



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
TECNOLÓGICA E AMBIENTAL

ESTUDO CINÉTICO DO BRANQUEAMENTO DO
ÓLEO DE CARPA (*Cyprinus carpio L.*).

MESTRE EM QUÍMICA

Mauricio Legemann Monte

Rio Grande - RS, Brasil
2010

ESTUDO CINÉTICO DO BRANQUEAMENTO DO ÓLEO DE CARPA (*Cyprinus carpio L.*).

por

Mauricio Legemann Monte

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química
Tecnológica Ambiental, da Universidade
Federal do Rio Grande, (FURG, RS), como requisito parcial para
obtenção do grau de **Mestre em Química**

Orientador: Luiz Antonio de Almeida Pinto

Rio Grande - RS, Brasil.

2010

**Universidade Federal do Rio Grande
Escola de Química e Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e
Ambiental-PPGQTA**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação
de Mestrado

**ESTUDO CINÉTICO DO BRANQUEAMENTO DO ÓLEO DE
CARPA (*Cyprinus carpio L.*).**

elaborada por

Mauricio Legemann Monte

como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química Tecnológica e Ambiental

Comissão Examinadora

**Prof. Dr. Luiz Antonio de Almeida Pinto
(Presidente-Orientador)**

Profa. Dra. Leonor Almeida de Souza Soares

Prof. Dr. Paulo Henrique Beck

Rio Grande, Julho de 2010.

***Dedico aos meus pais, irmã e a minha noiva
pelo apoio e atenção.***

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força e paz em todos os momentos;

Aos meus pais, Nilton e Leila pela e confiança que depositaram em mim;

A minha irmã Micheli pelo incentivo e ajuda na realização do trabalho;

A minha noiva Kellen pela compreensão e carinho;

Os meus familiares pelo incentivo;

Ao meu orientador Luiz Antonio de Almeida Pinto pelo aprendizado, dedicação e conselhos;

Aos amigos Arthur, Rodrigo, Valéria, Guilherme, Sidney, Jaques;

À Universidade Federal do Rio Grande, pela oportunidade de realizar este trabalho;

Ao CNPq pela bolsa de mestrado, apoio fundamental para a realização deste trabalho.

Quando a gente acha que tem todas as respostas,
vem à vida e muda todas as perguntas...

Luis Fernando Veríssimo

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental
Universidade Federal do Rio Grande

ESTUDO CINÉTICO DO BRANQUEAMENTO DO ÓLEO DE CARPA (*Cyprinus carpio L.*).

AUTOR: MAURICIO LEGEMANN MONTE
ORIENTADOR: Prof. Dr. LUIZ ANTONIO DE ALMEIDA PINTO
Data e local da defesa: Rio Grande, junho de 2010

O óleo de pescado é caracterizado por ser uma fonte rica de ácidos graxos poliinsaturados ω -3, desde modo a sua oxidação lipídica se torna mais favorável quando comparado com outros óleos de origem vegetal. O objetivo do presente trabalho foi a otimização da etapa de branqueamento através da metodologia de superfície de resposta, sendo utilizado misturas de carvão ativado e terra ativada (Tonsil) para a remoção da cor e dos produtos de oxidação, procurando-se preservar o conteúdo total de carotenóides no óleo de carpa. O óleo bruto de carpa (*Cyprinus carpio L.*) para a realização do trabalho foi obtido a partir da realização de ensilagem ácida, passando posteriormente pelas etapas de refino: degomagem, neutralização, lavagem, secagem e branqueamento. A otimização da etapa de branqueamento foi realizada através de um planejamento fatorial composto central, com os fatores de estudo: a quantidade de adsorvente (Ads) e a quantidade de carvão ativado (Ca), sendo consideradas como respostas o conteúdo total de carotenóides e o valor de TBA. Na melhor condição do branqueamento do óleo de carpa foi realizado um estudo cinético, e para o cálculo das constantes cinéticas foram utilizados os modelos de Brimberg modificado e de Langmuir-Hinshelwood, A condição ótima do branqueamento foi com 2% de adsorvente e 10% de carvão ativado, onde ocorreram menores perdas de carotenóides (44,40%), com redução da cor escura presente no óleo de (85,62%) e redução do valor de TBA (73,10%), obtendo-se um óleo branqueado de carpa com qualidade oxidativa e melhor aspecto em relação à cor. Os dois modelos cinéticos representaram de forma satisfatória os dados experimentais do branqueamento do óleo de carpa, pelos altos coeficientes de determinação e baixos erros médios relativos apresentados. Foi possível observar que ocorreu uma rápida adsorção dos pigmentos carotenóides, e após 30 min a adsorção foi menos eficiente. Nos óleos bruto e branqueado de vísceras de carpa não foi identificada diferença significativa entre as concentrações de ácidos graxos, demonstrando que as etapas de refino utilizadas não alteraram o perfil de ácidos graxos do óleo bruto.

Palavras chave: Branqueamento; Carpa; Ensilagem; Óleo de pescado.

ABSTRACT

Master's Thesis
Post-Graduate Program in Chemistry and Environmental
Technology
Federal University of Rio Grande

**KINETICS STUDY OF BLEACHING OF OIL CARP (*CYPRINUS
CARPIO L.*)**

AUTHOR: MAURICIO LEGEMANN MONTE

ADVISOR: Prof. Dr. LUIZ ANTONIO DE ALMEIDA PINTO

June th, 2010, Rio Grande, RS, Brazil

The fish oil is characterized as a rich source of polyunsaturated fatty acids ω -3, from how its lipid oxidation becomes more favorable when compared with other vegetable oils. The aim of this work was the optimization of the bleaching step by response surface methodology, it used mixtures of activated carbon and activated earth (Tonsil) for the removal of color and oxidation products, leading to preserve the content of total carotenoids in the oil of carp. The crude oil of carp (*Cyprinus carpio L.*) for the study was obtained from the ensilage acid, subsequently passing through the steps of refining: degumming, neutralization, washing, drying and bleaching. The optimization of the bleaching step was carried out by central composite experimental design, with the factors studied the amount of adsorbent (Ads) and the amount of activated carbon (Ca), responses were considered as the total content of carotenoids and the value of TBA. In the best condition of bleaching was carried out kinetic study of the bleaching oil carp, to calculate the kinetic constants were used Brimberg and modified Langmuir-Hinshelwood models. In this bleaching condition (2% of adsorbent and 10% activated earth), was showed smaller losses of carotenoids, with reduction of dark color present in the oil and reducing the value of TBA, resulting in a bleached oil carp quality and oxidative best aspect of color., where it was observed that there is a rapid adsorption of carotenoids and thirty minutes to move from the adsorption is less efficient. In the crude and bleached oils of carp viscera significant difference was not identified for the concentrations of fat acids, showing that the steps of refine not changed the profile of fat acids of the crude oil.

Keywords: Bleaching; Carp; Fish oil; Silage.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

30A - Trinta amarelo

AA – Ácido graxo Araquidônico

Ads – Adsorvente

AGL – Ácido graxo livre

AGM – Ácido graxo monoinsaturado

AGPs – Ácidos graxos poliinsaturados

AGS – Ácido graxo saturado

AL – Ácido graxo linoléico

ALN – Ácido graxo linolênico

bn – coeficiente de regressão de segunda ordem

C – Concentração de carotenóides

Ca – Carvão ativado

Co – Concentração inicial de Carotenóides

DHA – Ácido graxo Docosahexaenóico

EPA – Ácido graxo Eicosapentaenóico

II – Índice de iodo

IP – Índice de peróxido

IS – Índice de Saponificação

k_i – Constante cinética

N – Parâmetro de ajuste

t – Tempo (min)

TBA – Teste do ácido Tiobarbitúrico

UV - Ultravioleta

x_1 – Quantidade de Adsorvente

x_2 – Quantidade de Carvão ativado

y_1 – Total de Carotenóides

y_2 – TBA

y_n - Respostas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização dos óleos brutos de carpa obtido por ensilagem ácida e termomecânico.	15
Tabela 2. Perfis de ácidos graxos dos óleos brutos de carpa e de pescados marinhos obtidos pelos processos termomecânico e ensilagem ácida.	17
Tabela 3. Somatório das classes de ácidos graxo de óleo bruto de carpa.	19
Tabela 4. Utilização de terras ativas comerciais no branqueamento de óleos.	23
Tabela 5. Níveis codificados e valores reais (entre parênteses) para o planejamento experimental composto central rotacional utilizado na etapa de branqueamento.	35
Tabela 6. Caracterização dos óleos bruto e neutralizado de carpa.	38
Tabela 7. Resultados do planejamento experimental composto central para o total de carotenóides, valor de TBA e cor Lovibond do óleo branqueado de carpa.	40
Tabela 8. Análise estatística dos efeitos para as respostas consideradas do óleo branqueado de carpa no planejamento experimental.	41
Tabela 9. Análise de variância para o ajuste do modelo estatístico para a etapa de branqueamento do óleo de carpa.	43
Tabela 11. Valores dos coeficientes cinéticos, coeficiente de determinação, significância e o erro médio relativo para o ajuste dos dados experimentais aos modelos de Brimberg e Langmuir.	46
Tabela 10. Caracterização do óleo branqueado de carpa na melhor condição de trabalho.	47

Tabela 12. Perfil de ácidos graxos para os óleos de carpa bruto e branqueado na melhor condição de operação.	49
Tabela 13. Somatório das classes de ácidos graxos e relação $\omega 3/\omega 6$ para os óleos de carpa bruto e branqueado na melhor condição.	50

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estrutura química dos principais ácidos graxos presentes no óleo de pescado: (a) linoléico (ω -6); (b) linolênico (ω -3); (c) ácido araquidônico (AA – C20:4); (d) ácido eicosapentaenóico (EPA - C20:5); (e) ácido docosahexaenóico (DHA - C22:6). 4
- Figura 2.** Estrutura química dos ácidos graxos das séries ω -3 e ω -6: ácido eicosapentaenóico (EPA - C20:5); ácido araquidônico (AA – C20:4). 5
- Figura 3.** Carpa comum (*Cyprinus carpio*). 7
- Figura 4.** Fluxograma da elaboração de farinha de pescado e obtenção do óleo bruto através do processo termomecânico. 11
- Figura 5.** Fluxograma das etapas de obtenção do óleo bruto a partir de resíduos de pescado através da ensilagem ácida. 12
- Figura 6.** Reação do TBA com o malonaldeído formando um composto cromagênio. 14
- Figura 7.** Etapas do processo de refino do óleo bruto de pescado. 20
- Figura 8.** Estrutura molecular da fosfatidilcolina. 21
- Figura 9.** Mecanismo de autoxidação dos óleos e gorduras. 25
- Figura 10.** Reação dos antioxidante com radicais livres. 26
- Figura 11.** Principais carotenóides presentes em peixes. 27
- Figura 12.** Etapas de refino químico do óleo bruto de carpa. 30
- Figura 13.** Superfície de resposta para o total de carotenóides do óleo de carpa após a etapa de branqueamento. 44
- Figura 14.** Cinética de adsorção do branqueamento de óleo de carpa. 46

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	2
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
3.1 Óleo de pescado	3
3.2 Pescado da piscicultura	6
3.3 Carpa comum (<i>Cyprinius carpio</i>)	7
3.4 Processamento de pescado	8
3.5 Extração do óleo de pescado	9
3.5.1 Processo termomecânico	9
3.5.2 Ensilagem	11
3.5.3 Diferenças entre os processos termomecânico e ensilagem ácida	13
3.5.4 Refino do óleo bruto de pescado	19
3.6 Oxidação lipídica, carotenóides e antioxidantes	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 Matéria prima	29
4.2 Obtenção do óleo bruto de pescado a partir da ensilagem ácida	29
4.2.1 Refino do óleo de pescado	29
4.2.2 Degomagem	30

4.2.3 Neutralização	30
4.2.4 Lavagem	31
4.2.5 Secagem	31
4.2.6 Branqueamento	31
4.3 Metodologia analítica	32
4.3.1 Determinação da cor	32
4.3.2 Valor de TBA	32
4.3.4 Total de carotenóides	33
4.3.5 Perfil de ácidos graxos	33
4.4 Metodologia estatística	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1 Características da matéria-prima	37
5.2 Planejamento Composto Central (PCC)	39
5.3 Cálculo das constantes cinéticas	45
5.4 Índices de caracterização do óleo branqueado na melhor condição do planejamento experimental e perfil de ácidos graxos.	47
6. CONCLUSÕES	51
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
8. APÊNDICE	59

1. INTRODUÇÃO

Os resíduos gerados durante o processamento do pescado podem totalizar 60% da matéria-prima (KOŁODZIEJSKA *et al.*, 2008). Uma das alternativas para o aproveitamento desses resíduos é a extração do óleo das vísceras, após realizando as etapas de refino do óleo de pescado.

O óleo oriundo do pescado é rico em cadeias graxas essenciais que o ser humano não sintetiza, como os ácidos eicosapentaenóico (EPA – C20:5) e docosahexaenóico (DHA – C22:6) além de vitaminas lipossolúveis A, D e E. Os EPA's e os DHA's respondem de forma positiva às ações bioquímicas e fisiológicas das células e membranas, atuando assim na funcionalidade dos organismos (SALAS *et al.*, 2003).

Um dos aspectos negativos com relação ao óleo é a sua facilidade a oxidação, devido ao seu alto caráter de insaturações, porém o óleo contém compostos menores em sua composição, como os carotenóides, que possuem características poliinsaturadas e fazem parte dos principais grupos de pigmentos naturais ricos em duplas ligações conjugadas, com a principal função de seqüestrar e destruir radicais livres, que são os responsáveis pelo envelhecimento precoce, (FONTANA, *et al.*, 2007) sendo um poderoso antioxidante.

A etapa de branqueamento é uma das mais importantes no processo de refino de óleos vegetais ou animais, proporcionando óleos de qualidade aceitável (MA & LIN, 2004; PROCTOR & GNANASAMBANDAM, 1997). O objetivo principal dessa etapa é obter óleos com coloração mais clara, ocorrendo também a remoção de ácidos graxos livres, sabões, traços de metais, fosfolipídios e produtos de oxidação, através da utilização de materiais adsorventes como terras ativadas, carvão ativado e sílica sintética (SABAH, ÇINAR & ÇELIK, 2007).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar a etapa de branqueamento do óleo de carpa (*Cyprinus carpio*), avaliando a menor perda dos pigmentos carotenóides e sua influência antioxidante na qualidade do óleo.

2.2 Objetivos específicos

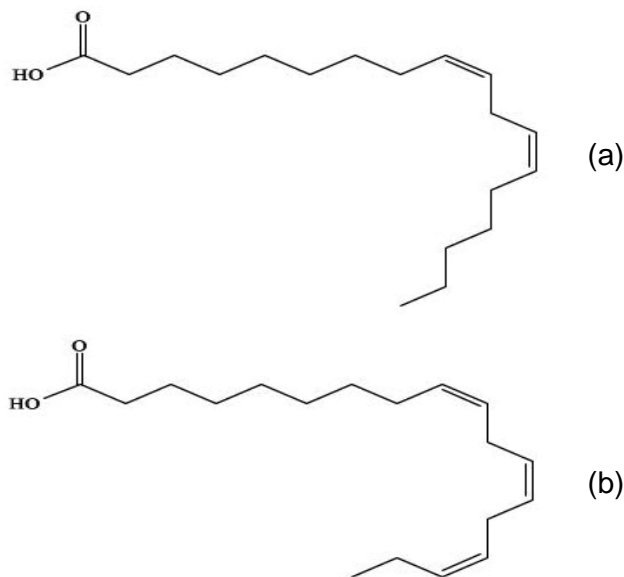
1. Produzir o óleo de pescado dos rejeitos de carpa a partir do processo de ensilagem ácida;
2. Realizar o refino do óleo bruto até a etapa de neutralização;
3. Estudar a etapa de branqueamento do refino do óleo bruto utilizando a Metodologia das Superfícies de Respostas (MSR).
4. Estudar a cinética da etapa de branqueamento através modelos empíricos.
5. Caracterizar os óleos obtidos nas etapas de refino através dos seguintes parâmetros: Ácidos Graxos Livres (AGL), Índice de Peróxido (IP), Índice Iodo (II), Índice de Saponificação (IS), teste do Ácido Tiobarbitúrico (TBA) e Cor.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Óleo de pescado

Os óleos refinados de origem vegetal e animal são constituídos por aproximadamente 98% de triglicerídios ou triacilgliceróis, sendo estes a forma esterificada de seus ácidos graxos com o glicerol (VIANNI & BRAZ-FILHO, 1995).

O óleo oriundo do pescado é rico em ácidos graxos essenciais que não são sintetizados por seres humanos. Os ácidos graxos (Figura 1), linoléico (a) (ω -6) e linolênico (ω -3) (b), pertencem a dois grupos diferentes de ácidos graxos poliinsaturados que não são sintetizados pelo organismo, mas são indispensáveis para manter a saúde humana e por isso têm que serem complementados na alimentação (AHMED *et al.*, 2009). Esses ácidos graxos são considerados precursores dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (Figura 1): ácido araquidônico (c) (AA – C20:4), ácido eicosapentaenóico (d) (EPA - C20:5), e ácido docosahexaenóico (e) (DHA - C22:6) (CREXI *et al.*, 2009).



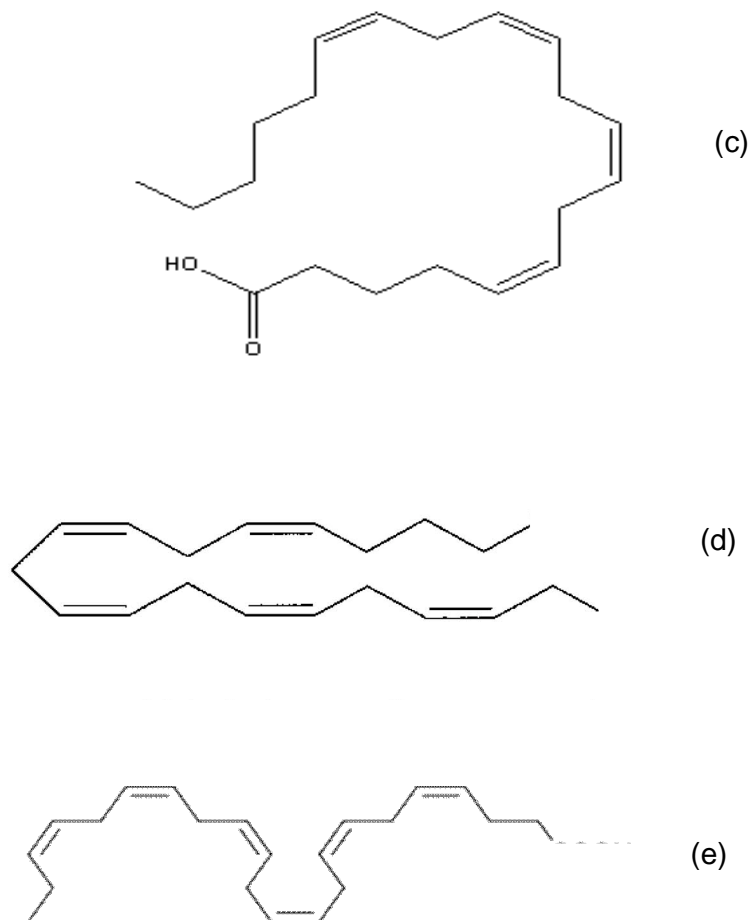


Figura 1. Estrutura química dos principais ácidos graxos presentes no óleo de pescada: (a) linoléico (ω -6); (b) linolênico (ω -3); (c) ácido araquidônico (AA – C20:4); (d) ácido eicosapentaenóico (EPA - C20:5); (e) ácido docosahexaenóico (DHA - C22:6) (AHMED *et al.*, 2009).

As famílias de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 (Figura 2) consistem de ácidos graxos poliinsaturados (AGPs) contendo de 18 a 22 carbonos. A designação de ômega tem relação com a posição da primeira dupla ligação, contando a partir do grupo metílico final da molécula de ácido graxo. Os ácidos graxos ω -3 apresentam a primeira dupla ligação entre o terceiro e o quarto átomo de carbono, enquanto os ácidos graxos ω -6 têm a primeira dupla ligação entre o sexto e o sétimo átomo de carbono (CORRÊA, 2003; SUÁREZ-MAHECHA *et al.*, 2002)

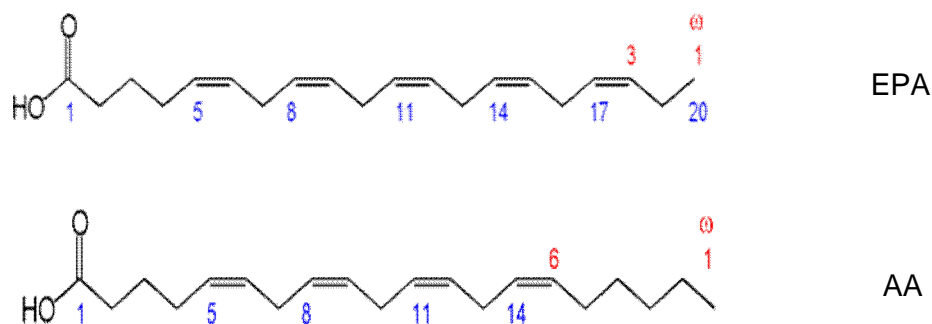


Figura 2. Estrutura química dos ácidos graxos das séries ω -3 e ω -6: ácido eicosapentaenóico (EPA - C20:5); ácido araquidônico (AA – C20:4).

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

Além desses compostos, o óleo de peixe contém componentes minoritários em sua composição, como vitaminas lipossolúveis A, D e E. Os EPA's e os DHA's respondem de forma positiva às ações bioquímicas e fisiológicas das células e membranas, atuando assim na funcionalidade dos organismos (SALAS *et al.*, 2003).

A ingestão de DHA por crianças ajuda no desenvolvimento mental e visual, o consumo de ω -3 diminui a possibilidade de doenças cardíacas, pelo fato de controlarem a síntese de colesterol, podendo também ser convertidos em substâncias vasodilatadoras sendo assim diferenciado de outros óleos vegetais (VIANNI & BRAZ-FILHO, 1995).

Em grande parte da Europa e em países onde não há disponibilidade de grãos para obtenção de óleos vegetais, o óleo de pescado é utilizado com a finalidade na alimentação, como por exemplo, em margarinas, óleo de mesa, linha de produtos farmacêuticos como concentrados em ω -3, entre outras.

No Brasil, grande parte ainda é destinado a curtumes, indústrias de tintas, ração animal ou até mesmo descartado no meio ambiente. (MORAIS, 2001). O perfil de ácidos graxos nos óleos de pescado varia quando relacionado com os de origem vegetal. Isto depende da dieta de cada espécie, sexo, habitat e estação do ano, (GULER *et. al.*2008). Esses ácidos graxos poliinsaturados, principalmente EPA e DHA são originalmente provenientes de algas marinhas as quais são fontes de alimento para os peixes típicos de águas frias. A alta quantidade de AGPs ω -3 presente nestes peixes é consequência da adaptação destes a águas frias (CORRÊA, 2003).

3.2 Pescado da piscicultura

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

A região Sul produziu, através da aquicultura continental, 62.823,5 t de pescado em 2006, e continua contribuindo com a maior parcela na produção nacional com 32,9%. A carpa e a tilápia são as espécies mais representativas, tendo suas maiores produções concentradas nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná. A produção total de pescado no Rio Grande do Sul em 2006 foi de 65.062,0 t, representada por 60,1% da pesca marinha, 37,3% do cultivo continental e 2,6% da pesca continental. Da produção de pescado cultivado em água doce na região sul do Brasil, o estado do Rio Grande do Sul foi o mais produtivo, com 24.245,0 t, sendo esta produção atribuída à piscicultura (IBAMA, 2008).

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

3.3 Carpa comum (*Cyprinus carpio*)

Existem diferentes tipos de carpas, embora todas façam parte de um grande grupo de peixes chamados Ciprinídeos. No Brasil as Carpas de maior importância comercial são: carpa comum (*Cyprinus carpio*) (Figura 3), carpa capim e carpa cabeça grande (MOREIRA *et al.*, 2001).

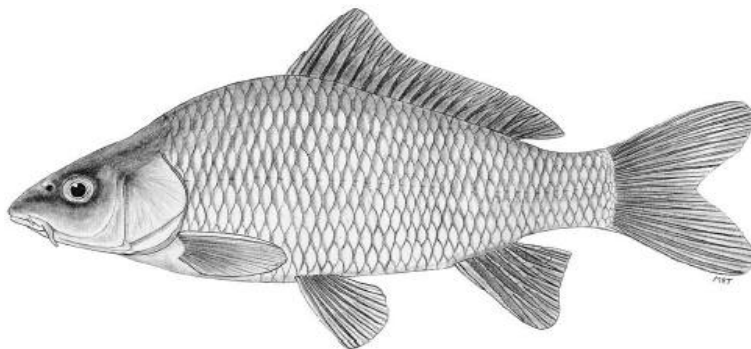


Figura 3. Carpa comum (*Cyprinus carpio*).

Fonte: <http://www.usgs.gov/>

De origem asiática, a carpa é criada na China há mais de 2.000 anos. Em 1258, já se faziam referências a essa espécie na França. Ela marcou o início da piscicultura na Europa, a partir da Idade Média, em criações desenvolvidas nos conventos, pelos monges, que necessitavam de peixes frescos nos dias de abstinência. Em 1877, veio para a América, sendo aclimatada nos Estados Unidos. No Brasil, onde se adaptou com grande facilidade, foi introduzida no Estado de São Paulo, em 1904. As criações

intensivas, contudo, só tiveram início na década de 30 (GALLI & TORLONI, 1986).

Diversas razões contribuem para que as carpas sejam consideradas excelentes peixes para a piscicultura e explicam a sua distribuição por todo o planeta: toleram baixos níveis de oxigênio dissolvido na água, apresentam grande tolerância a variações de temperatura, desde 4°C até 35°C (MELO & STIPP, 2001), são rústicas, possuem rápido crescimento, em um ano de cultivo atinge peso médio de 1,0kg, facilidade de manejo e os custos para sua criação não são muito elevados (ECHEVENGUÁ et al., 2007).

3.4 Processamento de pescado

Os resíduos gerados durante o processamento do pescado podem totalizar 60% da matéria-prima (KOLODZIEJSKA et al., 2008). Esses resíduos podem ser constituídos por cabeças, carcaças, pele, vísceras, barbatanas, além de aparas antes do enlatamento, carne escura, peixes fora do tamanho ideal para consumo (VISENTAINER et al., 2003).

A estimativa é que nas regiões sul e sudeste de 30 a 40% das capturas de pesca sejam rejeitadas nos barcos, mesmo antes de chegar às indústrias de processamento (PESSATTI, 2001).

Em busca de alternativas viáveis tecnologicamente para aproveitar os resíduos gerados durante o processamento de pescados, vários produtos podem ser obtidos, como por exemplo: recuperação enzimática (HEU et al., 1995); produção de hidrolisados protéicos (LIASET et al., 2000); extração de óleos (CREXI et al., 2010); extração de colágeno (MONTERO et al., 1999); e extração de gelatina (ALFARO, 2004), no entanto, a maior parte se destina à produção de subprodutos como ingredientes para ração animal.

A criação de alternativas tecnológicas, com valor agregado que permitam o gerenciamento dos resíduos de pescado, podem trazer como resultado o combate à fome, a geração de empregos e o desenvolvimento sustentável (ESPÍNDOLA FILHO, 2001).

O aproveitamento dos resíduos de pescado tende a contribuir para o aumento do consumo de proteína animal, já que diversas tecnologias têm surgido com possíveis utilizações dos resíduos como fontes alimentares e com boa aceitabilidade (STORI et al., 2002). Além disso, o problema de baixo consumo de pescado pode ser solucionado com a inclusão de novos produtos obtidos de diferentes formas de processamento, dando ao resíduo uma aparência mais aceitável pelo consumidor (STEVANATO, 2006).

Nas indústrias de beneficiamento de pescado, os rejeitos são normalmente utilizados para a produção de farinha de pescado, a partir do processo termomecânico, obtendo-se como produtos a farinha e licor de prensa que ao passar pela etapa de centrifugação pode ser extraído o óleo bruto de pescado (CREXI et al., 2010).

Constatando o crescimento da piscicultura e de pequenos criadores de peixe, o processo termomecânico se torna inviável economicamente, já que é necessário equipamentos de alto valor, desta maneira uma das alternativas é o processo de ensilagem ácida que posteriormente será possível verificar que é de fácil manuseio e de equipamentos e processo de baixo custo.

3.5 Extração do óleo de pescado

3.5.1 Processo termomecânico

Industrialmente os resíduos de pescados ou até mesmo pescados inteiros de menor valor comercial são as matérias primas para a produção de farinha e como subproduto a água de cola, que posteriormente pode-se obter o óleo de pescado (MORAIS, 2001; CREXI, 2005)

O processo consiste em quatro etapas principais apresentadas na Figura 4, gerando três componentes: sólido, óleo e água. As etapas de operacionais são: trituração, cocção, prensagem, secagem e moagem. Para a obtenção do óleo bruto é realizada a etapa de tratamento do licor de prensa, que é constituído aproximadamente 78% de água, 6% de sólidos e 16% de óleo (MORAIS, 2001; CREXI, 2005).

Etapa de trituração

O objetivo desta etapa consiste em reduzir o tamanho dos rejeitos, facilitando assim a etapa posterior de cocção. A trituração normalmente é realizada em triturador industrial, é importante ressaltar que não se deve adicionar água durante a realização da etapa, pois facilita a formação de emulsões durante a cocção (WINDSOR & BARLOW, 1984).

Etapa de cocção

Quando os rejeitos de pescados (vísceras, cabeças e outros) são aquecidos a aproximadamente 100°C, suas proteínas coagulam promovendo a ruptura da membrana celular e liberação do óleo e água fisiológica ligada. Na maior parte dos processos de cocção os rejeitos de pescados ou até mesmo o próprio pescado inteiro é submetido à temperatura de aproximadamente 100°C em um período de 20 a 30 min (WINDSOR & BARLOW, 1984; CONTRERAS, 1994).

Etapa de prensagem

Esta etapa possui como finalidade separar o licor de prensa (água e óleo) dos compostos sólidos (torta), que posteriormente ao passar pelos processos de secagem e moagem se obtém a farinha de pescado. A torta resultante da prensagem contém cerca de 55% de umidade e 3 a 4% de óleo (WINDSOR & BARLOW, 1984).

Etapa de centrifugação

Nesta operação visa-se obter o óleo bruto de pescado a partir da água de cola obtida na etapa de prensagem. A composição típica do licor de prensa é de 78% de água (conhecida como água de cola), 6% de sólidos e 16% de óleo. Para facilitar a operação de centrifugação é ideal que o licor de prensa esteja aquecido, ou então é recomendável a adição de água a aproximadamente 95°C (WINDSOR & BARLOW, 1984).

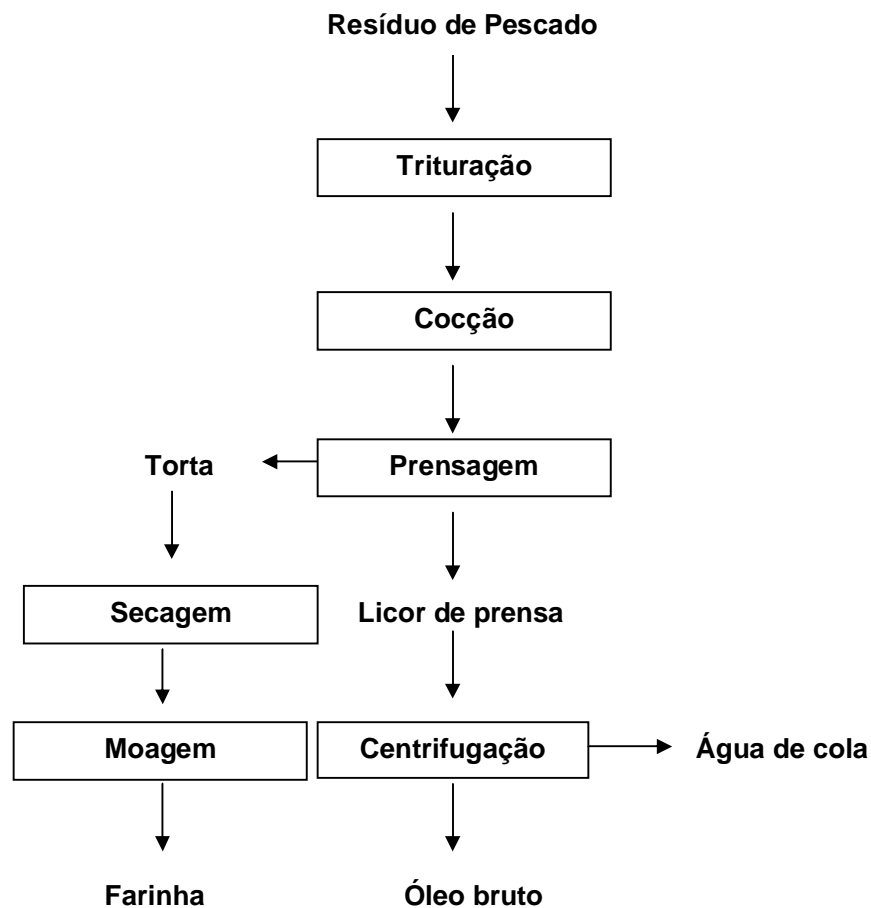


Figura 4. Fluxograma da elaboração de farinha de pescado e obtenção do óleo bruto através do processo termomecânico.

3.5.2 Ensilagem

A silagem de pescado é um produto líquido preservado pela ação de ácidos, ou por fermentação microbiana induzida por carboidratos quando a ensilagem é biológica (SEIBEL & SOUZA-SOARES, 2003). Durante o processo de ensilagem ocorre a hidrólise das proteínas através das enzimas endógenas ou adicionadas ao meio, tornando o produto solúvel, o método mais utilizado para o preparo de ensilagem é o ácido, no qual se adiciona a matéria-prima, o crescimento microbiológico é inibido pelo decréscimo do pH, que deve ficar abaixo de 4,0 (WINDSOR & BARLOW, 1984; SEIBEL & SOUZA-SOARES, 2003).

O aproveitamento dos resíduos do pescado pela ensilagem é uma fonte rica de proteínas e de alto valor biológico, podendo a farinha ser utilizada como

ração animal, além de se obter o óleo de pescado bruto que após passar pelas etapas de refino pode ser comercializado (CREXI, 2005)

A ensilagem ácida pode ser realizada com vários ácidos isolados ou em misturas, Goddard & Perret (2004) utilizaram uma mistura de ácido fórmico e ácido propiônico, Vidotti R. M. *et al.* (2003) utilizaram ácido fórmico e 2% de ácido sulfúrico, Barroga A. J. *et al.* (2000) adicionou ácido fosfórico, sulfúrico e fórmico e Maia Jr. *et al.* utilizou ácido acético.

Na preparação da ensilagem ácida, ocorre a trituração da matéria prima e adição de 10% (v/p) de ácido acético e 250 ppm de antioxidante para evitar a oxidação lipídica, após quinze dias a ensilagem deve ser peneirada obtendo-se uma fração sólida e uma líquida (óleo, água e ácido acético). As etapas completas do processamento de ensilagem utilizando ácido acético são observadas abaixo na Figura 5.

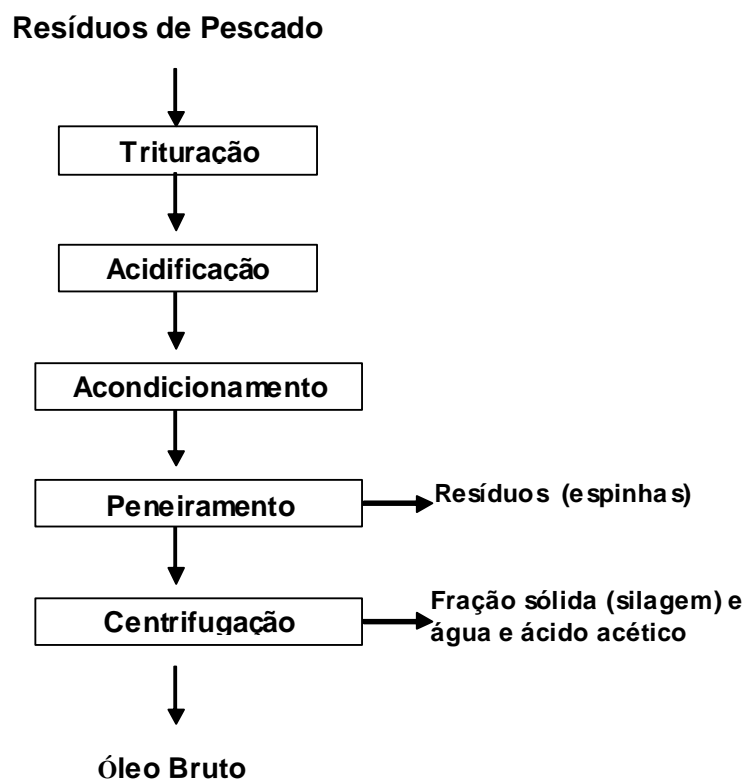


Figura 5. Fluxograma das etapas de obtenção do óleo bruto a partir de resíduos de pescado através da ensilagem ácida.

3.5.3 Diferenças entre os processos termomecânico e ensilagem ácida

O processo de ensilagem quando comparado com o aproveitamento dos resíduos de pescado pelo processo termomecânico, é nitidamente mais simples e adequado para pequenas produções, não exigindo altos custos com equipamentos e requer um gasto menor de energia, além do mais seu processo não gera odores desagradáveis (SEIBEL & SOUZA-SOARES, 2003). A avaliação da diferença entre os dois processos pode ser avaliada analisando os índices de caracterização para óleos (Tabela 1).

Ácidos graxos livres (AGL)

A presença de ácidos livres (AGL) em um óleo representa a extensão da hidrólise química, física ou enzimática dos lipídios. Para esta determinação se dissolve o óleo em solvente apolar neutro e se titula os AGL com uma solução de hidróxido de sódio padronizado.

Índice de peróxidos (IP)

Este índice indica o estado de oxidação dos óleos, muito importante por definir a deterioração dos lipídios, principalmente pela presença de compostos de baixa massa molar proveniente de sua degradação. O índice de peróxido vai determinar a oxidação primária de óleos, ou seja, um baixo IP não significa que o óleo não esteja oxidado. Logo outras análises podem ser realizadas a fim de determinar os níveis de oxidação secundária em óleos.

Valor de TBA

O valor de TBA é extensamente usado como um indicador do grau de oxidação lipídica, com decomposição de hidroperóxidos e formação de produtos secundários de oxidação como aldeídos, cetonas e álcoois (BORAN *et al.*, 2006).

O teste de TBA quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo. O MDA é um dialdeído de três carbonos, com grupamentos carbonilas nos carbonos C-1 e C-3. A

reação envolve a reação do TBA com malonaldeído (Figura 6), produzindo um composto de cor vermelha, medido por espectrofotometricamente a 532 nm de comprimento de onda (OSAWA, 2005)

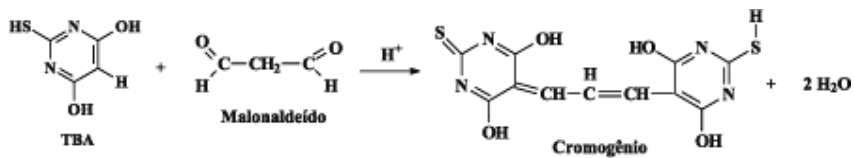


Figura 6. Reação do TBA com o malonaldeído formando um composto cromogênio.

Índice de iodo (II)

É uma medida da insaturação das cadeias graxas dos óleos, um II elevado significa elevado grau de insaturação.

Índice de saponificação (IS)

É a quantidade de álcali necessária para saponificar uma quantidade definida de óleo. É expresso em mg de hidróxido de potássio (KOH) necessário para saponificar 1,0 g de óleo. Este valor indica a massa molar média dos ácidos graxos (tamanho da cadeia).

Cor Lovibond

Utilizando-se o método Lovibond, se fixa a cor amarelo em 30 unidades e se varia a cor vermelho, conforme descrito por Windsor & Barlow (1984). O óleo é colocado em uma cubeta e inserida no espaço dentro do tintômetro. A cor dos óleos refletida é determinada combinando diferentes variações de vermelhos e amarelos, até que a cor refletida seja igual à combinação das variações.

Tabela 1. Caracterização dos óleos brutos de carpa obtido por ensilagem ácida e termomecânico.

Índices	Processo Termomecânico	Processo Ensilagem
% AGL	3,35	6,63
IP (meq peróxido kg^{-1})	3,38	3,68
TBA ($\text{mg}_{\text{malonaldeído}} \text{kg}^{-1} \text{óleo}$)	6,69	1,17
II ($\text{cg I}_2 \text{g}^{-1}$)	115	114
IS (mg KOH g^{-1})	204	205
Cor vermelho (30 amarelo)	5,0	16

Fonte: Crexi (2009).

Com relação às características dos óleos brutos obtidos se observa na Tabela 1, que o óleo proveniente da ensilagem ácida apresenta acidez mais elevada quando comparado com o processo termomecânico. Grande parte da acidez livre inicial esta relacionada com a ação das enzimas endógenas presentes nas vísceras antes da acidificação. Zhou *et al.* (1995) estudaram o conteúdo de AGL dos lipídios durante o processo de ensilagem ácida de arenque; neste estudo, o nível máximo de AGL foi de aproximadamente 6%. O aumento do conteúdo de AGL no óleo recuperado da silagem de pescado está associado à liberação dos ácidos graxos livres do material sólido durante a liquefação das vísceras do pescado (REECE, 1981).

Mesmo se tratando de óleos brutos, antes das etapas de refino onde ocorre a remoção de impurezas dos óleos, o IP está dentro do recomendado pela literatura. O óleo de pescado refinado requerido para a qualidade e aceitabilidade para consumo humano não deve apresentar IP maior que 8 meq $\text{kg}^{-1} \text{óleo}$ (BORAN *et al.*, 2006).

O valor de TBA é extensamente usado como um indicador do grau de oxidação lipídica secundária, com decomposição de hidroperóxidos e formação de produtos secundários de oxidação como aldeídos, cetonas e álcoois (BORAN *et al.*, 2006). O uso de altas temperaturas durante o processo termomecânico de farinha de pescado potencializa a oxidação lipídica como

também a alta porcentagem de AGL apresentado no óleo bruto derivado da ensilagem. Porém, o valor de TBA se mostra de acordo com o requerido para consumo humano que não deve ultrapassar a faixa de 7 a 8 de $\text{mg}_{\text{malonaldeído}} \text{kg}^{-1}_{\text{óleo}}$ (BORAN *et al.*, 2006).

A cor elevada no processo de ensilagem ácida é maior devido à liberação dos produtos da hidrólise ácida como a hemoglobina (REECE, 1981). A cor dos óleos obtidos através do termomecânico pode ser atribuído a maior remoção de voláteis, destruição de pigmentos e baixa porcentagem de AGL, que acontece devido às altas temperaturas empregadas durante este processo.

Os índices de iodo e saponificação, por se tratarem da composição química dos triglicerídios, não apresentaram diferença significativa. Isto pode ser atribuído ao fato de que estes óleos são originados da mesma matéria-prima. Desta maneira, os processos utilizados para obter os óleos de carpa não afetam a composição de ácidos graxos (CREXI, 2009).

A Tabela 2 mostra o perfil de ácidos graxos dos óleos brutos extraídos pelos processos termomecânico e de ensilagem ácida, os resultados foram apresentados por Crexi *et al.*, (2009) para óleo de carpa e por Moraes (2001) para o óleo bruto obtido pelo processo termomecânico de diferentes espécies de pescados processados pela indústria Pescal S.A, localizada em Rio Grande R/S.

Tabela 2. Perfis de ácidos graxos dos óleos brutos de carpa e de pescados marinhos obtidos pelos processos termomecânico e ensilagem ácida.

Ácidos graxos	Termomecânico*	Ensilagem*	Termomecânico marinho**
C16:0	16,19	16,14	19,60
C18:0	3,15	3,17	5,0
C16:1 ω 7	8,08	8,04	11,45
C18:1 ω 9	26,05	26,01	22,43
C20:1 ω 9	1,83	1,85	-
C 24:1 ω 9	3,99	3,99	-
C18:2 ω 6	9,48	9,47	0,94
C18:3 ω 3	7,16	7,17	3,31
C20:3 ω 3	1,43	1,44	-
C20:4 ω 6 (AA)	1,24	1,22	0,64
C20:5 ω 3 (EPA)	3,82	3,81	10,53
C22:6 ω 3 (DHA)	1,20	1,20	8,42
Σ ni	5,73	5,71	9,41

Fonte: Crexi (2009)*; Morais (2001)**

A exigência nutricional nos peixes está definida como a capacidade de sintetizar ou não os diferentes grupos de moléculas. Nos lipídios, os ácidos graxos linoléico (AL) e linolênico (ALN) não podem ser sintetizados pelos peixes e, portanto, devem ser incorporados na dieta (BELL, 1998). Estes ácidos graxos essenciais são encontrados, sobretudo em óleos vegetais, sendo precursores de muitos outros derivados por acréscimo de carbono na cadeia e por introdução de duplas ligações, formando as famílias ômega-6 (ω -6) e ômega-3 (ω -3), respectivamente (OLSEN, 1998).

A composição, a distribuição e a relação entre as séries ω -3 e ω -6 nos peixes são influenciadas basicamente por três fatores: genéticos (espécie, etapa de desenvolvimento, entre outros), ambientais (temperatura e salinidade) e, fundamentalmente nutricionais (JUSTI et al., 2003). A composição corporal

do peixe é um fiel reflexo da dieta consumida pelo animal (VISENTAINER et al., 2005).

Geralmente, ácidos graxos ω -3 dominam sobre ácidos graxos ω -6, numa proporção de 5-20 em alimentos marinhos (OLSEN, 1998). Por isso, peixes marinhos carnívoros dependem de uma dieta rica em ácidos graxos ω -3, particularmente EPA e DHA, para seu rápido crescimento (SARGENT et al., 2002). Com a evolução, esses peixes foram perdendo sua capacidade de alongar e dessaturar os AGPs, devido à redução das enzimas que realizavam este trabalho, pois os AGPs provinham diretamente da dieta (OLSEN, 1998). Por outro lado, a composição de ácidos graxos dos peixes de água doce, é caracterizados por altas proporções de ω -6, especialmente ácido linoléico e ácido araquidônico. Para tanto, a razão total ω -3 para ω -6 de ácidos graxos é inferior para peixes de água doce que para peixes marinhos, estendendo-se de 1 (um) para aproximadamente 4 (quatro) (STEFFENS, 1997). Isto se deve a eles se alimentarem de fitoplâncton de água doce, crustáceos e larvas de insetos, que são ricos em LA ω -6, ALN ω -3 e EPA ω -3, (STEFFENS, 1997). Algas de água doce apresentam, em geral, grandes quantidades de ALN e AL; entretanto, as espécies *Oscillatoria* (Cyanophyta) e *Cladophora* (Chlorophyta) demonstram um comportamento “atípico”, onde foram encontrados, além dos precursores, altos níveis de ω -3, como EPA e DHA (NAPOLITANO, 1998). Em geral, peixes de água doce demonstram ter uma maior capacidade de alongar e dessaturar os AGPs de cadeia curta. Com isso, convertem alimento de menor valor nutricional em alimento com maior valor nutricional (MOREIRA et al., 2001). Em geral, considera-se que peixes cultivados de água doce contêm menor quantidade de ácidos graxos da série ω -3 e maior quantidade de ω -6 (SUÁREZ-MAHECHA et al., 2002).

A Tabela 3 apresenta o somatório dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, % de ω -3, ω -6 e relação ω -3/ ω -6 para óleos brutos de carpa obtidos pelos processos termomecânico e ensilagem ácidos apresentados por Crexi (2009).

Tabela 3. Somatório das classes de ácidos graxo de óleo bruto de carpa.

Ácidos graxos	Termomecânico	Ensilagem
Σ AGS (%)	26,86	26,87
Σ AGM (%)	41,89	41,88
Σ AGPs (%)	25,54	25,50
ω3 (%)	13,61	13,62
ω6 (%)	11,93	11,88
ω3/ω6	1,14	1,15

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

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

A relação ω3/ω6 é sugerida como um útil indicador de valores nutricionais relativos para óleo de pescado (GULER *et al.*, 2008). Neste estudo, os conteúdos de ω3 e ω6 na farinha de pescado e na ensilagem foram de 13,61%, 13,62% e 11,93%, 11,88%, respectivamente. A relação ω3/ω6 na farinha de pescado e na ensilagem foi de aproximadamente 1,14 e 1,15 respectivamente, superior à relação citada por Guler *et al.* (2008) para óleos de carpa, de aproximadamente 1,06.

3.5.4 Refino do óleo bruto de pescado

O óleo bruto de pescado é similar aos outros óleos e gorduras brutas, ou seja, necessitam passar por um processo de refino, que visa remover impurezas tornando o óleo com características desejadas para consumo (BIMBO & CROWTHER, 1991).

O refino do óleo não afeta a composição de ácidos graxos dos triacilgliceróis, mas remove fosfolípidios, ácidos graxos livres, pigmentos, produtos de oxidação lipídica entre outras impurezas que afetam as características desejáveis do produto de maneira adversa (FERRARI, 1997).

Levando em conta a similaridade dos óleos de pescado e vegetal, pode-se chegar a um óleo de pescado com características comerciais aplicando o mesmo processo de refino utilizado em refino de óleos vegetais. Por ser um óleo rico em fosfolípidios, o refino químico utilizando ácido fosfórico para a remoção das gomas é o mais apropriado (MORAIS *et. al.*, 2001) as etapas do refino químico pode ser observada na Figura 7.

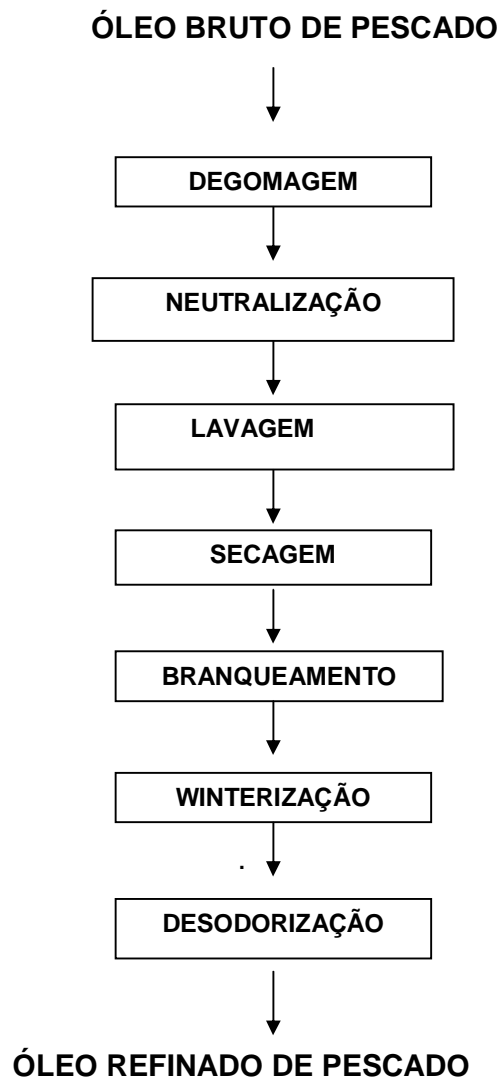


Figura 7. Etapas do processo de refino do óleo bruto de pescado.

Etapa de Degomagem

Dentre os componentes menores que fazem parte dos óleos brutos, estão os fosfolipídios, que são lipídios complexos, pois possuem além de ácidos graxos, também um composto de fósforo, a maior concentração de fosfolipídios está no cérebro (FEDDERN & SOUZA-SOARES, 2009).

A degomagem é a etapa do refino que visa à remoção dos fosfolipídios e substâncias afins, onde ocorre a hidratação dos fosfolipídios hidratáveis e decomposição daqueles não hidratáveis, tornando-os insolúveis no óleo, permitindo assim a sua separação (CREXI, 2005).

Dentre os fosfolipídios, a fosfatidilcolina (Figura 8) é a mais abundante em planta e animais chegando freqüentemente a aproximadamente 50% do total sendo o bloco de construção fundamental das biocamadas das membranas, sendo também o principal fosfolipídio que circula no plasma sanguíneo, sendo um componente integrante das lipoproteínas, especialmente a lipoproteína de alta densidade (HDL) (FEDDERN & SOUZA-SOARES, 2009).

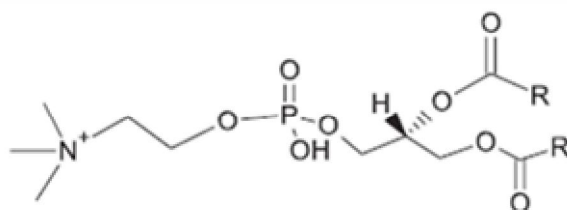


Figura 8. Estrutura molecular da fosfatidilcolina.

R representa longa cadeia hidrocarbonada que pode conter insaturações

Fonte: Mertins *et al.* (2005)

Etapa de Neutralização

Nesta etapa ocorre a neutralização dos ácidos graxos livres, e também o excesso de ácido fosfórico utilizado na etapa de degomagem, por solução aquosa de álcali em excesso (MORAIS *et al.*, 2001). O teor de álcali a ser adicionado é equivalente a quantidade estequiométrica necessária para neutralizar os ácidos graxos livres, com certa quantidade em excesso (RITTINER, 1996; NORRIS, 1982).

Etapa de Lavagem

A lavagem do óleo neutralizado tem por objetivo remover sabões dissolvidos, o excesso de álcali que não reagiu e os resíduos de fosfolipídios (RITTINER, 1996; NORRIS, 1982). A etapa pode ser conduzida com o óleo a temperatura de 90-95°C e adicionar água fervente na proporção de 10%, com agitação por 5 min e sob vácuo de 710 mm Hg (CREXI *et. al*, 2010)

Etapa de Secagem

Para posterior branqueamento do óleo, o mesmo deve estar seco, pelo fato que nessa etapa quando menor for o teor de umidade mais efetiva a mesma será. Para isso, o teor de umidade deve estar em torno de 0,1%. A secagem pode ser realizada aquecendo-se o óleo neutralizado até 90°C, sob vácuo de 710 mmHg por 10 min em média (CREXI *et. al*, 2010).

Etapa de Branqueamento

Na etapa do branqueamento ocorre à remoção ou destruição dos pigmentos que conferem cor ao óleo, com essa finalidade são utilizados adsorventes (Tabela 4), para fins industriais são utilizadas misturas de terras ativadas com carvão ativado, isso se deve ao alto valor comercial do carvão ativado em comparação com as terras ativadas, ou seja, com a mistura o processo se torna com um custo operacional mais baixo. Para definir-se o que constitui um tempo de contato adequado entre óleo e adsorvente, deve-se pressupor agitação suficiente. Agitação excessiva desperdiça energia e pode aumentar a incorporação de ar. É provável que os pigmentos sejam adsorvidos nos primeiros 5 min. e que após 15 min. o efeito adicional seja pequeno.

Um aumento na temperatura acelera a adsorção inicial. É interessante observar que um tempo de contato no branqueador superior a 30 min. favorece a reversão da cor (PATTERSON, 1992). O adsorvente não deve ter efeito negativo sobre o meio ambiente. O nível de óleo retido deve ser reduzido ao mínimo possível (ZANOTTA, 1999)

A etapa de branqueamento é muito importante no processo de refino de óleos. A remoção da cor é a meta mais significativa nessa etapa do processo, durante esta etapa do refino pode ocorrer remoção de fosfolipídios, rastros de metais, sabões residuais e mudança no estado de oxidação do óleo. A

remoção destas impurezas requer o uso de materiais com alto poder de adsorção, para agregar qualidade ao óleo (KAYNAK *et al.*, 2004).

Tabela 4. Utilização de terras ativas comerciais no branqueamento de óleos.

Terra ativada	Óleos indicados
Tonsil ACC - FF	Soja, Girassol, Palma, Pescado
Tonsil L80 - FF	Óleos vegetais e animais
Tonsil Optimum FF	Óleos difíceis de branquear
Tonsil Supreme FF	Linhaça, Palma, Arroz e pescado
Fulmont 300C	Óleos fáceis de branquear
Fulmont 700C	Soja e Palma
Fulmont AA	Óleos difíceis de branquear (pescado e soja)
Fulmont Premiere	Óleos de baixa qualidade

Fonte: MORAIS (2001)

3.6 Oxidação lipídica, carotenóides e antioxidantes

A oxidação lipídica é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis tornando os alimentos impróprios para consumo, além de também provocar outras alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos, através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (RAMALHO & JORGE, 2005), a seguir são apresentadas as diferentes formas que ocorrem as oxidações lipídicas.

Oxidação enzimática

A oxidação por via enzimática ocorre pela ação das enzimas lipoxigenases que atuam sobre os ácidos graxos poliinsaturados, catalisando a adição de oxigênio à cadeia poliinsaturada. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas que podem envolver-se em diferentes reações degradativas (RAMALHO & JORGE, 2005).

Fotoxidação

O mecanismo de fotoxidação de gorduras insaturadas é promovido essencialmente pela radiação UV em presença de fotossensibilizadores (clorofila, mioglobina, riboflavina e outros) que absorvem a energia luminosa de comprimento de onda na faixa do visível e a transferem para o oxigênio triplete ($^3\text{O}_2$), gerando o estado singlete ($^1\text{O}_2$) (RAMALHO & JORGE, 2005).

O oxigênio singlete reage diretamente com as ligações duplas por adição formando hidroperóxidos diferentes dos que se observam na ausência de luz e de sensibilizadores, e que por degradação posterior originam aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (RAMALHO & JORGE, 2005).

Autoxidação

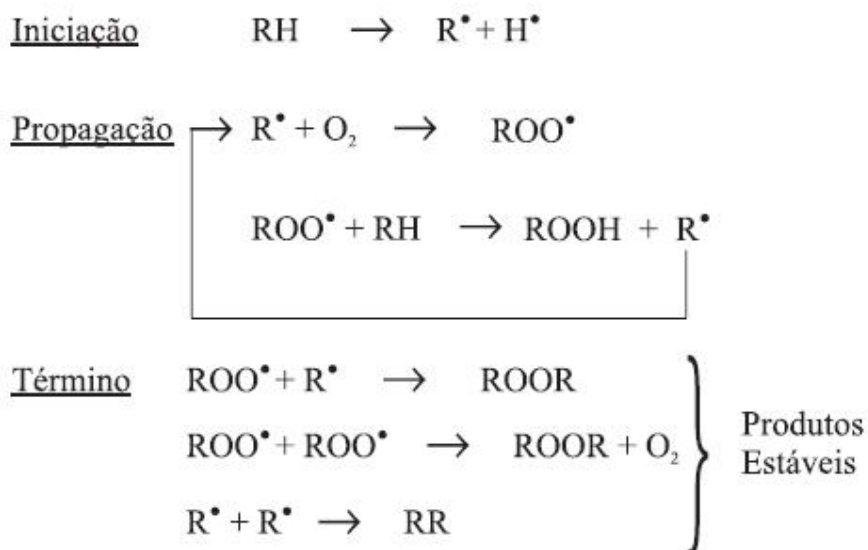
É o principal mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras, o processo de autoxidação dos lipídios é demonstrada na Figura 9. A autoxidação dos lipídios está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre em três etapas (RAMALHO & JORGE, 2005):

Iniciação – ocorre a formação dos radicais livres do ácido graxo devido à retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula do ácido graxo, em condições favorecidas por luz e calor.

Propagação – os radicais livres que são prontamente susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico, são convertidos em outros radicais, aparecendo os produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos) cuja estrutura

depende da natureza dos ácidos graxos presentes. Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando em um processo autocatalítico.

Término – dois radicais se combinam com a formação de produtos estáveis (produtos secundários de oxidação) obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis).



onde: RH - Ácido graxo insaturado; R[•] - Radical livre;
 ROO[•] - Radical peróxido e ROOH - Hidroperóxido

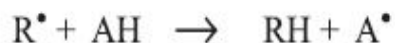
Figura 9. Mecanismo de autoxidação dos óleos e gorduras.

Para evitar a autoxidação de óleos e gorduras há a necessidade de diminuir a incidência de todos os fatores que a favorecem, mantendo ao mínimo os níveis de energia (temperatura e luz) que são responsáveis pelo desencadeamento do processo de formação de radicais livres, evitando a presença de traços de metais no óleo, evitando ao máximo o contato com oxigênio e bloqueando a formação de radicais livres por meio de antioxidantes, os quais, em pequenas quantidades, atuam interferindo nos processos de oxidação de lipídios (RAMALHO & JORGE, 2005).

Ação dos antioxidantes

Com a finalidade de inibir ou retardar a oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos gordurosos, são empregados compostos químicos conhecidos como antioxidantes.

O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais livres R^\bullet e ROO^\bullet com maior facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Assim formam-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte (A^\bullet) procedente do antioxidante. Este radical, estabilizado por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas (Figura 10) (RAMALHO & JORGE, 2005).



onde: ROO^\bullet e R^\bullet - radicais livres; AH - antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e A^\bullet - radical inerte

Figura 10. Reação dos antioxidante com radicais livres.

Carotenóides

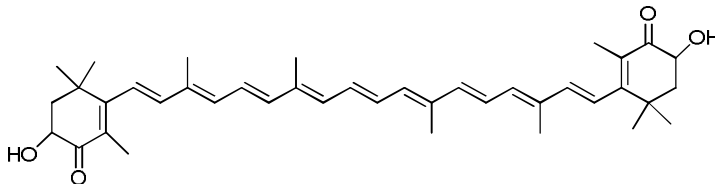
Carotenóides são pigmentos lipossolúveis e importantes antioxidantes que são sintetizados por plantas, microorganismos e animais adquiridos pela dieta. Mais de 600 carotenóides específicos já foram identificados. Em peixes os carotenóides mais comuns (Figura 11) são: β -Caroteno, xantofila, astaxantina, cantaxantina e zeaxantina (HONGXIA, 2005)

Os carotenóides parecem desempenhar alguns papéis fundamentais na saúde humana, sendo essenciais para a visão. β -caroteno e outros carotenóides foram reconhecidos no século XX como as principais fontes de vitamina A. Mais recentemente, efeitos benéficos de carotenóides contra cânceres, doenças de coração e degeneração macular foram reconhecidos e estimularam intensas investigações sobre o papel desses compostos como antioxidantes e como reguladores de resposta do sistema imune (UENOJO, 2007).

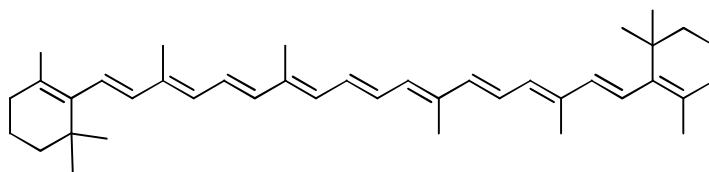
Os carotenóides são pigmentos naturais ricos em duplas ligações conjugadas, com a principal função de seqüestro e destruição de radicais livres, que são os responsáveis pelo envelhecimento precoce, (FONTANA, et al., 2007). Pesquisas mostram que esses compostos possuem uma capacidade de combater os radicais livres (espécies ativas de oxigênio), em duzentas e cinquenta vezes mais que o α -tocoferol (antioxidante natural encontrado em óleos vegetais). Este efeito de seqüestro e extinção dos radicais livres é o mecanismo mais benéfico que os carotenóides desempenham no organismo humano ou animal (FONTANA et al., 2007).

No refino de óleos, na etapa de branqueamento, ocorre a remoção dos carotenóides. Entretanto com a remoção, são retiradas substâncias com poder antioxidante. No caso do óleo de pescado, por ser rico em insaturações, o aumento na concentração de carotenóides pode aumentar a estabilidade oxidativa do óleo.

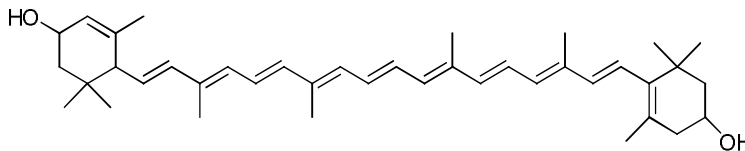
Astaxantina



β -Caroteno



Xantofila



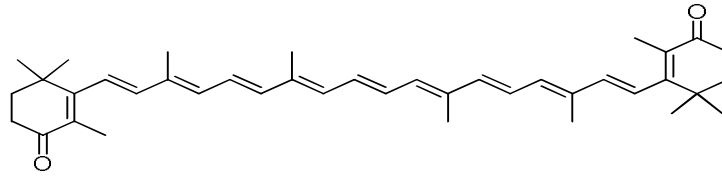
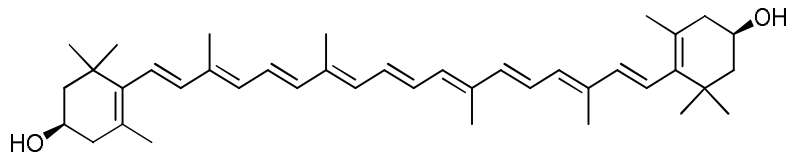
Cantaxantina**Zeaxantina**

Figura 11. Principais carotenóides presentes em peixes.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Matéria prima

A matéria-prima utilizada para a produção da ensilagem ácida foram os resíduos de vísceras de carpa (*Cyprinus carpio L.*) que foram obtidos de produtores do município de Roca Sales/RS localizado a 143 km de Porto Alegre.

4.2 Obtenção do óleo bruto de pescado a partir da ensilagem ácida

O óleo bruto de carpa foi obtido segundo descrito por Crexi *et al.* (2010). Inicialmente 20 kg de vísceras foram descongeladas a temperatura ambiente e trituradas em moedor elétrico, logo após foram acondicionadas e acidificadas com ácido acético 10 % (v/m) adicionando-se 250 ppm de antioxidante Butilhidroxitolueno (BHT), para evitar a oxidação lipídica durante o processo.

O período de liquefação foi de quinze dias sob temperatura entre 20 a 30°C. Após o décimo quinto dia foi realizada a separação dos resíduos em peneira tyler 14 para remoção de espinhas e escamas e finalmente a silagem foi aquecida a 50 °C em banho termostaticado (modelo Quimis Q-103 304-264, Brasil) e centrifugada (modelo Sigma 6-15, D- 37250, Alemanha) para a separação do óleo.

4.2.1 Refino do óleo de pescado

O óleo de carpa passou por quatro etapas de refino, conforme Figura 12, neste trabalho a última etapa de refino foi o branqueamento, onde foi realizado o estudo para a condição mais adequada de trabalho.

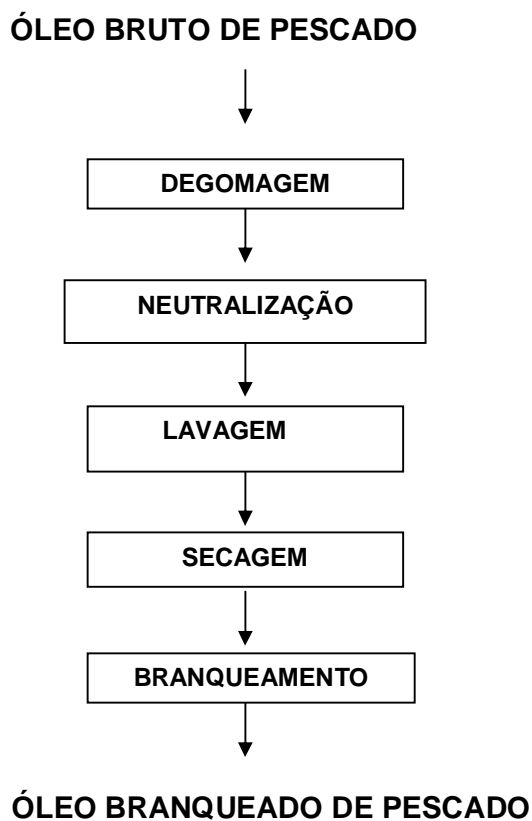


Figura 12. Etapas de refino químico do óleo bruto de carpa.

4.2.2 Degomagem

A degomagem foi realizada com adição de 1% p/p de ácido fosfórico concentrado (85%) com relação à massa de óleo, a temperatura de processo de 80°C, agitação de 500 rpm e duração de 30 min. Após o resfriamento do óleo, o mesmo foi centrifugado (centrifugada modelo Sigma 6-15, D- 37250, Alemanha) durante 20 min. e 7000xg para a separação das gomas.

4.2.3 Neutralização

Para a realização da neutralização, foi primeiramente determinada a acidez do óleo degomado, para saber a quantidade de hidróxido de sódio a ser adicionada ao óleo.

A neutralização ocorreu com a adição de uma solução de hidróxido de sódio 20% p/p e um excesso de 4%, temperatura do processo de 40°C, por 20 min. Após foi cessada a agitação e a temperatura elevada para 80°C a fim de facilitar a separação dos sais e água de neutralização (borra de neutralização) e o óleo, após ocorreu à centrifugação (centrifugada modelo Sigma 6-15, D-37250, Alemanha) durante 20 min. a 7000xg, deste modo se obtendo o óleo neutralizado.

4.2.4 Lavagem

A operação de lavagem foi realizada com a adição de 10% de água deionizada a 95°C, a etapa foi realizada durante 10 min com agitação de 500 rpm e temperatura de processo de 50°C e sob vácuo de 710 mmHg. Após o resfriamento do óleo, o mesmo colocado em um funil de separação, onde foi separado o óleo da água de lavagem, sendo realizadas três lavagens consecutivas.

4.2.5 Secagem

Para posteriormente ser branqueado, o óleo de pescado precisa ser seco. A secagem ocorreu com o aquecimento do óleo a temperatura de 90°C e vácuo de 710 mmHg, com o auxílio de um condensador, o tempo de secagem em média foi de 10 min, onde se observou o termino de condensado.

4.2.6 Branqueamento

Para a realização dos experimentos de branqueamento utilizou-se 30 g de óleo neutralizado e seco. O óleo foi aquecido a temperatura de 70°C, com agitação de 40 rpm e adição dos materiais adsorventes, por um tempo de contato de 20 min e vácuo de aproximadamente 710 mmHg. Após ocorreu a filtração do óleo em funil de Büchner com uma pré-capa de terra de diatomácea.

No branqueamento utilizou-se uma mistura de adsorventes (carvão ativado e terra ativada (Tonsil), sendo os fatores de estudo a quantidade de

adsorvente (Ads) adicionada em relação à massa de óleo e a quantidade de carvão ativado em relação à massa de adsorvente (Ca/Ads).

4.3 Metodologia analítica

A matéria-prima foi caracterizada através das análises de umidade (método 925.10) e proteína (método 960.52), conforme metodologias da Association of Official Analytical Chemists, AOAC (1995), e de lipídios segundo metodologia de Bligh and Dyer (1959).

Para o óleo bruto e neutralizado, e o branqueamento na melhor condição do planejamento experimental, foram determinados os seguintes parâmetros conforme metodologias (AOCS 1980);

- Ácidos Graxos Livres (AGL, Ca 5a-40);
- Índice de Peróxido (IP, Cd 8-53);
- Índice Iodo (II, Cd 1-25);
- Índice de Saponificação (IS, Cd 36–76);

4.3.1 Determinação da cor

A cor foi determinada, através do método Lovibond (WINDSOR & BARLOW, 1984), utilizando-se Lovibond (modelo F, Inglaterra) fixando-se a cor amarelo em 30 unidades e variando-se a cor vermelho.

4.3.2 Valor de TBA

O valor de ácido tiobarbitúrico (TBA) foi determinado segundo Vyncke (1970), utilizando-se método espectrofométrico (modelo Quimis Q-108DRM, Brasil). A curva padrão foi construída a partir da reação de TBA com 1,1,3,3 Tetrametoxipropano. Os resultados foram expressos em $\text{mg}_{\text{malonaldeído}} \text{Kg}^{-1}_{\text{óleo}}$.

4.3.4 Total de carotenóides

O total de carotenóides foi determinado segundo Ezhil, Jeyanthi e Narayanan (2008), com algumas modificações. O óleo de carpa foi dissolvido em etanol grau P.A na relação de 10 mL de etanol por 1 g de óleo, seguido por filtração. A absorvância da solução resultante foi registrada nos comprimentos de onda de 380, 450, 470 e 500nm utilizando espectrofotômetro (modelo Quimis Q-108DRM, Brasil). Para a realização dos cálculos foi escolhido o comprimento de onda onde se obteve a absorvância máxima.

O conteúdo total de carotenóides em $\mu\text{g g}^{-1}$ óleo foi calculado segundo a Equação 1.

$$\text{Conteúdo total carotenóides} = \left[\frac{\text{Máxima absorção no comprimento de onda}}{(0,25 * \text{amostra óleo}(g))} \right] * 10. \quad (1)$$

onde, 10 é o fator de diluição e 0,25 é o coeficiente de extinção.

4.3.5 Perfil de ácidos graxos

Para a identificação e quantificação dos ácidos graxos, foi realizada a análise cromatográfica do óleo bruto e branqueado. Essa análise foi realizada em cromatógrafo gasoso capilar com detector de ionização de chama (Varian 3400 CX, Palo Alto, CA) equipado com coluna capilar DB - 17 AGILENT (50% - fenil metilpolisiloxano) coluna capilar (60 m x 0,25 mm, 0,25 μm de espessura), a análise dos FAMES foi realizada, em duplicata, injetando 1,0 μL na relação de 1:50).

As condições foram às seguintes: temperatura de injeção de 215°C, temperatura do detector de ionização de chama de 215°C, vazão do gás de arraste hélio 1,0 mL/min e a velocidade linear 24 cm/s, a temperatura do forno realizado em 110°C para 5 min, depois aumentou para 215° C a 5° C/min e mantida mantendo esta temperatura por 24 min.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados por comparação direta dos seus tempos de retenção com padrões (NU CHEK-

GLC-87), e foram quantificados como área percentual de cada mistura de ésteres metílicos de ácidos graxos.

Os ácidos graxos serão identificados pela comparação direta dos tempos de retenção com padrões (NU-CHEK GLC-87), e quantificados por normalização de áreas. Para injeção no equipamento, na forma de ésteres metílicos, seguiu a metodologia Metcalfe e Schimitz (1966).

4.4 Metodologia estatística

Os valores dos índices de caracterização dos óleos bruto, neutralizado, e dos parâmetros de cor foram comparados usando o teste de Tukey HSD de diferenças de médias (BOX, HUNTER E HUNTER, 1978), considerando um nível de 0,05 de significância, com auxílio do programa Statistica 6.0 (Stasoft, USA).

Para analisar os fatores significativos na etapa de branqueamento e definir a condição adequada de trabalho realizou-se um Planejamento Composto Central (PCC), conforme apresentado em Myer (1976). Este planejamento foi realizado, com dois fatores de estudo totalizando onze experimentos. Os níveis de variação utilizados para os fatores de estudo foram três (-1, 0 e +1) e mais dois pontos axiais $\pm \alpha$ (alfa) e três pontos centrais (0,0).

As variáveis independentes (fatores de estudo) e os valores dos níveis destas variáveis foram determinados a partir de testes preliminares e de referências bibliográficas (SABAH, ÇINAR & ÇELIK, 2007; MORAIS *et al.* 2001). As variáveis independentes estudadas foram a quantidade de adsorvente (X_1) em relação à massa de óleo e a quantidade de carvão ativado (X_2) usado nas misturas com terra ativada em relação à massa de adsorvente.

O planejamento experimental foi realizado utilizando-se o programa Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA). A matriz do planejamento experimental é apresentada na Tabela 5. Os ensaios experimentais da matriz do planejamento foram realizados em duplicata.

As respostas dos experimentos foram tratadas estatisticamente através de análise de regressão para verificar a significância dos fatores (95%) das

respostas analisadas e determinar as condições ótimas de trabalho para a etapa de branqueamento, através da superfície de resposta.

A partir da análise de regressão usando método dos mínimos quadrados, obteve-se o modelo estatístico de segunda ordem na forma codificada para o branqueamento do óleo de carpa, considerando-se os efeitos e suas interações para as respostas conteúdo total de carotenóides, cor Lovibond e valor de TBA, sendo este representado na Equação 2.

$$Y_n = b_0 + b_1X_1 + b_{11}X_1^2 + b_2X_2 + b_{22}X_2^2 + b_{12}X_1X_2 \quad (2)$$

onde b_n representam os coeficientes de regressão do modelo estatístico de segunda ordem; X_1 e X_2 as variáveis de estudo na forma codificada (quantidade de adsorvente em relação à massa de óleo e quantidade carvão ativado usado nas misturas com terra ativada em relação à massa de adsorvente, respectivamente); e Y_n , as respostas consideradas (conteúdo total de carotenóides, cor Lovibond e valor de TBA) nos seus valores reais.

Tabela 5. Níveis codificados e valores reais (entre parênteses) para o planejamento experimental composto central rotacional utilizado na etapa de branqueamento.

Experimento	X_1 (% Ads)	X_2 (%Ca/Ads)
1	-1 (2,0)	-1 (5,0)
2	-1(2,0)	1(10,0)
3	1(5,0)	-1(5,0)
4	1(5,0)	1(10,0)
5	0 (3,5)	-1,414 (4,0)
6	0 (3,5)	1,414 (11,0)
7	-1,414 (1,4)	0 (7,5)
8	1,414 (5,6)	0 (7,5)
9	0 (3,5)	0 (7,5)
10	0 (3,5)	0 (7,5)
11	0 (3,5)	0 (7,5)

Para a melhor condição determinada pelo planejamento experimental, foram calculadas as constantes cinéticas (K_i), sendo determinadas através dos modelos de Brimberg modificado e de Langmuir-Hinshelwood, que estão representados nas Equações 3 e 4, respectivamente. Estas equações relacionam a perda de carotenóides com a variação da cor Lovibond (C/C_0) em relação ao tempo durante os ensaios de branqueamento.

$$C / C_0 = -\exp(K_1 t^N) \quad (3)$$

$$C / C_0 = 1 + [(K_2 * t) / (1 + K_3 * t)] \quad (4)$$

onde C é a concentração de pigmento no óleo de pescado no tempo t , C_0 é a concentração inicial e K_i é as constantes da velocidade de adsorção e N é o parâmetro de ajuste da Equação 3.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Características da matéria-prima

A matéria-prima (vísceras de carpa) usada no processo de ensilagem apresentou conteúdos (em base úmida) de umidade de $74 \pm 1\%$, de proteína de $14 \pm 2\%$ e de lipídios de $12 \pm 1\%$.

Valores similares para a composição das vísceras de carpa foram encontrados por Crexi *et al.* (2009) que estudaram as características dos óleos obtidos através do processo de ensilagem ácida e do processo termomecânico de elaboração de farinha de pescado. Neste trabalho os autores caracterizaram as vísceras de carpa utilizadas em ambos os processos, sendo a composição para umidade, proteínas e conteúdo de lipídios de 75%, 12% e 13%, respectivamente.

A Tabela 6 apresenta os valores para o conteúdo total de carotenóides, cor Lovibond, valor de TBA, índice de peróxido, percentual de ácidos graxos livres (%AGL), índices de iodo (II) e de saponificação (IS) para a matéria-prima (óleo bruto de carpa) e para o óleo neutralizado.

Na Tabela 6 verifica-se que houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os óleo bruto e neutralizado de carpa para o conteúdo total de carotenóides, cor Lovibond, valor de ácido tiobarbitúrico (TBA), índice de peróxido (IP) e percentual de ácidos graxos livres (%AGL).

Os valores dos índices de iodo e de saponificação não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) após a neutralização, pois esta etapa não afeta a composição de ácidos graxos dos triacilgliceróis.

Os valores encontrados para o total de carotenóides no óleo de pescado extraído de vísceras de carpa (Tabela 6) estão de acordo com os citados por Zhong, Madhujith, Mahfouz e Shahidi (2007) em torno de $19 \mu\text{g g}^{-1}$ óleo para o óleo extraído de vísceras, na etapa de neutralização observa-se uma perda de 13,46 % do total de carotenóides.

Tabela 6. Caracterização dos óleos bruto e neutralizado de carpa.

Índices de caracterização	Óleo Bruto*	Óleo Neutralizado*	Norma
Total de carotenóides ($\mu\text{g g}^{-1}$ óleo)	$19,46 \pm 0,02^a$	$16,84 \pm 0,01^b$	----
Cor Lovibond (30 A, V)	$16,0 \pm 0,2^a$	$11,4 \pm 0,3^b$	5,0*
Índice de Peróxido(IP) (meq peróxido kg^{-1})	$4,0 \pm 0,3^a$	$2,5 \pm 0,2^b$	<10,0**
TBA (mg malonaldeído kg^{-1} óleo)	$4,2 \pm 0,2^a$	$1,5 \pm 0,1^b$	7 – 8***
% Ácidos Graxos Livres (%AGL)	$7,30 \pm 0,02^a$	$0,90 \pm 0,02^b$	<1,20****
Índice de Iodo (II) (cg $\text{I}_2 \text{g}^{-1}$)	115 ± 3^a	114 ± 3^a	140 – 205****
Índice de saponificação (IS) (mg KOH g^{-1})	203 ± 2^a	205 ± 3^a	170 – 195****

* Valor médio \pm desvio padrão (em duplicata).

Médias seguidas por letras diferentes (linha) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

*: Cor comercial máxima para óleo de pescada; ** Ministério da Saúde do Brasil; *** BORAN *et al.*, 2006;**** legislação da ANVISA para óleo de fígado de bacalhau e cação.

Em relação ao índice de Peróxido (Tabela 6), verifica-se que ocorreu uma redução de 35,29% no óleo neutralizado. O IP do óleo de carpa bruto apresentou valor similar ao óleo de sardinha citado por Ganga *et al.* (1998) de 4,02 meq kg^{-1} . O elevado valor de TBA no óleo bruto está relacionado com a acidez do processo de ensilagem, pois os ácidos graxos livres favorecem as reações de oxidação do óleo. Na etapa de neutralização, houve um decréscimo de 64,3 % no valor de TBA. O conteúdo de ácidos graxos livres no óleo bruto da ensilagem é devido à ação das enzimas endógenas presente nas vísceras antes da acidificação (REECE, 1981). Entretanto, verifica-se que após a etapa de branqueamento ocorreu uma redução de 87,67% no percentual de ácidos graxos livres.

A redução do valor de TBA, índice de peróxido e percentual de ácidos graxos livres após a etapa de neutralização é esperado, pois esta etapa tem

por objetivo melhorar as características do óleo de pescado, ou seja, retirar impurezas, ácidos graxos livres e produtos de oxidação lipídica. Para cor Lovibond, verifica-se na Tabela 6 que no óleo neutralizado ocorreu redução da cor. Entretanto, a cor do óleo neutralizado ficou acima da cor comercial sendo necessária a etapa de branqueamento.

Os índices de iodo (II) e saponificação ficaram fora dos limites estabelecidos pela ANVISA, porém esta referência de norma é destinada a óleos extraídos de fígado de bacalhau e cação, ou seja, pescados de origem marinha. Os valores encontrados neste trabalho para II e IS estão de acordo com os resultados encontrados por Crexi et al., (2009) para o óleo de carpa bruto.

5.2 Planejamento Composto Central (PCC)

Com a realização do planejamento experimental (Tabela 7) foi possível estabelecer a faixa ótima da quantidade de adsorvente e da relação de carvão/terra a ser utilizada, para a obtenção de uma menor remoção de carotenóides e um valor adequado de TBA.

Em relação à cor Lovibond, em todos os experimentos da matriz do planejamento experimental, verificou-se que este valor ficou abaixo do estabelecido comercialmente. Dessa maneira, a etapa de branqueamento foi eficiente para todas as condições utilizadas na matriz do planejamento.

A Tabela 8 apresenta a análise estatística dos efeitos para as respostas total de carotenóides e valor de TBA do óleo branqueado de carpa.

Tabela 7. Resultados do planejamento experimental composto central para o total de carotenóides, valor de TBA e cor Lovibond do óleo branqueado de carpa.

Experimento	Adsorvente (X ₁)	Carvão/Terra (X ₂)	Carotenoides* (Y ₁)	TBA** (Y ₂)	Cor
1	-1	-1	9,94±0,02	3,3 ±0,2	1,80
2	-1	1	10,82 ±0,02	1,1 ±0,1	2,30
3	1	-1	8,94 ±0,01	1,7 ±0,2	1,50
4	1	1	8,64 ±0,02	2,1 ±0,1	1,50
5	0	-1,414	9,76 ±0,03	2,0 ±0,3	1,70
6	0	1,414	9,30 ±0,02	1,8 ±0,3	1,80
7	-1,414	0	10,76 ±0,01	1,6 ±0,2	2,10
8	1,414	0	8,36 ±0,02	3,7 ±0,2	1,20
9	0	0	9,26 ±0,02	3,4 ±0,2	1,30
10	0	0	9,36 ±0,01	3,5 ±0,1	1,40
11	0	0	9,30 ±0,02	3,3 ±0,2	1,30

Valor médio ± erro padrão (n=2); * µg/g óleo; ** mg malonaldeído/kg óleo

Tabela 8. Análise estatística dos efeitos para as respostas consideradas do óleo branqueado de carpa no planejamento experimental.

Total de Carotenóides($\mu\text{g/g oil}$) (Y_1)				TBA($\text{mg malonaldeido/ kg óleo}$) (Y_2)		
	Efeito	Desvio Padrão	<i>P</i>	Efeito	Desvio Padrão	<i>P</i>
b_0	9,306	0,029	<0,001	8,726	0,069	<0,001
b_1	-1,643	0,035	<0,001	1,175	0,084	0,005
b_{11}	0,273	0,042	0,023	-2,24	0,101	0,002
b_2	-0,017	0,035	0,669	0,981	0,084	0,007
b_{22}	0,243	0,042	0,028	-4,107	0,101	<0,001
b_{12}	-0,590	0,050	0,007	2,790	0,120	<0,001

b_0 : média; b_1 : efeito linear quant. adsorv.; b_{11} : efeito quadrático quant. adsorv.; b_2 : efeito linear relação carvão/adsorv.; b_{22} : efeito quadrático relação carvão/adsorv.; b_{12} : efeito de interação entre os fatores.

A análise estatística (Tabela 8) mostra que para a resposta do total de carotenóide, o efeito principal da quantidade de adsorvente(b_1), expresso em % p/p com relação à massa de óleo, sua interação(b_{12}) e o efeito quadrático(b_{11}) foram significativos a um nível de 95% (valores de significância menores do que 0,05). Entretanto, o efeito linear da quantidade de carvão ativado (b_2) não foi significativo a um nível de 95%, porém este fator permaneceu na análise, pois sua interação (b_{12}) e o efeito quadrático (b_{22}) foram significativos, sendo sua interação com a quantidade de adsorvente a mais significativa.

Em relação aos valores de TBA verifica-se que todos os fatores de estudo (adsorvente e carvão ativado) foram significativos ao nível de 95% ($P < 0,05$), tiveram um forte efeito linear e quadrático sobre essa resposta.

No estudo para as respostas total de carotenóides, observa-se na Tabela 8, que o efeito principal da quantidade de adsorvente apresentou maior influência sobre essa resposta, afetando-a negativamente. Em relação aos adsorventes utilizados o carvão é altamente seletivo aos fosfolipídios, deixando assim os locais de adsorção da terra livres para os pigmentos

(GNANASAMBANDAM, MATHIAS & PROCTOR, 1998). Dessa maneira, em maiores concentrações de carvão ocorre a menor remoção de carotenóides, uma vez que, na mistura adsorvente (carvão ativado/ terra ativada) a concentração de terra ativada será menor.

Para o valor de TBA o efeito quadrático da quantidade de carvão ativado quadrático apresentou maior influencia, afetando a resposta negativamente. A maior redução do valor de TBA deve-se ao fato de que o carvão ativo também possui alta capacidade de adsorção de compostos de oxidação (GNANASAMBANDAM, MATHIAS & PROCTOR, 1998). Assim, quanto maior a quantidade percentual de carvão ativado em relação à massa total de adsorvente maior será a remoção dos produtos de oxidação secundária.

Gnanasambandam e Proctor (1998) no estudo sobre o branqueamento do óleo de soja relatam que a afinidade do carvão pelos componentes do óleo é da ordem de fosfolipídios maior do que os produtos de oxidação. Isto ocorre devido à polaridade relativa de adsorção dos grupos funcionais fosfato ser maior do que os peróxido. A adsorção do fósforo na superfície polar acontece principalmente pelo grupo fosfato, para os peróxidos a superfície do carvão atua como um catalisador decompondo estes compostos de oxidação.

A validade do modelo estatístico para o ajuste dos dados experimentais foi verificada através da análise de variância. Sendo observado que para a resposta valor de TBA o modelo não foi preditivo ($F_{\text{calculado}}$ não foi cinco vezes menor que o F_{tabelado}).

A Tabela 9 apresenta os resultados da análise de variância para o ajuste do modelo para a resposta total de carotenóides.

Tabela 9. Análise de variância para o ajuste do modelo estatístico para a etapa de branqueamento do óleo de carpa.

Efeito	Soma	<i>Graus</i>	Média	$F_{\text{calculado}}$	F_{tabelado}^*	F_c/F_t^{**}
	Quadrática	<i>Liberdade</i>	Quadrática			
Total de Carotenóides ($\mu\text{g/g}$ óleo) (Y_1)						
Regressão	5,91	4	1,47	49	4,53	10,81
Resíduo	0,19	6	0,03	-	-	
Total	6,10	10	-	-	$R^2=0,96$	

*Distribuição de Fisher para probabilidade de 5% ($P < 0,05$).

** Modelo Preditivo $F_c/F_t \geq 5$

O F-teste de Fischer foi usado para avaliar a significância da regressão do modelo. Na Tabela 9 verifica-se que para a resposta total de carotenóides o modelo é significativo, ou seja, os dados preditivos se aproximam dos experimentais.

Com a equação de regressão foi obtido o coeficiente de regressão de $R^2 = 0,96\%$ para o conteúdo total de carotenóides. Estes valores asseguraram um ajuste satisfatório do modelo quadrático aos dados experimentais, indicando que 96% da variabilidade nas respostas podem ser explicadas pela equação do modelo apresentado na Equação 5.

$$Y_1 = 9,30 - 0,82X_1 + 0,13X_1^2 + 0,12X_2^2 - 0,29X_1X_2 \quad (5)$$

Onde Y_1 é o conteúdo total de carotenóides $\mu\text{g g}^{-1}_{\text{óleo}}$, X_1 é a quantidade de adsorvente na forma codificada e X_2 é a quantidade de carvão ativado.

A Figura 13 apresenta a superfície de resposta para o conteúdo total de carotenóides.

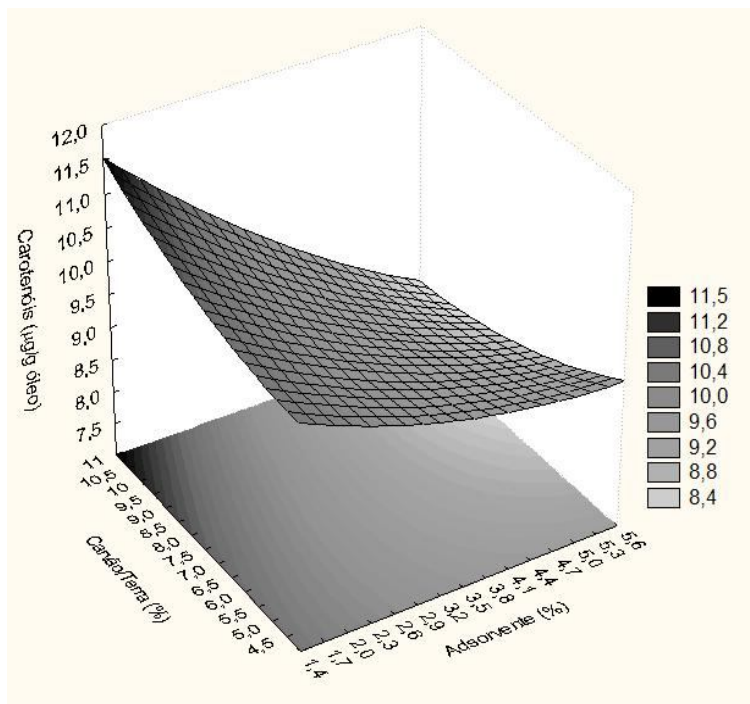


Figura 13. Superfície de resposta para o total de carotenóides do óleo de carpa após a etapa de branqueamento.

Na Figura 13, observa-se que com o uso de maiores quantidades de carvão ativado e menores concentrações de adsorvente, obteve-se maior conteúdo total de carotenóides. Assim, a melhor condição de trabalho para a etapa de branqueamento do óleo de carpa foi com a utilização de 2% de adsorvente em relação à massa de óleo e quantidade de carvão ativado de 10% em relação à massa de adsorvente.

Os resultados obtidos indicam que a adsorção das misturas de carvão ativo e terra ativada acontecem na seguinte ordem: carotenóides maior do que o valor de TBA, sendo a redução do conteúdo total de carotenóides de 35,7% e do valor de TBA de 64,3% em relação ao óleo neutralizado (Tabela 7), com conseqüente redução da cor de 79,8%. Nestas condições obteve-se um óleo branqueado (Tabela 7) com conteúdo final destes compostos de $10,82 \mu\text{g g}^{-1}$ óleo, $1,1 \text{ mg malonaldeído kg}^{-1}$ óleo e cor Lovibond de 30 Amarelo e 2,3 Vermelho, respectivamente.

Os carotenóides fazem parte da fração minoritária da composição química de óleo e gorduras, contribuem para a qualidade de óleos, especialmente ricos em AGPs, pois aumentam a estabilidade oxidativa

(ZHONG *et al.*, 2007; LUTEROTTI, FRANKO & BICANIC, 1999), o que justifica a escolha da região de trabalho onde ocorreu a menor perda destes compostos.

O valor de TBA é utilizado para indicar a degradação dos óleos por oxidação lipídica quantificando os produtos de oxidação secundária, para óleos destinados ao consumo humano estes valores variam na faixa de 7 – 8 mg malonaldeído kg^{-1} óleo, (BORAN *et al.*, 2006). Dessa maneira, obteve-se um óleo branqueado com qualidade oxidativa.

Em estudos sobre a utilização de misturas de carvão ativado e terra ativada em óleo vegetal Ferreira-Dias *et. al* (2000) obtiveram conteúdo de carotenóides em torno de 12%, utilizando quantidade de adsorvente de 1,5% (p/v) e percentual de terra ativada maior que 40%. Estes autores relatam que com o aumento de carvão ativado na mistura de adsorventes ocorre a remoção maior de clorofila enquanto a adsorção de carotenóides é mantida.

5.3 Cálculo das constantes cinéticas

Para o cálculo das constantes cinéticas foram utilizados os modelos de Brimberg modificado e de Langmuir-Hinshelwood. A Figura 14 apresenta os dados cinéticos de remoção de TBA e Carotenóides.

Os dados cinéticos de remoção de TBA e carotenóides foram analisados mediante ao ajuste dos dados experimentais aos modelos de Brimberg e Langmuir. A Tabela 11 apresenta os valores dos coeficientes cinéticos, o coeficiente de determinação, a significância e o erro médio relativo para o ajuste dos dados experimentais aos modelos de Brimberg e Langmuir. Os dados permitem observar que após 30 min. de branqueamento a remoção dos carotenóides já não se mostra significativa, esse resultado foi semelhantemente encontrado por Brimberg (1982).

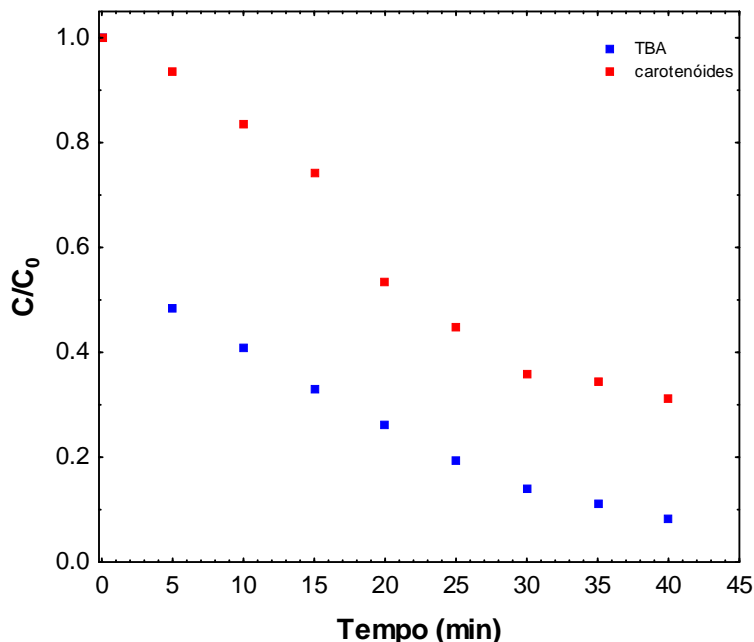


Figura 14. Cinética de adsorção do branqueamento de óleo de carpa.

Tabela 10. Valores dos coeficientes cinéticos, coeficiente de determinação, significância e o erro médio relativo para o ajuste dos dados experimentais aos modelos de Brimberg e Langmuir.

Brimberg	K	P ₁	N	P ₂	R ²	E(%)
TBA	0,247	0,0004	0,59	0,00001	0,99	3
Carotenóides	0,010	0,08	1,34	0,0005	0,98	
Langmuir-Hinshelwood						
TBA	0,16	0,002	0,15	0,009	0,98	5
Carotenóides	0,023	0,0004	0,0065	0,312	0,96	

Para o TBA os dois modelos representaram de forma satisfatória os dados experimentais, representados pelos altos coeficientes de determinação e baixos erros médios relativos. Também os valores dos carotenóides representaram de forma satisfatória os dados experimentais, pelos altos coeficientes de determinação e baixo erro médio relativo. Os valores do parâmetro k do modelo de Brimberg e o parâmetro k_2 do modelo de Langmuir não foram significativos, entretanto foram mantidos no modelo para melhorar a qualidade do ajuste.

5.4 Índices de caracterização do óleo branqueado na melhor condição do planejamento experimental e perfil de ácidos graxos.

Para realização de uma avaliação mais detalhada da qualidade do óleo branqueado na melhor condição do branqueamento (Tabela 11), realizaram-se as seguintes análises: índice de peróxido (IP), percentual de ácidos graxos livres (%AGL) e índices de iodo (II) e de saponificação (IS).

Segundo Sathivel, *et. al* (2003) o nível aceitável de ácidos graxos livres no óleo de pescado refinado está entre 1,8 e 3,5% . O índice de peróxido do óleo branqueado esta dentro dos padrões estabelecidos para um óleo de boa qualidade aceitável para consumo humano não sendo superior a 8 meq/kg oil (BORAN, KARAÇAM & BORAN, 2006).

Os valores dos índices de iodo e saponificação estão fora da faixa citada por Bernadini (1986) para óleo de pescado de origem marinha 120-190 $\text{cg I}_2\text{g}^{-1}$ e 160-190 mg KOHg^{-1} , essa diferença pode estar relacionada com a diferença de temperatura e salinidade da água (DE SILVA, GUNASEKERA & AUSTIN, 1997).

Tabela 11. Caracterização do óleo branqueado de carpa na melhor condição de trabalho.

Índices de caracterização	Óleo Neutralizado
Total de carotenóides ($\mu\text{g g}^{-1}$ óleo)	10,82
Cor Lovibond (30 A, V)	2,3
Índice de Peróxido (IP) ($\text{meq}_{\text{peróxido}} \text{kg}^{-1}$)	1,90
TBA ($\text{mg}_{\text{malonaldeído}} \text{kg}^{-1}$ óleo)	1,1
% Ácidos Graxos Livres (%AGL)	0,50
Índice de Iodo (II) ($\text{cg I}_2 \text{g}^{-1}$)	116
Índice de saponificação (IS) (mg KOH g^{-1})	203

Na Tabela 12 são apresentados os perfis de ácidos graxos para o óleo bruto de vísceras de carpa obtido através da ensilagem ácida e do óleo branqueado na melhor condição do processo. A análise identificou que não há diferença significativa entre as concentrações de ácidos graxos nos dois óleos, reafirmando que as etapas de refino não alteram o perfil de ácidos graxos do óleo original.

Os ácidos graxos em maior percentagem foram C 16:0 e C 18:1, que correspondem cerca de 41,5%. Os ácidos graxos da série dos ω -3 (C 18:3, C 20:3, C 20:5, C 22:6) representaram cerca de 14,0% dos ácidos graxos, já entre os ω -6 o principal foi o C 18:2 (aproximadamente 10%).

Os valores encontrados estiveram de acordo com a literatura, sendo que o perfil de ácidos graxos depende da variedade do pescado, estação do ano, sexo e alimentação (GULER *et al.* 2008, DRUZIAN, MARCHESI, & SCAMPARINI, 2007).

Na Tabela 12, se observa que os conteúdos de DHA e de AA no óleo branqueado de Carpa oriundo da ensilagem foram menores que os valores citados por Rasoarahoma *et al.* (2004) para o óleo de carpa, 6,7% e 5,9% respectivamente; e maiores que os citados por Druzian *et al.* (2007), de 1,02% e 1,16% respectivamente. Porém, o conteúdo de EPA é maior que os citados por estes autores de 3,4% e 2,4%, respectivamente.

Há duas séries de ácidos graxos essenciais que não podem ser sintetizados pelos animais e humanos e devem ser supridos pela dieta. A série ω -6 é derivada do ácido linoléico (LA) e a série ω -3, do ácido alfa-linolênico (ALN). A partir destes ácidos graxos poliinsaturados, são sintetizados os ácidos araquidônico (AA), eicosapentanóico (EPA) e docosaexaenóico (DHA).

Tabela 12. Perfil de ácidos graxos para os óleos de carpa bruto e branqueado na melhor condição de operação.

Ácidos graxos	Óleo bruto	Branqueado
C 14:0	3,66	3,63
C 16:0	15,20	15,19
C 16:1	8,12	8,14
C 17:0	1,16	1,17
C 18:0	2,34	2,32
C 18:1	25,55	25,57
C 18:2 ω -6	9,96	9,94
C 18:3 ω -3	7,32	7,33
C 20:1	1,16	1,15
C 20:3 ω -3	1,65	1,66
C 20:4 ω -6 (AA)	1,77	1,76
C 20:5 ω -3 (EPA)	3,98	3,97
C 22:6 ω -3 (DHA)	1,27	1,28
Σ não identificados	5,42	5,44

Em geral, considera-se que peixes cultivados de água doce contêm menor quantidade de ácidos graxos da série ω -3 e maior quantidade de ω -6 (Tabela 13). Assim, pesquisas sobre fontes lipídicas na nutrição de peixes de água doce, são muito importantes para o desenvolvimento da aquicultura, pois nela está a possibilidade de se obter melhores resultados nas proporções das relações das séries ω -3/ ω -6.

Esta relação é maior em peixes marinhos que em peixes de água doce. As relações de ω -3 e de ω -6 nos lipídios totais de peixes de água doce variam entre 0,5 e 3,8, considerando que para peixes marinhos esta variação pode ser

de 4,7 para 14,4. A relação ω -3/ ω -6 é sugerida como um útil indicador de valores nutricionais relativos para óleo de pescado (GULER *et al.*, 2008).

Tabela 13. Somatório das classes de ácidos graxos e relação ω 3/ ω 6 para os óleos de carpa bruto e branqueado na melhor condição.

Ácidos graxos	Bruto	Branqueado
Σ AGS (%)	22,36	22,31
Σ AGM (%)	34,83	34,86
Σ AGPs (%)	25,95	25,94
ω 3 (%)	14,22	14,24
ω 6 (%)	11,73	11,70
ω 3/ ω 6	1,21	1,22

Vários países como a Alemanha, Canadá, Japão e EUA já fizeram recomendações da proporção de ω -3 ω -6 para a saúde humana. No Canadá, a proporção recomendada de ω -3/ ω -6 deve ser maior que 0,25 para reduzir a influência da competitividade do AL com ALN, para o metabolismo na produção de cadeias longas (EPA e DHA) (HOLUB, 2002). Assim, o consumo de peixe que contém uma relação adequada das séries dos ácidos graxos (ALN e AL) pode melhorar a saúde de pessoas, quando comparadas com as que não consomem sendo que para o óleo de carpa extraído das vísceras pelo processo de ensilagem ácida apresentou uma relação ω -3/ ω -6 de 1,21-1,22% estando assim de acordo com a literatura para peixes de água doce.

6. CONCLUSÕES

Para o branqueamento do óleo de carpa (*Cyprinus carpio*) observou-se através da análise estatística que o carvão ativado foi mais eficiente que a terra ativada na preservação do conteúdo total de carotenóides no óleo de carpa.

A melhor condição do branqueamento, utilizando a metodologia da superfície de respostas, foi observada com o uso da quantidade de 2% de adsorvente em relação à massa de óleo e quantidade de carvão ativado de 10% em relação à massa de adsorvente. Nesta condição ocorreu maior preservação de carotenóides, reduções do valor de TBA e do escurecimento do óleo, obtendo-se um óleo branqueado com melhor qualidade oxidativa e melhor aspecto em relação à cor, com conteúdo final de carotenóides de $10,82 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{óleo}}$, valor de TBA de $1,1\text{mg malonaldeído}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{óleo}}$, e cor Lovibond (30 Amarelo 2,3 Vermelho), respectivamente.

Foram obtidas constantes cinéticas dos modelos de Brimberg e Langmuir, para o branqueamento do óleo de carpa na melhor condição determinada pelo planejamento experimental. Sendo que foi possível determinar que ao passar de trinta minutos a remoção dos carotenóides é baixa, ocorrendo assim, no branqueamento uma rápida adsorção.

O óleo branqueado de Carpa apresentou um somatório de 14,24% de ácidos graxos $\omega-3$, sendo os principais os ácidos linolênico (7,33%) e Eicosapentaenóico (3,97%), da série $\omega-6$ o principal ácido graxo foi linoléico com 9,94%, o somatório dos ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados foi de aproximadamente 60 % e a relação $\omega-3/\omega-6$ de 1,22 esteve dentro dos limites citados na literatura.

Na análise cromatográfica também se observou que nos óleos bruto e branqueado de vísceras de carpa não foi identificada diferença significativa entre as concentrações de ácidos graxos nos dois óleos, reafirmando que as etapas utilizadas de refino não alteram o perfil de ácidos graxos no óleo bruto original.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, S. U., REDDY, K. K. SWATHY, S. L., SINGH, S. K., KANJILAI, S., PRASAD, R. B. N., PANDEY, A. Enrichment of γ -linolenic acid in the lipid extracted from *Mucor zycahe* MTCC 5420. *Food Research International*, (2009) 42, 449-453.

ALFARO, A. T. Otimização do Processo e Determinação das Propriedades Funcionais da Gelatina de ossos de pescado. Dissertação, Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande (2004).

AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY (AOCS) Official and Tentative Methods of American Oil Chemists' Society, ed.3, 1980.

ANVISA – www.anvisa.org.br – página acessada em 10/07/2010.

ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) Official Methods of Analysis, 16th edn. Arlington, VA: AOAC, 1995.

BARROGA A. J., KUMITA, Y., TOSHIHARA, H. The effects of additives on pH and chemical compositions of yellow tail (*Seriola quinqueradiata*) fish silage. *Proceedings of school of agriculture*. (2000) v.19, p.1-10.

BELL, M.V.; HENDERSON, R.J.; SARGENT, J.R. Minireview. The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* (1986), 83B. p. 711-719.

BERNARDINI, E. *Tecnologia de aceites y grasas*. Madrid, Spanish: (1986) Alhambra S.A, p. 234-261.

BIENIARZ, K., KOLDRAS, M., KAMINSKI, J., & MEJZA, T.. Fatty acids and cholesterol in some freshwater fish species in Poland. *Folia Universitatis Agriculture Stetinensis* (2000) v. 27, p. 21–44.

BIMBO, A. P.; CROWTHER, J. *BFish oils: processing beyond crude oil*. *Infofish international* (1991) p. 20-24.

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

BORAN, G., KARAÇAM, H. & BORAN, M. Changes in the quality of fish oils due to storage temperature and time. *Food Chemistry* (2006) v.98, p. 693-698,

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

BRIMBERG, U.I. Kinetics of bleaching of vegetables oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (1997) v.74, p. 1559-1564.

CARNEIRO, R.L.; SILVA, J. A. M.; ALBINATI, R. C. V. B.; SOCORRO, E. P.; NEVES, A. P. Uso do microcrustáceo branchoneta (*Dendrocephalus brasiliensis*) na ração para tucunaré. *Rev. Brás. Saúde Prod. An.* (2004) v. 5, n. 1, p. 18-24.

CORRÊA, A. P.A. Fracionamento de óleo de peixe com dióxido de carbono supercrítico. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande (2003).

CREXI, V. T. Refino de óleos de pescado provenientes dos processos de silagem ácida e termomecânico de farinha. Dissertação de Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, 2005.

CREXI, V. T., SOARES, L. A. S. & PINTO, L. A. A. Carp (*Cyprinus carpio*) oils obtained by fishmeal and ensilage processes: characteristics and lipid profiles. *International Journal of Food Science and Technology* (2009) V. 44, p. 1642–1648,

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

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* (2010) v119, p.145 – 150.

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

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. *SINERGIA* (2007) v. 11(1), p. 9-16,

EL-BADRY, A.M., GRAF, R., CLAVIEN, P.A. Omega 3- Omega 6: what is right for the liver. *Journal of hepatology*, (2007) nº 47, p. 718-725. *Food Chemistry* (2003) v.80, p.489-493.

ESPÍNDOLA FILHO, A. et al. Processamento agroindustrial de resíduos de peixes, camarões, mexilhões e ostras pelo sistema cooperativado. *Revista de Educação Continuada do CRMV-SP, São Paulo* (2001) v.4, p. 52-61.

EZHIL, J. JEYANTHI, C.; NARAYANAN, M. Marigold as a Carotenoid Source on Pigmentation and Growth of Red Swordtail, *Xiphophorus helleri*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences (2008) v. 8, p. 99-102.

FERRARI, V. L. Avaliação dos componentes minoritários de óleos vegetais nos processos tecnológicos. Tese de Doutorado em Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, p.160, 1997

FERREIRA-DIAS, S., RIBEIRO, M. H. L. & LOURENÇO, P. A. S. Modelling adsorption of Impurities from a vegetable oil in organic solution: the use of blends of activated carbon and earths. Bioprocess Engineering (2000) v.22, p. 407-412,

FONTANA, JOSÉ. Carotenóides Cores Atraentes e Ação Biológica. In:<<<http://www.herbeiro.com.br/dataherbo6/1112carotenoid.htm>>> Acesso em: 02/04/2009.

GALLI, L.; TORLONI, C. Criação de Peixes. São Paulo: Ed. Nobel (1986) p.119.

GANGA, A., NIETO, S., SANHUEZ, J., ROMO, C., SPEISKY, H. & VALENAUELA, A. Concentration and stabilization of n-3 polyunsaturated fatty acids sardine oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, (1998) v.75, p.733-736,

GERI, G., POLI, B. M., GUALTIERI, M., LUPI, P., & PARISI, G.. Body traits and chemical composition of muscle in the common carp (*Cyprinus carpio*) as influenced by age and rearing environment. Aquaculture (1995) v. 129, p. 329–333.

GNANASAMBANDAM, R., MATHIAS, M & PROCTOR, A. Structure and Performance of Soy Hull Carbon Adsorbents as Affected by Pyrolysis Temperature. Journal American Oil Chemistry Society (1998) v.75, p.615-621

GODDARD, J. S., PERRET, J. S. M., Co-drying fish silage for use in aquafeeds. Animal Feed Science and Technology, 2004.

GULER, G. O., KIZTANIR, B., AKTUMSEK, A., CITIL, O.B. & OZPARLAK, H. Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and $\omega 3/\omega 6$ ratios of carp (*Cyprinus carpio* L.) muscle lipids in Beysehir Lake (Turkey). Food Chemistry (2008) v.108, p. 689-694.

HEU, M. S.; KIM, H. R.; PYEUN, J. H. Comparison of trypsin and chymotrypsin from the viscera of anchovy, *Engraulis japonica*. Comp. Biochem. Physiol (1995) v. 112B, n. 3,

HOLUB, B. Omega-3 fatty acids in cardiovascular care, Journal Clinical Nutrition: 4 (2002) v.166, p. 608-615.

HONGXIA, L.S.; T. TYNDALE, HEATH, D.D.T.; LETCHER, R.J.; Determination of carotenoids and all-trans-retinol in fish eggs by liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry *Journal of Chromatography B*, (2005) 816. p. 49–56.

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

JUSTI, K. C. The influence of feed supply time on the fatty acid profile of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on a diet enriched with n-3 fatty acids. *Food Chemistry* (2003) v.80, p.489-493.

KAYNAK, G., ERSOZ, M., KARA., H. Investigation of the properties of oil at the bleaching unit of an oil refinery. *Journal of Colloid and Interface Science* (2004) n° 280, p. 131-138.

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* (2008) v. 107, p. 700-706.

LAWLESS, H. T. & HEYMANN, H. Sensory evaluation of food: Principles and Practices. Food Science Texts Series. Chapman & Hall, New York, 1999.

LIASET, B.; LIED, E.; ESPE, M. Enzymatic hydrolysis of by-products from the fish-filleting industry: chemical characterization and nutritional evaluation. *J Sci Food Agric.* (2000).

LUTEROTTI, S., FRANKO, M. & BICANIC, D. Ultrasensitive determination of β -carotene in fish oil-based supplementary drugs by HPLC-TLS. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis* (1999) v.21, 901-909.

MA, M. H & LIN, C.I. Adsorption kinetics of β -carotene from soy oil using regenerated clay. *Separation and Purification Technology* (2004) v.39, p. 201–209,

MAIA JR. W. M., NUNES, M. L., FIGUEIREDO, M. J., BRAGAGNOLO, N. Caracterização da fração lipídica de silagem de resíduos de tilapia para utilização em rações para aquicultura. *Anais de aquicultura Brasil.* (1988) v.2, p.55-62.

MELO, A. R.; STIPP, N. A. F. A Piscicultura em Cativeiro como Alternativa Econômica para as Áreas Rurais. *Geografia.* (2001) v. 10, n. 2, p. 175-193,

METCALFE, L. D. A. A.; SCHIMITZ, J. R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas liquid chromatography. *Anal. Chem.* (1966) v.38, p. 510.

MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; BORDERÍAS, A. J. Functional characterisation of muscle and skin collagenous material from hake (*Merluccius merluccius* L.). *Food Chemistry.* (1999) v. 65.

MORAIS, M. M., PINTO, L. A. A., OTTIZ, S. C. A., CREXI, V. T., SILVA, R. L. & SILVA, J. D. Estudo do Processo de Refino do Óleo de Pescado. Revista do Instituto Adolfo Lutz, (2001) v.60, p.23-33.

MOREIRA, A.B.; VISENTAINER, J.V.; de SOUZA, N.; MATSUSHITA, M. Fatty Acids Profile and Cholesterol Contents of Three Brazilian Brycon Freshwater Fishes. J. Food Comp. Anal.(2001) 14. P. 565-574.

MYER, R.H. Response surface methodology. USA: Library of Congress.

NORRIS, I. S. Refining and Bleaching. In: Bailey's Industrial and Fat Products. (1976).John Wiley & Sons, 4th ed., v. 02, 1982, p. 253 – 314.

OLSEN, Y. Lipids and essential fatty acids in aquatic foods webs: what can freshwater ecologists learn from mariculture. In: ARTS, M. T., WAINMAN, B. C

OSAWA, C.C.; FELÍCIO, P.E.; GONÇALVES, L.G.G. Teste de TBA Aplicado a Carnes e Derivados: Métodos Tradicionais, Modificados e Alternativos Química Nova (2005) v. 28, No. 4, p.655-663.

PATTERSON, H. B. W. Bleaching and Purifying of Fats and Oils- Theory and Practice. AOCS, 1992.

PESSATTI, M. L. Aproveitamento dos subprodutos do pescado. Meta 11. Relatório Final de Ações Prioritárias ao Desenvolvimento da Pesca e Aqüicultura no Sul do Brasil, Convênio Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Universidade do Vale do Itajaí (2001).MA/SARC, n. 003/2000.

PROCTOR, A. & GNANASAMBANDAM, R. Soy Hull Carbon as Adsorbents of Crude Soy Oil. Journal American Oil Chemistry Society (1997) v. 12, p. 1549-1552,

RAMALHO, V. C., JORGE. N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. Química Nova, (2005) Vol. 29, No. 4, 755-760.

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

RITTNER, H. Óleo de Palma: Processamento e utilização. 1^a Ed., p.151 – 207, 1996.

SABAH, E., CINAR, M. & ÇELIK, M. S. Decolorization of vegetable oils: Adsorption mechanism of β -carotene on acid-activated sepiolite. Food Chemistry, (2007) v.100, p. 1661-1668,

SALAS, A. et al. Estabilizacion de Aceite de Pescado Destinado la Alimentacion Humana. Bol. Inv. Tec. Pés. Peru (2003) v 5, p. 73-80.

SARGENT, J. G., TOCHER, D. R., BELL, J. G. The lipids. In: HALVER, J. E., HARDY, R. W. Fish nutrition (2002) 3^o ed. Ohio: Elsevier, p.181-257.

SATHIVEL, S., PRINYAWIWATKUL, W., KING, J. M., GRIMM, C. C. & LLOYD, S. Oil production from catfish viscera. Journal of the American Oil (2003) v. 80, p. 277-382.

SEIBEL, N.F, SOUZA-SOARES, L.A. Produção de Silagem Química com Resíduos de Pescado Marinho. Brazilian Journal of Food Technology (2003).

SOUZA, S.M.G.; ANIDO, R.J.V.; TOGNON, F.C. Ácidos graxos Ômega-3 e Ômega-6 na nutrição de peixes – fontes e relações Revista de Ciências Agroveterinárias, Lages (2007) v.6, n.1, p. 63-71.

STEFFENS, W. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. Aquaculture, Amsterdam (1997) v.151, p.97–119.

STORI, F. T.; BONILHA, L. E. C.; PESSATTI, M. L. Proposta de aproveitamento dos resíduos das indústrias de beneficiamento de pescado de Santa Catarina com base num sistema gerencial de bolsa de resíduos. In: Social, Inst. Ethos de Empresas e Resp. Econômico, Jornal Valor. Responsabilidade social das empresas. São Paulo (2002) 373-406 (390-397).

SUÁREZ-MAHECHA, H., FRANCISCO, A., Beirão, L.H., BLOCK, J.M., SACCOL, A., PARDO-CARRASCO, S. Importância de ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes de cultivo e de ambiente natural para a nutrição humana. Boletim do Instituto da Pesca, (2002) São Paulo, v. 28, nº 1, p. 101-110.

UENOJO, M.; JUNIOR, M.R.M.; PASTORE, G.M. Carotenóides: Propriedades, Aplicações E Biotransformação Para Formação De Compostos De Aroma Química. Nova (2007) Vol. 30, No. 3, p. 616-622.

VIANNI, R.; BRAZ-FILHO, R. Ácidos Graxos Naturais: Importância e Ocorrência em Alimentos. Química Nova, (1995) v19, p. 400-407.

VISENTAINER, J. V.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; CATHARINO, R. R.; FRANCO, M. R. B. Composição química e de ácidos graxos em tilápias (*Oreochromis niloticus*) submetidas à dieta prolongada. Revista Nacional da Carne. (2003)n. 319, p. 152-154.

VIVIAN, FEDDEN, V.; SOUZA-SOARES, L.A. Fosfolipídios: Uma Revisão. In: Lipídios Uma Coletânea. Pelotas (2009) Ed. Universitária, UFPEL, p. 149-175.

VYNCKE, W. Direct determination of the thiobabaturic acid value in trichoroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. Fette-Seifen Anstrichmittel, (1970) V.12, P.1084-1087.

WINDSOR, M. BARLOW, S. Intoducion a los Subproductos de Pesqueria. Editorial Acríbia. Zaragoza (España). (1984) .p 4-35; 84-97; 180-201.

ZANOTTA, P. A. Ensaios cinéticos de branqueamento de óleo de soja. Tese de mestrado, UFSC, Florianópolis, 1999.

ZHONG, Y., MADHUJITH, T., MAHFOUZ, N. & SHAHIDI, F.. Compositional characteristics of muscle and visceral oil from steelhead trout and their oxidative stability. Food Chemistry (2007) v.104, p.602-608.

ZHOU, S., PAULSON, A. T., ACKMAN, R. G. Release of free fatty acids from lipids during ensilation of herring mince. the possible role of ethoxyquin. Journal of Food Lipids (1995) p. 121–134.

8. APÊNDICE

8.1 imagens ensilagem e óleos bruto, neutralizado e branqueado.



Resíduos de Carpa moídos



Ensilagem – primeiro dia



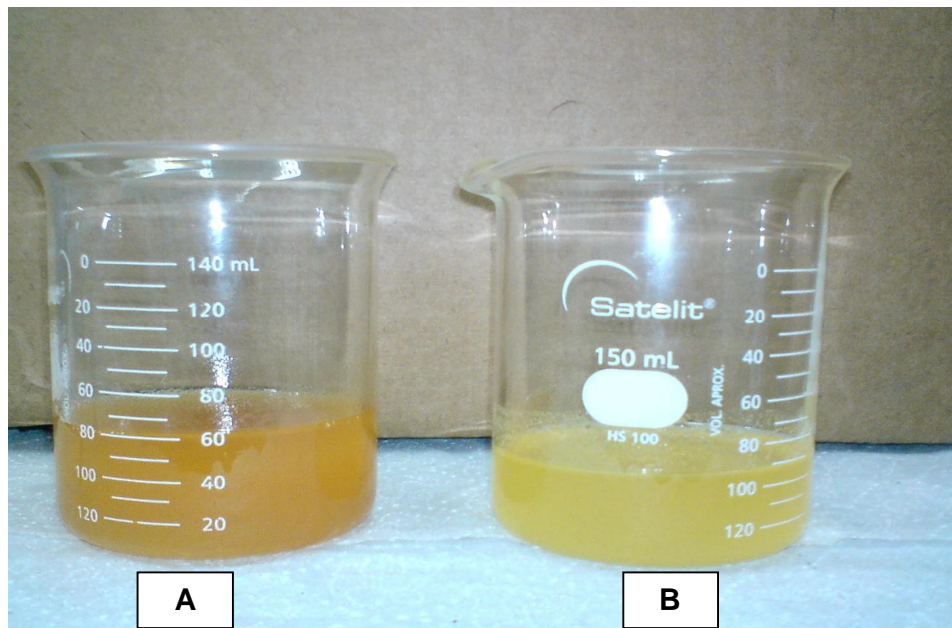
Ensilagem quinto dia



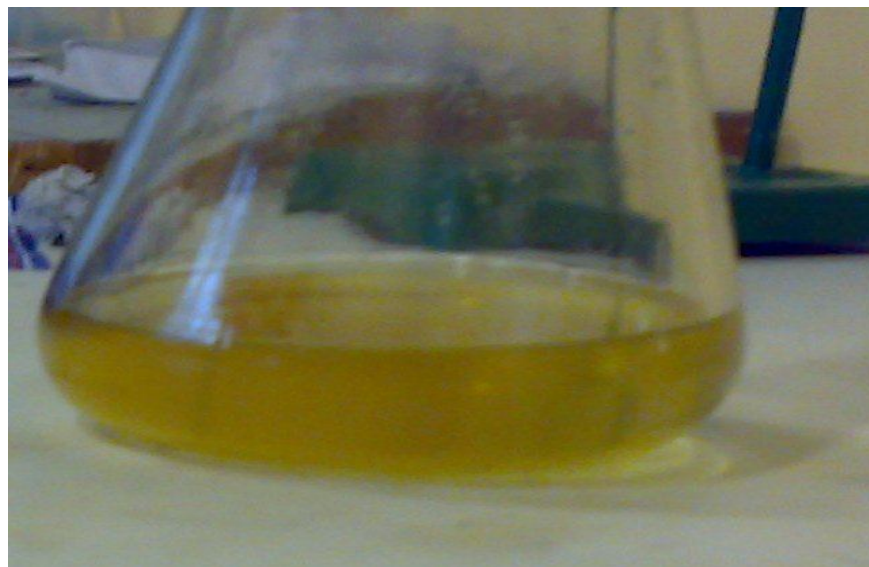
Ensilagem décimo dia



Ensilagem décimo quinto dia



Óleo bruto (A) óleo neutralizado (B)



Óleo branqueado

8.2 procedimento para realização dos índices de caracterização.

Índice de acidez e % ácidos graxos livres

- ✓ Pesar 5,0 g de amostra em erlenmeyer de 250 mL;
- ✓ Adicionar 50 mL de solução álcool – éter etílico (1:2 v/v);
- ✓ Adicionar 2,0 ml de solução indicadora fenolftaleína 0,1%;
- ✓ Titular com NaOH 0,1 M até o aparecimento de cor rósea.

Cálculo

$$\text{Índice de acidez em ácido oléico (g/100g)} = \frac{V \text{ NaOH} * 28,2 * N}{\text{Massa de amostra}}$$

$$\% \text{ de ácidos graxos livres} = 0,503 * \text{índice de acidez}$$

Índice de Saponificação

- ✓ Pesar 4,0 – 5,0 g de amostra e adicionar 50,0 mL de solução alcoólica de KOH 0,5 M;
- ✓ Aquecer em chapa de aquecimento com sistema de refluxo por 1 hora;
- ✓ Adicionar fenolftaleína 1,0 %;
- ✓ Titular com HCl 0,5 M até o aparecimento da cor rósea.

Cálculo

$$\text{Índice de saponificação} = \frac{(Vb - Va) * M \text{ HCl} * 56,1}{\text{Massa de amostra}}$$

Onde:

Vb = volume gasto de ácido gasto no branco

Va = volume de ácido gasto na amostra

H HCl = Molaridade do ácido utilizado

Índice de iodo

- ✓ Pesar exatamente 0,1 g de amostra adicionar 10 mL de HCCl_3 , tampar e agitar para dissolver a amostra acrescentar 25,0 mL do reagente Wijs (monocloreto de iodo);
- ✓ Tampar e agitar por 30 segundos e repousar no escuro por 30 minutos;
- ✓ Adicionar 20,0 mL de solução de KI 10%;
- ✓ Adicionar 100 mL de água e agitar;
- ✓ Titular com tiosulfato 0,1 N padronizada;
- ✓ Titular até o aparecimento de coloração amarela, depois adicionar o indicador de amido 1,0% e terminar a titulação até o desaparecimento da cor.

Cálculo

$$\text{Índice de iodo} = \frac{(V_b - V_a) * 12,69}{\text{Massa de amostra}}$$

Onde:

V_a = volume gasto de tiosulfato gasto na amostra

V_b = volume gasto no branco

Índice de peróxido

- ✓ Pesar 5,0 g de amostra e adicionar 30,0 mL de solução de ácido acético – clorofórmio (3:2);
- ✓ Agitar até completa dissolução;
- ✓ Adicionar 0,50 mL de solução de KI saturada e agitar;
- ✓ Deixar em repouso no escuro por 1 minuto;
- ✓ Adicionar 30 mL de água e agitar;
- ✓ Titular com solução de tiosulfato de sódio 0,01 N até que o aparecimento da cor amarela tenha desaparecido;

- ✓ Adicionar 0,5 mL de indicador de amido;
- ✓ Continuar titulação até o aparecimento de cor azul.

Cálculo

$$\text{Índice de peróxido} = \frac{(V_a - V_b) * N * 1000}{\text{Massa de amostra}}$$

Onde:

V_a = volume do tiosulfato gasto na amostra

V_b = volume de tiosulfato gasto no branco

N = normalidade do tiosulfato de sódio

TBA

- ✓ Pesar 5 g de óleo e colocar 30 mL da solução de TCA 7,5% e agitar durante 10 minutos;
- ✓ Filtrar em algodão e medir 5mL do filtrado em um tubo de ensaio com tampa de rosca;
- ✓ Adicionar 5 mL da solução de TBA 0,02 M e colocar em banho fervente por 40 minutos;
- ✓ Resfriar e ler a absorbância a 530 nm contra um branco preparado com os reagentes puros;
- ✓ Construir uma curva padrão segundo a lei de Beer para a faixa de trabalho a ser analisada, após calcula-se a concentração de mg malonaldeído/ Kg de óleo.