UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JULIO GUERRA SEGURA

**Extração e Caracterização de Óleos de Resíduos de Peixes de Água
Doce**

Pirassununga

2012

JULIO GUERRA SEGURA

**Extração e Caracterização de Óleos de Resíduos de Peixes de Água
Doce**

VERSÃO CORRIGIDA

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas

Pirassununga

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

S456e Segura, Julio Guerra
 Extração e caracterização de óleos de resíduos de
 peixes de água doce / Julio Guerra Segura. --
 Pirassununga, 2012.
 95 f.
 Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
 Departamento de Zootecnia.
 Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal.
 Orientadora: Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo
Viegas.

1. Óleo de peixe 2. Peixe de água doce
3. Congelamento 4. Extração 5. Refinamento. I. Título.

En este instante, el reloj marca las 3:38 am, algo a lo cual en los últimos meses me he llegado a acostumbrar. Estoy tratando de juntar las piezas que explican de qué manera el consumo de aceite de pescado está relacionado con la respuesta inflamatoria del organismo humano. En momentos como este, inevitablemente recuerdo a mi hermano (mayor para mí con 2 años), cuando él tenía entre unos 13 y 15 años. Recuerdo su particular dedicación a las tareas del colegio, que envolvían temas que se hallan en los libros grandes y viejos de ciencias químico-biológicas. Estoy seguro de que ese tipo de episodios influyeron en mí para crear un especial interés por resolver las cuestiones que me resultan complejas. Agradezco a la vida por ese ejemplo. En momentos como este, cuando las preguntas parecen interminables y las fuentes de respuesta incompatibles, recuerdo con mucho cariño su figura, persiguiendo caprichosos conceptos.

Este trabajo lo dedico a mi hermano, Alfonso.

09/02/2012

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de expressar meu profundo agradecimento aos meus pais, Julio Guerra Betancourt e Martha Segura Rivadeneira. Graças as suas lições e sua permanente dedicação fazem possível que os sonhos fiquem mais próximos.

Ao CNPq que concedeu a bolsa de estudos durante estes dois anos e à minha Orientadora, a Profa. Dr^a. Elisabete Maria Macedo Viegas, por ter manifestado interesse no meu tema de pesquisa, e graças a quem foi possível me candidatar no programa PEC-PG.

À Profa. Dr^a. Christianne Elisabete da Costa Rodrigues pelas orientações sobre óleos comestíveis e ao Prof. Dr. Julio César Balieiro pela avaliação estatística dos resultados.

Ao pessoal da Truticultura Nosso Recanto por ter fornecido as vísceras de truta arco-íris e o óleo de resíduos de filetagem de truta arco-íris e pelo interesse e a abertura demonstrados a este trabalho. Um agradecimento também à Sarah Lee, Hugo Telles, Thaysa da Silva e Bárbara Silva por terem me ajudado com as viagens de coleta do material em Santo Antônio do Pinhal, localizada a mais de 400 Km de Pirassununga e com algumas das análises.

Ao “Nenê”, quem realizou pacientemente a coleta das vísceras de curimatã.

Ao Técnico do nosso Laboratório, Apolinário, por sua colaboração na implementação das metodologias de análises e processamento dos óleos.

À Keila, por ter me instruído nas análises de densidade e viscosidade, e resolver várias das dúvidas relacionadas com as análises, e à Profa. Dr^a. Cíntia Bernardo Gonçalves por disponibilizar o refretômetro e o viscosímetro. À Profa. Dr^a. Alessandra Lopes de Oliveria e o Nilson, por terem disponibilizado o refratômetro, o Marcelo, por ter disponibilizado o equipamento de banho ultratermostático. Ao Prof. Raul Franzolin e a Priscila que disponibilizaram a centrífuga Sorvall®.

À Profa. Dr^a. Neura Bragagnolo e a Doutoranda Sarah Gurgel, do Laboratório de Química do Departamento de Ciência de Alimentos da Faculdade

de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, por terem realizado determinação do perfil de ácidos graxos dos óleos, parte crucial deste trabalho.

À Marienne Natori, Paulo de Oliveira, Sheyla Vargas, João de Paula, Fábio Sussel, e o pessoal da Piscicultura, por sua colaboração com algumas das análises e por me permitir participar de seus trabalhos.

Queria agradecer também à Keliani Bordin, que me fez redefinir a estrutura do trabalho escrito, Fernando Siqueira, quem me ajudou com as referências bibliográficas e Tiara Gomez que me ajudou na determinação do índice de acidez.

À Layla Denófrio e o pessoal da Pós-graduação da FZEA, pelas várias e imprescindíveis ajudas recebidas (em especial aquelas de última hora).

Um agradecimento especial também para todas as pessoas que me brindaram sua amizade durante o tempo que levei no Brasil, valeu por seus conselhos e gestos de apoio; se bem não intervieram diretamente no desenvolvimento do trabalho, com certeza em muitas ocasiões me deram forças para continuar. Ainda estando longe da minha terra, tive a sorte de achar pessoas que fizeram com que me sinta em casa.

“Imagination is more important than knowledge”

Albert Einstein

RESUMO

GUERRA-SEGURA, J. **Extração e caracterização de óleos de resíduos de peixes de água doce**. 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

O presente trabalho teve como objetivos: (1) avaliar o rendimento e as características físico-químicas dos óleos de vísceras de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e curimatá (*Prochilodus spp.*) extraídos por congelamento lento, como mecanismo para liberar os lipídios do material bruto, e (2) comparar as etapas do refinamento químico (degomagem, neutralização, lavagem, secagem e branqueamento) de dois óleos de truta arco-íris, extraídos por congelamento lento e por um processo termo-mecânico. As matérias primas foram coletadas em diferentes municípios dos Estados de São Paulo e Paraná. Foram determinados os rendimentos, teor de ácidos graxos livres, índice de peróxidos, índice de iodo, índice de saponificação, densidade, índice de refração, viscosidade e perfil de ácidos graxos nos óleos brutos (truta arco-íris, pacu e curimatá) e nos óleos submetidos a processos de refinamento (truta arco-íris). Os rendimentos de óleo de vísceras de truta arco-íris, pacu e curimatá, foram de 27,58%, 42,53 e 13,75% respectivamente. Os parâmetros físico-químicos avaliados em todos os óleos (óleos brutos das vísceras das três espécies de peixes e óleos de truta arco-íris submetidos a refinamento) encontraram-se dentro dos níveis referenciados para óleos de peixe brutos e refinados. O perfil de ácidos graxos foi variável entre os óleos brutos das três espécies, sendo que o óleo de curimatá apresentou maiores níveis dos ácidos eicosapentaenoico, docosaenoico e araquidônico, e menor relação n-6/n-3, portanto de melhor qualidade nutricional, provavelmente por ter sido capturado na natureza. Entretanto, devido à alta disponibilidade de truta arco-íris, considera-se mais viável a produção de complementos nutricionais de ácidos graxos poliinsaturados da família n-3 nesta espécie, desde que o perfil lipídico do óleo esteja adequado. Os teores de ácidos graxos da família n-3, dos óleos de truta arco-íris foram menores que os relatados na literatura; podendo ser influenciados pela dieta dos animais. O tipo de extração produziu diferenças no perfil de ácidos graxos tanto nos óleos brutos quanto nos óleos branqueados. Destaca-se maior teor de ácidos graxos com configuração *trans* no óleo (bruto e branqueado) de truta arco-íris, extraído por autoclavagem devido provavelmente à utilização de altas temperaturas durante a extração. A técnica de extração por congelamento foi eficiente em termos de rendimento e qualidade dos óleos extraídos das vísceras dos peixes avaliados, e possivelmente seja eficiente também em outras espécies e matérias primas.

Palavras chave: óleo de peixe, peixe de água doce, congelamento, extração, refinamento.

ABSTRACT

GUERRA-SEGURA, J. **Extraction and characterization of freshwater fish waste oils**. 2012. 95 f. Dissertation (Master) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

This study aimed to: (1) evaluate the performance and physicochemical characteristics of viscera oils from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) and curimatá (*Prochilodus spp.*) extracted by slow freezing, as a mechanism to release the lipids of the crude material, and (2) compare the stages of chemical refining (degumming, neutralization, washing, drying and bleaching) of two rainbow trout oils, extracted by slow freezing and by a thermo-mechanic process. The raw materials were collected in different places of the States of São Paulo and Parana. Viscera oil yields were determined, content of free fatty acids, peroxide value, iodine value, saponification value, density, refractive index, viscosity and fatty acid profile of the crude oils (rainbow trout, pacu and curimatá) and of the rainbow trout oils underwent the refinement process. The oil yields of viscera rainbow trout, pacu and curimatá, were 27.58%, 42.53 and 13.75% respectively. The physico-chemical parameters evaluated in all the oils (crude oils from the viscera of the three species of fish and rainbow trout oils subjected to refinement) were within the referenced levels for the crude and refined fish oils. The fatty acid profile varied between the crude oils from the three species. Curimatá viscera oil, showed higher levels of eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic and arachidonic acid, and lower n-6/n-3 ratio therefore of higher nutritional quality, probably for having been caught in the wild. However, due to the high availability of rainbow trout, it is more viable the production of nutritional supplements of n-3 polyunsaturated fatty acids with by-products from this species, since their oil lipid profile is suitable. The levels of n-3 fatty acids of rainbow trout oils were lower than those reported in the literature possibly influenced by the diet. The type of extraction produced differences in the fatty acid profile both in crude oils and bleached oils. It stands out higher content of fatty acids with *trans* configuration in the rainbow trout oil (crude and bleached), obtained by autoclaving probably due to the use of high temperatures during extraction. The freeze-extraction technique was efficient in terms of yield and quality of oils extracted from the viscera of fishes evaluated and could also be effective in other species and raw materials.

Keywords: fish oil, freshwater fish, freezing, extraction, refinement.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Denominação dos grupos de ácidos graxos pelo nível de insaturação. Entre parêntese as denominações em inglês.	23
Tabela 2- Principais ácidos graxos poliinsaturados.....	23
Tabela 3- Conteúdo (%) de EPA e DHA muscular de várias espécies de peixes de água doce.	27
Tabela 4- Comparação do conteúdo de alguns ácidos graxos poliinsaturados encontrados em peixes marinhos e de água doce.....	27
Tabela 5- Principais ácidos graxos e relações n3/n6 de várias espécies de peixes [†] . Valores expressos como percentagem dos ácidos graxos totais. Continua (1 de 6).	29
Tabela 5- Principais ácidos graxos e relações n3/n6 de várias espécies de peixes [†] . Valores expressos como percentagem dos ácidos graxos totais. <i>Continuação</i> (2 de 6).	30
Tabela 5- Principais ácidos graxos e relações n3/n6 de várias espécies de peixes [†] . Valores expressos como percentagem dos ácidos graxos totais. <i>Continuação</i> (3 de 6).	31
Tabela 5- Principais ácidos graxos e relações n3/n6 de várias espécies de peixes [†] . Valores expressos como percentagem dos ácidos graxos totais. <i>Continuação</i> (4 de 6).	32
Tabela 5- Principais ácidos graxos e relações n3/n6 de várias espécies de peixes [†] . Valores expressos como percentagem dos ácidos graxos totais. <i>Continuação</i> (5 de 6).	33
Tabela 5- Principais ácidos graxos e relações n3/n6 de várias espécies de peixes [†] . Valores expressos como percentagem dos ácidos graxos totais. <i>Conclusão</i> (6 de 6)...	34
Tabela 6- Nomes comuns e siglas dos ácidos graxos encontrados nas amostras.	60
Tabela 7- Rendimento (% p/p) de óleo de vísceras de curimatá (<i>Prochilodus spp</i>), pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) e truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), obtidos pelo método de extração E2 (GUERRA e OÑA, 2008).	62

Tabela 8- Parâmetros físico-químicos dos óleos brutos de truta arco-íris, pacu e curimatá, extraídos por congelamento.64

Tabela 9- Principais ácidos graxos (porcentagem dos AG totais) encontrados nos óleos brutos de truta arco-íris, pacu e curimatá, extraídos por congelamento.....67

Tabela 10- Parâmetros físico-químicos (exceto perfil de ácidos graxos) dos óleos de truta arco-íris submetidos aos processos de degomagem, neutralização, lavagem, secagem e branqueamento.....71

Tabela 11- Valores de p da interação ExP e do efeito dos fatores E (tipo de extração – E1, E2) e P (ponto do refino – P1, P2, P3 e P4) dos parâmetros físico químicos dos óleos de truta arco-íris submetidos a refino, exceto perfil de ácidos graxos.72

Tabela 12- Desdobramento das médias das combinações entre os níveis de E (E1 e E2) e os níveis de P (P1, P2, P3 e P4) nas variáveis em que o efeito de ExP foi significativo ($p<0,05$). Resultados dos parâmetros físico-químicos avaliados nos óleos de truta arco-íris submetidos a refino (exceto perfil de ácidos graxos).73

Tabela 13- Desdobramento das médias das combinações entre os níveis de E (E1 e E2) e os níveis de P (P1, P2, P3 e P4) onde o efeito de ExP foi não significativo ($p>0,05$). Resultados do índice de saponificação avaliado nos óleos de truta arco-íris submetidos a refino.75

Tabela 14- Perfil de ácidos graxos (porcentagem dos AG totais) dos óleos de truta arco-íris submetidos a refino. Médias das combinações dos fatores de E (E1, E2) com os fatores de P: P1 e P4 (óleos brutos e branqueados respectivamente).77

Tabela 15- Valores de p da interação ExP e do efeito dos fatores E (tipo de extração – E1, E2) e P (ponto do refino – P1, P4) do perfil de ácidos graxos.78

Tabela 16- Desdobramento das médias das combinações entre os níveis de E (E1 e E2) e os níveis de P (P1 e P4) onde o efeito de ExP foi significativo ($p<0,05$). Resultados dos perfis de ácidos graxos dos óleos de truta arco-íris submetidos a refino.79

Tabela 17- Médias das combinações entre os níveis de E (E1 e E2) e os níveis de P (P1 e P4) onde o efeito de ExP foi não significativo ($p>0,05$). Resultados dos perfis de ácidos graxos dos óleos de truta arco-íris submetidos a refino.....80

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1. Óleo e farinha de peixe	16
2.1.1. Óleo e farinha de peixe no Brasil	17
2.2. Processo de elaboração de farinha e óleo de peixe.....	17
2.2.1. Aquecimento (cozimento).....	18
2.2.2. Pré-filtragem (drenagem)	18
2.2.3. Prensagem ou centrifugação.....	18
2.2.3.1. Prensagem	18
2.2.3.2. Centrifugação ao invés de prensagem	18
2.2.4. Fracionamento do líquido de prensagem	19
2.2.5. Polimento do óleo.....	19
2.2.6. Evaporação da água ligada.....	20
2.2.7. Secagem	20
2.2.8. Moagem	20
2.3. Composição do óleo de peixe	21
2.3.1. Ácidos graxos (AG)	21
2.3.2. Ácidos graxos essenciais	23
2.3.3. Metabolismo dos ácidos graxos	24
2.4. Variações no perfil de ácidos graxos nos peixes.....	24
2.4.1. Influência da dieta	25
2.4.2. Peixes de água doce versus peixes de água salgada.....	26
2.5. Óleo de peixe e saúde humana.....	35
2.5.1. Estilo de vida ocidental.....	35
2.5.2. Distúrbios relacionados com a resposta imune	35
2.5.2.1. Metabolismo dos eicosanoides	36
2.5.3. Efeitos do consumo de AGPI sobre as doenças associadas à inflamação	37
2.5.3.1. Distúrbios do sistema cardiovascular	37
2.5.3.2. Efeitos do consumo de AGPI sobre as doenças do sistema cardiovascular.	38
2.5.4. Efeitos do consumo de AGPI no desenvolvimento de tecidos	39

2.5.5. Consumo de AGPI.....	40
2.5.5.1. Relação n-6/n-3.....	40
2.5.5.2. Recomendações de consumo de AGPI.....	40
2.5.5.3. Incremento no consumo de ácidos graxos n-3 na dieta ocidental.....	43
2.6. Os resíduos de peixe como subproduto.....	45
2.6.1. Alimentação animal.....	45
2.6.2. Alimentação humana.....	46
2.6.3. Outros usos.....	47
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
3.1. Coleta da matéria prima.....	49
3.1.1. Vísceras.....	49
3.1.2. Óleo de resíduos de filetagem de truta arco-íris.....	50
3.2. Extração de óleo de vísceras de peixe.....	50
3.3. Refinamento de óleo de truta arco-íris.....	50
3.3.1. Degomagem.....	51
3.3.2. Neutralização.....	51
3.3.3. Lavagem.....	52
3.3.4. Secagem.....	52
3.3.5. Branqueamento.....	52
3.3.6. Análises físico-químicas.....	52
3.3.6.1. Porcentagem de ácidos graxos Livres (%AGL) (ESTEVES et al, 1995).....	53
3.3.6.2. Índice de peróxido (IP) (ESTEVES et al, 1995).....	54
3.3.6.3. Índice de iodo (II) (método de Wijs) (AOAC, 2005).	55
3.3.6.4. Índice de saponificação (IS) (ESTEVES et al, 1995).....	55
3.3.6.5. Densidade (d).....	56
3.3.6.6. Índice de refração (n) (AOAC, 2005).....	56
3.3.6.7. Viscosidade (η).....	57
3.3.6.8. Perfil de ácidos graxos.....	58
3.4. Análises estatísticas.....	59
3.4.1. Rendimento.....	59
3.4.2. Parâmetros físico-químicos.....	60

3.4.2.1. Óleos brutos (truta arco-íris, pacu e curimbatá) extraídos por congelamento...	60
3.4.2.2. Óleos refinados de truta arco-íris	61
3.4.3. Nível de significância.....	61
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
4.1. Rendimento	62
4.2. Análises dos óleos extraídos por congelamento	63
4.2.1. Análises físico-químicas (exceto perfil de ácidos graxos)	63
4.2.2. Perfil de ácidos graxos dos óleos brutos extraídos por congelamento.....	66
4.3. Avaliação dos óleos de truta arco-íris submetidos a refinamento	70
4.3.1. Análises físico-químicas exceto perfil de ácidos graxos dos óleos de truta arco-íris submetidos a refinamento	70
4.3.2. Avaliação dos perfis de ácidos graxos dos óleos de truta arco-íris submetidos a refinamento.	76
5. CONCLUSÕES	83
6. RECOMENDAÇÕES - PERSPECTIVAS	84
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85

1. INTRODUÇÃO

O óleo e a farinha de peixe são produtos obtidos simultaneamente em escala industrial a partir de várias espécies e subprodutos da pesca marinha, utilizados principalmente como ingredientes na formulação de rações para alimentação animal (EFSA, 2010; FAO, 1986). A farinha de peixe é uma rica fonte de proteínas, enquanto que o óleo constitui uma fonte de ácidos graxos essenciais com perfis particulares; estes dois produtos diferenciam-se de outras fontes de nutrientes, principalmente das vegetais, por possuírem excelentes características nutricionais (RUBINO, 2008). O óleo de peixe (e dos organismos aquáticos em geral) apresenta perfis de ácidos graxos altamente variáveis, que são geralmente reflexos dos níveis de ácidos graxos acumulados na cadeia trófica de um determinado ecossistema. São valorizados do ponto de vista nutricional por possuírem altas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados da família n-3 (AGPI n-3) (EFSA, 2010; AVERINA e KUTYREV, 2011, AHLGREN et al., 1993). No entanto, a oferta de farinha e óleo de peixe é limitada pela disponibilidade das espécies comerciais encontradas nos oceanos (RUBINO, 2008).

O consumo de AGPI n-3 desempenha um papel benéfico na saúde humana, por meio da carne de peixe como alimento (SIDHU, 2003, LANDS, 2005), e dos óleos de peixe como complemento alimentar (ANVISA, 1995, LANDS, 2005). Estudos tem demonstrado que estes produtos atuam na prevenção e tratamento de diversas doenças associadas à síndrome metabólica, obesidade, alterações da resposta imunológica, assim como no adequado desenvolvimento pré-natal do tecido nervoso. (LANDS, 2005, MOLENDI-COSTE et al., 2011, CALDER, 2006, STABLES e GILROY, 2011). Nesse contexto, deve-se considerar que a dieta humana atual, em geral é pobre em fontes de ácidos graxos n-3, ao contrário do que acontece com os ácidos graxos da família n-6 presentes na maioria de alimentos de origem animal (terrestre) em quantidades consideravelmente maiores (TURNER et al., 2011; SIMOPOULOS, 2002; STRANDVIK, 2011).

No organismo humano (e de outros animais), os ácidos graxos poliinsaturados n-3 e n-6 são precursores dos eicosanóides, moléculas sinalizadoras da resposta do sistema imune ou resposta inflamatória. Em termos gerais, os ácidos graxos n-6

derivam em eicosanóides de ação mais potente que a dos derivados dos ácidos graxos n-3. Portanto, a produção excessiva de eicosanóides derivados de ácidos graxos n-6 ocasiona diversas desordens da saúde (LANDS, 2005; SARGENT et al., 2002). Por esse motivo, é necessário que a relação entre o consumo de ácidos graxos n-3 e n-6 seja equilibrada (SIMOPOULOS, 2002).

O consumo de óleo de peixe como complemento alimentar seria uma das principais ferramentas para equilibrar a relação entre ácidos graxos n-3 e n-6 no organismo. Além disso, o óleo de peixe, para que esteja apto para o consumo humano deve ser submetido a adequados processos de purificação (MORAIS et al., 2001).

É comum considerar que os peixes de água doce possuem óleos de menor valor nutritivo que os peixes de água salgada. No entanto vários trabalhos indicam que existem algumas espécies de peixes de água doce, cujos óleos são certamente uma fonte de ácidos graxos n-3 (AVERINA e KUTYREV, 2011, AHLGREN et al., 1993, AGGELOUSIS e LAZOS, 1991, GUTIERREZ e SILVA, 1993, ÖZOGUL et al., 2007, AKPINAR et al., 2009).

Entre as espécies aquícolas mais difundidas no mundo encontra-se a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), uma espécie de peixe de água doce, a qual seria considerada como uma das espécies fornecedoras de óleos ricos em ácidos graxos n-3 (SIDHU, 2003). Segundo Averina e Kuttyrev (2011), na truta arco-íris têm sido determinados conteúdos de EPA de aproximadamente 5% e DHA de ao redor de 19% (porcentagem dos ácidos graxos totais). Esta é uma espécie de produção intensiva, na qual seria viável a obtenção óleo como um subproduto, a partir dos resíduos do seu processamento, o que favoreceria sua produção em termos de eficiência e sustentabilidade.

A procura de fontes e técnicas potencialmente adequadas de produção de AGPI n-3 a partir dos produtos e subprodutos da aquicultura é uma área de interesse crescente (LANDS, 2005; CARRERO et al., 2005). O desenvolvimento de métodos de reutilização de resíduos de piscicultura apresenta-se como uma necessidade imperante no Brasil, considerando o crescente desenvolvimento que a aquicultura vem apresentando nos últimos anos (DE PROENÇA et al., 2001).

Guerra e Oña (2009) descreveram uma metodologia alternativa de extração de óleo de vísceras de truta arco-íris a qual resume-se em duas etapas: congelamento da matéria prima a aproximadamente -20° C (até alcançar a solidificação) e posterior aquecimento com temperatura controlada (ao redor dos 60° C). É um processo prático; conduzido a temperaturas inferiores às dos processos convencionais; pode ser realizado com equipamentos de uso comum; não requer a utilização de nenhum tipo de solvente e permite manejar volumes menores que os requeridos a nível industrial. A utilização de baixa temperatura poderia favorecer a estabilidade química dos óleos assim como seus perfis nutricionais. Inicialmente esta técnica foi testada unicamente com vísceras de truta arco-íris (GUERRA e OÑA, 2008). No presente trabalho, avaliou-se a extração de óleo de vísceras de truta arco-íris, e de outras duas espécies de água doce: pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e curimatá (*Prochilodus spp.*). Estudou-se também o comportamento do óleo de vísceras de truta extraído por congelamento ao ser submetido às principais etapas do refino químico utilizando os procedimentos descritos por (MORAIS et al., 2001), em comparação com o comportamento do óleo de truta extraído de resíduos de filetagem por um processo termomecânico que inclui autoclavagem e centrifugação.

O presente trabalho foi desenvolvido em função dos objetivos a seguir:

- Avaliar o rendimento em óleo, de vísceras de três espécies de peixes de água doce, truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e curimatá (*Prochilodus spp.*) e determinar as características físico-químicas dos seus óleos brutos, extraídos pela técnica descrita por Guerra e Oña (2008).
- Realizar as principais etapas do refinamento químico e avaliar as características físico-químicas do óleo de vísceras de truta arco-íris extraído pela técnica descrita por Guerra e Oña (2008), em comparação com óleo de resíduos de filetagem da mesma espécie e criação, extraído por um método termomecânico convencional.
- Avaliar o efeito do tipo de extração sobre as características físico-químicas dos óleos de truta arco-íris submetidos aos principais processos de refinamento.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Óleo e farinha de peixe

O óleo e a farinha de peixe são produtos derivados de espécies pelágicas que geralmente não são utilizadas na alimentação humana, principalmente de peixes classificados como gordurosos. Como exemplo pode-se citar: *menhaden*, sardinhas, anchovas, arenque, capelim, cavala, salmão, atum, fígado de bacalhau e alguns tipos de tubarões (RUBINO, 2008; EFSA, 2010).

A produção mundial de óleo de peixe, em 2009 foi de 530 mil toneladas (FAO, 2010). O Peru é o maior fornecedor mundial de óleo e farinha de peixe. As espécies capturadas majoritariamente são a anchova (*Engraulis ringens*) e *jack mackerel* (*Trachurus symmetricus*). A disponibilidade destas espécies está amplamente influenciada pelo fenômeno climático “El Niño”, que no evento de 1997 – 1998 (o maior em 40 anos), ocasionou uma significativa depressão nos volumes capturados em 1998 (RUBINO, 2008).

O óleo e a farinha de peixe são utilizados na alimentação animal, como ingrediente para formulação de rações (FAO, 1986). Na nutrição humana, o óleo de peixe adequadamente tratado, pode ser utilizado como complemento nutricional (ANVISA, 1995). A ampla utilização de farinha e óleo de peixe nas rações zootécnicas obedece aos altos valores nutricionais e seus excelentes perfis de aminoácidos e ácidos graxos essenciais (RUBINO, 2008).

Os mercados de farinha de peixe têm sofrido variações importantes nos últimos anos, devido à demanda crescente de alimentos (PÉRON et al., 2010). Por exemplo, o preço do óleo de peixe aumentou de US\$ 300/t em 2001, para US\$ 840/t em 2007, enquanto que a farinha no mesmo período subiu de 440 US\$/t para 1250 US\$/t. Outros incrementos importantes dos preços do óleo de peixe foram registrados em junho de 2008 e fevereiro de 2011, alcançando mais de US\$ 1800/t (FAO GLOBEFISH, 2009; FAO GLOBEFISH, 2011). Os altos preços dão lugar à necessidade de desenvolver sistemas de produção mais eficientes e à procura de substitutos de alta qualidade para o óleo e farinha de peixe (FAO GLOBEFISH, 2007; PÉRON et al., 2010).

2.1.1. Óleo e farinha de peixe no Brasil

Em 2006, o Brasil reportou uma produção de 64 mil a 70 mil toneladas de ração para camarões, com níveis de inclusão de farinha e óleo de peixe de entre 5 a 25%, e 2 a 4%, respectivamente. Em 2007, reportou uma produção de 40 mil toneladas de ração para tilápia com níveis de inclusão de farinha e óleo de peixe de 2 a 5%, e de 0,1 a 1%, respectivamente (TACON e METIAN, 2008).

Considerando que no Brasil a produção aquícola, especialmente continental vem se incrementando nos últimos anos, a demanda de matérias primas (farinha e óleo de peixe) para elaboração de rações para estas criações tende também a aumentar. A participação relativa da aquicultura (marinha e continental) sobre o fornecimento total de organismos aquáticos no Brasil incrementou-se de 14,6% em 1998 a 27% em 2007. A pesca marinha continua provendo o mais alto volume de produção, no entanto, a aquíicultura vem ganhando participação, sendo que a partir de 2002 sua produção superou a pesca continental (IBAMA, 2007).

2.2. Processo de elaboração de farinha e óleo de peixe

A matéria prima utilizada pela indústria de produção de farinha e óleo de peixe pode ser classificada em três categorias: (a) peixes capturados exclusivamente para produção de farinha e óleo, (b) peixes adquiridos de outras pescarias (espécies de baixo valor comercial) e (c) cortes residuais e vísceras da indústria de processamento (FAO, 1986).

Este material está composto por sólidos (matéria seca livre de gordura), óleo e água; estes dois últimos compõem a fração líquida. O propósito do processamento é separar eficientemente estas frações, ao menor custo e em condições que permitam a obtenção de produtos da melhor qualidade possível (EFSA, 2010; FAO, 1986).

A metodologia de elaboração de farinha e óleo de peixe sofre algumas modificações entre as diferentes plantas de produção. FAO (1986) indica uma seqüência de procedimentos básicos, utilizados em escala industrial que se resume a seguir:

2.2.1. Aquecimento (cozimento)

A matéria prima é aquecida indiretamente com vapor de água à aproximadamente 95°C entre 15 e 20 minutos. Este processo coagula as proteínas e quebra as membranas celulares permitindo a separação da fração sólida e líquida. Os fornos de cozimento indireto a vapor utilizados nesta indústria geralmente podem processar entre 16 e 1600 t/24 horas.

2.2.2. Pré-filtragem (drenagem)

Após o cozimento, a maior parte do óleo e a água são retidos com os sólidos. Uma grande parte destes líquidos pode ser removida por drenagem simples (filtração) utilizando um filtro rotatório ou vibratório.

2.2.3. Prensagem ou centrifugação

2.2.3.1. Prensagem

Utiliza-se uma prensa de parafuso. O propósito da prensagem é separar tanto quanto for possível os líquidos contidos na fase sólida (massa). Uma remoção eficiente incrementa o rendimento do óleo e a qualidade da farinha e diminui a umidade da massa, o que reduz o consumo de energia nos secadores utilizados na produção de farinha.

2.2.3.2. Centrifugação ao invés de prensagem

Em várias indústrias a separação de líquidos e sólidos é realizada por centrifugação (centrífugas decantadoras). A centrifugação é um processo mais higiênico, simples, controlável e rápido que a prensagem e filtração, mas a principal vantagem é a possibilidade de processar materiais macios e pouco viscosos, que seriam impossíveis de prensar. Uma desvantagem deste processo é que os materiais centrifugados possuem maior umidade que os prensados, o que significa um incremento no consumo de energia na secagem. Estes equipamentos geralmente processam entre 12 e 300 t de matéria prima a cada 24h.

2.2.4. Fracionamento do líquido de prensagem

Os fluidos da drenagem e prensagem (ou centrifugação) formam uma substância líquida composta por água e várias quantidades de óleo e matéria seca (sólidos). O conteúdo de óleo do líquido de prensagem está relacionado com o conteúdo de óleo da matéria prima. A matéria seca encontra-se em forma de partículas dissolvidas e em suspensão que varia de acordo com o tamanho de partícula, qualidade da matéria prima e seu grau de manipulação mecânica recebida antes do processo. O líquido de prensagem constitui aproximadamente 70% da matéria prima, mas esta porcentagem aumenta particularmente com o avanço do estado de autólise dos peixes.

A separação do óleo, água e lodo (sólidos) está baseada na gravidade específica de cada um, e é realizada por centrifugação. Primeiro são removidos os sólidos em uma centrífuga horizontal (decantor) ou mediante um filtro vibratório. Posteriormente, o conteúdo de água ligada ao óleo é retirado com centrífugas verticais. O conteúdo de sólidos da água separada do óleo é de 6 a 9%, e é concentrada em evaporadores, para posteriormente ser reincorporada à massa protéica para elaboração de farinha. As centrífugas estão disponíveis com capacidades de processamento entre 500 e 25000 L/h.

2.2.5. Polimento do óleo

O polimento, ou limpeza final do óleo é realizado em separadores especiais com a finalidade de extrair impurezas e garantir a estabilidade durante o armazenamento. A remoção de pequenas porções de impurezas é facilitada utilizando água quente. A temperatura do óleo ao ingressar na centrífuga deve ser mantida ao redor dos 95 °C, mas não a menos de 90 °C. As centrífugas utilizadas na indústria de pescado geralmente operam a velocidades de 5000 rpm, rendendo uma força de 5000 x g. Este é o último procedimento ao qual o óleo é submetido na planta antes do armazenamento.

Os próximos pontos (evaporação da água ligada, secagem e moagem) correspondem exclusivamente à elaboração de farinha.

2.2.6. Evaporação da água ligada

Quando os separadores e decantadores já removeram a maior parte dos sólidos do líquido de prensagem, obtém-se a denominada água ligada, cuja quantidade na prática pode ser estimada ao redor de 65% da matéria prima. Além de água, este produto contém proteínas dissolvidas, proteínas não dissolvidas (em suspensão), óleo residual, minerais, vitaminas e aminos.

Seu conteúdo de lipídios depende da eficiência da separação de óleo nos pontos anteriores, sendo desejáveis valores abaixo de 1%. Os outros componentes denominados matéria seca compõem 5-6% do peso da matéria prima e aproximadamente 20% da farinha. Estes sólidos são recuperados por remoção de grandes quantidades de água e posterior secagem.

2.2.7. Secagem

Neste processo a umidade da massa protéica, sólidos separados do líquido de prensagem e concentrados da água ligada, são reduzidos a valores inferiores a 12%.

Recomenda-se que a temperatura do processo não supere os 90 °C. Temperaturas maiores conseguem maior taxa de evaporação, mas a qualidade nutricional da proteína pode ser comprometida. Existem dois tipos gerais de secagem: por aquecimento direto e por aquecimento indireto com vapor.

2.2.8. Moagem

Antes de ser moído, o material seco passa através de uma peneira vibratória e magnética para remover possíveis materiais estranhos como pedaços de madeira, tecido, ossos, anzóis e pregos que poderiam estar presentes. Finalmente a moagem é realizada de preferência formando partículas de 40 mesh, mas na prática os tamanhos das partículas de farinha variam entre 10 e 100 mesh. Tamanho de partícula homogêneo facilita a incorporação da farinha nas rações.

2.3. Composição do óleo de peixe

A composição do óleo de peixe determina-se pelo perfil de ácidos graxos, que é a identificação e quantificação dos ácidos graxos presentes. O principal aporte nutricional do óleo de peixe são os AGPI da família ácidos graxos n-3 derivados do ácido α -linolénico (ALA), os quais desenvolvem funções biológicas de grande importância nos animais superiores (EFSA, 2010; SARGENT et al., 2002).

O óleo de peixe constitui o conjunto de lipídios de reserva energética, e a principal função dos seus ácidos graxos é a produção de energia metabólica na forma de ATP via β -oxidação mitocondrial para os processos de crescimento e reprodução, atuando também como componentes dos fosfolipídios da membrana celular (SARGENT et al., 2002).

2.3.1. Ácidos graxos (AG)

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos com cadeias hidro-carbonadas de 4 a 36 átomos de carbono (C4 a C36). Em alguns casos esta cadeia encontra-se completamente saturada (sem ligações duplas) e sem ramificar; outros contêm uma ou mais ligações duplas, alguns contêm anéis de três carbonos, grupos hidroxila ou grupos metil ramificados. A nomenclatura simplificada destes compostos indica o número de átomos de carbono seguido do número de ligações duplas, separados pelo sinal “dois pontos”. As posições das ligações duplas são indicadas por expoentes que seguem ao sinal “delta” ($\Delta n_1, n_2, n_i \dots$). As posições dos átomos de C são contabilizadas considerando o carbono do radical carboxil como a número 1; por exemplo, o ácido palmítico abrevia-se 16:0, o que indica que é um ácido graxo saturado de 16 átomos de carbono. O ácido α -linolénico abrevia-se 18:3 $^{\Delta 9,12,15}$ o que indica que é um ácido graxo insaturado de 18 átomos de carbono, com três ligações duplas localizadas nas posições 9, 12 e 15 (NELSON e COX, 2006).

Um ácido graxo está delimitado por um extremo “metil” (-CH₃) e um extremo “carboxil” (-COOH) (Figura 1). A posição da dupla ligação mais próxima ao extremo metil da cadeia de átomos de carbono determina várias propriedades físicas e fisiológicas de distintos ácidos graxos insaturados. Conhecem-se quatro famílias

Tabela 1- Denominação dos grupos de ácidos graxos pelo nível de insaturação.

Grupo de ácidos graxos	Siglas*
Ácidos graxos saturados (<i>Saturated fatty acids</i>)	AGS (SFA)
Ácidos graxos insaturados (<i>Unsaturated fatty acids</i>)	AGI (UFA)
Ácidos graxos monoinsaturados (<i>Monounsaturated fatty acids</i>)	AGM (MUFA)
Ácidos graxos poliinsaturados (<i>Poliinsaturated fatty acids</i>)	AGPI (PUFA)
Ácidos graxos altamente insaturados (<i>Highly unsaturated fatty acids</i>)	AGAI (HUFA)

Fonte: Sargent et al. (2002). * Entre parêntese as denominações em inglês.

2.3.2. Ácidos graxos essenciais

Nos vertebrados, os ácidos linoléico (LA) e α -linolênico (ALA) são considerados ácidos graxos essenciais (EFA do nome em inglês: essential fatty acids) devido ao fato que estes organismos não possuem as enzimas Δ -12 e Δ -15 dessaturase, necessárias para sua síntese, sendo a alimentação a única via de fornecimento (SARGENT et al., 2002, Périz, 2009).

Tabela 2- Principais ácidos graxos poliinsaturados.

Ácido graxo	Siglas*	Nome em inglês	Denominação
Ácido linoléico; <i>precursor de:</i>	LA	(<i>linoleic acid</i>)	18:2 n-6
ácido araquidônico	AA	(<i>araquidonic acid</i>)	20:4 n-6
Ácido α -linolênico; <i>precursor de:</i>	ALA	(<i>alpha linoleic acid</i>)	18:3 n-3
ácido eicosapentaenoico	EPA	(<i>eicosapentaenoic a.</i>)	20:5 n-3
ácido docosapentaenoico	DPA	(<i>docosapentaenoic a.</i>)	22:5 n-3
ácido docosahexaenoico	DHA	(<i>docosahexaenoic a.</i>)	22:6 n-3

Fonte: Lands (2005), Nelson e Cox (2006). * Siglas do nome em inglês.

Tradicionalmente os ácidos graxos AA (ácido araquidônico – araquidonic acid), EPA (ácido eicosapentaenóico – eicosapentaenoic acid) e DHA (ácido docosahexaenoico – docosahexaenoic acid) são considerados EFA's por serem muito

mais abundantes na dieta, que os produzidos no organismo a partir dos seus precursores LA e ALA, já que sua taxa de conversão geralmente é baixa (PÉRIZ, 2009; BRENNAN et al. 2009). Neste sentido, Watanabe (1982) sugere que ALA e/ou LA podem satisfazer os requerimentos de ácidos graxos essenciais dos peixes de água doce, enquanto que ácidos graxos como EPA e DHA são indispensáveis para satisfazer os requerimentos de ácidos graxos essenciais em peixes marinhos.

2.3.3. Metabolismo dos ácidos graxos

Todos os organismos conhecidos são capazes de realizar a síntese de novo dos ácidos graxos 16:0 e 18:0 pela rota convencional, catalisada pela ácido-graxo-sintetase citosólica (SARGENT et al., 2002).

LA e ALA obtidos da dieta sofrem reações de alongação e desaturação. Estes processos são realizados principalmente no fígado. A enzima $\Delta 6$ -desaturase transforma LA em GLA (ác. γ -linolênico – 18:3 n-6) que é alongado a DGLA (ác. dihomo- γ -linolênico – 20:3 n-6) o qual por ação da enzima $\Delta 5$ -desaturase origina o AA. O ALA segue o mesmo processo, convertendo-se inicialmente em ácido estearidônico (18:4 n-3) por ação da $\Delta 6$ -desaturase, posteriormente este ácido é alongado formando o 20:4 n-3, que por ação da $\Delta 5$ -desaturase origina o EPA. O EPA (20:5 n-3) é alongado em DPA (ác. docosapentaenoico – 22:5 n-3); o DPA é alongado formando 24:5 n-3 e este é desaturado por ação da $\Delta 6$ -desaturase em 24:6 n-3 que perde dois átomos de C por β -oxidação originando DHA. Os processos de síntese de AA e DHA, competem pelas mesmas enzimas (Pérez, 2009).

2.4. Variações no perfil de ácidos graxos nos peixes

O perfil de ácidos graxos dos peixes varia em função de vários fatores como a temperatura do meio ambiente, idade, sexo, espécie, tipo de peixe e principalmente em função dos perfis de ácidos graxos dos componentes da cadeia alimentar, característicos do ecossistema das espécies selvagens, ou do perfil de ácidos graxos da ração nos peixes cultivados (AVERINA e KUTYREV, 2011; GRUGER et al., 1964).

2.4.1. Influência da dieta

Os sistemas enzimáticos responsáveis pelo metabolismo dos lipídios dos peixes de ambientes naturais, por influência das características nutricionais dos alimentos, tendem a promover o desenvolvimento de maiores concentrações de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) (AHLGREN et al., 1993; HENDERSON e TOCHER, 1987). No entanto, Sharma et al. (2010), ao comparar o perfil de ácidos graxos de peixes da espécie *Labeo rohita* (carpa rohu) selvagens e de cativeiro, determinaram que os níveis dos AGPI n-3: ácido eicosapentaenóico (EPA) e docosaexaenóico (DHA) dos peixes cultivados foram maiores que nos peixes selvagens, ao contrário do ácido araquidônico (n-6) (AA n-6) que foi maior nos peixes selvagens, demonstrando que, neste caso, foi possível obter bons perfis lipídicos nos peixes através de rações artificiais.

Considera-se que existe um padrão lipídico ideal (composição genotípica), característico de cada espécie e linhagem, que os peixes tendem a desenvolver mediante a absorção e metabolização seletiva dos ácidos graxos da dieta (VIGA e GRAHL-NIELSEN, 1990; HENDERSON e TOCHER, 1987; ACKMAN, 1980).

Thanuthong et al. (2011) indicam que a inclusão de óleo de peixe como fonte lipídica na dieta de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) promoveu um incremento da abundância relativa de ácidos graxos (AG) n-3 sobre os AG n-6 (n-3/n-6) ao final da fase de crescimento (durante 91 dias), ocorrendo o contrário nos lotes que foram alimentados durante a mesma fase com dietas que utilizavam fontes lipídicas alternativas (sebo bovino, óleo de linhaça e óleo de girassol) em diferentes níveis de inclusão. Em todos os tratamentos o valor final da relação n-3/n-6 da fase de crescimento foi considerado como o respectivo valor inicial da fase de finalização (35 dias adicionais); ao término deste período as trutas do grupo alimentado com a dieta com inclusão de óleo de peixe (grupo controle) manifestaram redução da relação n-3/n-6, e nos tratamentos com fontes lipídicas alternativas observou-se um incremento da relação. No entanto, o valor absoluto de n-3/n-6 do lote alimentado com a dieta com óleo de peixe foi superior nas duas fases avaliadas.

Thanuthong et al. (2011) calcularam também o índice produtivo de ácidos graxos do filé - FFAPV (siglas em inglês do nome: Fillet fatty acid productive value), que relaciona percentualmente a quantidade de AG do filé do peixe com a quantidade de

AG ingerida com os alimentos. Durante a fase de crescimento os valores de FFAPV dos tratamentos com inclusão de fontes alternativas de lipídios foram significativamente maiores ($p < 0.05$) que o tratamento controle (com óleo de peixe) para os ácidos graxos 20:4n-6, 20:5n-3 e 22:6n-3 e menores para os ácidos graxos 18:1n-9, 18:2n-6, 18:3n-3. Na fase de finalização o grupo controle apresentou o valor mais alto de FFAPV apenas para o ácido graxo 18:1n-9.

2.4.2. Peixes de água doce *versus* peixes de água salgada

Considera-se que o perfil lipídico constitui a principal diferença entre os peixes de água doce e os peixes marinhos, mas existem algumas espécies de peixes de água doce que são especialmente ricas em ácidos graxos n-3. Na Tabela 3, se apresentam várias espécies de peixes de água doce cujo conteúdo de EPA e DHA muscular é variável entre indivíduos da mesma espécie e diferente localização geográfica (AVERINA e KUTYREV, 2011).

Apesar de alguns peixes de água doce possuírem conteúdos importantes de AGPI, observa-se que no geral, muitos peixes selvagens de origem marinha possuem particularmente altas taxas de ácidos graxos poliinsaturados n-3 e baixos teores de n-6. Özogul et al. (2006) num estudo comparativo entre várias espécies de peixes marinhos e de água doce, de importância comercial da Turquia determinaram que espécies marinhas como *Trigla lucerna*, *Merlangius merlangus*, *Scomber scombrus*, *Epinephelus aeneus* e *Siganus rivulatus* possuem lipídios com relações n-3/n-6 de 23,76; 17,18; 10,63; 10,37 e 6,61 respectivamente, sendo destacável a espécie *Pomatomus saltator*, cujo valor n-3/n-6 foi de 102,79. Espécies de água doce como *Clarias gariepinus*, *Cyprinus carpio*, *Siluris glanis*, *Tinca tinca*, apresentaram valores de n-3/n-6 entre 0,99 e 1,59. As maiores relações n-3/n-6 registradas em peixes de água doce foram de 4,74 e 2,17 para *Rutilus frisii* e *Sander lucioperca* respectivamente, comparáveis com as mais baixas do grupo de peixes de água salgada que foram de 3,21 e 1,68 nas espécies *Spaurus auratus* e *Dicentrarchus labrax* (Tabela 5).

Tabela 3- Conteúdo (%) de EPA e DHA muscular de várias espécies de peixes de água doce.

Espécie	Localização	%EPA	%DHA
<i>Perca fluviatilis</i> L.	Lago Baikal (Sibéria - Rússia)	7	27
<i>Perca fluviatilis</i> L.	Lago não identificado (Suécia)	9	29
<i>Perca fluviatilis</i> L.	Rio Mosa (Oeste de Europa)	9	25
<i>Perca fluviatilis</i> L.	Rio Reno (Oeste de Europa)	13	37
<i>Perca fluviatilis</i> L.	Lago Genebra (Suíça, França)	13	32
<i>Perca fluviatilis</i> L.	Lago não identificado (Polônia)	7	17
<i>Perca fluviatilis</i> L.	Lago não identificado (Itália)	6	18
<i>Esox lucius</i> L.	Lago Baikal (Sibéria - Rússia)	7	31
<i>Esox lucius</i> L.	Lago não identificado (Suécia)	9	31
<i>Esox lucius</i> L.	Lago não identificado (Polônia)	6	26
<i>Esox lucius</i> L.	Indefinida	5	18
<i>Rutilus rutilus</i> L.	Lago Baikal (Sibéria - Rússia)	10	20
<i>Rutilus rutilus</i> L.	Lago não identificado (Suécia)	12	17
<i>Rutilus rutilus</i> L.	Lago não identificado (Suécia)	7	25
<i>Rutilus rutilus</i> L.	Lago não identificado (Turquia)	9	6
<i>Thymallus thymallus</i> L.	Lago Baikal (Sibéria - Rússia)	9	41
<i>Thymallus thymallus</i> L. *	Suécia	9	30
<i>Thymallus thymallus</i> L. **	Suécia	8	16
<i>Thymallus thymallus</i> L.	Lago Yenisei (Sibéria - Rússia)	11	29

* Machos; ** Fêmeas. Adaptado de Averina e Kuttyrev (2011).

Tabela 4- Comparação do conteúdo de alguns ácidos graxos poliinsaturados encontrados em peixes marinhos e de água doce.

AG em % de ΣAG	AA C20:4 n-6	EPA C20:5 n-3	DPA C22:5 n-3	DHA C22:6 n-3
Peixe marinho	0,5 - 5	5 - 24	0,6 - 4	8 - 38
Peixe de água doce	1 - 7	5 - 10	1 - 4	6 - 21

Adaptada de Ahlgren et al. (1993).

Aggelousis e Lazos (1990) realizaram a avaliação do perfil de ácidos graxos de oito espécies de peixes de água doce, determinando relações n-3/n-6 entre 1,2 e 2,9 (Tabela 5).

Jabeen e Chaudhry (2011) avaliaram o perfil de ácidos graxos de três espécies de peixes de água doce: *Cyprinus carpio*, *Labeo rohita* e *Oreochromis mossambicus*, do rio Indus (Paquistão); a somatória de ácidos graxos poliinsaturados foi de 11,42; 22,21 e 12,16% respectivamente e as relações n-3/n-6 encontrados para as três espécies foram de 0,27; 0,23 e 0,23 respectivamente (Tabela 5).

Akpinar et al. (2008) num estudo realizado em indivíduos da espécie *Salmo trutta macrostigma* determinaram relações n-3/n-6 de $1,97 \pm 0,52$ (fígado de fêmeas); $2,89 \pm 0,68$ (fígado de machos); $2,26 \pm 0,22$ (músculo de fêmeas) e $2,59 \pm 0,37$ (músculo de machos). A relação n-3/n-6 do fígado de fêmeas foi menor do que no fígado de machos e do que nos músculos em ambos os casos ($p < 0,05$) (Tabela 5).

Considera-se que os peixes de água doce têm maior capacidade que os peixes marinhos para alongar e desaturar os ácidos graxos curtos sintetizados por algas ou plantas (para formar EPA e DHA). Esta característica poderia constituir um fator adaptativo, originado pela disponibilidade de fontes de AGAI que no meio marinho seria superior que nos ambientes de água doce. Por exemplo, foi demonstrado que a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) é muito mais efetiva (em comparação com alguns peixes marinhos) na conversão de ácidos graxos do tipo 18:3 n-3 aos ácidos graxos EPA e DHA (SARGENT et al., 2002; AHLGREN et al., 1993; YAMADA et al., 1980).

Tabela 5- Principais ácidos graxos e relações n3/n6 de várias espécies de peixes[†].
Valores expressos como percentagem dos ácidos graxos totais. Continua (1 de 6).

#	Peixe	A	Família	% AG									R
				ΣAGS	ΣAGM	ΣAGPI	AA	EPA	DPA	DHA	n3/n6		
1	<i>Gadus morhua</i> (bacalhau do Atlântico)	S	Gadidae	-	-	-	3,2	12,4	0,6	21,9	-	a	
2	Fígado de bacalhau do Atlântico	S	Gadidae	-	-	-	1,0	8,0	1,3	14,3	-	a	
3	<i>Clupea harengus pallasii</i> (Arenque do Pacífico)	S	Clupeidae	-	-	-	0,4	8,6	1,3	7,6	-	a	
4	<i>Scomber scombrus</i> (Sarda)	S	Scombridae	-	-	-	3,9	7,1	1,2	10,8	-	a	
5	<i>Brevoortia sp</i> (savelha/menhaden)	S	Clupeidae	-	-	-	1,2	10,2	1,6	12,8	-	a	
6	<i>Perca fluviatilis</i> (perca)	S	Percidae	-	-	-	0,8	9,3	0,6	12	-	a	
7	<i>Oncorhynchus Kisutch</i> (Salmão coho/do Pacífico)	S	Salmonidae	-	-	-	0,9	12,0	2,9	13,8	-	a	
8	<i>Oncorhynchus tshawytscha</i> (salmão chinook/real)	S	Salmonidae	-	-	-	0,5	8,2	2,4	5,9	-	a	
9	<i>Oncorhynchus keta</i> (salmão chum)	S	Salmonidae	-	-	-	0,9	6,7	2,3	16,1	-	a	
10	<i>Oncorhynchus gorboscha</i> (salmão rosa)	S	Salmonidae	-	-	-	0,7	13,5	3,1	18,9	-	a	

Tabela 5- Principais ácidos graxos e relações n3/n6 de várias espécies de peixes[†]. Valores expressos como porcentagem dos ácidos graxos totais. *Continuação* (2 de 6).

#	Peixe	A	Família	% AG								n3/n6	R
				ΣAGS	ΣAGM	ΣAGPI	AA	EPA	DPA	DHA			
11	Ovas de salmão rosa	S	Salmonidae	-	-	-	1,5	20,6	4,6	16,0	-	a	
12	<i>Coregonus artedii</i> (arenque do lago)	D	Salmonidae	-	-	-	3,4	5,9	3,3	13,3	-	a	
13	<i>Oncorhynchus mykiss</i> (truta arcoiris)	D	Salmonidae	-	-	-	2,2	5,0	2,6	19,0	-	a	
14	<i>Coregonus clupeaformis</i> (peixe branco do lago)	D	Salmonidae	-	-	-	3,9	6,4	3,3	8,8	-	a	
15	<i>Abramis brama</i> (brema)	D	Cyprinidae	30,4	-	-	0,8	11,8	1,1	15,3	2,9	b	
16	<i>Cyprinus carpio</i> (carpa comum)	D	Cyprinidae	34,7	-	-	3,0	7,0	0,2	5,0	1,2	b	
17	<i>Leuciscus cephalus</i> (escalo/caboz)	D	Cyprinidae	32,0	-	-	1,1	7,0	0,8	6,0	1,7	b	
18	<i>Carassius carassius</i> (pimpão comum)	D	Cyprinidae	34,3	-	-	1,5	0,8	0,8	4,0	1,3	b	
19	<i>Leuciscus idus</i> (Ide)	D	Cyprinidae	32,2	-	-	1,1	9,5	0,4	5,0	1,4	b	
20	<i>Chondrostoma nasu</i> (nase)	D	Cyprinidae	29,8	-	-	0,8	6,0	1,4	9,0	1,5	b	
21	<i>Lucioperca lucioperca</i> (lúcio-perca)	D	Percidae	34,7	-	-	1,8	8,6	1,6	12,7	2,0	b	

Tabela 5- Principais ácidos graxos e relações n3/n6 de várias espécies de peixes[†]. Valores expressos como porcentagem dos ácidos graxos totais. *Continuação* (3 de 6).

#	Peixe	A	Família	% AG									R
				ΣAGS	ΣAGM	ΣAGPI	AA	EPA	DPA	DHA	n3/n6		
22	<i>Silurus glanis</i> (bagre/siluro)	D	Siluridae	31,4	-	-	3,8	8,0	1,6	12,0	1,9	b	
23	<i>Prochilodus lineatus</i> (corimbatá)	D	Prochilodontidae	-	-	-	1,5	5,6	2,0	3,0	-	c	
24	<i>Astyanax spp.</i> (lambari)	D	Characidae	-	-	-	1,4	2,6	1,5	6,8	-	c	
25	<i>Pimelodus spp.</i> (mandi)	D	Pimelodidae	-	-	-	0,2	1,5	1,8	2,0	-	c	
26	<i>Leporinus friderici</i> (piava)	D	Anostomidae	-	-	-	1,0	2,0	1,2	1,4	-	c	
27	<i>Pseudoplatystoma corruscans</i> (pintado)	D	Pimelodidae	-	-	-	0,1	7,5	3,4	21,8	-	c	
28	<i>Brachyplatystoma vaillantii</i> (piramutaba)	D	Pimelodidae	-	-	-	nd	9,7	5,9	14,3	-	c	
29	<i>Hoplias malabaricus</i> (traíra)	D	Erythrinidae	-	-	-	0,3	3,4	1,6	7,1	-	c	
30	<i>Urophycis brasiliensis</i> (abrotéia)	S	Phycidae	-	-	-	nd	11,4	3,2	34,3	-	c	
31	<i>Prionotus sp.</i> (cabrinha)	S	Triglidae	-	-	-	0,2	10,1	4,3	21,2	-	c	
32	<i>Scomber japonicus</i> (cavalinha)	S	Scombridae	-	-	-	nd	6,2	1,0	13,0	-	c	

Tabela 5- Principais ácidos graxos e relações n3/n6 de várias espécies de peixes[†]. Valores expressos como porcentagem dos ácidos graxos totais. *Continuação* (4 de 6).

#	Peixe	A	Família	% AG								
				ΣAGS	ΣAGM	ΣAGPI	AA	EPA	DPA	DHA	n3/n6	R
33	<i>Anchoiella lepidentostole</i> (manjuba)	S	Engraulidae	-	-	-	0,7	8,8	2,8	23,7	-	c
34	<i>Merluccius merluccius</i> (pescada)	S	Merlucciidae	-	-	-	nd	7,7	2,9	19,2	-	c
35	<i>Balistes caprisus</i> (porquinho)	S	Balistidae	-	-	-	nd	8,6	3,3	26,6	-	c
36	<i>Raja spp.</i> (raia)	S	Rajidae	-	-	-	0,4	4,1	5,1	11,6	-	c
37	<i>Sardinella brasiliensis</i> (sardinha)	S	Clupeidae	-	-	-	0,2	24,2	2,2	6,5	-	c
38	<i>Thunnus spp</i> (atum)	S	Scombridae	-	-	-	nd	7,8	0,4	32,5		c
39	<i>Epinephelus aeneus</i> (cherne)	S	Serranidae	38,0	24,2	25,2	0,3	4,2	-	14,4	10,37	d
40	<i>Scomber scombrus</i> (Sarda)	S	Scombridae	25,9	14,3	48,2	0,1	4,7	-	35,2	10,63	d
41	<i>Pomatomus saltator</i> (anchova)	S	Pomatomidae	29,7	13,2	46,3	0,1	4,4	-	36,1	102,79	d
42	<i>Trigla lucerna</i> (ruivo)	S	Triglidae	30,3	29,0	27,3	0,2	5,5	-	17,0	23,76	d
43	<i>Merlangius merlangus</i> (badejo)	S	Gadidae	29,6	19,2	39,6	0,1	6,3	-	28,2	17,18	d

Tabela 5- Principais ácidos graxos e relações n3/n6 de várias espécies de peixes[†]. Valores expressos como porcentagem dos ácidos graxos totais. *Continuação* (5 de 6).

#	Peixe	A	Família	% AG									R
				ΣAGS	ΣAGM	ΣAGPI	AA	EPA	DPA	DHA	n3/n6		
44	<i>Sparus auratus</i> (dourada)	S	Sparidae	25,5	28,0	34,5	0,4	6,8	-	17,4	3,21	d	
45	<i>Dicentrarchus labrax</i> (róbalo)	S	Moronidae	25,9	24,6	39,3	0,1	7,0	-	14,7	1,68	d	
46	<i>Siganus rivulatus</i> (marbled spinefoot)	S	Siganidae	39,4	16,1	28,5	0,2	4,3	-	11,7	6,61	d	
47	<i>Clarias gariepinus</i> (bagre da África do Norte)	D	Clariidae	29,8	22,7	23,2	0,7	2,1	-	6,72	0,99	d	
48	<i>Cyprinus carpio</i> (carpa comum)	D	Cyprinidae	28,0	13,8	34,3	0,5	5,9	-	8,21	1,09	d	
49	<i>Siluris glanis</i> (bagre siluru europeu)	D	Siluridae	30,9	17,1	32,0	0,5	2,8	-	14,8	1,53	d	
50	<i>Tinca tinca</i> (tenca)	D	Cyprinidae	28,1	10,7	43,8	0,5	8,7	-	16,8	1,59	d	
51	<i>Rutilus frisii</i> (kutum)	D	Cyprinidae	34,6	15,8	30,7	1,2	13,8	-	9,97	4,74	d	
52	<i>Sander lucioperca</i> (sandre)	D	Percidae	31,8	13,8	42,4	0,2	3,6	-	24,8	2,17	d	
53	Fígado de <i>Salmo trutta macrostigma</i> (truta corsa)*	D	Salmonidae	28,0	28,8	-	6,2	7,2	5,61	15,6	2,89	e	
54	Fígado de <i>Salmo trutta macrostigma</i> (truta corsa)**	D	Salmonidae	31,8	30,7	-	5,7	6,3	4,27	12,7	1,97	e	

Tabela 5- Principais ácidos graxos e relações n3/n6 de várias espécies de peixes[†]. Valores expressos como porcentagem dos ácidos graxos totais. *Conclusão* (6 de 6).

#	Peixe	A	Família	% AG								n3/n6	R
				ΣAGS	ΣAGM	ΣAGPI	AA	EPA	DPA	DHA			
55	Músculo de <i>Salmo trutta macrostigma</i> (truta corsa)*	D	Salmonidae	28,5	35,9	-	3,0	7,9	3,4	8,42	2,59	e	
56	Músculo de <i>Salmo trutta macrostigma</i> (truta corsa)**	D	Salmonidae	29,4	37,5	-	2,3	6,5	3,53	7,38	2,26	e	
57	Músculo de <i>Labeo rohita</i> (carpa rohu) cultivado	D	Cyprinidae	56,7	18,2	-	4,5	2,6	0,96	5,13	1,02	f	
58	Músculo de <i>Labeo rohita</i> (carpa rohu) selvagem	D	Cyprinidae	43,2	15,3	-	10,1	3,2	2,04	9,9	0,84	f	
59	<i>Cyprinus carpio</i> (carpa comum)	D	Cyprinidae	55,7	32,9	11,4	0,4	0,3	0,16	0,36	0,27	g	
60	<i>Labeo rohita</i> (carpa rohu)	D	Cyprinidae	50,5	27,2	22,2	0,4	0,6	0,71	1,27	0,23	g	
61	<i>Oreochromis mossambicus</i> (tilápia de Moçambique)	D	Cichlidae	63,0	24,8	12,2	0,1	0,4	0,3	0,35	0,23	g	

A = tipo de água; S = água salgada; D = água doce; * sexo masculino; ** sexo feminino; nd = não detectado; R = referência: a) Averina e Kuttyrev (2011), b) Aggelousis e Lazos (1990), c) Gutierrez e da Silva (1993), d) Özogul et al. (2006), e) Akpinar et al. (2008), f) Sharma et al. (2010), g) Jabeen e Chaudhry (2011); ΣAGS, ΣAGM, ΣAGPI = somatória de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados respectivamente; n3/n6 = relação n-3/n-6. [†]Alguns nomes científicos, comuns e famílias foram consultados em DGPA (2005), no site da Fish Base: www.fishbase.org, e do Instituto de Pesca de São Paulo: http://www.pesca.sp.gov.br/atracoes_aquario.php.

2.5. Óleo de peixe e saúde humana

2.5.1. Estilo de vida ocidental

Nos últimos anos, a população pertencente ao denominado “estilo de vida ocidental” tem desenvolvido uma série de hábitos prejudiciais para a saúde relacionados com elevados níveis de estresse, sedentarismo e dietas excessivas em açúcares, sal comum, gorduras saturadas de origem animal e proteína animal de fontes terrestres. No concernente aos AGPI's, existe na atualidade um acentuado desbalanceamento na quantidade de AA n-6 (ácido araquidônico n-6) consumida na dieta em relação à quantidade de AGPI's n-3. Portanto, o incremento racional do consumo de AGPI n-3, e a redução de AGPI n-6 proporcionam vários benefícios, tanto na prevenção quanto no tratamento de uma série de doenças e distúrbios da saúde, assim como no desenvolvimento de vários órgãos e tecidos (LANDS, 2005).

2.5.2. Distúrbios relacionados com a resposta imune

A resposta imune do organismo consiste em um grupo de reações localizadas, altamente complexas, que têm como objetivos: eliminar agentes externos (principalmente patógenos), promover a reparação do tecido (quando ocorre um ferimento) e desenvolver novos anticorpos, possibilitando ao hospedeiro desempenhar uma reação mais rápida e específica no futuro (CALDER, 2006, STABLES e GILROY, 2011; LANDS, 2005; RANDALL et al., 1998). Estes eventos são seguidos pela resolução cuja finalidade é devolver a homeostase aos tecidos (STABLES e GILROY, 2011).

Este grupo de reações ocasiona a inflamação do tecido. Quando a seqüência de reações é efetuada corretamente, ocorre a completa restauração do tecido inflamado, mas quando é efetuada de forma descontrolada ou inapropriada, a inflamação pode intensificar-se e/ou tornar-se crônica danificando os tecidos excessivamente (CALDER, 2006, STABLES e GILROY, 2011). Esta característica origina várias desordens associadas com asma e reações inflamatórias crônicas como artrite reumatóide, lúpus sistêmico eritematoso, psoríase, encefalomielite alérgica, esclerose múltipla e alguns tipos de câncer (LANDS, 2005).

No organismo, existem substâncias que atuam como mediadores (sinalizadores, amplificadores) da resposta imune, denominadas autacóides. Dentro do grupo dos autacóides, os eicosanóides são compostos derivados dos AGAI (AGPI's de no mínimo 20 átomos de Carbono e três ligações duplas) (LANDS, 2005; SARGENT et al., 2002). O papel dos eicosanoides na modulação da resposta imune é diverso; em termos gerais podem atuar como pró-inflamatórios, anti-inflamatórios ou de baixa atividade (MOLENDI-COSTE et al., 2011; PÉRIZ, 2009; CALDER, 2006, LANDS, 2005).

2.5.2.1. Metabolismo dos eicosanoides

As séries de eicosanóides 2 e 4, produzidos a partir do AA são considerados pró – inflamatórios, enquanto que as séries 3 e 5, produzidos a partir de EPA e DHA são considerados menos inflamatórios ou anti – inflamatórios. (MELANIE e GILROY, 2011, MOLENDI-COSTE *et al.*, 2010 ; LANDS, 2005) (Figura 2).

COX = ciclooxigenase; LOX = lipoxigenase; PG = prostaglandinas; TX= tromboxanos; PGI = prostaciclina; LT = leucotrienos; LX = lipoxinas.

Figura 2- Metabolismo de moléculas sinalizadoras a partir de AA, EPA e DHA. Adaptado de Molendi-Coste *et al.* (2010).

O EPA e DHA originam também as resolvinas das séries E e D respectivamente. Adicionalmente o DHA origina um grupo de moléculas denominadas protectinas. Estas moléculas possuem efeitos protetores e anti-inflamatórios muito mais potentes que os proporcionados através dos seus precursores (EPA e DHA) (PÉRIZ, 2009).

2.5.3. Efeitos do consumo de AGPI sobre as doenças associadas à inflamação

Em termos gerais, o consumo de AGPI n-3 é favorável no tratamento das doenças associadas à inflamação, enquanto que os ácidos graxos n-6 realizam efeitos que agravam a condição (CALDER, 2006). Estudos relatam efeitos benéficos do consumo de óleos de peixe ricos em ácidos graxos n-3, no tratamento da artrite reumatoide (BERBERT et al., 2004; FORTIN et al., 1995), lúpus sistêmico eritematoso (ROBINSON et al., 1985) e esclerose múltipla (SHINTO et al., 2009; WEINSTOCK-GUTTMAN et al., 2005; HUTTER e LAING, 1996). No entanto, Lands (2005) indica que os mecanismos que envolvem a evolução dos sintomas destas doenças são altamente complexos, e até o momento, não foi determinado com precisão o efeito dos ácidos graxos n-3 no seu tratamento. No caso da asma (TAKEMURA et al., 2002; MIHRSHAHI et al., 2001), diabetes (LANDS, 2005; RIVELLESE et al., 1997) e diversos tipos de câncer (MANDAL et al., 2010; LANDS, 2005; ARONSON et al., 2001; BARBER, 2001; ROSE e CONNOLLY, 1999), os efeitos benéficos da suplementação com ácidos graxos n-3 no seu tratamento são mais evidentes.

2.5.3.1. Distúrbios do sistema cardiovascular

As doenças que afetam o sistema cardiovascular ocorrem como consequência da redução do lúmen dos vasos sanguíneos ocasionada por placas ateroscleróticas, trombos e/ou espasmos vasculares (vaso-constricções), que de diferentes maneiras interrompem o fornecimento de oxigênio e nutrientes aos tecidos (LANDS, 2005).

A redução progressiva do diâmetro dos vasos sanguíneos pela formação de placas ateroscleróticas ou pelo bloqueio agudo do fluxo sanguíneo devido a trombozes ou vaso-constricções originam na maioria dos casos os ataques cardíacos e os derrames cerebrais. Em outros casos, pode ocorrer uma ruptura do vaso sanguíneo produzindo

uma hemorragia no tecido, o que acontece com maior frequência no tecido cerebral (apoplexia) (LANDS, 2005).

Quando a resistência do fluxo sanguíneo aumenta nos vasos pequenos (dos tecidos) o sangue pressiona as artérias de maior tamanho, sendo requerido um maior esforço do coração para bombear o sangue, o que aumenta o requerimento de oxigênio e nutrientes e define a hipertensão (LANDS, 2005).

2.5.3.2. Efeitos do consumo de AGPI sobre as doenças do sistema cardiovascular.

Várias evidências indicam que a mortalidade por problemas cardíacos está relacionada com baixos níveis de AGPI n-3 na dieta e um histórico de doença coronária (CHATTIPAKORN et al., 2009). O consumo de AGPI n-3 por meio da carne ou óleos de peixe ou outros animais aquáticos, assim como a diminuição no consumo de AGPI n-6 constituem os principais fatores associados à prevenção destas doenças (CUNDIFF et al., 2007; HARPER e JACOBSON, 2005; LAVIE et al., 2009; MARTÍNEZ-QUINTANA et al., 2011).

Os eicosanóides derivados dos AGPI n-3 produzem menor agregação plaquetária (resposta inflamatória menos intensa) impedindo a formação de trombos e a amplificação dos sinais que induzem a reparação dos tecidos dos vasos sanguíneos, evitando a formação de placas ateroscleróticas (LANDS, 2005).

As células endoteliais dos vasos sanguíneos produzem prostaciclina das séries 1 e 2 (PGI₁ e PGI₂). As prostaciclina reduzem a agregação plaquetária e os vaso-espasmos (promovendo a vasodilatação), com um efeito antagônico ao do tromboxano A₂ (TXA₂ derivado do AA) que promove agressivamente esses processos. O TXA₃ (derivado do EPA) é considerado inativo. A produção de prostaglandinas e tromboxanos da série 3 está influenciada pela disponibilidade de ácidos graxos n-3 no organismo (LANDS, 2005; SIMOPOULOS, 2002).

Alguns eicosanóides podem influenciar a excreção de sal e água excessivos através da contração ou dilatação dos pequenos vasos sanguíneos. O óleo de peixe na dieta também evita o incremento de prostaglandinas ocasionado pelas contrações dos vasos sanguíneos induzidas por catecolaminas (adrenalina). Estas funções evitam o incremento exagerado da pressão sanguínea (LANDS, 2005).

2.5.4. Efeitos do consumo de AGPI no desenvolvimento de tecidos

O DHA é fundamental para o desenvolvimento e funcionamento do sistema nervoso e visual, sendo associado ao desenvolvimento da inteligência. Na etapa perinatal reduz a incidência da depressão pós-parto nas mães (VALENZUELA e SANHUEZA, 2009). A nutrição maternal em AGPI n-3 é importante para a transferência de DHA para o filho antes e depois do nascimento, com efeitos na função neural ao curto e longo prazo (INNIS, 2008).

O DHA é crítico para a manutenção da estrutura e funcionamento normais do cérebro e da retina e é considerado neuro-protetor (RAPOPORT et al., 2011, GUESNET e ALESSANDRI, 2011). O DHA evita a apoptose prematura dos neurônios (VALENZUELA e SANHUEZA, 2009).

Das (2008), indica que a concentração plasmática de EPA e DHA aumenta por efeito do ácido fólico. Sugere que EPA, DHA e AA (adequadamente balanceados) podem ser benéficos sobre a demência e Alzheimer através da regulação dos processos relacionados com neurogênese, neurotransmissão e conectividade, incrementando os níveis de acetilcolina no cérebro e suprimindo a produção de citocinas pró-inflamatórias. O DHA também é precursor da neuro-protectina D1 que protege os neurônios da ação citotóxica (apoptose) de vários estímulos nocivos (DAS, 2008). No entanto, Calon e Cole (2007) indicam que os efeitos do consumo de ácidos graxos n-3 no tratamento da doença de Alzheimer em modelos transgênicos animais são positivos mas no caso de pacientes que apresentam a doença não existem dados relevantes dos benefícios relacionados com a suplementação com DHA.

Atualmente, procura-se definir níveis referenciais estimados de AGPI tanto n-3 quanto n-6, para o adequado crescimento e desenvolvimento do feto. Esta informação permitiria prever o tipo de nutrição materna que deve ser promovida para um adequado desenvolvimento pré-natal, tomando em consideração os efeitos do desbalanceamento no consumo de ácidos graxos n-3 e ácidos graxos n-6 na cultura ocidental (KUIPERS et al., 2012).

2.5.5. Consumo de AGPI

O principal papel dos ácidos graxos n-3 no organismo consiste na satisfação do requerimento nutricional e na prevenção primária dos distúrbios da saúde associados à resposta inflamatória mediante o consumo na dieta de níveis adequados de ácidos graxos essenciais (AL n-6 e ALA n-3) e seus derivados (AA n-6; EPA e DHA n-3) e por meio do balanceamento da relação entre a quantidade de AGPI n-3 e n-6 no organismo.

Ao modificar a composição de ácidos graxos da dieta é possível alterar também a composição de ácidos graxos das células imunes, as quais tipicamente apresentam um incremento nos ácidos graxos em que a dieta foi enriquecida (Calder, 2007). O incremento no consumo de EPA e DHA (AGPI n-3) aumenta as proporções destes ácidos nos fosfolipídios das membranas das células inflamatórias a expensas do AA (CALDER, 2006).

2.5.5.1. Relação n-6/n-3

A relação ou taxa n-6/n-3 é um quociente determinado pela abundância relativa de ácidos graxos da família n-3 em relação aos ácidos graxos da família n-6 de um alimento, componente orgânico, complemento nutricional, etc. Devido à importância dos ácidos graxos de ambas famílias (n-3 e n-6) nas funções fisiológicas do organismo, a determinação deste parâmetro é importante para estimar a qualidade nutricional de um produto, considerando o antagonismo entre os derivados dos grupos n-3 e n-6 (STRANDVIK, 2011; PÉRIZ, 2009; CALDER, 2006; LANDS, 2005). Nos casos em que a proporção é favorável para os ácidos graxos n-3, opta-se por expressar o valor da relação n-3/n-6 a fim de evitar o uso de valores muito baixos como no caso dos óleos de alguns peixes (Tabela 5).

2.5.5.2. Recomendações de consumo de AGPI

Nos últimos 20 anos a taxa n-6/n-3 na alimentação humana incrementou-se devido à mudança na qualidade das gorduras da dieta, especialmente pelo aumento do consumo de óleos vegetais ricos em n-6 e a simultânea diminuição no consumo de

peixe e outras fontes de AGAI n-3 (STRANDVIK, 2011). Atualmente esta relação na dieta ocidental é de 15 a 20/1, enquanto que nos animais selvagens é de 1/1, que possivelmente seria a relação presente nos primeiros humanos (SIMOPOULOS, 2002).

As taxas n-6/n-3 efetivas no tratamento das doenças inflamatórias ou cardiovasculares variam entre 1 e 5/1. Para promover a redução do risco das doenças crônicas típicas da população ocidental, são desejáveis taxas baixas (1 ou 2/1) de ácidos graxos n-6/n-3 (SIMOPOULOS, 2002).

Para as mulheres em estado de gravidez ou lactação recomenda-se o consumo diário de 200 a 300 mg de DHA como medida para promover um adequado desenvolvimento do feto, considerando que para controlar o impacto do DHA da dieta no desenvolvimento neurológico da progênie, ainda é necessário realizar mais estudos clínicos (GUESNET e ALESSANDRI, 2011).

O DHA é necessário em altos níveis para o desenvolvimento do cérebro e da retina, assim como na dieta das mulheres em estado de gravidez ou lactação (LANDS, 2005, HORNSTRA et al., 1995). Atualmente, considera-se que o DHA é o AGPI de real importância desde o ponto de vista nutricional, já que quando a disponibilidade de EPA no organismo é baixa, o DHA é convertido em EPA através de um processo denominado retro-conversão; de fato, nosso organismo só acumula DHA e não EPA salvo quando for consumido na dieta (VALENZUELA e SANHUEZA, 2009; ARTERBURN, 2006). Estima-se que aproximadamente 30 a 40% do DHA pode ser retro-convertido a EPA (DAS, 2008).

Estima-se que o consumo de n-3 é de 0,1 a 0,5 g/dia na Europa (CARRERO et al., 2005; SANDERS, 2000), 0,1 a 0,2 g/dia nos Estados Unidos e de até 2 g/dia no Japão (CARRERO et al., 2005; KRIS-ETHERTON, 2000).

A International Society for the Study of Fatty Acids and lipids (ISSFAL, 2004) indica para as pessoas adultas:

- a) O consumo de LA (ácido linoléico 18:2 n-6) numa quantidade correspondente a 2% da energia total da dieta é considerado *adequado*.
- b) O consumo de ALA (ácido α -linolénico 18:3 n-3) numa quantidade correspondente a 0,7% da energia total da dieta é considerado *saudável*.

c) Para promover a saúde cardiovascular é recomendável o consumo de 500 mg de EPA+DHA.

Durante a gravidez e lactação, a proporção de gordura consumida em relação ao consumo de energia total deve ser a mesma que na população em geral. O consumo de ALA como precursor de DHA é pouco eficiente para produzir a deposição de DHA no cérebro do feto, portanto a gordura ingerida na dieta deve aportar como mínimo 200 mg DHA/dia (KOLEZKO et al., 2007).

Em ISSFAL (2008) indica-se que o leite materno assim como as fórmulas de nutrição infantil contêm entre 4,4 e 6 g de gordura para cada 100 kcal, o que corresponde a 40 – 54% do conteúdo energético. No leite humano entre 40 e 50% dos ácidos graxos totais são saturados e entre 35 e 40% são monoinsaturados, 2 a 3% gorduras *trans*, LA (n-6) entre 8 e 18% e ALA (n-3) geralmente é menor que 0,2%. Devido à baixa disponibilidade de ALA no leite materno, em países como Austrália e Estados Unidos, a legislação estabelece uma recomendação de inclusão mínima de 1% e máxima de 4% de ALA nas formulações infantis, mantendo uma taxa LA:ALA de 5-15:1. No caso da relação AA:DHA das fórmulas infantis recomenda-se geralmente que o conteúdo de AA seja mais alto, mas atualmente existe um amplo debate sobre este tema devido aos relatos científicos dos efeitos benéficos do DHA na prevenção das alergias e na modulação da resposta imune (ISSFAL, 2008).

A *American Heart Society* (AHA) recomenda: a) consumo de pescado de preferência gorduroso pelo menos duas vezes por semana para pessoas adultas b) consumo de 1 g/dia de EPA+DHA procedente de óleos de peixe ou suplementos para pessoas com doença coronária e c) consumo de 2 a 4 g/dia EPA+DHA para pessoas com hipertrigliceridemia a fim de diminuir de 20 a 40% os níveis de triglicerídeos plasmáticos (GARCÍA-RÍOS et al., 2009; CARRERO et al., 2005; KRIS-ETHERTON, 2003).

No Brasil, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde) através da norma PRT-19 sobre o uso de complementos nutricionais de 16 de março de 1995 estabelece uma recomendação de consumo mínimo de EPA de 500 mg/dia, considerando a ausência de dados confirmatórios sobre a quantidade mínima de ácidos graxos n-3 (ANVISA, 1995).

A absorção dos ácidos graxos localizados nas posições sn-1 e sn-3 dos triglicerídeos é variável; se são saturados geralmente têm baixa absorção e se são insaturados podem ser de alta absorção. No entanto, os ácidos graxos que ocupam a posição sn-2 (saturados ou insaturados) sempre são de alta absorção, e é onde geralmente EPA e DHA se localizam. Portanto, os óleos refinados, fracionados ou os glicerídeos parciais constituem uma fonte de alta biodisponibilidade de EPA e DHA. No caso dos ésteres etílicos, a biodisponibilidade é baixa já que o organismo é pouco eficiente em romper a união entre o ácido graxo e o etanol (VALENZUELA e SANHUEZA, 2009).

2.5.5.3. Incremento no consumo de ácidos graxos n-3 na dieta ocidental

A primeira alternativa eficaz consiste na ativa promoção do consumo de peixe, dando preferência às espécies com altos níveis de AGPI n-3 (MOLENDI-COSTE et al., 2011). No entanto a escassez de peixe e seu elevado preço fazem que em muitos casos os consumidores tenham preferência por outro tipo de alimentos de maior comodidade e menor preço (CARRERO et al., 2005).

Outra alternativa é através do consumo de óleos de peixe como complemento nutricional (cápsulas) ou alimentos enriquecidos. Os óleos marinhos são atualmente a principal fonte dos AGPI EPA e DHA. O consumo direto destes óleos não é possível devido a problemas organolépticos e à instabilidade química que faz com que sejam altamente susceptíveis a processos de oxidação irreversíveis (rancidez oxidativa). A indústria têm desenvolvido vários métodos para otimizar o consumo destes ácidos através da cápsulas de óleos refinados ou fracionados (winterizados); enriquecimento de alimentos com óleos microencapsulados ou separados por hidrólise seletiva (formação de glicerídeos parciais); e obtenção de ácidos graxos (EPA e DHA) em forma de ésteres etílicos (VALENZUELA e SANHUEZA, 2009).

Existem riscos potenciais no consumo de cápsulas de óleo de peixe tais como problemas gastrointestinais, problemas com a coagulação, incremento no consumo calórico, toxicidade pelo excessivo consumo de vitaminas A e D, contaminantes (refinamento deficiente) e alto custo. Portanto, considera que o adequado consumo de

peixe constitui sem dúvida a melhor alternativa para melhorar o balanceamento n-6/n-3 (SIDHU, 2003).

Uma grande variedade de alimentos pode ser enriquecida com ácidos graxos n-3, como pães e produtos de padaria, ovos e derivados, massas molhos, bebidas não alcoólicas, carnes e lácteos. Devido à susceptibilidade à oxidação destes ácidos graxos, os óleos de peixe são adicionados com vitamina E e/ou outros antioxidantes. Resultados experimentais positivos na nutrição humana têm sido reportados com alimentos como ovos e leite enriquecidos com ácidos graxos n-3 (CARRERO et al., 2005).

Uma terceira alternativa consiste no consumo de fontes vegetais com ALA (n-3) a fim de reduzir a relação n-6/n-3 da dieta (MOLENDI-COSTE et al., 2011). No entanto, deve-se considerar que o consumo de ALA é efetivo unicamente no incremento dos níveis sanguíneos de EPA e DPA. No caso do DHA, os níveis sanguíneos e cerebrais apresentam incrementos significativos só quando é incluído na dieta e não pelo consumo de ALA, EPA ou outros precursores (BRENNAN et al., 2009). As principais fontes vegetais produtoras de ácidos graxos n-3 (ALA) presentes na nossa cadeia alimentar são a linhaça, colza e soja, das quais a linhaça é a única que acumula ALA em maior quantidade que LA (n-6) (LANDS, 2005).

Uma alternativa ao consumo de óleo de peixe poderia ser por meio dos óleos produzidos a partir de cultivos transgênicos (SAYANOVA e NAPIER, 2011). Existem evidências experimentais promissoras da produção de n-3 induzida pela expressão da $\Delta 6$ desaturase em plantas transgênicas, enquanto que em ratos foi realizada exitosamente a transfecção estável da enzima FADS3 (que catalisa a conversão de AGPI n-6 em n-3) do nematódeo *C. elegans* (MOLENDI-COSTE et al., 2011).

Os óleos marinhos têm sido utilizados tradicionalmente na alimentação animal assim como na indústria de vernizes e tintas, no entanto devido a suas propriedades nutricionais e de saúde, a sua concepção pela população vem mudando progressivamente nos últimos anos, valorizando a diferença entre os ácidos graxos n-3 de origem marinha e de fontes vegetais terrestres (VALENZUELA e SANHUEZA, 2009).

Devido a fatores como o aumento da população mundial e a demanda de alimentos e a necessidade imperante de reduzir a taxa n-6/n-3 na nossa alimentação, a

demanda de AGPI n-3 é crescente, portanto resulta necessário identificar novas fontes destes lipídios assim como fomentar estratégias para aumentar seu consumo e a adoção de hábitos de vida mais saudáveis na nossa sociedade.

2.6. Os resíduos de peixe como subproduto

O processamento de peixe gera uma grande quantidade de resíduos de alto valor nutritivo que não sendo tratados corretamente, depositam-se no meio ambiente ocasionando problemas de contaminação (KOTZAMANIS et al., 2001).

A adequada reutilização dos resíduos gerados pelas explorações aquícolas permite melhorar a rentabilidade dos negócios, seja diminuindo os custos de produção ou gerando ingressos adicionais (ARVANITOYANNIS e KASSAVETI, 2008). Os resíduos do processamento de peixes estão compostos pelas partes não comerciais dos animais. Dependendo do tipo de corte do produto final, são retiradas do corpo do peixe uma ou várias das seguintes porções: vísceras, cabeça, nadadeiras, esqueleto, escamas e pele. O tipo de corte é selecionado com base na preferência do mercado e ao tipo de peixe (espécie, tamanho, etc.), existindo uma alta variação tanto nos volumes quanto na composição dos resíduos gerados pelas plantas processadoras. Assim por exemplo, se for utilizado um corte de peixe inteiro eviscerado o resíduo estará formado unicamente pelas vísceras, enquanto que se for utilizado um corte tipo filé, os resíduos estarão constituídos por todas as porções indicadas anteriormente.

Provavelmente mais do que o 50% do material residual do peixe capturado não é utilizado como alimento e envolve ao redor de 30 milhões de toneladas de resíduo por ano (KRISTINSSON e RASCO, 2011).

2.6.1. Alimentação animal

Os resíduos do processamento de peixes são uma fonte alternativa de proteína e gordura, que substitui parcialmente a utilização de farinha e óleo de peixe (ARVANITOYANNIS e KASSAVETI, 2008; ESTEBAN et al., 2007).

Na alimentação animal, têm sido realizados vários experimentos com a preparação de silagens ácidas, que podem ser químicas (WICKI et al., 2003) ou

biológicas (FAID et al., 1997) assim como silagens enzimáticas (MORALES-ULLOA e OETTERER 1997) de resíduos de peixe. Testes indicam que os ensilados constituem potenciais ingredientes nas formulações de rações de diversas explorações pecuárias (VÁZQUEZ, et al., 2011; KECHAOU, et al., 2009; ARVANITOYANNIS e KASSAVETI, 2008), como frangos de corte (SANTANA-DELGADO et al., 2008), salmão (JACKSON et al., 1984), pacu (WICKI et al., 2003; VIDOTTI et al., 2002a; VIDOTTI et al., 2002b). Os resultados obtidos são similares com os produzidos com rações comerciais (controles).

Outra forma de reaproveitamento dos resíduos de peixe na alimentação animal é como ingredientes das rações animais. Kotzamanis et al. (2001) determinaram que é possível utilizar exitosamente os resíduos do processamento de truta (*Salmo trutta* L.) como ingredientes nas rações de douradas (*Spaurus aurata* L.). Esteban et al. (2007) avaliaram os resíduos da comercialização de peixe como ingredientes na formulação de dietas para suínos. A composição nutricional e o conteúdo de minerais da formulação experimental (com inclusão de resíduos de peixe) foram avaliados quimicamente e comparados com as recomendações nutricionais para suínos em crescimento e finalização, com resultados satisfatórios.

Os resíduos de peixe podem ser utilizados também para preparar hidrolisados proteicos (MACEDO-VIEGAS et al., 2003).

2.6.2. Alimentação humana

Na carcaça de peixe resultante após filetagem sobram ainda músculos de boa qualidade que podem ser utilizados para a alimentação humana; a extração desta carne denominada carne mecanicamente separada (CMS) é realizada utilizando equipamentos adequados. Também podem ser processados peixes fora do tamanho comercial assim como peixes de baixo valor comercial (KIRSCHNIK, 2009). A CMS de tilápia é utilizada na elaboração de fishburger, nugget e empanados de peixe, salchichas, entre outros (OLIVEIRA FILHO, et al., 2010; MARENGONI et al., 2009).

2.6.3. Outros usos

A produção de biodiesel de óleo de peixe de uma mistura de resíduos de várias espécies marinhas foi relatada por Lin e Li (2009). Neste contexto, Santos et al. (2010) utilizaram óleo de tilápia para produzir biodiesel. Os óleos residuais da indústria farmacêutica e óleos de peixe de baixa qualidade poderiam também ser utilizados na produção de biodiesel (SANTOS et al., 2010).

A partir dos resíduos de peixes, principalmente das vísceras, é possível realizar a extração de lipídios, potencialmente utilizáveis na alimentação humana (MORAIS et al., 2001, CREXI et al., 2010), animal (GUERRA e OÑA, 2009) ou na produção de biocombustíveis (SANTOS et al., 2010; LIN e LI, 2009).

As vísceras representam entre 7 e 15% do peso corporal dos peixes, e estão compostas por até 45% de lipídios de armazenamento (óleo) (SANTOS et al., 2010).

Sathivel et al. (2003) realizaram a extração e refinamento químico de óleo de vísceras de catfish, utilizando óleo de *menhaden* (submetido aos mesmos procedimentos) como controle. O conteúdo de ALA (3,4% do total de ácidos graxos avaliados) e DHA (1,1%) presentes no óleo refinado de vísceras de catfish, foi inferior que no óleo de *menhaden* (*Brevortia* sp.) onde juntos representaram o 20,8% do total de ácidos graxos avaliados. O ácido graxo predominante no óleo de catfish foi o LA (18:2 n-6) com um 24,39%, fato atribuído à alimentação que geralmente é rica em subprodutos de soja (SATHIVEL et al., 2003).

Crexi et al. (2009) realizaram o refinamento de óleos de vísceras de carpa (*Cyprinus carpio*) extraídos da elaboração de farinha e por silagem. Os óleos de ambos os processos de extração apresentaram valores similares ($p > 0,05$) para o perfil de ácidos graxos, índice de ácidos graxos livres, índice de peróxidos, índice de anisidina, índice de ácido tiobarbitúrico e índice de cor Lovibond. Os ácidos graxos presentes em maior quantidade foram: ácido oléico (C18:1 n-9), palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), linoléico (C18:2 n-6) e linolênico (C18:3 n-3), constituindo ao redor do 67% dos ácidos graxos totais dos óleos avaliados. Óleos refinados apresentaram decréscimo na somatória de ácidos graxos saturados e acréscimo na somatória de ácidos graxos

poliinsaturados, em relação aos óleos branqueados devido ao fracionamento (winterização) (CREXI et al., 2010).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A extração dos óleos contidos nas vísceras dos peixes avaliados foi realizada segundo a metodologia preconizada por Guerra e Oña (2008) que emprega o congelamento como mecanismo para liberar o óleo contido nos tecidos das vísceras dos peixes. Utilizaram-se vísceras de três espécies: truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e curimbatá (*Prochilodus spp.*), coletadas em diferentes pontos dos estados de São Paulo e Paraná. Avaliou-se a quantidade de óleo obtida por esta técnica (rendimento), assim como vários parâmetros físico-químicos dos óleos extraídos. Posteriormente, o óleo de vísceras de truta arco-íris, extraído por congelamento, foi degomado, neutralizado, lavado, seco e branqueado, de acordo com o procedimento descrito por Moraes et al. (2001) para o refino químico de óleo de peixe (não foi realizada a desodorização). Paralelamente, foi submetida aos mesmos procedimentos, uma amostra de óleo de resíduos de filetagem de truta arco-íris extraída por um processo termomecânico (autoclavagem a aprox. 150 °C e centrifugação), cedida pela truticultura “Nosso Recanto” localizada no Município de Santo Antônio do Pinhal/SP. O óleo de resíduos de filetagem de truta arco-íris denominou-se: óleo E1 (extração 1 – termomecânica); enquanto que o óleo de vísceras denominou-se: óleo E2 (extração 2 – congelamento). Os óleos de truta arco-íris de ambos os métodos de extração, submetidos a refinamento, foram avaliados em quatro pontos do processo: óleos brutos (ponto inicial - P1), óleos degomados (P2), óleos secos (neutralizados, lavados e secos - P3) e óleos branqueados (P4).

3.1. Coleta da Matéria Prima

3.1.1. Vísceras

Foram coletadas vísceras de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e curimbatá (*Prochilodus spp.*). As vísceras de truta arco-íris e pacu procederam de criações localizadas nos municípios de Santo Antônio do Pinhal (SP) e Toledo (PR) respectivamente, enquanto que as vísceras de curimbatá foram coletadas a partir de peixes capturados por aficionados à pesca esportiva no rio Mogi-Guaçu, no município de Pirassununga (SP).

Coletaram-se aproximadamente 40 Kg de vísceras de truta arco-íris, 5 Kg de vísceras de pacu e 2,5 Kg de vísceras de curimatã. As vísceras foram transportadas (resfriadas com gelo) em caixas de isopor até o Laboratório de Piscicultura da FZEA/USP onde foram colocadas em freezers convencionais a -20 °C.

3.1.2. Óleo de resíduos de filetagem de truta arco-íris

Foram coletados aproximadamente 5L de óleo de resíduos de filetagem de truta arco-íris (pele, nadadeiras, cabeça, músculo, vísceras e esqueleto), extraídos nas instalações da truticultura (localizada em Santo Antônio do Pinhal) por um processo termomecânico (autoclavagem a temperatura ≈ 150 °C e centrifugação). O óleo foi colocado em garrafas de vidro, resfriado com gelo e transportado em caixas de isopor até o Laboratório de Piscicultura onde foi filtrado e posteriormente armazenado a -20 °C.

3.2. Extração de óleo de vísceras de peixe

A extração de óleo bruto das vísceras coletadas foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Guerra e Oña (2008):

As vísceras foram congeladas a -20° C (congelamento lento) até alcançar a completa solidificação, que dependendo da quantidade de material conseguiu-se em aproximadamente 48 horas utilizando equipamentos (freezers) convencionais. O material ainda congelado foi cortado em forma de cubos de aproximadamente 5cm de aresta, colocado em béckers de 600 mL e aquecido em banho Maria a 60 - 65° C durante aproximadamente 1 hora e 30 minutos, para produzir a separação do óleo (que fica na parte superior do recipiente) o qual posteriormente foi coletado, filtrado e armazenado a -20° C.

3.3. Refinamento de óleo de truta arco-íris

Foi realizado o refinamento do óleo de truta arco-íris extraído pelo processo termomecânico (E1) e do óleo extraído pelo método descrito por Guerra e Oña (2008) (E2).

O refinamento foi realizado seguindo o procedimento descrito por Moraes et al. (2001) (degomagem, neutralização, lavagem, secagem e branqueamento) com algumas adaptações. O processo de desodorização não foi realizado.

3.3.1. Degomagem

Aproximadamente 600g de óleo bruto foram submetidas a aquecimento uniforme a 80° C num frasco Kitassato de 1L de capacidade, utilizando uma chapa elétrica de aquecimento com agitador magnético (marca Fisatom®). Adicionou-se 1% (p/p) de ácido fosfórico concentrado (85%) sob agitação vigorosa (500 a 600 rpm) a -600 mmHg durante 30 minutos. Logo após, o óleo foi colocado em um bécker deixando a maior quantidade possível de impurezas no fundo do frasco Kitassato para serem descartadas. Centrifugou-se este óleo a 10000 (dez mil) rpm durante 20 minutos para retirar as impurezas remanescentes (centrífuga da marca Sorvall®, modelo Super T21 com tambor com capacidade para 4 tubos de 250 mL, pertencente ao Laboratório de Metabolismo Ruminal do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP).

3.3.2. Neutralização

O óleo degomado foi aquecido uniformemente a 40° C num Kitassato de 1L de capacidade utilizando uma chapa elétrica com agitador magnético e neutralizou-se com adição de uma solução de NaOH 5N com 4% de excesso.

A quantidade de solução de NaOH 5N requerida para este processo foi determinada da seguinte forma: determinou-se a quantidade de equivalentes químicos ácidos, calculados a partir da porcentagem de acidez em ácido oléico (AO%) do óleo degomado. Calculou-se o peso em gramas de uma quantidade igual de equivalentes químicos de NaOH adicionando mais 4% (excesso).

A mistura foi submetida a agitação a velocidade baixa (aproximadamente 100 a 150 rpm) a -420 mmHg durante 10 minutos a 40° C. Posteriormente deixou-se em repouso aquecendo o produto a 80° C para agilizar a decantação da borra e facilitar a separação. O óleo separado por decantação foi centrifugado a 10000 rpm por 20 minutos para retirar as impurezas (borra) remanescentes.

3.3.3. Lavagem

Adicionou-se água a 95 °C, em quantidade igual ao 10% da massa de óleo no óleo neutralizado mantido a temperatura ambiente, sob agitação aproximadamente a 200 rpm, a -440 mmHg, por 5 minutos num frasco Kitassato de 1L de capacidade. A água foi retirada com uma pipeta e toda a operação repetida três vezes. Após as três intervenções, centrifugou-se o óleo a 2500 rpm por 70 minutos para retirar a maior quantidade possível de água.

3.3.4. Secagem

Aqueceu-se o óleo em um frasco Kitassato de 1L de capacidade a 90 °C durante 20 minutos, a -660 mmHg, com agitação a velocidade aproximada de 200 rpm. Utilizaram-se algumas bolas de vidro de Ø 3mm para evitar a ebulição violenta.

3.3.5. Branqueamento

Foi realizado logo após a secagem, a uma temperatura de 70 °C. Adicionou-se no óleo uma mistura de terra ativada e carvão ativado numa proporção 9:1, em quantidade igual a 5% do peso do óleo, com um tempo de contato de 20 minutos com agitação a velocidade de 200 rpm (aprox.) durante 20 minutos a -650 mmHg. Posteriormente o óleo foi retirado do Kitassato cuidando-se que o carvão ativado ficasse no fundo do frasco e centrifugado a 2500 rpm por 10 minutos com adição de aproximadamente 1g de terra ativada por cada 40 g de óleo (capacidade de cada frasco da centrífuga). Posteriormente o óleo foi filtrado com papel Whatman No. 1, para eliminação dos últimos restos de carvão ativado.

3.3.6. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas realizadas nos óleos brutos de vísceras de truta arco-íris, pacu e curimatá, extraídos por congelamento foram: ácidos graxos livres (ESTEVES et al., 1995), índice de refração a 25° e 40° C (AOAC, 2005), densidade a 40° C, índice de peróxidos (ESTEVES et al., 1995), Índice de iodo (AOAC, 2005), índice

de saponificação (ESTEVES et al., 1995), viscosidade a 40° C e perfil de ácidos graxos, determinado por cromatografia gasosa.

Nos óleos submetidos a refinamento, além das análises indicadas anteriormente, determinaram-se a densidade e viscosidade a 25° C, enquanto que o perfil de ácidos graxos foi determinado unicamente nos óleos brutos e nos óleos branqueados.

As análises físico-químicas realizadas neste trabalho foram selecionadas com base nos critérios do regulamento da ANVISA para óleo de fígado de cação e bacalhau (ANVISA, 1995) e nas recomendações do *Codex Alimentarius* (1981) emendada em 2009, para produtos classificados como *outros óleos e gorduras comestíveis não cobertos por padrões individuais*.

A determinação de ácidos graxos livres, índice de peróxidos e índice de saponificação foram determinados segundo a Metodologia Padrão Alemã para Análise de Gorduras e Outros Lipídeos (ESTEVES et al., 1995). O índice de refração e o índice de iodo foram determinados segundo AOAC (2005). O perfil de ácidos graxos foi determinado por cromatografia gasosa no Laboratório de Química do Departamento de Ciência de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP.

3.3.6.1. Ácidos graxos Livres (%AGL)

É uma medida da quantidade de ácidos graxos livres de uma gordura, expressa como porcentagem do peso da amostra, considerando o peso molecular do ácido oleico (282 g) como uma média dos pesos moleculares dos ácidos graxos não esterificados e outros ácidos presentes na amostra (ESTEVES et al., 1995).

Pesaram-se aproximadamente 2 g de amostra em um frasco Erlenmeyer de 125 mL. Adicionaram-se 25 mL de solução neutralizada de éter:etanol 2:1 (v/v) e dissolveu-se a amostra. Colocaram-se 2 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína 1%. Realizou-se a titulação com solução padronizada de NaOH 0,1N até aparecimento de cor rosa persistente. Nos casos em que o volume gasto de solução de NaOH 0,1N foi inferior a 0,5 mL, a determinação foi realizada com uma solução 0,01N. Utilizou-se a fórmula:

$$AGL (\%) = \frac{v * N * 28,2}{P}$$

Onde:

v = Volume (mL) de solução de NaOH utilizado na titulação

N = Normalidade da solução de NaOH (padronizada)

P = Peso (g) da amostra

3.3.6.2. Índice de peróxido (IP)

É o número de miliequivalentes de oxigênio ativo por quilograma de gordura (meq/Kg) (ESTEVES et al., 1995).

Pesaram-se 5g de amostra com precisão de 0,0001g em um frasco Erlenmeyer de 250 mL. Adicionaram-se 30 mL de solução de ácido acético:clorofórmio 3:2 e agitou-se até a completa diluição da amostra. Foram adicionados 0,5 mL da solução saturada de iodeto de potássio e deixados em repouso ao abrigo da luz por 1 minuto. Posteriormente acrescentaram-se 30 mL de água e procedeu-se à titulação com solução de tiossulfato de sódio 0,1N ou 0,01N (a solução 0,01N foi utilizada quando o volume gasto de solução 0,1N na titulação foi menor que 0,5 mL) com agitação constante. Continuou-se a titulação até que a coloração amarela quase desapareceu. Adicionou-se 0,5 mL de solução de amido solúvel 1% e continuou-se com a titulação até o completo desaparecimento da coloração azul. Preparou-se uma determinação em branco nas mesmas condições. A fórmula utilizada para calcular o IP foi:

$$IP = \frac{(a - b) * N * 1000}{P}$$

Onde:

a = Volume (mL) de solução de tiossulfato de sódio gasto na titulação da amostra

b = Volume (mL) de solução de tiossulfato de sódio gasto na titulação do branco

N = Normalidade da solução de tiossulfato de sódio (padronizada)

P = Peso (g) da amostra

3.3.6.3. Índice de iodo (II) (método de Wijs)

É determinado por titulação do iodo livre reduzido a partir do excesso de monocloreto de iodo em presença do iodeto de potássio. Calcula-se como o número de centigramas de iodo livre absorvidas por cada grama de amostra (cg/g) (AOAC, 2005).

Pesou-se aproximadamente 0,25 g de amostra (fundida e filtrada) em um frasco Erlenmeyer de 500 mL com tampa. Adicionaram-se 15 mL de uma mistura ciclohexano:ácido acético 1:1 e agitou-se a amostra até sua dissolução. Colocaram-se 25 mL de solução de Wijs e agitou-se cuidadosamente mantendo o frasco tampado para homogeneizar a mistura. Deixou-se em repouso protegido da luz e a temperatura ambiente por 1h. Posteriormente removeram-se o frasco da escuridão e adicionaram-se 20 mL de solução de iodeto de potássio 15% e 150 mL de água recentemente fervida e esfriada. A titulação foi realizada com uma solução padronizada de tiossulfato de sódio 0,1N ou 0,01N até aparecimento de uma fraca coloração amarela; nesse ponto foram adicionados entre 1 e 2 mL de solução indicadora de amido solúvel 1% e continuou-se com a titulação até o desaparecimento da cor azul. Prepararam-se duas determinações em branco. A fórmula para cálculo do índice de iodo é:

$$II = \frac{(B - S) * M * 12,69}{P}$$

Onde:

M = molaridade da solução de tiossulfato de sódio

B = Solução de tiossulfato de sódio gasta na titulação do branco (mL)

S = Solução de tiossulfato de sódio gasta na titulação da amostra (mL)

P = Peso (g) da amostra

3.3.6.4. Índice de saponificação (IS)

É a quantidade de hidróxido de potássio em miligramas, necessária para saponificar 1g de gordura (mg/g) (ESTEVEES et al., 1995).

Pesaram-se aproximadamente 2 g de amostra com precisão de 0,005 g em um Erlenmeyer de 250 mL e adicionaram-se 25 mL de solução etanólica de KOH 4% mais

algumas bolas de vidro Ø3mm. A mistura foi fervida por 60 minutos sob refluxo. Adicionou-se à solução ainda quente 1 mL de fenolftaleína etanólica 1% e titulou-se com solução padronizada de ácido clorídrico 0,5 N até mudança de cor. Realizou-se uma determinação em branco sob as mesmas condições. A fórmula para calcular o índice de saponificação foi:

$$IS = \frac{28,05 * (b - a)}{E}$$

Onde:

b = Volume (mL) de ácido clorídrico 0,5N utilizado na titulação do branco

a = Volume (mL) de ácido clorídrico 0,5N utilizado na titulação da amostra de óleo

E = Peso (g) da amostra

3.3.6.5. Densidade (d)

Para determinar a densidade (g.cm^{-3}) foi utilizado um densímetro (Density meter) da marca Anton Paar, modelo DMA 4500 do Laboratório de Engenharia de Separações no Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA/USP.

O equipamento possui uma pequena mangueira por onde se injeta o óleo que ingressa num capilar interno, visível através de um cristal localizado na frente do equipamento. Injeta-se a amostra de óleo cuidadosamente até ficar uniformemente distribuída no capilar, sem formação de bolhas de ar. O aparelho modifica a temperatura do óleo de acordo com o valor selecionado. A leitura é realizada automaticamente uma vez que a amostra atinge a temperatura indicada. Neste caso realizaram-se leituras a 25° e 40° C.

3.3.6.6. Índice de refração (n_D)

O índice de refração (n_D) é a relação que existe entre a velocidade de luz no vácuo (v_0) e a velocidade com que atravessa uma substância (v_i) ($n_D = v_0 / v_i$) (70).

Foi determinado o índice de refração (n_D) a 25°C ($n_{25}^{\circ\text{C}}$) e a 40°C ($n_{40}^{\circ\text{C}}$). Utilizou-se um refratômetro de Abbé modelo LAMBDA 2 WAJ (ATTO Instruments, Hong Kong)

localizado no Laboratório de Tecnologia de Alta Pressão e Produtos Naturais no Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA/USP. Este aparelho indica diretamente a leitura do índice de refração, conectado a um banho ultratermostático Van Den, modelo UCB-12 localizado no Laboratório de Produtos Funcionais do Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA/USP.

Algumas gotas de amostra foram colocadas entre os prismas. Posteriormente fecharam-se os prismas firmemente deixando-os repousar por alguns minutos nessa posição até que a amostra atingisse a temperatura desejada. Após a leitura, os prismas foram limpos utilizando um pano macio de algodão umedecido com éter de petróleo. A leitura (até a quarta casa decimal) foi realizada colocando o limite divisório da área clara/escuro no ponto central do campo visual delimitado por duas linhas entrecruzadas. Correções aproximadas da temperatura foram realizadas utilizando a fórmula:

$$R = R' + K(T - T');$$

onde:

R=leitura corrigida a temperatura padrão

R' = leitura obtida à temperatura T'

T = temperatura padrão

K = 0,000365 para gorduras e 0,000385 para óleos.

O valor de n diminui quando ocorrem aumentos de temperatura.

O instrumento pode ser padronizado com água a 20° C, já que é considerado teoricamente que o valor de n da H₂O a essa temperatura é de 1,3330.

3.3.6.7. Viscosidade (η)

Na determinação da viscosidade foi utilizado um viscosímetro automático (Automated Micro Viscometer - AMVM) da marca Anton Paar do Laboratório de Engenharia de Separações do Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA/USP.

O equipamento consta de um braço rotatório que contém um capilar interno de vidro (desmontável). O capilar alberga no seu interior a amostra que deve ser colocada evitando a formação de bolhas e a presença de impurezas. O braço inclina-se a diferentes ângulos alternadamente para realizar a determinação do tempo em que uma pequena esfera metálica localizada no interior do capilar de vidro percorre o conduto interno vencendo a resistência da substância (óleo). O aparelho inicia a sequência de medições quando atinge a temperatura selecionada que neste caso foi de 25° e 40° C. A sequência automática de leituras é realizada inicialmente a uma inclinação de 70°, depois a 60° e finalmente a 50°; o valor da viscosidade de uma amostra, expressado em mPa.s é determinado como a média destas três leituras (cada ângulo de inclinação corresponde a uma repetição).

3.3.6.8. Perfil de ácidos graxos

Uma alíquota do óleo (25 ± 1 mg) foi saponificada e os ácidos graxos convertidos a ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG) de acordo com a metodologia de Joseph e Ackman (1992). A saponificação foi realizada com 1,5 ml de NaOH metanólico 0,5 N e aquecimento a 100°C por 5 minutos e a esterificação com adição de 2 ml de BF₃ (trifluoreto de boro) em metanol e aquecimento a 100°C por 30 minutos. Aos EMAG, extraídos duas vezes com isoctano, foram adicionados 0,1 mg de éster metílico de ácido tridecanoico e 0,5 mg de éster metílico de ácido nonadecanoico para posterior quantificação. Após a extração, o isoctano foi evaporado. Os EMAG foram posteriormente diluídos em hexano para injeção em cromatógrafo gasoso.

Foi utilizado um cromatógrafo a gás (modelo GC2010, SHIMADZU, Kyoto, Japão), equipado com um injetor split (1/50) a 250°C, coluna capilar de sílica fundida (100 m comprimento, 0,25 mm d.i., 0,20 µm espessura de fase estacionária) (CP-SIL 88, Chromopack, Middleburg, Holanda); detector de ionização em chama (FID) a 260°C e workstation (GCSolution, SHIMADZU, Kyoto, Japão). A temperatura da coluna cromatográfica foi programada com início a 120°C mantendo-se nessa temperatura por 8 minutos, aumentando para 160°C, com taxa de 20°C por minuto, mantendo-se nesta temperatura por 4 minutos, aumentando novamente a 3°C por minuto até 195°C

permanecendo por 10 minutos, aumentando a 35°C por minuto até 220°C, mantendo-se nesta temperatura por 3 minutos e finalmente aumentando a 20°C por minuto até 240°C e mantendo-se nesta temperatura por 5 minutos, totalizando 46 minutos de corrida (Sancho et al. 2011). O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio com velocidade linear de 34 cm/s e o gás *makeup*, nitrogênio com fluxo de 30 ml/min. O volume de injeção foi de 2 µl através da técnica de *hot needle* por 5 segundos.

A identificação dos ésteres metílicos foi realizada por comparação dos tempos de retenção dos picos com os dos padrões de ésteres metílicos (FAME Mix C4-C24, Supleco, Bellefonte, Pensilvânia, EUA) e a quantificação por padronização interna com éster metílico de ácido undecanóico (Sigma-AldrichChemie, Steinheim, Alemanha), adicionados antes da injeção. Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido graxo. (Tabela 6).

3.4. Análises estatísticas

As variáveis avaliadas nos diferentes óleos foram: rendimento e parâmetros físico-químicos, mediante delineamentos inteiramente casualizados e delineamentos fatoriais, descritos a seguir.

3.4.1. Rendimento

Na avaliação da quantidade de óleo bruto extraída por congelamento das vísceras utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado. Cada uma das três espécies: truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e curimatá (*Prochilodus spp.*) correspondeu a um tratamento com quatro repetições.

Tabela 6- Nomes comuns e siglas dos ácidos graxos encontrados nas amostras.

	Ácidos Graxos	Nome comum*	Siglas†
1	C11:0	Undecanoato	
2	C12:0	Láurico	
3	C13:0	Tridecanoico	
4	C14:0	Mirístico	
5	C14:1n-9	Miristoléico	
6	C15:0	Pentadecanoico	
7	C16:0	Palmitico	
8	C16:1n-7	Palmitoléico	
9	C17:0	Eptadecanoico	
10	C 17:1n-7	<i>cis</i> -10 eptadecanoico	
11	C18:0	Esteárico	
12	C18:1n-9t	Elaídico	
13	C18:1n-9c	Oleico	OA
14	C18:2n-6t	Linolelaídico	
15	C18:2n-6c	Linoleico	LA
16	C18:3n-6	γ-linolénico	GLA
17	C20:1n-9	<i>cis</i> -11 eicosenóico	
18	C18:3n-3	α-linolénico	ALA
19	C21:0	Eneicosanóico	
20	C20:2n-6	<i>cis</i> -11, 14 Eicosadienóico	
21	C20:3n-6	<i>cis</i> -8, 11, 14 Eicosatrienóico	hGL
22	C22:1n-9	Erúcico	
23	C20:4n-6	Araquidónico	AA
24	C20:5n-3	Eicosapentaenóico	EPA
25	C22:6n-3	Docosaexaenóico	DHA

* Em alguns casos, consta a nomenclatura química; † As siglas correspondem aos nomes em inglês. Adaptada de Jabeen e Chaudhry, 2010.

3.4.2. Parâmetros físico-químicos

3.4.2.1. Óleos brutos (truta arco-íris, pacu e curimbatá) extraídos por congelamento.

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, onde cada uma das três espécies correspondeu a um tratamento. Cada determinação foi realizada em triplicata.

3.4.2.2. Óleos refinados de truta arco-íris

Utilizou-se um delineamento fatorial (2x4) com dois fatores: tipo de extração (E) com dois níveis, e ponto do processo de refino (P) com quatro níveis. Os níveis do fator E foram:

E1 - extração termomecânica de óleo de resíduos de filetagem, e

E2 - extração por congelamento de óleo de vísceras;

enquanto que os níveis do fator P foram:

P1 – óleos brutos

P2 – óleos degomados

P3 – óleos secos

P4 – óleos branqueados.

Os níveis dos fatores E e P originaram oito combinações: E1P1, E1P2, E1P3, E1P4, E2P1, E2P2, E2P3, E2P4. Avaliou-se o efeito individual de cada fator E e P, assim como o efeito da interação ExP.

Na determinação do perfil de ácidos graxos avaliaram-se os níveis de E (E1 e E2) e os níveis de P: P1 e P4, gerando quatro combinações: E1P1, E1P4, E2P1, E2P4.

Todas as combinações tiveram 3 repetições (triplicata).

3.4.3. Nível de significância

A diferença entre tratamentos nos delineamentos inteiramente casualizados e o efeito de E, P e a interação ExP (nos delineamentos fatoriais), foram determinados por análise de variância pelo teste F para $p < 0,05$. Nos casos em que p foi menor que 0,05, utilizou-se o teste de Tukey para comparação de médias. Foi utilizado o programa SAS (*Statistical Analysis Software*) versão 9.22 na avaliação estatística dos resultados

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Rendimento

Foi observada diferença significativa entre os rendimentos de óleo das vísceras das três espécies avaliadas ($p < 0,05$). O maior rendimento corresponde ao pacu (42,53%), seguido pela truta arco-íris (27,58%) e o curimbatá (13,75%) (Tabela 7).

Tabela 7- Rendimento (% p/p) de óleo de vísceras de curimbatá (*Prochilodus spp*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), obtidos pelo método de extração E2 (GUERRA e OÑA, 2008).

	Espécie de Peixe		
	Truta arco-íris*	Pacu*	Curimbatá*
Rendimento	27,58 ± 2,42 ^B	42,53 ± 2,73 ^A	13,75 ± 1,34 ^C

* Médias ± desvio padrão de quatro repetições; letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste Tukey

Segundo Santos et al. (2010), o conteúdo de lipídios nas vísceras de peixe pode ser de até 45%. Considerando que o pacu é um peixe com alta capacidade para armazenar gordura (da SILVA, 2008; ZAPATA, 2011), o rendimento alcançado através da técnica de congelamento nesta espécie é bastante eficiente, e presumivelmente também nas outras espécies. Dumas et al. (2007) determinaram níveis de lipídeos nas vísceras de truta arco-íris em 31,2% em base úmida. No caso das vísceras de truta arco-íris avaliadas neste experimento, a porcentagem de óleo extraída (27,58%) apresentou-se mais alta que em Guerra e Oña (2009), onde o rendimento de óleo pela mesma técnica foi de 16%. A diferença no rendimento pode ser influenciada pela quantidade de gordura armazenada nas vísceras dos exemplares avaliados em cada experimento, que por sua vez podem sofrer influencia do tipo de alimentação (natural ou artificial). Outro fator que influenciaria nos volumes de recuperação de óleo é a forma como foi realizada a extração; no caso de Guerra e Oña (2009) realizou-se sem fracionamento de blocos de material congelado de até 50 Kg, onde o descongelamento pode não ter sido eficiente. Supõe-se que o curimbatá apresentou menores rendimentos de óleo por ter sido obtido de captura na natureza, onde o acúmulo de

gordura, na maioria de vezes é menor que em espécies de criação (AHLGREN et al., 1993).

Em escala industrial, os rendimentos de óleo extraído das vísceras (material bruto) das três espécies seriam adequadas para obtenção de óleo (EFSA, 2010; FAO, 1986). No caso do pacu e curimbatá, observou-se que à temperatura ambiente (média de 17 °C - junho), sua fração lipídica encontrava-se no estado semi-sólido, o que faz supor um baixo nível de AGPI, já que de acordo com a literatura os lipídios saturados possuem pontos de fusão mais altos (NELSON e COX, 2006). No caso do óleo de vísceras de curimbatá, o fornecimento de matéria prima seria limitado devido a serem selvagens capturados na pesca esportiva. Por estes motivos, o óleo de vísceras de truta foi o único selecionado para refino, já que além de ser uma espécie de produção intensiva, existe um amplo conteúdo bibliográfico que a classifica como uma das espécies fornecedoras de altos níveis de EPA e DHA, e baixos valores totais de ácidos graxos n-6 (AVERINA e KUTYREV, 2011; SIDHU, 2003).

4.2. Análises dos óleos extraídos por congelamento

4.2.1. Análises físico-químicas (exceto perfil de ácidos graxos)

Os parâmetros físico-químicos dos óleos brutos de vísceras das três espécies (truta arco-íris, pacu e curimbatá), extraídos por congelamento são apresentados na Tabela 8, exceto o perfil de ácidos graxos que consta na Tabela 9.

O índice de acidez apresentou diferença significativa entre os óleos brutos das três espécies. O valor mais alto foi determinado no óleo de truta arco-íris, seguido pelo óleo de pacu e o óleo de curimbatá. Todos os valores encontraram-se próximos dos referidos por Moraes et al. (2001), que indica valores de AGL para óleos brutos de peixe (marinho) de $7,5 \pm 5,5$, e nos citados por EFSA (2010) de 1 a 7%.

Os índices de iodo dos óleos de pacu e truta arco-íris não apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$), mas foram menores que o do óleo de curimbatá. Os valores mais altos indicam um maior nível de insaturação (quantidade total de ligações duplas) (AOAC, 2005). O alto nível de insaturação do óleo de curimbatá em relação ao pacu pode ter sido influenciado pela dieta, já que ao ser o

pacu um peixe de criação, sua alimentação está baseada em rações artificiais, as quais nem sempre favorecem um perfil lipídico rico em ácidos graxos insaturados (SARGENT et al., 2002; AHLGREN et al., 1993). A truta por pertencer a uma família de peixes ricos em ácidos graxos poliinsaturados (*Salmonidae*) e por se desenvolver em águas frias teria maior tendência a acumular lipídios com maiores graus de insaturação, em comparação com o pacu; mas em comparação com o curimbatá, prevalece o fator alimentício já que a truta é criada com ração, o que poderia influenciar negativamente no perfil nutricional dos seus lipídios. O índice de iodo varia em função do perfil lipídico dos animais, por exemplo, em espécies marinhas como *menhaden*, EFSA (2010) refere-se a valores para óleos brutos entre 120 e 200. Em comparação com as recomendações da ANVISA (1995) os óleos das espécies avaliadas neste trabalho apresentam índices de iodo inferiores que os de fígado de bacalhau (II de 180 - 192) e cação (II de 140 a 205).

Tabela 8- Parâmetros físico-químicos dos óleos brutos de truta arco-íris, pacu e curimbatá, extraídos por congelamento

Variável	Unidade	Espécie de Peixe		
		Truta arcoiris*	Pacu*	Curimbatá*
AGL	%	6,06 ± 0,13 ^A	4,92 ± 0,39 ^B	4,12 ± 0,11 ^C
IP	meq/Kg	7,26 ± 0,29 ^B	6,81 ± 0,21 ^B	27,27 ± 0,94 ^A
II	cg/g	91,02 ± 9,22 ^{AB}	73,00 ± 4,69 ^B	112,25 ± 8,64 ^A
IS	mg/g	226,49 ± 8,15 ^A	237,80 ± 2,24 ^A	234,23 ± 7,71 ^A
d _{40°C} [†]	g/cm ³	0,9016 ^B	0,8999 ^C	0,9038 ^A
n _{25°C}		1,4703 ± 0,0002 ^B	1,4691 ± 0,0003 ^C	1,4715 ± 0,0000 ^A
n _{40°C}		1,4652 ± 0,0003 ^A	1,4620 ± 0,0000 ^B	1,4655 ± 0,0000 ^A
η _{40°C}	mPa.s	32,2097 ± 0,1816 ^B	33,0987 ± 0,2590 ^A	29,5691 ± 0,0957 ^C

* Médias ± desvio padrão de três repetições; letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (p<0,05) pelo teste Tukey; AGL = ácidos graxos livres; IP = índice de peróxidos; II = índice de iodo; IS = índice de saponificação; d_{40°C} = densidade a 40° C; n_{25°C} e n_{40°C} = índice de refração a 25° e 40° C respectivamente; η_{40°C} = viscosidade a 40° C; [†] o desvio padrão da densidade a 40° C em todos os casos foi ±0,0000.

O índice de peróxidos do óleo de curimbatá foi marcadamente maior que nos outros óleos, ficando acima inclusive, do limite referido por EFSA (2010) que é de 3 a 20 meq de O₂ ativo/Kg de amostra. Possivelmente esta diferença deva-se à forma com

que foram coletadas as vísceras de curimatá, que foram acumuladas progressivamente, à temperatura ambiente ($\approx 18\text{ }^{\circ}\text{C}$) no transcurso da tarde, enquanto os turistas capturavam os espécimes. Isto poderia ter incrementado a taxa de oxidação do material, em comparação com as vísceras das outras espécies que foram resfriadas logo após a limpeza dos peixes. Além disso, as vísceras de curimatá foram coletadas de indivíduos pertencentes a um habitat natural e observou-se durante a extração que seu conteúdo visceral era mais heterogêneo o que faz supor que também teria maior instabilidade química. Estes fatores junto com o maior índice de iodo, do óleo desta espécie, poderiam ter facilitado a peroxidação.

O índice de saponificação não apresentou diferença significativa entre os óleos das três espécies ($p < 0,05$). O índice de saponificação é um valor característico de cada tipo de óleo e no caso das três espécies de peixes avaliadas foi superior ao estabelecido pela ANVISA (1995) para óleos de fígado de bacalhau (180 a 192) e cação (170 a 195).

A densidade dos óleos a 40°C foi diferente entre as três espécies. A maior densidade foi determinada no óleo de curimatá, seguida pela densidade do óleo de truta arco-íris e a do óleo de pacu. Com base no perfil de ácidos graxos, observa-se que densidades menores estão relacionadas com uma maior quantidade de ácidos graxos de baixo peso molecular (cadeias de C mais curtas).

O índice de refração foi maior no óleo de curimatá tanto a 25°C , assim como a 40°C ; o óleo de pacu apresentou os menores índices de refração também para as duas temperaturas; e o índice de refração do óleo de truta arco-íris a 25°C foi menor que o do óleo de curimatá, porém maior que o do óleo de pacu, e a 40°C foi igual ao curimatá. Os óleos de fígado de bacalhau e cação apresentam maiores índices de refração a 40°C . Quando o grau de insaturação é elevado, o índice de refração incrementa-se, conforme é observado nos óleos referenciados pela ANVISA (1995), os quais possuem valores mais altos dos índices de iodo e refração.

A viscosidade foi mais alta no óleo de pacu, seguida pela viscosidade do óleo de truta arco-íris e finalmente a viscosidade do óleo de curimatá reportou o menor valor. Observa-se uma possível relação inversa entre densidade e viscosidade, onde óleos com altas densidades possuem baixas viscosidades e vice-versa, no entanto outro tipo

de componentes, como alcoóis graxos (ceras), não detectados na determinação do perfil de ácidos graxos, influenciam neste parâmetro, portanto não é possível estimar o comportamento da viscosidade com a informação disponível neste trabalho.

O comportamento das variáveis determinadas nos óleos brutos enquadra-se dentro de relações manifestadas em alguns trabalhos realizados com óleos vegetais (DA CONCEIÇÃO et al. 2011; RUDAN-TASIČ e KLOFUTAR 1999).

Nos óleos brutos de curimatá, pacu e truta arco-íris, observou-se que valores altos (5% de significância) de $n_{25^{\circ}\text{C}}$ e $n_{40^{\circ}\text{C}}$ (índice de refração), relacionam-se com valores altos de densidade e valores baixos de viscosidade. Observa-se também que o óleo de curimatá que reflete claramente estas relações, é o óleo com maior índice de iodo, ou seja, um maior grau de insaturação. Rudan-Tasič e Klofutar (1999), num estudo realizado em onze amostras de diferentes óleos de origem vegetal, indicam que o índice de refração tende a incrementar-se com o aumento na quantidade de ligações duplas (II); em geral o índice de refração de óleos e gorduras naturais relaciona-se com suas médias de insaturação em forma linear. O comportamento dos diferentes parâmetros avaliados no experimento, também está de acordo com o observado em óleos vegetais como no estudo de da Conceição et al. (2011) realizado em óleos de palma e jupati (um tipo de palmeira amazônica).

4.2.2. Perfil de ácidos graxos dos óleos brutos extraídos por congelamento

Os nomes comuns e as siglas (dos nomes em inglês) dos ácidos graxos mais importantes para este trabalho apresentam-se na Tabela 6.

Na Tabela 9 apresentam-se os principais ácidos graxos dos óleos brutos de vísceras de truta arco-íris, pacu e curimatá extraídos por congelamento. As porcentagens de ácidos graxos (em relação aos ácidos graxos totais) apresentaram diferença significativa para $p < 0,01$ em todos os casos.

Os ácidos graxos mais abundantes em todos os casos foram 16:0, 18:1 n-9 e 18:2 n-6. O conteúdo de AA, EPA e DHA é maior no óleo de curimatá. O óleo de pacu apresentou as menores porcentagens de AA e DHA. A somatória de ácidos graxos saturados (AGS) não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre pacu e curimatá, e foi maior que no óleo de truta arco-íris. A somatória de ácidos graxos

Tabela 9- Principais ácidos graxos (porcentagem dos AG totais) encontrados nos óleos brutos de truta arco-íris, pacu e curimatã, extraídos por congelamento.

Ácidos Graxos	Truta arco-íris	Pacu	Curimatã
C11:0	0,02 ± 0,00 ^B	0,02 ± 0,00 ^B	0,07 ± 0,01 ^A
C12:0	0,03 ± 0,00 ^B	0,05 ± 0,00 ^B	0,10 ± 0,01 ^A
C14:0	1,25 ± 0,03 ^B	3,41 ± 0,40 ^A	3,60 ± 0,34 ^A
C14:1n-9	0,07 ± 0,00 ^B	0,32 ± 0,03 ^A	0,07 ± 0,01 ^B
C15:0	0,09 ± 0,01 ^B	0,19 ± 0,03 ^B	0,52 ± 0,04 ^A
C16:0	20,00 ± 0,07 ^B	25,84 ± 0,46 ^A	27,57 ± 1,15 ^A
C16:1n-7	6,98 ± 0,07 ^B	6,62 ± 0,29 ^B	13,49 ± 0,99 ^A
C17:0	0,12 ± 0,01 ^C	0,33 ± 0,03 ^B	0,85 ± 0,02 ^A
C18:0	5,62 ± 0,10 ^B	10,01 ± 0,71 ^A	6,80 ± 0,19 ^B
C18:1n-9t	<i>nd</i>	0,12 ± 0,01 ^B	1,18 ± 0,06 ^A
C18:1n-9c	38,94 ± 0,26 ^A	35,80 ± 2,53 ^A	21,57 ± 0,30 ^B
C18:2n-6c	19,41 ± 0,13 ^A	13,43 ± 1,38 ^B	10,02 ± 0,48 ^C
C18:3n-6	0,73 ± 0,02 ^A	0,22 ± 0,01 ^C	0,35 ± 0,01 ^B
C20:1n-9	<i>nd</i>	0,73 ± 0,08 ^B	3,46 ± 0,18 ^A
C18:3n-3	0,76 ± 0,00 ^B	0,88 ± 0,05 ^B	3,03 ± 0,11 ^A
C21:0	0,02 ± 0,00 ^B	0,04 ± 0,01 ^B	0,07 ± 0,01 ^A
C20:2n-6	1,70 ± 0,05 ^A	0,50 ± 0,04 ^C	0,89 ± 0,05 ^B
C20:3n-6	1,38 ± 0,03 ^A	0,50 ± 0,03 ^C	1,15 ± 0,02 ^B
C22:1n-9	0,03 ± 0,00 ^B	<i>nd</i>	0,51 ± 0,03 ^A
C20:4n-6	1,10 ± 0,04 ^B	0,57 ± 0,03 ^C	1,35 ± 0,03 ^A
C20:5n-3	0,09 ± 0,03 ^B	0,12 ± 0,02 ^B	2,11 ± 0,10 ^A
C22:6n-3	0,66 ± 0,20 ^B	0,10 ± 0,00 ^C	1,17 ± 0,03 ^A
ΣAGS	28,15 ± 0,09 ^B	39,91 ± 1,37 ^A	39,63 ± 1,42 ^A
ΣAGM	46,02 ± 0,29 ^A	43,66 ± 2,59 ^{AB}	39,10 ± 0,76 ^B
ΣAGPI	25,82 ± 0,21 ^A	16,32 ± 1,39 ^C	20,07 ± 0,61 ^B
ΣAGAI	3,22 ± 0,29 ^B	1,29 ± 0,03 ^C	5,77 ± 0,09 ^A
ΣTRANS	0,02 ± 0,00 ^B	0,12 ± 0,01 ^B	1,20 ± 0,06 ^A
Σn-3	1,50 ± 0,23 ^B	1,10 ± 0,05 ^B	6,30 ± 0,21 ^A
Σn-6	24,31 ± 0,07 ^A	15,22 ± 1,39 ^B	13,76 ± 0,41 ^B
Σn-6/Σn-3	16,41 ± 2,37 ^A	13,87 ± 1,44 ^A	2,18 ± 0,02 ^B
AA/EPA+DHA	1,55 ± 0,37 ^A	2,62 ± 0,38 ^A	0,41 ± 0,02 ^B
AA/EPA	13,69 ± 3,67 ^A	4,74 ± 1,19 ^B	0,64 ± 0,04 ^B
AA/DHA	1,75 ± 0,41 ^B	5,97 ± 0,15 ^A	1,15 ± 0,06 ^B

Ácidos graxos como médias ± desvio padrão de três repetições; t = *trans*; c = *cis* (se a configuração não estiver especificada, o ácido graxo considera-se *cis*); *nd* = não detectado; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$ – teste Tukey); ΣAGS, ΣAGM, ΣAGPI, ΣAGAI, Σn-3, Σn-6 = somatória dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, altamente insaturados, n-3 e n-6 respectivamente; AA/EPA+DHA = relação entre AA e a somatória de EPA+DHA; AA/EPA e AA/DHA = relação entre AA e EPA ou DHA respectivamente.

monoinsaturados (AGM) do óleo de pacu não apresentou diferença com os óleos de curimatã e truta arco-íris, mas no óleo de truta arco-íris foi maior que no óleo de curimatã ($p < 0,05$). A somatória de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) foi diferente

entre as três espécies, sendo maior no óleo de truta, seguida pelo óleo de curimbatá e o óleo de pacu ($p < 0,05$). A somatória de ácidos graxos altamente insaturados (AGAI) foi maior no óleo de curimbatá, seguida do óleo de truta e depois o óleo de pacu.

A somatória de ácidos graxos *trans* foi maior também no curimbatá seguida dos óleos de truta e pacu que não apresentaram diferença entre si. A somatória de ácidos graxos n-3 foi maior no óleo de curimbatá, enquanto que a somatória de ácidos graxos n-6 foi maior no óleo de truta arco-íris, assim como a relação n-6/n-3. A relação entre AA e EPA+DHA foi maior no óleo de truta e pacu ao mesmo tempo. A relação AA/EPA foi maior na truta arco-íris e a relação AA/DHA foi maior no pacu.

Segundo Sargent et al. (2002), a fluidez dos fosfolipídios das membranas celulares dos peixes está determinada pela relação entre AGS e AGM, e segundo Nelson e Cox (2006) o ponto de fusão é menor nos ácidos graxos de cadeias com maior número de C e maior número de insaturações. Observa-se que a porcentagem de AGM e AGPI é maior e a de AGS é menor respectivamente no óleo de truta em comparação com o óleo de curimbatá. Neste caso, como foi citado anteriormente, em temperatura ambiente o óleo de vísceras de truta apresentou-se em estado líquido, enquanto que os óleos de curimbatá e pacu apresentaram-se com uma textura semi-sólida, no entanto, a viscosidade a 40° C foi menor no óleo de curimbatá. Isto pode estar relacionado às interações entre a temperatura do óleo e os pontos de fusão dos lipídios compostos por diferentes tipos de ácidos graxos. A 40° C os óleos das três espécies apresentaram-se completamente dissolvidos, e possivelmente a essa temperatura as propriedades mecânicas manifestaram-se de forma diferente da temperatura ambiente.

A somatória de AGPI do óleo de vísceras de truta é maior que a do óleo de curimbatá e pacu, influenciada principalmente pela alta porcentagem de ALA (18:2 n-6 *cis*) de modo que a somatória de ácidos graxos n-6 da truta supera amplamente à mesma somatória nos óleos de pacu e curimbatá; ao mesmo tempo, a somatória de ácidos graxos n-3 do óleo de curimbatá é superior que a mesma somatória nos óleos de truta arco-íris e pacu. Estas relações evidenciam-se na relação n-6/n-3 que é favorável (menor) para o óleo de curimbatá. O conteúdo de DHA é maior também no óleo de curimbatá, e muito pobre no óleo de pacu.

O óleo de vísceras de curimatá possui melhores características nutricionais que os óleos de truta arco-íris e pacu avaliados neste experimento, o qual está determinado principalmente pelo maior conteúdo de ácidos graxos n-3 e uma menor relação n-6/n-3. Este fato pode ser justificado por ter sido coletado no ambiente natural (selvagem) cuja composição alimentar difere certamente dos outros peixes deste trabalho (ENDERSON e TOCHER, 1987; AVERINA e KUTYREV, 2011) os quais foram alimentados com rações formuladas e, em geral, mais pobres em ácidos graxos n-3. No entanto, era esperado que o perfil de ácidos graxos do óleo de truta arco-íris apresentasse maiores teores de ácidos graxos n-3 e menores relações n-6/n-3. Trabalhos demonstram que o DHA em truta arco-íris alcança porcentagens (em relação aos ácidos graxos totais) de 19% (lipídios armazenados no músculo) (AVERINA e KUTYREV, 2011). Greene e Selivonchick (1990) determinaram níveis de DHA muscular de 14,31% (dos AG totais) e relações n-3/n-6 de 2,06 em truta arco-íris alimentada com dietas com óleo de salmão, e entre 8,53 e 10,46% e relações n-3/n-6 de entre 0,48 e 1,77 nos animais alimentados com dietas com inclusão de fontes lipídicas vegetais e de animais terrestres. Caballero et al. (2002) indicam níveis hepáticos de DHA (grupo controle) de 13,2% e musculares (filé) de 9,4% (dos AG totais) e relações n-6/n-3 de 0,2 e 0,3 respectivamente. Quando a inclusão de óleo de peixe nas rações é maior, também ocorre maior acúmulo de DHA (AGPI n-3 em geral) nos lipídios, e diminuição da relação n-6/n-3 (DREW et al., 2007; CABALLERO et al., 2002; GREENE e SELIVONCHICK, 1990; MORRIS et al., 2005). Em geral, a quantidade de DHA depositada nos tecidos da truta arco-íris é proporcional e superior que a quantidade de DHA da dieta. No experimento de Morris et al. (2005), animais com pesos iniciais de 110 g, alimentados durante 11 semanas com uma ração com 7,5% (dos AG totais) de DHA, armazenaram no filé 10,5% de DHA. No trabalho de Bandarra et al. (2006), observaram-se diferentes graus de acúmulo de DHA nos lipídios de diferentes tecidos; os animais com 5,3 g de peso inicial, alimentados durante 12 semanas com uma dieta contendo 8,59% (dos AG totais) de DHA na ração, apresentaram 20,67% no músculo, 38,58% no fígado e 15,56% nas vísceras.

Rinchard et al. (2007), avaliaram a influência do tipo de lipídios e a deficiência de determinados ácidos graxos na sobrevivência, crescimento e composição de ácidos

graxos, de truta arco-íris de 1,8 g, utilizando quatro diferentes rações experimentais com diferentes fontes lipídicas, durante 8 semanas. Determinaram que os níveis de acúmulo de DHA, EPA e AA guardam relação com os níveis de inclusão na respectiva dieta, sendo pouco influenciados pela presença dos precursores ALA e LA. No caso do EPA e DHA unicamente os animais alimentados com uma formulação com inclusão de óleo de bacalhau (CLO) apresentaram níveis característicos do óleo de truta arco-íris, enquanto que os animais alimentados com uma dieta deficiente em AGPI (2,5% de AGPI como porcentagem dos AG totais) apresentaram altas taxas de mortalidade a partir da segunda semana do experimento e níveis de DHA, EPA e AA de 0,6, 0,3 e 0,1% respectivamente.

Com base nos estudos realizados por Rinchard et al, (2007) e Bandarra et al. (2006), pode-se supor que os baixos níveis de EPA e DHA observados no óleo de vísceras de truta arco-íris no presente trabalho tenham ocorrido por influencia do perfil lipídico da dieta, possivelmente com baixos níveis de EPA e DHA, e altos de LA e ácido oleico (AO). Como observou-se no trabalho de Rinchard et al. (2007), os parâmetros produtivos (crescimento, mortalidade) não são afetados de forma visível (sem uso de ferramentas estatísticas) quando a fonte alimentícia oferece níveis altos de LA e níveis moderados de ALA. Uma correção na dieta poderia com certa facilidade melhorar o perfil lipídico das trutas arco-íris provenientes do cultivo.

4.3. Avaliação dos óleos de truta arco-íris submetidos a refinamento

4.3.1. Análises físico-químicas exceto perfil de ácidos graxos dos óleos de truta arco-íris submetidos a refinamento

A caracterização geral dos óleos de truta arco-íris dos dois processos de extração após serem submetidos às etapas de degomagem, neutralização, lavagem, secagem e branqueamento corresponde às médias de todas as unidades experimentais de cada variável avaliada e estão apresentados na Tabela 10.

O índice de saponificação foi o único parâmetro onde a interação dos fatores E (tipo de extração E1 e E2) e P (ponto do processo de refino P1, P2, P3 e P4) foi não significativa ($p > 0,05$) pelo teste *F*. Na Tabela 11 são apresentados os níveis de

significância das médias das análises realizadas nos óleos de truta arco-íris submetidos a refino, assim como dos fatores E e P no IS (índice de saponificação).

Tabela 10- Parâmetros físico-químicos (exceto perfil de ácidos graxos) dos óleos de truta arco-íris submetidos aos processos de degomagem, neutralização, lavagem, secagem e branqueamento.

Variável	Unidade	Combinações E x P							
		E1P1	E1P2	E1P3	E1P4	E2P1	E2P2	E2P3	E2P4
AGL	%	3,02	3,76	1,47	1,46	4,79	4,79	1,25	1,16
IP	meq/Kg	0,94	1,09	2,26	1,97	7,38	4,75	2,93	3,40
II	cg/g	93,37	99,90	94,97	97,10	91,77	76,38	97,99	97,42
IS	mg/g	224,79	225,00	191,88	193,08	225,74	233,93	204,75	206,73
$d_{25}^{\circ C}$	g/cm^3	0,9138	0,9136	0,9120	0,9119	0,9117	0,9115	0,9118	0,9118
$d_{40}^{\circ C}$	g/cm^3	0,9036	0,9034	0,9018	0,9018	0,9015	0,9013	0,9016	0,9016
$n_{25}^{\circ C}$		1,4704	1,4709	1,4708	1,4709	1,4703	1,4704	1,4704	1,4704
$n_{40}^{\circ C}$		1,4658	1,4660	1,4655	1,4655	1,4655	1,4655	1,4652	1,4655
$\eta_{25}^{\circ C}$	mPa.s	55,5159	56,3789	53,6851	54,2375	53,9320	53,3318	54,9371	54,5610
$\eta_{40}^{\circ C}$	mPa.s	31,3738	31,1925	29,9419	30,3646	31,3197	29,8582	30,5263	30,5104

AGL = ácidos graxos livres; IP = índice de peróxidos; II = índice de iodo; IS = índice de saponificação; $d_{25}^{\circ C}$ e $d_{40}^{\circ C}$ = densidade a 25° e 40° C respectivamente; $n_{25}^{\circ C}$ e $n_{40}^{\circ C}$ = índice de refração a 25° e 40° C respectivamente; $\eta_{25}^{\circ C}$ e $\eta_{40}^{\circ C}$ = viscosidade a 25° e 40° C; E = níveis do fator E; P = níveis do fator P: E1P1 = extração termo-mecânica, óleo bruto; E1P2 = extração termo-mecânica, óleo degomado; E1P3 = extração termo-mecânica, óleo seco; E1P4 = extração termo-mecânica, óleo branqueado; E2P1 = extração por congelamento, óleo bruto; E2P2 = extração por congelamento, óleo degomado; E2P3 = extração por congelamento, óleo seco; E2P4 = extração por congelamento, óleo branqueado.

Na Tabela 12 apresenta-se o desdobramento das médias das combinações dos fatores de E e P (2x4), e na Tabela 13 apresentam-se as diferenças entre as médias dos fatores E e P separadamente (IS). Em ambos casos, as médias foram comparadas pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Os óleos degomados apresentam as maiores porcentagens de acidez e os óleos branqueados, as menores, tanto no óleo E1 quanto no E2. A evolução dos níveis de ácidos graxos livres foi favorável em ambos casos já que o processo de refinamento procura a redução da acidez. O óleo extraído por congelamento embora tenha uma

maior porcentagem inicial (óleo bruto) de AGL respondeu mais eficientemente ao refinamento, completando o processo com uma menor acidez (P4).

Tabela 11- Valores de p da interação ExP e do efeito dos fatores E (tipo de extração – E1, E2) e P (ponto do refino – P1, P2, P3 e P4) dos parâmetros físico-químicos dos óleos de truta arco-íris submetidos a refino, exceto perfil de ácidos graxos.

Variável	Valor de $p^{\dagger}$		
	ExP	E	P
AGL	<0,0001**	-	-
IP	<0,0001**	-	-
II	0,0001**	-	-
IS	0,094 ^{ns}	0,0001**	<0,0001**
$d_{25}^{\circ}\text{C}$	<0,0001**	-	-
$d_{40}^{\circ}\text{C}$	<0,0001**	-	-
$n_{25}^{\circ}\text{C}$	0,0331*	-	-
$n_{40}^{\circ}\text{C}$	0,0532*	-	-
$\eta_{25^{\circ}\text{C}}$	<,0001**	-	-
$\eta_{40^{\circ}\text{C}}$	<,0001**	-	-

[†] quando o valor de p de ExP é menor ou igual a 0,05 ($p \leq 0,05$ – teste F), indica que os fatores não atuam independentemente, portanto avaliam-se os níveis do fator E dentro de cada nível de P e vice-versa. Quando o valor de p de ExP é maior que 0,05 ($p > 0,05$ – teste F), indica que os fatores atuam de forma independente, portanto avalia-se o efeito de E e P separadamente; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; ^{ns} $p > 0,05$ pelo teste F ; AGL = ácidos graxos livres; IP = índice de peróxidos; II = índice de iodo; IS = índice de saponificação; $d_{25}^{\circ}\text{C}$ e $d_{40}^{\circ}\text{C}$ = densidade a 25° e 40° C; $n_{25^{\circ}\text{C}}$ e $n_{40^{\circ}\text{C}}$ = índice de refração a 25° e 40° C respectivamente; $\eta_{25^{\circ}\text{C}}$ e $\eta_{40^{\circ}\text{C}}$ = viscosidade a 25° e 40° C respectivamente.

O maior índice de peróxido, no caso do grupo E1, foi determinado nos óleos seco e branqueado. No grupo E2, ao contrário do E1, o maior valor de IP foi determinado no óleo bruto, seguido pelo óleo degomado; o menor valor ocorreu no óleo seco e branqueado. Dentro de cada ponto do processo, os óleos: bruto (P1), degomado (P2) e branqueado (P3) no grupo E2, são maiores que em E1. O índice de peróxidos não apresentou uma evolução favorável no grupo E1, onde teve um incremento significativo ao comparar o valor inicial (óleo bruto – E1P1) com o valor final (óleo branqueado – E1P4). No óleo E2, o valor inicial (E2P1) é maior que no E1, mas no final, o IP do óleo branqueado (E2P4) apresentou uma redução, o que indica que o processo foi eficiente, pese a isto, nos óleos branqueados, o IP do E1 é menor que o do E2, o que estaria relacionado diretamente com os respectivos valores iniciais do IP nos óleos brutos.

Tabela 12- Desdobramento das médias das combinações entre os níveis de E (E1 e E2) e os níveis de P (P1, P2, P3 e P4) nas variáveis em que o efeito de ExP foi significativo ($p < 0,05$). Resultados dos parâmetros físico-químicos avaliados nos óleos de truta arco-íris submetidos a refino (exceto perfil de ácidos graxos).

	P1	P2	P3	P4
AGL (%)				
E1	$3,02 \pm 0,13^{B, b}$	$3,76 \pm 0,07^{A, b}$	$1,47 \pm 0,09^{C, a}$	$1,46 \pm 0,13^{C, a}$
E2	$4,79 \pm 0,07^{A, a}$	$4,79 \pm 0,08^{A, a}$	$1,25 \pm 0,06^{B, b}$	$1,16 \pm 0,02^{B, b}$
IP (meq/Kg)				
E1	$0,94 \pm 0,17^{B, b}$	$1,09 \pm 0,20^{B, b}$	$2,26 \pm 0,62^{A, a}$	$1,97 \pm 0,25^{A, b}$
E2	$7,38 \pm 0,31^{A, a}$	$4,75 \pm 0,48^{B, a}$	$2,93 \pm 0,51^{C, a}$	$3,40 \pm 0,35^{C, a}$
II (cg/g)				
E1	$93,37 \pm 3,13^{A, a}$	$99,90 \pm 0,78^{A, a}$	$94,97 \pm 0,92^{A, a}$	$97,10 \pm 4,10^{A, a}$
E2	$91,77 \pm 3,09^{A, a}$	$76,38 \pm 4,35^{B, b}$	$97,99 \pm 8,03^{A, a}$	$97,42 \pm 2,73^{A, a}$
$d_{25}^{oC} (g/cm^3)^{\dagger}$				
E1	$0,9138^{A, a}$	$0,9136^{B, a}$	$0,9120^{C, a}$	$0,9119^{D, a}$
E2	$0,9117^{C, b}$	$0,9115^{D, b}$	$0,9118^{A, b}$	$0,9118^{B, b}$
$d_{40}^{oC} (g/cm^3)^{\dagger}$				
E1	$0,9036^{A, a}$	$0,9034^{B, a}$	$0,9018^{C, a}$	$0,9018^{D, a}$
E2	$0,9015^{C, b}$	$0,9013^{D, b}$	$0,9016^{A, b}$	$0,9016^{B, b}$
n_{25}^{oC}				
E1	$1,4704 \pm 0,0000^{B, a}$	$1,4709 \pm 0,0000^{A, a}$	$1,4708 \pm 0,0002^{A, a}$	$1,4709 \pm 0,0000^{A, a}$
E2	$1,4703 \pm 0,0002^{A, a}$	$1,4704 \pm 0,0000^{A, b}$	$1,4704 \pm 0,0000^{A, b}$	$1,4704 \pm 0,0000^{A, b}$
n_{40}^{oC}				
E1	$1,4658 \pm 0,0003^{A, a}$	$1,4660 \pm 0,0000^{A, a}$	$1,4655 \pm 0,0000^{B, a}$	$1,4655 \pm 0,0000^{B, a}$
E2	$1,4655 \pm 0,0000^{A, b}$	$1,4655 \pm 0,0000^{A, b}$	$1,4652 \pm 0,0003^{B, b}$	$1,4655 \pm 0,0000^{A, a}$
$\eta_{25oC} (mPa.s)$				
E1	$55,5159 \pm 0,4927^{B, a}$	$56,3789 \pm 0,1839^{A, a}$	$53,6851 \pm 0,2836^{C, b}$	$54,2375 \pm 0,2027^{C, a}$
E2	$53,9320 \pm 0,3883^{BC, b}$	$53,3318 \pm 0,1594^{C, b}$	$54,9371 \pm 0,5064^{A, a}$	$54,5610 \pm 0,2655^{AB, a}$
$\eta_{40oC} (mPa.s)$				
E1	$31,3738 \pm 0,3146^{A, a}$	$31,1925 \pm 0,1736^{A, a}$	$29,9419 \pm 0,1442^{B, a}$	$30,3646 \pm 0,0919^{B, a}$
E2	$31,3197 \pm 0,5610^{A, a}$	$29,8582 \pm 0,0869^{C, b}$	$30,5263 \pm 0,0850^{B, a}$	$30,5104 \pm 0,1107^{B, a}$

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$ - Tukey) dos níveis de P dentro de cada nível de E. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$ - Tukey) dos níveis de E dentro de cada nível de P.

Embora ocorram diferenças entre os IP dos óleos branqueados ($p < 0,05$), que neste caso, constituem o resultado final do processo de refinamento, estes dois valores encontram-se dentro do parâmetro estabelecido pelo *Codex Alimentarius* (1981) de, no máximo, 10 meq de oxigênio ativo/Kg de óleo.

O II no óleo degomado foi maior E1 que no E2 ($p < 0,05$). A variação do índice de iodo no E2P2 poderia dever-se a algum tipo de erro sistemático durante a pesagem das amostras. Exetando o caso da combinação E2P2, observou-se que o II não varia significativamente ao ser processado.

A 25° C, dentro do fator E1, as densidades de P1, P2, P3 e P4 apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) (sendo P1 a maior). Dentro de E2 também existiu diferença significativa entre os óleos dos quatro processos na ordem P3, P4, P1 e P2 (sendo P3 o maior). Dentro de cada processo, observou-se que em todos os casos o óleo E1 apresentou densidades maiores ($p < 0,01$), o que poderia estar relacionado com maior conteúdo de partículas ou materiais em suspensão, já que o índice de refração também foi maior no grupo E1 (na maioria de combinações). A 40° C o comportamento da densidade foi o mesmo que a 25 °C.

O índice de refração a 25 °C do grupo E1 foi menor no óleo bruto (P1). Nos processos P2, P3 e P4 os óleos do grupo E1 foram maiores. Dentro de E1 determinou-se que os índices de refração a 40°C do óleo bruto e degomado, foram maiores que no óleo seco e branqueado. Dentro de E2, o óleo seco teve o menor índice de refração.

A viscosidade a 25 °C, dentro de E1 não apresentou diferença significativa entre os óleos seco e branqueado. No E2, o óleo seco e o branqueado, tiveram a maior viscosidade. Dentro de cada processo, E1 foi maior que E2 no P1 e P2; menor que E2 no P3 e sem diferença significativa no P4.

Dentro de E1, a viscosidade de P1 e P4 a 40 °C foi maior que P3 e P4. Dentro de E2, o P1 teve a maior viscosidade, seguida por P3 e P4, enquanto que P2 apresentou a menor. Dentro dos níveis de P, só no P2, E1 teve maior viscosidade que E2.

O índice de saponificação não apresentou interação entre os fatores E e P ($p > 0,05$). Na avaliação dos fatores separadamente, no grupo E1 foi menor que no E2. Para P, os óleos brutos e degomados apresentaram IS sem diferença entre si, porém foram maiores que os dos óleos secos e branqueados. A evolução do índice de

saponificação, independente do tipo de extração, sofreu uma redução conforme foi submetido à sequência de processos do refinamento.

Tabela 13- Desdobramento das médias das combinações entre os níveis de E (E1 e E2) e os níveis de P (P1, P2, P3 e P4) onde o efeito de ExP foi não significativo ($p>0,05$).

		P1	P2	P3	P4
		IS (mg/g)			
		a	a	b	b
E1	B	224,79 ± 5,90	225,00 ± 1,17	191,88 ± 2,75	193,08 ± 2,45
E2	A	225,74 ± 7,68	233,93 ± 1,82	204,75 ± 6,16	206,73 ± 3,24

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p<0,05$ - Tukey) entre os níveis de E. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p<0,05$ - Tukey) entre os níveis de P.

Nos óleos de truta arco-íris, o comportamento das variáveis em resposta aos diferentes processos de refino, não ocorreu como no caso dos óleos brutos das três espécies avaliadas no ponto anterior, possivelmente por serem óleos provenientes de animais da mesma espécie e das mesmas condições de criação. Uma situação comparável, ocorreu no experimento realizado por Immanuel et al. (2009) que avaliou características físico-químicas de óleos de fígados da espécie *Sufflamen capistratus*, extraídos por diferentes métodos. Observou-se variação significativa da densidade em função do método de extração, mas nenhuma variação no índice de refração o que teria relação com o fato de serem óleos provenientes da mesma fonte.

4.3.2. Avaliação dos perfis de ácidos graxos dos óleos de truta arco-íris submetidos a refinamento.

Na Tabela 14, são apresentados os perfis de ácidos graxos dos óleos brutos e branqueados extraídos pelos processos E1 e E2, expressos como porcentagem dos ácidos graxos totais.

Na Tabela 15 se apresentam os valores de p da interação ExP, assim como dos fatores E e P quando o valor de p de ExP é menor ou igual a 0,05, referente aos ácidos graxos identificados nos óleos de truta arco-íris submetidos a refinamento, assim como das diferentes somatórias e relações.

O desdobramento das combinações de entre E1 e E2, e P1 e P4 é apresentado na Tabela 16.

Dentro do fator E1, observa-se uma redução na relação n-6/n-3 e AA/EPA, e um aumento na somatória de AGAI, ácidos graxos com configuração *trans* e ácidos graxos n-3. Dentro do fator E2, observou-se que a somatória de AGAI, ácidos graxos com configuração *trans*, somatória de ácidos graxos n-3, n-6 e as relações n-6/n-3 e AA/EPA permaneceram sem modificação (Tabela 16).

Dentro do fator P1 (óleo bruto), observa-se que E1 (extração por processo termomecânico) apresenta uma maior somatória de ácidos graxos com configuração *trans*, uma maior relação n-6/n-3 e uma maior relação AA/EPA, enquanto que o óleo bruto E2 (extração por congelamento) apresentou maiores somatórias de AGAI e n-3. Dentro do fator P2 (óleos branqueados) observa-se que a somatória de ácidos graxos com configuração *trans*, assim como a relação AA/EPA foi maior no E1 (Tabela 16).

Dos ácidos graxos que não apresentaram efeito significativo ($p > 0,05$) (Tabela 17) da interação ExP, destacam-se no óleo E1 maiores teores de 18:2 n-6 e 20:4 n-6, enquanto que no óleo E2 são maiores as porcentagens de 14:1 n-9, 15:0, 16:1 n-7, 20:2 n-6 e 20:5 n-3. Nos óleos brutos (P1) a porcentagem de 20:4 n-6 é maior e nos branqueados (P4) é maior a porcentagem de 11:0.

Tabela 14- Perfil de ácidos graxos (porcentagem dos AG totais) dos óleos de truta arco-íris submetidos a refino. Médias das combinações dos fatores de E (E1, E2) com os fatores de P: P1 e P4 (óleos brutos e branqueados respectivamente).

Ácidos Graxos	E1P1	E1P4	E2P1	E2P4
C11:0	0,02 ± 0,00	0,05 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,02
C12:0	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00
C14:0	0,75 ± 0,06	1,18 ± 0,03	1,25 ± 0,03	1,28 ± 0,05
C14:1n-9	0,06 ± 0,00	0,07 ± 0,00	0,07 ± 0,00	0,07 ± 0,00
C15:0	0,05 ± 0,03	0,08 ± 0,00	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,00
C16:0	21,09 ± 0,33	20,82 ± 0,20	20,99 ± 0,07	21,18 ± 0,22
C16:1n-7	6,44 ± 0,18	6,36 ± 0,07	6,98 ± 0,07	7,10 ± 0,10
C17:0	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,00	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,00
C18:0	6,08 ± 0,19	5,53 ± 0,12	5,62 ± 0,10	5,51 ± 0,13
C18:1n-9t	0,26 ± 0,06	0,38 ± 0,01	<i>Nd</i>	<i>nd</i>
C18:1n-9c	38,33 ± 1,43	38,79 ± 0,63	38,94 ± 0,26	39,33 ± 0,39
C18:2n-6t	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,00
C18:2n-6c	21,02 ± 0,97	20,16 ± 0,33	19,41 ± 0,13	19,14 ± 0,33
C18:3n-6	0,80 ± 0,03	0,84 ± 0,01	0,73 ± 0,02	0,71 ± 0,01
C20:1n-9	0,95 ± 0,03	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	<i>nd</i>
C18:3n-3	0,52 ± 0,02	0,85 ± 0,01	0,76 ± 0,00	0,75 ± 0,01
C21:0	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	<i>nd</i>
C20:2n-6	1,62 ± 0,03	1,52 ± 0,08	1,70 ± 0,05	1,69 ± 0,07
C20:3n-6	<i>nd</i>	1,39 ± 0,06	1,38 ± 0,03	1,34 ± 0,06
C22:1n-9	<i>nd</i>	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00	<i>nd</i>
C20:4n-6	1,18 ± 0,03	1,09 ± 0,04	1,10 ± 0,04	1,01 ± 0,03
C20:5n-3	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,09 ± 0,03	0,07 ± 0,00
C22:6n-3	0,64 ± 0,03	0,62 ± 0,06	0,66 ± 0,20	0,55 ± 0,05
ΣAGS	28,15 ± 0,42	27,82 ± 0,27	28,15 ± 0,09	28,24 ± 0,20
ΣAGM	45,79 ± 1,22	45,26 ± 0,61	46,02 ± 0,29	46,50 ± 0,46
ΣAGPI	25,79 ± 1,00	26,51 ± 0,34	25,82 ± 0,21	25,26 ± 0,54
ΣAGAI	1,84 ± 0,04	3,14 ± 0,16	3,22 ± 0,29	2,97 ± 0,14
ΣTRANS	0,27 ± 0,06	0,41 ± 0,00	0,02 ± 0,00	<i>nd</i>
Σn-3	1,17 ± 0,01	1,50 ± 0,05	1,50 ± 0,23	1,37 ± 0,06
Σn-6	24,62 ± 1,00	25,00 ± 0,36	24,31 ± 0,07	23,90 ± 0,49
Σn-6/Σn-3	20,96 ± 0,77	16,67 ± 0,67	16,41 ± 2,37	17,49 ± 0,48
AA/EPA+DHA	1,79 ± 0,08	1,67 ± 0,08	1,55 ± 0,37	1,64 ± 0,08
AA/EPA	60,19 ± 4,39	28,72 ± 3,88	13,69 ± 3,67	15,02 ± 0,55
AA/DHA	1,84 ± 0,09	1,78 ± 0,10	1,75 ± 0,41	1,85 ± 0,11

Ácidos graxos como médias ± desvio padrão de três repetições; t = *trans*; c = *cis* (se a configuração não estiver especificada, o ácido graxo considera-se *cis*); *nd* = não detectado; letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$ – teste Tukey); ΣAGS, ΣAGM, ΣAGPI, ΣAGAI, Σn-3, Σn-6 = somatória dos ácidos graxos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, altamente insaturados, n-3 e n-6 respectivamente; AA/EPA+DHA = relação entre AA e a somatória de EPA+DHA; AA/EPA e AA/DHA = relação entre AA e EPA ou DHA respectivamente.

Tabela 15- Valores de *p* da interação ExP e do efeito dos fatores E (tipo de extração – E1, E2) e P (ponto do refino – P1, P4) do perfil de ácidos graxos.

Ácido Graxo	Valor de <i>p</i> [†]		
	ExP	E	P
C11:0	0,0835 ^{ns}	0,105 ^{ns}	0,0034**
C12:0	0,6112 ^{ns}	0,0865 ^{ns}	0,8194 ^{ns}
C14:0	<,0001**	-	-
C14:1n-9	0,9792 ^{ns}	0,0029**	0,2239 ^{ns}
C15:0	0,0933 ^{ns}	0,0447*	0,1613 ^{ns}
C16:0	0,1125 ^{ns}	0,3406 ^{ns}	0,7268 ^{ns}
C16:1n-7	0,1813 ^{ns}	<,0001**	0,7806 ^{ns}
C17:0	0,8922 ^{ns}	0,6562 ^{ns}	0,0993 ^{ns}
C18:0	0,0234*	-	-
C18:1n-9t	0,0107*	-	-
C18:1n-9c	0,9312 ^{ns}	0,2593 ^{ns}	0,3921 ^{ns}
C18:2n-6t	<,0001**	-	-
C18:2n-6c	0,365 ^{ns}	0,003**	0,1055 ^{ns}
C18:3n-6	0,0251*	-	-
C20:1n-9	<,0001**	-	-
C18:3n-3	<,0001**	-	-
C21:0	<,0001**	-	-
C20:2n-6	0,2729 ^{ns}	0,008**	0,1597 ^{ns}
C20:3n-6	<,0001**	-	-
C22:1n-9	<,0001**	-	-
C20:4n-6	0,9376 ^{ns}	0,007**	0,0048**
C20:5n-3	0,0746 ^{ns}	0,0007**	0,9677 ^{ns}
C22:6n-3	0,5297 ^{ns}	0,7164 ^{ns}	0,3317 ^{ns}
ΣAGS	0,2257 ^{ns}	0,2335 ^{ns}	0,4842 ^{ns}
ΣAGM	0,272 ^{ns}	0,123 ^{ns}	0,9621 ^{ns}
ΣAGPI	0,1055 ^{ns}	0,1191 ^{ns}	0,8225 ^{ns}
ΣAGAI	<,0001**	-	-
ΣTRANS	0,0035**	-	-
Σn-3	0,0117*	-	-
Σn-6	0,2655 ^{ns}	0,0697 ^{ns}	0,9663 ^{ns}
Σn-6/Σn-3	0,0076**	-	-
AA/EPA+DHA	0,3945 ^{ns}	0,2836 ^{ns}	0,9126 ^{ns}
AA/EPA	<,0001**	-	-
AA/DHA	0,5537 ^{ns}	0,9383 ^{ns}	0,9143 ^{ns}

[†] se valor de *p* de ExP é menor que 0,05 (*p*<0,05), os fatores não atuam independentemente, portanto avaliam-se os níveis do fator E dentro de cada nível de P e vice-versa. Quando o valor de *p* de ExP é maior que 0,05 (*p*>0,05), indica que os fatores atuam de forma independente, portanto avalia-se o efeito de E e P por separado; ** *p*<0,01; * *p*<0,05; ^{ns} *p*>0,05; t = *trans*; c = *cis* (se a configuração não estiver especificada, o ácido graxo considera-se *cis*).

Tabela 16- Desdobramento das médias das combinações entre os níveis de E (E1 e E2) e os níveis de P (P1 e P4) onde o efeito de ExP foi significativo ($p < 0,05$). Resultados dos perfis de ácidos graxos dos óleos de truta arco-íris submetidos a refino.

Ácido graxo		P1	P4
C14:0	E1	$0,75 \pm 0,06^{B, b}$	$1,18 \pm 0,03^{A, a}$
	E2	$1,25 \pm 0,03^{A, a}$	$1,28 \pm 0,05^{A, a}$
C18:0	E1	$6,08 \pm 0,19^{A, a}$	$5,53 \pm 0,12^{B, a}$
	E2	$5,62 \pm 0,10^{A, b}$	$5,51 \pm 0,13^{A, a}$
C18:1n-9t	E1	$0,26 \pm 0,06^{B, a}$	$0,38 \pm 0,01^{A, a}$
	E2	$0,00^{A, b}$	$0,00^{A, b}$
C18:2n-6t	E1	$0,01 \pm 0,00^{B, b}$	$0,02 \pm 0,00^{A, a}$
	E2	$0,02 \pm 0,00^{A, a}$	$0,00^{B, b}$
C18:3n-6	E1	$0,80 \pm 0,03^{A, a}$	$0,84 \pm 0,01^{A, a}$
	E2	$0,73 \pm 0,02^{A, b}$	$0,71 \pm 0,01^{A, b}$
C20:1n-9	E1	$0,95 \pm 0,03^{A, a}$	$0,00^{B, a}$
	E2	$0,00^{A, b}$	$0,00^{A, a}$
C18:3n-3	E1	$0,52 \pm 0,02^{B, b}$	$0,85 \pm 0,01^{A, a}$
	E2	$0,76 \pm 0,00^{A, a}$	$0,75 \pm 0,01^{A, b}$
C21:0	E1	$0,01 \pm 0,00^{B, b}$	$0,02 \pm 0,00^{A, a}$
	E2	$0,02 \pm 0,00^{A, a}$	$0,00^{B, b}$
C20:3n-6	E1	$0,00^{B, b}$	$1,39 \pm 0,06^{A, a}$
	E2	$1,38 \pm 0,03^{A, a}$	$1,34 \pm 0,06^{A, a}$
C22:1n-9	E1	$0,00^{B, b}$	$0,04 \pm 0,00^{A, a}$
	E2	$0,03 \pm 0,00^{A, a}$	$0,00^{B, b}$
Σ AGAI	E1	$1,84 \pm 0,04^{B, b}$	$3,14 \pm 0,16^{A, a}$
	E2	$3,22 \pm 0,29^{A, a}$	$2,97 \pm 0,14^{A, a}$
Σ TRANS	E1	$0,27 \pm 0,06^{B, a}$	$0,41 \pm 0,00^{A, a}$
	E2	$0,02 \pm 0,00^{A, b}$	$0,00^{A, b}$
Σ n-3	E1	$1,17 \pm 0,01^{B, b}$	$1,50 \pm 0,05^{A, a}$
	E2	$1,50 \pm 0,23^{A, a}$	$1,37 \pm 0,06^{A, a}$
n-6/n-3	E1	$20,96 \pm 0,77^{A, a}$	$16,67 \pm 0,67^{B, a}$
	E2	$16,41 \pm 2,37^{A, b}$	$17,49 \pm 0,48^{A, a}$
AA/EPA	E1	$60,19 \pm 4,39^{A, a}$	$28,72 \pm 3,88^{B, a}$
	E2	$13,69 \pm 3,67^{A, b}$	$15,02 \pm 0,55^{A, b}$

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$ - Tukey) dos níveis de P dentro de cada nível de E. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$ - Tukey) dos níveis de E dentro de cada nível de P.

Tabela 17- Médias das combinações entre os níveis de E (E1 e E2) e os níveis de P (P1 e P4) onde o efeito de ExP foi não significativo ($p>0,05$). Resultados dos perfis de ácidos graxos dos óleos de truta arco-íris submetidos a refino.

Ácido graxo				P1	P4	Ácido graxo				P1	P4
				b	a					a	b
C11:0	E1	ns		0,02 ± 0,00	0,05 ± 0,01	C20:4n-6	E1	A		1,18 ± 0,03	1,09 ± 0,04
	E2	ns		0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,02		E2	B		1,10 ± 0,04	1,01 ± 0,03
C12:0	E1	ns		0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,01	C20:5n-3	E1	B		0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,00
	E2	ns		0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00		E2	A		0,09 ± 0,03	0,07 ± 0,00
C14:1n-9	E1	B		0,06 ± 0,00	0,07 ± 0,00	C22:6n-3	E1	ns		0,64 ± 0,03	0,62 ± 0,06
	E2	A		0,07 ± 0,00	0,07 ± 0,00		E2	ns		0,66 ± 0,20	0,55 ± 0,05
C15:0	E1	B		0,05 ± 0,03	0,08 ± 0,00	AGS	E1	ns		28,15 ± 0,42	27,82 ± 0,27
	E2	A		0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,00		E2	ns		28,15 ± 0,09	28,24 ± 0,20
C16:0	E1	ns		21,09 ± 0,33	20,82 ± 0,20	AGM	E1	ns		45,79 ± 1,22	45,26 ± 0,61
	E2	ns		20,99 ± 0,07	21,18 ± 0,22		E2	ns		46,02 ± 0,29	46,50 ± 0,46
C16:1n-7	E1	B		6,44 ± 0,18	6,36 ± 0,07	AGPI	E1	ns		25,79 ± 1,00	26,51 ± 0,34
	E2	A		6,98 ± 0,07	7,10 ± 0,10		E2	ns		25,82 ± 0,21	25,26 ± 0,54
C17:0	E1	ns		0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,00	n-6	E1	ns		24,62 ± 1,00	25,00 ± 0,36
	E2	ns		0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,00		E2	ns		24,31 ± 0,07	23,90 ± 0,49
C18:1n-9c	E1	ns		38,33 ± 1,43	38,79 ± 0,63	AA/EPA+DHA	E1	ns		1,79 ± 0,08	1,67 ± 0,08
	E2	ns		38,94 ± 0,26	39,33 ± 0,39		E2	ns		1,55 ± 0,37	1,64 ± 0,08
C18:2n-6c	E1	A		21,02 ± 0,97	20,16 ± 0,33	AA/DHA	E1	ns		1,84 ± 0,09	1,78 ± 0,10
	E2	B		19,41 ± 0,13	19,14 ± 0,33		E2	ns		1,75 ± 0,41	1,85 ± 0,11
C20:2n-6	E1	B		1,62 ± 0,03	1,52 ± 0,08						
	E2	A		1,70 ± 0,05	1,69 ± 0,07						

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p<0,05$ - Tukey) entre os níveis de E. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p<0,05$ - Tukey) entre os níveis de P.

Os teores (% dos AG totais) dos ácidos 12:0, 16:0, 17:0, 18:1 n-9 *cis* e 22:6 n-3 (DHA) assim como a somatória de ácidos graxos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados e n-6 e as relações AA/(EPA+DHA) e AA/DHA não manifestaram efeito da interação ExP, nem dos fatores E e P separadamente ($p<0,05$), o que significa que seus níveis não foram alterados pelos processos de extração ou refinamento.

Sathivel et al. (2003) realizaram o refinamento de óleo de *catfish* mediante os processos de degomagem, neutralização, branqueamento e desodorização. (Crexi et al., 2010) refinou óleos de carpa (*Cyprinus carpio*) mediante os processos de degomagem, neutralização, branqueamento, winterização (fracionamento) e desodorização. O óleo bruto de catfish apresentou uma % de AGL de $4,53 \pm 0,25$ no experimento de Sathivel et al. (2003), enquanto que no experimento de Crexi et al. (2010) a % de AGL foi de $3,35 \pm 0,02$ para óleos separados no processo de elaboração de farinha e $6,63 \pm 0,01$ para óleo obtido por silagem ácida a partir de resíduos de carpa. A redução dos ácidos graxos livres no primeiro caso (SATHIVEL et al., 2003) não foi eficiente, apresentando valores de % AGL no óleo branqueado de $3,80 \pm 0,01\%$, (e $3,25 \pm 0,1\%$ no óleo desodorizado) o que poderia estar relacionado com uma inadequada determinação da quantidade de hidróxido de sódio utilizada no processo de neutralização. No experimento com óleo de carpa (CREXI et al., 2010), a acidez foi eficazmente diminuída, amostrando nos óleos branqueados valores ao redor de 0,45%, e nos óleos desodorizados valores de aproximadamente 0,09%. No trabalho de Crexi et al. (2010), o índice de peróxidos apresentou uma diminuição considerável, atingindo os menores valores nos óleos branqueados e winterizados, e um posterior aumento, nos óleos desodorizados. Esta evolução possui certa semelhança com a observada nos óleos de truta E2 (extraídos com congelamento), nos quais os menores IP alcançaram-se nos óleos secos (neutralizados). Nos branqueados, no óleo E1 (extração termomecânica) a evolução do IP aconteceu de maneira inversa, apresentando os menores valores nas etapas iniciais, e sofrendo um acréscimo após a secagem e branqueamento, sendo que os IP dos óleos de truta arco-íris E1 e carpa, branqueados, tiveram valores aproximados entre si ($1,97 \pm 0,25$ e $1,79$ respectivamente).

Em resumo, o óleo extraído por congelamento (E2) apresentou menores somatórias de ácidos graxos com configuração *trans*, e menores relações AA/EPA que o óleo extraído pelo processo termomecânico. As variações na composição dos óleos influenciadas pelo refino não apresentaram um padrão claro. Em geral, observou-se que o número de ácidos graxos que apresentou diferença significativa entre P1 (óleo bruto) e P4 (óleo branqueado) foi maior no óleo E1 que no óleo E2. No trabalho de Sathivel et al. (2003), observa-se uma diminuição progressiva da porcentagem de DHA

e AA, no óleo de vísceras de *catfish* (bagre do canal) ao ser submetido à sequência de procedimentos de refino; observam-se também diferentes comportamentos dos demais ácidos graxos avaliados sem um padrão claro.

5. CONCLUSÕES

A extração por congelamento lento de óleo de vísceras de peixe é eficiente nas três espécies de peixes de água doce avaliadas neste trabalho (truta arco-íris - *Oncorhynchus mykiss*; pacu - *Piaractus mesopotamicus* e curimatá - *Prochilodus spp.*).

Os parâmetros físico-químicos avaliados nos óleos brutos de vísceras de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e curimatá (*Prochilodus spp.*) extraídos por congelamento encontram-se dentro das características e propriedades físicas referidas para óleos brutos de peixe.

O perfil de ácidos graxos do óleo de vísceras de curimatá apresentou maiores teores de AGPI n-3 e, portanto, melhor qualidade nutricional que os óleos de vísceras de truta arco-íris e de pacu, avaliados neste trabalho.

O teor de ácidos graxos livres de óleos branqueados de truta arco-íris encontrou-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente para complementos nutricionais de óleos de fígado de bacalhau e cação. Além disso, o índice de peróxidos está de acordo com as recomendações do *Codex Alimentarius* para óleos e gorduras comestíveis não cobertos por padrões individuais.

O perfil de ácidos graxos do óleo de truta arco-íris extraído por congelamento apresenta melhor qualidade nutricional, que o extraído por processo termo-mecânico, devido principalmente ao menor teor de ácidos graxos com configuração *trans*.

As vísceras de peixes de água doce constituem uma rica fonte de lipídeos cuja utilização deve ser definida em função do perfil lipídico.

6. RECOMENDAÇÕES - PERSPECTIVAS

Avaliar o potencial da extração de lipídios por congelamento em outras matérias primas, em comparação com a técnica de extração a frio segundo a metodologia de Bligh and Dyer (1959).

Estudar as relações entre os perfis de ácidos graxos das rações e os produtos da truticultura no Brasil, já que, como neste caso, o potencial nutricional desta espécie poderia estar pouco explorado ao utilizar rações de baixa qualidade lipídica.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGGELOUSIS, G.; LAZOS, E. S. Fatty Acid Composition of the Lipids from eight freshwater fish species from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 4, p. 68-76, 1991.
- AHLGREN, G.; BLOMQVIST, P.; BORERG, M.; GUSTAFFSON, I. B. Fatty acid content of the dorsal muscle – an indicator of fat quality in freshwater fish. **Journal of Fish Biology**, v. 45, p. 131 – 157, 1993.
- AKPINAR, M. A.; GÖRGÜN, S.; AKPINAR, A. E. A comparative analysis of the fatty acid profiles in the liver and muscles of male and female *Salmo trutta macrostigma*. **Food Chemistry Libby**, v. 112, p. 6–8, 2008.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (Brasil). Portaria nº 19, de 15 de março de 1995. Norma Técnica Para Complemento Alimentar. Brasília: 16 de março de 1995. Disponível na internet: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/19_95.htm#>. Acesso em: 07 fev. 2011.
- Association of Analytical Communities (AOAC). **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18.ed. Gaithersburg/MD: AOAC International, 2005.
- ARONSON, W. J.; GLASPY, J. A.; REDDY, S. T.; REESE, D.; HEBER, D.; BAGGA, D. Modulation of omega-3/omega-6 polyunsaturated ratios with dietary fish oils in men with prostate cancer. **Urology**, v. 58, p. 283–288, 2001.
- ARVANITOYANNIS, I. S.; KASSAVETI, A. Fish Waste Management: Treatment Methods and Potential Uses of Treated Waste. In: ARVANITOYANNIS, I. S. **Waste Management for the Food Industries**. Amsterdam: Elsevier, 2008. Cap. 14, p. 861 – 937.
- AVERINA, E. S.; KUTYREV, I. A. Perspectives of using of marine and freshwater hydrobionts oils for development of drug delivery systems. **Biotechnology Advances**, 2011. Doi:10.1016/j.biotechadv.2011.01.009.
- BANDARRA, N. M.; NUNES, M. L.; ANDRADE, A. M.; PRATES, J. A. M.; PEREIRA, S.; MONTEIRO, M.; REMA, P.; VALENTE, L. M. P. Effect of dietary conjugated linoleic acid on muscle, liver and visceral lipid deposition in rainbow trout juveniles (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 254, p. 496–505, 2006.
- BARBER, M. D.. Cancer Cachexia and Its treatment with fish-oil-enriched nutritional supplementation. **Nutrition**, v. 17, p. 751–755, 2001.
- BERBERT, A. A.; KONDO, C. R. M.; ALMENDRA, C. L.; MATSUO, T.; DICH, I. Supplementation of fish oil and olive oil in patients with rheumatoid arthritis. **Nutrition**, v. 21, p. 131–136, 2004.

BLIGH, E. G; DYER, W. J. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911-917, 1959.

BRENNAN, J. T.; SALEM JR., N.; SINCLAIR, A. J.; CUNNANE, S. C. α -Linolenic Acid Supplementation and Conversion to n-3 Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids in Humans. For the International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 80, p. 85-91, 2009.

CABALLERO, M. J.; OBACH, A.; ROSENBLUND, G.; MONTERO, D.; GISVOLD, M.; IZQUIERDO, M. S. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 214, p. 253-271, 2002.

CALDER, P. C. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 75, p. 197-202, 2006.

_____. Immunomodulation by omega-3 fatty acids. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 77, p. 327-335, 2007.

CALON, F.; COLE, G. Neuroprotective action of omega-3 polyunsaturated fatty acids against neurodegenerative diseases: Evidence from animal studies. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 77, p. 287-293, 2007.

CARRERO, J. J.; MARTÍN-BAUTISTA, E.; BARÓ, L.; FONOLLÁ, J.; JIMÉNEZ, J.; BOZA, J. J.; LÓPEZ-HUERTAS, E. Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. **Nutrición Hospitalaria**, v. 20, p. 63-69, 2005.

CHATTIPAKORN, N.; SETTAKORN, J.; PETSOPHONSAKUL, P.; SUWANNAHOI, P.; MAHAKRANUKRAUH, P.; SRICHAIRATANAKOOL, S.; CHATTIPAKORN, S. C. Cardiac mortality is associated with low levels of omega-3 and omega-6 fatty acids in the heart of cadavers with a history of coronary heart disease. **Nutrition Research**, v. 29, p. 696-704, 2009.

CODEX ALIMENTARIUS. **Codex Standard for Edible Fats and Oils Not Covered By Individual Standards**. FAO/WHO Food Standards. Codex Stan 19 – 1981.

CREXI, V. T.; MONTE, M. L.; SOARES, L. A. S.; PINTO L. A. A. Production and refinement of oil from carp (*Cyprinus carpio*) viscera. **Food Chemistry**, v. 119, p. 945-950, 2010.

CUNDIFF, D. K.; LANOU, A. J.; NIGG, C. R. Relation of Omega-3 Fatty Acid Intake to Other Dietary Factors Known to Reduce Coronary Heart Disease Risk. **American Journal of Cardiology**, v. 99, p. 1230-1233, 2007.

DA CONCEIÇÃO, L. R. V.; DA COSTA, C. E. F.; DA ROCHA FILHO, G. N.; ZAMIAN, J. R. Obtaining and characterization of biodiesel from jupati (*Raphia taedigera Mart.*) oil. **Fuel**, v. 90, p. 2945–2949, 2011.

DA SILVA, C. Desempenho, **Enzimologia e Metabolismo de juvenis de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) Alimentados com Dietas Peletizadas e Extrusadas com Níveis Médio e Alto de Lipídeos e Carboidratos**. 2008. 100f. Tese (Doutorado) - Centro de Ciências Fisiológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008.

DAS, U. N. Folic acid and polyunsaturated fatty acids improve cognitive function and prevent depression, dementia, and Alzheimer's disease - But how and why? **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 78, p. 11–19, 2008.

DE PROENÇA, C.; CARNEIRO, D.; RIGOLINO, M.; TAKAHASHI, N.; TSUKAMOTO, R.; CARNEIRO, T. e TABATA, Y. **Plataforma do Agronegócio da Truticultura**. Departamento de Pesca e Aqüicultura do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (DPA/MAPA). Grupo Gestor do Programa Nacional de Apoio ao Desenvolvimento da Truticultura. Brasília, 2001.

DIRECÇÃO-GERAL DAS PESCAS E AQUICULTURA. Portugal (DGPA). **Guia de espécies**. Informação sumária das espécies para as quais é obrigatório o levantamento de informação sobre capturas, esforço de pesca e rejeições, no âmbito do programa mínimo (Regulamento [CE] N.º 1581/2004 da Comissão) para a Zona IXa do CIEM. Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente da Universidade do Algarve, 2005.

DREW, M. D.; OGUNKOYA, A. E.; JANZ, D. M.; KESSEL, A. G. V. Dietary influence of replacing fish meal and oil with canola protein concentrate and vegetable oils on growth performance, fatty acid composition and organochlorine residues in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 267, p. 260–268, 2007.

DUMAS, A.; DE LANGE, C. F. M.; FRANCE, J.; BUREAU, D. P. Quantitative description of body composition and rates of nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 273, p. 165–181, 2007.

ESTEBAN, M. B.; GARCÍA, A. J.; RAMOS, P.; MÁRQUEZ, M. C. Evaluation of fruit–vegetable and fish wastes as alternative feedstuffs in pig diets. **Waste Management**, v. 27, p. 193–200, 2007.

ESTEVES, W.; GONÇALVES, L. e BARRERA-ARELLANO, D. **Metodologia padrão alemã: para análise de gorduras e outros lipídeos**. Tradução para o português do Deutsche Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen. (DGF - Einheitsmethoden) – Seções A, B, C e F. Campinas: Laboratório de Óleos e Gorduras FEA-DTA/UNICAMP, 1995.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Scientific Opinion on Fish Oil for Human Consumption. Food Hygiene, including Rancidity. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). **EFSA Journal**, v. 8, n. 10, p. 1874 – 1922, 2010.

FAID, M.; KARANI, H.; ELMARRAKCHI, A.; ACHKARI-BEGDOURI, A. A biotechnological process for the valorization of fish waste. **Bioresource Technology**, v. 49, p. 237-241, 1994.

FAID, M.; ZOUITEN, A.; ELMARRAKCHI, A.; ACHKARI-BEGDOURI, A. Biotransformation of fish waste into a stable feed ingredient. **Food Chemistry**, v. 60, n. 1, p. 13-18, 1997.

FAO GLOBEFISH. **Fishmeal & Fish Oil**. Commodity update. FAO: Roma, 2007

_____. **Fish Oil – Agosto 2011**. Roma. Disponível em: <http://www.globefish.org/fish-oil-august-2011.html>. Acesso em 04 fev. 2012.

_____. **Fish Oil – Novembro 2009**. Josupeit, H. Roma. Disponível em: <http://www.globefish.org/fish-oil-november-2009.html>. Acesso em 04 fev. 2012.

FISHBASE. World Wide Web Electronic Publication. Editores: FROESE, R.; PAULY, D. Disponível na internet: <<http://www.fishbase.org>>. Acesso em: 04 jan. 2012.

FAO. **The production of fish meal and oil**. FAO Fisheries technical paper 142. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma, 1986. Disponível em: <http://www.fao.org/DOCREP/003/X6899E/X6899E00.HTM>

_____. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Fisheries and Aquaculture Department. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma, 2010.

FORTIN, P. R.; LEW, R. A.; LIANG, M. H.; WRIGHT, E. A.; BECKETT, L. A.; CHALMERDS, T. C.; SPERLING, R. I. Validation of a meta-analysis: the effects of fish oil in rheumatoid arthritis. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 48, n. 11, p. 1379-1390, 1995.

GARCÍA-RÍOS, A.; MENESES, M. E.; PÉREZ-MARTÍNEZ, P.; PÉREZ-JIMÉNEZ, F. Omega-3 y enfermedad cardiovascular: más allá de los factores de riesgo. **Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria**, v. 29, n. 1, p. 4-16, 2009.

GREENE, D. H. S.; SELIVONCHICK, D. P. Effects of dietary vegetable, animal and marine lipids on muscle lipid and hematology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 89, p. 165-182, 1990.

GUERRA, J.; OÑA, M. **Obtención de aceite de vísceras de pescado, caracterización de los ácidos grasos presentes y su efecto en la alimentación de pollos parrilleros y trucha arco-íris**. 2009. 137 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia

Agropecuária) – Instituto Agropecuario Superior Andino, Escuela Politécnica del Ejército – ESPE. Sangolquí (Ecuador). 2009.

GUESNET, P.; ALESSANDRI, J. Docosahexaenoic acid (DHA) and the developing central nervous system (CNS) - Implications for dietary recommendations. **Biochimie**, v. 93, p. 7-12, 2011.

GUTIERREZ, L. E.; SILVA, R. C. M. Fatty acid composition of commercially important fish from Brazil. **Scientia Agricola**, v. 50, p. 478-483, 1993.

HAMMOUMI, A.; FAID, M.; EL YACHIOUI, M.; AMAROUCH, H. Characterization of fermented fish waste used in feeding trials with broilers. **Process Biochemistry**, v. 33, n. 4, p. 423-427, 1998.

HARPER, C. R.; JACOBSON, T. A. Usefulness of Omega-3 Fatty Acids and the Prevention of Coronary Heart Disease. **American Journal of Cardiology**, v. 96, p. 1521–1529, 2005.

HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. **Progress in Lipid Research**, v. 26, p. 281-347, 1987.

HORNSTRA, G.; AL, M. D. M.; HOUWELINGEN, A. C. V.; DRONGELEN, M. M. H. P. Essential fatty acids in pregnancy and early human development. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 61, p. 57-62, 1995.

HUTTER, C. D. D.; LAING, P. Multiple Sclerosis: Sunlight, Diet, Immunology and Aetiology. **Medical Hypotheses**, v. 46, p. 67-74, 1996.

IMMANUEL, G.; SATHASIVAN, S.; SHANKAR, V. S.; PETER, M. J. P.; PALAVESAM, A. Processing and characterisation of low cost Balistid fish *Sufflamen capistratus* liver oil for edible purpose. **Food Chemistry**, v. 115, p. 430–435, 2009.

INNIS, S. M. Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain. **Brain Research**, v. 1237, p. 35-43, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). **Estatística da Pesca 2007**. Brasil: Grandes Regiões e Unidades da Federação. Ministério do Meio Ambiente: Brasília, 2007

INSTITUTO de PESCA SP. São Paulo. Disponível na internet: http://www.pesca.sp.gov.br/atracoes_aquario.php. Acesso em 04 jan. 2012.

INTERNATIONAL SOCIETY FOR THE STUDY OF FATTY ACIDS AND LIPIDS (ISSFAL). **Recommendations for Intake or Polyunsaturated Fatty Acids in Healthy Adults**. Report on Dietary Intake of Essential Fatty Acids. Washington, 2004.

_____. **Statement on Dietary Fats in Infant Nutrition**. Washington, 2008.

JABEEN, F.; CHAUDHRY, A. S. Chemical compositions and fatty acid profiles of three freshwater fish species. **Food Chemistry**, v. 125, p. 991–996, 2011.

JACKSON, A. J.; KERR, A. K.; COWEY, C. B. Fish silage as a dietary ingredient for salmon. I. Nutritional and storage characteristics. **Aquaculture**, v. 38, p. 211-220, 1984.

JOSEPH, J.D.; ACKMAN, R.G. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: collaborative study. **Journal of AOAC International**, 75: 488-506, 1992.

KECHAOU, E. S.; DUMAY, J.; DONNAY-MORENO, C.; JAOUEN, P.; GOUYGOU, J.; BERGÉ, J.; AMAR, R. B. Enzymatic hydrolysis of cuttlefish (*Sepia officinalis*) and sardine (*Sardina pilchardus*) viscera using commercial proteases: Effects on lipid distribution and amino acid composition. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 107, n. 2, p. 158–164, 2009.

KIRSCHNIK, P. G.; MACEDO-VIEGAS, E. M. Efeito da lavagem e da adição de aditivos sobre a estabilidade de carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante estocagem a -18 °C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 29, n. 1, p. 200 – 206, 2009.

KOLEZKO, B.; CETIN, I.; BRENNAN, J. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. **British Journal of Nutrition**, 2007.

KOTZAMANIS, Y. P.; ALEXIS, M. N.; ANDRIOPOULOU, A.; CASTRITSI-CATHARIOU, I.; FOTIS, G. Utilization of waste material resulting from trout processing in gilthead bream (*Sparus aurata* L.) diets. **Aquaculture Research**, v. 32, n. 1, p. 288-295, 2001.

KRISTINSSON, H. G.; RASCO, B. A. Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, n. 1, p. 43–81, 2011.

KUIPERS, R. S.; LUXWOLDA, M. F.; DIJCK-BROUWER, D. A. J.; MUSKIET, F. A. J. Intrauterine, postpartum and adult relationships between arachidonic acid (AA) and docosahexaenoic acid (DHA). **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 85, p. 245–252, 2011.

KUIPERS, R. S.; LUXWOLDA, M. F.; OFFRINGA, P. J.; BOERSMA, E. R.; DIJCK-BROUWER, D. A. J.; MUSKIET, F. A. J. Fetal intrauterine whole body linoleic, arachidonic and docosahexaenoic acid contents and accretion rates. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 86, p. 13–20, 2012.

LANDS, B. Prevent the cause, not just the symptoms. **Prostaglandins & other Lipid Mediators**, v. 96, p. 90–93, 2011.

LANDS, W. E. M. **Fish, Omega-3 and Human Health**. 2.ed. Champaign/Illinois: AOCS Press, 2005.

LAVIE, C. J.; MILANI, R. V.; MEHRA, M. R.; VENTURA, H. O. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Cardiovascular Diseases. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 54, n. 7, p. 585 – 594, 2009.

LIN, C.; LI, R. Engine performance and emission characteristics of marine fish-oil biodiesel produced from the discarded parts of marine fish. **Fuel Processing Technology**, v. 90, p. 883–888, 2009.

MACEDO-VIEGAS, E. M.; PORTELLA, M. C.; CARNEIRO, D. J. Utilization of fish protein hydrolysate in prepared diets for pacu, *Piaractus mesopotamicus*, larvae. **Journal of Applied Aquaculture**, v.14, n.3, p. 101-112, 2003.

MARENGONI, N. G.; POZZA, M. S. S.; BRAGA, G. C.; LAZZERI, D. B.; CASTILHA, L. D.; BUENO, G. W.; PASQUETTI, T. J.; POLESE, C. Caracterização microbiológica, sensorial e centesimal de fishburgers de carne de tilápia mecanicamente separada. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.1, p.168-176, 2009.

MANDAL, C. C.; GHOSH-CHOUDHURY, T.; YONEDA, T.; CHOUDHURY, G. G.; GHOSH-CHOUDHURY, N. Fish oil prevents breast cancer cell metastasis to bone. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 402, p. 602–607, 2010.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; DE SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.

MARTÍNEZ-QUINTANA, E.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, F.; TORRES-FUENTES, E.; LÓPEZ-RÍOS, L.; NIETO-LAGO, V. Efecto de los ácidos grasos omega-3 en la evolución clínica, biomarcadores inflamatorios y el péptido natriurético cerebral de pacientes con cardiopatía isquémica. **Medicina Clínica**. Barcelona, v. 136, n. 13, p. 574–577, 2011.

MIHRSHAHI, S.; PEAT, J. K.; WEBB, K.; TOVEY, E. R.; MARKS, G. B.; MELLIS, C. M.; LEEDER, S. R. The Childhood Asthma Prevention Study (CAPS): Design and Research Protocol of a Randomized Trial for the Primary Prevention of Asthma. **Controlled Clinical Trials**, v. 22, p. 333–354, 2001.

MOLENDI-COSTE, O.; LEGRY, V.; LECLERCQ, I. A. Why and How Meet n-3 PUFA Dietary Recommendations? **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2011 Article ID 364040, 11 pages, 2011.

MORAIS, M. M.; PINTO, L. A. A.; ORTIZ, S. C. A.; CREXI, V. T.; DA SILVA, R. L.; DA SILVA, J. D. Estudo do processo de refino do óleo de pescado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 60, n. 1, p. 23-33, 2001.

MORALES-ULLOA, D. F.; OETTERER, M. **Composição em aminoácidos de silagens químicas, biológicas e enzimáticas com resíduos de sardinha**. Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" - ESALQ/USP. São Paulo, 1997.

MORRIS, P. C.; GALLIMORE, P.; HANDLEY, J.; HIDE, G.; HAUGHTON, P. e BLACK, A. Full-fat soya for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in freshwater: Effects on performance, composition and flesh fatty acid profile in absence of hind-gut enteritis. **Aquaculture**, v. 248, p. 147– 161, 2005.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. 4.ed. São Paulo: Sarvier. 2006.

OLIVEIRA FILHO, P. R. C.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; TRINDADE, M. A.; BALIEIRO, J. C. C.; VIEGAS, E. M. M. Quality of sausage elaborated using minced Nile tilapia submitted to cold storage. **Scientia Agricola**, v.67, n.2, p. 183-190, 2010.

ÖZOGUL, Y.; ÖZOGUL, F.; ALAGOZ, S. Fatty acid profiles and fat contents of commercially important seawater and freshwater fish species of Turkey: A comparative study. **Food Chemistry**, v. 103, p. 217–223, 2007.

PÉRIZ, A. G. **Efectos protectores de los ácidos grasos Omega-3 en el hígado y en el tejido adiposo**. 2009. 198 f.Tese (Doutorado) - Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona. 2009.

PÉRON, G.; MITTAINE, J. F.; LE GALLIC, B. Where do fishmeal and fish oil products come from? An analysis of the conversion ratios in the global fishmeal industry. **Marine Policy**, v. 34, p. 815–820, 2010.

RANDALL, D.; BURGGREN, W. e FRENCH, K. **Eckert Fisiología Animal: Mecanismos y Adaptaciones**. 4.ed. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana de España, SAU, 1998.

RAPOPORT, S. I.; RAMADAN, E.; BASSELIN, M. Docosahexaenoic acid (DHA) incorporation into the brain from plasma, as an in vivo biomarker of brain DHA metabolism and neurotransmission. **Prostaglandins & other Lipid Mediators**, v. 96, p. 109 – 113, 2011.

RINCHARD, J.; CZESNY, S.; DABROWSKI, K. Influence of lipid class and fatty acid deficiency on survival, growth, and fatty acid composition in rainbow trout juveniles. **Aquaculture**, v. 264, p. 363–371, 2007.

ROBINSON, D. R.; PRICKETT, J. D.; POLISSON, R.; STEINBERG, A. D.; LEVINE, L. The protective effect of dietary fish oil on murine lupus. **Prostaglandins**, v. 30, n. 1, p. 51 - 75, 1985.

ROSE, D. P.; CONNOLLY, J. M. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 83, p. 217–244, 1999.

RUBINO, M. **Offshore Aquaculture in the United States**: Economic Considerations, Implications & Opportunities. NOAA Technical Memorandum NMFS F/SPO-103. 263 f. Silver Spring, MD: U.S. Department of Commerce, 2008.

RUDAN-TASIČ, D.; KLOFUTAR, C. Characteristics of vegetable oils of some slovene manufacturers. **Acta Chimica Slovenica**, v. 46, n. 4, p. 511-521, 1999.

SANCHO, R. A. S.; LIMA, F. A.; COSTA, G. C.; MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Effect of annatto seed and coriander leaves as natural antioxidants in fish meatballs during frozen storage. **Journal Food Science**, v. 76, p. 838 - 845, 2011.

SANTANA-DELGADO, H.; AVILA, E.; SOTELO, A. Preparation of silage from Spanish mackerel (*Scomberomorus maculatus*) and its evaluation in broiler diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 141, p. 129–140, 2008.

SANTOS, F. F. P.; MALVEIRA, J. Q.; CRUZ, M. G. A.; FERNANDES, F. A. N. Production of biodiesel by ultrasound assisted esterification of *Oreochromis niloticus* oil. **Fuel**, v. 89, p. 275–279, 2010.

SARGENT, J. R; TOCHER, D. R.; BELL, J. G. The Lipids. In: **Fish Nutrition**. 3.ed. Maryland Heights/MO: Elsevier Science, 2002. Cap. 4, 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 Chemists' Society**, v. 80, n. 4, p. 377 – 382, 2003.

SAYANOVA, O. e NAPIER, J. A. Transgenic oilseed crops as an alternative to fish oils. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 85, p. 253–260, 2011.

SHARMA, P.; KUMAR, V.; SINHA, A. K.; RANJAN, J.; KITHSIRI, H. M. P.; VENKATESHWARLU, G. Comparative fatty acid profiles of wild and farmed tropical freshwater fish rohu (*Labeo rohita*). **Fish Physiology Biochemistry**, v. 36, p. 411 – 417, 2010.

SHINTO, L.; MARRACCI, G.; BALDAUF-WAGNER, S.; STREHLOW, A.; YADAV, V.; STRUBER, L.; BOURDETTE, D. Omega-3 fatty acid supplementation decreases matrix metal oproteinase-9 production in relapsing-remitting multiple sclerosis. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 80, p. 131–136, 2009.

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

SIMOPOULOS, A. P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomed Pharmacother**, v. 56, p. 365–379, 2002.

STABLES, M. J.; GILROY, D. W. Old and new generation lipid mediators in acute inflammation and resolution. **Progress in Lipid Research**, v. 50, p. 35–51, 2011.

STRANDVIK, B. The omega-6/omega-3 ratio is of importance!. Letter to the editor. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 85, p. 405 – 406, 2011.

TACON, A. G. J.; METIAN, M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. **Aquaculture**, v. 285, p. 146–158, 2008.

TAKEMURA, Y.; SAKURAI, Y.; HONJO, S.; TOKIMATSU, A.; GIBO, M.; HARA, T.; KUSAKARI, A. e KUGAI, N. 2002. The Relationship between Fish Intake and the Prevalence of Asthma: The Tokorozawa Childhood Asthma and Pollinosis Study. **Preventive Medicine**, v. 34, p. 221–225.

THANUTHONG, T.; FRANCIS, D. S.; SENADHEERA, S. D.; JONES, P. L.; TURCHINI, G. M. Fish oil replacement in rainbow trout diets and total dietary PUFA content: I) Effects on feed efficiency, fat deposition and the efficiency of a finishing strategy. **Aquaculture**, v. 320, p. 82–90, 2011.

TURNER, N.; MITCHELL, T. W.; ELSE, P. L.; HULBERT, A. J. The u-3 and u-6 fats in meals: A proposal for a simple new label. **Nutrition**, v. 27, p. 719–726, 2011.

VALENZUELA, B. A.; SANHUEZA, C. J. Aceites de origen marino; su importancia en la nutrición y en la ciencia de alimentos. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 36, n.3, p. 246 – 257, 2009.

VÁZQUEZ, J. A.; NOGUEIRA, M.; DURÁN, A.; PRIETO, M. A.; RODRÍGUEZ-AMADO, I.; RIAL, D.; GONZÁLEZ, M. P.; MURADO, M. A. Preparation of marine silage of swordfish, ray and shark visceral waste by lactic acid bacteria. **Journal of Food Engineering**, v. 103, p. 442–448, 2011.

VIDOITI, R. M., CARNEIRO, D. J.; VIEGAS, E. M. M. Acid and fermented silage characterization and determination of apparent digestibility coefficient of crude protein for Pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.33, n. 1, p. 57-62, 2002a.

VIDOITI, R. M, CARNEIRO, D. J.; VIEGAS, E. M. M. Growth rate of Pacu *Piaractus mesopotamicus*, fingerlings fed diets containing co-dried fish silage as replacement of fish meal. **Journal of Applied Aquaculture**, v.12, n.4, p. 77-88, 2002b.

VIGA, A.; GRAHL-NIELSEN, O. Genotypic and phenotypic fatty acid composition in the tissues of salmon, *Salmo salar*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 96B, N. 4, p. 721-727, 1990.

WATANABE, T. Lipid nutrition in fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 73b, n. 1, p. 3 – 15, 1982.

WEINSTOCK-GUTTMAN, B.; BAIER, M.; PARK, Y.; FEICTER, J.; LEE-KWEN, P.; GALLAGHER, E.; VENKATRAMAN, J.; MEKSAWAN, K.; DEINEHERT, S.; PENDERGAST, D.; AWAD, A. B.; RAMANATHAN, M.; MUNSCHAUER, F.; RUDICK, R. Low fat dietary intervention with ω -3 fatty acid supplementation in multiple sclerosis patients. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 73, p. 397–404, 2005.

WICKI, G.; WILTCHIENSKY, E.; LUCHINI, L. Ensilados de vísceras de pescado de río como fuente de proteína y fórmulas alimentarias a base de harina de soja, o de algodón, o de pluma; como sustituto total o parcial de la harina de pescado en el engorde final de pacú, en el nordeste argentino. **Acuacuba**. 2003.