



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

OBTENÇÃO DE LIPÍDIOS ESTRUTURADOS A PARTIR DE GORDURA ANIMAL E
ÓLEO DE PESCADO

JÊNIFER INÊS ENGELMANN
Engenheira de Alimentos

PROF DR LUIZ ANTONIO DE ALMEIDA PINTO
Orientador

PROF^a DR^a VALÉRIA TERRA CREXI
Orientadora

Rio Grande
2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

OBTENÇÃO DE LIPÍDIOS ESTRUTURADOS A PARTIR DE GORDURA ANIMAL E
ÓLEO DE PESCADO

JÊNIFER INÊS ENGELMANN
Engenheira de Alimentos

Dissertação apresentada como
parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em
Engenharia e Ciência de
Alimentos.

PROF DR LUIZ ANTONIO DE ALMEIDA PINTO
Orientador

PROF^a DR^a VALÉRIA TERRA CREXI
Orientadora

Rio Grande
2017

Dedico este trabalho aos meus pais Elton e Ilse Engelmann por todo o esforço e apoio para que eu pudesse chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Jesus

... obrigada por você existir, por estar comigo sempre e por sempre ter sido meu braço forte;

Aos meus pais

...por todo o apoio, amor e carinho dados durante todos estes anos, sem os quais eu nunca teria chegado onde cheguei. Sei que, muitas vezes, vocês deixaram de adquirir coisas pra vocês para poderem me manter em Bagé e agora aqui em Rio Grande! Sou grata a Deus por poder chamar vocês de pais! Fica aqui então, o meu mais sincero agradecimento, respeito, amor e admiração. Amo vocês!

Agradeço ao meu orientador e grande mestre Prof. Dr. Luiz Antonio de Almeida Pinto

....por ter me acolhido tão bem quando cheguei a FURG e por ter acreditado no meu potencial! Agradeço por todos os ensinamentos e conselhos compartilhados durante estes 2 anos. Com o senhor aprendi muito, não só na área acadêmica mas também valores de vida que levarei comigo sempre!

Agradeço a minha co-orientadora Prof. Dr^a Valéria Terra Crexi

.....pela amizade, conselhos, companheirismo e ensinamentos compartilhados durante todos estes anos.

Agradeço ao meu grande amigo Patrick Peres

...por toda ajuda e apoio dedicados à realização deste trabalho. Obrigada pela amizade e por sempre estar ao meu lado quando precisei;

Agradeço aos meus IC's Bruna, Jonas, Felipe, Gabriela e Francisco

...por toda ajuda e amizade dedicados a realização dos experimentos deste trabalho. Obrigado pela parceria pessoal, vocês são os PUFAS da minha vida!!!

Agradeço aos meus amigos e companheiros de laboratório

.... Silvia, Janaína, Micheli, Jaqueline P., Alisson, Andrei, Jaqueline M., Vanessa, Cláudio Mery, Monique, Luis e Sabrina pela amizade, companheirismo e apoio. Muito obrigada risadas, comilanças e parceria! Vocês são demais!

Agradeço aos membros da banca

...Prof. Dr^a Leonor Soares, Prof. Dr Marcílio Machado Moraes e Prof. Dr. Tito R. Cadaval Jr por terem aceitado fazer parte da banca de avaliação deste trabalho e por todas as contribuições dadas;

Agradeço a Universidade Federal do Rio Grande e CAPES

.... pela estrutura e incentivo financeiro

Muito obrigada!!

;

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar” Josué 1: 9

RESUMO

Lipídios estruturados podem ser definidos como triacilgliceróis reestruturados que tem sua composição em ácidos graxos e/ou sua distribuição nas moléculas de glicerol modificadas, resultando em compostos que apresentam características físicas, químicas e nutricionais diferentes dos lipídios de origem. Este processo pode ser realizado via química, enzimática ou através da engenharia genética, sendo a química a mais utilizada à nível industrial. Através desta técnica podem ser melhoradas as características de óleos e gorduras, dentre as quais a melhoria da qualidade nutricional e funcional da banha suína através da interesterificação desta com o óleo de pescado. O óleo de pescado apresenta em sua composição ácidos graxos poli-insaturados, como o ômega-3, que possui diversas propriedades que são benéficas ao organismo humano. Este trabalho teve como objetivo obter e avaliar os lipídios estruturados através da mistura e reação de interesterificação química da gordura saturada (banha suína) com o óleo de pescado branqueado e com os ésteres de óleo de pescado. A banha suína utilizada na realização dos experimentos foi obtida no comércio local. O óleo bruto foi obtido a partir de vísceras de carpa comum (*Cyprinus carpio*) através do processo termomecânico e submetido ao processo de refino (degomagem, neutralização, lavagem, secagem e branqueamento). Os ésteres foram obtidos a partir da alcoólise química do óleo de pescado. Para a realização da mistura e reação de interesterificação, as condições da proporção das misturas (blendas de banha suína: óleo de pescado e blendas de banha suína: ésteres de pescado) e da reação de interesterificação (quantidade de catalisador) foram definidas através de comparação de tratamentos. Os lipídios estruturados foram caracterizados através de análises físico-químicas e térmicas. O óleo bruto, branqueado e ésteres de pescado apresentaram II, IS e densidade significativamente diferentes da banha suína, evidenciando diferenças nos perfis de ácidos graxos. Para os lipídios estruturados obtidos a partir de banha suína e óleo branqueado quanto para os obtidos com banha suína e ésteres de pescado, a proporção da blenda apresentou maior influência na alteração do ponto de fusão, sendo que uma maior proporção de óleo branqueado:éster de pescado levou a uma redução da temperatura de transição da banha suína. As curvas de TG demonstraram que os lipídios estruturados contendo ésteres foram volatizadas em temperaturas mais baixas (225°C e 450°C) do que os lipídios contendo óleo branqueado de pescado (375°C e 450°C). A partir dos resultados de RMN foi possível observar que porcentagem de ácidos graxos insaturados na posição sn-2 dos lipídios estruturados contendo banha suína e óleo de pescado aumentou cerca de 12%, enquanto que o aumento na posição sn-2 dos lipídios estruturados contendo ésteres foi de aproximadamente 3%. Os resultados da espectroscopia de infravermelho demonstraram que as matérias primas, misturas e lipídios estruturados produzidos apresentaram bandas características de óleos e gorduras. Através dos resultados obtidos foi possível determinar que os lipídios estruturados produzidos a partir de banha suína e óleo de pescado para ambas as proporções (80:20 e 70:30) podem ser utilizados para aplicação em produtos de panificação, já os lipídios estruturados obtidos a partir de ésteres apresentam potencial para serem utilizados em frituras e na produção de condimentos.

Palavras-chave: Banha suína. Óleo de pescado. Ésteres de pescado. Interesterificação química.

OBTAINING OF STRUCTURED LIPIDS FROM ANIMAL FAT AND FISH OIL

ABSTRACT

Structured lipids can be defined as restructured triacylglycerols, which have their composition in fatty acids and/or their distribution in the modified glycerol molecules, resulting in compounds having different physical, chemical and nutritional characteristics than the original lipids. This process can be carried out via chemical, enzymatic or through genetic engineering, being the most commonly used chemistry at the industrial level. Through this technique the characteristics of oils and fats can be improved, among them the improvement of the nutritional and functional quality of the swine lard by interesterification of this with the fish oil. The aim of this work was to obtain and evaluate structured lipids by the mixture and chemical interesterification reaction of animal fat (swine lard) with fish bleached oil and fish esters. The swine lard used in the experimental assays was obtained of the local trade. The crude oil was extracted from viscera of common carpa (*Cyprinus carpio*) through the thermomechanical process and submitted to the refinement process (degumming, neutralization, washing, drying and bleaching). The esters were obtained from the chemical alcoholysis of the fish oil. In order to perform the mixture and interesterification reaction, the conditions of the mixtures proportion (swine lard: fish oil and swine lard: fish esters) and reaction (amount of catalyst) were defined by comparison of treatments. Structured lipids were characterized by physicochemical and thermal analyzes. The crude and bleached oils showed significantly different levels of II, IS and specific gravity than the lard, evidencing differences in fatty acid profiles. For the structured lipids obtained from swine lard and bleached oil as well as those obtained with swine lard and fish esters, the proportion of the blend had a greater influence on the change in melting point, a higher proportion of bleached oil led to a reduction of the transition temperature of the swine lard. TG curves demonstrated that ester containing structured lipids were volatilized at lower temperatures (225 °C and 450 °C) than the lipids containing fish oil (375 °C and 450 °C). From the NMR results,- it was possible to observe that the percentage of unsaturated fatty acids in the sn-2 position of the structured lipids containing swine lard and fish oil increased by about 12%, whereas the increase in the sn-2 position of the ester-containing structured lipids was about 3%. The results of infrared spectroscopy showed that the raw materials, mixtures and structured lipids produced bands characteristic of oils and fats. Through the results obtained it was possible to determine that the structured lipids produced from lard and fish oil for both proportions (80:20 and 70:30) can be used for application in bakery products, while the structured lipids obtained from esters have the potential to be used in frying and in the production of condiments.

Keywords: Swine lard. Fish oil. Fish esters. Chemical interesterification.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- (a) Posições dos ácidos graxos no triacilglicerol e (b) fórmula estrutural dos ácidos graxos (a) Palmítico, (b) Esteárico, (c) Oléico, (d) Linoléico e (e) Linolênico.....	34
Figura 2- Derivados de ácidos graxos combinados (a) triacilgliceróis, (b) diacilglicerídeos, (c) monoacilglicerídeos e (d) lecitina.....	34
Figura 3 - Polimorfismo dos triacilgliceróis: forma α (cristais do sistema hexagonal), forma β (cristais do sistema triclinico) e forma β' (cristais do sistema ortorrômbico).....	38
Figura 4 - Forma geral da reação de alcoólise química de um triacilglicerol	40
Figura 5 - Mecanismo da reação química de síntese de lipídios estruturados – Mecanismo de adição à carbonila	42
Figura 6 - Mecanismo da reação química de síntese de lipídios estruturados – Condensação de Claisen	43
Figura 7 - Visceras de carpa comum (Cyprinus carpio).....	53
Figura 8 - (a) Cocção das vísceras em autoclave (b) prensa hidráulica e (c) centrífuga.....	54
Figura 9 - Fluxograma de obtenção do óleo bruto através do processo termomecânico.....	55
Figura 10 - Fluxograma das etapas do refino do óleo bruto de pescado	56
Figura 11 - Equipamento utilizado no refino do óleo de pescado	57
Figura 12 - Processo de obtenção de ésteres e ácidos graxos livres de óleo de pescado	58
Figura 13 - (a) Etapa de mistura e (b) finalização da reação de interesterificação.....	60
Figura 14 - Esquema da mistura e reação de interesterificação química.....	60
Figura 15 - (a) Banha suína, (b) óleo bruto, (c) óleo branqueado e (d) ésteres de pescado.	67
Figura 16 - Espectros vibracionais das matérias primas, misturas e lipídios estruturados.....	71
Figura 17 - Curvas de fusão das matérias primas	74
Figura 18 – Curvas de fusão das misturas	75
Figura 19 - Curvas de fusão dos lipídios estruturados de banha suína:óleo de pescado	76
Figura 20 - Curvas de fusão dos lipídios estruturados da banha suína:ésteres de pescado	76
Figura 21 - Curva de TG/DTG das matérias primas	78
Figura 22 – Curvas de TG (a) e DTG (b) das misturas de banha suína:óleo branqueado e banha suína:ésteres de pescado	79
Figura 23 - Curvas de TG dos lipídios estruturados de banha suína:óleo de pescado	81
Figura 24 - Curvas de TG dos lipídios estruturados de banha suína:ésteres de pescado	82

Figura 25 - Conteúdo de gordura sólida das matérias primas	83
Figura 26 - Conteúdo de gordura sólida das misturas	84
Figura 27 – Conteúdo de gordura sólida dos lipídios estruturados de banha suína:óleo de pescado	85
Figura 28 - Conteúdo de gordura sólida dos lipídios estruturados de banha suína:ésteres de pescado	86
Figura 29 – Espectro de RMN da banha suína	87
Figura 30 – Espectros de RMN: (a) lipídios estruturados contendo banha suína:óleo branqueado, (b) lipídios estruturados contendo banha suína:ésteres de pescado	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ácidos graxos predominantes no óleo de carpa comum (<i>Cyprinus carpio</i>).....	32
Tabela 2 - Composição em ácidos graxos, ponto de fusão, índice de iodo e índice de saponificação da banha suína	38
Tabela 3 - Tratamentos realizados no processo de interesterificação	59
Tabela 4 - Caracterização físico-química do óleo bruto, óleo branqueado e ésteres de pescado, e da banha suína.....	66
Tabela 5 – Caracterização das misturas antes da reação de interesterificação	68
Tabela 6 - Caracterização dos lipídios estruturados produzidos	70
Tabela 7 – Porcentagem de ácidos graxos presentes nas posições sn-1,3 e sn-2 da banha suína e lipídios estruturados	89

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	27
2 OBJETIVOS.....	29
2.1 OBJETIVO GERAL.....	29
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
3 REVISÃO DA LITERATURA	30
3.1 AQUICULTURA	31
3.2 INDUSTRIALIZAÇÃO DO PESCADO E A GERAÇÃO DE RESÍDUOS	32
3.3 ÓLEOS E GORDURAS	33
3.3.1 Óleo de pescado.....	35
3.3.1.1 Obtenção do óleo bruto de pescado.....	35
3.3.1.2 Refino do óleo de pescado.....	36
3.3.1 Gordura animal.....	37
3.4 MÉTODOS DE MODIFICAÇÃO INDUSTRIAL DE ÓLEOS E GORDURAS.....	39
3.4.1 Alcoólise química.....	39
3.4.2 Interesterificação química.....	40
4.4.2.1 Catalisadores químicos	41
4.4.2.2 Mecanismo da reação	41
4.4.2.3 Formas de detecção da reação	43
3.4.2.4 Vantagens e desvantagens	44
3.5 LIPÍDIOS ESTRUTURADOS	45
3.5.1 Definição e aspectos gerais	45
3.5.2 Vantagens e mercado dos lipídios estruturados.....	46
3.5.3 Obtenção dos lipídios estruturados.....	47
3.6 CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS	48
3.6.1 Propriedades físicas e químicas.....	48

3.6.2	Análises térmicas	49
3.6.2.1	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	49
3.6.2.2	Termogravimetria (TG)	49
3.6.3	Análise de infravermelho.....	50
3.6.4	Análise de ressonância magnética nuclear (RMN).....	50
4	MATERIAL E MÉTODOS	53
4.1	MATÉRIAS PRIMAS	53
4.2	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	53
4.2.1	Extração do óleo de pescado	53
4.2.2	Refino do óleo de pescado.....	55
4.2.3	Alcoólise química	58
4.2.4	Reação de interesterificação	59
4.2.5.1	Análise estatística	61
4.3	ANÁLISES TÉRMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS.....	61
4.3.1	Análises de caracterização das vísceras, do óleo de pescado, ésteres, misturas e lipídios estruturados.....	61
4.3.2	Avaliação da reação de mistura e interesterificação.....	62
4.3.2.2	Calorimetria diferencial exploratória (DSC).....	62
4.3.2.3	Conteúdo de gordura sólida.....	62
4.3.2.5	Avaliação da degradação da amostra.....	63
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1	Caracterização das matérias-primas	65
5.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	65
5.2.1	Caracterização dos óleos, ésteres de pescado e banha suína	65
5.2.2	Caracterização das misturas e lipídios estruturados	68
5.3	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO FT-IR	71
5.4	CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	73

5.5 TERMOGRAVIMETRIA (TG) E TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (DTG).....	77
5.6 CONTEÚDO DE GORDURA SÓLIDA (CGS).....	83
5.7 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN).....	87
7 CONCLUSÃO.....	90
8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	93
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	94

1 INTRODUÇÃO

O vasto território e condições climáticas favoráveis que o Brasil apresenta, aliados aos incentivos financeiros proporcionados pelo governo, tornou a piscicultura importante fonte de proteína animal, com elevado potencial de crescimento. Além disso, a busca por alimentos saudáveis tem feito com que a demanda por pescados venha aumentando, pois estes representam excelente fonte de proteínas, de fácil digestão, e de ácidos graxos poli-insaturados (SEBRAE, 2014). Segundo o IBGE (2013), a carpa é uma das espécies mais representativas da piscicultura na região Sul, a qual contribui com a maior parcela na produção nacional e possui produções concentradas nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná.

Durante o beneficiamento do pescado são gerados resíduos (cabeças, vísceras, nadadeiras, caudas, coluna vertebral, barbatanas, escamas e restos de carne), os quais podem representar 60 % (m/m) da matéria-prima utilizada (NUNES, 2001). Como uma alternativa para o aproveitamento desses resíduos, cita-se a obtenção de óleo através do processo termomecânico de produção de farinha e de ensilagem ácida. Desta forma, além de serem evitados desperdícios e contaminações ambientais, a obtenção de óleo representa uma fonte para alimentação animal ou humana (ARVANITTOYANNIS; KASSAVETI, 2008). Os óleos de pescados são compostos por grandes quantidades de ácidos graxos mono e poli-insaturados de cadeia longa (ω -3), que tem demonstrado serem importantes na prevenção de diversas doenças (PENG et al., 2008).

Grande parte dos óleos em seu estado natural possuem aplicações limitadas devido à sua composição química específica e seu baixo ponto de fusão, tendo assim as gorduras maior aplicação na formulação de produtos comerciais. Desta forma, a fim de ampliar sua utilização, os óleos têm sido modificados quimicamente, por hidrogenação ou interesterificação, ou fisicamente pelo fracionamento (CHIU; GIOIELLI, 2008; PETRAUSKAITE et al., 1999).

A interesterificação é considerada o processo mais importante para a modificação físico-química de óleos e gorduras. Diversas indústrias de óleos tem se interessado por esta técnica para a produção de margarinas, com menores teores de gorduras trans em relação às obtidas pelo processo de hidrogenação (SILVA; GIOIELLI, 2006). Através da mistura e interesterificação de óleos e gorduras podem ser obtidos os lipídios estruturados. Estes compostos têm sua composição e arranjo dos ácidos graxos alterada com o intuito de se obter

produtos com características físicas, químicas e nutricionais diferenciadas. Os lipídios estruturados podem ser obtidos por métodos químicos, enzimáticos (lipases) e de engenharia genética (LEE; AKOH, 1998; OSBORN; AKOH, 2002).

As gorduras de origem animal, como por exemplo, a banha suína, é composta basicamente por ácidos graxos saturados (palmítico e esteárico), caracterizados por elevarem os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no sangue e, por consequência, a incidência de doenças cardiovasculares (ROUSSEAU, MARANGONI, 1998). Em contraste a este tipo de gordura tem-se o óleo de pescado, que contém em torno de 60-70% de ácidos graxos insaturados, principalmente os ácidos graxos componentes do ω -3, que dentre suas funcionalidades auxiliam na redução dos teores de colesterol LDL no sangue (KLINKERSORN et al., 2004; CREXI, 2010).

A partir da reação de interesterificação e da maneira como ocorre o arranjo destes ácidos graxos na mistura de gordura animal com os ácidos graxos insaturados do óleo de pescado, podem-se obter diferentes tipos de produtos, com diferentes funcionalidades. Como por exemplo, se houverem ácidos graxos de cadeia longa nas posições sn-1 e sn-3 do triacilglicerol obtêm-se um produto com características semelhantes ao do leite materno (SILVA; GIOIELLI, 2009). Porém, se houver a incorporação dos ácidos graxos poli-insaturados na posição sn-2 pode-se produzir um produto de panificação com características de plasticidade melhoradas (MOURA, 2006).

Sendo assim, a interesterificação de misturas entre gorduras sólidas e óleos contendo ω -3 pode formar produtos com excelentes características físicas (alteração do ponto de fusão, viscosidade), químicas (estabilidade oxidativa), medicinais (controle do colesterol, ação anti-inflamatória) e nutricionais (composição em ácidos graxos) (MOURA 2006; SILVA; GIOIELLI, 2009).

Na literatura são encontrados diversos estudos em relação à interesterificação química de gordura saturada (banha suína) com óleos vegetais. Porém, são encontrados poucos trabalhos em relação ao enriquecimento de produtos com óleo de pescado por interesterificação química. Desta forma, o estudo da interesterificação e mistura da gordura saturada (banha suína) com óleo de pescado que será realizada neste trabalho poderá contribuir para o aumento do conhecimento da comunidade científica em relação a este assunto, além da possibilidade de desenvolvimento de novos produtos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo obter e avaliar os lipídios estruturados através da mistura e reação de interesterificação química da gordura animal (banha suína) com o óleo de pescado branqueado e com os ésteres de pescado.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair o óleo bruto de resíduos da carpa pelo processo termomecânico;
- Realizar o refino do óleo bruto, bem como a caracterização deste através de análises físico-químicas e térmicas;
- Obter os ésteres do óleo de pescado a partir da reação de transesterificação;
- Caracterizar a gordura animal (banha suína) em relação às análises físico-químicas e térmicas;
- Obter os lipídios estruturados a partir da interesterificação da gordura animal (banha suína) com o óleo branqueado e ésteres de pescado;
- Determinar as condições da proporção das misturas (blendas de banha suína:óleo de pescado e blendas de banha suína:ésteres de pescado) da reação de interesterificação (quantidade de catalisador);
- Avaliar a mistura e a reação de interesterificação através das análises físico-químicas e térmicas, e a partir destas determinar as possíveis aplicações dos lipídios estruturados produzidos.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 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 técnica envolve a produção de peixes, camarões, rãs, ostras e outras espécies com o objetivo de servirem como alimento. Porém, quando se fala especificamente em produção de peixes, essa atividade caracteriza-se como um subtipo da aquicultura denominado de piscicultura (ABRUNHOSA, 2011).

De acordo com dados disponibilizados pelo IBGE, em 2013 a produção total da piscicultura brasileira foi de 392,493 mil toneladas. A Região Centro-Oeste foi a principal produtora, onde ocorreu a despesca de 105,01 mil toneladas de peixes, o equivalente a 26,8% do total de peixes produzidos. A segunda posição foi ocupada pela Região Sul, a qual contribuiu com 88,06 mil toneladas, representando 22,4% do total produzido. A Região Nordeste contribuiu com 76,39 mil toneladas, a Região Norte com 72,97 mil toneladas e a Região Sudeste com 50,06 mil toneladas. Em 2013 o Rio Grande do Sul apresentou uma produção de 15,68 mil toneladas de pescado (IBGE, 2013).

Dentre os peixes produzidos, a carpa é uma das espécies mais representativas, tendo suas maiores produções concentradas nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná (MPA, 2014). A carpa, de origem asiática, é criada na China há mais de 2.000 anos. Existem diferentes tipos de carpas, porém todas 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, sendo cultivada exclusivamente em lagoas tradicionais extensas (VANDEPUTTE et al., 2008). Diversos fatores contribuem para que as carpas ocupem posição de destaque na piscicultura, dentre as quais se cita o fato de tolerarem 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).

Estudos realizados por Didonet et al. (2015), demonstraram que este pescado apresenta em sua composição cerca de 73,17 % de umidade, 5,55 % de gordura, 0,91 % de

cinzas e 17,91 % de proteínas. Crexi et al. (2009) estudaram o processo de obtenção de óleo a partir de vísceras de carpa comum (*Cyprinus carpio*), a partir do qual determinaram que este óleo apresenta alto conteúdo de ácidos graxos insaturados e poli-insaturados (67,4%), e a relação ω -3/ ω -6 em torno de 1,15. Assim, o óleo obtido a partir de vísceras de carpa pode ser considerado uma rica fonte de ácidos graxos essenciais do grupo ω 3 e ω 6. Na Tabela 1 podem ser observados os principais ácidos graxos do óleo de carpa comum.

Tabela 1 – Ácidos graxos predominantes no óleo de carpa comum (*Cyprinus carpio*)

Ácidos graxos	% em massa
14:0 – mirístico	3,79
16:0 – palmítico	16,19
16:1 – palmitoléico	8,08
18:0 – esteárico	3,15
18:1 – oleico	26,05
18:2 – linoleico	9,48
18:3 – linolênico	7,50
20:4 – araquidônico	1,24
20:5 – EPA	3,82
22:6 – DHA	1,20
Não identificados	5,00
Índice de iodo (g/100g)	115
Índice de saponificação (mg KOH/g)	205

Fonte: Adaptado de Crexi et al (2009)

3.2 INDUSTRIALIZAÇÃO DO PESCADO E A GERAÇÃO DE RESÍDUOS

O pescado pode ser comercializado sob duas formas basicamente: *in natura* ou industrializado. A segunda forma é utilizada quando se deseja obter produtos como pescado congelado, enlatado, salgado, em semiconservas, entre outros (ARRUDA et al., 2006). A industrialização do pescado é composta basicamente pelas etapas de obtenção, conservação, processamento/elaboração, embalagem, transporte e a comercialização destes (FELTES et al., 2010).

Os resíduos do beneficiamento do pescado (cabeça, vísceras, nadadeira, cauda, coluna vertebral, barbatana, escamas e restos de carne) podem totalizar cerca de 60 % (m/m) da matéria-prima utilizada, dependendo da espécie bem como da forma de processamento empregada (FELTES, 2010). Todos estes resíduos apresentam composição rica em compostos orgânicos e inorgânicos, o que gera preocupação relativa aos potenciais impactos ambientais negativos decorrentes da disposição deste material diretamente no ambiente ou oferecido *in natura* aos peixes cultivados (NUNES et al., 2013).

Existem diversas formas de aproveitamento dos resíduos gerados nas indústrias pesqueiras, como extração de colágeno (escamas e pele) para indústrias farmacêuticas e de alimentos, produção de polpa e farinha de pescado para o preparo de refeições semiprontas, obtenção de óleo para consumo humano e animal, e produção de silagens para consumo animal (VIDOTTI; GONÇALVES, 2006).

O óleo e a farinha de peixe são obtidos simultaneamente em escala industrial a partir de resíduos como vísceras e cabeças das mais variadas espécies de pescado (FAO, 1986). A farinha de peixe representa uma importante fonte de proteína, enquanto que o óleo constitui uma fonte de ácidos graxos essenciais com perfis particulares; estes dois produtos diferenciam-se de outras fontes de nutrientes, principalmente das vegetais, por possuírem excelentes características nutricionais (RUBINO, 2008).

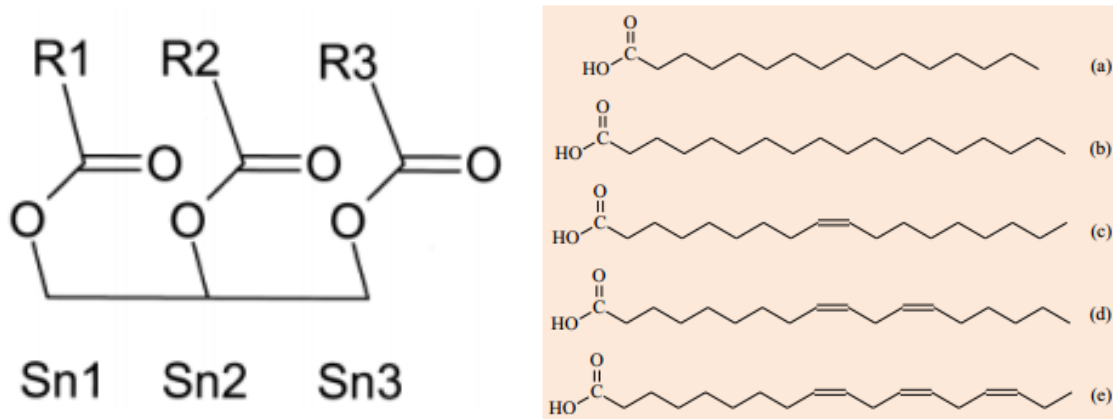
3.3 ÓLEOS E GORDURAS

Os óleos e gorduras são produtos constituídos principalmente de triacilgliceróis de ácidos graxos, que podem conter pequenas quantidades de outros lipídeos como fosfolipídeos, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres naturalmente presentes no óleo ou na gordura. O grande diferencial entre óleos e gorduras deve-se ao fato dos primeiros apresentarem-se na forma líquida na temperatura de 25°C, enquanto que as gorduras vegetais mantêm-se em estado sólido à 25°C (ANVISA, 2005).

Dentre os componentes dos óleos podem-se citar os ácidos graxos, compostos por ácidos carboxílicos de cadeia longa. Os ácidos graxos diferem-se em relação ao número de carbonos e ao número de insaturações presentes na cadeia (RAMALHO; SUAREZ, 2012). Segundo Solomons e Fryle (2006), quanto maior o número de átomos de carbonos presentes na cadeia, maior será o ponto de fusão do ácido graxo, visto que haverá um aumento na atração de Van de Waals entre as moléculas. Porém, quanto mais insaturações a cadeia apresentar, menor será o ponto de fusão deste ácido. Na Figura 1 (a) pode ser observado a

estrutura geral do triacilglicerol bem como as posições dos ácidos graxos em uma molécula de triacilglicerol e na Figura 1 (b) os principais ácidos graxos encontrados em óleo.

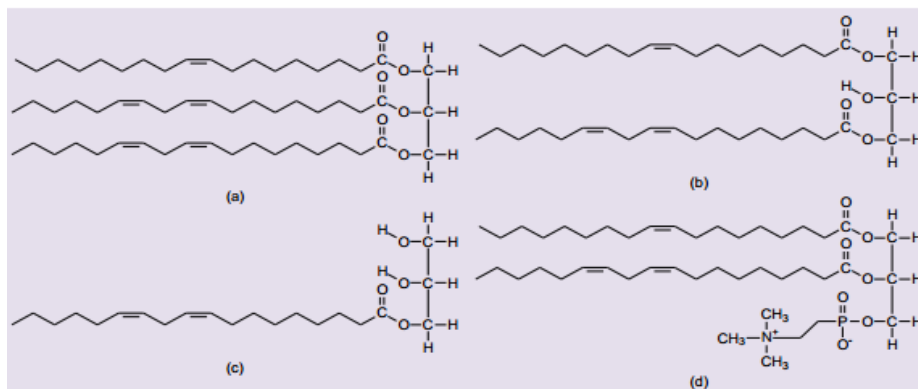
Figura 1- (a) Posições dos ácidos graxos no triacilglicerol e (b) fórmula estrutural dos ácidos graxos (a) Palmítico, (b) Esteárico, (c) Oléico, (d) Linoléico e (e) Linolênico



Fonte: Ramalho; Suarez (2012)

Os ácidos graxos podem ser encontrados livres ou combinados. Os derivados dos ácidos graxos combinados normalmente são encontrados na forma de mono, di e triacilgliceróis, sendo o último o principal componente de óleos e gorduras. Outra forma que os ácidos graxos combinados podem assumir é a de fosfolipídeos, onde um dos ácidos graxos é substituído por uma molécula de ácido fosfórico (RAMALHO; SUAREZ, 2012), tais estruturas podem ser observadas na Figura 2.

Figura 2- Derivados de ácidos graxos combinados (a) triacilgliceróis, (b) diacilglicerídeos, (c) monoacilglicerídeos e (d) lecitina



Fonte: Ramalho e Suarez (2012)

3.3.1 Óleo de pescado

Entende-se por óleo de pescado o subproduto líquido obtido pelo tratamento de matérias-primas pela cocção a vapor, separado por decantação ou centrifugação e filtração (RIISPOA, 1952). O óleo bruto de pescado obtido a partir da elaboração da farinha de pescado é composto por cerca de 90% de lipídios neutros (triacilgliceróis, ácidos graxos livres, etc), apresentando ainda lipídios polares como fosfolipídios, esfingolipídios e lipídios oxidados (CONTRERAS, 1994).

Devido à baixa taxa de conversão dos ácidos graxos α -linolênico (ω -3) em EPA e DHA no organismo humano, o consumo de pescados representa uma importante fonte para ingestão destes tipos de ácidos graxos. Os óleos de pescado em geral consistem em uma complexa composição em ácidos graxos, a qual será influenciada tanto pela espécie do pescado e localização geográfica bem como pela dieta ingerida pelo pescado (FELTES, 2006).

O óleo de pescado é considerado uma importante fonte de ácidos graxos poli-insaturados ω -3 (AGPI) principalmente ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA). Estes compostos são considerados benéficos à saúde humana, visto que são essenciais para o desenvolvimento e funcionalidade de certos órgãos, bem como para diversos processos bioquímicos e fisiológicos do organismo (LIU et al., 2006; NAVARRO-GARCÍA et al., 2004). Segundo Kris-Etherton et al. (2002), pessoas que não tem acesso ou que não apreciam pescados *in natura* podem recorrer a suplementos ou a alimentos enriquecidos com ω -3 a fim de serem supridas suas necessidades dietéticas.

As cápsulas de óleo de pescado contendo ω -3 representam uma das mais importantes fontes destes tipos de ácidos graxos. Entretanto, no mercado mundial já existem produtos adicionados de ω -3, como cremes vegetais, margarinas e leites, os quais possuem alegação de funcionalidade e de saúde, e outros produtos aos quais o óleo de pescado foi incorporado após ser submetido a modificações (FELTES, 2006; SUBROTO et al, 2013).

3.3.1.1 Obtenção do óleo bruto de pescado

O óleo bruto de pescado pode ser obtido através do processo termomecânico de produção de farinha ou a partir do processo de ensilagem ácida, através da acidificação dos resíduos de pescado (MORAIS et al., 2001). Estes processos representam uma alternativa para

evitar desperdícios e reduzir a contaminação ambiental local, podendo esse óleo ser utilizado para alimentação animal ou humana.

O processo de produção de farinha de pescado é um dos principais processos utilizados para o aproveitamento de resíduos do beneficiamento de pescado (KOŁODZIEJSKA et al., 2008). A produção de farinha de pescado pelo processo termomecânico consiste na separação dos componentes em três fases principais: sólido, água e óleo. A qual é realizada através das seguintes etapas: moagem, cocção, prensagem, secagem e moagem. Na operação de prensagem o líquido obtido, conhecido como licor de prensa é centrifugado, obtendo-se o óleo de pescado. Por fim, a fração sólida resultante é seca e moída, obtendo-se a farinha de pescado (BRODY, 1965).

A ensilagem é uma técnica conhecida há bastante tempo e consiste basicamente em acidificar o pH da massa triturada, propiciando assim a ação das enzimas próprias do tecido que terminam liquefazendo o produto. O ensilado convencional é acidificado a um pH entre 3,9 e 4,2 em temperaturas entre 27 e 30 °C durante 3 dias. Ao final deste período o conteúdo encontra-se liquefeito, com a camada de lipídios restabelecida e com a atividade enzimática conservada por vários meses (VIDOTTI; GONÇALVES, 2006).

3.3.1.2 Refino do óleo de pescado

O óleo bruto de pescado apresenta em sua composição compostos indesejáveis, como ácidos graxos livres, fosfolipídios, os quais interferem negativamente nas qualidades físico-química e nutricional do mesmo. Desta forma, faz-se necessário o refino do óleo de pescado, que tem como objetivo principal transformar o óleo bruto em óleo comestível, agradável sensorialmente e estável ao armazenamento (BIMBO; CROWTHER, 1991; MORAIS et al., 2001). O refino químico inclui as etapas de degomagem, neutralização, lavagem, branqueamento e desodorização (CREXI et al., 2007).

A degomagem é a primeira etapa no processo de refino do óleo e tem como objetivo remover os fosfolipídios presentes no óleo, e compostos que durante o armazenamento e transporte possam sedimentar no fundo dos tanques. Devido à suas propriedades emulsificantes, os fosfolipídios aumentam as perdas durante a etapa de refino. Por isso, esta etapa deve ser realizada antes da etapa de neutralização do óleo (REDMER, 2008).

Na etapa de neutralização, há a adição de uma solução alcalina, a qual reage com os ácidos graxos livres presentes no óleo de pescado formando sabões. Devido a sua maior

eficiência na neutralização dos ácidos graxos livres, o álcali mais utilizado é a soda cáustica. A etapa de lavagem é realizada através da adição de água e tem como objetivo a remo-

ção de resíduos da solução alcalina (MORAIS et al., 2001). O branqueamento tem como objetivo à remoção dos pigmentos que conferem coloração indesejável ao óleo, que são removidos através do uso de adsorventes, como carvão e terra ativada. Dentre os compostos removidos nesta etapa citam-se os sabões, ácidos graxos livres e produtos de oxidação (MONTE, 2010).

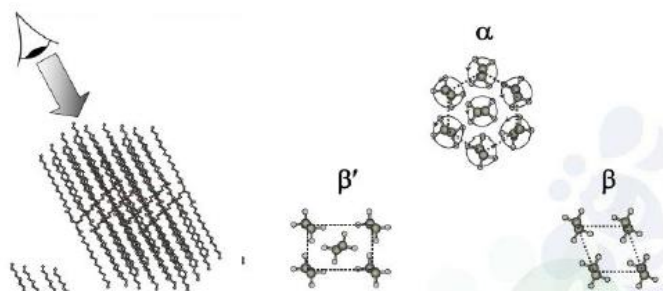
Além destas etapas pode-se também realizar a winterização do óleo, que é considerada uma etapa adicional do refino, sendo um método físico de fracionamento que busca separar os triacilgliceróis de elevado ponto de fusão que causam turvação no óleo (CUNHA et al., 2007). A desodorização tem como objetivo realizar a vaporização de substâncias que causam odores desagradáveis ao óleo, como ácidos graxos livres, cetonas, aldeídos, entre outros, fazendo-se uso de altas temperaturas e baixas pressões (MANDARINO; ROESSING, 2001).

3.3.1 Gordura animal

Dentre os tipos de gorduras animais existentes, somente duas apresentam importância para o uso comercial, sendo estas: banha suína e sebo bovino. De acordo com o RISPOA (1952), a banha suína é definida como o produto obtido pela fusão de tecidos adiposos frescos de suínos. A produção da banha está relacionada com a quantidade de suínos abatidos anualmente, bem como com o tamanho e composição destes. Em seu estado natural, a banha suína é dura e apresenta *flavor* natural e desejável, o que faz com que esta possa ser utilizada sem que haja a necessidade de hidrogenação e desodorização (MING, 2001).

Dentre as principais características das gorduras cita-se o polimorfismo, ou seja, a possibilidade de cristalizar de formas diferentes, dependendo da maneira como as moléculas se orientam no estado sólido. As formas primárias de cristalização podem ser as do tipo α , β e β' , as quais correspondem às principais disposições transversais das cadeias de ácidos graxos (GUNSTONE, 1998), conforme pode ser observado na Figura 3.

Figura 3 - Polimorfismo dos triacilgliceróis: forma α (cristais do sistema hexagonal), forma β (cristais do sistema triclinico) e forma β' (cristais do sistema ortorrômbico)



Fonte: Gunstone (1998)

A forma α apresenta baixa estabilidade, desta forma, é rapidamente convertida a β ou β' . A forma β é uma das formas mais estáveis para a maior parte dos triacilgliceróis puros, conferindo a gordura maior ponto de fusão. Entretanto, os cristais deste tipo de forma tendem a crescer rapidamente, formando aglomerados de agulhas, os quais apresentam menor capacidade de incorporar líquido e textura granulosa. Já a forma β' apresenta uma grande área superficial, capaz de imobilizar grandes quantidades de óleo e de fase aquosa. Os cristais desta forma são pequenos, finos e suaves (RODRIGUES, 2011).

A banha suína é rica nos ácidos palmítico e oléico na proporção aproximada de 1:2 (Tabela 2), correspondendo a 75% de seus ácidos graxos.

Tabela 2 - Composição em ácidos graxos, ponto de fusão, índice de iodo e índice de saponificação da banha suína

Ácidos graxos	% em massa
14:0 – mirístico	1,7
16:0 – palmítico	26,2
16:1 – palmitoléico	4,0
18:0 – esteárico	13,5
18:1 – oleico	42,9
18:2 – linoleico	9,0
18:3 – linolênico	0,3
Índice de iodo (g/100g)	53-77
Índice de saponificação (mg KOH/g)	190-202
Ponto de fusão (°C)	33-46

Fonte: Weiss (1983)

Esta gordura sempre foi amplamente utilizada na produção de bolos, tortas e em frituras. Entretanto, a sua utilização para a produção de *shortenings* demonstraram que sua estrutura cristalina torna a massa muito pobre, visto que apresenta baixa propriedade de incorporação de ar (MING, 2001).

A banha produz cristais grossos porque tende a cristalizar-se na forma β , visto que o ácido palmítico fica situado principalmente na posição sn-2. Isso faz com que massas de bolos obtidas a partir de banha suína apresentam baixa capacidade de incorporação de ar (SILVA et al., 2008). Entretanto, essa tendência de cristalização pode ser modificada através da interesterificação química da banha, a partir da qual o nível de ácido palmítico na posição sn-2 é reduzido consideravelmente. A plasticidade dos produtos formados com gordura animal interesterificada é melhorada devido ao maior número de cristais finos, melhorando a aparência durante o armazenamento e a aplicação na panificação (SILVA; GIOIELLI, 2006).

3.4 MÉTODOS DE MODIFICAÇÃO INDUSTRIAL DE ÓLEOS E GORDURAS

Na natureza são encontrados diversos tipos de óleos e gorduras. Entretanto, para que possam ser aplicados comercialmente estes lipídios devem atender as exigências específicas para cada tipo de produto. Desta forma, a fim de serem supridas as necessidades de mercado e para fornecer produtos uniformes a partir de matérias primas, nem sempre uniformes, surgiram as técnicas de modificação de óleos e gorduras, podendo-se citar a hidrogenação, o fracionamento e a interesterificação (GIOIELLI, 1986; RODRIGUES, 2011).

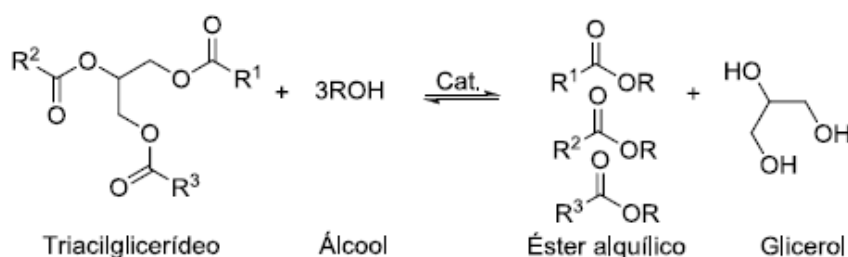
A hidrogenação consiste em adicionar hidrogênios às duplas ligações dos ácidos graxos da matéria-prima, dando origem à bases gordurosas que podem substituir industrialmente as gorduras saturadas (FELTES, 2006). O fracionamento é um processo de modificação reversível que envolve a cristalização com posterior filtração das frações sólidas e líquidas, obtendo-se como produto final a oleína e a estearina (MING, 2001).

Entretanto, a preocupação acerca dos efeitos nocivos da ingestão de gorduras trans despertou o interesse das indústrias por processos alternativos para a produção de gorduras com ponto de fusão adequado. Estes tipos de gorduras podem ser obtidas por meio de interesterificação química ou enzimática (RODRIGUES, 2011).

3.4.1 Alcoólise química

A alcoólise é definida como a reação entre uma gordura e um álcool, a qual oferece meios de preparação de ésteres como alternativa ao processo de hidrólise e reesterificação (MOURA et al, 2006). O processo de alcoólise é formado por uma série de reações orgânicas na qual um éster é transformado em outro através da troca do resíduo alcoxila (Figura 4), tendo como subproduto de reação glicerol (GERIS et al., 2007; URIOSTE, 2004). O processo de alcoólise para óleos vegetais é bastante conhecido. Sendo que entre os óleos vegetais mais utilizadas nessa reação cita-se o óleo de soja, visto que quase 90% da produção de óleo no Brasil provém dessa leguminosa (APROBIO, 2015).

Figura 4 - Forma geral da reação de alcoólise química de um triacilglicerol



Fonte: Fagundes (2011)

Os ésteres etílicos derivados de óleos e seus ácidos graxos precursores podem ser utilizados como matéria-prima na indústria química, farmacêutica e de alimentos (OTERA, 2003). Os ésteres etílicos têm surgido como um substrato alternativo para a obtenção de lipídios estruturados específicos, devido à possibilidade de utilização de baixas temperaturas no processo, o que permite proteger os ácidos graxos poli-insaturados da oxidação (MOURA et al, 2006). Entretanto, são encontrados na literatura poucos estudos referentes à reação de alcoólise para elaboração de ésteres a partir de óleos de origem animal, como o óleo de pescado.

3.4.2 Interesterificação química

A interesterificação química ocorre basicamente em três etapas: pré-tratamento do óleo, reação com o catalisador e destruição do catalisador (YOUNG, 1985). A primeira etapa consiste no refino e secagem do óleo ou gordura, visto que a presença de ácidos graxos livres e umidade tendem a inativar o catalisador, diminuindo o rendimento da reação de interesterificação. Na segunda etapa é adicionado o catalisador, mantendo-se a reação durante determinado tempo. A reação pode ser interrompida através da adição de ácido ou água, os

quais promovem a destruição do catalisador. Logo após, o catalisador é removido através da lavagem a quente do óleo, com posterior filtração e secagem (LUCCAS, 2001).

4.4.2.1 Catalisadores químicos

A reação de interesterificação química ocorre normalmente a altas temperaturas (aprox. 300°C), sendo demorada e acompanhada de decomposição e polimerização. Desta forma, são utilizados catalisadores químicos, os quais tem como função reduzir a temperatura de processo, além de diminuir o tempo de reação. Dentre os tipos de catalisadores existentes, os mais utilizados são os alquilatos metálicos, como metóxido ou etóxido de sódio, seguidos dos metais de sódio, liga sódio-potássio e dos hidróxidos de potássio ou sódio combinados com glicerol. (GOIELLI, 1986).

As concentrações de catalisador utilizadas estão numa faixa de 0,1 a 0,5% m/m, sendo que o aumento da concentração pode resultar na perda de lipídios neutros devido a formação de metil ésteres e sabões. O lipídio utilizado deve apresentar acidez e conteúdo de água inferiores a 0,1% e 0,01%, respectivamente. Caso esses níveis sejam excedidos, deve-se aumentar a quantidade de catalisador, visto que este é consumido inicialmente para reação com a água e acidez presentes (D'AGOSTINI, 2001).

4.4.2.2 Mecanismo da reação

Na Figura 5 são ilustradas as etapas de ativação do catalisador, hidrólise da ligação éster e troca dos ácidos graxos. O catalisador tem como função formar ânions fortes que atacam a carbonila na ligação éster, o que é facilitado devido a eletronegatividade dos átomos de carbono e oxigênio, que leva a uma carga parcialmente positiva no átomo de carbono. O estado de transição da reação tem um intermediário tetraédrico estável, com uma carga negativa no oxigênio.

Ao longo da reação um álquil-éster é liberado, e o intermediário citado é convertido para uma estrutura plana típica de carbonila na forma de éster ou de acilgliceróis, juntamente com íons diglicerinato (I), os quais atacam carbonos parcialmente positivos de carboxilas nos triacilgliceróis, promovendo o rearranjo das moléculas (FELTES, 2006). Outro mecanismo que tem sido proposto para a síntese de lipídios estruturados é o mecanismo de Claisen (Figura 6). Neste mecanismo, o metóxido de sódio remove um hidrogênio ácido do carbono α da carbonila do carbono, gerando um enolato de éster. Através desta reação é

gerado um carbânion, um poderoso nucleófilo. Este carbânion ataca os grupos carbonila, formando intermediário β -cetoéster de glicerol, o qual fica disponível para atacar outras carbonilas de acilgliceróis e trocar esteres intra e intermoléculas (GUNSTONE, 1998; LIU, 2004).

Figura 5 - Mecanismo da reação química de síntese de lipídios estruturados – Mecanismo de adição à carbonila

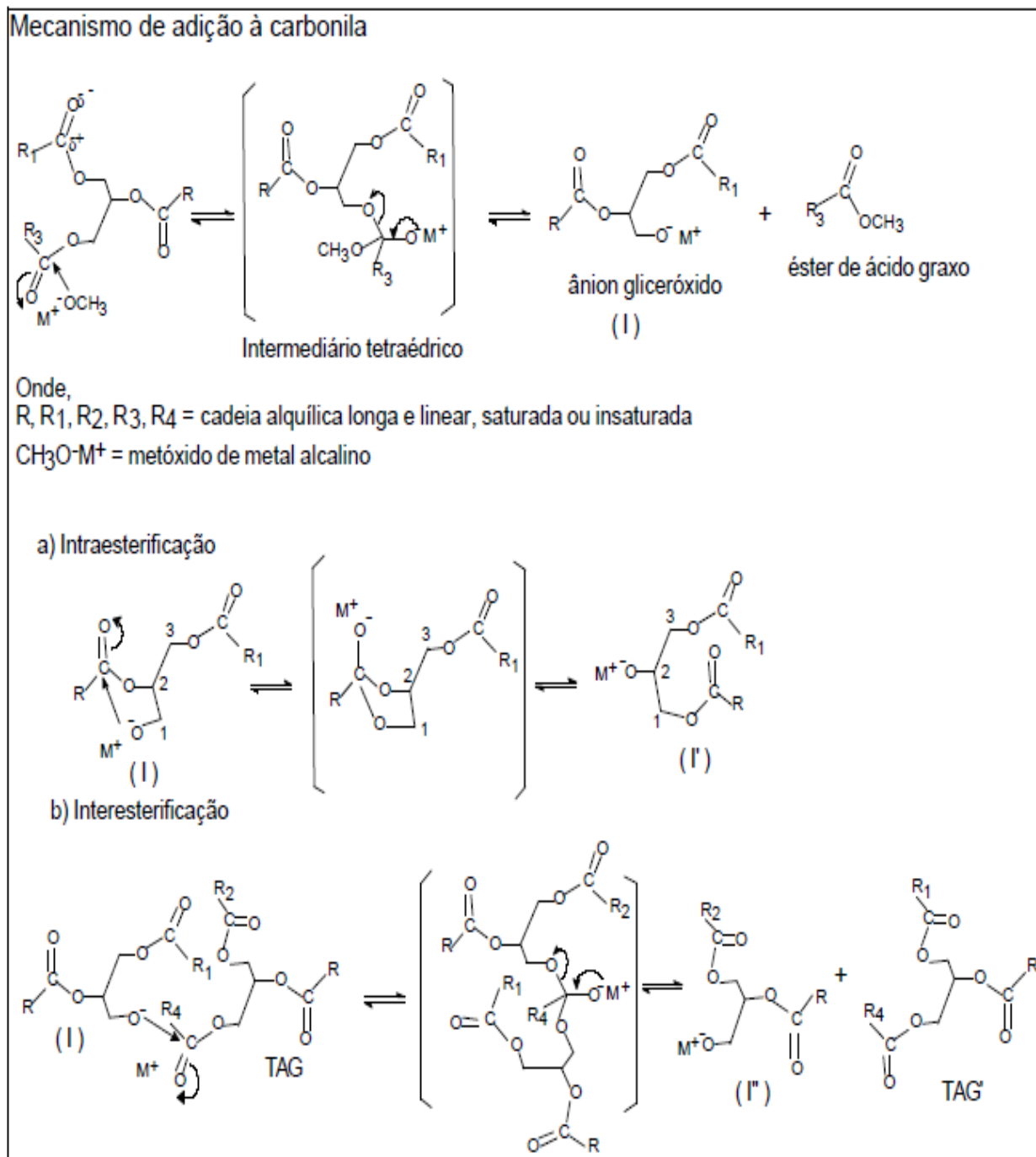
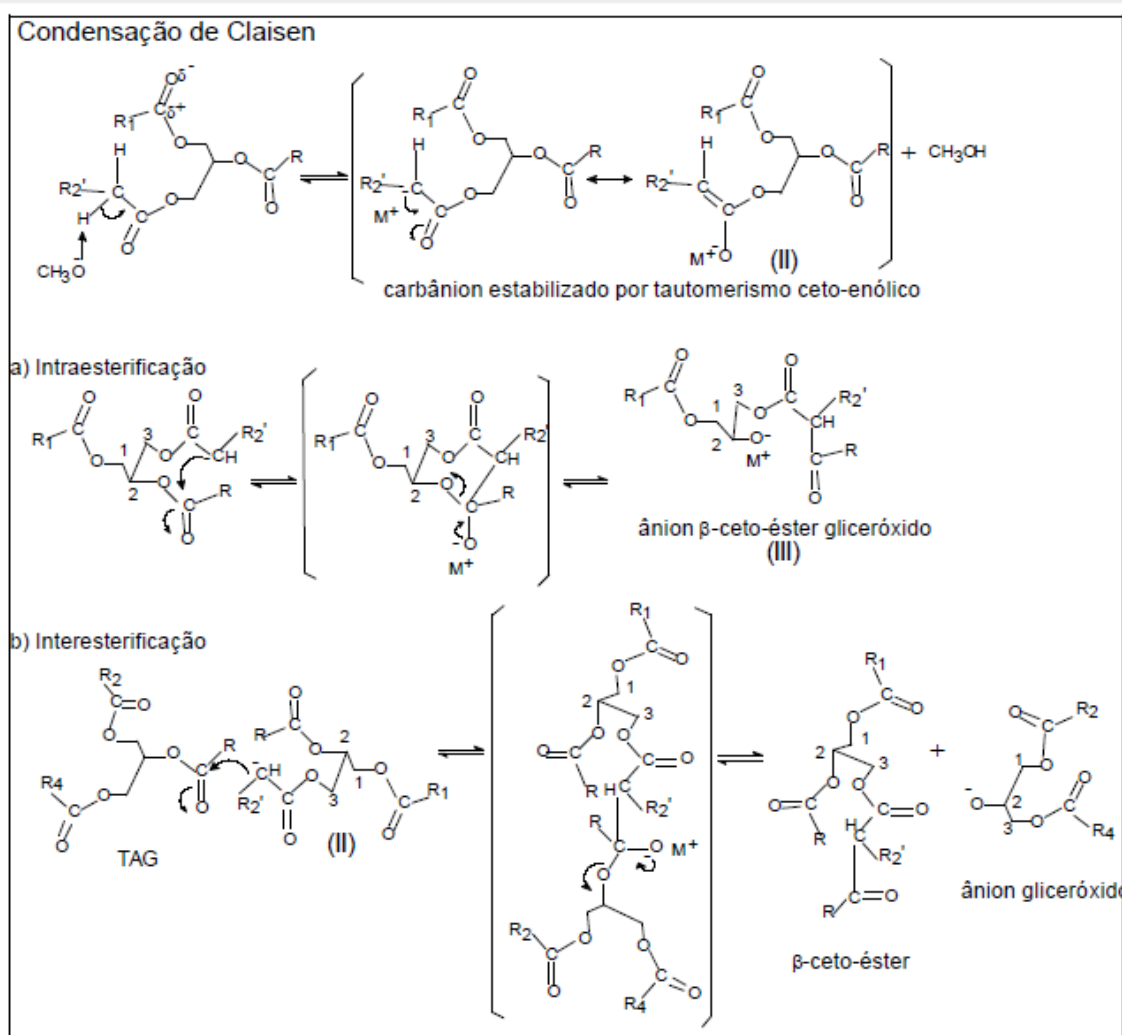


Figura 6 - Mecanismo da reação química de síntese de lipídios estruturados – Condensação de Claisen



Fonte: Feltes (2006)

4.4.2.3 Formas de detecção da reação

A ocorrência da reação de interesterificação pode ser comprovada através dos métodos de análise de: cor, ponto de fusão, conteúdo de gordura sólida, e análise da composição e posição dos ácidos graxos nos triacilgliceróis (D'AGOSTINI, 2001; FELTES, 2006).

- Alteração da cor: a mudança visual que ocorre é o desenvolvimento de coloração marrom que é intensificada 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: pode ser determinado partir de calorimetria diferencial de varredura (DSC). Os termogramas obtidos fornecem a temperatura e o calor de fusão das amostras;
- Conteúdo de gordura sólida: este parâmetro determina a relação sólido-líquido do lipídio sob diversas temperaturas, podendo ser determinado por ressonância magnética nuclear (RMN) e por calorimetria exploratória diferencial (DSC). 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;
- Composição em ácidos graxos: são utilizadas técnicas de cromatografia gasosa, a partir da qual pode-se determinar os ácidos graxos presentes no triacilglicerol após a interesterificação;
- Posição dos ácidos graxos: a determinação da posição dos ácidos graxos nos triacilgliceróis pode ser determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), por RMN e hidrólise por lipase pancreática;

3.4.2.4 Vantagens e desvantagens

No que diz respeito ao custo e aplicação em larga escala, a interesterificação química torna-se a mais atrativa. Além disso, o método é geralmente rápido (5 min a 6 h), o qual será determinado diretamente pelas condições de reação, como catalisador e temperatura. Entretanto, a interesterificação química apresenta o inconveniente de que quando se deseja produzir lipídios com composições muito específicas para aplicações funcionais e medicinais, os métodos de interesterificação enzimática tornam-se mais interessantes. Entretanto, o processo de interesterificação enzimática apresenta custos elevados (SILVA; ESCOBEDO; GIOIELLI, 2010; WILLIS; LENCKI; MARANGONI, 1998).

3.5 LIPÍDIOS ESTRUTURADOS

3.5.1 Definição e aspectos gerais

Os lipídios estruturados são triacilgliceróis reestruturados ou modificados, com o intuito de alterar sua composição em ácidos graxos e/ou sua distribuição nas moléculas de glicerol. Sua elaboração pode ser realizada mediante um processo de interesterificação, que pode ocorrer de forma química, enzimática ou através de engenharia genética (LEE; AKOH, 1998; OSBORN; AKOH, 2002). Estes lipídios representam uma nova geração de óleos e gorduras com aplicações nutraceuticas, medicinais e em alimentos (HAMAM; SHAHIDI, 2008).

Os lipídios estruturados podem ser produzidos com a intenção de alterar e/ou melhorar as características físicas (polimorfismo, ponto de fusão, conteúdo de gordura sólida, viscosidade e consistência) e/ou químicas (estabilidade oxidativa) e nutricionais (presença ou ausência de ácidos graxos saturados ou insaturados de fácil absorção e digestão) dos triacilgliceróis. Com o aumento do conhecimento sobre os efeitos do comprimento da cadeia dos ácidos graxos, presença de insaturações e distribuição estereoespecífica sobre a saúde e metabolismo, existe um crescente interesse em utilizar óleos e gorduras no tratamento e prevenção de doenças (KRALOVEC et al., 2012; SILVA; GIOIELLI, 2009).

Tendo em vista as grandes aplicações que os lipídios estruturados possuem, tanto na medicina quanto na produção de alimentos, estes tem sido denominado também como *pharmafoods*. Dentre alguns exemplos de nutraceuticos encontram-se os ácidos graxos poli-insaturados (como os ácidos graxos ω -3), triacilgliceróis de cadeia média e os lipídios estruturados (D' AGOSTINI, 2001).

A funcionalidade dos produtos obtidos a partir da adição de lipídios estruturados será diretamente influenciada pela maneira como os ácidos graxos são arrançados durante a reação de interesterificação. Sendo que se houverem ácidos graxos de cadeia longa nas posições sn-1 e sn-3 do triacilglicerol obtêm-se um produto com características semelhantes ao do leite materno (SILVA; GIOIELLI, 2009). Porém, se ácidos graxos poli-insaturados forem interesterificados na posição sn-2 pode-se produzir um produto de panificação com características de plasticidade melhoradas (MOURA, 2006).

3.5.2 Vantagens e mercado dos lipídios estruturados

Em relação às vantagens clínicas dos lipídios estruturados cita-se a melhora na função imunológica, a diminuição do risco de câncer, a ajuda na prevenção de trombose, a diminuição dos níveis de colesterol sanguíneo, melhora no balanço de nitrogênio (KENNEDY, 1991). Outra vantagem em relação a estes lipídios é que não possuem ácidos graxos trans em sua estrutura molecular, ao contrário do que ocorre quando as gorduras são parcialmente hidrogenadas (CHIU; GIOIELLI, 2008).

A absorção de ácidos graxos de interesse é mais eficiente em um lipídio estruturado do que em triacilglicerol simples, ou em uma mistura física do ácido graxo de interesse com um triacilglicerol de cadeia média. Visto que as misturas de ácidos graxos de cadeia média e longa para aplicações médicas tem como desvantagem a retenção da taxa de absorção de cada tipo de óleo, o que é contornado mediante a interesterificação, que promove uma modificação química na estrutura (FELTES, 2006). Desta forma, os lipídios estruturados contendo ácidos graxos de cadeia média e longa (como os ω -3) poderiam tornar o produto funcional, com biodisponibilidade e bioatividade específicas (KRALOVEC et al., 2012).

Pesquisas têm demonstrado a aplicação dos lipídios estruturados em fórmulas para bebês prematuros (similar ao leite materno), em produtos para nutrição enteral e parenteral (pacientes com necessidades nutricionais especiais), e também em produtos para esportistas, os quais necessitam que a fonte energia seja rápida e nutricionalmente interessante (presença de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa) (JÚNIOR, 2005; SILVA et al., 2009). A seguir são citados alguns dos lipídios estruturados existentes que são comercializados atualmente:

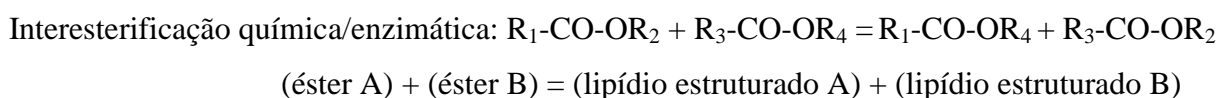
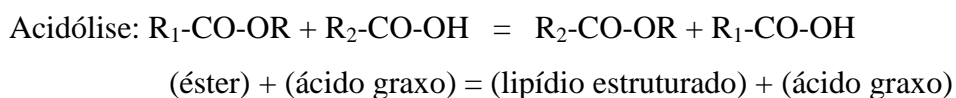
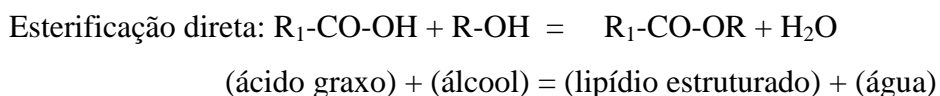
- Sorbestrin (poliéster de sorbitol) – contém ácidos graxos de cadeia longa; é um óleo que apresenta estabilidade térmica, sendo adequado para substituição de óleos vegetais em molhos, alimentos cozidos e fritos (HAMAM; SHAHIDI, 2008);
- Caprenina: é uma gordura de baixo valor calórico (cerca de 5 kcal/g) com propriedades funcionais similares às da manteiga de cacau, comumente utilizada em doces e coberturas para frutas e biscoitos. Esta gordura é obtida a partir da interesterificação de triacilgliceróis de cadeia média (C8:0 e C10:0) com triacilgliceróis de ácido beênico (C22:0) (D'AGOSTINI, 2001);
- Salatrim (nome genérico), Benefat (nome comercial): obtido mediante interesterificação de misturas de triacilgliceróis de cadeia curta, derivados da triacetina (C2:0) e da tripropionina (C3:0) com triacilgliceróis de cadeia longa

(C16:0 e C18:0), obtidos a partir de óleos vegetais, como algodão e soja. É um produto de valor calórico reduzido (cerca de 5 kcal/g) usado em chocolates (coberturas e recheios), laticínios, sorvetes e *snacks* (D'AGOSTINI, 2001).

- Equivalentes da manteiga de cacau: obtidos a partir de uma fração intermediária do óleo de palma utilizando uma enzima sn-1,3 específica. Sendo patente da empresa Unilever. Este produto apresenta uma fração rica em ácido palmítico e pouco ácido esteárico (GUNSTONE, 2001).
- Betapol: é um lipídio estruturado comercializado pela empresa Unilever, obtido mediante interesterificação enzimática. São utilizados óleos de girassol (fonte de trioleína) ou óleo de soja (fonte de trilioleína). O produto obtido é composto pela mistura de triacilgliceróis do tipo insaturado-palmítico-insaturado, sendo utilizado como constituinte em formulações infantis, visto que a gordura do leite humano apresenta 70% de seu ácido palmítico esterificado na posição sn-2 (BETAPOL, 2016).

3.5.3 Obtenção dos lipídios estruturados

Os lipídios estruturados podem ser produzidos através de triacilgliceróis de cadeia curta, média e longa, a partir de fontes vegetais e animais. Sendo que de acordo com o substrato disponível, podem ser utilizados os seguintes métodos:



Considerando-se as modificações pós-produção de óleos e gorduras, os métodos de interesterificação química e enzimáticas são os utilizados para a produção de lipídios estruturados (FELTES, 2006).

3.6 CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS

3.6.1 Propriedades físicas e químicas

Dentre as propriedades físicas que caracterizam óleos e gorduras cita-se a massa específica, que é a relação entre a massa de um volume qualquer de lipídio e a massa de igual volume de água destilada, a uma temperatura padrão. Sendo que a massa específica dos ácidos graxos decresce com o aumento do número de átomos de carbono e decresce com a insaturação (MORETTO; FETT, 1989).

Em relação às propriedades químicas e de qualidade cita-se o índice de acidez, peróxido, saponificação, iodo, *p*-anisidina e totox. A análise do índice de acidez determina o estado de conservação do óleo. A presença de ácidos graxos livres ou índice de acidez representa a extensão da hidrólise química, física ou enzimática dos glicerídeos. A fim de determinar o valor desta deterioração, se dissolve o óleo ou gordura em solvente neutro e se titula a acidez com álcali normalizado (AOCS, 1980).

O índice de peróxido (IP) determina o estado de oxidação primária dos lipídios, sendo muito importante por definir a deterioração dos lipídios, principalmente pela presença de compostos de baixa massa molar provenientes da degradação, como por exemplo, os aldeídos, cetonas, alcoóis e hidrocarbonetos. Estes compostos são responsáveis pelo sabor e odor característico de produtos rançosos, especialmente os compostos carbonílicos que produzem compostos peróxidos (AOCS, 1980). O índice de anisidina (IAN) refere-se a produtos de oxidação secundária, o qual é baseado na reação entre os aldeídos insaturados e o reagente de *p*-anisidina (AOCS, 1998). O valor de TOTOX é usado para indicar a oxidação total de hidrocarbonetos (produtos de oxidação primária e secundária), e é calculado utilizando o índice de peróxido e o índice de anisidina ($TOTOX = 2IP + IAN$).

O índice de saponificação (IS) pode ser definido como a quantidade de álcali necessária para saponificar (hidrólise e esterificação) uma quantidade definida de óleo e/ou gordura. É expresso em número de mg de KOH necessários para saponificar 1 g de óleo (AOCS, 1980). O valor do índice de saponificação indica a massa molar média (MM) dos

ácidos graxos esterificados ao glicerol. Assim, IS pequenos equivalem a ácidos graxos de MM elevado e IS elevado a ácidos graxos de pequena MM (AOCS, 1980).

O índice de iodo (II) determina o grau de insaturação de óleos e/ou gorduras, expressa em números de gramas de iodo absorvido por 100g de amostra. Sendo que II elevados significam alto grau de insaturação. Para maior rapidez de absorção de iodo, a reação é feita em presença de cloro, ou bromo, ou outros catalisadores (AOCS, 1980).

3.6.2 Análises térmicas

As análises térmicas abrangem técnicas nas quais uma propriedade física ou química de uma substância, ou de seus produtos de reação é monitorada em função da temperatura ou do tempo, enquanto essa substância é submetida a um programa controlado de temperatura e sob uma atmosfera específica (SILVA et al., 2007). Dentre as técnicas existentes cita-se a calorimetria exploratória diferencial (DSC) e a termogravimetria (TG).

3.6.2.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica na qual se mede a diferença de energia fornecida à substância e a um material referência, em função da temperatura enquanto a substância e o material referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura. Através dessas técnicas, podem ser acompanhados os efeitos de calor associados com as alterações físicas ou químicas da amostra, como transições de fase (fusão, ebulição, sublimação, congelamento, inversões de estruturas cristalinas) ou reações de desidratação, de dissociação, de decomposição, de oxidação-redução, capazes de causar variações de calor (GIOLLITO, 2004).

3.6.2.2 Termogravimetria (TG)

A termogravimetria (TG) é uma das técnicas de análise térmica em que as variações de massa da amostra são monitoradas como uma função da temperatura ou tempo, enquanto esta é submetida a um programa controlado de temperatura, sob uma atmosfera especificada (MATOS; FELSNER, 1998). A partir da TG são obtidas informações com relação às variações de massa em função do tempo ou temperatura sob determinadas condições atmosféricas.

A termogravimetria derivada (DTG) é a derivada primeira da curva termogravimétrica (TG). Estas curvas trazem informações de uma forma mais acessível visualmente do que as de TG, mostrando com mais clareza o ponto de temperatura no pico que corresponde ao máximo da taxa de variação de massa (SILVA et al. 2007), este representa a temperatura de máxima degradação de um óleo ou gordura. A termogravimetria tem sido utilizada no estudo da decomposição térmica de substâncias orgânicas, inorgânicas e dos mais variados tipos de materiais como: minerais, minérios, carvão, petróleo, madeira, polímeros, alimentos e materiais explosivos (GIOLLITO, 2004).

3.6.3 Análise de infravermelho

A espectroscopia de infravermelho (espectroscopia IV) é um tipo de espectroscopia de absorção que usa a região do infravermelho do espectro eletromagnético. Os espectrômetros de infravermelho com transformadas de Fourier (FT-IR) empregam um interferômetro e explora o processo matemático da transformação de Fourier, e é baseada na interação da luz de infravermelho com a matéria (SMITH, 1996; STUART, 2004). A espectroscopia IV é uma técnica de muita importância na análise química qualitativa, podendo ser utilizada para identificar um composto ou investigar a composição de uma amostra (MARIN, 2013).

Um espectro de infravermelho geralmente contém mais informação do que apenas os valores de posição ou de absorção de alguns picos, atuando como uma impressão digital de uma dada amostra quando utilizado integralmente. Além disso, a espectroscopia FT-IR é uma excelente ferramenta para análise quantitativa porque as intensidades de absorção das bandas no espectro são proporcionais à sua concentração na amostra (SOUZA; POPPI, 2012).

3.6.4 Análise de ressonância magnética nuclear (RMN)

O método da espectrometria da ressonância magnética nuclear (RMN) baseia-se nas propriedades magnéticas dos núcleos atômicos, sendo que quase todos os elementos químicos têm ao menos um isótopo com um núcleo atômico que possui momento magnético. Quando este núcleo é colocado em um campo magnético externo, e a ele for aplicada uma excitação com frequência igual a sua frequência de precessão, tal núcleo é retirado de seu estado de equilíbrio. Após a retirada do campo, este núcleo tende a voltar ao seu estado

fundamental de equilíbrio através dos processos de relaxação spin-rede e relaxação spin-spin, sendo obtidos então os sinais que compõe o espectro de RMN (UNGARO et al., 1992).

Dentre as aplicações dadas a espectroscopia de RMN, cita-se a utilização da espectroscopia de carbono na determinação da estrutura do triacilglicerol, sendo que a partir dos espectros obtidos podem ser determinadas a composição e distribuição dos ácidos graxos entre as posições sn - 1,3 e sn-2 do triacilglicerol. Sendo que as carbonilas ressoam de acordo com o grau de insaturação da cadeia e posição no glicerol, na faixa de frequências entre 172,5 e 173,5 ppm (VLAHOV, 2005).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATÉRIAS PRIMAS

A gordura animal (banha suína) foi obtida no comércio local. Os resíduos de pescado (vísceras) da espécie carpa comum (*Cyprinus carpio*) foram obtidos junto aos piscicultores da cidade de Teutônia/RS. Na Figura 7 podem ser observadas as vísceras de carpa comum utilizadas para a extração do óleo bruto de pescado.

Figura 7 - Vísceras de carpa comum (*Cyprinus carpio*)



4.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.2.1 Extração do óleo de pescado

O óleo bruto de pescado foi obtido a partir do processo termomecânico, com condições de processos segundo Crexi et al. (2010), sendo composto pelas etapas de cocção, prensagem e centrifugação. Primeiramente, as vísceras (aprox. 5 kg) foram descongeladas a temperatura de refrigeração durante 12 h e submetidas à cocção em autoclave durante 30 min (Figura 8 (a)) sob temperaturas entre 95 e 100 °C, seguida de prensagem para separação do licor de prensa dos sólidos (Figura 8 (b)). Por fim, o licor de prensa foi centrifugado a 7000 x g (Figura 8 (c)) e obteve-se o óleo bruto de pescado.

Figura 8 - (a) Cocção das vísceras em autoclave (b) prensa hidráulica e (c) centrífuga



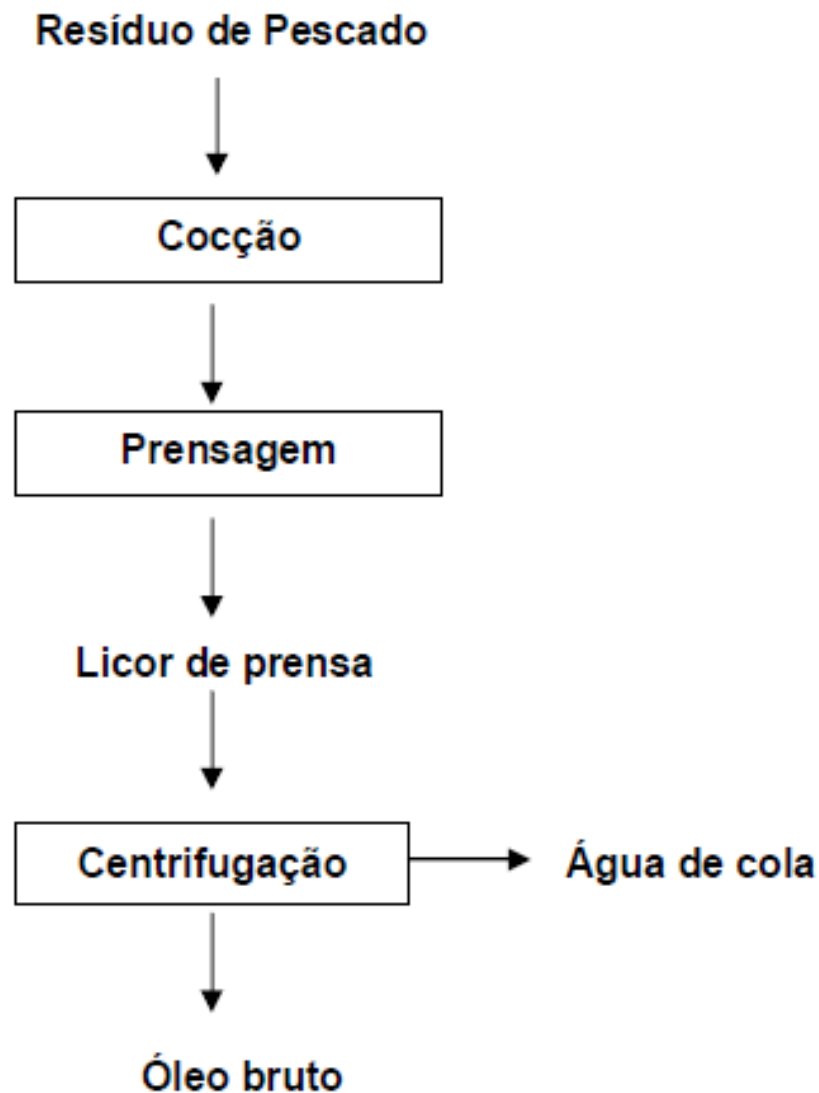
A eficiência do processo de extração foi determinada como a porcentagem de óleo recuperado em relação ao óleo presente nas vísceras, utilizando a Equação 1.

$$\% \text{ eficiência} = \frac{m_{OB}}{m_{OBD}} \times 100 \quad (1)$$

sendo m_{OB} é a massa de óleo bruto extraído das vísceras de carpa pelo processo termomecânico e m_{OBD} a massa total de óleo das vísceras de carpa determinada de acordo com a metodologia proposta por Bligh e Dyer (1959).

A fim de separar o óleo bruto do licor de prensa foi realizada uma centrifugação a $7000\times g$ durante 20 min. O procedimento de extração de óleos das vísceras está demonstrado na Figura 9.

Figura 9 - Fluxograma de obtenção do óleo bruto através do processo termomecânico



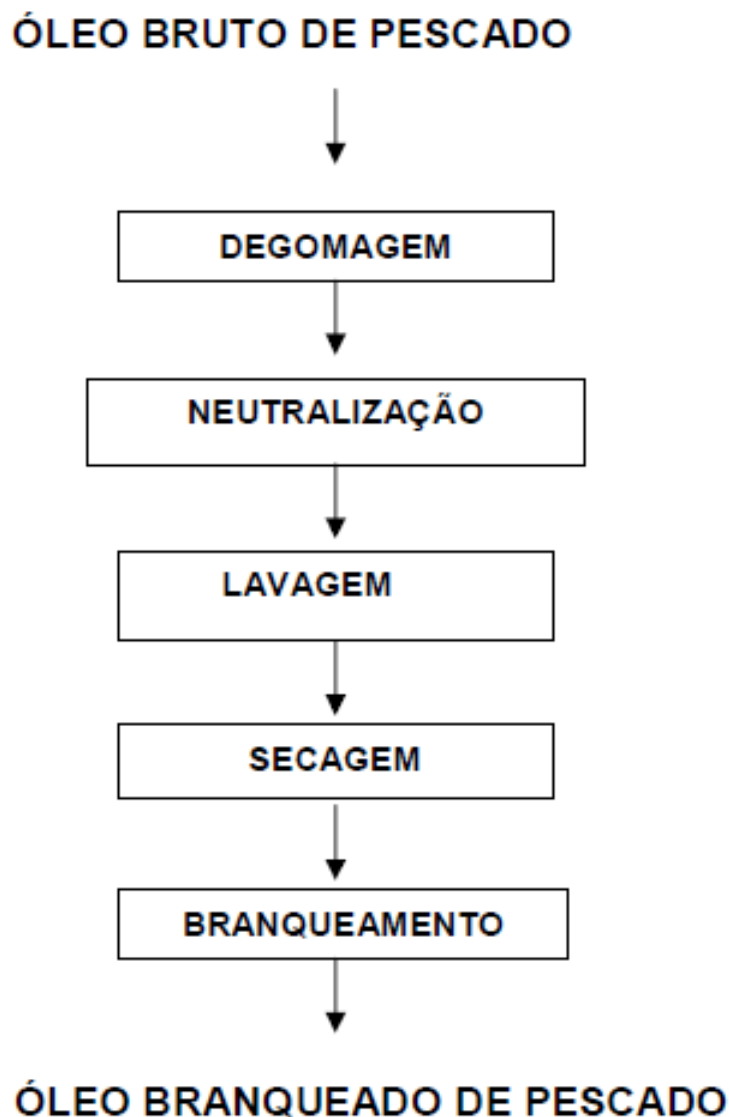
Fonte: Adaptado de Monte (2010)

4.2.2 Refino do óleo de pescado

O refino do óleo bruto foi realizado de acordo com as metodologias descritas por Crexi et al. (2010) e Monte et al. (2015), sendo composto pelas etapas de degomagem, neutralização, lavagem e branqueamento, conforme pode ser observado na Figura 10. Na etapa de degomagem foi adicionado ao óleo aquecido (80 °C) 1% de ácido fosfórico em relação à massa de óleo utilizada, mantendo-se este sob agitação (600 rpm) e vácuo (710

mmHg) durante 30 min. Em seguida, o óleo foi resfriado até 35°C sob vácuo (710 mmHg), seguida de centrifugação à 7000×g por 20 min para separação das gomas.

Figura 10 - Fluxograma das etapas do refino do óleo bruto de pescado



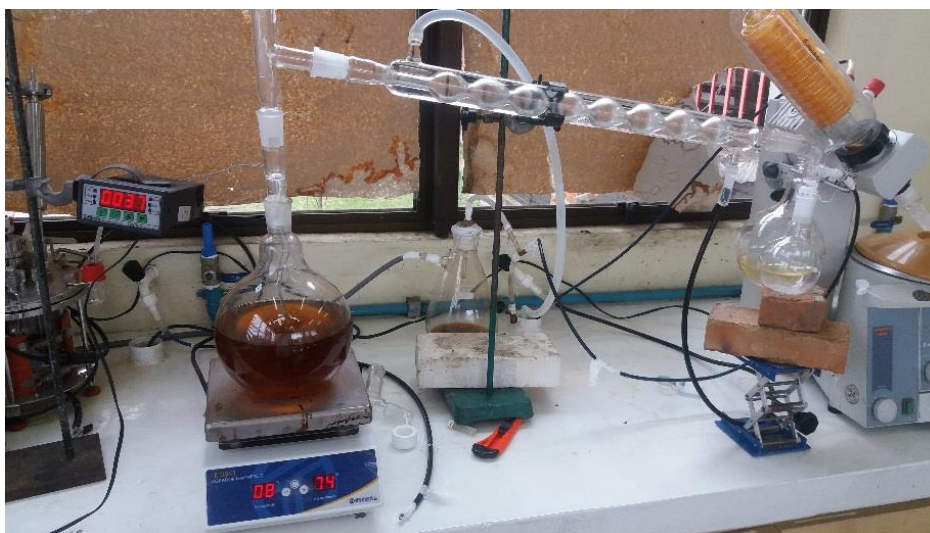
Fonte: Monte (2010)

Na etapa de neutralização, o óleo foi aquecido a uma temperatura de 40°C sob as mesmas condições de vácuo e de rotação utilizadas na degomagem. A este foi adicionado solução de NaOH 20 % m/m (na quantidade estequiométrica necessária para neutralizar os ácidos graxos livres presentes no óleo mais 4% de excesso em relação à acidez livre determinada após a degomagem). Após neutralização do óleo, a temperatura foi elevada rapidamente a 80 °C a fim de facilitar a separação da borra formada. Então, o óleo foi resfriado até 35 °C, sob vácuo e centrifugado, para separação da borra, por 20 min e 7000×g.

Na etapa de lavagem, o óleo foi aquecido a 95 °C sob vácuo e agitação constante sendo adicionado 10 % de água em relação a massa de óleo, mantendo-se um tempo de contato de 10 min. Esta etapa foi realizada três vezes. A etapa de desumidificação foi realizada através do aquecimento do óleo neutralizado até 90 °C, sob vácuo de 710 mmHg e agitação de 100 rpm, até completa evaporação da água (aproximadamente 10 min). Após este período, o óleo foi resfriado até a temperatura de 35 °C mantendo-se o vácuo constante.

A etapa de branqueamento subdividiu-se em duas etapas. Na primeira etapa, foi realizada a clarificação do óleo, sob temperatura de 70 °C, 40 rpm, vácuo de 710 mmHg e adição de 2 % de adsorvente (mistura de terra ativada e carvão ativado na relação de 9:1), durante um tempo de contato de 20 min. Após, o óleo foi filtrado em funil de Buchner com uma pré-capa de terra diatomácea. Parte do óleo branqueado obtido foi utilizado na transesterificação e hidrólise química a fim de serem obtidos os ésteres e os ácidos graxos livres de pescado. O equipamento utilizado nos experimentos do processo de refino está apresentado na Figura 11.

Figura 11 - Equipamento utilizado no refino do óleo de pescado



O rendimento do processo de refino foi expresso pela percentagem de óleo branqueado obtida em relação à quantidade de óleo bruto utilizada, mostrado na Equação 2.

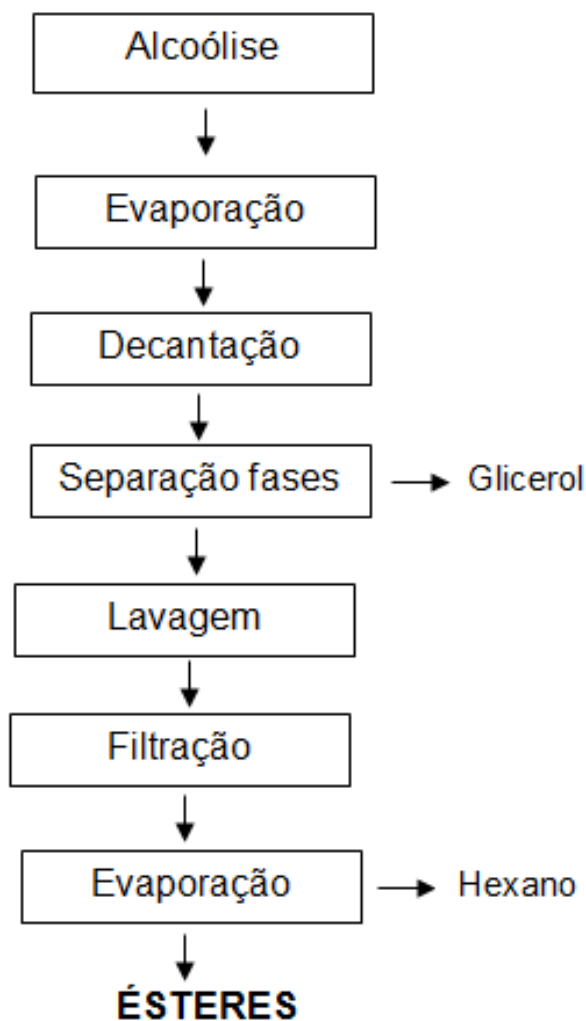
$$\% \text{produção} = \frac{m_{OB1}}{m_{OB}} \times 100 \quad (2)$$

sendo m_{OB1} a massa de óleo branqueado obtida após o refino e m_{OB} a massa de óleo bruto inicial.

4.2.3 Alcoólise química

O processo de obtenção dos ésteres pode ser observado na Figura 12. Inicialmente, foi adicionado ao reator contendo o óleo branqueado antioxidante BHT (400 ppm) e solução de catalisador (KOH) em álcool etílico anidro (22% em reação à massa de óleo), mantendo-se o sistema sob agitação de 600 rpm, temperatura de 60 °C e vácuo de 400 mmHg.

Figura 12 - Processo de obtenção de ésteres e ácidos graxos livres de óleo de pescado



Ao final da reação, a mistura obtida a partir da alcoólise foi transferida para rotaevaporador a fim de ser removido o excesso de álcool, e após esta foi transferida para um

funil de decantação durante um período de 24 h. Ao final deste período, formam-se duas fases. A fase inferior (glicerol) foi separada, e a fase superior (ésteres) foi lavada com hexano e água destilada (60°C). Ao final, os ésteres foram filtrados em sulfato de sódio anidro a fim de ser removida a umidade remanescente e o hexano removido em rotaevaporador.

4.2.4 Reação de interesterificação

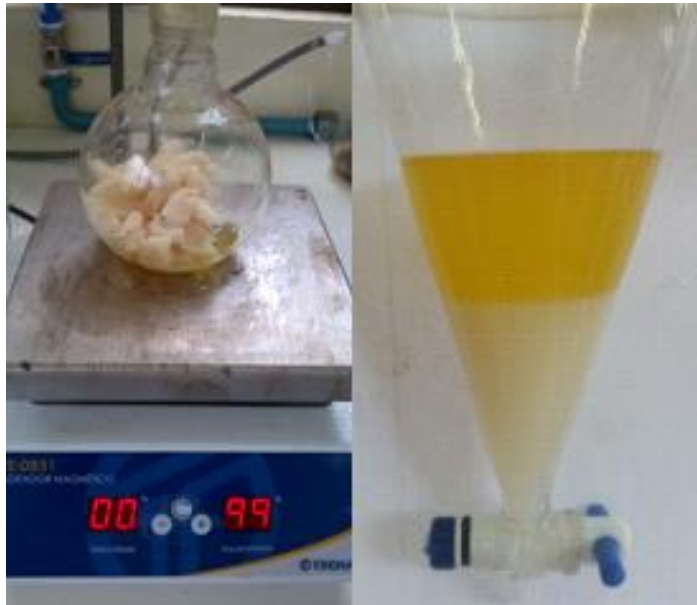
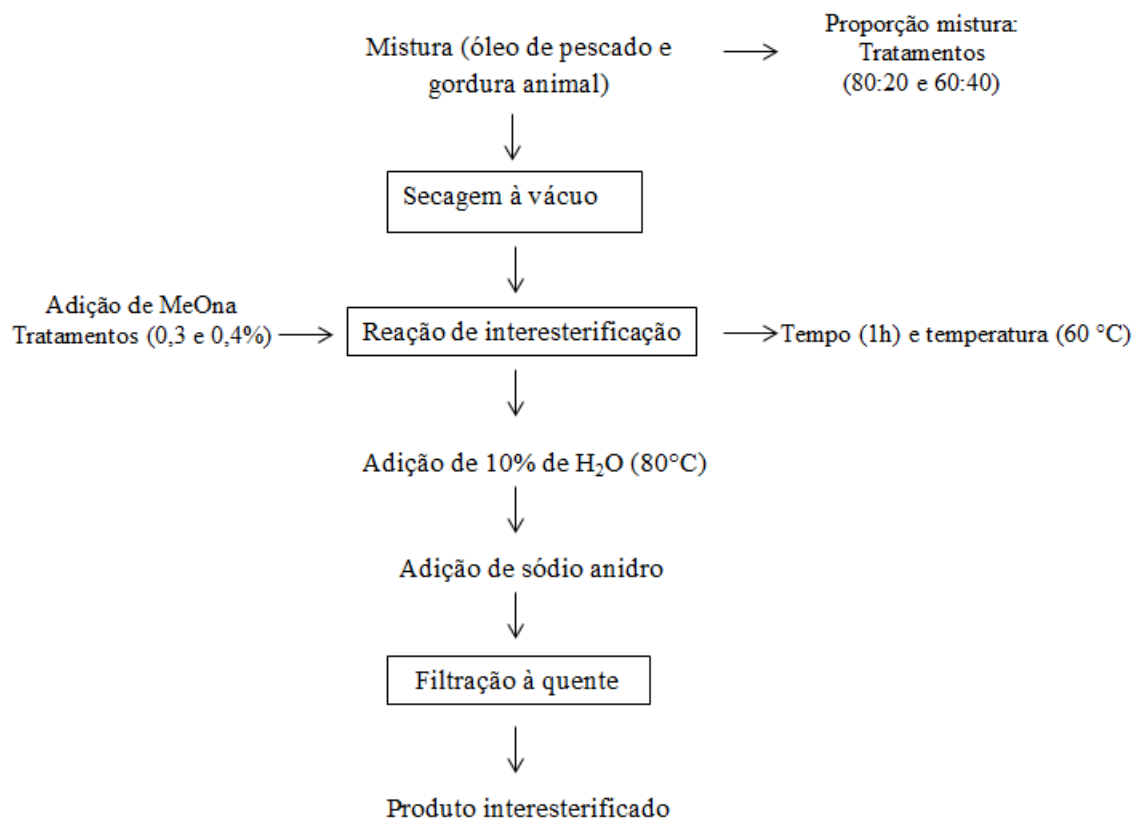
Para a realização da mistura e reação de interesterificação, as condições da reação quantidade de catalisador e proporção das misturas (blendas de banha suína:óleo de pescado; blendas de banha suína:ésteres de pescado) foram estudadas através de tratamentos. As condições utilizadas em cada experimento podem ser observadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Tratamentos realizados no processo de interesterificação

Experimentos	Blendas	Proporção blenda (%)	Proporção de catalisador (%)
1	Banha suína:óleo branqueado	80:20	0,2
2	Banha suína:óleo branqueado	80:20	0,5
3	Banha suína:óleo branqueado	70:30	0,2
4	Banha suína:óleo branqueado	70:30	0,5
5	Banha suína:monoésteres	80:20	0,2
6	Banha suína:monoésteres	80:20	0,5
7	Banha suína:monoésteres	70:30	0,2
8	Banha suína:monoésteres	70:30	0,5

As misturas produzidas nas diferentes proporções foram secas a vácuo por 15 min à temperatura de 95-100 °C (Figura 13 (a)). Logo após as misturas foram interesterificadas, sendo adicionado a essas o catalisador metóxido de sódio, mantendo-se constantes a agitação, a pressão e a temperatura durante a realização de cada reação. A reação foi interrompida através da adição de água destilada (10%) a 80 °C (Figura 13 (b)).

A fim de minimizar o escurecimento decorrente desta reação e para reter a umidade foi adicionada sílica em pó e sulfato de sódio anidro, respectivamente. Por fim, foi realizada a filtração a quente, obtendo-se ao final o produto interesterificado. Na Figura 14 pode ser apresentado o processo de elaboração dos lipídios estruturados.

Figura 13 - (a) Etapa de mistura e (b) finalização da reação de interesterificação**Figura 14** - Esquema da mistura e reação de interesterificação química

4.2.5.1 Análise estatística

Para a realização da mistura e reação de interesterificação, as condições da reação interesterificação (quantidade de catalisador) e proporção das misturas (blendas de banha suína:óleo de pescado e blendas de banha suína:ésteres de pescado) foram definidas através de tratamentos. As quantidades de catalisador e proporção da blenda utilizados no processo de interesterificação foram escolhidas de acordo com dados apresentados na literatura (SILVA; GIOIELLI, 2006; D'AGOSTINI, 2001), sendo estes: quantidade de catalisador (0,2% e 0,5% m/m) e proporção da mistura da gordura animal com o óleo de pescado e mistura da gordura animal com ésteres de pescado (m/m) (80:20 e 70:30). O efeito de cada uma das variáveis estudadas foi determinado a partir de análise de variância (ANOVA) ao nível de 95% de confiança ($p < 0,05$). Os lipídios estruturados obtidos foram avaliados através das respostas das análises físico-químicas e térmicas, a fim de serem determinadas possíveis aplicações.

4.3 ANÁLISES TÉRMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS

4.3.1 Análises de caracterização das vísceras, do óleo de pescado, ésteres, misturas e lipídios estruturados

As vísceras da carpa foram caracterizadas em relação ao teor de umidade (método 925.10), teor de cinzas (método 945.46) e teor de proteínas (método 960.52) de acordo com a metodologia proposta pela AOAC (1995). O conteúdo lipídico foi determinado pelo método de Bligh e Dyer (1959).

Os óleos de pescado, ésteres, misturas e lipídios estruturados foram caracterizados em relação aos índices de acidez (IA) (método Ca 5a - 40), de peróxido (IP) (método Cd 8-53), de saponificação (IS) (método Cd 3-25), de iodo (II) (método Cd 1-25), de p-anisidina (IAN) (método Cd 18-90) e massa específica (ρ) (método Cc 10a-25), conforme proposto pela AOCS (1980).

O índice de acidez foi convertido para percentual de ácidos graxos livres (% AGL) pela expressão: $(\% \text{AGL} = 0,503 \times \text{IA})$. O valor de Totox indica a oxidação total de hidrocarbonetos (produtos de oxidação primária e secundária), e foi calculado somando duas vezes o índice de peróxido e uma vez o índice de p-anisidina ($\text{Totox} = (2 \times \text{IP}) + \text{IAN}$). A cor foi determinada utilizando o método Lovibond (Lovibond Color Staler Tintometer, modelo F, Amesbury, Reino Unido), fixando a cor amarela em 20 unidades e variando a cor vermelha.

Além dessas análises, as amostras foram caracterizadas em relação às análises térmicas, de infravermelho e ponto de fusão.

4.3.2 Avaliação da reação de mistura e interesterificação

A avaliação da mistura e da reação de interesterificação foi realizada através das análises físico-químicas de posição dos ácidos graxos no triacilglicerol, conteúdo de gordura sólida e através das análises térmicas de ponto de fusão e degradação destas.

4.3.2.1 Distribuição dos ácidos graxos nas posições sn-1,3 e sn-2

O percentual de ácidos graxos saturados e insaturados presentes nas posições sn-1,3 e sn-2 do triacilglicerol foi realizada através de ressonância magnética nuclear (RMN) Os espectros de RMN foram obtidos num espectrômetro de campo elevado (Bruker, modelo Ascend 400 MHz, Rheinstetten, Alemanha) com imã de 9,4 Tesla, correspondendo a 100 MHz para ^{13}C , utilizando uma sonda de 5 mm de diâmetro. Para obter os espectros foi utilizada uma sequência padrão de ^{13}C -NMR, composta por um pulso de 30° com um tempo de aquisição de 1363 ms, 4000 varreduras e janela espectral de 24,03 kHz (SOON, 1985).

4.3.2.2 Calorimetria diferencial exploratória (DSC)

O ponto de fusão das amostras foi determinado por DSC (modelo Shimadzu DSC-60, Kyoto, Japão), com sistema de resfriamento contendo nitrogênio líquido. A análise foi realizada com 5 mg de amostra, que foram selados hermeticamente em cadinho de alumínio, resfriados até -80°C e depois aquecidos a 80°C à razão de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ (HUANG; SATHIVEL, 2008).

4.3.2.3 Conteúdo de gordura sólida

O conteúdo de gordura sólida (SFC) foi avaliado a partir da integração das curvas DSC e os gráficos dos perfis de fusão foram obtidos traçando o SFC pela temperatura, de acordo com a metodologia proposta por Kathon e Reddy (2005).

4.3.2.4 Identificação dos grupos funcionais

A identificação de grupos funcionais do óleo foi efetuada por espectroscopia de infravermelho (IV) com transformada de Fourier (FT-IR) (Prestige 21 210045, Kyoto, Japão). Sendo que as amostras foram submetidas à determinação espectroscópica na região infravermelha ($600\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$) utilizando a técnica de reflectância atenuada total (GUILLÉN; CABO, 2000).

4.3.2.5 Avaliação da degradação da amostra

A avaliação da perda de massa em função da temperatura foi determinada a partir de curvas termogravimétricas (TG), as quais foram obtidas em uma termobalança com fluxo de nitrogênio 50 mL min^{-1} e uma taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1} . Nesta, as amostras foram colocadas em cadinhos de alumínio e aquecidas na faixa de temperatura de 35 a 550 °C , conforme proposto por Garcia (2004). Para determinar as temperaturas de máxima degradação foram utilizadas as curvas de DTG (Termogravimetria Derivada), as quais são relativas à primeira derivada das curvas termogravimétricas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização das matérias-primas

As vísceras de carpa comum apresentaram teores de umidade $75,8 \pm 0,01\%$, de cinzas de $1,21 \pm 0,08\%$, de proteínas de $10,79 \pm 0,47\%$ e de lipídios de $12,20 \pm 0,52\%$. Resultados semelhantes para as vísceras foram obtidos por Crexi et al (2009), os quais obtiveram teores de 75 % de umidade, 12% de proteínas, 13% de lipídios.

5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

5.2.1 Caracterização dos óleos, ésteres de pescado e banha suína

A eficiência de recuperação de óleo das vísceras foi de 75%, o qual se mostrou inferior aos 82% obtido por Paim et al (2012). Esta diferença foi atribuída à variabilidade existente entre as espécies. O refino químico apresentou um rendimento de 65%, sendo que na etapa de neutralização foram observadas as maiores perdas em massa de óleo (25% m/m). Segundo Gunstone (2002), a borra de neutralização formada na etapa de neutralização além de remover ácidos graxos livres, carrega consigo parte de óleo neutro, diminuindo o rendimento do processo. Na Tabela 4 são mostrados os resultados obtidos da caracterização dos óleos brutos, branqueados e ésteres de pescado, e da banha suína.

O óleo bruto apresentou AGL significativamente superior às demais amostras, o que se deve ao fato das vísceras apresentarem grande quantidade de enzimas endógenas, que são responsáveis pela degradação de proteínas e lipídios, fazendo com que óleo proveniente das vísceras apresente naturalmente maior percentual de ácidos graxos livres (FELTES et al, 2010; REECE, 1981). Em relação ao óleo branqueado, pode-se observar que o processo de refino reduziu o conteúdo de AGL de forma significativa ($p < 0,05$), e abaixo do máximo permitido pela FDA (1% ácido oleico) (BRASIL, 1999).

Esta redução pode ser explicada pelo fato da etapa da neutralização ter como objetivo a remoção dos AGL presentes no óleo. Além disso, e na etapa de branqueamento são removidos resíduos de borra de neutralização (ROSSI et al., 2003). Os ésteres apresentaram acidez semelhante ao óleo branqueado, demonstrando que o processo de transesterificação não afetou a qualidade do óleo neste quesito. A banha suína apresentou AGL de acordo com o estabelecido pela legislação vigente, que é de 3% ácido oleico (RIISPOA, 2011).

Tabela 4 - Caracterização físico-química do óleo bruto, óleo branqueado e ésteres de pescado, e da banha suína

	Óleo bruto	Óleo branqueado	Ésteres	Banha suína
AGL (% ácido oléico)	4,80 ± 0,03 ^a	0,24 ± 0,04 ^b	0,19 ± 0,01 ^b	0,24 ± 0,04 ^b
IP (meq _{peróxido} kg ⁻¹ _{óleo})	3,92 ± 0,12 ^a	1,99 ± 0,02 ^b	3,55 ± 0,04 ^c	6,30 ± 0,20 ^d
IAN	8,48 ± 0,21 ^a	5,25 ± 0,41 ^b	6,63 ± 0,06 ^c	6,23 ± 0,11 ^c
Totox	16,32 ± 0,15 ^a	9,23 ± 0,20 ^b	13,73 ± 0,05 ^c	18,83 ± 0,21 ^d
Cor Lovibond (20 A) V	3,30 ± 0,01 ^a	0,50 ± 0,10 ^b	0,70 ± 0,22 ^b	0,80 ± 0,13 ^b
II (cg _{I₂} g ⁻¹)	115 ± 2 ^a	113 ± 3 ^a	110 ± 3 ^a	70 ± 1 ^b
IS (mg _{KOH} g ⁻¹)	196 ± 1 ^a	195 ± 2 ^a	194 ± 2 ^b	190 ± 1 ^c
ρ (kg m ⁻³)	920 ± 20 ^a	920 ± 10 ^a	930 ± 10 ^a	960 ± 10 ^b

Valor médio ± desvio padrão (n=3). AGL: ácidos graxos livres; IP: índice de peróxido; IAN: índice de p-anisidina; Totox: conteúdo de oxidação total; A: amarelo; V: vermelho ; II: índice de iodo; IS: índice de saponificação; ρ: massa específica; Letras com sobrescritos diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa (P < 0,05).

O IP refere-se ao estágio inicial da oxidação lipídica, sendo importante na determinação do estado da deterioração de óleos e gorduras. O valor de p-anisidina também se refere ao estado de conservação do óleo, entretanto, refere-se ao estágio de oxidação secundária destes (MANRAL et al., 2008; SILVA et al, 1998). Em relação aos índices de peróxido e anisidina dos óleos bruto e branqueado, pode-se observar que estes também foram reduzidos significativamente e estão de acordo com os níveis exigidos pela FDA (10 meq/kg_{óleo}) após o processo de refino, visto que os adsorventes utilizados na etapa de branqueamento auxiliam na remoção de compostos de oxidação, como os peróxidos e cetonas (PESTANA-BAUER, 2012). O Totox refere-se ao estado total de oxidação do óleo (oxidação primária e secundária) e de acordo com a FAO (2015) este parâmetro deve ser de no máximo 26 para óleos de pescado. Da mesma forma como as demais matérias primas, a banha apresentou índice de peróxido de acordo com os padrões exigidos pela legislação (10 meq/kg_{óleo}).

Segundo Reece (1981), o óleo bruto de pescado apresenta uma coloração escura, devido a presença de ácidos graxos livres, peróxidos, entre outros produtos de oxidação. Além disso, o óleo apresenta grandes quantidades de carotenoides, mostrando coloração que vai do espectro vermelho ao amarelo (DAVIES, 2004). Em relação à cor Lovibond, o processo de refino reduziu a coloração do óleo branqueado em 85%, alcançando níveis especificados pelo

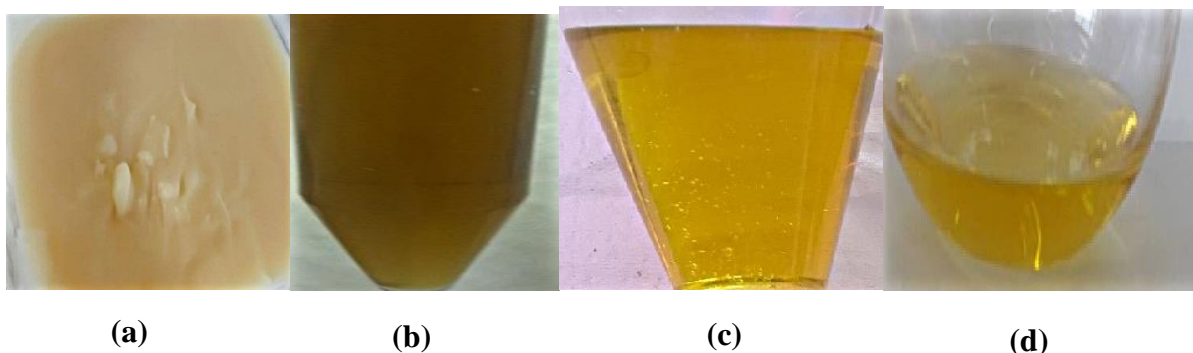
FDA (máx. 5 V).

O II está relacionado com o grau de insaturação do óleo, enquanto que o IS indica a massa molar média dos ácidos graxos esterificados ao glicerol (AOCS, 1980). No que diz respeito a estes índices (Tabela 4), não houveram variações significativas ($p > 0,05$) ao longo do processo de refino (óleo bruto e óleo branqueado), visto que as etapas que compõe este processo não alteram a composição de ácidos graxos dos triacilgliceróis. Em relação aos ésteres de pescado, também não foram observadas variações significativas. Ritter et al. (2015) em seus estudos sobre a obtenção de ésteres a partir de triacilgliceróis de pescado observaram que o perfil de ácidos graxos não é alterado durante o processo de transterificação.

A comparação da banha suína com as demais matérias primas, revelou que esta apresentou menor II e diferente significativamente ($p < 0,05$) das demais, o que está associado ao fato da banha suína ser composta em grande parte por ácidos graxos saturados (GUNSTONE, 2002). A massa específica, segundo Fennema et al., (2010), está relacionada com a estrutura molecular do óleo, sendo que ácidos graxos que não contem insaturações possuem maior facilidade de empacotamento intermolecular, resultando em menor volume e maior massa específica. Isto foi notado neste estudo, onde os óleos de pescado apresentarem maior índice de iodo, e por consequência menor massa específica.

Cabe ressaltar também que os ésteres obtidos do óleo branqueado apresentaram uma maior massa específica, resultante do processo de alcoólise. Segundo Oliveira et al. (2012), no biodiesel a diminuição das ligações de hidrogênio causado pela esterificação resulta em um ligeiro aumento de densidade pelo aumento do empacotamento dos ácidos graxos após a retirada do glicerol. Na Figura 15 podem ser observados a banha suína, o óleo bruto, branqueado e ésteres de pescado, respectivamente.

Figura 15 - (a) Banha suína, (b) óleo bruto, (c) óleo branqueado e (d) ésteres de pescado.



5.2.2 Caracterização das misturas e lipídios estruturados

Na Tabela 5 podem ser observados os resultados obtidos a partir da caracterização físico-química das blendas de óleo:banha suína e ésteres:banha suína antes e após a reação de interesterificação, respectivamente.

Tabela 5 – Caracterização das misturas antes da reação de interesterificação

	Mistura 80:20		Mistura 70:30	
	Banha: óleo	Banha: ésteres	Banha: óleo	Banha: ésteres
AGL (%ácido oléico)	0,33 ± 0,03 ^a	0,28 ± 0,01 ^a	0,28 ± 0,04 ^a	0,24 ± 0,01 ^a
IP (meq _{peróxido} kg ⁻¹ óleo)	6,25 ± 0,20 ^a	6,40 ± 0,11 ^a	6,10 ± 0,30 ^a	6,30 ± 0,24 ^a
IAn	8,40 ± 0,10 ^a	7,86 ± 0,04 ^b	8,60 ± 0,20 ^a	6,51 ± 0,40 ^c
Totox	20,90 ± 0,13 ^a	20,66 ± 0,19 ^a	20,80 ± 0,16 ^a	19,31 ± 0,61 ^a
Cor Lovibond (20 A) V	0,50 ± 0,10 ^a	0,60 ± 0,16 ^a	0,50 ± 0,14 ^a	0,60 ± 0,13 ^a
II (cg _{I₂} g ⁻¹)	73 ± 1 ^b	72 ± 1 ^b	88 ± 1 ^a	86 ± 1 ^a
IS (mg _{KOH} g ⁻¹)	191 ± 2 ^a	195 ± 2 ^a	193 ± 1 ^a	194 ± 2 ^a
ρ (kg m ⁻³)	960 ± 10 ^a	960 ± 10 ^a	960 ± 10 ^a	960 ± 10 ^a

Valor médio ± desvio padrão (n=3). AGL: ácidos graxos livres; IP: índice de peróxido; IAn: índice de p-anisidina; Totox: conteúdo de oxidação total; A: amarelo; V: vermelho ; II: índice de iodo; IS: índice de saponificação; ρ: massa específica; Letras com sobrescritos diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa (P< 0,05).

A partir dos dados apresentados na Tabela 5 observa-se que em relação aos teores de AGL, de peróxidos e de Totox, as misturas não apresentaram diferença significativa entre si (p>0,05). Em comparação com as matérias prima (Tabela 4), as misturas apresentaram características semelhantes as da banha suína (AGL, IP, ρ), o que pode ser explicado devido a maior proporção de banha suína nas misturas. Em relação à cor, não houveram variações significativas nas misturas. O aumento da proporção de óleo de pescado levou ao aumento no II, indicando a presença de maiores quantidades de ácidos graxos insaturados na mistura. Não foram observadas diferenças significativas no IS. Na Tabela 6 podem ser observados os resultados obtidos a partir da caracterização dos lipídios estruturados produzidos.

Os lipídios estruturados mantiveram os ácidos graxos livres e os produtos de oxidação dentro dos níveis especificados pela legislação. Os teores de AGL, IP e IAn foram

menores quando se fez uso de maiores quantidades de catalisador, o que pode estar associado ao fato deste ter a tendência de se ligar aos ácidos graxos livres e peróxidos presentes no meio (D'AGOSTINI, 2001).

Os valores de II dos lipídios estruturados apresentaram resultados semelhantes entre si e em relação a banha suína. Através dos dados pode-se observar também que, independente da matéria prima (óleo ou ésteres de pescado), o II foi maior para os experimentos que utilizaram proporções de 70:30. Além disso, os valores de II das misturas antes da adição de catalisador foram semelhantes aos lipídios estruturados obtidos após a adição de catalisador. O mesmo comportamento foi observado por Gioielli et al. (2006) estudando a obtenção de lipídios estruturados por interesterificação de óleo de soja e banha suína. Os lipídios estruturados apresentaram IS e massa específica semelhante ao da banha suína, o que se justifica por esta conter a maior parte da blenda.

A análise de variância revelou que proporção de catalisador apresentou efeito significativo ($p < 0,05$) e negativo sobre os valores de acidez. Assim, o aumento da quantidade de catalisador ocasionou a diminuição dos valores de AGL. Em relação ao II foi observado que apenas a proporção da mistura apresentou efeito positivo e significativo ($p < 0,05$) indicando que maiores quantidades de óleo e ésteres de pescado na blenda proporcionaram o aumento do II, o que é justificado pelo fato do óleo de pescado ser uma importante fonte de ácidos graxos insaturados (RITTER et al., 2015).

Tabela 6 - Caracterização dos lipídios estruturados produzidos

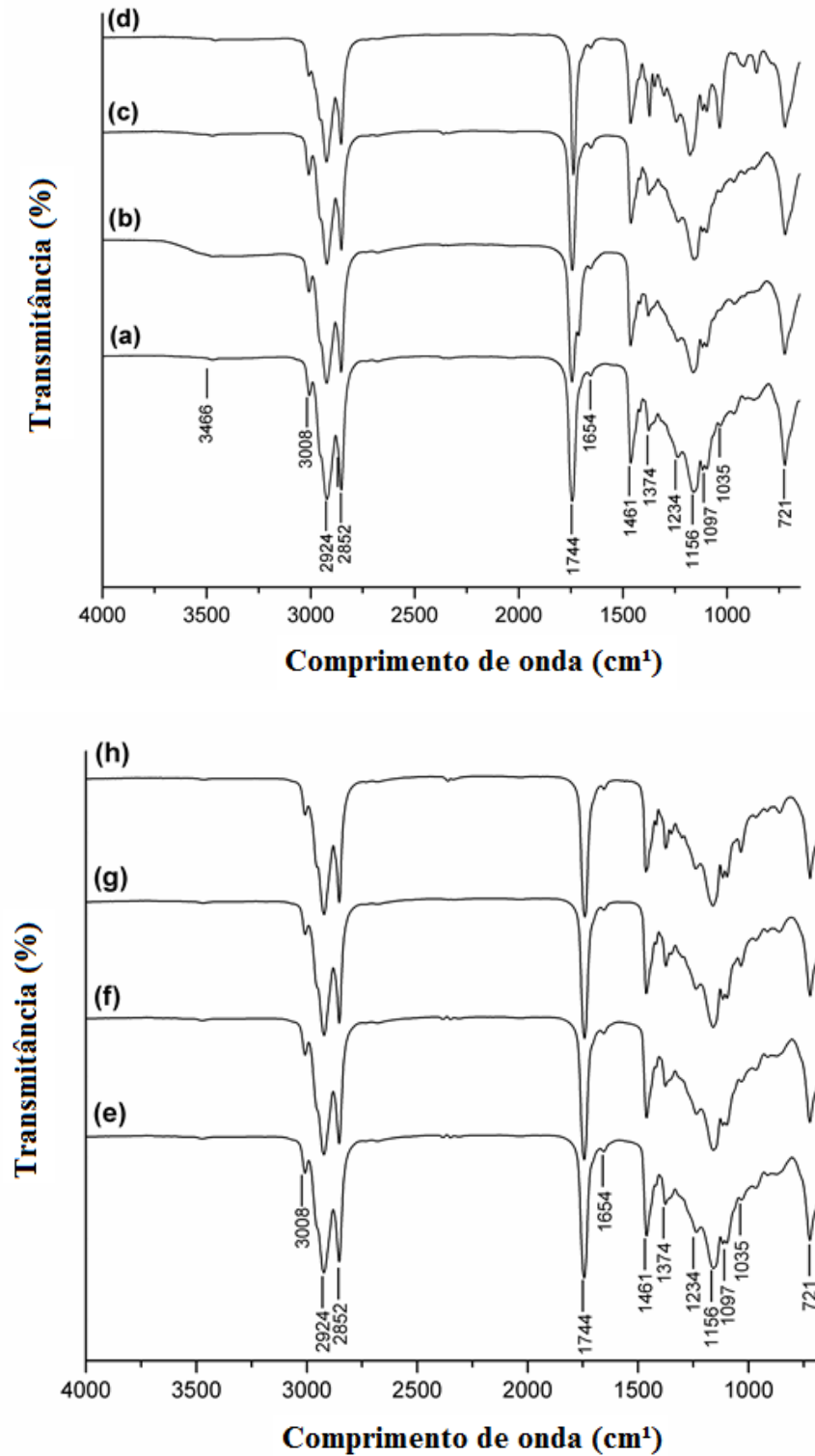
	Exp. 1	Exp. 2	Exp.3	Exp.4	Exp.5	Exp. 6	Exp. 7	Exp. 8
AGL (%ácido oleico);	0,19 ± 0,05 ^a	0,16 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,05 ^a	0,13 ± 0,14 ^a	0,16± 0,05 ^a	0,15± 0,05 ^a	0,13± 0,05 ^a	0,10± 0,05 ^a
IP (meq _{peróxido} kg ⁻¹ óleo)	6,50 ± 0,14 ^a	6,25 ± 0,04 ^a	6,66 ± 0,03 ^a	6,45 ± 0,12 ^a	6,85 ± 0,12 ^a	6,57 ± 0,15 ^a	6,40 ± 0,20 ^a	6,25 ± 0,11 ^a
IAn	9,70 ± 0,03 ^a	9,20 ± 0,01 ^a	7,42 ± 0,04 ^b	7,26 ± 0,07 ^b	8,55 ± 0,20 ^c	8,02 ± 0,30 ^c	7,40 ± 0,17 ^b	7,10 ± 0,12 ^b
Totox	22,70 ±	21,70 ± 0,02 ^a	20,58 ± 0,02 ^b	20,32 ± 0,09 ^b	22,75 ± 0,17 ^a	21,16 ± 0,19 ^b	20,20 ± 0,13 ^b	19,90 ± 0,11 ^b
II (cgI ₂ g ⁻¹);	74 ± 1 ^c	79 ± 1 ^b	85 ± 1 ^a	87 ± 1 ^a	73 ± 1 ^c	75 ± 2 ^c	85 ± 1 ^a	87 ± 1 ^a
IS (mg _{KOH} g ⁻¹)	190 ± 1 ^b	191 ± 1 ^b	190 ± 1 ^b	191 ± 2 ^{ab}	195 ± 2 ^a	196 ± 1 ^a	194 ± 1 ^a	195 ± 1 ^a
ρ (kg m ⁻³)	960 ± 20 ^a	960 ± 10 ^a	960 ± 10 ^a	960 ± 20 ^a	960 ± 20 ^a	960 ± 20 ^a	960 ± 10 ^a	960 ± 10 ^a

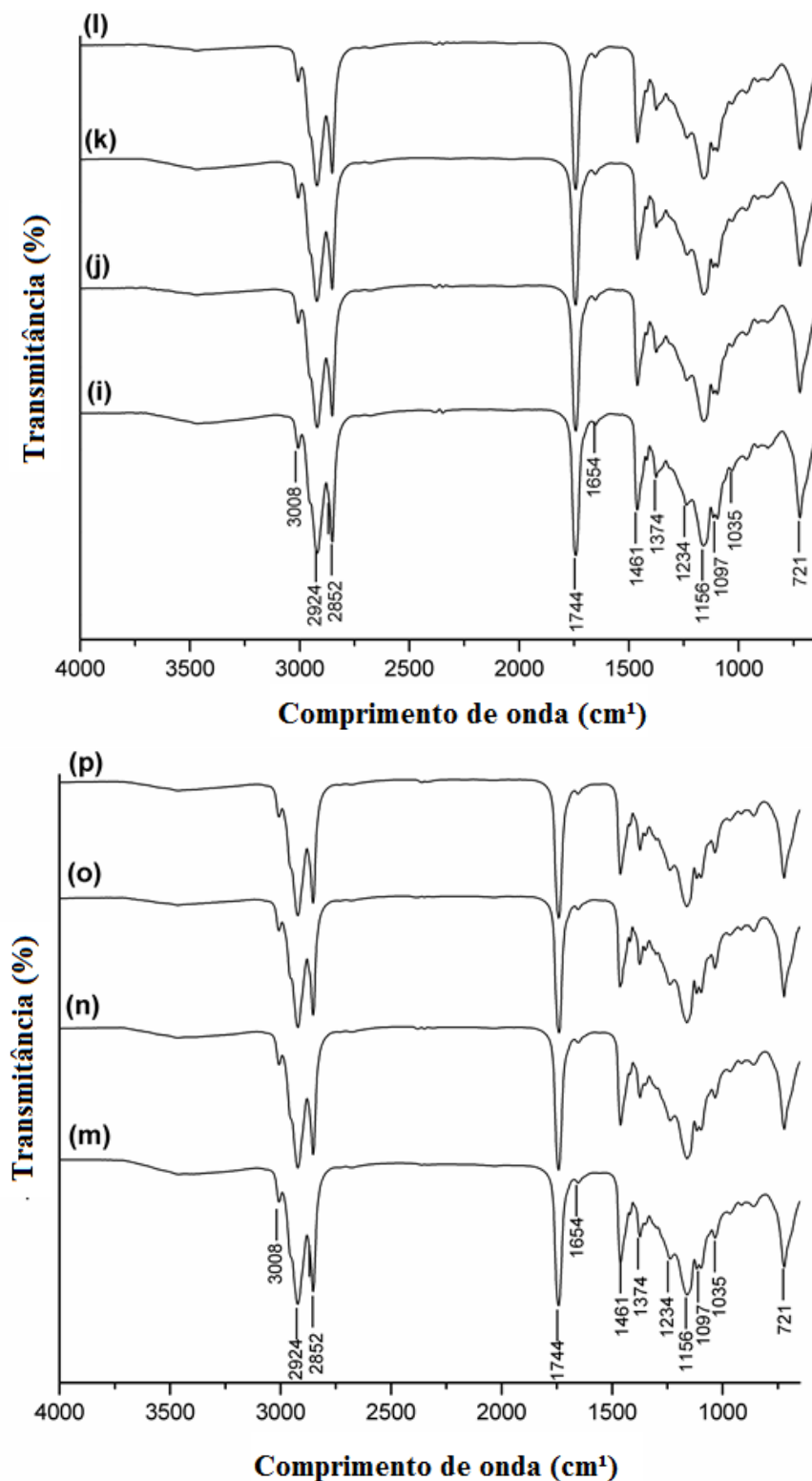
Valor médio ± desvio padrão (n=3). AGL: ácidos graxos livres; IP: índice de peróxido; IAn: índice de p-anisidina; Totox: conteúdo de oxidação total; A: amarelo; V: vermelho ; II: índice de iodo; IS: índice de saponificação; ρ: massa específica; Letras com sobrescritos diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa (p< 0,05).

5.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO FT-IR

Na Figura 16 são apresentados os espectros vibracionais da banha suína, óleo bruto, óleo bruto e ésteres de pescado, misturas e lipídios estruturados produzidos, respectivamente.

Figura 16 - Espectros vibracionais das matérias primas, misturas e lipídios estruturados





- (a) banha suína; (b) óleo bruto; (c) óleo branqueado; (d) ésteres de pescado; (e) mistura 80:20 banha:óleo branqueado; (f) mistura 70:30 banha:óleo branqueado; (g) mistura 80:20 banha:ésteres; (h) mistura 70:30 banha:ésteres; (i) Experimento n° 1; (j) Experimento n° 2; (k) Experimento n° 3; (l) Experimento n° 4; (m) Experimento n° 5; (n) Experimento n° 6; (o) Experimento n° 7; (p) Experimento n° 9.

Os espectros das amostras apresentaram bandas características de óleos e gorduras. As bandas observadas em 2924 e 2852 cm⁻¹ referem aos estiramentos simétricos e

assimétricos do CH₂. As bandas observadas em 1744 cm⁻¹ referem-se à vibração axial do grupo carbonila (C=O) dos ésteres, sendo característica dos triacilgliceróis. As bandas observadas em 1654 são atribuídas ao estiramento vibracional das ligações duplas entre carbonos (C=C). As banda em torno de 1461 cm⁻¹ e 1374 cm⁻¹ referem-se à deformação angular do tipo tesoura dos grupos CH₂ e CH₃, respectivamente. Já as bandas observadas entre 1234, 1158 e 1097 cm⁻¹ estão relacionadas com a vibração dos grupos éster C-O. Por volta de 721 cm⁻¹ para todas as amostras, foram observadas bandas referentes as deformações angulares do tipo *rocking* dos grupamentos HC=CH (cis) (GUILLÉN; CABO, 2000).

Na curva dos ésteres (Figura 16 (d)) pode ser observada uma banda bem pronunciada em torno de 1035 cm⁻¹, que se refere as vibrações de estiramentos assimétricos da ligações O-C-C. Essas bandas não foram observadas nas curvas dos triacilgliceróis (Figura 16 ((a), (b), (c))), pois são bandas características de ésteres metílicos (GUILLÉN; CABO, 2000). Cabe ressaltar também que no espectro do óleo bruto (Figura 1(b)) foi observada uma em 3466 cm⁻¹ relacionada com o estiramento vibracional OH. Esta banda pode indicar a presença de compostos polares no óleo, como peróxidos, hidroperóxidos ou traços de água provenientes da lavagem do óleo na etapa de neutralização (POHNDORF et al., 2016). Ao comparar esta curva com a curva do óleo branqueado (curva c) observou-se que esta banda desapareceu.

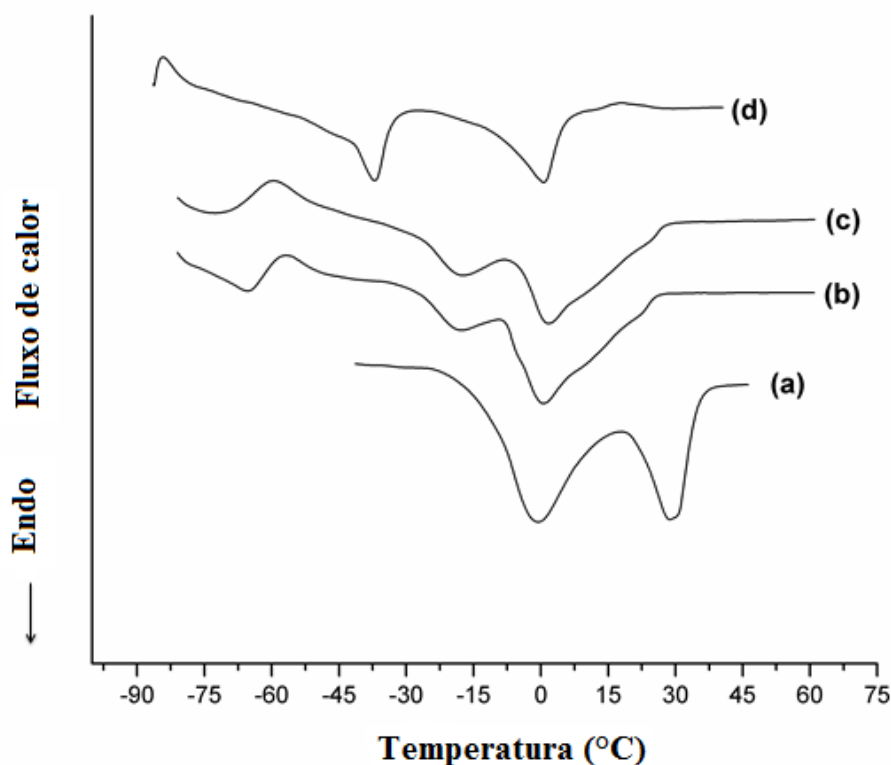
5.4 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

Na Figura 17 podem ser observadas as curvas de fusão das matérias primas: banha suína, óleo bruto, óleo branqueado e ésteres de pescado. A banha suína é composta por cerca de 42% de ácidos graxos saturados, com destaque para os ácidos palmítico (25%) e esteárico (13%) e cerca de 53% de ácidos graxos insaturados, dentre os quais cita-se o ácido oleico (42%) (Silva et al., 2009). A partir da curva da banha suína (curva a) observa-se a presença de dois picos nas temperaturas de -0,1 °C e 30 °C, os quais estão relacionados aos altos teores de ácido oleico e palmítico, respectivamente.

Os principais ácidos graxos presentes no óleo bruto de carpa são o C18:1 ω9 (oléico), C16:0 (palmítico), C16:1 (palmitoléico), C18:2 ω-6 (linoleico), C18:3 ω-3 (linolênico), os quais representam 67% do total de ácidos graxos presentes no óleo bruto de carpa (CREXI et al., 2009). A partir do termograma do óleo de carpa (curva b) pode-se observar que este apresentou três picos diferentes, em torno de -60 °C, -20 °C e -1 °C. O primeiro pico foi atribuído ao ponto de fusão de ácidos graxos poli-insaturados, como os

ácidos graxos da família ω -3 (EPA e DHA). O segundo e terceiro picos estão associados aos pontos de fusão dos ácidos linoleico e oleico, respectivamente. A fusão do óleo de carpa compreendeu um intervalo de temperatura de $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. A curva do óleo branqueado (curva c) apresentou pouca alteração em relação ao óleo bruto, evidenciado por três picos bem definidos. As curvas de fusão obtidas foram consistentes com os dados dispostos na literatura para óleos de pescado (HUANG; SATHIVEL, 2008).

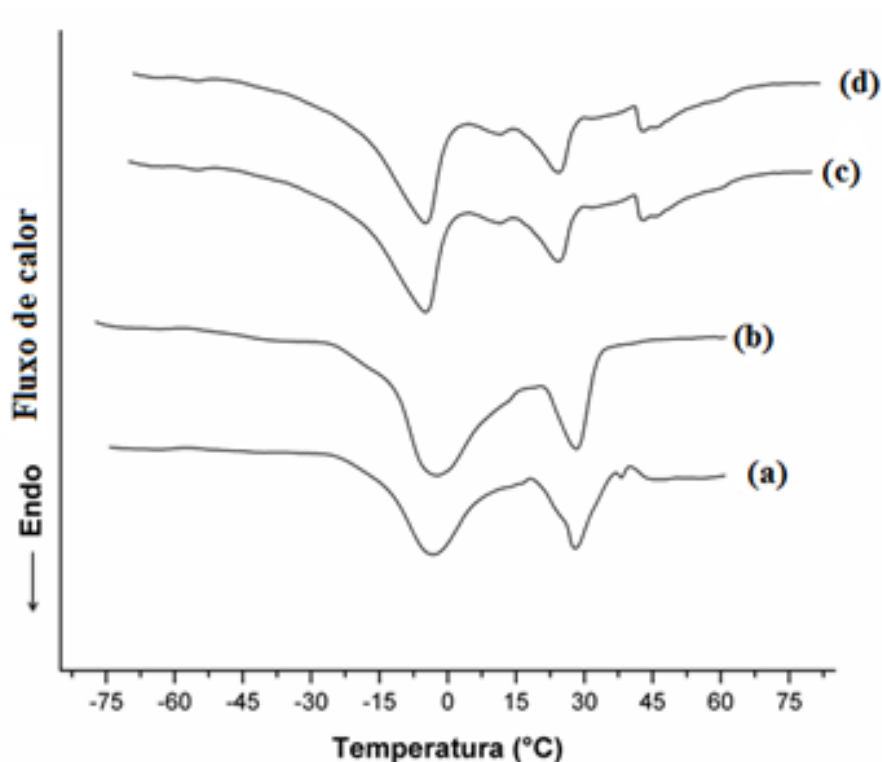
Figura 17 - Curvas de fusão das matérias primas



(a) banha suína; (b) óleo bruto; (c) óleo branqueado; (d) ésteres de pescado

A entalpia do óleo bruto foi de $55,6\text{ kJ kg}^{-1}$ e do óleo branqueado foi de $52,6\text{ kJ kg}^{-1}$. As variações no valor de entalpia podem ser associadas à remoção de compostos indesejados nas etapas de degomagem (fosfolípidos), neutralização (ácidos gordos livres) e branqueamento (pigmentos). Em relação ao termograma dos ésteres de óleo de carpa (curva d) pode-se observar diferenças quando comparadas com as curvas do óleo branqueado e do óleo bruto, onde dois picos bem definidos foram observados a cerca de $-38\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $-0,3\text{ }^{\circ}\text{C}$. O primeiro pico refere-se ao ponto de fusão dos ácidos gordos poli-insaturados e insaturados, enquanto o segundo pico refere-se ao ácido oleico. Na Figura 18 podem ser observadas as curvas de fusão das blends de banha suína:óleo branqueado e banha suína:ésteres.

Figura 18 – Curvas de fusão das misturas

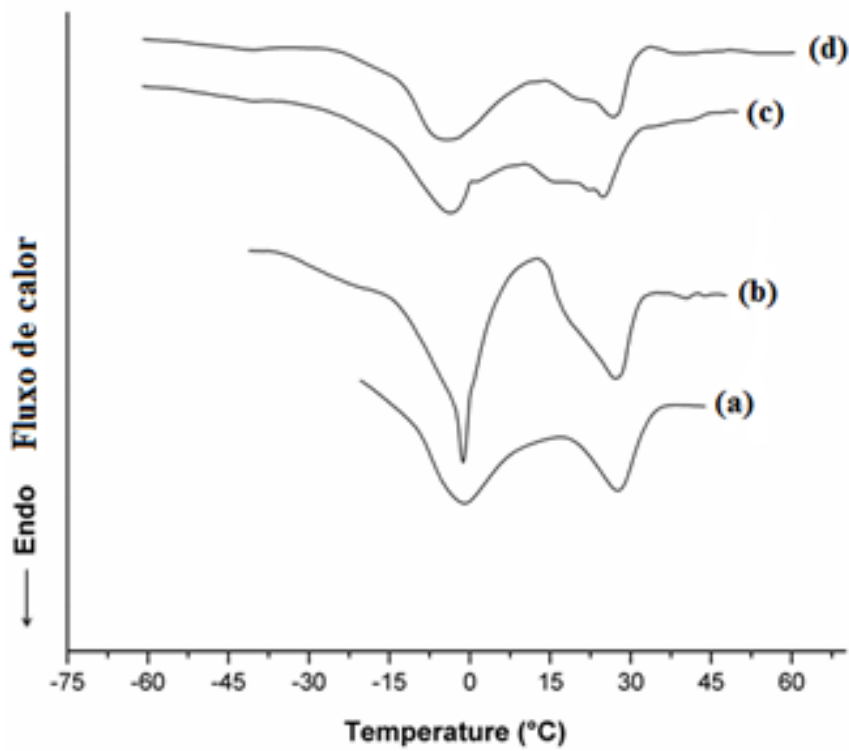


(a) mistura 80:20 banha:óleo branqueado; (b) mistura 70:30 banha:óleo branqueado; (c) mistura 80:20 banha:ésteres; (d) mistura 70:30 banha:ésteres;

A partir das curvas apresentadas na Figura 18 pode-se observar que as misturas apresentaram comportamento de fusão semelhante ao da banha suína, sendo que todas as amostras apresentaram dois picos de fusão bem definidos em temperaturas em torno de 0°C e 30°C, que são relacionados aos ácidos graxos oléico e palmítico, respectivamente. A semelhança das curvas a da banha suína pode ser explicada pelo fato da maior parte da blenda ter sido composta por banha suína. As curvas de fusão dos lipídios estruturados de banha suína:óleo de peixe e as de banha suína:ésteres de peixe podem ser observadas nas Figuras 19 e 20, respectivamente.

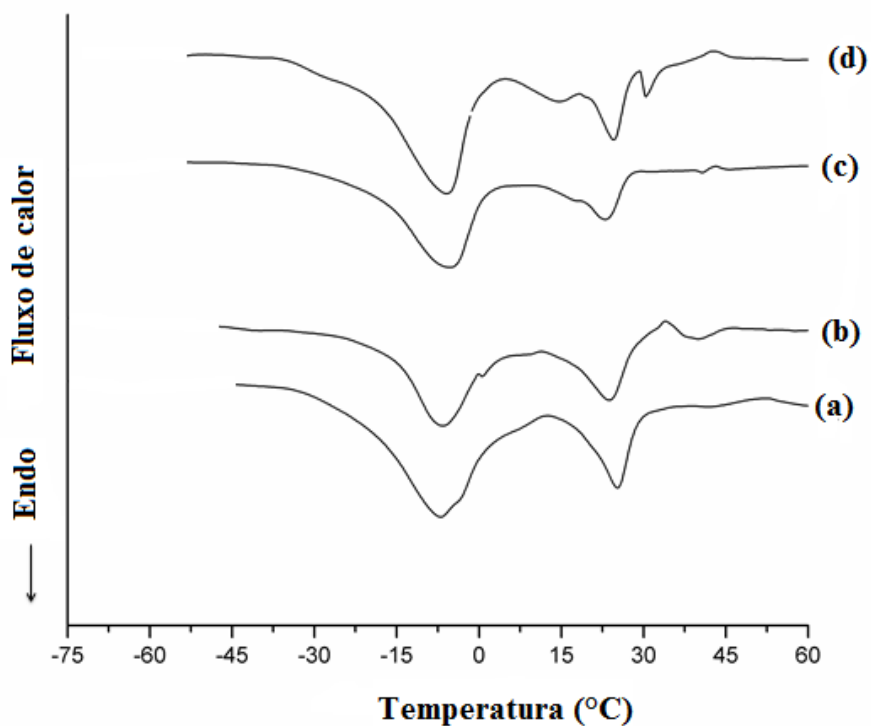
A partir das curvas de fusão dos Experimentos nº 1 (curva a) e nº 2 (curva b) pode-se observar que estas apresentaram um comportamento semelhante e não alteraram suas temperaturas de transição (-1 °C e 30 °C), relacionadas aos ácidos graxos oleico e palmítico, respectivamente. Já nos Experimentos nº 3 (curva c) e nº 4 (curva d) foram observadas reduções das temperaturas de fusão para -5 °C e 25 °C, respectivamente. A partir das curvas de fusão dos lipídios estruturados utilizando ésteres (Figura 17) pode-se observar reduções nas temperaturas de transição dos lipídios estruturados para -7,5 °C e 22 °C, respectivamente.

Figura 19 - Curvas de fusão dos lipídios estruturados de banha suína: óleo de pescado



(a) Experimento nº 1; (b) Experimento nº 2; (c) Experimento nº 3; (d) Experimento nº 4.

Figura 20 - Curvas de fusão dos lipídios estruturados da banha suína: ésteres de pescado



(a) Experimento nº 5; (b) Experimento nº 6; (c) Experimento nº 7; (d) Experimento nº 8.

Estes resultados indicam que, tanto para os lipídios estruturados obtidos a partir de banha suína:óleo branqueado quanto para os obtidos com banha suína:ésteres de pescado, a proporção da blenda apresentou maior influência na alteração do ponto de fusão do que a quantidade de catalisador utilizada. Uma vez que a maior proporção de óleo branqueado/éster de pescado levou a uma redução da temperatura de transição da banha suína. Estudos realizados por Subroto et al. (2013), em relação a interesterificação enzimática de gordura do leite com óleo de pescado demonstraram que a proporção de óleo utilizada influenciava diretamente na composição dos lipídios estruturados, sendo observado que quanto maior a quantidade de gordura adicionada maior era a quantidade de ácidos graxos saturados presentes e, por consequência, maior ponto de fusão.

5.5 TERMOGRAVIMETRIA (TG) E TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (DTG)

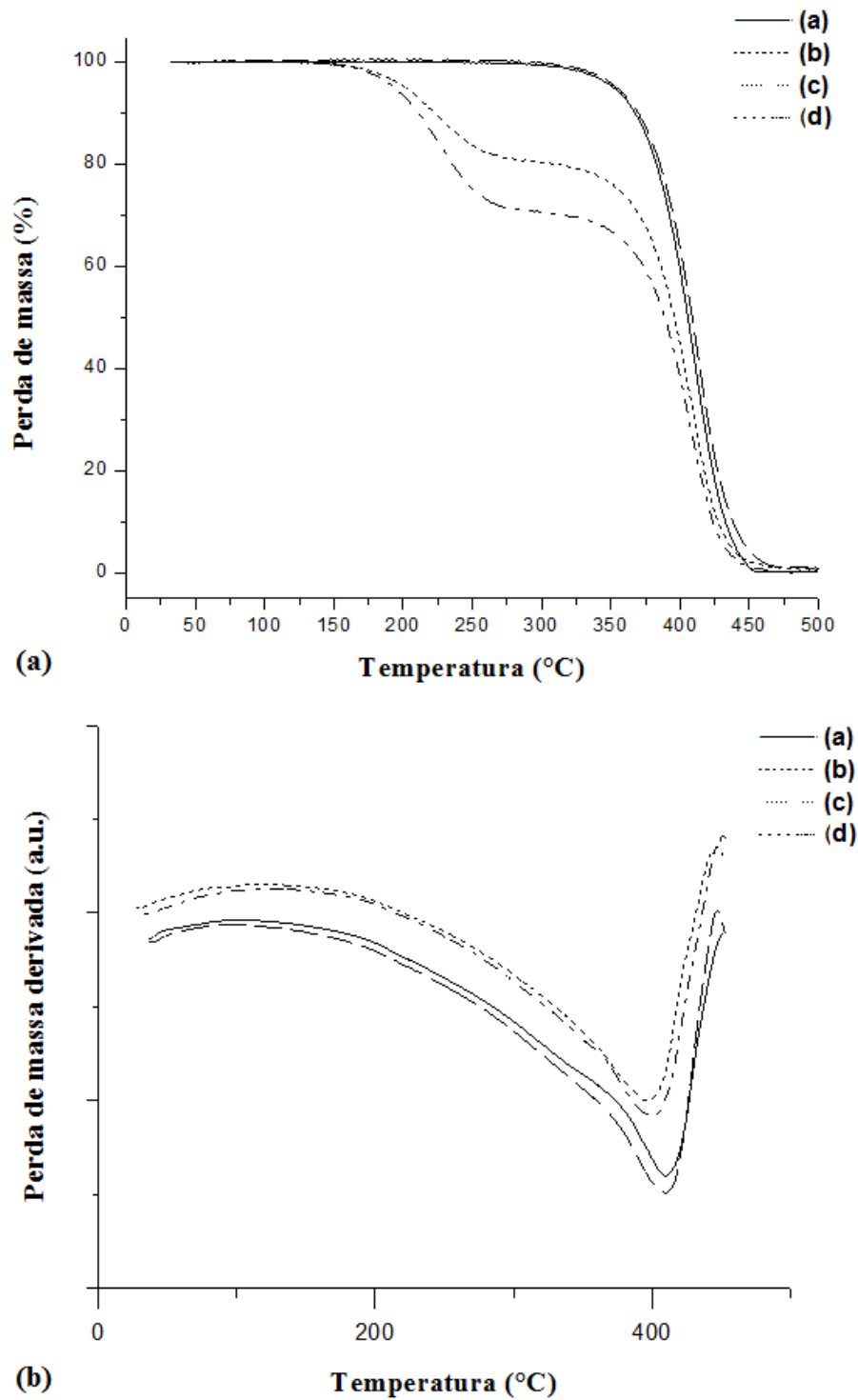
Na Figura 21 são apresentadas as curvas de TG (a) e DTG (b) das matérias primas (curvas a-d) banha suína, óleo bruto, óleo branqueado e ésteres de pescado, respectivamente. De acordo com Matos et al. (2009), nas curvas de TG a temperatura na qual a perda de massa é iniciada refere-se a temperatura inicial do evento, ou seja, ponto no qual a amostra deixou de ser estável termicamente e iniciou a liberação de voláteis. Já a temperatura final indica o final da etapa de perda de massa, na qual já ocorreu a liberação total das substâncias voláteis. Segundo este mesmo autor, as curvas de DTG expressam a derivada da variação de massa em função do tempo, a partir das quais pode ser observado se o processo é exotérmico (curva para cima) ou endotérmico (curva para baixo), bem como as temperaturas nas quais ocorre máxima perda de massa das amostras.

As curvas termogravimétricas (Figura 21 (a)) revelaram que mais de 90% da massa das amostras de banha suína, óleo bruto e óleo branqueado de pescado (curvas a-c) foram volatizadas entre 375°C e 450°C, sendo um processo endotérmico com temperaturas máximas de degradação em torno de 400°C (Figura 21 (b)). Já a curva termogravimétrica dos ésteres demonstrou que 95% da massa já havia sido volatizada entre 150°C e 250°C, com temperatura máxima de degradação em torno de 220°C (Figura 21 (b)).

Segundo Giolito (2004), dentre os fatores que influenciam as curvas de TG/DTG cita-se a massa molar, sendo que quanto menor for a massa molar do composto analisado menor será a energia requerida no processo de degradação. Este fato é observado quando se comparam as curvas de triacilgliceróis (banha suína, óleo bruto e óleo branqueado) com a de

monoacilgliceróis, que por apresentarem massa molar três vezes maior que os monoacilgliceróis apresentaram maior temperatura de degradação.

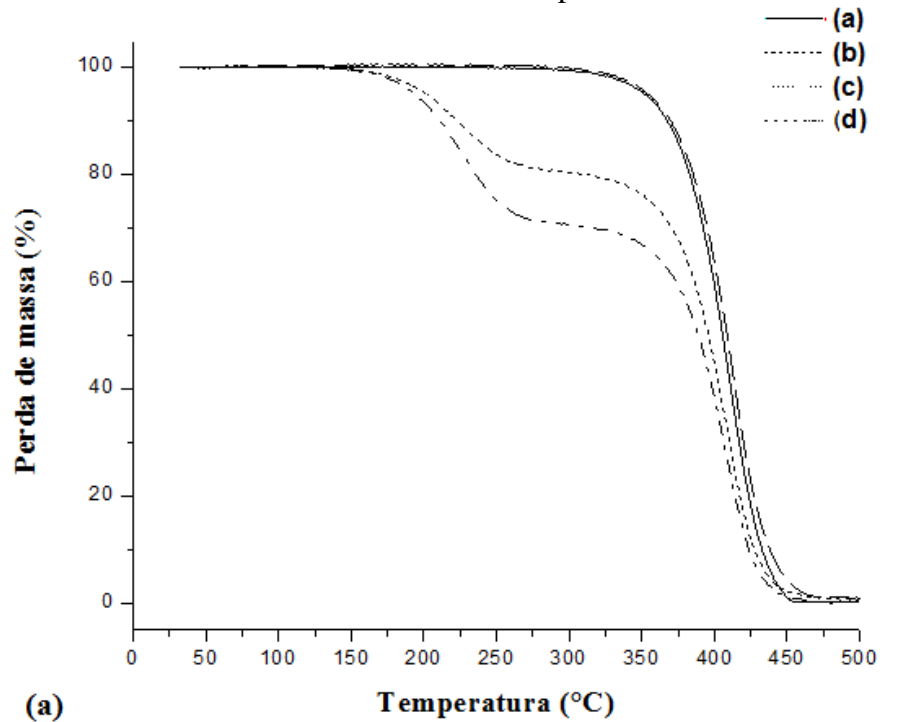
Figura 21 - Curva de TG/DTG das matérias primas



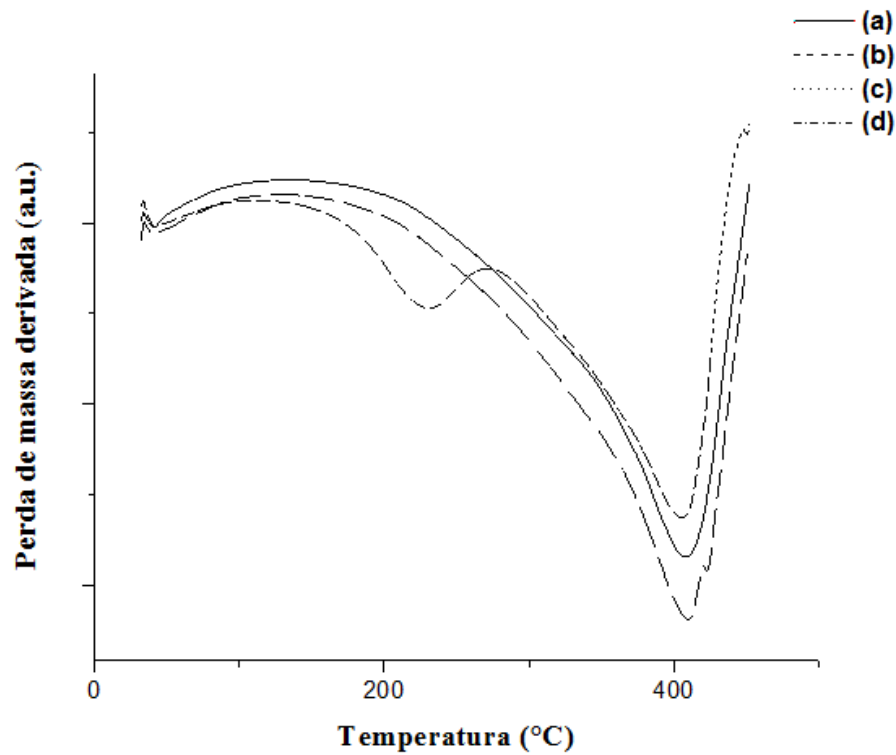
(a) banha suína; (b) óleo bruto; (c) óleo branqueado; (d) ésteres de pescado;

Na Figura 22 são apresentadas as curvas de TGA/DTG das misturas de banha suína:óleo branqueado e banha suína:ésteres de pescado.

Figura 22 – Curvas de TG (a) e DTG (b) das misturas de banha suína:óleo branqueado e banha suína:ésteres de pescado



(a)



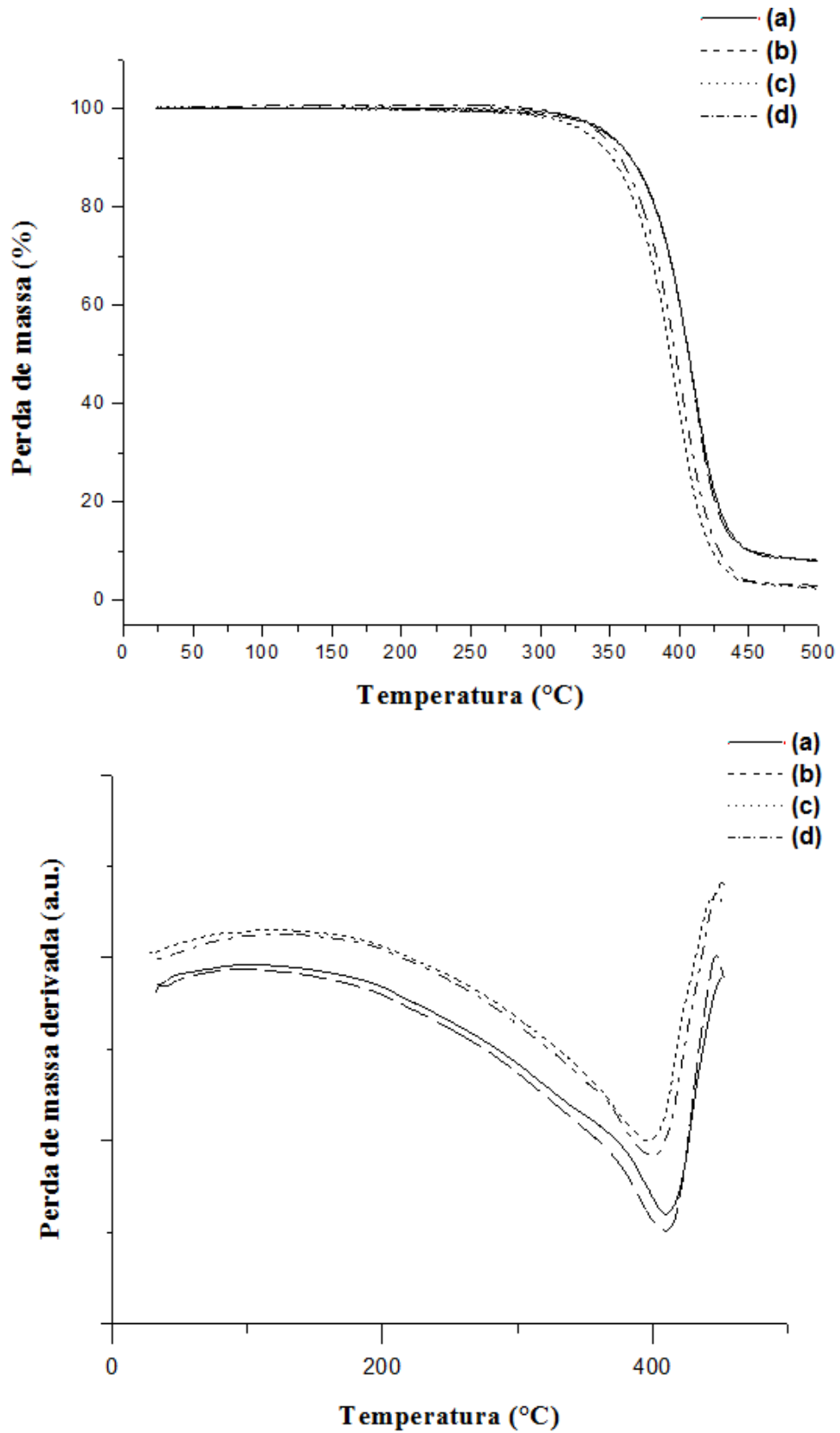
(b)

(a) mistura 80:20 banha:óleo branqueado; (b) mistura 70:30 banha:óleo branqueado; (c) mistura 80:20 banha:ésteres; (d) mistura 70:30 banha:ésteres;

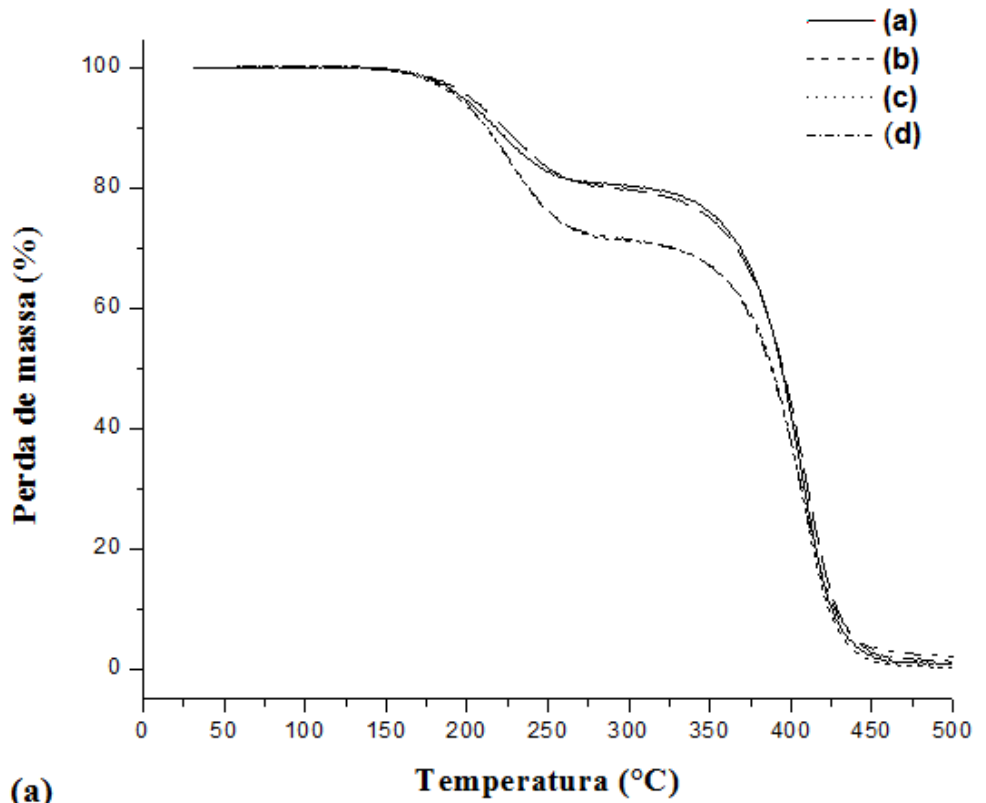
A partir das curvas de TG demonstradas na Figura 22 (a) pode-se observar as misturas de banha suína:óleo branqueado de pescado (curva a e b) foram completamente volatizadas em temperaturas entre 375°C e 450°C. Já as misturas contendo banha suína:ésteres de pescado foram volatizadas em temperaturas mais baixas, entre 225°C e 450°C (curva c e d). Essa diferença sugere que as misturas contendo óleo branqueado de pescado apresentaram maior massa molar quando comparadas as misturas contendo ésteres de pescado.

Em relação às curvas de DTG (Figura 22 (b)) verifica-se que as misturas mantiveram a máxima perda de massa em torno dos 400°C, sendo que as misturas contendo ésteres em sua composição (curvas c e d) apresentaram um segundo pico considerável em torno de 200°C, o qual está associado a presença dos ésteres. Nas Figuras 23 e 24 são apresentadas as curvas de TG (a) e DTG (b) dos lipídios estruturados produzidos a partir de banha suína:óleo de pescado e banha suína:ésteres de pescado, respectivamente.

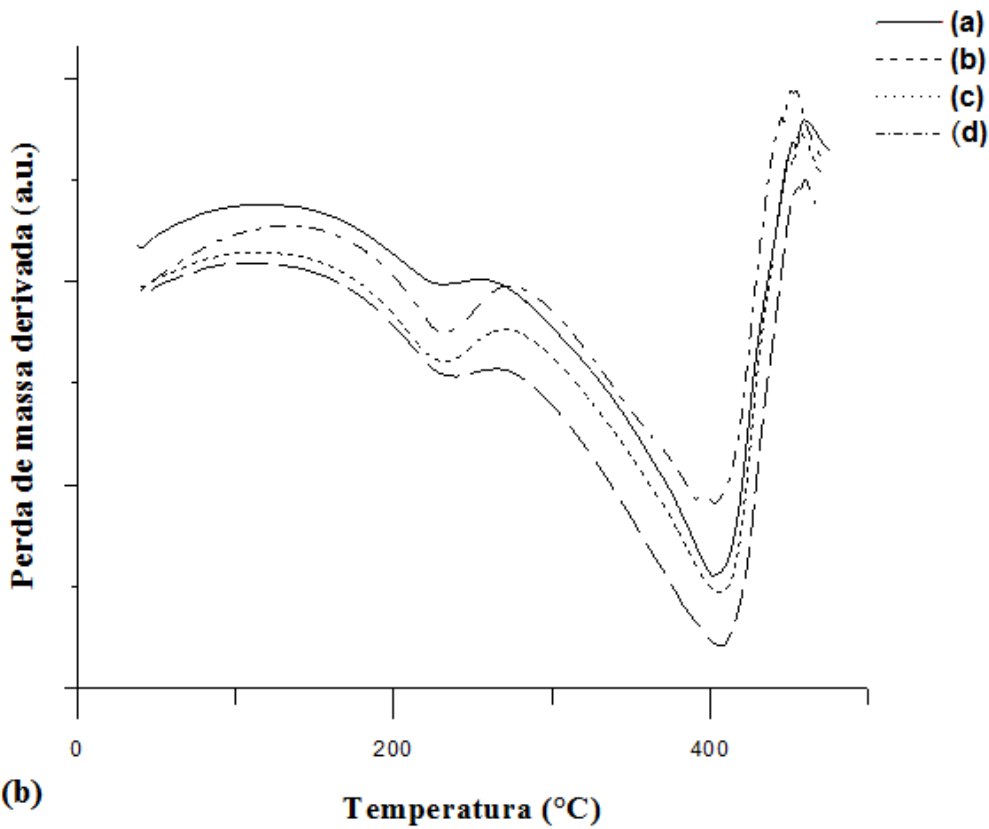
Os lipídios estruturados apresentados na Figura 23 (a) foram completamente volatizadas em temperaturas entre 375°C e 450°C, sendo que não foram observadas diferenças significativas em relação a mistura contendo banha suína e óleo branqueado de pescado (Figura 22, curvas a e b). A partir da Figura 24 (a) pode-se observar que os lipídios estruturados contendo banha suína e ésteres de pescado foram completamente volatizados entre 225°C e 450°C. Tendo em vista o fato do processo de interesterificação causar o rearranjo dos ácidos graxos no triacilglicerol, o pico de máxima degradação em torno de 225°C não poderia ter sido observado (Figura 24 (b)), sugerindo que no processo de interesterificação houveram ésteres remanescentes que não foram esterificados a molécula do triacilglicerol.

Figura 23 - Curvas de TG dos lipídios estruturados de banha suína: óleo de pescado

(a) Experimento nº 1; (b) Experimento nº 2; (c) Experimento nº 3; (d) Experimento nº 4.

Figura 24 - Curvas de TG dos lipídios estruturados de banha suína:ésteres de pescado

(a)



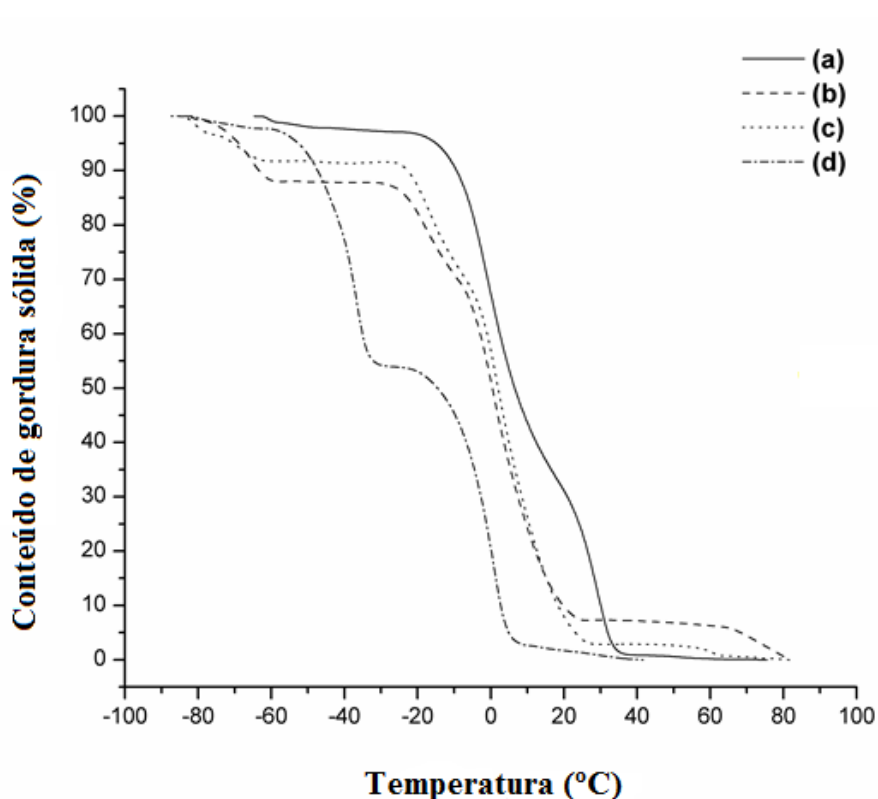
(b)

(a) Experimento nº 5; (b) Experimento nº 6; (c) Experimento nº 7; (d) Experimento nº 8

5.6 CONTEÚDO DE GORDURA SÓLIDA (CGS)

Nas Figuras 25, 26, 27 e 28 são apresentadas as curvas de teor de gordura sólida das matérias-primas.

Figura 25 - Conteúdo de gordura sólida das matérias primas



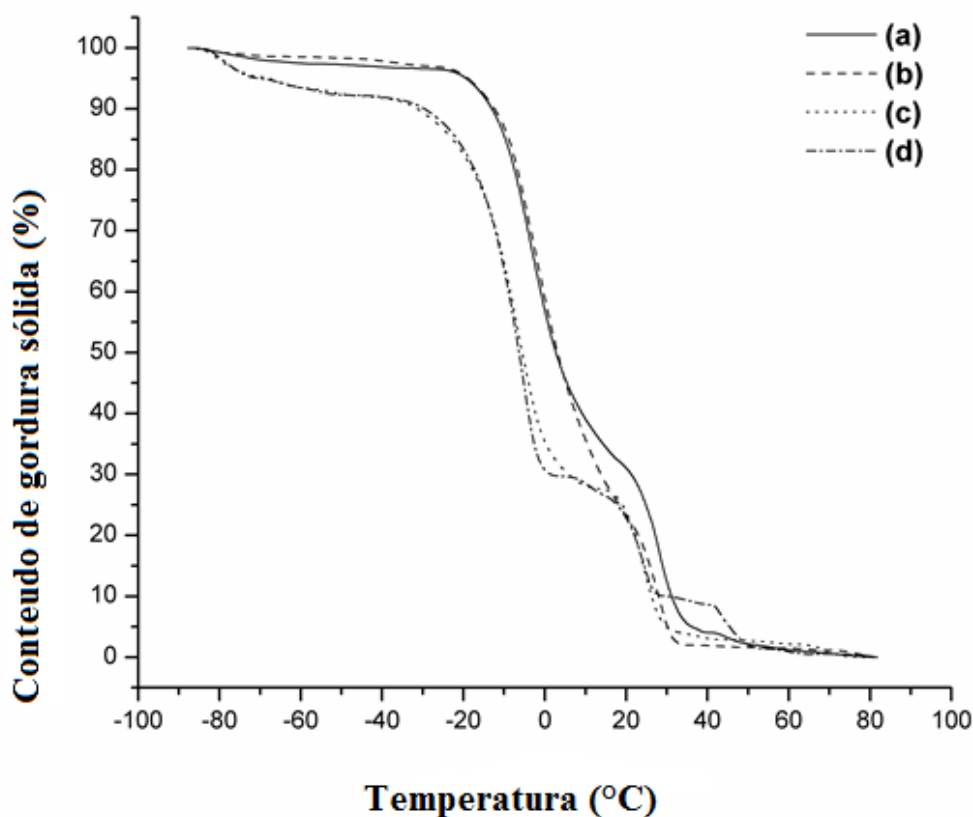
(a) banha suína; (b) óleo bruto; (c) óleo branqueado; (d) ésteres de peixe;

A partir da Figura 25 pode-se observar que a banha suína (curva a) apresentou alto CGS (conteúdo de gordura sólida) à temperatura ambiente, apresentando mais de 30% de gordura sólida a 20 °C. Já o óleo branqueado e os ésteres de peixe (curvas c-d) estavam no estado líquido à temperatura ambiente (20 °C). As diferenças observadas entre a banha suína e as demais matérias primas podem ser explicadas pelo fato da banha suína apresentar maior quantidade de ácidos graxos saturados que o óleo de peixe, e por consequência maior CGS quando submetido às mesmas condições de temperatura. Em relação à banha suína e ao óleo de peixe, resultados semelhantes foram obtidos por Silva e Gioielli (2006) em seus estudos sobre a interesterificação utilizando a banha suína e o óleo de soja como matérias-primas.

Cabe ressaltar ainda que as curvas de CGS dos óleos bruto e branqueado de peixe apresentaram comportamento semelhante, o que já era esperado, visto que no processo de refino visa a remoção de compostos de oxidações e não gera alterações na

composição de ácidos graxos presentes. Em relação aos ésteres de pescado, pode-se observar que estes apresentaram comportamento diferente das demais matérias primas, apresentando 50% de CGS em -20°C . Este comportamento pode estar associado à retirada do glicerol no processo de alcoólise química, os quais passaram a requerer menores temperaturas para mudarem seu estado físico de sólido para líquido. Na Figura 26 são apresentadas as curvas de CGS das misturas contendo banha suína:óleo branqueado e banha suína:ésteres de pescado.

Figura 26 - Conteúdo de gordura sólida das misturas



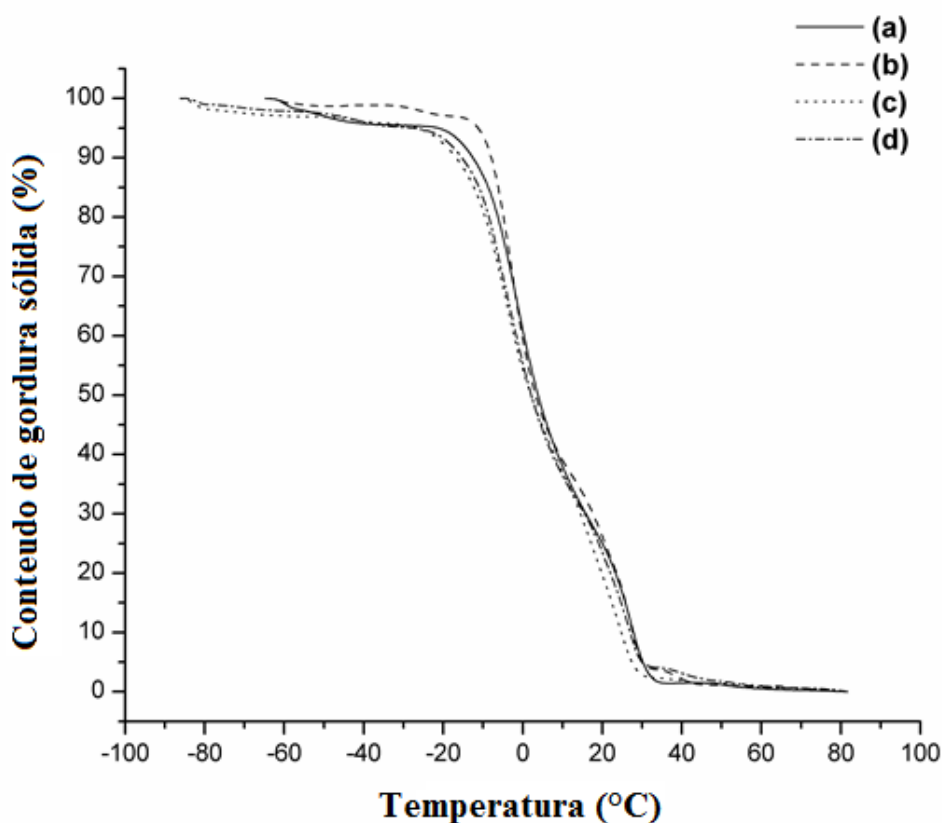
(a) mistura 80:20 banha:óleo branqueado; (b) mistura 70:30 banha:óleo branqueado; (c) mistura 80:20 banha:ésteres; (d) mistura 70:30 banha:ésteres;

A partir da Figura 26 pode-se observar que as misturas contendo banha suína:óleo de pescado (curvas a e b) apresentaram maior CGS, quando comparadas às curvas de CGS dos lipídios estruturados contendo banha suína:ésteres de pescado, sendo que nas temperaturas de 0°C e 20°C os lipídios contendo ésteres apresentaram CGS de 40% e 25%, respectivamente; enquanto que, os lipídios estruturados contendo óleo de pescado apresentaram 60% e 30% de CGS, respectivamente, nestas mesmas temperaturas. Os resultados de CGS obtidos sugerem que as misturas contendo ésteres de pescado apresentavam maior conteúdo de ácidos graxos insaturados quando comparada a mistura

contendo óleo de pescado, além disso a retirada do glicerol contribuiu para que estas apresentassem menores CGS.

Após as reações de interesterificação, foi possível reduzir o CGS da banha suína, uma vez que os lipídios estruturados obtidos após interesterificação com o óleo branqueado (Figura 27) apresentaram um S médio de 40, 20 e 5% às temperaturas de 10, 20 e 30°C, respectivamente. Já os lipídios estruturados produzidos com ésteres de pescado (Figura 21) apresentaram uma redução no CGS à temperaturas mais baixas quando comparados aos produzidos com o óleo de pescado, com aproximadamente 70% do óleo no estado líquido a 0 °C. Na Figura 27 são apresentadas as curvas de CGS dos lipídios estruturados contendo banha suína e óleo branqueado de pescado.

Figura 27 – Conteúdo de gordura sólida dos lipídios estruturados de banha suína:óleo de pescado

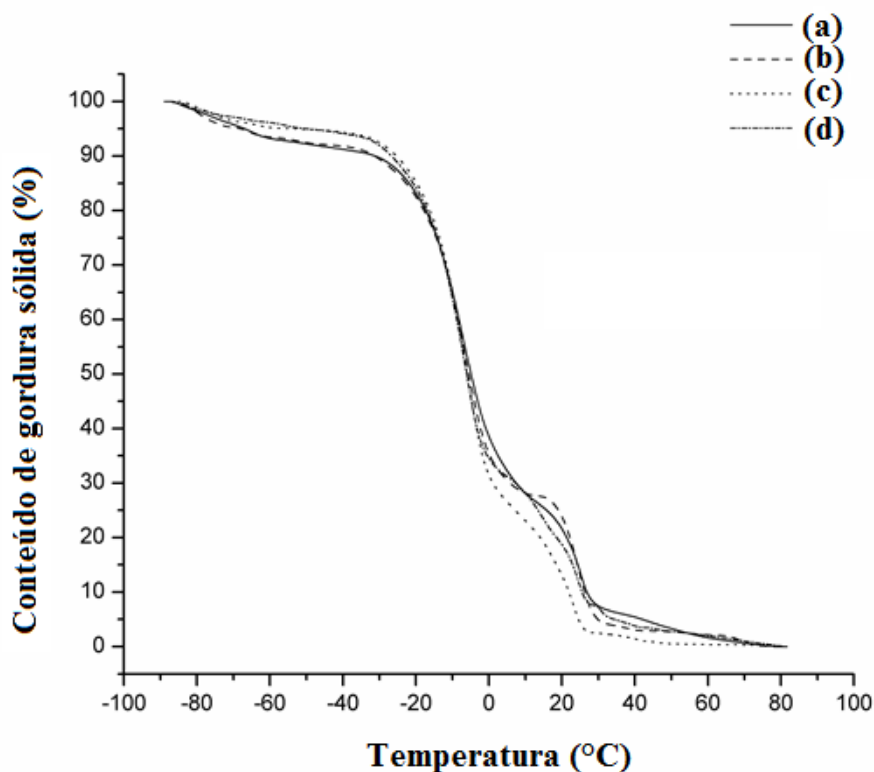


(a) Experimento nº 1; (b) Experimento nº 2; (c) Experimento nº 3; (d) Experimento nº 4.

Segundo Agostini (2001), o CGS entre 4 e 10° C determina a facilidade de espalhamento de uma gordura à temperatura de refrigeração, sendo que um S inferior a 32% à 10°C é imprescindível para garantir uma ótima espalhabilidade sob temperatura de refrigeração. Segundo este mesmo autor, o conteúdo de gordura sob temperaturas de 22°C

permite determinar a estabilidade do produto frente a processos de exsudação, sendo recomendado que o CGS não seja inferior a 10% nesta temperatura, a fim de serem evitados tais processos. Já em temperaturas de 35°C e 37°C, o CGS determina propriedades sensoriais como aroma e maciez dos produtos gordurosos na boca, sendo ideal que esta esteja líquida nestas temperaturas. A Figura 28 apresenta as curva de CGS para os lipídios estruturados contendo banha suína e ésteres de pescado.

Figura 28 - Conteúdo de gordura sólida dos lipídios estruturados de banha suína:ésteres de pescado



(a) Experimento nº 5; (b) Experimento nº 6; (c) Experimento nº 7; (d) Experimento nº 8

Em relação aos resultados obtidos, pode-se afirmar que somente os lipídios estruturados obtidos a partir de ésteres de pescado apresentaram performance ideal de espalhabilidade à temperatura de refrigeração (10°C), visto que os lipídios estruturados obtidos a partir de óleo de pescado apresentaram CGS superior a 32% nesta temperatura. Em relação aos processos de exsudação, todos os lipídios estruturados apresentaram CGS superior a 10% na temperatura de 22°C, indicando que estes apresentavam-se estáveis em relação a ocorrência de processos de exsudação.

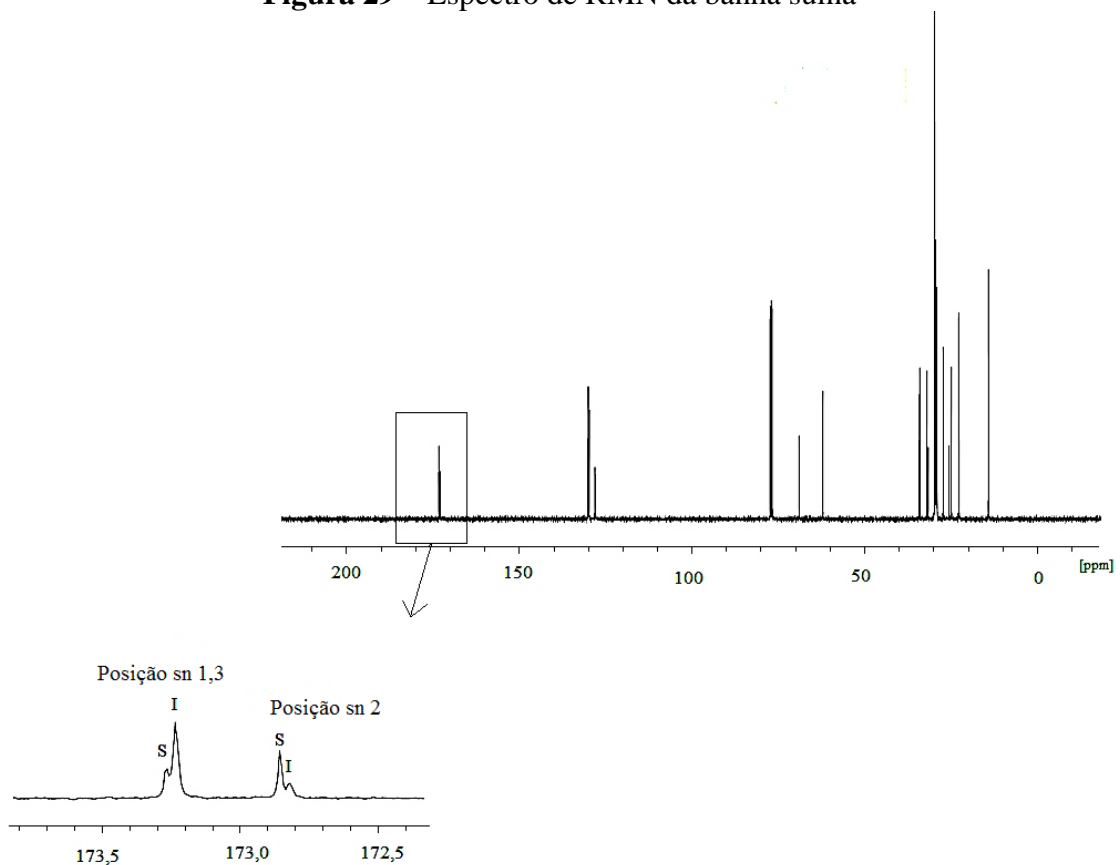
Ract e Gioielli (2008) e Rosseau (1996) estudaram o processo de obtenção de lipídios estruturados a partir da interesterificação de óleos vegetais com gorduras saturadas, a partir dos quais comprovaram que a redução dos níveis de CGS melhora as características

reológicas das gorduras, como a plasticidade, tornando-os ideais para aplicação em produtos de panificação. Características similares foram encontradas nos lipídios estruturados produzidos a partir de banha suína: óleo de pescado para ambas as proporções (80:20 e 70:30), os quais demonstraram potencial para serem utilizados neste tipo de aplicação tecnológica (KHATOON; REDDY, 2005). Por outro lado, os lipídios estruturados contendo os ésteres apresentaram-se líquidos à temperatura ambiente (20 °C). Desta forma, os lipídios estruturados contendo ésteres apresentam potencial para serem utilizados em frituras e na produção de condimentos (CHIU; GIOIELLI, 2002).

5.7 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

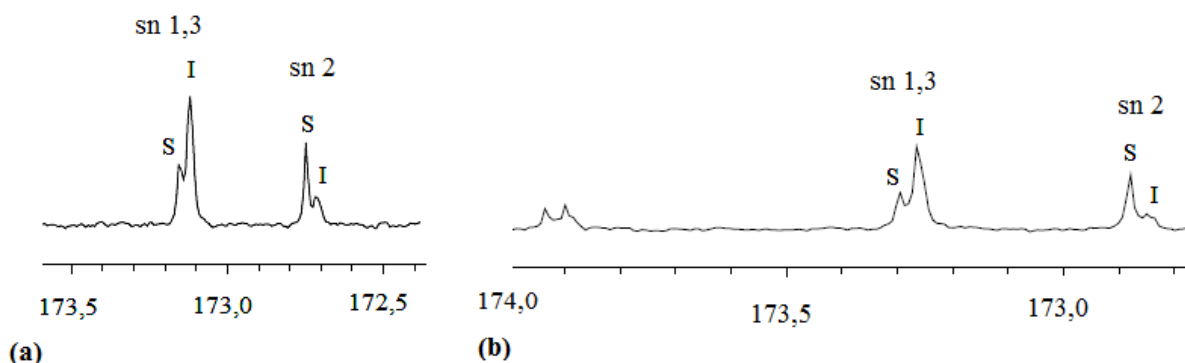
A partir das análises térmicas de DSC e RMN os Experimentos nº 4 e nº 8 foram escolhidos para serem caracterizados através das análises de RMN, visto que nestes foram observadas as maiores mudanças. Na Figura 29 é apresentado o espectro de banha suína, onde podem ser vistos os sinais dos carbonos metil na região de 14 ppm e na região de 20-35 ppm os carbonos metílicos.

Figura 29 – Espectro de RMN da banha suína



Na Figura 30 podem ser observados os espectros de RMN dos lipídios contendo banha suína e óleo de pescado (Figura 30 (a)) e os lipídios estruturados contendo banha suína e ésteres de pescado.

Figura 30 – Espectros de RMN: (a) lipídios estruturados contendo banha suína:óleo branqueado, (b) lipídios estruturados contendo banha suína:ésteres de pescado



Na região entre 60-70 ppm foram observados sinais característicos de glicerol e em 130 ppm o sinal característico de ácidos graxos insaturados de carbono. Já os sinais observados em torno de 172 ppm são atribuídos aos carbonos dos grupos carboxilo. De acordo com Standal et al. (2009), a espectroscopia de RMN-C demonstrou ser uma poderosa ferramenta para determinar as estruturas de triacilgliceróis, de modo que a posição de ácidos gordos nas posições sn-1,3 e sn-2 pode ser determinada a partir de espectros de ¹³C-RMN de alta resolução.

Uma vez que as carbonilas ressonam de acordo com a sua posição no glicerol em bandas de frequência que variam entre 172,5 e 173,5 ppm, para a banha de suíno, a região onde as carbonilas apresentaram sinais estava entre 172,5 a 173,5 ppm e está ilustrada na Figura 26(b). Para os lipídios estruturados obtidos a partir de óleo e ésteres de pescado, os sinais estavam entre 172,5 a 173,5, conforme ilustrado na Figura 27 ((a) e (b), respectivamente). As áreas sob as curvas foram determinadas a partir da integração de picos, que determina a porcentagem de ácidos graxos presentes nas posições sn-1,3 e sn-2 (SOON, 1985). Os resultados para a banha de suíno e os lipídios estruturados produzidos podem ser observados na Tabela 7.

Tabela 7 – Porcentagem de ácidos graxos presentes nas posições sn-1,3 e sn-2 da banha suína e lipídios estruturados

Ácidos graxos (%)	Banha suína		Experimento nº 4		Experimento nº 8	
	sn-1,3	sn-2	sn-1,3	sn-2	sn-1,3	sn-2
Saturados (S)	74,83%	68,86%	75,56%	56,86%	74,13%	66,53%
Insaturados (I)	25,17%	31,14%	24,44%	43,11%	25,86%	33,47%

Os valores apresentados nesta tabela mostram mudanças na porcentagem de ácidos graxos presentes nas posições sn-1,3 e sn-2 nos lipídios estruturados. A partir da Tabela 7 pode-se observar que a maior parte dos ácidos graxos saturados encontrava-se nas posições sn-1,3 da banha suína e lipídios estruturados produzidos. De acordo com Subroto et al. (2013) devido as questões de arranjo espacial, os ácidos graxos saturados apresentam a tendência de serem esterificados nas posições externas do tricilglicerol.

Pode-se observar que o rearranjo dos ácidos graxos saturados e insaturados mais acentuado ocorreu no Experimento nº 4. Nessas condições, a porcentagem de ácidos graxos insaturados na posição sn-2 dos lipídios estruturados contendo banha suína:óleo branquado de pescado aumentou cerca de 12%, enquanto que o aumento na posição sn-2 dos lipídios estruturados contendo ésteres foi de aproximadamente 3%.

Desta forma, a partir dos percentuais calculados pode-se observar menores mudanças no percentual de ácidos graxos saturados e insaturados distribuídos nas posições sn-1,3 e sn-2 do triacilglicerol quando foram utilizados os ésteres de pescado do que quando foram utilizados óleo branquado de pescado. O que ficou evidenciado também pelo espectro de RMN da Figura 27(b), onde se observam picos próximos aos 174 ppm, os quais foram associados a presença de ésteres, indicando que após o processo de interesterificação houveram ésteres remanescentes que não foram esterificados à molécula de glicerol (STANDAL et al. 2009).

6 CONCLUSÃO

As vísceras de carpa comum apresentaram teor de umidade $75,8 \pm 0,01\%$, cinzas de $1,21 \pm 0,08\%$, proteínas de $10,79 \pm 0,47\%$ e lipídios de $12,20 \pm 0,52\%$, os quais estavam de acordo com os dados dispostos na literatura. Os valores de eficiência de recuperação de óleo a partir das vísceras e rendimento do processo de refino foram de 75% e 65%, respectivamente.

O óleo bruto, branqueado e ésteres de pescado apresentaram II , IS e ρ significativamente diferentes da banha suína, evidenciando diferenças nos perfis de ácidos graxos. Em relação as misturas foi observado que o aumento da proporção de óleo de pescado levou ao aumento no II , indicando a presença de maiores quantidades de ácidos graxos insaturados na mistura. Os valores de II dos lipídios estruturados apresentaram resultados semelhantes entre si e em relação a banha suína. Através dos dados pode-se observar também que, independente da matéria prima (óleo ou ésteres de pescado), o II foi maior para os experimentos que utilizaram proporções de 70:30, sendo que somente esta variável apresentou efeito significativo sobre o grau de insaturação das misturas. As matérias-primas, as misturas bem como os lipídios estruturados mantiveram seus produtos de oxidação de acordo com a legislação vigente.

A partir da curva de DSC da banha suína foi observado a presença de dois picos nas temperaturas de $-0,1^\circ\text{C}$ e 30°C , os quais estão relacionados aos altos teores de ácido oleico e palmítico, respectivamente. A fusão do óleo de carpa compreendeu um intervalo de temperatura de -60°C a 20°C , três picos bem definidos, que foram associados a presença dos ácidos graxos poli-insaturados e ácidos linoleico e oleico. As misturas apresentaram comportamento de fusão semelhante ao da banha suína, sendo que todas as amostras apresentaram dois picos de fusão bem definidos em temperaturas em torno de 0°C e 30°C , que são relacionados aos ácidos graxos oléico e palmítico. Os lipídios estruturados obtidos a partir de banha suína:óleo branqueado quanto para os obtidos com banha suína:ésteres de pescado, a proporção da blenda apresentou maior influência na alteração do ponto de fusão do que a quantidade de catalisador utilizada. Uma vez que a maior proporção de óleo branqueado/éster de pescado levou a uma redução da temperatura de transição da banha suína.

A banha suína apresentou alto CGS (conteúdo de gordura sólida) à temperatura ambiente, apresentando mais de 30% de gordura sólida a 20°C . O óleo branqueado e os ésteres de peixe estavam no estado líquido à temperatura ambiente (20°C). Os resultados de CGS obtidos para as misturas sugerem que as contendo ésteres de pescado apresentavam maior conteúdo de ácidos graxos insaturados quando comparada a mistura contendo óleo de pescado. Após as reações de interesterificação, foi possível reduzir o CGS da banha suína, sendo que o SFC

dos lipídios estruturados contendo ésteres de pescado apresentaram uma redução mais expressiva no SFC.

A partir dos resultados de RMN foi possível observar que porcentagem de ácidos graxos insaturados na posição sn-2 dos lipídios estruturados contendo banha suína:óleo branquado de pescado aumentou cerca de 12%, enquanto que o aumento na posição sn-2 dos lipídios estruturados contendo ésteres foi de aproximadamente 3%. Os resultados obtidos sugerem que houveram ésteres remanescentes que não foram esterificados ao glicerol. Os resultados da espectroscopia de infravermelho demonstraram que as matérias primas, misturas e lipídios estruturados produzidos apresentaram bandas características de óleos e gorduras.

Através dos resultados obtidos foi possível determinar que os lipídios estruturados produzidos a partir de banha suína e óleo de pescado para ambas as proporções (80:20 e 70:30) são ideais para aplicação em produtos de panificação. Enquanto que os lipídios estruturados obtidos a partir de ésteres apresentam potencial para serem utilizados em frituras e na produção de condimentos. Desta forma, foi observado que tanto o óleo de pescado quanto os ésteres de pescado representam uma matéria prima com potencial para o enriquecimento da gordura saturada, sendo uma alternativa interessante para a aplicação em produtos alimentícios.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Realizar uma cinética de cristalização com as misturas e lipídios estruturados a fim de determinar o tipo de cristalização destes;
- Aplicar os lipídios estruturados obtidos na produção de alimentos de panificação e condimentos, e avaliar o efeito sobre as características do produto produzido;
- Estudar o processo de obtenção de óleo a partir de pescados como anchoita (*Engraulis anchoita*), atum bonito (*Katsuwonus pelamis*) pelo processo de extração supercrítico;
- Estudar a viabilidade do uso de concentrados de ácidos graxos poli-insaturados na produção de lipídios estruturados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRUNHOSA, F. Piscicultura. **Caderno informativo**. 2011. Rede e-Tec Brasil. Disponível em: <http://redeetec.mec.gov.br>. Acesso em: 4 de outubro 2016, 17:41:20.

AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official Methods of Analysis**, 16th ed., Arlington, VA 1995.

AOCS (AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY). **Official and Tentative Methods of American Oil Chemists' Society**, 5rd ed., Champaign, 2002.

AKOH, C. C.; MOUSSATA, C. O. Lipase-catalysed modification of borage oil: incorporation of capric and eicosapentanoic acids to form a structured lipid. **Journal American Oil Chemistry**, Atenas, v. 75, p. 697-701, 1998.

ALENCAR, A. P. M.; MOREIRA, A. M.; MENDONÇA, M. S.; PADILHA, I. S. Impactos ambientais causados pelo beneficiamento do pescado da indústria pesqueira em Bragança-PA. In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL. Bragança, **Anais**, Salvador, 2013.

APROBIO (ASSOCIAÇÃO DOS PRODUTORES DE BIODIESEL DO BRASIL). Soja é a matéria-prima de 82% do biodiesel produzido no Brasil. Disponível em: <http://aprobio.com.br/2015/11/24/soja-e-a-materia-prima-de-82-do-biodiesel-produzido-no-brasil/> Acesso em: 11 de janeiro de 2017, 20:21:15.

ARRUDA, L. F.; BORGHESI, R.; BRUM, A.; REGITANO D'ARCE, M.; OETTERER, M. Nutritional aspects of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) silage. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.4, p.749-756, 2006.

ARVANITOYANNIS, I. S.; KASSAVETI, A. Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 40, n. 5, p. 726-745, 2008.

BASTOS, T. R. **Veja os dados da piscicultura no Brasil**. 2015. Disponível em: <http://revistagloborural.globo.com>. Acesso em: 04 de out. 2015, 15:20:30.

BIMBO, A. P. CROWTHER, J. B. Fish oils: processing Beyond crude oil. **Infofish International**, v. 6, p. 20-24, 1991.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 27, p. 911-917, 1959.

BOX, G. E. P.; HUNTER, J. S.; HUNTER, W. G. **Statistics for Experiments: Design, Innovation, and Discovery**. (2ª Ed.). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2005.

BRODY, J. **Fisheries by-products technology**. The Avi Publishing, 18, 1965.

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

- CAULA, F. C. B.; OLIVEIRA, M. P.; MAIA, E. L. Teor de colesterol e composição centesimal de alguns peixes do estado do Ceará. **Ciência e Tecnologia dos alimentos**, v. 28, n. 4, p. 959-963, 2008.
- CHIU, M. C.; GIOIELLI, L. A. Lipídios estruturados obtidos a partir da mistura de gordura de frango, sua estearina e triacilgliceróis de cadeia média. II- pontos de amolecimento e fusão. **Revista Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 238-243, 2008.
- CUNHA, D. C., CREXI, V.T.; PINTO, L. A. A. Comparação de métodos de fracionamento de óleo de pescado via “winterização”. **O&G – Alimentos e Tecnologia**, Campinas, v. 87, p. 34-39, 2007.
- CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. (1994). **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: FUNEP. 409 p.
- CREXI, V. T.; GRUNENVALDT, F. L.; SOUZA-SOARES, L. A.; PINTO, L. A. A. Refino de óleos de corvina (*Micropogonias furnieri*) provenientes dos processos de ensilagem ácida e termomecânico de farinha. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 50-56, 2007.
- CREXI V. T., MONTE, M. L., SOUZA-SOARES, L. A.; PINTO, L. A. A. Production and refinement of oil from carp (*Cyprinus carpio*) viscera. **Food Chemistry**, v. 119, p. 945-950, 2010.
- CREXI, V. T.; MONTE, M. L.; MONTE, M. L.; PINTO, L. A. A. Polyunsaturated fatty acid concentrates of carp oil: chemical hydrolysis and urea complexation. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.89, p.329-334, 2012.
- CYRINO, J. E.; CONTE, L.; Tilapicultura em Gaiolas: produção e economia. In: AQUACIÊNCIA, 2004, **Tópicos Especiais em Biologia Aquática e Aqüicultura**, Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática, cap.12, p.151-171, 2006.
- D'AGOSTINI, D. **Obtenção de lipídios estruturados por interesterificação de triacilgliceróis de cadeia média e longa**. Tese (Doutorado em Tecnologia dos alimentos) – Universidade de São Paulo, 2001.
- DIDONET, F. P.; FONSECA, L. S.; HEDLUND, V. B.; VICENZI, R.; PEREIRA, F. C.; VIEIRA, E. L. Composição centesimal da carpa húngara (*Cyprinus carpus*). **Salão do Conhecimento**. Unijuí, 2015.
- DRUZIAN, J. I.; MARCHESI, C. M.; SCAMPARINI, A. R. P. Perfil de ácidos graxos e composição centesimal de carpas (*Cyprinus carpio*) alimentadas com ração e com dejetos suínos. **Ciência Rural**, v.37, n.2, p.539-544, 2007.
- ECHEVENGUÁ, M. M.; FIGUEIREDO, M. R. C.; ABDALLAH, P. R. Avaliação econômica de um policultivo de carpas chinesas por pequenos produtores rurais e pescadores artesanais de Rio Grande e São José do Norte/RS. **Revista do Instituto de Ciências Econômicas, Administrativas e Contábeis**, v.11, p. 9-16, 2007.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (1986). **The production of fish meal and oil**. FAO Fisheries technical paper 142. Roma. 2015. Disponível em: <http://www.fao.org/DOCREP/003/X6899E/X6899E00.HTM> Acesso em: 22 de dezembro de 2016, 08:45:20.

FELTES, M. M.; CORREIA, J. F. G.; BEIRÃO, L. H.; BLOCK, J. M.; NINOW, J. L. Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.6, p.669–677, 2010.

GARCIA, J. U.; SANTOS, H. I.; FIALHO, A. P.; GARRO, F. L. T.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; LELES, M. I. G. Estudo da estabilidade térmica de óleos de peixes em atmosfera de nitrogênio. **Eclética Química**, v.29, n. 2, p.41-46, 2004.

GARCIA, C. M. **Transesterificação de óleos vegetais**. 136 f. Dissertação. (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, 2006.

GERIS, R.; SANTOS, N. A. C.; AMARAL, B. A.; MAIA, I. S.; CASTRO, V. D.; CARVALHO, J. R.M. Biodiesel de soja – reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica. **Revista Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1369 -1373, 2007.

GIOLLITO, I. M. Fundamentos de termogravimetria, análise térmica diferencial e calorimetria exploratória diferencial. Giz editorial, 2004. 98 p.

GUILHERME, L. C.; MORELLI, S.; SILVA, N. R.; MOURA, M. R. Indução artificial da ovulação do Rhamdia quelen (*Pisces, Rhamdiidae*) em reprodutores capturados no leito do Rio UBERABINHA: relato de caso. **Veterinária Notícias**, v. 13, n. 2, p. 55-61, 2007.

GUNSTONE, F. D. Movements towards tailor-made fats. **Progress in Lipid Research**, v.37, n.5, p.277-305, 1998.

HAMAM, F.; SHAHIDI, F. Incorporation of selected long-chain fatty acids into trilinolein and trilinolenin. **Food chemistry**, v. 106, p. 33-39, 2008.

IBGE. Pesquisa trimestral do abate de animais. Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 15 ago 2015, 18:00:03.

JUNIOR, W. F. **Síntese enzimática de triacilglicerois estruturados de gordura de Ucuuba**. 118 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de alimentos) – Universidade estadual de Campinas, 2005.

KENNEDY, J. P. Structured lipids: fats of the future. **Food Technology**, v. 45, n., 11, p. 76-83, 1991.

KLINKERSORN, U.; H-KITTIKUN. A.; CHINACHOTI, P.; SOPHANODORA, P. Chemical transesterification of tuna oil to enriched omega-3 polyunsaturated fatty acids. **Food Chemistry**, v. 87, p. 415-421, 2004.

KOŁODZIEJSKA, I; SKIERKA, E; SADOWSKA, M; KOŁODZIEJSKI, W.; NIECIKOWSKA, C. Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. **Food Chemistry**, v.107, p.700-706, 2008.

KRALOVEC, J. A.; ZHANG, S.; ZHANG, W.; ZHANG, W.; BARROW, C. J. A review of the process in enzymatic concentration and microencapsulation of omega-3 rich oil from fish and microbial sources. **Food chemistry**, v. 131, p. 639-644, 2012.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HECKER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S. M.; BINKOSKI, A. E.; HILPERT, K. F.; GRIEL, A. E.; ETHERTON, T. D. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **American Journal of Medicine**, v. 113, p. 71-88, 2002.

LEE, K.T.; AKOH, C.C. Characterization of enzymatically synthesized structured lipids containing eicosapentaenoic, docosahexanoic and caprylic acids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.75, p.495-499, 1998.

LIU, L.S. How is chemical interesterification initiated: nucleophilic substitution or alpha-proton abstraction? **Journal American Oil Chemistry Society**, v.81, n.4, p.331-337, 2004.

LOVSHIN, L. L. Red tilápia or Nile tilapia: which is the best culture fish? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 2, Piracicaba, 1998. **Anais**. Campinas: CBNA. 1998. p. 179-198.

LIU, S.; ZHANG, C.; HONG, P.; JI, H. Concentration of docosahexaenoic acid (DHA) of tuna oil by urea complexation: optimization of process parameters. **Journal of Food Engineering**, n. 73, p. 203-209, 2006.

LUCCAS, V. **Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas à manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate**. 201 f. Tese (Doutorado em Engenharia química). Universidade Estadual de Campinas. 2001.

MANDARINO, M. G.; ROESSING, A. C. **Tecnologia para produção do óleo de soja: descrição das etapas, equipamentos, produtos e subprodutos**. Documentos Embrapa Soja. p. 22. Londrina, 2001.

MANRAL, M.; PANDEY, M. C.; JAYATHILAKAN, K.; RADHAKRISHNA, K.; BAWA, A. S. Effect of fish (*Catla catla*) fring on the quality characteristics of sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 106, p. 634-639, 2008.

MAPA. Instrução Normativa 15 de 29-10-2003. Diário Oficial da União Nº 211, 30-10-2003, Seção 1, pp. 78- 82.

MARIN, E. P. **Espectroscopia de Infravermelho e Suas Aplicações**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Física). Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, 2013.

MATOS, J. R.; FELSNER, M. L. Análise da estabilidade térmica e temperatura de oxidação de óleos comestíveis comerciais por termogravimetria. **Associação Brasileira de Química**, v. 47, 1998.

- MATOS, J. R.; MERCURI, L.; BARROS, G. Análise térmica aplicada a fármacos e medicamentos. In: STORPIRTIS et al. **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. Cap. 4, p. 32-65.
- MEHER, L. C.; SAGAR, D. V.; NAIK, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review. **Renewable and sustainable energy Reviews**, v. 10, p. 248-268, 2006.
- MELO, A. R.; STIPP, N. A. F. A. Piscicultura em Cativeiro como Alternativa Econômica para as Áreas Rurais. **Geografia**. v. 10, p. 175-19, 2001.
- MING, C. C. **Caracterização, fracionamento e aproveitamento da gordura abdominal do frango**. 130 f. Dissertação (Mestrado em tecnologia dos alimentos). Universidade de São Paulo. 2001.
- MPA (Ministerio de pesca e agricultura). Espécies cultivadas. 2014. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/aquicultura/especies-cultivadas>. Acesso em: 28/09 21:58:02
- MONTE, M. L. **Estudo cinético do branqueamento do óleo de carpa (*Cyprinus Carpio* L.)**. 81 f. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental), Universidade Federal do Rio Grande (FURG), 2010.
- MONTE, MAURÍCIO L.; MONTE, MICHELI L.; POHNDORF, R. S.; CREXI, V. T.; PINTO, L. A. A. Bleaching with blends of bleaching earth and activated can reduces color and oxidation products of carp oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 117, p. 829-836, 2015.
- MORAIS, M. M; ORTIZ, S. C. A.; CREXI, V. T.; SIVAL, J. D.; PINTO, L. A. A. Estudo do processo de refino do óleo de pescado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.1, p. 23-33, 2001.
- MOREIRA, H. L. M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; ZIMMERMANN, S. **Fundamentos da moderna aquicultura**. 1ª Ed. Canoas: Editora ULBRA, 2001.
- MORETTO, E.; FETT, R. **Óleos e gorduras vegetais: processamento e análises**. 2 Ed. Florianópolis: UFSC, 1989. 179 p.
- MOURA, J. M. L. N.; GONÇALVES, L. A. G.; GRIMALDI, R., SOARES, M.S.; RIBEIRO, A. P.B. Otimização das condições de produção de ésteres etílicos a partir de óleo de peixe com elevado teor de ácidos graxos ômega 3. **Revista Química Nova**, v. 29, p. 956-953, 2006.
- NAVARRO, G. G.; PACHECO, A. R.; ALVARADO, L. B.; GARCIA, J. O. Characterization of the lipid composition and natural antioxidants in the liver oil of *Dasyatis brevis* and *Gymnura marmorata* rays. **Food Chemistry**, n. 87, p. 89-96, 2004.
- NUNES, S. B. **Estabelecimento de um plano de análise de perigo e pontos críticos de controle (APPCC) para Peixe-Sapo (*Lophius piscatorius*) eviscerado e congelado**. 121 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, 2001.

NUNES, R.; VIANA, A.; SON, C.; BRUM, L.; OLIVEIRA, L.; COSTA, H. Aproveitamento de resíduos de pescado na Região dos Lagos: uma questão ambiental. **Revista Saúde, Corpo, Ambiente & Cuidado**, v.1, n.1, p. 52-60, 2013.

OLIVEIRA, E.; G. SANTOS, F. J.S.; PEREIRA, A.M.; LIMA, C. B. **Produção de tilápia: Mercado, espécie, biologia e recreia**. Circular técnica – EMBRAPA. Teresina, 2007.

OSBORN, H. T.; AKOH, C. C. Structured lipids – novel fats with medical, nutraceutical, and food applications. **Compr. Reviews. Food Science Food Safety**, v.3, n.1, p.93-103, 2002.

OTERA, J. **Esterification: methods, reactions and applications**. 1 Ed. Okayama: Otera, 2003. 303 p.

PAIM, R. M.; MONTE, M. L.; RIZZI, J.; PINTO, L. A. A. Concentrados de ácidos graxos insaturados obtidos a partir de óleo de carpa (*Cyprinus carpio*) utilizando o método da complexação com uréia. **Revista Veter**, v. 22, n. 1, p. 18-37, 2012.

PADILHA, M. E. S.; RUIZ, W. A. Obtenção de ácidos graxos por cristalização do óleo de pescado fracionado por hidrólise enzimática. **Revista Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 30, n. 1, 2010.

PENG, S.; CHEN, L.; QIN, J. G. Effects of replacement of dietary fish oil by soybean oil on growth performance and liver biochemical composition in juvenile black seabream, *Acanthopagrus schlegeli*. **Aquaculture**, v. 276, p. 154–161, 2008.

PETRAUSKAITE, V.; DE GREYT, W.; KEKKENS, M.; HUIGHEBAERT, A. Physical and chemical properties of trans free fats produced by chemical interesterification of vegetable oil blends. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.5, p. 489-493, 1999.

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

REGULAMENTO DA INSPEÇÃO INDUSTRIAL E SANITÁRIA DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL – RIISPOA. **Produtos não comestíveis de pescado**. Seção III, 1952.

RODRIGUES, J. M. M. **Produção enzimática de lipídios estruturados, ricos em ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, em reactor de alta pressão**. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia alimentar) – Universidade Tecnica de Lisboa, 2011.

ROSSI, M.; GIANAZZA, M.; ALAMPRESE, C.; STANGA, F. The role of bleaching clays and synthetic sílica in palm oil physical refining. **Food Chemistry**, v. 82, p. 291-293, 2003.

ROUSSEAU, D.; MARANGONI A. G.; JEFFREY, K. R. The influence of chemical interesterification on the physicochemical properties of complex fat systems 2. morphology and polymorphism. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.75, n.12, p.1833-1839, 1998.

RUBINO, M. **Offshore Aquaculture in the United States: Economic Considerations, Implications & Opportunities**. Memorando técnico - Silver Spring, 2008. 263 f.

SEBRAE. O mercado potencial da piscicultura em megaeventos. **Boletim informativo**. 2014.

SILVA, R. C.; GIOELLI, L. A. Propriedades físicas de lipídios estruturados obtidos a partir de banha e óleo de soja. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, 2006.

SILVA, R. C. **Síntese de lipídios estruturados por interesterificação de banha e óleo de soja para a obtenção de sucedâneo da gordura do leite humano**. 191 f. Tese (Doutorado em Tecnologia dos alimentos) – Universidade de São Paulo, 2008.

SILVA, R. C.; GIOIELLI, L. A. Lipídios estruturados: alternativa para a produção de sucedâneos da gordura do leite humano. **Revista Química Nova**, v.32, n.5, 2009.

SILVA, R. C.; ESCOBEDO, J. P.; GIOIELLI, L. A. Comportamento de cristalização de lipídios estruturados por interesterificação química de banha e óleo de soja. **Revista Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 30, n.1, p. 258-267, 2010.

SILVA, E. C.; PAOLA, M. V. R. V.; MATOS, J. R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n.3, 2007.

SILVA, P.P.; SOBRAL, F. R.; RIZZI, J.; POHNDORF, R. S.; PINTO, L.A.A. **Propriedades térmicas e físico-químicas de blendas de banha suína e óleo de farelo de arroz obtidas por interesterificação química**. XI Congresso Brasileiro de Engenharia química – COBEQ. Campinas, 2015.

SMITH B.C. **Fourier transform infrared spectroscopy**. 2 Ed. CRC Press: New York, 1996. 202p.

SOON, N. G. Analysis of positional distribution of fatty acids in palm oil by ^{13}C NMR spectroscopy. **Lipids**, v. 11, p. 778-782, 1985

SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, Parte I. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 223-229, 2012.

STUART, B. **Infrared spectroscopy: fundamentals and applications**. Ed. John Wiley & Sons: Ltd, 2004.

SUBROTO, E.; INDIARTO, R.; HIDAYAT, C. The effect of substrat ratio fish oil and milk fat on synthesis of structured lipid by enzymatic transesterification. **International Journal on Advanced Science Engineering Information Technology**, v. 3, n. 2, 2013.

UNGARO, M. R. G.; TOLEDO, N. M. P.; TEIXEIRA, J. P. F.; SUASSUNA FILHO, J. Determinação do teor de óleo em sementes de girassol pelos métodos de ressonância magnética nuclear e soxhlet, **Bragantia**, Campinas, v. 51, n. 1, p. 1-5, 1992.

URIOSTE, D. **Produção de biodiesel por catálise enzimática do óleo de babaçu com álcoois de cadeia curta**. 107 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia de Lorena, 2004.

VANDEPUTTE, M.; KOCOUR, M.; MAUGER, S., RODINA, M., LAUNAY, A., GELA, D., DUPONT-NIVET, M., HULAK, M.; LINHART, O. 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**, v. 277, p. 7–13, 2008.

VLAHOV, G. ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy to check 1,3-random, 2-random pattern of fatty acid distribution in olive oil Triacylglycerols. **Spectroscopy**, v. 19, p. 109–117, 2005.

VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, G. S. Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilapia e sua utilização na alimentação animal. **Instituto de Pesca de São Paulo**, 2006.

WANASUNDARA, U. N.; SHAHIDI, F. Concentration of omega 3- polyunsaturated fatty acids of seal blubber oil by urea complexation: optimization of reaction conditions. **Food Chemistry**, n. 65, p. 41-49, 1999.

WEISS, T. J. **Food oils and their uses**. 2. Ed. Westport: AVI, p. 187-209, 1983.

WENDLANDT, W.W. **Thermal analysis**. 3.ed. New York: John Wiley & Sons, 1986. 260 p.

WILLIS, W. M.; LENCKI, R. W.; MARANGONI, A. G. Lipid modification strategies in the production of nutritionally functional fats and oils. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 8, p. 639-674, 1998.

WU, M.; DING, H.; WANG, S; XU, S.; Optimizing Conditions for the Purification of Linoleic Acid from Sunflower Oil by Urea Complex Fractionation. **Journal American Oil Chemistry Society**, n. 85, p. 677-684, 2008.

YOUNG, F. V. K. Interchangeability of fats and oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 62, n. 2, p. 372-376, 1985.