^d
22:1ω9	0,08±0,01 ^a	0,08±0,01 ^a	0,18±0,02 ^d	0,08±0,02 ^a	0,07±0,01 ^a	0,18±0,01 ^d	0,18±0,01 ^d
24:1 ω9	3,99±0,02 ^a	4,00±0,01 ^a	3,38±0,01 ^d	3,99±0,01 ^a	3,98±0,01 ^a	3,39±0,01 ^d	3,39±0,01 ^d
18:2 ω6 trans	0,31±0,01 ^a	0,31±0,01 ^a	0,51±0,01 ^d	0,30±0,01 ^a	0,31±0,01 ^a	0,52±0,01 ^d	0,52±0,01 ^d
18:2 ω6 cis	9,17±0,01 ^a	9,17±0,01 ^a	9,68±0,01 ^d	9,17±0,01 ^a	9,16±0,01 ^a	9,69±0,02 ^d	9,69±0,02 ^d
18:3ω6	0,34±0,02 ^{abc}	0,33±0,01 ^{ab}	0,35±0,02 ^{ac}	0,32±0,01 ^{ab}	0,30±0,02 ^b	0,37±0,01 ^{bc}	0,37±0,01 ^{bc}
18:3 ω3	7,16±0,01 ^a	7,17±0,01 ^a	7,52±0,01 ^d	7,17±0,01 ^a	7,18±0,01 ^a	7,50±0,01 ^d	7,50±0,01 ^d
20:2ω6	0,43±0,02 ^a	0,43±0,01 ^a	0,61±0,02 ^d	0,42±0,01 ^a	0,41±0,01 ^a	0,60±0,01 ^d	0,60±0,01 ^d
20:3 ω6	0,42±0,02 ^a	0,41±0,01 ^a	0,59±0,01 ^d	0,43±0,02 ^a	0,42±0,01 ^a	0,58±0,01 ^d	0,58±0,01 ^d
20:3ω3	1,43±0,01 ^a	1,41±0,02 ^a	1,56±0,01 ^d	1,44±0,02 ^a	1,42±0,01 ^a	1,57±0,01 ^d	1,57±0,01 ^d
20:4ω6 (AA)	1,24±0,02 ^a	1,23±0,01 ^a	1,70±0,01 ^d	1,22±0,01 ^a	1,21±0,01 ^a	1,68±0,01 ^d	1,68±0,01 ^d
20:5ω3 (EPA)	3,82±0,01 ^a	3,83±0,01 ^a	3,90±0,01 ^d	3,81±0,02 ^a	3,83±0,01 ^a	3,91±0,01 ^d	3,91±0,01 ^d
22:2ω6	0,02±0,01 ^a	0,02±0,01 ^a	0,07±0,02 ^d	0,02±0,01	0,02±0,01 ^a	0,07±0,02 ^b	0,07±0,02 ^b
22:6ω3 (DHA)	1,20±0,02 ^a	1,20±0,01 ^a	1,30±0,01 ^d	1,20±0,01 ^a	1,22±0,01 ^a	1,31±0,01 ^d	1,31±0,01 ^d
Σnu**	5,73±0,30 ^a	5,76±0,38 ^a	5,11±0,50 ^d	5,71±0,20 ^a	5,79±0,22 ^a	5,10±0,26 ^d	5,10±0,26 ^d

* valor médio ± erro padrão (n = 3 replica), **Σ ni - somatório de não identificados AA: ácido araquidônico; EPA: ácido eicosapentaenóico; DHA: ácido docosahexaenóico. Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Na Tabela 2, verifica-se que os óleos brutos e branqueados não foram significativamente diferentes entre ambos os processos. Porém, observa-se diferença significativa ($P < 0,05$) para os óleos refinados em relação aos óleos brutos e branqueados. Também, pode ser verificado que os óleos refinados não foram significativamente diferentes em ambos os processos. Os principais ácidos graxos identificados foram C18:1n 9 (oléico), C16:0 (palmítico), C16:1 (palmitoléico), C18:2n 6 (linoléico), e C18:3n 3 (linolênico), constituindo em torno de 67% do total ácidos graxos dos óleos provenientes da farinha de pescado e da silagem.

O ácido palmítico é o ácido graxo saturado predominante (AGS), correspondendo por aproximadamente 50% do total de AGS (Tabela 2). O ácido oléico foi identificado como o ácido graxo monoinsaturado mais abundante (AGM) nos óleos refinados. O ácido palmitoléico foi o segundo AGM mais abundante nos óleos bruto, branqueado e refinado em ambos os processos. Elevados níveis de ácidos graxos oléico, palmitoléico e araquidônico são relatados como propriedades características de óleos de pescado de água doce (GULER *et al.*, 2008). Os ácidos linoléico e linolênico são os ácidos graxos poliinsaturados predominantes (AGPs).

O aumento do conteúdo de ácidos graxos trans oléico e linoléico nos óleos refinados deve-se as altas temperaturas utilizadas na etapa de desodorização. Os ácidos graxos são moléculas lábeis que, quando expostas ao tratamento de aquecimento, podem passar por diferentes transformações químicas (BERDEAUX *et al.*, 2007; CERIANE & MEIRELLESS, 2007; FOURNIER *et al.*, 2007). O conteúdo de AGPs trans dos óleos refinados aumentou em relação aos óleos brutos e também em relação as demais etapas, devido exclusivamente à desodorização, pois esta reação não ocorre durante as etapas anteriores do final do processo de refino. Nos países europeus, um parâmetro de qualidade para os óleos comestíveis é que o nível de AG trans seja menor que 1,0% (CERIANE & MEIRELLESS, 2007). Desta maneira, ambos os óleos refinados obtidos neste estudo são aceitáveis em relação ao nível de AG trans.

Os conteúdos dos ácidos graxos docosahexaenóico (DHA) e araquidônico (AA) nos óleos brutos, branqueados e refinados foram menores que os do óleo de carpa citado por Rasoarahoma *et al.* (2004), de 6,7% e 5,9%, respectivamente, e maiores que os citados por Druzian *et al.* (2007), de 1,02% e 1,16%, respectivamente. Porém,

o conteúdo do ácido eicosapentaenóico (EPA) foi menor que os conteúdos de EPA citados por estes autores, de 3,4% e 2,4%, respectivamente. A quantidade de EPA e DHA sugerida para ingestão diária está na faixa de 200–1000 mg (INHAMUNS & FRANCO, 2008).

A razão para a variação nos resultados observados para EPA, DHA e AA é provável aos hábitos de alimentação do peixe. As porcentagens de AGP, como EPA e DHA, no músculo do peixe, dependente da dieta desses animais. Variações na composição de ácidos graxos são relacionadas com mudanças nos hábitos nutricionais do peixe (INHAMUNS & FRANCO, 2008; DRUZIAN *et al.*, 2007;).

As classes de lipídios do óleo de carpa nas etapas do refino são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3: Classe de lipídios (% total de ácidos graxos) nos óleos bruto, branqueado e refinado obtidos por ambos os processos.

	Óleo Termomecânico			Óleo Ensilagem		
	Bruto	Branqueado	Refinado	Bruto	Branqueado	Refinado
ΣAGS	26,86±0,19 ^a	26,85±0,15 ^a	25,27±0,14 ^b	26,87±0,20 ^a	26,86±0,14 ^a	25,25±0,13 ^b
ΣAGM	41,89±0,20 ^a	41,90±0,11 ^a	41,83±0,22 ^a	41,88±0,15 ^a	41,87±0,16 ^a	41,85±0,10 ^a
ΣAGPs	25,54±0,15 ^a	25,51±0,12 ^a	27,79±0,14 ^b	25,50±0,13 ^a	25,48±0,12 ^a	27,80±0,13 ^b
ω3	13,61±0,10 ^a	13,61±0,15 ^a	14,28±0,10 ^b	13,62±0,10 ^a	13,65±0,10 ^a	14,29±0,10 ^b
ω6	11,93±0,10 ^a	11,90±0,10 ^a	13,51±0,10 ^b	11,88±0,15 ^a	11,83±0,10 ^a	13,51±0,10 ^b
ω3/ω6	1,14±0,005 ^a	1,14±0,00 ^a	1,05±0,00 ^b	1,15±0,005 ^a	1,15±0,00 ^a	1,05±0,00 ^b

^a valor médio ± erro padrão (n = 3 réplica). Σ AGS: somatório de saturados ; Σ AGM: somatório de monoinsaturados; Σ AGPs: somatório de poliinsaturados. Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Verifica-se na Tabela 3 que não há diferença significativa para os ΣAGS e ΣAGPs nos óleos brutos e branqueados dos processos de farinha de pescado e ensilagem. Os óleos refinados apresentam diferença significativa ($P < 0,05$) em relação aos óleos brutos para o ΣAGS, ΣAGPs e para a relação ω3/ω6 para ambos os processos. Em geral, o conteúdo de AGS (<30%) é relativamente baixo com exceção de algumas espécies; na Tabela 3 verifica-se que o conteúdo de AGS está ao redor de

27% para os óleos brutos e branqueados. Os conteúdos de AGP foram maiores que os de AGS nos óleos de carpa (em torno de 41,8%) brutos, branqueados e refinados provenientes dos processos de farinha e de ensilagem. As publicações de Guler *et al.* (2008) e Druzian *et al.* (2007) informam resultados semelhantes para o óleo de carpa obtido no inverno, de 41,1% e 43,1%, respectivamente. Foram relatados conteúdos de AGP na carpa que variam numa faixa de 11,6 a 15,7% (BIENIARZ *et al.*, 2000) para 32,3 a 34,5% (GERI *et al.*, 1995) de ácidos graxos totais. Neste trabalho, os conteúdos de AGPs dos óleos brutos, branqueados e refinados dos processos de farinha de pescado e de ensilagem (Tabela 3) foram superiores aos relatados por Druzian *et al.* (2007) de 23%.

Os óleos refinados apresentaram redução no conteúdo de AGS e aumento no conteúdo de AGPs em relação aos óleos branqueados, isto se deve a etapa de winterização. Esta etapa é usada para concentrar AGPs; sendo baseada nos diferentes pontos de fusão dos triacilgliceróis, com uso de baixas temperaturas de cristalização a qual é usada para separar triacilgliceróis, ácidos graxos, ésteres e outros lipídios que são altamente solúveis em solventes orgânicos. A winterização é um processo termomecânico de separação a partir do qual os triacilgliceróis de diferentes pontos de fusão são separados por cristalização parcial, seguido por filtração. A solubilidade dos ácidos graxos em solventes orgânicos diminui com o aumento do peso molecular e aumento de insaturações (GANGA *et al.*, 1998; SHAHIDI & WANASUNDARA, 1998). Dessa maneira, a concentração de ácidos graxos insaturados e ácidos graxos poliinsaturados no óleo refinado ocorreu com conseqüente redução no Σ AGS e aumento no Σ AGPs.

A Tabela 3 demonstra que o conteúdo de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados (AGM+ ACPs) nos óleos refinados da farinha de pescado e da ensilagem representa 69,6% dos ácidos graxos totais. Assim, estes óleos são uma rica fonte de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados. Nesta tabela, a relação $\omega 3/\omega 6$ nos óleos brutos e branqueados do processo de farinha e ensilagem foi de 1,14 e 1,15, respectivamente, para os óleos refinados em ambos os processos a relação $\omega 3/\omega 6$ foi de 1,05. Esta relação é semelhante à citada por Guler *et al.* (2008) para óleos de carpa. A relação $\omega 3/\omega 6$ nos lipídios totais de peixe de água doce normalmente está entre 0,5 e 3,8 (HENDERSON & TOCHER, 1987). A relação $\omega 3/\omega 6$ é sugerida como um indicador útil de valores nutricionais para óleos de pescado. Um

aumento na dieta humana da relação $\omega 3/\omega 6$ de ácidos graxos é essencial na dieta, por ajudar a prevenir doenças coronárias por redução do teor de lipídios no plasma, por reduzir risco de câncer (GULER *et al.*,2008).

5.2.5 Conclusão

Neste estudo, verifica-se que os óleos brutos de carpa (*Cyprinus carpio*) obtidos através dos processos de ensilagem e de farinha mostraram diferenças significativas ($P < 0,05$) para os valores de AGL, TBA, VA, CF e CL. Também, observaram-se diferenças ($P < 0,05$) entre os óleos brutos e branqueados. Os valores de AGL, TBA, VA, IP e CL foram reduzidos após a etapa de branqueamento dos óleos brutos. Os óleos refinados obtidos por ambos os processos não apresentaram diferença significativa. O refino do óleo de carpa melhorou as características dos óleos de pescado, porque removeu componentes que causam cor, ácidos graxos livres e produtos de oxidação lipídica.

Os perfis de ácidos graxos dos óleos de carpa refinados não apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) em relação aos óleos brutos e aos óleos branqueados para ambos os processos. O refino do óleo de carpa reduziu o conteúdo de Σ AGS e aumentou conteúdo de Σ AGPs; isto aconteceu devido a etapa de winterização. Os conteúdos de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados (AGM + AGPs) nos óleos provenientes dos processos de farinha e de ensilagem foram de aproximadamente 69,6%. Neste estudo, a relação $\omega 3/\omega 6$ foi de 1,05 para os óleos refinados valores semelhantes aos citados na literatura. Assim, baseado nos resultados obtidos neste trabalho, o óleo refinado de vísceras de carpa pode ser considerado uma rica fonte de ácidos graxos essenciais da série $\omega 3$ e $\omega 6$.

5.2.6 Agradecimentos

Os agradecem a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo suporte financeiro.

5.2.7 Referências Bibliográficas

Aidos, I., Schelvus-Smit, R., Veldnan, M. B., Luten, J., Padt, A. V. D. & Boom, R. M. (2003). Chemical and sensory evaluation of crude oil extracted from Herring by products from different processing operations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 1897–1903.

Antoniassi, R., Esteves, W. & Meirelles, J. A. (1998). Pretreatment of corn oil for physical refining. **Journal of the American Oil Chemists Society**, 75(10), 1411–1415.

American Oil Chemists Society (AOCS) (1980). **Official and Tentative Methods of American Oil Chemists' Society** (3rd ed.).

American Oil Chemists Society (AOCS) (1997). **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**.

Berdeaux, O., Fournier, V., Lambelet, P., Dionisi, F., Sebedio, J. L. & Destailats, F. (2007). Isolation and structural analysis of the cyclic fatty acid monomers formed from eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids during fish oil deodorization. **Journal of Chromatography A**, 1138, 216–224.

Bieniarz, K., Koldras, M., Kaminski, J. & Mejza, T. (2000). Fatty acids and cholesterol in some freshwater fish species in Poland. **Folia Universitas Agriculture Stetinensis**, 27, 21–44.

Boran, G., Karaçam, H. & Boran, M. (2006). Changes in the quality of fish oils due to storage temperature and time. **Food Chemistry**, 98, 693–698.

Box, G. E. P., Hunter, W. G. & Hunter, J. S. (1978). **Statistics for Experiments: An Introduction to Design**. Data Analysis and Model Building, New York, USA: John Wiley & Sons.

Ceriane, R. & Meirelles, J. A. (2007). Formation of trans PUFA during deodorization of canola oil: A study through computational simulation. **Chemical Engineering and Processing**, 46, 375–385.

Chantachum, S., Benjakul, S. & Sriwirat, N. (2000). Separation and quality of fish oil precooked and non-precooked tuna heads. **Food Chemistry**, 69, 2089–2294.

Druzian, J. I., Marchesi, C. M. & Scamparini, A. R. P. (2007). Fatty acid profile and proximate composition of carp (*Cyprinus carpio*) feed artificial food and pig manure. **Ciência Rural**, 37, 539–544.

Fournier, V., Destailats, F., Hug, B., Golay, P. A., Joffre, F. & Juaneda, P. (2007). Quantification of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid geometrical isomers formed during fish oil deodorization by gas–liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, 1154, 353–359.

Ganga, A., Nieto, S., Sanhuez, J., Romo, C., Speisky, H. & Valenauela, A. (1998). Concentration and stabilization of n-3 polyunsaturated fatty acids sardine oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, 75, 733–736.

Geri, G., Poli, B. M., Gualtieri, M., Lupi, P. & Parisi, G. (1995). Body traits and chemical composition of muscle in the common carp (*Cyprinus carpio*) as influenced by age and rearing environment. **Aquaculture**, 129, 329–333.

Guler, G. O., Kiztanir, B., Aktumsek, A., Citil, O. B. & Ozparlak, H. (2008). Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and 3/6 ratios of carp (*Cyprinus carpio* L.) muscle lipids in Beysehir Lake (Turkey). **Food Chemistry**, 108, 689–694.

Hafidi, A., Pioch, P. & Ajana, H. (2005). Membrane-based simultaneous degumming and deacidification of vegetable oils. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 6, 203–212.

Hamilton, R. J., Kalu, C., McNeill, G. P., Padley, F. B. & Pierce, J. H. (1988). Effects of tocopherols, ascorbyl palmitate and lecithin on autoxidation of fish oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 75, 813–821.

Henderson, R. J. & Tocher, D. R. (1987). The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. **Progress in Lipid Research**, 26(4), 281–347.

Hidalgo, A., Brandolini, A., Pompei, C. & Piscozzi, R. (2006). Carotenoids and tocopherols of einkorn wheat (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum* L.). **Journal of Cereal Science**, 44, 182–193.

Immanuel, G., Sathasivan, S., Skankar, S., Peter, P. M. J. & Palavesam, A. (2009). Processing and characterization of low cost Balistid fish *Suffamen capistratus* liver oil for purpose. **Food Chemistry**, 115, 430–435.

Inhamuns, 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.

Luterotti, S., Franko, M., & Bicanic, D. (1999). Ultrasensitive determination of carotene in fish oil-based supplementary drugs by HPLC-TLS. **Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis**, 21, 901–909.

Manral, M., Pandey, M. C., Jayathilakan, K., Radhakrishna, K. & Bawa, A. S. (2008). Effect of fish (*Catla catla*) fring on the quality characteristics of sunflower oil. **Food Chemistry**, 106, 634–639.

Metcalfe, L. D. A. A., & Schimitz, J. R. (1966). Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, 38, 510.

Rasoarahoma, J. R., Barnathan, G., Bianchini, J. P. & Gaydou, E. M. (2004). Annual evolution of fatty acid profile from muscle lipids of the common carp (*Cyprinus carpio*) in Madagascar inland waters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52, 7339–7344.

Reece, P. (1981). Recovery of high quality oil from mackerel and sprat by silage process. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 32, 531–538.

Rossi, M., Gianazza, M., Alamprese, C., & Stanga, F. (2003). The role of bleaching clays and synthetic silica in palm oil physical refining. **Food Chemistry**, 82, 291–293.

Sathivel, S., Prinyawiwatkul, W., King, J. M., Grimm, C. C. & Lloyd, S. (2003). Oil production from catfish viscera. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 80, 277–382.

Shahidi, F., & Wanasundara, N. U. (1998). Omega-3 concentrates: Nutritional aspects and production technologies. **Trends in Foods Science & Technology**, 9, 230–240.

Vandeputte, M., Kocour, M., Mauger, S., Rodina, M., Launay, A. & Gela, D. (2008). Genetic variation for growth at one and two summers of age in the common carp (*Cyprinus carpio* L.): Heritability estimates and response to selection. **Aquaculture**, 277, 7–13.

Vyncke, W. (1970). Direct determination of the thiobabituric acid value in trichoroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichmittel**, 12, 1084–1087.

Windsor, M. & Barlow, S. (1984). **Introduction to the Fishing Products** (pp. 99–109). Zaragoza, Spain: Acribia Publishing House.

Zhong, Y., Madhujith, T., Mahfouz, N., & Shahidi, F. (2007). Compositional characteristics of muscle and visceral oil from steelhead trout and their oxidative stability. **Food Chemistry**, 104, 602–608.

Zhou, S., Paulson, A. T., & Ackman, R. G. (1995). Release of free fatty acids from lipids during ensilation of herring mince. the possible role of ethoxyquin. **Journal of Food Lipids**, 3, 121–134.

5.3 ARTIGO 3

CONCENTRADOS DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS DE ÓLEO DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*): COMPARAÇÃO DE TRATAMENTOS PARA A ALCOÓLISE QUÍMICA E COMPLEXAÇÃO COM URÉIA

CONCENTRADOS DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS DE ÓLEO DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*): COMPARAÇÃO DE TRATAMENTOS PARA A ALCOÓLISE QUÍMICA E COMPLEXAÇÃO COM URÉIA.

5.3.1 Resumo

O objetivo do presente estudo foi comparar três tratamentos para a reação de alcoólise química no óleo branqueado de cabeças de carpa comum (*Cyprinus carpio*), e obter concentrados de ácidos graxos poliinsaturados através da reação de complexação com uréia. Foram comparados três tratamentos variando-se a relação molar óleo:etanol (1:21, 1:27 e 1:39). Os ácidos graxos livres resultantes da reação de alcoólise química foram analisados em relação à oxidação lipídica e ao rendimento. Estes ácidos graxos apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$) para o índice de peróxido e para o rendimento. Após a reação de complexação com uréia para o tratamento (1:39 óleo:etanol) verificou-se na fração concentrada, não complexada com uréia um aumento percentual de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados de 31,9% redução de saturados de 75%, e aumento do conteúdo de EPA+DHA de 85,3%. Os concentrados de ácidos graxos poliinsaturados (fração não complexada) podem ser considerados uma rica fonte de ácidos graxos poliinsaturados e insaturados com um total de 88,9% desses ácidos graxos. Assim, verifica-se que sua utilização pode ser estudada para a produção de suplementos alimentares (encapsulados) e também para a elaboração de lipídios estruturados.

Palavras-chave: ácidos graxos poliinsaturados, ácidos graxos livres, óleo de pescado.

Abstract

The aim of this study were compared three treatments for alcoholysis chemical reaction in bleached oil of carp (*Cyprinus carpio*) heads and obtaining polyunsaturated fatty acids concentrate by urea complexation reaction. Three treatments were compared oil:alcohol molar relation (1:21, 1:27 e 1:39). The free fatty acids resultants of the alcoholysis chemical reaction were analyzed in relation to oxidation lipidic and yield. These fatty acids presented significant differences ($P > 0.05$) for peroxide index and yeld. After of the urea complexation reaction for the treatment (1:39 oil:ethanol) it was verified in the concentrated fraction, urea-no-complexada a increase of

unsaturated and polyunsaturated fatty acids of 31.9%, saturated reduction of 75%, and increase EPA+DHA content of 85.3%. The polyunsaturated fatty acids concentrate can be considered a rich source of unsaturated and polyunsaturated fatty acids with total 88.9% those fatty acids. These polyunsaturated fatty acids concentrate can be used to produce supplements alimentary (encapsulated) and also for elaboration structured lipids in which these fatty acids are incorporate.

keywords: polyunsaturated fatty acids, free fatty acids, fish oil.

5.3.2 Introdução

A importância dos lipídios na nutrição e no desenvolvimento humano é reconhecida há muitas décadas. Os ácidos graxos (AG) são constituintes estruturais das membranas celulares, cumprem funções energéticas e de reservas metabólicas, além de formarem hormônios e sais biliares (CHAKRABORTY *et al.*, 2010; AHMED *et al.*, 2009).

Os ácidos graxos linolênico (ω -3) e linoléico (ω -6) pertencem a dois grupos diferentes de ácidos graxos poliinsaturados que não são sintetizados pelo organismo, mas são indispensáveis para manter a saúde humana e por isso têm que serem complementados na alimentação (AHMED *et al.*, 2009). Esses ácidos graxos são considerados precursores dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa: ácido araquidônico (AA), ácido eicosapentaenóico (EPA), e ácido docosahexaenóico (DHA) (EL-BRADY *et al.*, 2007).

Em vista do grande potencial que o mercado proporciona em suplementos alimentares de ácidos graxos poliinsaturados e de produtos nos quais estes ácidos são incorporados, pesquisas voltadas a esta área têm relatado métodos visando à obtenção destes concentrados (CHAKRABORTY *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2006). O óleo de peixe por constituir uma importante fonte de ácidos graxos poliinsaturados é usado preferencialmente como matéria-prima para preparar concentrados de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) (CUNHA *et al.*, 2007; PADILHA & RUIZ, 2007).

Os rejeitos gerados durante o processamento de peixe, como a carpa, podem totalizar 60% da matéria-prima. As partes que constituem esses rejeitos são

principalmente peles, cabeças e espinhaços (KOŁODZIEJSKA *et al.*, 2008). Dessa maneira, existe potencial para produzir óleo de pescado a partir de rejeitos de carpa, tais como as cabeças. A carpa comum (*Cyprinus carpio*) é uma espécie exótica, nativa dos rios e lagos asiáticos. Devido a sua elevada resistência às condições adversas do meio e às enfermidades, além de possuir uma carne com elevada aceitabilidade no mercado (PILARSKI *et al.*, 2004) esta espécie é umas das principais da aquicultura mundial (VANDEPUTTE *et al.*, 2008). No Brasil seu cultivo vem apresentando rápido crescimento (MELO & STIPP, 2001).

A técnica mais simples e a mais eficiente para obter concentrados de PUFAs através de ácidos graxos livres é complexação com uréia (LIU *et al.*, 2006; CARVALHO *et al.*, 2003). Para se preparar os concentrados de ácidos graxos livres poliinsaturados, primeiramente realiza-se uma hidrólise química ou enzimática dos óleos de pescado, obtendo-se os ácidos graxos livres para posterior complexação (LIU *et al.*, 2006). Na alcoólise química, reação entre triacilglicerol e álcool, os ésteres são obtidos pelo deslocamento do glicerol pelo álcool, na presença de catalisadores, produzindo ésteres (MEHER *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2006).

O método químico de fracionamento com complexação (inclusão) com uréia baseia-se na separação pelo grau de insaturação, sendo que os ácidos graxos mais insaturados são menos complexados com a uréia (GUIL-GUERRERO *et al.*, 2007; CARVALHO *et al.*, 2003; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999). Uma das variáveis mais importantes na reação de alcoólise química, que afetam a conversão de triacilgliceróis em ésteres é a razão molar entre álcool e triacilglicerol. A razão estequiométrica para alcoólise requer três moles de álcool e um de triacilglicerol para a produção de três moles de ésteres e um de glicerol. No entanto, a reação de alcoólise, devido ao seu caráter reversível, requer um excesso de álcool para que haja um deslocamento da reação para a direita (MEHER *et al.*, 2006).

Dessa maneira, na reação de alcoólise química o estudo da relação molar de álcool e triacilglicerol torna-se necessário para se obter maior rendimento em ácidos graxos livres para posterior complexação com uréia. Este estudo proporcionará maior rendimento em concentrados de PUFAs, assim como produtos de melhor qualidade. O objetivo do presente estudo foi comparar três tratamentos utilizados para a reação de alcoólise química no óleo branqueado de cabeças de carpa comum (*Cyprinus carpio*),

e obter concentrados de ácidos graxos poliinsaturados através da reação de complexação com uréia.

5.3.3 Material e Métodos

Matéria-prima

A matéria-prima utilizada foram cabeças de carpa (*Cyprinus carpio*) obtidas de uma planta comercial de processamento de pescado; estes rejeitos foram imediatamente refrigerados e transportados em recipientes plástico até o Laboratório de Operações de Unidade / FURG, onde foram estocados em embalagens plásticas à -18°C, até sua utilização.

Metodologia do processo de farinha de pescado

Na extração do óleo bruto foram utilizadas 35 kg de cabeças de carpa. O processamento dessas cabeças foi realizado sob condições semelhantes à de uma planta comercial de processamento de pescado, em escala de laboratório através das etapas de moagem, cocção, peneiramento e centrifugação. As cabeças foram descongeladas durante a noite a temperatura ambiente e moídas em moedor de carne. Após, o material bruto passou por um processo de cocção a 95 - 100 °C durante 30 min e então peneirado em peneira tyler 14 para a remoção da fração sólida.

Para separação do óleo, a fração líquida foi centrifugada durante 20 min a 7000xg (modelo SIGMA 6-15, D- 37250, Sigma, Osterode, Alemanha). O produto resultante incluiu três frações: uma sólida no fundo, uma camada aquosa no meio e uma camada superior de óleo. As frações de óleo foram separadas e armazenadas em recipiente âmbar a 20 °C para posterior análise e refino.

Metodologia do refino de óleo

As etapas do processo de refino do óleo bruto (degomagem, neutralização, lavagem, secagem e branqueamento) foram realizadas empregando as condições descritas por Crexi *et al.*, 2007.

Rendimentos de óleo bruto e dos produtos das reações de alcoólise química

O rendimento em óleo bruto foi expresso como porcentagem de óleo bruto recuperado em relação ao óleo bruto presente nas cabeças de carpa obtido através do método de Bligh e Dyer. O rendimento foi calculado como apresentado na equação 1:

$$\%R_{\text{óleo}} = \frac{M_{\text{OBR}}}{M_{\text{OBD}}} \times 100 \quad (1)$$

onde M_{OBR} é a massa de óleo bruto recuperado do processo termomecânico de farinha de pescado e M_{OBD} é a massa do óleo extraído através do método de Bligh e Dyer.

Após a realização do procedimento de alcoólise e separação dos ácidos graxos livres, o rendimento da reação foi determinado por gravimetria dos ácidos graxos livres em relação à massa de óleo utilizada. De acordo com a reação estequiométrica: um mol de óleo mais três moles de etanol é igual a um mol de éster mais três moles de glicerol. Assim, a massa molecular do óleo é igual à massa molecular dos ésteres após separação do glicerol resultante da reação.

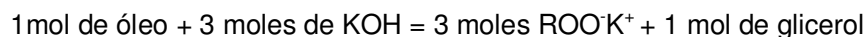
O rendimento (%) da reação foi então calculado, através da Equação 2:

$$\%R_{\text{reação}} = \frac{M_{\text{AGL}}}{M_{\text{OR}}} \times 100 \quad (2)$$

onde M_{AGL} é a massa de ácidos graxos livres (obtido após acidificação dos ésteres etílicos) e M_{OR} é a massa do óleo utilizado na reação de alcoólise química

Metodologia para calcular a massa molar do óleo de pescado

A massa molar do óleo de carpa (MM) foi determinada a partir do índice de saponificação (IS) combinado com a lei de conservação as massas e a lei da composição definida, conforme apresentado por Padilha (2002), utilizando a reação de:



$$MM = \frac{3000 \times 56,1}{IS} \quad (3)$$

Metodologia para o cálculo da variação no percentual de ácidos graxos após reação de complexação com uréia

A variação no percentual de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados e a variação no percentual de ácidos graxos saturados foram calculadas conforme apresenta a Equação 4.

$$\% \text{ variação ácido graxo} = \frac{(\Sigma pagC - \Sigma pagOB) * 100}{\Sigma pagOB} \quad (4)$$

Onde: $\Sigma pagC$ é o percentual de ácidos graxos após a reação de complexação.

$\Sigma pagOB$ é o percentual de ácidos graxos no óleo branqueado.

Metodologia da reação de alcoólise química

Testes preliminares

Para determinar as condições da reação de alcoólise química realizaram-se testes preliminares. Foram testadas as seguintes variáveis de estudo: concentração de catalisador, tipo de catalisador e a relação molar óleo:etanol. As reações de alcólise química foram realizadas em reator com agitação de 600rpm sob vácuo de 400mmHg a temperatura de 60°C durante 60 minutos.

Para testar o tipo de catalisador e a concentração do catalisador fixou-se a relação molar óleo:etanol em 1:39, esta relação foi estabelecida através de referência bibliográfica para óleo de pescado (WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999).

A maior parte dos trabalhos descritos na literatura empregam catalisadores básicos, tais como KOH e NaOH (GERIS *et al.*, 2007). Assim, os catalisadores testados foram NaOH e KOH fixando-se suas concentrações em 2,0% em relação a

massa inicial de óleo, esta concentração foi determinada conforme referências bibliográficas para óleos de origem vegetal de 0,4 a 2,0% (MEHER *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2006).

A partir dos testes preliminares foi verificado o tipo de catalisador e quantidade que deveria ser utilizado. Dessa maneira, após estes testes realizou-se mais dois testes variando, então, as relações molares de óleo:etanol. Estes testes tiveram por finalidade reduzir a quantidade de álcool etílico utilizada na reação.

As relações molares etanol:óleo foram testadas segundo referências para óleos vegetais (MEHER *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2006) e para óleo de peixe (WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999). Primeiramente utilizou razões molares de óleo:etanol de 1:12 e 1:39.

Condições estabelecidas para a reação e procedimento utilizado

Foram realizados três tratamentos, com a finalidade de comparar três relações molares de álcool e óleo. Nos tratamentos, foi utilizado um reator com agitação de 600rpm e aquecimento sob vácuo de 400 mmHg. Para cada tratamento foi utilizada 50 g de óleo branqueado de carpa adicionando-se antioxidante BHT (400ppm) e solução de catalisador em álcool etílico anidro, a reação ocorreu sob agitação de 600 rpm durante 60 minutos a 60 °C.

Após o término da reação, os ácidos graxos livres foram obtidos através de hidrólise química, conforme procedimento descrito por Wanasundara & Shahidi (1999) com modificações. Foi adicionada à mistura saponificada água destilada na quantidade de uma vez o volume em relação à massa inicial de óleo. Para a extração da matéria insaponificável foi adicionado hexano (dobro do volume de hexano em relação a massa de óleo inicial); este procedimento foi realizado duas vezes. A matéria insaponificável que contém hexano foi rejeitada.

A matéria saponificável foi acidificada (pH=1,0) com HCl 3N. Após, a mistura foi transferida para um funil de separação e os ácidos graxos foram extraídos com adição de hexano (uma vez o volume em relação à quantidade inicial de óleo). A camada de hexano, contendo os ácidos graxos livres, foi seca com sulfato de sódio anidro e o

excedente foi removido a 40°C para recuperar os ácidos graxos livres, estes foram armazenados a temperatura de congelamento.

A Figura 1 apresenta o fluxograma utilizado para obtenção dos ácidos graxos livres.

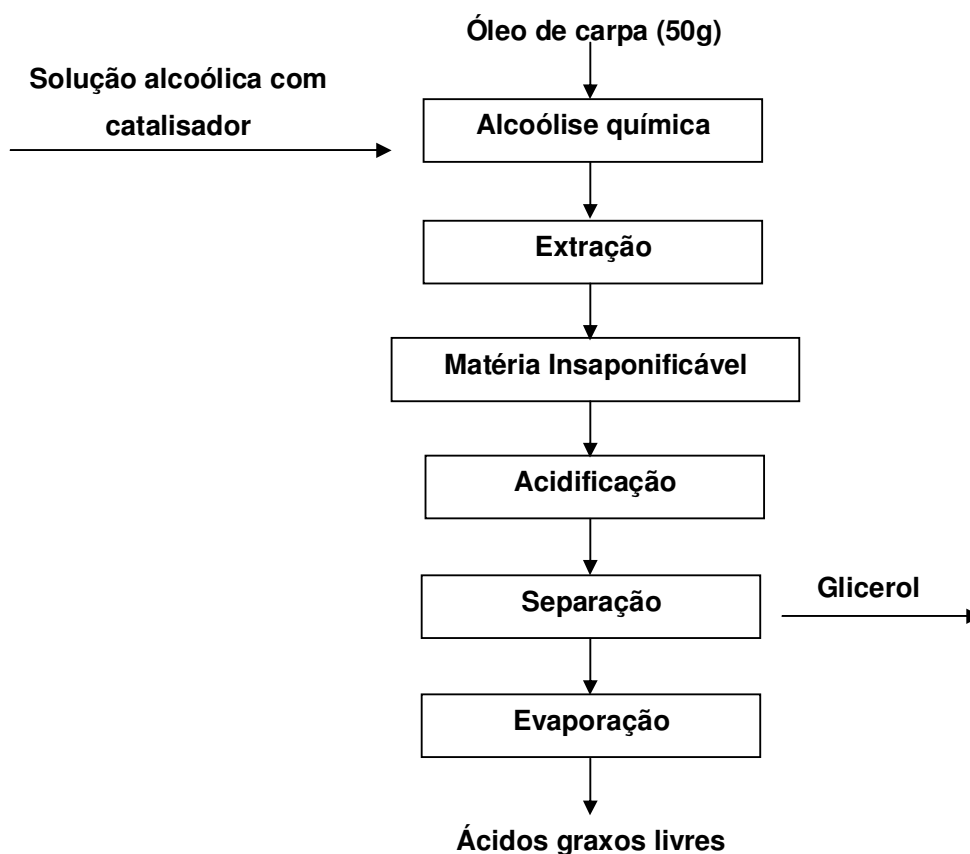


Figura 1: Fluxograma utilizado para obtenção dos ácidos graxos livres.

Metodologia da reação de complexação com uréia

A reação de complexação com uréia foi realizada em banho termostatizado utilizando mistura de álcool e água para se atingir a temperatura de cristalização de -10°C. Nesta reação os ácidos graxos livres resultantes da reação de alcoólise química foram misturados com uma solução alcoólica (etanol aquoso 95%) de uréia 20% (p/p). A relação de solução de uréia:ácido graxo utilizada na reação foi de 4,5. A mistura de ácidos graxos:uréia permaneceu a -10°C durante 20 h. Os parâmetros: temperatura de cristalização, concentração da solução de uréia e relação uréia:ácido graxos foram

determinados conforme referências bibliográficas (LIU *et al.*, 2006; GÁMEZ-MEZA *et al.*, 2003; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999; GANGA *et al.*, 1998).

A separação dos cristais formados foi realizada por filtração a vácuo. A parte líquida (fração não complexada) foi diluída com volume igual de água e acidificada a pH 4-5 com HCl 6 N, após adicionou-se volume igual de hexano e agitou-se a mistura por 1 h, transferindo então a um funil separador. A camada de hexano foi lavada com água destilada (igual volume) e separada a água. Após foi adicionado sulfato de sódio anidro e o solvente restante foi removido a 40°C. Os ácidos graxos da fração complexada (cristais) foram recuperados após a adição de igual volume de água e acidificação a pH 4-5 com HCl 6 N de maneira similar a fração não complexada

A Figura 2 apresenta o fluxograma simplificado da elaboração de concentrados em ω -3 por complexão com uréia.

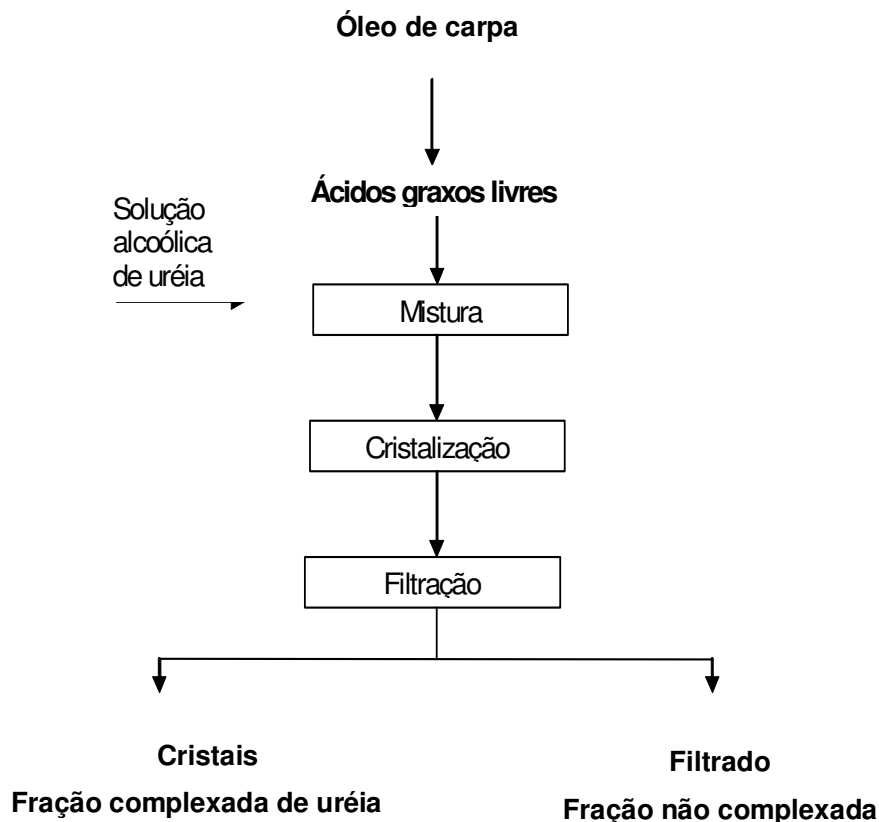


Figura 2: Fluxograma simplificado da elaboração de concentrados ω -3 por complexão com uréia

Metodologia Analítica

A matéria-prima cabeças de carpa foi caracterizada em duplicada, através dos seguintes parâmetros: umidade (método 925.10), proteína (método 960.52) e cinzas (método 945.46), de acordo com as metodologias da Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1995) e para a determinação de lipídios foi utilizado o método descrito por Bligh e Dyer (1959).

Os óleos bruto e branqueado foram caracterizados em relação ao conteúdo de ácidos graxos livres (Ca 5a – 40), valor do índice de peróxido (Cd 8-53), Índice de iodo (Cd 1-25) e Índice de saponificação (Cd 36–76), conforme as metodologias da American Oil Chemists' Society (AOCS) (1980).

Os ácidos graxos livres resultantes da reação de hidrólise química foram analisados em relação à oxidação lipídica através das análises do índice de peróxido (Cd 8-53), conforme as metodologias da American Oil Chemists' Society (AOCS) (1980).

O óleo bruto, a fração resultante da reação de complexação com uréia: fração não complexadas com uréia (ácidos graxos poliinsaturados) foram analisadas em relação aos perfis de ácidos graxos, através da análise cromatográfica. O preparo das amostras para a realização da análise cromatografia para determinação do perfil de ácidos graxos foi realizado segundo metodologia descrita por Metcalfe & Schimitz (1966), este método permite a injeção da amostra no equipamento na forma de ésteres metílicos de ácidos graxos.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados por cromatografia gasosa (CG) em cromatógrafo (modelo VARIAN- 3400 CX, Palo Alto, Califórnia, USA) equipado com coluna capilar DB-17 J&W Scientific (50% fenil metilpolisiloxano). A análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada em duplicata injetando 1,0 μL razão SPLIT 1:50, na coluna capilar (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno com um filme de 0,25 μm de espessura). As condições do cromatógrafo foram: temperatura do injetor 250 °C, temperatura do detector de ionização de chama 300 °C, o gás de arraste foi hélio com fluxo de 1,00 mL min^{-1} , velocidade linear de 24 cm s^{-1} e temperatura inicial da coluna de 100 °C,

permanecendo nesta temperatura por 1 min., após aumento da temperatura a 6°C/min para 160°C e 230°C. Os ácidos graxos de ésteres metílicos foram identificados pela comparação direta dos tempos de retenção com padrões (SUPELCO TM 37, Bellefonte, Palo Alto, EUA), e quantificados por normalização das áreas.

Análise Estatística

As características dos óleos bruto e branqueado, os perfis de ácidos graxos dos óleos bruto e branqueado e os perfis de ácidos graxos da fração não complexada com uréia foram comparados usando o teste Tukey de diferença de médias (BOX *et al.*, 1978), utilizando-se o software *Statística for Windows 6.0* (Statsoft Inc., Tulsa, Okla, EUA). Os valores foram considerados significativos a um nível de $P < 0,05$.

5.3.4 Resultados e Discussão

Caracterização da matéria-prima

Os resultados da caracterização da matéria-prima (cabeças de carpa) usados no processo termomecânico de farinha foram: conteúdo de umidade de $75,3 \pm 1,4\%$, conteúdo de proteína de $11,4 \pm 1\%$, conteúdo de lipídio de $3,6 \pm 0,3\%$ e conteúdo de cinzas de $9,7\%$. Os resultados apresentados para a matéria-prima utilizada neste trabalho foram comparados com os de Crexi *et al.* (2009), estes autores estudaram a composição aproximada das vísceras de carpa e obtiveram como resultados conteúdos de umidade, proteína e lipídios de aproximadamente $75 \pm 2\%$, $12 \pm 1\%$ e $13 \pm 1\%$ e traços de cinzas, respectivamente. Pode-se verificar no presente estudo que as cabeças de carpa apresentaram conteúdos de proteínas e umidade similares e menor conteúdo de lipídios que os relatados por esses autores. Estas variações estão relacionadas com a parte do corpo do pescado, verifica-se que em relação às vísceras as cabeças apresentam elevado conteúdo de cinzas o que é compensado pelo baixo conteúdo de lipídios (BORLONGAN & BENITEZ, 1992; DE SILVA *et al.*, 1997).

Foram recuperados 3 g de óleo bruto, por 100 g de cabeça de carpa, obtendo-se rendimento em óleo bruto (Equação 1) recuperado de aproximadamente 83,3%. Crexi *et al.* (2009), em estudo sobre as características do óleo de carpa obtidos de

vísceras através do processo termomecânico de farinha e do processo de ensilagem obteve rendimento de 85%.

Caracterização do óleo de carpa

A Tabela 1 apresenta o percentual de ácidos graxos livres, os índices de peróxido e os índices de iodo e de saponificação do óleo bruto e do óleo branqueado provenientes de cabeças de carpa, obtidos através do processo termomecânico de farinha de pescado.

Tabela 1: Características do óleo bruto e do óleo branqueado proveniente de cabeças de carpa.

Índices	Óleo bruto*	Óleo branqueado*
AGL (% acid. oléico)	1,76±0,02 ^a	0,30±0,02 ^b
IP (meq peróxido kg ⁻¹)	4,35±0,05 ^a	2,73±0,03 ^b
II (cg I ₂ g ⁻¹)	112 ± 1 ^a	111 ± 2 ^a
IS (mg KOH g ⁻¹)	202±2 ^a	203±1 ^a

Letras com sobrescritos diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa ($P < 0,05$). AGL, ácidos graxos livres; IP, índice de peróxido; II, índice de iodo; IS, índice de saponificação. * valor médio ± erro padrão (em triplicata).

Analisando os dados da Tabela 1, verifica-se através do teste de Tukey de diferenças de médias que existe diferença significativa ($P < 0,05$) para o percentual de ácidos graxos livres e índice de peróxido nos óleos bruto e branqueado. Após as etapas de degomagem e neutralização, o óleo branqueado apresentou redução nos valores de ácidos graxos livres e índice de peróxido. O refino de óleos tem por objetivo obter um produto com características desejáveis para o consumo humano. Assim, cada etapa desse processo consiste na eliminação de compostos que afetam a qualidade do óleo como ácidos graxos livres e produtos de oxidação lipídica (CREXI *et al.*, 2007). A etapa de neutralização tem por objetivo a retirada de ácidos graxos livres, os quais causam reações de hidrólise acelerando a oxidação lipídica. Na etapa de branqueamento ocorre a retirada de pigmentos, remoção dos resíduos da borra de neutralização e produtos de oxidação (ROSSI *et al.*, 2003).

Na Tabela 1, a acidez do óleo bruto ficou abaixo da encontrada na literatura para o óleo bruto de vísceras de carpa de 3,35% (CREXI *et al.*, 2009), este valor provavelmente deve-se a parte do corpo do pescado de que é obtido o óleo. Nas vísceras de pescado encontram-se em maior quantidade enzimas endógenas responsáveis pelos processos de degradação de proteínas e lipídios. Dessa maneira, o óleo proveniente das cabeças terá menor conteúdo de ácidos graxos livres (REECE, 1981)

As características químicas do óleo utilizado na reação de alcoólise, tais como teor de ácidos graxos livres e índice de peróxido, apresentam grande influência na eficiência da reação, podendo reagir com o catalisador, diminuindo assim a eficiência da conversão de triacilgliceróis em ésteres (SUAREZ *et al.*, 2007; MEHER *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2006). Segundo Meher *et al.* (2006), o valor de acidez livre (AGL) do óleo utilizado como matéria-prima na reação alcoólise química deve ser inferior a 3%. Altos teores de ácidos graxos livres ocasionam a formação de sabões que, além de consumirem parte do catalisador durante sua formação, acabam gerando emulsões e dificultando a separação dos produtos (ésteres e glicerol) no final da reação (SUAREZ *et al.*, 2007). Verifica-se na Tabela 1 que os valores para a acidez livre do óleo de carpa branqueado ficaram bem abaixo de 3%.

Em relação ao índice de peróxido, verifica-se na Tabela 1 que este valor para o óleo branqueado de carpa ficou abaixo do conteúdo máximo adequado para sua utilização na reação de alcoólise, segundo Moura *et al.* (2006) este valor é de 10 meq peróxido kg^{-1} .

Os valores dos índices de iodo e saponificação (Tabela 1) para os óleos brutos e branqueados não são significativamente diferentes ($P > 0,05$). Isto era esperado, pois as etapas do refino (degomagem, neutralização e branqueamento) não afetam a composição de ácidos graxos dos triacilgliceróis. Verifica-se que estes índices são similares aos encontrados por Crexi *et al.* (2009) para óleo de vísceras de carpa de 205 mg KOH g^{-1} e de 115 cg I_2g^{-1} .

O índice de saponificação foi utilizado para determinar a massa molar média do óleo de carpa, através da Equação 3. A massa molar determinada para o óleo de carpa foi 833 gmol.

Os perfis de ácidos graxos dos óleos bruto e branqueado de carpa obtido através do processo termomecânico de farinha de pescado estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Perfis de ácidos graxos dos óleos bruto e branqueado de carpa obtido através do processo de farinha de pescado.

Ácidos graxos	Óleo Bruto (%) [*]	Óleo Branqueado (%) [*]
C11:0	0,02±0,01 ^a	0,02±0,01 ^a
C12:0	0,16±0,02 ^a	0,18±0,01 ^a
C14:0	2,51±0,01 ^a	2,51±0,02 ^a
C15:0	1,08±0,02 ^a	1,08±0,03 ^a
C16:0	16,41±0,02 ^a	16,43±0,03 ^a
C17:0	1,29±0,01 ^a	1,30±0,01 ^a
C18:0	3,96±0,01 ^a	3,95±0,01 ^a
C20:0	0,41±0,02 ^a	0,42±0,01 ^a
C21:0	0,36±0,01 ^a	0,37±0,02 ^a
C22:0	0,27±0,02 ^a	0,28±0,02 ^a
C23:0	0,10±0,01 ^a	0,10±0,01 ^a
C14:1ω5	0,08±0,0 ^a	0,08±0,01 ^a
C16:1ω7	5,47±0,03 ^a	5,48±0,04 ^a
C18:1ω9	26,20±0,02 ^a	26,21±0,03 ^a
C20:1ω9	1,31±0,03 ^a	1,29±0,05 ^a
C22:1ω9	0,09±0,01 ^a	0,09±0,01 ^a
C 24:1 ω9	0,06±0,01 ^a	0,06±0,02 ^a
C18:2 ω6	18,50±0,01 ^a	18,52±0,01 ^a
C 18:3ω6	0,26±0,01 ^a	0,25±0,02 ^a
C18:3 ω3	7,20±0,01 ^a	7,19±0,01 ^a
C 20:2ω6	0,59±0,02 ^a	0,60±0,02 ^a
C20:3 ω6	0,47±0,01 ^a	0,47±0,02 ^a
C20:3ω3	0,76±0,01 ^a	0,76±0,01 ^a
C20:4ω6 (AA)	1,53±0,01 ^a	1,52±0,02 ^a
C20:5ω3 (EPA)	2,62±0,02 ^a	2,62±0,01 ^a
C22:2ω6	0,02±0,01 ^a	0,02±0,01 ^a
C22:6ω3 (DHA)	2,51±0,01 ^a	2,50±0,02 ^a
Σ ni ^{**}	5,76±0,03	5,70±0,02

^{*} valor médio ± erro padrão (n = 3 réplica); ^{**}Σ ni - somatório de não identificados. AA: ácido araquidônico; EPA: ácido eicosapentaenóico; DHA: ácido docosahexaenóico. Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Na Tabela 2 através do teste de Tukey HSD de diferença de médias, verifica-se que os óleos bruto e branqueado não são significativamente diferentes ($P < 0,05$). Entre os ácidos graxos saturados encontrados destaca-se o C16:0 (palmítico). Em geral, o conteúdo de AGS (<30%) nos peixes é relativamente baixo, com exceção de

certas espécies. Isto pode ser verificado na Tabela 2 onde o conteúdo de AGS ficou em torno de 26,2%.

O conteúdo total de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados no óleo de cabeças de carpa ficou em torno de 67,7%. Os ácidos graxos C18:1 ω 9 (oléico) e C18:2 ω 6 (linoléico) foram os ácidos graxos encontrados em maior abundância. Ao pesquisar o efeito do clima na composição de ácidos graxos, Guler *et al.* (2008) e Kolakowska *et al.* (2000) encontraram resultados similares para os conteúdos de ácido palmítico e de ácido oléico no óleo de carpa. Crexi *et al.* (2010) em pesquisa sobre o perfil de ácidos graxos do óleo de vísceras de carpa obtido do processo termomecânico de farinha de pescado encontrou valores similares para o conteúdo de ácido oléico.

O ácido linoléico (ω 6) e o ácido linolênico (ω 3) são ácidos graxos poliinsaturados essenciais porque as duplas ligações, situadas no terceiro e sexto átomos de carbono, não podem ser produzidas pelo organismo humano, logo precisam ser adquiridos através da dieta. A partir destes são sintetizados no organismo outros PUFAs de fundamental importância para o corpo: o ácido araquidônico a partir do ácido linoléico (ω 6) e o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA) ambos formados a partir do ácido linolênico (EL-BADRY *et al.*, 2007; CORRÊA, 2003; SUÁREZ-MAHECHA *et al.*, 2002).

Os peixes requerem ω -3 PUFA, em particular EPA e DHA e também ácido araquidônico (AA), pois o alongamento e capacidade de dessaturação do ácido α -linolênico (ALA 18:3 ω 3) são insuficientes para satisfazer as necessidades dos mesmos (MILLER *et al.*, 2007). Na Tabela 2, observa-se que os conteúdos de DHA e de AA nos óleos de cabeça de carpa são maiores que os valores citados por Crexi *et al.* (2010) para o óleo de vísceras de carpa, 1,20% e 1,24% respectivamente; e maiores que os citados por Druzian *et al.* (2007), de 1,02% e 1,16% respectivamente. Porém, o conteúdo de EPA é menor que os citados por Crexi *et al.* (2010) de 3,8 e maior que o citado por Druzian *et al.* (2007) de 2,4%. A causa para esta variação nos resultados observados para PUFAs, EPA, DHA e AA é provavelmente devido à alimentação destes peixes. Os percentuais de PUFA, como EPA, e DHA, no músculo de peixe, dependem da dieta.

Reação de alcoólise química

Nos teste preliminares, verificou-se que utilizando NaOH como catalisador ocorreu a formação de sabão na etapa posterior a reação, ocasionando emulsificação e difícil separação do glicerol. Segundo Meher *et al.* (2006) tanto a quantidade insuficiente de catalisador e o excesso podem causar a formação de sabão. Os sabões de potássio e sódio comportam-se de forma diferente. O primeiro permanece suspenso na camada de éster formada e não se mistura com o glicerol. O sabão de sódio, ao contrário decanta e facilita a solubilização dos ésteres no glicerol, favorecendo a formação de emulsões (LEUNG & GUO, 2006). Dessa maneira, o tipo de catalisador foi determinado devido dificuldade de separação dos ácidos graxos livres do glicerol, determinando-se o KOH como catalisador da reação.

Entretanto, foi verificado que o uso de 2% de KOH proporcionou pouco rendimento em massa da reação. Dessa maneira foram testadas as concentrações de catalisadores de 5% e 22% de KOH. A concentração de 22% de KOH foi determinada conforme referência da literatura para óleo de pescado (WANASUNDARA e SHAHIDI, 1999). Verificou-se que a utilização de 5% de catalisador proporcionou menor rendimento em ácidos graxos livres em relação à concentração de 22% de catalisador, sendo que o rendimento de ácidos graxos livres em relação à massa inicial de óleo foi de 16% e 84%, respectivamente.

No teste preliminar onde estudou-se a quantidade de álcool utilizada na reação de alcoólise, verificou-se que na relação molar 1:12 não ocorreu a separação da fração de ácidos graxos livres devido a formação de emulsão. Entretanto, com a utilização de maior relação molar de álcool etílico ocorreu à separação dos ácidos graxos livres do glicerol. As emulsões são causadas devido a formação de intermediários da reação como os monoacilgliceróis e diacilgliceróis que possuem hidroxilas polares que se agrupam as cadeias de hidrocarboneto não polares. Dessa maneira, possivelmente na utilização da relação molar 1:12 de óleo:etanol a reação não foi completa ocorrendo a formação de mono e diacilgliceróis que ocasionaram a formação de emulsão impossibilitando a separação dos ésteres etílicos do glicerol.

Os tratamentos foram realizados utilizando como catalisador KOH na concentração de 22% em relação à massa de óleo e relações molares de 1:21, 1:27 e 1:39 de óleo:etanol.

A Tabela 3 apresenta os rendimentos, os índices de acidez e os índices de peróxidos para os tratamentos utilizados nas reações de alcoólise química.

Tabela 3: Rendimentos, ácidos graxos livres e índices de peróxidos para os tratamentos utilizados nas reações de alcoólise química.

Tratamentos/ Relação molar álcool:óleo	(1:21)	(1:27)	(1:39)
Rendimento em massa (%)	70,0±1,5 ^a	81,40±1,3 ^b	89,5±1,0 ^c
AGL (%ácido oléico)	34,05±1,0 ^a	40,54±1,0 ^c	44,43±1,0 ^c
IP (meq peróxido kg ⁻¹)	3,5±0,1 ^a	3,7±0,1 ^a	3,5±0,2 ^a

Letras com sobrescritos diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa ($P < 0,05$). AGL, ácidos graxos livres; IP, índice de peróxido. * valor médio \pm erro padrão (em triplicata).

Na Tabela 3 através do teste de Tukey HSD de diferença de médias, verifica-se que os três tratamentos realizados para a reação de alcoólise apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$), para os rendimentos em massa e índice de acidez. A utilização de maiores quantidades de álcool (relação 1:39 óleo:etanol) proporcionou maior rendimento em ácidos graxos livres, isto é comprovado também através do maior valor da acidez livre.

Em relação à oxidação lipídica, verifica-se que a quantidade de álcool não influenciou significativamente o valor do índice de peróxido, visto que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para este índice nos tratamentos. Entretanto, ocorreu aumento nos valores de peróxido após a realização dos experimentos de alcoólise. Este aumento pode ter ocorrido devido às condições do processo, as quais são temperatura de 60 °C, tempo de 60min e vácuo de 400 mmHg. Durante a reação não foi possível realizar vácuo absoluto, pois em testes preliminares verificou-se que o aumento do vácuo causava a evaporação do álcool etílico. Verifica-se que os índices de peróxidos para os tratamentos estão dentro dos valores exigidos para óleos destinados ao consumo humano de 8 meq/kg (BORAN *et al.*, 2006), assim em todos os tratamentos este índice está dentro dos padrões aceitáveis de qualidade.

Complexação com uréia

A reação de complexação com uréia foi realizada nos ácidos graxos resultantes da reação de alcoólise química da relação molar de 1:39 óleo:etanol, pois com essa relação molar obteve-se maior rendimento em ácidos graxos.

A Tabela 4 apresenta os perfis de ácidos graxos do óleo branqueado e da fração resultante da reação de complexação com uréia.

Tabela 4: Perfis de ácidos graxos do óleo branqueado e da fração não complexada com uréia.

Ácidos graxos	Óleo Branqueado (%) [*]	Fração não complexada (Líquida) (%)
C11:0	0,02±0,01 ^a	0,02±0,01 ^a
C12:0	0,18±0,01 ^a	0,19±0,01 ^{ab}
C14:0	2,51±0,02 ^a	0,89±0,01 ^b
C15:0	1,08±0,03 ^a	0,28±0,01 ^b
C16:0	16,43±0,03 ^a	4,38±0,02 ^b
C17:0	1,30±0,01 ^a	0,26±0,01 ^b
C18:0	3,95±0,01 ^a	0,46±0,01 ^b
C20:0	0,42±0,01 ^a	0,05±0,01 ^b
C21:0	0,37±0,02 ^a	0,05±0,01 ^b
C22:0	0,28±0,02 ^a	0,04±0,02 ^b
C23:0	0,10±0,01 ^a	0,06±0,01 ^b
C14:1ω5	0,08±0,01 ^a	0,10±0,01 ^{ab}
C16:1ω7	5,48±0,04 ^a	7,02±0,01 ^b
C18:1ω9	26,21±0,03 ^a	30,80±0,01 ^b
C20:1ω9	1,29±0,05 ^a	0,66±0,02 ^b
C22:1ω9	0,09±0,01 ^a	0,07±0,01 ^{ab}
C 24:1 ω9	0,06±0,02 ^a	0,05±0,01 ^a
C18:2 ω6	18,52±0,01 ^a	25,90±0,02 ^b
C 18:3ω6	0,25±0,02 ^a	0,35±0,01 ^b
C18:3 ω3	7,19±0,01 ^a	9,71±0,01 ^b
C 20:2ω6	0,60±0,02 ^a	0,81±0,01 ^b
C20:3 ω6	0,47±0,02 ^a	0,70±0,01 ^b
C20:3ω3	0,76±0,01 ^a	0,98±0,01 ^b
C20:4ω6 (AA)	1,52±0,02 ^a	2,12±0,01 ^b
C20:5ω3 (EPA)	2,62±0,01 ^a	4,59±0,02 ^b
C22:2ω6	0,02±0,01 ^a	0,04±0,01 ^a
C22:6ω3 (DHA)	2,50±0,02 ^a	4,90±0,01 ^b
ΣAGS	26,64±0,02	6,68±0,01
ΣAGM	33,21±0,01	38,75±0,01
ΣAGPs	34,45±0,01	50,15±0,01
Σ(AGM + AGPs)	67,66±0,01	88,90±0,01

$\Sigma(\text{EPA} + \text{DHA})$	5,12±0,01	9,49±0,01
Σni^{**}	5,70±0,02	4,42±0,01

* valor médio \pm erro padrão (n = 3 replica). ** Σni - somatório de não identificados. AA: ácido araquidônico; EPA: ácido eicosapentaenóico; DHA: ácido docosahexaenóico. Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa pelo teste Tukey ($P < 0.05$).

Analisando os perfis de ácidos graxos das frações resultantes da reação de complexação com uréia (Tabela 4), verifica-se através do teste de Tukey de diferenças de médias que existe diferença significativa ($P < 0,05$) entre o óleo branqueado e a fração não complexada (líquida) com uréia.

Na Tabela 4, como esperado, verifica-se que na fração não complexada (líquida), ocorreu o aumento nos percentuais dos ácidos graxos insaturados e poliinsaturados e a redução nos percentuais de ácidos graxos saturados. A formação dos compostos de inclusão na uréia depende do grau de insaturação dos ácidos graxos. A uréia cristaliza-se em uma estrutura hexagonal de canais de diâmetro de 8-12 Å., a presença de ligações duplas na cadeia do carbono aumenta o volume da molécula e reduz a probabilidade de sua complexação com a uréia. (SHAHIDI & WANASUNDARA, 1998).

A partir da Tabela 4, foi calculada a variação no percentual de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados e a variação no percentual dos ácidos graxos saturados. Estes percentuais foram calculados conforme Equação 2. Nesta fração, obteve-se um aumento de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados de 31,39% e redução de saturados de 75%. Em relação aos ácidos graxos poliinsaturados EPA e DHA verifica-se, que ocorreu aumento do conteúdo de EPA+DHA de 85,35%.

Estes valores são similares aos citados por Liu *et al.* (2006). Estes autores realizaram o método de complexação com uréia utilizando óleo de atum, obtendo aumento total de DHA e EPA de 85,02% com relação ácido graxo-uréia de 15 mol/mol, temperatura de cristalização de -5°C, e tempo de cristalização de 20h.

Analisando a fração não complexada com uréia, verifica-se que esta é uma rica fonte de ácidos graxos poliinsaturados e insaturados com um total de 88,90% desses ácidos graxos. Este valor é similar ao citado por Wanasundara & Shahidi (1999) que realizaram a complexação com uréia de óleo de pescado. Os autores obtiveram um

total de ácidos graxos ω -3 de 88,2% utilizando as condições de relação ácido graxo-uréia de 4,5 (p/p), tempo de cristalização de 24h, e temperatura de cristalização de -10°C.

5.3.5 Conclusão

A recuperação do óleo bruto obtido de cabeças de carpa através dos processos de farinha foi de 3 g por 100g de cabeça, tendo-se um rendimento de aproximadamente 83% em relação ao óleo presente nas cabeças de carpa. Os ácidos graxos polinsaturados encontrados em maior quantidade no óleo de carpa foram C18:1 ω 9 (oléico) e C18:2 ω 6 (linoléico). O conteúdo total de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados no óleo branqueado de cabeças de carpa foi de aproximadamente 67,7%.

No estudo da reação de alcoólise verificou-se que a maior quantidade de álcool (relação 1:39 óleo:etanol) proporcionou maior rendimento em ácidos graxos livres. Estes ácidos graxos foram submetidos à complexação com uréia. Na fração não complexada com uréia obteve-se um aumento percentual de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados de 31,39%, redução de saturados de 75% e aumento do conteúdo de EPA+DHA de 85,35%. A fração não complexada com uréia pode ser considerada uma rica fonte de ácidos graxos poliinsaturados e insaturados com um total de 88,90% desses ácidos graxos.

5.3.6 Agradecimentos

Os agradecem a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo suporte financeiro.

5.3.7 Referências Bibliográficas

American Oil Chemists Society (AOCS) (1980). **Official and Tentative Methods of American Oil Chemists' Society** (3rd ed.).

Ahmed, S. U., Reddy, K. K. Swathy, S. L., Singh, S. K., Kanjilal, S., Prasad, R. B. N. & Pandey, A. (2009). Enrichment of γ -linolenic acid in the lipid extracted from *Mucor zycha* MTCC 5420. **Food Research International**, 42, 449-453.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1995). **Official Methods of Analysis**, 16th edn. Arlington, VA: AOAC.

Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, 27, 911–917.

Box, G. E. P., Hunter, W. G. & Hunter, J. S. (1978). **Statistics for Experiments: An Introduction to Design**. Data Analysis and Model Building, New York, USA: John Wiley & Sons.

Boran, G., Karaçam, H. & Boran, M. (2006). Changes in the quality of fish oils due to storage temperature and time. **Food Chemistry**, 98, 693–698.

Borlongan, I.G. & Benitez, L.V. (1992). Lipids and fatty acid composition of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) grown in freshwater and seawater. **Aquaculture**, 104, 79–89.

Carvalho, P. O., Campos, P. R. B., Noffs, M. D., Oliveira, J. G., Shimizu, M. T. & Silva, D. M. (2003). Aplicação de lipases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. **Química Nova**, 26, p. 75-80.

Chakraborty, K., Vijayagopal, P., Chakraborty, R. D. & Vijayan, K. K. (2009). Preparation of eicosapentaenoic acid concentrates from sardine oil by *Bacillus circulans* lipase. **Food Chemistry**, 120, 433-442.

Corrêa, A. P.A. (2003). Fracionamento de óleo de peixe com dióxido de carbono supercrítico. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), UNICAMP, 72p.

Crexi, V.T., Grunennvaldt, F.L., Souza-Soares L.A. & Pinto, L.A.A. (2007). Refino de óleos de corvina (*micropogonias furnieri*) provenientes dos processos de ensilagem ácida e termomecânico de farinha. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 66, 50-56.

Crexi, V. T., Souza-Soarez, L. A. & Pinto, L. A. A. (2009). Carp (*Cyprinus carpio*) oils obtained by fishmeal and ensilage processes: characteristics and lipid profiles. **International Journal of Food Science & Technology**, 44, 1642 – 1648.

Crexi V.T., Monte, M. L., Souza-Soares, L. A. & Pinto, L.A.A. (2010). Production and refinement of oil from carp (*Cyprinus carpio*) viscera. **Food Chemistry**, 119, 945-950.

Cunha, D.C., Crexi, V.T. & Pinto, L.A.A. (2007). Comparação de métodos de fracionamento de óleo de pescado via “winterização”. **O&G - Alimentos e Tecnologia**, Ano XII, 87, 34 -39.

De Silva, S.S., Gunasekera, R.M. & Austin, C.M. (1997). Changes in fatty acid profile of hybrid red tilapia *Oreochromis mossambicus* X *O. niloticus*, subjected to short-term starvation and comparison with changes in seawater raised fish. **Aquaculture**, 153, 273–290.

Druzian, J.I., Marchesi, C.M. & Scamparini, A.R.P. (2007). Fatty acid profile and proximate composition of carp (*Cyprinus carpio*) feed artificial food and pig manure. **Ciência Rural**, 37, 539–544.

El-badry, A.M., Graf, R. & Clavien, P.A. (2007). Omega 3- Omega 6: what is right for the liver? **Journal of hepatology**, 47, 718-725.

Gámes-meza, N.; Noriega-rodríguez, L.A.; Medina-juárez; Ortega-garcía, J; Moroy-rivera, J.; Toro-vázquez; García, H.S. & Angulo-guerrero, O. (2003). **Concentration of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid from fish oil hydrolysis and urea complexation**. Food Research International, 36, 721-727.

Ganga, A., Nieto, S., Sanhuez, J., Romo, C., Speisky, H. & Valenauela, A. (1998). Concentration and stabilization of n-3 polyunsaturated fatty acids sardine oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 75, 733–736.

Geris, R., Santos, N. A. C., Amaral, B. A., Maia, I. S., Castro, V. D. & Carvalho, J. R.M. (2007). Biodiesel de soja – Reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica. **Química Nova**, 5, 1369 -1373.

Guler, G.O., Kiztanir, B., Aktumsek, A., Cital, O.B. & Ozparlak, H. (2008). Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and ω 3/ ω 6 ratios of carp (*Cyprinus carpio L.*) muscle lipids in Beysehir Lake (Turkey). **Food Chemistry**, 108,689–694.

Guil-Guerrero, J. L., López-Martínez, J. C., Rincón-Cervera, M. A. & Campra-Madrid, P. (2007). One-Step Extraction and Concentration of Polyunsaturated Fatty Acids from Fish Liver. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. 84, 357-361.

Kolakowska, A., Szczygielski, M., Bienkiewicz, G. & Zienkiewicz, L. (2000). Some of fish species as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids. **Acta Ichthyologica Piscatoria**, 30, 59–70.

Kolodziejska, I; Skierka, E; Sadowska, M; Kolodziejski, W. & Niecikowska, C.(2008) Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. **Food Chemistry**. 107, 700-706.

Leung, D. Y. C. & Guo, Y. (2006). Transesterification of neat and used frying oil: optimization for biodiesel production. **Fuel Processing Technology**, 87, 883-888.

Liu, S.; Zhang, C.; Hong, P. & Ji, H. (2006). Concentration of docosahexaenoic acid (DHA) of tuna oil by urea complexation: optimization of process parameters. *Journal of Food Engineering*, 73, 203-209.

Meher, L. C., Sagar, D. V. & Naik, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review. (2006). **Renewable and sustainable energy Reviews**, 10, 248-268.

Melo, A. R. & Stipp, N. A. F. A. (2001). Piscicultura em Cataveiro como Alternativa Econômica para as Áreas Rurais. **Geografia**. 10, 175-19.

Metcalfe, L. D. A. A., & Schimitz, J. R. (1966). Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, 38, 510.

Miller, M.R., Nichols, P.D. & Cater, C.G. (2007). Replacement of fish oil with thraustochytrid Schizochytrium sp. L oil in Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L) diets. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 148, 382–392.

Moura, J.M. L. N., Gonçalves, L. A. G., Grimaldi, R., Soares, M.S. & Ribeiro A. P.B. (2006) Otimização das condições de produção de ésteres etílicos a partir de óleo de peixe com elevado teor de ácidos graxos ω -3. **Química Nova**, 29, 956-953.

Padilha, M. E.S. & Ruiz, W. A. (2007). Hidrólise enzimática do óleo de pescado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 27, 285 -290.

Padilha, M. E. S. (2002). **Obtenção de Concentrado de Ácidos Graxos Provenientes do Óleo de Pescado**. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, FURG, Rio Grande, 117p.

Pilarski, F., Júnior, O. T., Casaca, J. M., Garcia, M. F. R., Tomazelli, I, B. & Santos, I. R. (2004). Consórcio Suíno-Peixe: Aspectos Ambientais e Qualidade do Pescado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2, 267-276.

Rossi, M., Gianazza, M., Alamprese, C.& Stanga, F. (2003). The role of bleaching clays and synthetic sílica in palm oil physical refining. **Food Chemistry**, 82, 291-293.

Suarez, P. A., Meneghetti, S. M. P. & Meneghetti, M. R. (2007). Transformação de Triglicerídeos em combustíveis, materiais poliméricos e insumos químicos: Algumas aplicações da catálise na oleoquímica. **Química Nova**, 3, 677 – 676.

Wanasundara, U.N. & Shahidi, F.(1999). Concentration of omega 3-polyunsaturated fatty acids of seal blubber oil by urea complexation: optimization of reaction conditions. **Food Chemistry**. 65, 41-49.

5.4 ARTIGO 4

**CONCENTRADOS DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS A PARTIR
DE ÓLEO DE PESCADO PARA ELABORAÇÃO DE LIPÍDIOS ESTRUTURADOS.**

**Artigo publicado na revista na Revista O & G Alimentos e Tecnologia, n.
89, p. 26-34, 2008**

CONCENTRADOS DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS A PARTIR DE ÓLEO DE PESCADO PARA ELABORAÇÃO DE LIPÍDIOS ESTRUTURADOS.

5.4.1 Resumo

Em vista do grande potencial dos ácidos graxos ω -3 no mercado, pesquisas voltadas a esta área têm relatado a aplicação de métodos visando à obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), a partir de óleo de pescado. A técnica mais simples e a mais eficiente para se obter concentrados de PUFA é a complexação com uréia. Estes concentrados podem ser utilizados para a produção de suplementos alimentares (encapsulados) e também para elaboração de lipídios estruturados. Além de serem enriquecidos com ácidos graxos poliinsaturados, os lipídios estruturados apresentam melhores características nutricionais e físicas, sendo produtos de maior valor agregado, constituindo-se assim, em uma nova geração de óleos e gorduras, com aplicações medicinais, farmacêuticas e em alimentos.

Palavras-chave: Óleo de pescado, Ácidos graxos poliinsaturados, Complexação com uréia, Lipídios estruturados, Interesterificação.

5.4.2 Introdução

Alimentos funcionais, ou nutracêuticos, são definidos como alimentos que, além dos nutrientes básicos, possuem propriedades de prevenção ou diminuição dos sintomas de certas doenças (RODRIGUES & GIOIELLI, 2003b; SUÁREZ-MAHECHA *et al.*, 2002). Dentre estes alimentos, destacam-se os de origem marinha, por seu conteúdo em ácidos graxos, eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), estes também conhecidos como ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) (SUÁREZ-MAHECHA *et al.*, 2002). Muitos estudos avançaram em relação as propriedades dos ácidos graxos EPA e DHA, sendo atribuídos a estes ácidos graxos do grupo ω -3, propriedades salutare para ao cérebro, sistema cardiovascular e a articulações (KLINKERSORN *et al.*, 2004; MESA *et al.*, 2004; NAVARRO-GARCIA *et al.*, 2004; ROYNETT *et al.*, 2004; SIDHU, 2003).

Em vista do grande potencial dos ω -3 no mercado, pesquisas voltadas a esta área têm relatado a aplicação de diferentes métodos físicos, químicos e enzimáticos visando à obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados, a partir de óleo de pescado (LIU *et al.*, 2006; CARVALHO *et al.*, 2003; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999). Estes concentrados podem ser utilizados para a produção de suplementos alimentares (encapsulados) e para elaboração de lipídios estruturados, nos quais estes ácidos graxos concentrados são incorporados (CARVALHO *et al.*, 2003).

A complexação com uréia é um método químico utilizado para se obter concentrados de ω -3. O método de fracionamento com complexação (inclusão) com uréia baseia-se na separação pelo grau de insaturação, sendo que os ácidos graxos mais insaturados são menos complexados com a uréia (CARVALHO *et al.*, 2003).

Lipídios estruturados podem ser definidos como triacilgliceróis reestruturados ou modificados para alterar a composição em ácidos graxos e/ou sua distribuição nas moléculas de glicerol (PISKA *et al.*, 2006; NORIZZAH *et al.*, 2004). Os lipídios estruturados são uma nova geração de óleos e gorduras com aplicações medicinais, nutracêuticas e em alimentos (HAMAM & SHAHIDI, 2008).

Diversos produtos podem ser elaborados, a partir de lipídios estruturados, que são obtidos através da mistura e reação de interesterificação de gorduras ou óleos com concentrados de ácidos graxos poliinsaturados, como os provenientes de óleo de pescado. Através deste processo, os produtos enriquecidos apresentam melhores características nutricionais (KLINKERSORN *et al.*, 2004), como também podem ser utilizados para panificação, pois estes têm sua plasticidade e incorporação de ar melhoradas. Estas características agregam valor a estes produtos que são de grande utilidade em alguns processos e podem ser denominados de alimentos funcionais (GRIMALDI *et al.*, 2005; VURAL *et al.*, 2004; ROUSSEAU & MARANGONI, 1999).

O presente trabalho apresenta uma revisão sobre ácidos graxos poliinsaturados presentes em óleos de pescados, concentração de ácidos graxos poliinsaturados através do método de complexação com uréia, lipídios estruturados, interesterificação química, produtos e mercado.

5.4.3 Desenvolvimento do Trabalho

Ácidos Graxos Poliinsaturados e Óleo de Pescado

Os ácidos graxos poliinsaturados são classificados em duas famílias distintas, ômega-3 (ω -3) e ômega-6 (ω -6), de acordo com os ácidos graxos a partir dos quais foram sintetizados. Os ômega-3 e ômega-6 são derivados dos ácidos graxos linolênico e linoléico, respectivamente (EL-BADRY *et al.*, 2007).

As famílias de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 consistem de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs-Polyunsaturated Fatty Acids) contendo de 18 a 22 carbonos. A designação de ômega tem relação com a posição da primeira dupla ligação, contando a partir do grupo metílico final da molécula de ácido graxo. Os ácidos graxos ω -3 apresentam a primeira dupla ligação entre o terceiro e o quarto átomo de carbono, enquanto os ácidos graxos ω -6 têm a primeira dupla ligação entre o sexto e o sétimo átomo de carbono (CORRÊA, 2003; SUÁREZ-MAHECHA *et al.*, 2002)

O ácido linoléico (ω -6) e o ácido linolênico (ω -3) são ácidos graxos poliinsaturados essenciais porque as duplas ligações, situadas no terceiro e sexto átomos de carbono, não podem ser produzidas pelo organismo humano, logo precisam ser adquiridos através da dieta. A partir destes são sintetizados no organismo outros PUFAs de fundamental importância para o corpo: o ácido araquidônico a partir do ácido linoléico (ω -6) e os ácidos eicosapentaenóico e docosahexaenóico ambos formados a partir do ácido linolênico (EL-BADRY *et al.*, 2007; CORRÊA, 2003; SUÁREZ-MAHECHA *et al.*, 2002). Embora possam ser produzidos pelo organismo, estudos revelam que apenas 10-15% do ácido linolênico é convertido em EPA e a síntese de DHA é limitada, sendo insuficiente para suprir as necessidades do organismo (CORRÊA, 2003).

Entre as principais funções dos ácidos graxos estão o depósito de energia e a conformação das membranas celulares, sendo também precursores de substâncias, como as prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos (LIN *et al.*, 2006; LIU *et al.*, 2006; GÁMES-MEZA *et al.*, 2003). O número e a posição das duplas ligações determinam as propriedades físicas e químicas dos PUFAs. As famílias ω -6 e ω -3 têm

diferentes funções fisiológicas e atuam em conjunto para regular os processos biológicos (SUÁREZ-MAHECHA *et al.*, 2002).

Duas linhas de pesquisa têm focado o importante papel dos ácidos graxos poliinsaturados ω -3 na dieta alimentar. Uma na promoção do desenvolvimento do sistema cerebral e retina de crianças, e outra na prevenção de doenças cardiovasculares nos adultos. Diferente do sistema muscular esquelético, que é rico em proteínas e minerais, o componente estrutural principal do tecido neuronal dos mamíferos são os lipídios. O peso seco do cérebro compreende aproximadamente 600g lipídios/kg e apresenta um perfil único de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente em ω -3 (CORRÊA, 2003). Assim, para o desenvolvimento e manutenção das funções do sistema nervoso central os ácidos graxos poliinsaturados são de vital importância. No feto, o sistema nervoso e o sistema cardiovascular são as duas regiões de maior importância para o seu crescimento, logo os PUFAs são relevantes para o seu desenvolvimento. No sistema cerebral, foi demonstrado que a ingestão de dietas ricas em ω -3 pode aumentar o coeficiente de inteligência de crianças, diminuir casos de hiperatividade, conter comportamento agressivo de humanos sob período de estresse, e reduzir casos de depressão e de esquizofrenia (LIU *et al.*, 2006; KLINKERSORN *et al.*, 2004; CORRÊA, 2003; GÁMES-MEZA *et al.*, 2003).

De uma forma geral, estudos em humanos indicam que o consumo regular de peixes oleosos ou de ácidos graxos poliinsaturados do tipo EPA e DHA diminuem o risco de mortes por doenças cardíacas (LIU *et al.*, 2006; KLINKERSORN *et al.*, 2004). Este efeito protetor foi constatado através de várias pesquisas feitas com pessoas de diversos países, tanto em homens que já apresentavam doença cardíaca no início do estudo, quanto em homens inicialmente saudáveis (CORRÊA, 2003). Os ácidos graxos poliinsaturados ômega-3, possuem ação benéfica também no tratamento e prevenção da hipertensão, arteriosclerose, arritmia e artrite (LIU *et al.*, 2006; KLINKERSORN *et al.*, 2004; GÁMES-MEZA *et al.*, 2003).

As fontes mais ricas em EPA e DHA são os óleos de peixes marinhos e a carne de peixes oleosos como a cavala, arenque, salmão e sardinha (CORRÊA, 2003). A composição em ácidos graxos do óleo de peixe varia em virtude de muitos fatores, como sexo, tamanho, dieta, localização geográfica, temperatura do

ambiente e estação do ano (MORAIS *et al.*, 2000; GONÇALVES & SOARES, 1988). Esses ácidos graxos EPA e DHA são originalmente provenientes de algas marinhas as quais são fontes de alimento para os peixes típicos de águas frias. A alta quantidade de ω -3 PUFAs presente nestes peixes é consequência da adaptação destes a águas frias (CORRÊA, 2003). A Tabela 1 apresenta a composição em ácidos graxos de óleos de peixes marinhos e de fígados de tubarão e de bacalhau.

Tabela 1. Composição em ácidos graxos de óleos de pescados marinhos % mássica.

Ácido Graxo	Fígado Tubarão	Fígado Bacalhau	Cavala	Arenque	Salmão	Sardinha	Anchova	Corvina*
C14:0	4,2	3-5	7-8	6-12	3,3	4-12	0,4-1,3	3,6-3,8
C14:1	0,5			0,2-0,4				
C15:0	0,8	0,3-0,5		0,4-1,1		0-0,6		0,5-0,9
C16:0	19,8	10-14	13-16	14-23	9,8	9-22	16-20	17-23
C16:1	7,7	6-12	4-9	7-15	4,8	6-13	8-12	14,1-14,3
C16:2		0,3-1		1-2				
C16:3		0,2-0,6		1-3				
C16:4				0,5-2				
C17:0	1,5	0,1-1		0,3-1,3		0-1	0,5-2	1,6-1,8
C18:0	3,8	1-4	2-3	2-4	4,2	2-7	3-7	5,1-5,5
C18:1	24,8	19,27	13-14	6-16	17,0	7-17	9-14	19,8-20
C18:2	0,6	1-2	1-2	1-2	1,5	1-3	1-3	3,3-3,7
C18:3		0,2-1	1-2	1-2	1,1	0,4-1	0,3-1,3	1,8-2,0
C18:4		0,4-2	2-5	1-5	2,8	2-3		
C20:0								06-0,8
C20:1	7,8	7-15	12	0,5-2	3,9	1-8	2-8	3,3-3,7
C20:4	2,9	0,4-1		1-4	0,7	1-3	0,3-1	
C20:5-EPA	4,6	8-14	6-8	12-18	13,0	9-35	10-20	5,7-5,9
C21:5				0,5-1				
C22:0								0,2-0,4
C22:1		4-13	14-16	0,2-0,4	3,4	1-8	2-4	1,6-2,0
C22:5	1,7	1-3	1	2-4	3,0	1-4	1-2	3,4-4,0
C22:6-DHA	18,9	6-17	8-9	4-15	18,2	4-13	4-11	5,4-5,8
Outros			5-8			1-14	3-10	5,6

Fonte: CORRÊA, 2003.

*Fonte: CREXI *et al.*, 2007.

Método de Concentração de Ácidos Graxos Poliinsaturados

Em vista do grande potencial que o mercado proporciona em suplementos alimentares de ácidos graxos poliinsaturados ω -3 e de produtos nos quais estes ácidos são incorporados, pesquisas voltadas a esta área tem relatado métodos visando à obtenção destes concentrados (LIU *et al.*, 2006; CARVALHO *et al.*, 2003; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999).

O óleo de pescado por constituir uma importante fonte de ácidos graxos poliinsaturados é usado preferencialmente como material bruto para preparar concentrados de ω -3 PUFA (CUNHA *et al.*, 2007; PADILHA & RUIZ, 2007; MORAIS *et al.*, 2000).

Os concentrados de PUFA podem ser produzidos por diversos métodos, incluindo a cristalização por resfriamento, a complexação por uréia, a destilação molecular, a extração fluida supercrítica e a concentração por lipase (LIU *et al.*, 2006). Entretanto, a técnica mais simples e a mais eficiente para obter concentrados de PUFA através de ácidos graxos livres é complexação com uréia (LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999).

O método de fracionamento com complexação (inclusão) com uréia baseia-se na separação pelo grau de insaturação, sendo que os ácidos graxos mais insaturados são menos incluídos nos adutos de uréia (CARVALHO *et al.*, 2003). Na presença de moléculas de cadeias retas e longas a uréia cristaliza-se em uma estrutura hexagonal de canais de diâmetro de 8-12 \AA . Esses canais formados, na presença das moléculas de cadeias sem ramificações, são suficientemente grandes para acomodar correntes alifáticas. Dessa forma, enquanto os ácidos graxos saturados de cadeias retas com seis átomos de carbono ou maior quantidade são mais prontamente incluídos nos adutos de uréia, a presença de ligações duplas na cadeia do carbono aumenta o volume da molécula e reduz a probabilidade de sua complexação com a uréia. (SHAHIDI & WANASUNDARA, 1998). Esta é uma técnica bem estabelecida para a eliminação de ácidos graxos saturados e monoinsaturados (LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999; SHAHIDI & WANASUNDARA, 1998).

Os ácidos graxos monoinsaturados são mais prontamente complexados em comparação aos diinsaturados que, por sua vez, são mais prontamente complexados do que triinsaturados. Conseqüentemente, a estabilidade do ácido graxo-uréia conduz a geometria das moléculas envolvidas. Todo o desvio de um arranjo da cadeia reta enfraquece a estabilidade de inclusão. Conseqüentemente, a formação dos compostos de inclusão na uréia depende do grau de insaturação dos ácidos graxos (SHAHIDI & WANASUNDARA, 1998).

Para preparar os concentrados ω -3 de ácidos graxos livres, primeiramente realiza-se uma hidrólise química ou enzimática dos óleos marinhos (GAMEZ-MEZA *et al.*, 2003), obtendo-se os ácidos graxos livres para posterior complexação (LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999).

Na hidrólise enzimática utilizam-se as lipases que são hidrolases que catalisam a hidrólise dos triacilgliceróis em ácidos graxos, em acilgliceróis parciais e em glicerol. As lípases provenientes de microrganismos são as mais utilizadas industrialmente para preparar concentrados do ácido graxo ω -3, porque além de apresentarem procedimentos mais simples de isolamento a partir do caldo fermentativo, são geralmente mais estáveis e com propriedades bem mais diversificadas que as lípases de outras fontes. Atenção considerável foi dada as lipases microbianas (GAMEZ-MEZA *et al.*, 2003; CARVALHO *et al.*, 2003). A hidrólise química é realizada utilizando-se solução de KOH ou NaOH alcoólico, neste processo os insaponificáveis tais como esteróis, vitaminas A e D e outros componentes indesejáveis são removidos (LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999).

Os ácidos graxos livres obtidos por hidrólise enzimática ou química são misturados então com uma solução alcoólica (metanol ou etanol) de uréia para a complexação. Os ácidos graxos saturados e monoinsaturados complexam facilmente com a uréia e são cristalizados sob refrigeração a uma temperatura particular dependendo do grau de concentração desejado. Após cristalização os ácidos graxos saturados e monoinsaturados são removidos por filtração, sendo que a fração líquida ou não complexada de uréia consiste na enriquecida com ω -3 PUFA (LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI, 1999). A Figura 1 apresenta o fluxograma simplificado da elaboração de concentrados em ω -3 por complexação com uréia.

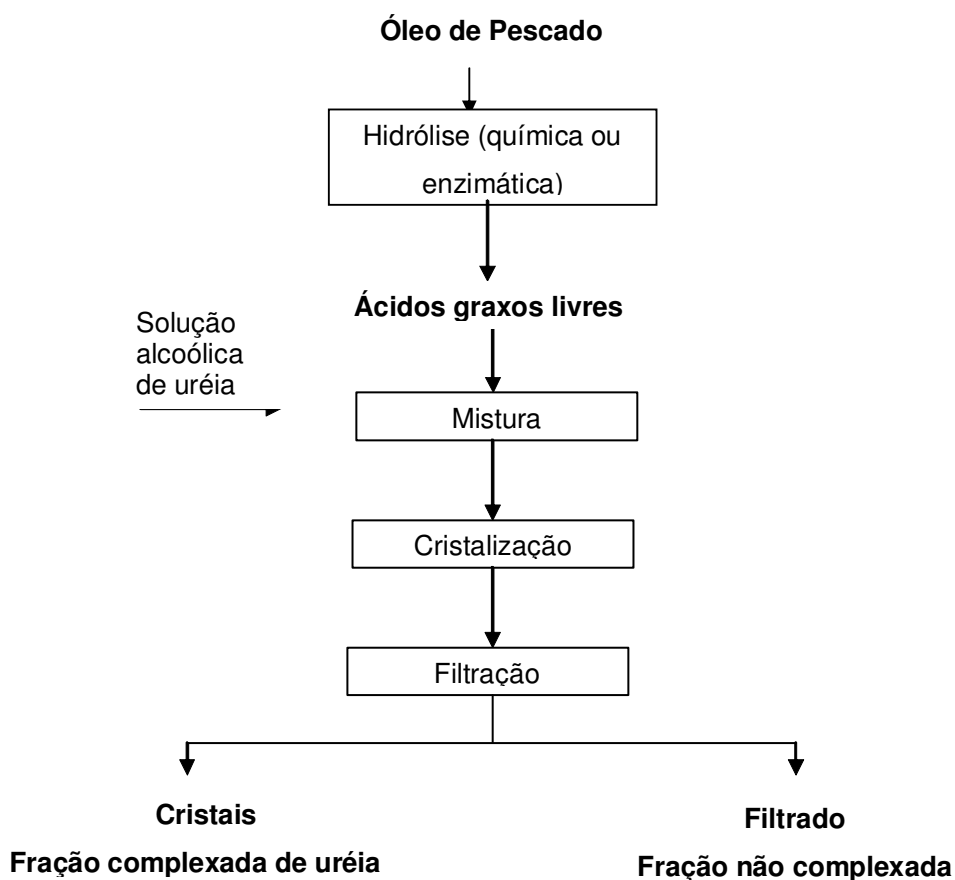


Figura 1: Fluxograma simplificado da elaboração de concentrados ω -3 por complexação com uréia.

As condições de processamento para a complexação com uréia variam de acordo com a concentração da solução de uréia, a relação ácido graxo-uréia, o decréscimo da temperatura de cristalização e o tempo de cristalização. Na técnica de complexação da uréia, tem-se a vantagem que os cristais complexados são extremamente estáveis, e a filtração não tem que necessariamente ser realizada em temperaturas muito baixas como é requerido na cristalização de ácidos graxos com solvente (CUNHA *et al.*, 2007; LIU *et al.*, 2006; WANASUNDARA & SHAHIDI 1999).

Liu *et al.* (2006) relataram o método de complexação com uréia utilizando óleo de atum. Os autores utilizaram uma solução alcoólica de uréia 10% (p/v) em etanol 95%, homogeneizando a mistura uréia-óleo a temperatura de 60 a 70 °C sob agitação, onde obtiveram aumento total de DHA e EPA de 85,02% com relação ácido graxo-

uréia de 15 mol/mol, temperatura de cristalização de -5 °C, e tempo de cristalização de 20h. Wanasundara & Shahidi, 1999, em seus estudos, realizaram a complexação com uréia utilizando uma solução alcoólica 20% (p/v) em etanol 95%, homogeneizando a mistura uréia-óleo a temperatura de 60 °C sob agitação. Os autores obtiveram um aumento total de ácidos graxos ω -3 de 88,2% utilizando as condições de relação ácido graxo-uréia de 4,5 (p/p), tempo de cristalização de 24h, e temperatura de cristalização de -10 °C.

Lipídios Estruturados

Lipídios estruturados podem ser definidos como triacilgliceróis reestruturados ou modificados para alterar a composição em ácidos graxos e/ou sua distribuição nas moléculas de glicerol (HAMAM & SHAHIDI, 2008; PISKA *et al.*, 2006; NORIZZAH *et al.*, 2004). Estes podem ser sintetizados com o propósito de melhorar ou modificar as características físicas (polimorfismo natural, ponto de fusão, conteúdo de gordura sólida, viscosidade e consistência) e/ou químicas (estabilidade oxidativa) dos triacilgliceróis. Como também, para modificar uma ou mais propriedades nutricionais, tal como a presença ou ausência de ácidos graxos saturados ou ácidos graxos insaturados de fácil absorção e digestão (HAMAM & SHAHIDI, 2008; PISKA *et al.*, 2006; NORIZZAH *et al.*, 2004). Conseqüentemente, a elaboração de lipídios estruturados com ácidos graxos selecionados em posições específicas no triacilglicerol para aplicações medicinais atrai muita atenção (HAMAM & SHAHIDI, 2008).

Os lipídios estruturados são uma nova geração de óleos e gorduras com aplicações medicinais, nutracêuticas e em alimentos. A constituição em ácidos graxos e suas posições na cadeia do glicerol determinam as características funcionais e físicas, o metabolismo, e os benefícios à saúde que o lipídio estruturado pode proporcionar (HAMAM & SHAHIDI, 2008; PISKA *et al.*, 2006; NORIZZAH *et al.*, 2004). Esses lipídios podem ser reestruturados para suprir exigências de ácidos graxos essenciais ou para incorporar ácidos graxos específicos em determinadas posições da cadeia do glicerol (HAMAM & SHAHIDI, 2008).

A composição molecular dos triacilgliceróis é importante porque a biodisponibilidade depende deste fator, uma vez que apenas a composição em ácidos

graxos pode não ser suficiente para definir o valor nutricional. A posição do ácido graxo na molécula do triacilglicerol (sn-1, sn-2 e sn-3) tem um impacto significativo no metabolismo. Em geral, os ácidos graxos nas posições terminais do triacilglicerol (sn-1 e sn-3) são hidrolisados pela lipase pancreática e absorvidos enquanto o ácido graxo remanescente na posição central é usado para a síntese de um novo triacilglicerol (HAMAM & SHAHIDI, 2008; COZZOLINO, 2007; HITA, *et al.*, 2007; JENNINGS & AKOH, 2001; STRAARUP & HOY, 2001). Dessa maneira, pode ser desejável desenvolver um lipídio que contenha ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) na posição sn-2, e ácidos graxos de cadeia média (MCFA) nas posições sn-1,3 para pacientes com má-absorção de lipídios (HAMAM & SHAHIDI, 2008).

A elaboração de um lipídio estruturado pode ser realizada mediante a mistura e interesterificação com o rearranjo de triacilgliceróis de cadeias médias e longas. Esses lipídios podem ser produzidos através de processos de interesterificação química ou enzimática (NORIZZAH *et al.*, 2004; PISKA *et al.*, 2006).

Interesterificação Química

A interesterificação química tem algumas vantagens em relação à enzimática, que incluem baixo custo do catalisador, procedimentos industriais mais disponíveis e equipamentos e tempos de reação mais curtos (KLINKERSORN *et al.*, 2004). O processo envolve o rearranjo (ou randomização) dos ácidos graxos esterificados ao glicerol, na presença de um catalisador, normalmente metóxido de sódio, que em sua forma ativa, promove a separação dos ácidos graxos da cadeia inicial (HUNTER 2005). Como o processo continua, estes ácidos graxos religam-se nas posições que foram prévia e alternadamente abertas dentro do mesmo acilglicerol e nas posições vagas adjacentes. Assim, ao atingir o ponto de equilíbrio da reação química, os ácidos graxos formam uma nova cadeia de triacilgliceróis diferente da original que, é orientada segundo a aplicação que será dada à gordura produzida (PISKA *et al.*, 2006; NORIZZAH *et al.*, 2004).

O uso de catalisadores de metais alcalinos e alquilatos de metais pode reduzir a temperatura necessária para que a reação de interesterificação ocorra, além de acelerar a velocidade de reação. Os catalisadores mais usados são os alquilatos metálicos (metóxido ou etóxido de sódio), seguidos dos metais sódios, liga sódio-

potássio e dos hidróxidos de sódio ou potássio em combinação com glicerol (HUNTER *et al.*, 2005; KLINKERSORN *et al.*, 2004). A remoção do catalisador é facilmente realizada pela lavagem com água. O óleo a ser modificado deve estar seco e bem refinado (baixos índices de acidez e de peróxido), visto que a água, os ácidos graxos livres e os peróxidos atuam como veneno dos catalisadores. As concentrações de água e de ácidos graxos livres devem ser menores que 0,01% e 0,1%, respectivamente (D'AGOSTINI, 2001).

Um importante parâmetro na avaliação do produto interesterificado é a composição triacilglicéridica, determinante na caracterização de mudanças físicas e na forma cristalina do produto formulado (GRIMALDI *et al.*, 2005). Os cristais β' são relativamente pequenos e podem incorporar grandes volumes de líquido. Eles dão ao produto uma suave superfície brilhante. Por outro lado, cristais β embora inicialmente pequenos, crescem formando aglomerados na forma de agulhas com menor capacidade de incorporar líquidos, produzindo textura arenosa (GROTRA *et al.*, 2002). O processo de interesterificação afeta a tendência de cristalização β' , que é sua forma cristalina mais instável. A plasticidade da gordura é melhorada, assim como sua capacidade de incorporação do ar, característica que pode ser de grande utilidade em alguns processos produtivos (GRIMALDI *et al.*, 2005; VURAL *et al.*, 2004; ROUSSEAU & MARANGONI, 1999). O comportamento de cristalização de lipídios tem aplicações muito importantes, principalmente no processamento industrial de produtos cujas características físicas dependem em grande parte de cristais de gorduras como, chocolates, margarinas e shortenings (RODRIGUES & GIOIELLI, 2003 a).

Os métodos utilizados para comprovar a ocorrência da reação de interesterificação e identificar o ponto final são (D' Agostini, 2001): alteração na cor, ponto de fusão, conteúdo de gordura sólida e análise de composição em acilgliceróis.

- Alteração na cor: a mudança visual que ocorre é o desenvolvimento de coloração marrom que se intensifica com o progresso da reação. Normalmente a reação é processada por período de tempo fixo (0,5 a 1 h) após o aparecimento da cor escura.

- Ponto de fusão: é uma das técnicas mais rápidas e simples. Entretanto, em alguns casos, as mudanças são tão pequenas que podem estar na faixa do erro experimental.

- Conteúdo de gordura sólida: este parâmetro exprime a relação sólido-líquido da gordura a diversas temperaturas. As mudanças nos triacilgliceróis dos tipos trisaturados e disaturados-monoin saturados provocados pela interesterificação são refletidas nas curvas de sólidos antes e após a reação.

- Análise da composição em acilgliceróis: são utilizadas as técnicas de cromatografia em camada delgada, cromatografia em fase gasosa e hidrólise por lipase pancreática para comprovar as alterações que ocorrem na composição em acilgliceróis das gorduras rearranjadas.

A interesterificação química tem sido utilizada para modificar óleos e gorduras e obter produtos funcionais. Comercialmente este processo é realizado para a produção de margarinas, shortenings e outros produtos especiais. (SESSA *et al.*, 1996; ISONO *et al.*, 1995). Inúmeras pesquisas têm sido realizadas na preparação de um substituto de manteiga de cacau por interesterificação (WANG *et al.*, 2006; HUNTER, 2005; UNDURRAGA *et al.*, 2001; LIANG *et al.*, 1998; ISONO *et al.*, 1995). Entretanto, pesquisas sobre a interesterificação química de óleo de pescado para obtenção de um produto enriquecido com n-3 PUFAs são pouco encontradas (KLINKERSORN *et al.*, 2004).

Produtos e Mercados

A tendência da indústria mundial farmacêutica e de alimentos é de investir em alimentos funcionais. Os ω -3 conhecidos pelos seus efeitos benéficos, principalmente na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, têm-se destacado entre os produtos lançados no mercado (CORRÊA, 2003). Além desses fatores as propriedades físicas dos lipídios interesterificados são importantes para a elaboração de diversos produtos alimentícios e estão normalmente associadas à cristalização, forma cristalina e comportamento de fusão (HAMAM & SHAHIDI, 2008; PISKA *et al.*, 2005, NORIZZAH *et al.*, 2004).

O mercado mundial apresenta uma gama bastante ampla de suplementos alimentares (encapsulados) de ácidos graxos poliinsaturados ω -6 e ω -3 e de produtos nos quais estes ácidos são incorporados, como leites e derivados, fórmulas lácteas infantis, biscoitos, pães, ovos, massa e sucos de frutas (CARVALHO *et al.*, 2003).

Na Europa é prática comum a formulação de pães e margarinas com óleo de pescado. A incorporação de ácidos graxos ω -3, especialmente a pães, tem sido indicada como um procedimento ideal, pois o dióxido de carbono gerado durante o assar age como antioxidante, prevenindo a oxidação dos ácidos graxos ω -3, enquanto os pães estão sob altas temperaturas (SUÁREZ-MAHECHA *et al.*, 2002). Além disso, a plasticidade da gordura interesterificada é melhorada, assim como sua capacidade de incorporação do ar (GRIMALDI *et al.*, 2005; VURAL *et al.*, 2004; ROUSSEAU & MARANGONI, 1999). Os laticínios enriquecidos com ômega-3 foram os primeiros produtos a ser lançado no mercado nacional dentro do conceito de alimentos funcionais, como o leite, iogurtes e requeijão (CARVALHO *et al.*, 2003). A produção de ovos com teores elevados de DHA é possível, alimentando-se as galinhas com rações enriquecidas com este ácido, geralmente através da adição de microalgas.

Em relação à biodisponibilidade de lipídios, diversos grupos de pesquisa utilizam a interesterificação enzimática para incorporar com sucesso MCFA (ácido caprílico ou cáprico) em óleos marinhos contendo PUFA para pacientes com má-absorção de lipídios. Entre estes grupos pode-se citar: Hamam & Shahidi (2008); Hita, *et al.* (2007); Kawashima *et al.* (2001); Senanayake & Shahidi (2002a, 2002b) Akoh & Moussata (2001); Jennings & Akoh (2001) e Jennings & Akoh (1999).

Os lipídios interesterificados têm atraído recentemente muita atenção de fabricantes de alimentos para a produção de lipídios com valor calórico reduzido que são caracterizados por misturas de ácidos graxos de cadeia curta e/ou de MCFA (ácidos graxos de cadeia média) e LCFA (ácidos graxos de cadeia longa) na mesma molécula do glicerol (HAMAM & SHAHIDI, 2008; D'AGOSTINI, 2001). Esses produtos possuem energia de 5 a 7kcal/g, esta comparada com óleos e gorduras usuais (9kcal/g) é menor; isto se deve as baixas calorias que contem os SCFA ou MCFA comparado com LCFA (HAMAM & SHAHIDI, 2008).

Lipídios especiais com reduzida caloria são pretendidos para uso em produtos para coberturas, produtos de padaria, ou substituto de manteiga de cacau (HAMAM & SHAHIDI, 2008). Exemplo de produtos com reduzido valor calórico são:

- Sorbestrin (poliéster de sorbitol) – contém ácidos graxos de cadeia longa; é um óleo que apresenta estabilidade térmica sendo adequado para substituição de óleos vegetais em molhos, alimentos cozidos e fritos (HAMAM & SHAHIDI, 2008).

- Caprenina: nome comercial de gordura de baixo valor calórico (cerca de 5kcal/g) com propriedades funcionais similares às da manteiga de cacau e utilizada em doces e coberturas para nozes, frutas e biscoitos (D'AGOSTINI, 2001).

- Salatrim (nome genérico), Benefat (nome comercial da Nabisco): obtido por interesterificação de misturas de triacilgliceróis de cadeia curta e longa. É um produto de valor calórico reduzido (cerca de 5kcal/g) usado em chocolates (coberturas e recheios), lácteos, sorvetes e “snacks” (D'AGOSTINI, 2001).

5.4.4 Conclusão

A obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados, a partir de óleo de peixe é uma forma promissora de se obter produtos funcionais. A técnica mais simples e a mais eficiente para obter estes concentrados de PUFA através de ácidos graxos livres é a complexação com uréia. Estes concentrados de ácidos graxos poliinsaturados podem ser utilizados para a produção de suplementos alimentares (encapsulados) e também para elaboração lipídios estruturados, nos quais estes ácidos graxos são incorporados.

Os lipídios estruturados podem ser obtidos através da interesterificação química utilizando concentrados de ácidos graxos poliinsaturados ω -3 provenientes de óleo de peixe. Estes produtos além de serem enriquecidos com ácidos graxos poliinsaturados, benéficos a saúde, poderão apresentar melhores características nutricionais e físicas. Dessa maneira, a utilização dos lipídios interesterificados, agrega valor a estes produtos que podem ser de grande utilidade em alguns processos e serem denominados de alimentos funcionais.

5.4.5 Referências bibliográficas

Akoh, C.C. & Moussata, C. O. (2001). Characterization and oxidative stability of enzymatically produced fish and canola oil-based structured lipids. **Journal of the American Oil chemists' Society**, 78, 25-30.

Carvalho, P. O., Campos, P. R. B., Noffs, M. D., Oliveira, J. G., Shimizu, M. T. & Silva, D. M. (2003). Aplicação de lípases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. **Química Nova**, 26, 75-80.

Corrêa, A. P.A. (2003). Fracionamento **de óleo de peixe com dióxido de carbono supercrítico**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), UNICAMP, 72p.

Cozzolino, S. M. F. (2007). **Biodisponibilidade de Nutrientes**. Barueri, SP: Manole, p. 158-167.

Crexi, V.T., Grunennvaldt, F.L., Souza-soares L.A. & Pinto L.A.A. (2007). Refino de óleos de corvina (*micropogonias furnieri*) provenientes dos processos de ensilagem ácida e termomecânico de farinha. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 66 , 50-56.

Cunha, D.C., Crexi, V.T. & Pinto, L.A.A. (2007). Comparação de métodos de fracionamento de óleo de pescado via "winterização". **O&G - Alimentos e Tecnologia**, Ano XII, 87, 34 -39.

D'agostini. (2001). **Obtenção de Lipídios Estruturados por Interesterificação de Triacilgliceróis de Cadeia Média e Longas**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. São Paulo, SP, 185p.

El-badry, A.M., Graf, R. & Clavien, P.A. (2007). Omega 3- Omega 6: what is right for the liver? **Journal of hepatology**, 47, 718-725.

Gámes-Meza, N., Noriega-Rodríguez, L.A., Medina-Juárez; Ortega-García, J., Moroy-Rivera, J., Toro-Vázquez; García, H.S. & Angulo-Guerrero, O.(2003). Concentration of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid from fish oil hydrolysis and urea complexation. **Food Research International**, 36, 721-727.

Gonçalves, A. A. & Souza-Soares, L.A. (1988). Lipídios em Peixes. **Vetor**, 8, 35-53.

Grimaldi, R., Gonçalves, L. A. G. & Ando, M. Y. (2005). Otimização da reação de interesterificação química do óleo de palma. **Química Nova**, 28, 4, 633-635.

Grotra, B. S., Dyal, S.D. & Narine, S.S. (2002). Lipid shortenings: a review. **Food Research International**. 35, 1015-1048.

Hamam, F. & Shahidi, F. (2008). Incorporation of selected long-chain fatty acids into trilinolein and trilinolenin. **Food chemistry**, 106, 33-39.

Hita, E., Robles, A., Camacho, B., Ramírez, A., Esteban, L., Jiménez, M.J., Muñoz, M.M. & Gonzáles, P.A., Molina, E. (2007). Production of structured triacylglycerols (STAG) rich in docosahexaenoic acid (DHA) in position 2 by acidolysis of tuna oil catalysed by lipases. **Process Biochemistry**. 42, 415-422.

Hunter, J. E. (2005). Dietary levels of trans-fatty acids: basis for health concerns and industry to limit use. **Nutrition Research**, 25, 499-513.

Isono, Y., Nabetani, H. & Nakajima, M. (1995). Lipase-Surfactant complex as catalyst of interesterification and esterification in organic media. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, 80, 170-175.

Jennings, B. H. & Akoh, C. C. (1999). Enzymatic modification of triacylglycerols of high eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids content to produce structured lipids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 76, 1133-1137.

Jennings, B. H. & Akoh, C. C. (2001). Lipase catalyzed modification of fish oil to incorporate capric acid. **Food Chemistry**, 72, 273-278.

Kawashima, A., Shimada, Y., Yamamoto, M., Sugihara, A., Nagao, T. & Komemushi, S. (2001). Enzymatic synthesis of high-purity structured lipids with caprylic acid at 1,3-positions and polyunsaturated fatty acid at 2-position. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 78, 611-616.

Klinkersorn,U., H-kittikun. A., Chinachoti, P. & Sophanodora, P. (2004). Chemical transesterification of tuna oil to enriched omega-3 polyunsaturadet fatty acids. **Food Chemistry**, 87, 415-421.

Liang, M.T., Chen, C. H. & Liang, R.C. (1988). The interesterification of edible palm oil by stearic acid in supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, 13, 211-216.

Lin, T.J., Chen S.W. & Chang, A.C. (2006). Enrichment of n-3 PUFA contents on triglycerides of fish oil by lipase-catalyzed trans-esterification under supercritical conditions. **Biochemical engineering Journal**. 29, 27-34.

Liu, S., Zhang, C., Hong, P. & JI, H. (2006). Concentration of docosahexaenoic acid (DHA) of tuna oil by urea complexation: optimization of process parameters. **Journal of Food Engineering**, 73, 203-209.

Mesa, M. D., Buckley, R., Minihane A. M. & Yaqoob, P. (2004). Effects of Oil rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on the oxidizability and thrombogenicity os low-density lipoprotein. **Atherosclerosis**. 175, 333-343.

Morais, M.M., Souza-Soares & L.A., Pinto, L. A. A. (2000). Obtenção e Purificação de Óleo de Pescado: Uma Breve Revisão. **Vetor**. 10, 81-92.

Navarro-García, G., Pachego-Aguillar, R., Alvarado-Bringas, L. & García-Ortega, J.(2004). Characterization of the lipid composition and natural antioxidants in the liver oil of *Dasyatis brevis* and *Gymnura marmorata* rays. **Food Chemistry**, 87, 89-96.

Norizzah, A. R., Chong, C. L., Cheow, C. S. & Zaliha, O. (2004). Effects of chemical interesterification on physicochemical properties of palm stearin and palm kernel olein blends. **Food Chemistry**, 86, 229-235.

Padilha, M. E.S. & Augusto-Ruiz, W. (2007). Hidrólise enzimática do óleo de pescado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 27, 285 -290.

Piska, I., Zárubová M., Louzecký, T., Karami, H. & Filip, V. (2006). Properties and crystallization of fat blends. **Journal of Food Engineering**, 77, 433-438.

Rodrigues, J.N. & Gioielli, L.A.(2003^a). Cristalização de lipídios estruturados obtidos a partir de gordura o leite e óleo de milho. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 39,1, 93-103.

Rodrigues, J.N. & Gioielli, L.A. (2003^b). Propriedades físicas de lipídios estruturados obtidos de misturas de gordura do leite e óleo de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 23, 226-233.

Roynett, C. E., Calder, P. C., Dupertuis, Y. M. & Pichard, C. (2004). n-3 Polyunsaturated fatty acids colon cancer prevention. **Clinical Nutrition**. 23, 139 - 150.

Rousseau, D. & Marangoni, A. (1999). The effects of interesterification on physical and sensory attributes of butterfat and butterfat-canola oil spreads. **Food Research International**, 31, 381-388.

Senanayake, S. P. J. N. & Shahidi, F. (2002^a). Enzyme-assisted acidolysis of borage (*Borage officinalis* L.) and evening primrose (*Oenothera biennis* L.) oils: Incorporation of omega-3 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47, 3105-3112.

Senanayake, S. P. J. N. & Shahidi, F. (2002^b). Chemical and stability of structured lipids from borage (*Borage officinalis* L.) and evening primrose (*Oenothera biennis* L.) oils. **Journal of Food Science**, 67, 2038–2045.

Sessa, D. J., Neff, W. E., List, G. R. & Zeitoun, M. A. M. (1996). Melting and crystalline properties of enzyme catalysed interesterified vegetable oil-soapstock fatty acid blends. **Lebensm. Wiss. U. Technol.**, 29, 581-585.

Shahidi, F. & Wanasundara U.N. (1998). Omega-3 fatty acid concentrates: nutritional aspects and production technologies. **Trends in Food science & Technology**, 9, 230-240.

Sidhu, K. S. (2003). Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 38, 336-344.

Straarup, E. M. & Hoy, C. E. (2001). Lymphatic transport of fat in rats with normal- and malabsorption following intake of fats made from fish oil and decanoic acid. Effects of triacylglycerol structure. **Nutrition Research**, 21, 1001-1013.

Suárez-Mahecha, H., Francisco, A., Beirão, L.H., Block, J.M., Saccol, A. & Pardo-Carrasco, S. (2002). Importância de ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes de cultivo e de ambiente natural para a nutrição humana. **Boletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, 28, 101-110.

Undurraga, D. & Markovits, A., Erazo, S. (2001). Cocoa butter equivalent through enzymic interesterification of palm oil midfraction. **Process Biochemistry**, 36, 933-939.

Vural, H., Javidipour, I. & Sobas, O. O. (2004). Effects of interesterified vegetable oils and sugarbeet fiber on the quality of frankfurters. **Meat Science**, 67, 65-72.

Wanasundara, U.N. & Shahidi, F. (1999). Concentration of omega 3-polyunsaturated fatty acids of seal blubber oil by urea complexation: optimization of reaction conditions. **Food Chemistry**, 65, 41-49.

Wang, H. X., Wu, H., Ho, C. T. & Weng, X. C. (2006). Cocoa butter equivalent from enzymatic interesterification of tea seed oil and fatty acid methyl esters. **Food Chemistry**, v97, 661-665.

6 CONCLUSÃO

No estudo dos óleos de rejeitos (vísceras e cabeças) de carpa comum (*Cyprinus carpio*) obtidos através dos processos de farinha de pescado e de ensilagem, obteve-se uma recuperação de 83-85% de óleo. Os óleos brutos de rejeitos de carpa apresentaram conteúdo total de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados em torno de 67%. Apresentado qualidade para serem usados em dietas de peixes; porém estes óleos requerem refino para gerar um produto aceitável para consumo humano.

O refino dos óleos obtidos a partir de vísceras de carpa, através dos processos de farinha de pescado e ensilagem, reduziu o conteúdo de Σ AGS e aumentou conteúdo de Σ AGPs. Os conteúdos de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados (AGM + AGPs) nos óleos provenientes dos processos de farinha e de ensilagem foram de aproximadamente 69,6%. Baseado nos resultados obtidos neste trabalho, o óleo refinado de vísceras de carpa pode ser considerado uma rica fonte de ácidos graxos essenciais da série ω 3 e ω 6.

No estudo da reação de alcólise química e posterior complexação com uréia, verificou-se que a utilização de maior quantidade de álcool (relação 1:39 óleo:etanol) proporcionou maior rendimento (89%) em ácidos graxos livres. Na fração não complexada com uréia obteve-se um aumento percentual de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados de 31,9%, redução de saturados de 75%, e aumento do conteúdo de EPA+DHA de 85,3%. A fração não complexada com uréia (líquida) pode ser considerada uma rica fonte de ácidos graxos poliinsaturados e insaturados com um total de 88,9% desses ácidos graxos.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Após o término deste trabalho são feitas algumas sugestões para a continuidade desta pesquisa:

- (i) Otimizar o estudo da reação de alcoólise química do óleo de cabeças de carpa (*cyprinus carpio*);
- (ii) Otimizar a reação de complexação com uréia para obtenção dos concentrados de ácidos graxos poliinsaturados;
- (iii) Estudar a reação de interesterificação química dos concentrados de ácidos graxos poliinsaturados ω -3 provenientes de óleo de pescado na obtenção dos lipídios estruturados.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abimorad, E. G., Strada, W. L., Schalch, S. H. C., Garcia, F., Castellani, D. & Manzatto, M. R. (2009). Silagem de peixe em ração artesanal para tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 44, 519-525.

Akoh, C.C. & Moussata, C. O. (2001). Characterization and oxidative stability of enzymatically produced fish and canola oil-based structured lipids. **Journal of the American Oil chemists' Society**, 78, 25-30.

Ahmed, S. U., Reddy, K. K. Swathy, S. L., Singh, S. K., Kanjilal, S., Prasad, R. B. N. & Pandey, A. (2009). Enrichment of γ -linolenic acid in the lipid extracted from *Mucor zychnae* MTCC 5420. **Food Research International**, 42, 449-453.

Aidos, I., Schelvus-Smit, R., Veldnan, M. B., Luten, J., Padt, A. V. D., & Boom, R. M. (2003). Chemical and sensory evaluation of crude oil extracted from Herring by products from different processing operations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 1897–1903.

American Oil Chemists' Society (AOCS) (1980). **Official and Tentative Methods of American Oil Chemists' Society**, 3rd edn. Champaign, IL,USA: AOCS.

American Oil Chemists Society (AOCS) (1997). **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**.

Andrade, A.D., Rubira, A.F., Matsushita, M. & Souza, N.E. (1995). Omega-3 fatty acids in freshwater from South Brazil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 72, 1207–1210.

Antoniassi, R., Esteves, W., & Meirelles, J. A. (1998). Pretreatment of corn oil for physical refining. **Journal of the American Oil Chemists Society**, 75(10),1411–1415.

Arts, M.T., Ackman, R.G. & Holub, B.J. (2001). 'Essential fatty acids' in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 58, 122–137.

Arvanitoyannis, I.S. & Kassaveti, A. (2008). Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses. **International Journal of Food Science & Technology**, 43, 726–745.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1995). **Official Methods of Analysis**, 16th edn. Arlington, VA: AOAC.

Austreng, E. & Gjerfsen, T. (1981). Fish oils with different contents of free fatty acids in diets for rainbow trout fingerlings and salmon parr. **Aquaculture**, 25, 173–183.

Azbar, N. & Yonar, T. Comparative evaluation of laboratory and full-scale treatment alternatives for the vegetable oil refining industry wastewater (2004). **Process Biochemistry**, 39, 869-875.

Baldisserotto, B.(2009) Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectiva para o futuro. **Ciência Rural**, 291-299.

Berdeaux, O., Fournier, V., Lambelet, P., Dionisi, F., Sebedio, J. L., & Destailats, F. (2007). Isolation and structural analysis of the cyclic fatty acid monomers formed from eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids during fish oil deodorization. **Journal of Chromatography A**, 1138, 216–224.

Bernardini, E. (1986). **Tecnología de aceites y grasas**. Pp. 234–261. Madrid, Spain: Alhambra S.A.

Bieniarz, K., Koldras, M., Kaminski, J. & Mejza, T. (2000). Fatty acids and cholesterol in some freshwater fish species in Poland. **Folia Universitas Agriculture Stetinensis**, 27, 21–44.

Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, 27, 911–917.

Bondiolo, P. (2004). The preparation of fatty acid esters by means of catalytic reactions. **Topics in Catalysis**, 27, 45 - 53.

Boran, G., Karacam, H. & Boran, M. (2006). Changes in the quality of fish oils due to storage temperature and time. **Food Chemistry**, 98, 693–698.

Borlongan, I.G. & Benitez, L.V. (1992). Lipids and fatty acid composition of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) grown in freshwater and seawater. **Aquaculture**, 104, 79–89.

Brody, J. **Fisheries by-products technology**. (1965). The Avi Publishing, 18.

Box, G.E.P., Hunter, W.G. & Hunter, J.S. (1978). **Statistics for Experiments: An Introduction to Design, Data Analysis and Model Building**. New York: John Wiley & Sons.

Carelli, A. A., Ceci, L.N. & Crapiste, G. H. (2002). Phosphorus-to-phospholipid conversion factors for crude and degummed sunflower oils. **Journal the American Oil Chemistry Society**. 79, 1177-1180.

Carneiro, R.L., Silva, J. A. M., Albinati, R. C. V. B., Socorro, E. P. & Neves, A. P. Uso do microcrustáceo branchoneta (*Dendrocephalus brasiliensis*) na ração para tucunaré. **Rev. Brás. Saúde Prod. An.** 1, 8-24, 2004.

Castagnolli, N. **Piscicultura de água doce**. Jaboticabal: Funep, 1992.

Carvalho, P. O., Campos, P. R. B., Noffs, M. D., Oliveira, J. G., Shimizu, M. T. & Silva, D. M. (2003). Aplicação de lípases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. **Química Nova**, 26, 1, 75-80.

Ceriane, R. & Meirelles, J. A. (2007). Formation of trans PUFA during deodorization of canola oil: A study through computational simulation. **Chemical Engineering and Processing**, 46, 375–385.

Chakraborty, K., Vijayagopal, P., Chakraborty, R. D. & Vijayan, K. K. (2009). Preparation of eicosapentaenoic acid concentrates from sardine oil by *Bacillus circulans* lipase. **Food Chemistry**, 120, 433-442.

Chantachum, S., Benjakul, S. & Sriwirat, N. (2000). Separation and quality of fish oil precooked and non-precooked tuna heads. **Food Chemistry**, 69, 2089–2294.

Crexi, V.T., Grunennvaldt, F.L., Souza-soares L.A. & Pinto L.A.A. (2007). Refino de óleos de corvina (micropogonias furnieri) provenientes dos processos de ensilagem ácida e termomecânico de farinha. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 66, 50-56.

Crexi, V. T., Souza-Soarez, L. A., Pinto & L. A. A. (2009). Carp (*Cyprinus carpio*) oils obtained by fishmeal and ensilage processes: characteristics and lipid profiles. **International Journal of Food Science & Technology**, 44, 1642 – 1648.

Crexi V.T., Monte, M. L., Souza-Soares, L. A. & Pinto, L.A.A. (2010). Production and refinement of oil from carp (*Cyprinus carpio*) viscera. **Food Chemistry**, 119, 945-950.

Corrêa, A. P.A. (2003). **Fracionamento de óleo de peixe com dióxido de carbono supercrítico**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), UNICAMP, 72p.

Cozzolino, S. M. F. (2007). **Biodisponibilidade de Nutrientes**. Barueri, SP: Manole, p. 158-167.

Cunha, D.C., Crexi, V.T. & Pinto, L.A.A. (2007). Comparação de métodos de fracionamento de óleo de pescado via “winterização”. **O&G - Alimentos e Tecnologia**, Ano XII, 87. 34 -39.

Cunha, D. C., Crexi, V.T. & Pinto, L.A.A. (2009). “Winterização” de óleo de pescado via solvente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 29, 207 – 213.

D’agostini. (2001). **Obtenção de Lipídios Estruturados por Interesterificação de Triacilgliceróis de Cadeia Média e Longas**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. São Paulo, SP, 185p.

De arruda, L.F.; Borghesi, R. & Oetterer, M. (2007). Use of fish waste as silage - a review. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 50, 879-886.

De Silva, S.S., Gunasekera, R.M. & Austin, C.M. (1997). Changes in fatty acid profile of hybrid red tilapia *Oreochromis mossambicus* X *O. niloticus*, subjected to short-term starvation and comparison with changes in seawater raised fish. **Aquaculture**, 153, 273–290.

Druzian, J.I., Marchesi, C.M. & Scamparini, A.R.P. (2007). Fatty acid profile and proximate composition of carp (*Cyprinus carpio*) feed artificial food and pig manure. **Ciência Rural**, 37, 539–544.

Echevengua, M. M.; Figueiredo, M. R. C. & Abdallah, P. R. (2007). Avaliação Econômica de um Policultivo de Carpas Chinesas por Pequenos Produtores Rurais e Pescadores Artesanais de Rio Grande e São José do Norte-RS. **Sinergia**. 11, 9-16.

El-badry, A.M., Graf, R. & Clavien, P.A. (2007). Omega 3- Omega 6: what is right for the liver? **Journal of hepatology**, 47, 718-725.

Ferrari, R. A., Oliveira, V. S. & Sacabio, A., Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, 28, 19 -23.

Fournier, V., Destailats, F., Hug, B., Golay, P. A., Joffre, F. & Juaneda, P. (2007). Quantification of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid geometrical isomers formed during fish oil deodorization by gas–liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, 1154, 353–359.

Ganga, A., Nieto, S., Sanhuez, J., Romo, C., Speisky, H. & Valenauela, A. (1998). Concentration and stabilization of n-3 polyunsaturated fatty acids sardine oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 75, 733–736.

Gámes-Meza, N.; Noriega-Rodríguez, L.A.; Medina-Juárez; Ortega-García, J; Moroy-Rivera, J.; Toro-Vázquez; García, H.S. & Angulo-Guerrero, O.(2003). Concentration of

eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid from fish oil hydrolysis and urea complexation. **Food Research International**, 36, 721-727, 2003.

Geris, R., Santos, N. A. C., Amaral, B. A., Maia, I. S., Castro, V. D. & Carvalho, J. R.M. (2007). Biodiesel de soja – Reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica. **Química Nova**, 5, 1369 -1373.

Geron, L.J.V., Zeoula, L.M. & Vidotti, R.M (2007). Chemical characterization, dry matter and crude protein ruminal degradability in vitro intestinal digestion of acid and fermented silage from tilapia filleting residue. **Animal Feed Science and Technology**, 136, 226–239.

Gonçalves, A. A., Souza-Soares, L.A. (1988). Lipídios em Peixes. **Vetor**, 8, 35-53.

Grimaldi, R., Gonçalves, L. A. G. & Ando, M. Y. (2005). Otimização da reação de interesterificação química do óleo de palma. **Química Nova**, 28, 4, 633-635.

Grotra, B. S., Dyal, S.D. & Narine, S.S. (2002). Lipid shortenings: a review. **Food Research International**. 35, 1015-1048.

Guler, G.O., Kiztanir, B., Aktumsek, A., Citil, O.B. & Ozparlak, H. (2008). Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and ω_3/ω_6 ratios of carp (*Cyprinus carpio L.*) muscle lipids in Beysehir Lake (Turkey). **Food Chemistry**, 108,689–694.

Guil-Guerrero, J. L., López-Martínez, J. C., Rincón-Cervera, M. A. & Campra-Madrid, P. (2007). One-Step Extraction and Concentration of Polyunsaturated Fatty Acids from Fish Liver. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. 84, 357-361.

Guilherme, R. F., Cavalheiro, J. M. O. & Souza, P. A. A. (2007). Caracterização química e perfil aminoácídico da farinha de silagem de cabeça de camarão. **Ciência e Agrotecnologia**, 31, 793-797.

Hafidi, A., Pioch, P. & Ajana, H. (2005). Membrane-based simultaneous degumming and deacidification of vegetable oils. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 6, 203–212.

Hamam, F. & Shahidi, F. (2008). Incorporation of selected long-chain fatty acids into trilinolein and trilinolenin. **Food chemistry**, 106, 33-39.

Hamilton, R. J., Kalu, C., McNeill, G. P., Padley, F. B. & Pierce, J. H. (1988). Effects of tocopherols, ascorbyl palmitate and lecithin on autoxidation of fish oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 75, 813–821.

Henderson, R. J., & Tocher, D. R. (1987). The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. **Progress in Lipid Research**, 26(4), 281–347.

Hidalgo, A., Brandolini, A., Pompei, C. & Piscozzi, R. (2006). Carotenoids and tocopherols of einkorn wheat (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum* L.). **Journal of Cereal Science**, 44, 182–193.

Hita, E., Robles, A., Camacho, B., Ramírez, A., Esteban, L., Jiménez, M.J., Muñoz, M.M. & González, P.A., Molina, E. (2007). Production of structured triacylglycerols (STAG) rich in docosahexaenoic acid (DHA) in position 2 by acidolysis of tuna oil catalysed by lipases. **Process Biochemistry**. 42, 415-422.

Hunter, J. E. (2005). Dietary levels of trans-fatty acids: basis for health concerns and industry to limit use. **Nutrition Research**, 25, 499-513.

IBAMA (2008). Estatística da Pesca 2006. Brasil - Grandes regiões e unidades de federação. Brasília. 147p.

Immanuel, G., Sathasivan, S., Skankar, S., Peter, P. M. J. & Palavesam, A. (2009). Processing and characterization of low cost Balistid fish *Suffamen capistratus* liver oil for purpose. **Food Chemistry**, 115, 430–435.

Inhamuns, 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.

Isono, Y., Nabetani, H. & Nakajima, M. (1995). Lipase-Surfactant complex as catalyst of interesterification and esterification in organic media. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, 80, 170-175.

Jennings, B. H. & Akoh, C. C. (1999). Enzymatic modification of triacylglycerols of high eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids content to produce structured lipids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 76, 1133-1137.

Jennings, B. H. & Akoh, C. C. (2001). Lipase catalyzed modification of fish oil to incorporate capric acid. **Food Chemistry**, 72, 273-278.

Jhingran, V. & Pullin, R. (1998). A hatchery manual for the common, Chinese and Indian major carps. Asian Development Bank, Manilla.

Kawashima, A., Shimada, Y., Yamamoto, M., Sugihara, A., Nagao, T. & Komemushi, S. (2001). Enzymatic synthesis of high-purity structured lipids with caprylic acid at 1,3-positions and polyunsaturated fatty acid at 2-position. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 78, 611-616.

Klinkersorn, U., H-kittikun, A., Chinachoti, P. & Sophanodora, P. (2004). Chemical transesterification of tuna oil to enriched omega-3 polyunsaturated fatty acids. **Food Chemistry**, 87, 415-421.

Kolakowska, A., Szczygielski, M., Bienkiewicz, G. & Zienkiewicz, L. (2000). Some of fish species as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids. **Acta Ichthyologica Piscatoria**, 30, 59-70.

Kolodziejska, I; Skierka, E; Sadowska, M; Kolodziejski, W & Niecikowska, C.(2008) Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. **Food Chemistry**. 107, 700-706.

Leung, D. Y. C. & Guo, Y. (2006). Transesterification of neat and used frying oil: optimization for biodiesel production. **Fuel Processing Technology**, 87, 883-888.

Liang, M.T., Chen, C. H. & Liang, R.C. (1988). The interesterification of edible palm oil by stearic acid in supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, 13, 211-216.

Lin, T.J., Chen S.W & Chang, A.C. (2006). Enrichment of n-3 PUFA contents on triglycerides of fish oil by lipase-catalyzed trans-esterification under supercritical conditions. **Biochemical engineering Journal**. 29, 27-34.

Liu, S.; Zhang, C.; Hong, P. & Ji, H. (2006). Concentration of docosahexaenoic acid (DHA) of tuna oil by urea complexation: optimization of process parameters. **Journal of Food Engineering**, 73, 203-209.

Luterotti, S., Franko, M. & Bicanic, D. (1999). Ultrasensitive determination of carotene in fish oil-based supplementary drugs by HPLC-TLS. **Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis**, 21, 901–909.

Manral, M., Pandey, M.C., Jayathilakan, K., Radhakrishna, K. & Bawa, A.S. (2008). Effect of fish (*Catla catla*) fring on the quality characteristics of sunflower oil. **Food Chemistry**, 106, 634–639.

Meher, L. C., Sagar, D. V. & Naik, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review. (2006). **Renewable and sustainable energy Reviews**, 10, 248-268.

Melo, A. R. & Stipp, N. A. F. A. (2001). Piscicultura em Cativoiro como Alternativa Econômica para as Áreas Rurais. **Geografia**. 2, 175-19.

Mesa, M. D., Buckley, R., Minihane A. M. & Yaqoob, P. (2004). Effects of Oil rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on the oxidizability and thrombogenicity os low-density lipoprotein. **Atherosclerosis**. 175, 333-343.

Metcalf, L.D.A.A. & Schimitz, J.R. (1966). Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, 38, 510.

Miller, M.R., Nichols, P.D. & Cater, C.G. (2007). Replacement of fish oil with thraustochytrid *Schizochytrium* sp. L oil in Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L) diets. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 148, 382–392.

Morais, M.M., Souza-Soares & L.A., Pinto, L. A. A. (2000). Obtenção e Purificação de Óleo de Pescado: Uma Breve Revisão. **Vetor**. 10, 81-92.

Morais, M. M., Ortiz, S. C. A., Crexi, V. T., Silva, R. L., Silva, J. D. & Pinto, L. A. A. (2001). Estudo do process de refino do óleo de pescado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 1, 23-33.

Moreira, H. L. M.; Vargas, L. & Ribeiro, R. P.; Zimmermann, S.(2001). **Fundamentos da moderna aquicultura**. Canoas: Editora ULBRA.

Moura, J.M. L. N., Gonçalves, L. A. G., Grimaldi, R., Soares, M.S. & Ribeiro A. P.B. (2006) Otimização das condições de produção de ésteres etílicos a partir de óleo de peixe com elevado teor de ácidos graxos ω -3. **Química Nova**, 5, 956-953.

Navarro-García, G., Pachego-Aguillar, R., Alvarado-Bringas, L. & García-Ortega, J.(2004). Characterization of the lipid composition and natural antioxidants in the liver oil of *Dasyatis brevis* and *Gymnura marmorata* rays. **Food Chemistry**, 87, 89-96.

Nunes, J. A. R. (2001). **Aproveitamento de rejeitos da industrialização de pescado marinho a partir de silagem ácida**. Dissertação de mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, FURG, Rio Grande, 114p.

Norizzah, A. R., Chong, C. L., Cheow, C. S. & Zaliha, O. (2004). Effects of chemical interesterification on physicochemical properties of palm stearin and palm kernel olein blends. **Food Chemistry**, 86, 229-235.

Padilha, M. E.S. & Augusto-Ruiz, W. (2007). Hidrólise enzimática do óleo de pescado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 27, 285-290.

Padilha, M. E. S. (2002). **Obtenção de Concentrado de Ácidos Graxos Provenientes do Óleo de Pescado**. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, FURG, Rio Grande, 117p.

Peng, S., Chen, L. & Qin, J.G. (2008). Effects of replacement of dietary fish oil by soybean oil on growth performance and liver biochemical composition in juvenile black seabream, *Acanthopagrus schlegeli*. **Aquaculture**, 276, 154–161.

Pilarski, F., Júnior, O. T., Casaca, J. M., Garcia, M. F. R., Tomazelli, I, B. & Santos, I. R. (2004). Consórcio Suíno-Peixe: Aspectos Ambientais e Qualidade do Pescado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2, 267-276.

Piska, I., Zárubová M., Louzecký, T., Karami, H. & Filip, V. (2006). Properties and crystallization of fat blends. **Journal of Food Engineering**, 77, 433-438.

Rangacharyulu, P. V., Giri, S. S., Paul, B. N., Yashoda, K. P. & Rao, R.J., Mahendrakar, N. S., Mohanty, S. N. (2003) Utilization of fermented silkworm pupae silage in feed for carps. **Bioresource Technology**. 86, 29-32.

Rasoarahoma, J.R., Barnathan, G., Bianchini, J.P. & Gaydou, E.M. (2004). Annual evolution of fatty acid profile from muscle lipids of the common carp (*Cyprinus carpio*) in Madagascar inland waters. **Journal Agriculture Food Chemistry**, 52, 7339–7344.

Reece, P. (1980). Control and reduction of free fatty acid concentration in oil recovered 449 from fish silage prepared from sprat. **Journal Science Food Agriculture**, 31, 147–155.

Reece, P. (1981). Recovery of high quality oil from mackerel and sprat by silage process. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 32, 531–538.

Rodrigues, J.N. & Gioielli, L.A.(2003^a). Cristalização de lipídios estruturados obtidos a partir de gordura o leite e óleo de milho. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 39,1, 93-103.

Rodrigues, J.N. & Gioielli, L.A. (2003^b). Propriedades físicas de lipídios estruturados obtidos de misturas de gordura do leite e óleo de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 23, 226-233.

Roynett, C. E., Calder, P. C., Dupertuis, Y. M. & Pichard, C. (2004). n-3 Polyunsaturated fatty acids colon cancer prevention. **Clinical Nutrition**, 23, 139 - 150.

Rossi, M., Gianazza, M., Alamprese, C. & Stanga, F. (2003). The role of bleaching clays and synthetic silica in palm oil physical refining. **Food Chemistry**, 82, 291-293.

Rousseau, D. & Marangoni, A. (1999). The effects of interesterification on physical and sensory attributes of butterfat and butterfat-canola oil spreads. **Food Research International**, 31, 381-388.

Sabah, E., Cinar, M. & Çelik, M. S. (2007). Decolorization of vegetable oils: Adsorption mechanism of β -carotene on acid-activated sepiolite. **Food Chemistry**, 100, 1661-1668.

Sathivel, S., Prinyawiwatkul, W., King, J. M., Grimm, C. C., & Lloyd, S. (2003). Oil production from catfish viscera. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 80, 277-382.

Scherer, R., Daniel, A. P., Augusti, P. R., Lazzari, R., Lima, R. L., Fries, L. L. M. & Neto, J. R., Emanuelli, T. (2004). Efeito do gelo clorado sobre parâmetros químicos e microbiológicos da carne de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 4, 680-684.

Sequeira-Munoz, A., Chevalier, D., LeBail, A., Ramaswamy, H.S. & Simpson, B.K. (2006). Physicochemical changes induced in carp (*Cyprinus carpio*) fillets by high pressure processing at low temperature. **Innovative Food Science Emerging Technologies**, 7, 13-18.

Senanayake, S. P. J. N. & Shahidi, F. (2002^a). Enzyme-assisted acidolysis of borage (*Borage officinalis* L.) and evening primrose (*Oenothera biennis* L.) oils: Incorporation of omega-3 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47, 3105-3112.

Senanayake, S. P. J. N. & Shahidi, F. (2002^b). Chemical and stability of structured lipids from borage (*Borage officinalis* L.) and evening primrose (*Oenothera biennis* L.) oils. **Journal of Food Science**, 67, 2038–2045.

Sessa, D. J., Neff, W. E., List, G. R. & Zeitoun, M. A. M. (1996). Melting and crystalline properties of enzyme catalysed interesterified vegetable oil-soapstock fatty acid blends. **Lebensm. Wiss. U. Technol.**, 29, 581-585.

Shahidi, F. & Wanasundara, N. U. (1998). Omega-3 concentrates: Nutritional aspects and production technologies. **Trends in Foods Science & Technology**, 9, 230–240.

Sidhu, K. S. (2003). Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**. 38, 336-344.

Souza, M. L. R., Godoy, L. C., Kozuki, H. T., Casaca, J. M., Dourado, M. D. & Jacinto, M. A. (2006). Histologia da pele da carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) e testes de resistência do couro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 4, 1265-1272.

Stickney, R.R. & Andrews, J.W. (1972). Effects of dietary lipids on growth, food conversion, lipid and fatty acid composition of channel catfish. **Journal of Nutrition**, 102, 249–258.

Suarez, P. A., Meneghetti, S. M. P. & Meneghetti, M. R. (2007). Transformação de Triglicérides em combustíveis, materiais poliméricos e insumos químicos: Algumas aplicações da catálise na oleoquímica. **Química Nova**, 3, 677 – 676.

Suárez-Mahecha, H., Francisco, A., Beirão, L.H., Block, J.M., Saccol, A. & Pardo-Carrasco, S. (2002). Importância de ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes de cultivo e de ambiente natural para a nutrição humana. **Boletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 28, nº 1, p. 101-110.

Straarup, E. M. & Hoy, C. E. (2001). Lymphatic transport of fat in rats with normal- and malabsorption following intake of fats made from fish oil and decanoic acid. Effects of triacylglycerol structure. **Nutrition Research**, 21, 1001-1013.

Undurraga, D. & Markovits, A., Erazo, S. (2001). Cocoa butter equivalent through enzymic interesterification of palm oil midfraction. **Process Biochemistry**, 36, 933-939.

Vandeputte, M., Kocour, M., Mauger, S., Rodina, M., Launay, A. & Gela, D. (2008). Genetic variation for growth at one and two summers of age in the common carp (*Cyprinus carpio* L.): Heritability estimates and response to selection. **Aquaculture**, 277, 7–13.

Vicente G., Martínez, M. & Aracil, J. (2004). Integrated biodiesel production: a comparison of different homogeneous catalysis systems. **Bioresource Technology**. 92, 297-305.

Vidotti, R. M., Viegas, E. M. M. & Carneiro, D. J.(2003). Amino acid composition of processed fish silage using differed raw materials. **Animal Feed Science and Technology**. 105, 199-204.

Viola, S. & Amidan, G. (1978). The effects of different dietary oil supplements on the composition of carp's body fat. **Bamidgeh**, 30,104–109.

Vyncke, W. (1970). Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette-Seifen Anstrichmittel**, 12, 1084–1087.

Vural, H., Javidipour, I. & Sobas, O. O. (2004). Effects of interesterified vegetable oils and sugarbeet fiber on the quality of frankfurters. **Meat Science**, 67, 65-72.

Wanasundara, U.N. & Shahidi, F.(1999). Concentration of omega 3-polyunsaturated fatty acids of seal blubber oil by urea complexation: optimization of reaction conditions. **Food Chemistry**. 65, 41-49.

Wang, H. X., Wu, H., Ho, C. T. & Weng, X. C. (2006). Cocoa butter equivalent from enzymatic intereterification of tea seed oil and fatty acid methyl esters. **Food Chemistry**, v97, 661-665.

Windsor, M. & Barlow, S. (1984). **Introduction to the Fishing Products**. Pp. 99–109, Zaragoza, Spain: Acribia Publishing House.

Zhong, Y., Madhujith, T., Mahfouz, N. & Shahidi, F. (2007). Compositional characteristics of muscle and visceral oil from steelhead trout and their oxidative stability. **Food Chemistry**, 104, 602–608.

Zhou, S., Paulson, A.T. & Ackman, R.G. (1995). Release of free fatty acids from lipids during ensilation of herring mince: the possible role of ethoxyquin. **Journal Food Lipids**, 3, 121–134.

9 APÊNDICES

ARTIGO 1 CARP (*Cyprinus carpio*) OILS OBTAINED BY FISHMEAL AND ENSILAGE PROCESSES: CHARACTERISTICS AND LIPID PROFILES

Artigo publicado na revista International Journal of Food Science and Technology, 44, p. 1642-1648, 2009.

ARTIGO 2 PRODUCTION AND REFINEMENT OF OIL FROM CARP (*Cyprinus carpio*) VISCERAS

Artigo publicado na revista Food Chemistry 119, p. 945-950, 2010.

ARTIGO 4 CONCENTRADOS DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS A PARTIR DE ÓLEO DE PESCADO PARA ELABORAÇÃO DE LIPÍDIOS ESTRUTURADOS

Artigo publicado na revista na Revista O & G Alimentos e Tecnologia, n. 89, p. 26-34, 2008.

10 ANEXOS

10.1 Artigos em periódicos sobre o tema