EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE RESÍDUOS DE CARPA (*Cyprinus carpio*) E ANCHOITA (*Engraulis anchoita*) UTILIZANDO DIFERENTES MÉTODOS

JAQUES RIZZI[1], DYÉSSIKA FONSECA HAMON[2], LUIZ ANTONIO DE ALMEIDA PINTO[3]

RESUMO

O aumento de resíduos de pescados gerados e seu potencial uso para o reaproveitamento na geração de novos produtos é uma importante preocupação industrial. A produção de farinha de pescado pelo processo termomecânico é a alternativa mais usada para o reaproveitamento destes resíduos. Sendo que, o óleo resultante deste processo é uma fonte rica em ácidos graxos poli-insaturados (AGPI). Este trabalho teve por objetivo estudar obtenção de óleo de resíduos de carpa e anchoita pelo processo termomecânico. Foi utilizado um planejamento experimental fatorial, e os fatores de estudo foram trituração, vácuo, tempo e centrifugação, tendo como respostas o rendimento (%) e % ácidos graxos livres (AGL). As condições mais adequadas do planejamento foram utilizadas para extração de óleo de anchoita. Os melhores rendimentos foram obtidos nas condições: sem trituração, sob vácuo de 700 mmHg durante 30 min e centrifugados à 10000 × g. Os valores de rendimento variaram de 74 a 82%, e os valores de AGL variaram de 4,4% a 4,7%. Os valores dos ácidos graxos saturados (AGS) nos óleos de carpa foram de 31%, AGPI de 64%, sendo EPA+DHA de 4,3%. Para o óleo de anchoita, os valores de AGS foram de 38%, AGPI de 55,5% (sendo 31% de EPA+DHA).

PALAVRAS-CHAVES: Ácidos Graxos. Óleo de Carpa. Óleo de Anchoita. Processo Termomecânico. Resíduos de Pescado.

EXTRACTION OF OIL FROM CARP (*CYPRINUS CARPIO*) AND ANCHOVY (*ENGRAULIS ANCHOVY*) WASTES BY DIFFERENT CONDITIONS

SUMMARY

The increase in the generated fish wastes and its potential for reuse is an important industrial preoccupation. The thermo-mechanical production of fishmeal is the more used alternative for the management of these wastes. The oil from this process can be used for food, because fish species are rich in relation to polyunsaturated fatty acids (PUFA). This work aimed the obtainment of oil from carp and anchovy wastes by thermo-mechanical process. An experimental factorial design was employed to verify the effects of milling, vacuum, extraction time and centrifugation on the yield (Y) and free fatty acids (FFA). From the more suitable results of experimental design, the anchovy oil was also obtained. For the carp oil, the higher values of yield were obtained without milling, under 700 mmHg of vacuum during 30 min and with centrifugation at 10000 × g. The yield values ranged from 74 to 82% and the FFA values ranged from 4.4% to 4.7%. The saturated fatty acids (SFA) values in carp oils were about 31%, PUFA of 64%, being EPA+DHA 4.3%. For the anchovy oil, SFA values were about 38%, PUFA of 55.5%, being EPA+DHA 31%.

[1]EQA, FURG, jaques.rizzi@furg.br
[2]EQA, FURG, dyessikahamon@hotmail.com
[3]EQA, FURG, dqmpinto@furg.br

KEY-WORDS: Anchovy Oil. Carp Oil. Fatty acids. Fish Wastes. Thermo Mechanical Process.

1. INTRODUÇÃO

O crescimento da população e a procura por alimentos mais saudáveis tem impulsionado o aumento pela demanda no consumo de pescado nos últimos anos, desta forma a produção de pesca de captura e aquicultura, vem crescendo de forma significativa, o que aumenta os resíduos gerados pelas indústrias de beneficiamento [12]. Os resíduos gerados no beneficiamento dos peixes (cabeça, vísceras, nadadeira, cauda, coluna vertebral, barbatana, escamas e restos de carne) representam aproximadamente 60-70% da matéria-prima utilizada, variando conforme as espécies e o tipo de processamento [14]. Desta forma é necessário que as indústrias de processamento de pescados disponham de alternativas para o gerenciamento destes resíduos que venham a ser produzidos pelas indústrias. Esta preocupação torna-se um fator diferencial para as empresas, garantindo a diversificação da linha de produtos, crescimento sustentável e responsabilidade socioambiental [5, 20].

Todavia, para que os resíduos de pescados sejam reaproveitados, e que a geração de subprodutos apresente o mínimo de desperdício da matéria prima, é necessário que se conheça a composição química destes resíduos, bem como sua caracterização, a fim de desenvolver tecnologias que visem à utilização destes como produtos, e que estes possuam aceitação do mercado. Várias tecnologias que propõem a reutilização desses resíduos como fontes alimentares, transformando-os em produtos nutritivos e com boa aceitabilidade, têm surgido. Dentre as alternativas de reaproveitamento estão: produção de farinha, recuperação enzimática, extração de colágeno, produção de hidrolisados proteicos, extração de gelatina e extração de óleos [11].

O aproveitamento dos resíduos de pescados através da obtenção de óleo bruto, utilizando processos termomecânicos de produção de farinha, é uma boa alternativa para evitar desperdícios e impedir a contaminação ambiental. Além disso, o óleo produzido pode ser utilizado não somente para a alimentação animal, mas também humana [4]. Óleos de pescado são considerados a principal fonte de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3, especialmente o ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5) e o ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6). Esses ácidos graxos têm destaque nas comunidades científicas e industriais devido aos benefícios à saúde humana, pois são essenciais para o desenvolvimento e funcionalidade de certos órgãos e para algumas respostas bioquímicas e fisiológicas do organismo [13,15, 22].

O processo termomecânico é o mais utilizado na produção de farinha de pescado e consiste basicamente na separação parcial de três componentes principais: sólidos, óleo e água. Nesta separação os resíduos de pescado passam por um processo industrial, onde a matéria-prima segue as etapas de moagem, cocção, prensagem, secagem e moagem [8]. Todavia a farinha produzida através do processo termomecânico geralmente apresenta baixa qualidade, proporcionando um baixo retorno econômico para a indústria, pois a linha de produção deste subproduto exige grande investimento, equipamentos especiais e alto consumo energético [11]. As condições tradicionais de produção de farinha podem ocasionar ao óleo, transformações indesejáveis que afetam sua qualidade. Assim, o estudo das condições do processo termomecânico para obtenção de farinha e óleo torna–se importante, principalmente no que se refere à resíduos de pescado que contenham óleos mais nobres, para que o produto obtido mantenha suas características originais e gerem uma farinha de qualidade superior a tradicional. Algumas espécies apresentam em sua composição lipídica altas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados, tornando a obtenção de óleo destas espécies mais interessante que a produção de farinha [8].

O presente trabalho teve por objetivo estudar diferentes condições de extração de óleo de resíduos de carpa (*Cyprinus carpio*) pelo processo termomecânic*o de produção d*e farinha de pescado, e utilizar as melhores condições para obtenção de óleo de resíduos de anchoita (*Engraulis anchoita)*, avaliando o perfil graxo de ambos os óleos produzidos.

2. MATERIAL E MÉTODOS.

2.1 Matéria-prima

As matérias-primas utilizadas foram resíduos de carpa (*Cyprinus carpio*) obtidos de uma planta comercial de processamento de pescado da cidade de Roca Sales/RS. Os resíduos de anchoita (*Engraulis anchoita*) foram coletados diretamente de uma indústria processadora de pescado da cidade de Rio Grande/RS. Ambos os resíduos foram acondicionados em monoblocos plásticos e transportados rapidamente até o Laboratório de Operações Unitárias/EQA/FURG, onde foram armazenados em freezer a -18ºC. Todos os demais reagentes utilizados eram de grau analítico.

2.2 Procedimentos experimentais

2.2.1 Obtenção de óleo pelo processo termomecânico de produção de farinha.

Para todos os experimentos de extração do óleo bruto foram utilizadas condições análogas às de uma planta comercial, da indústria de processamento de pescado. Para elaboração da farinha de pescado, foram utilizados em torno de 0,45 kg de resíduos de cada espécie, por experimento realizado. Estes foram descongelados durante 12 h à temperatura ambiente. O procedimento foi realizado em escala de bancada, através das seguintes etapas: trituração, cocção, e centrifugação. Nos experimentos em que o material foi triturado, utilizou-se um triturador piloto (Metvisa Bing, Brusque-SC, Brasil). Após, foi realizada a produção da farinha em escala de bancada, para todos os experimentos referentes a matriz do delineamento experimental (TABELA 1), onde o material bruto passou por um processo de cocção, sob condições controladas, e posteriormente centrifugado à 25ºC em centrífuga (Hitachi CR22GIII, Japão) para a separação das fases.

2.2.2 Cálculo do rendimento de óleo extraído.

O rendimento (R) do óleo bruto foi calculado através das massas de óleo contidas na matéria prima e no material sólido após a extração, conforme Equação 1.

$$\%)\ \ \text{Rendimento} = \frac{(m_{1} - m_{2})}{m_{1}} \times 100 \qquad (1)$$

sendo m_1 a massa de óleo contida na matéria prima (g) e m_2 massa de óleo contida no material sólido (g).

2.3. Métodos Analíticos

2.3.1 Caracterização dos resíduos e dos óleos extraídos.

Os resíduos e o material sólido após a extração foram caracterizados, quanto à composição centesimal: umidade (método 925.10), proteína (método 960.52) e cinzas (método 940.26) de acordo com as normas da AOAC [1]. O percentual de lipídios foi determinado através do método descrito por Bligh e Dyer [6].

Na condição mais adequada de extração do óleo bruto pelo processo termomecânico de obtenção de farinha, foi determinada a solubilidade protéica do material sólido final, segundo o método de Morr [19].

Os óleos brutos obtidos a partir das condições definidas no planejamento experimental foram caracterizados quanto ao percentual de ácidos graxos livres (AGL) (Ca 5a–40) AOCS [2]. O método utilizado para a determinação de ácidos graxos livres baseia-se na titulação da amostra (diluída em uma solução de éter-álcool etílico) com uma solução de hidróxido de sódio, utilizando como indicador fenolftaleína. Os resultados são expressos em percentual de ácido oléico.

Para os óleos brutos obtidos nas condições experimentais onde se obteve os melhores rendimentos foi realizado o perfil graxo por análise cromatográfica. O preparo das amostras para a realização da análise cromatografia para determinação do perfil de ácidos graxos dos óleos foi realizado segundo metodologia descrita por Metcalfe et al. [16], este método permite a injeção da amostra no equipamento na forma de ésteres metílicos de ácidos graxos. As análises foram realizadas em um sistema cromatográfico (GCMS-QP2010 Plus Shimadzu), equipado com injetor *split/splitless* acoplado com detector de massas. Temperaturas de operação do detector: interface, 280ºC; e fonte a 230ºC. Detecção no modo *full scan* com varredura 30 m/z até 500 m/z, em um tempo de varredura de 0,2 s. O modo de ionização utilizado foi o impacto de elétrons à 70 eV. As condições de operação do cromatógrafo foram: injetor, 250ºC; coluna, 80ºC (temperatura inicial, 0 min); seguido de gradiente de 10 ºC/min até 180ºC, e depois 7ºC/min até a temperatura final de 330ºC; fluxo de gás He, 1,3 mL/min; pressão, 88,5 kPa; velocidade linear média, 42 cm/s; volume de injeção de 1 µL com razão de *split* de 1:100. A coluna utilizada foi *Crossbond* 5% difenil/95% dimetilpolisiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, Restek).Os compostos foram identificados pelo tempo de retenção e também foi realizada a confirmação pelo espectro de massas. 10 µL das amostras derivatizadas foram diluídas com 2mL de hexano grau HPLC, e logo após injetadas no GC-MS em triplicata (n=3).

2.4 Métodos estatísticos

Para avaliar os fatores que influenciaram na extração do óleo do resíduo da carpa foi utilizado um planejamento experimental fatorial completo 2^4, considerando-se um nível de significância de 95% ($P \leq 0,05$).

Na TABELA 1 estão apresentadas as variáveis de estudo utilizadas, com seus valores na forma real e na forma codificada. Estas variáveis (fatores de estudo) foram definidas por serem importantes no processo termomecânico para a produção de farinha de pescado.

Tabela 1: Matriz experimental com valores reais e na forma codificada.

Exp.	Trituração		Pressão		Tempo (min)		Rotação (× g)	
	A	A*	B	B*	C	C*	D	D*
1	s/trit.	-1	s/vácuo	-1	20	-1	7000	-1
2	trit.	+1	s/vácuo	-1	20	-1	7000	-1
3	s/trit.	-1	c/vácuo	+1	20	-1	7000	-1
4	trit.	+1	c/vácuo	+1	20	-1	7000	-1
5	s/trit.	-1	s/vácuo	-1	30	+1	7000	-1
6	trit.	+1	s/vácuo	-1	30	+1	7000	-1
7	s/trit.	-1	c/vácuo	+1	30	+1	7000	-1
8	trit.	+1	c/vácuo	+1	30	+1	7000	-1
9	s/trit.	-1	s/vácuo	-1	20	-1	10000	+1
10	trit.	+1	s/vácuo	-1	20	-1	10000	+1
11	s/trit.	-1	c/vácuo	+1	20	-1	10000	+1
12	trit.	+1	c/vácuo	+1	20	-1	10000	+1
13	s/trit.	-1	s/vácuo	-1	30	+1	10000	+1
14	trit.	+1	s/vácuo	-1	30	+1	10000	+1
15	s/trit.	-1	c/vácuo	+1	30	+1	10000	+1
16	trit.	+1	c/vácuo	+1	30	+1	10000	+1

A,B,C,D correspondem aos valores reais; A*,B*,C*D* correspondem aos valores codificados.
s/trit: sem trituração; trit: trituração; s/vácuo: pressão atmosférica; c/vácuo: pressão absoluta de 60 mmHg; (× g): vezes força de gravidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

3.1 Caracterização da matéria-prima.

Os resíduos de carpa utilizados no estudo eram constituídos de 97% de vísceras e 3% de escamas, espinhos, guelras e barbatanas. Estes continham 69±2% de umidade, 1,9±0,5% de cinzas, 12,6±1% de proteína e 18±2% de lipídios. Estes valores apresentam algumas diferenças em relação aos encontrados na literatura, e isto pode ocorrer devido à fatores naturais como fatores fisiológicos como desova, ou escassez de comida, ou migrações que podem influenciar na composição química, ocorrendo maior variação da fração de lipídios [7, 10].

Já os resíduos de anchoita eram compostos de vísceras, cabeças e barbatanas nas proporções de 40% e 60%, respectivamente. Estes continham 78±2% de umidade, 4,3±0,1% de cinzas, 14,5±1% de proteína e 2,17±0,2% de lipídios.

3.2 Caracterização do óleo bruto.

A TABELA 2 apresenta a matriz de planejamento experimental fatorial completo do tipo 2^4, na forma codificada, e as respostas obtidas para o percentual de rendimento e o índice de AGL, em cada um dos experimentos.

Tabela 2: Resultados da matriz do planejamento experimental fatorial, na forma codificada, para os percentuais de rendimento e de ácidos graxos livres (AGL).

Exp.	Trituração A*	Pressão B*	Tempo C*	Rotação D*	Rendimento (%)	AGL (%)
1	-1	-1	-1	-1	63,4±0,2	4,64±0,04
2	+1	-1	-1	-1	57,5±0,3	4,71±0,02
3	-1	+1	-1	-1	64,3±0,3	4,44±0,04
4	+1	+1	-1	-1	64,4±0,2	5,79±0,10
5	-1	-1	+1	-1	74,6±0,3	6,57±0,20
6	+1	-1	+1	-1	54,2±0,3	4,41±0,02
7	-1	+1	+1	-1	78,1±0,1	4,50±0,02
8	+1	+1	+1	-1	63,9±0,1	4,43±0,02
9	-1	-1	-1	+1	56,0±0,2	2,32±0,04

10	+1	-1	-1	+1	67,5±0,3	7,70±0,20
11	-1	+1	-1	+1	74,6±0,3	7,44±0,08
12	+1	+1	-1	+1	59,0±0,7	4,43±0,01
13	-1	-1	+1	+1	80,7±0,4	4,12±0,09
14	+1	-1	+1	+1	39,3±0,2	3,47±0,40
15	-1	+1	+1	+1	72,9±0,1	1,50±0,20
16	+1	+1	+1	+1	82,6±0,3	4,71±0,01

*A: trituração, B: pressão, C: tempo, D: rotação.

Para a análise estatística das respostas percentual de rendimento (%R) e %AGL, foi realizada uma análise de variância, com o auxílio de um software estatístico, tendo como fatores de estudo a trituração, pressão, tempo e rotação.

Observa-se na FIGURA 1 do gráfico de Pareto que para a resposta percentual de rendimento (%R), todos os efeitos principais trituração (A), vácuo (B), tempo (C) e rotação(D), bem como suas interações apresentaram significância ao nível de 95% de confiança ($P \leq 0,05$).

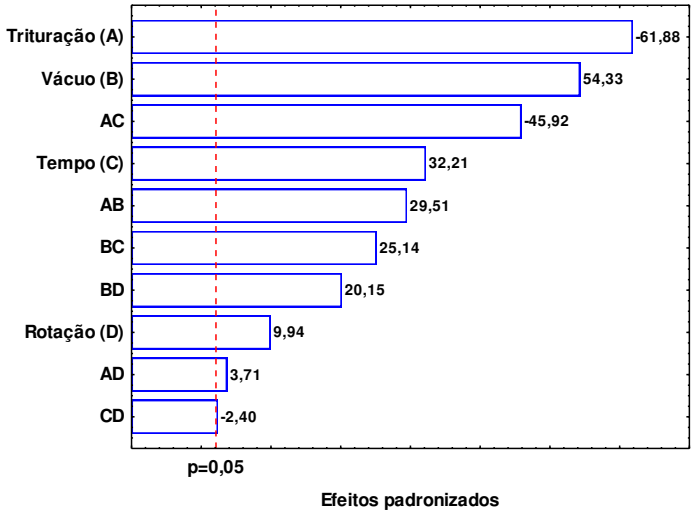

Figura 1: Gráfico de Pareto para a resposta rendimento (%R) do óleo bruto extraído de carpa.

Na FIGURA 1 dentre os efeitos principais a trituração (A) teve a maior significância, provavelmente devido a maior área de contato que facilitou a extração. A influência do vácuo (B) foi significativa favorecendo a coagulação das proteínas e a quebra das membranas celulares, permitindo a separação da fração sólida e líquida. A interação (AC) mostrou maior significância que os efeitos principais, tempo (C) e rotação (D).

A FIGURA 2 apresenta os efeitos principais dos fatores estudados na forma codificada sobre o rendimento de óleo extraído.

Observa-se na FIGURA 2 que a trituração do resíduo ocasionou uma diminuição do rendimento, possivelmente pela formação de emulsão durante o processo devido ao teor de proteína, lipídios e água proveniente dos resíduos, dificultando a separação do óleo. Windsor e Barlow [21], ressaltaram a importância de não adicionar água durante a realização da etapa, pois facilita a formação de emulsões durante a etapa de cocção.

A utilização de vácuo ocasionou um aumento do rendimento, provavelmente pelo favorecimento da coagulação das proteínas e a quebra das membranas celulares permitindo a separação da fração sólida e líquida. Já o aumento do tempo de extração aumentou o rendimento de óleo extraído em torno de 5%. Entre os efeitos principais, a rotação foi o fator que apresentou menor significância dentre os demais, porém com o aumento da rotação foi possível observar um pequeno aumento no percentual de rendimento, provavelmente pela aplicação de uma maior força ×g, facilitando a separação do óleo das outras fases.

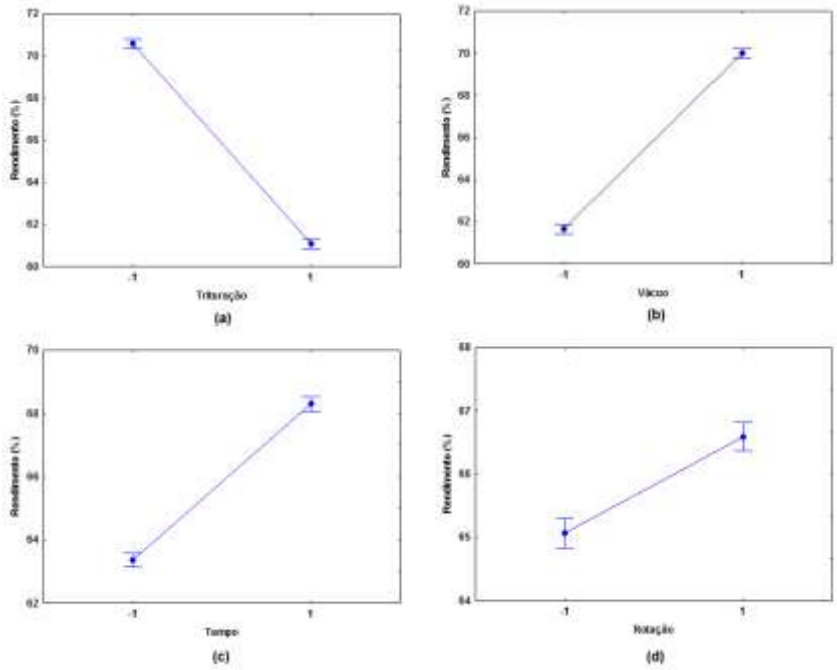

Figura 2: Gráfico dos efeitos principais para a resposta rendimento (%R) de óleo bruto extraído de carpa..

A FIGURA 3 apresenta os efeitos das interações dos fatores estudados sobre o rendimento (%R) do óleo bruto extraído de carpa.

Observa-se na FIGURA 3, o efeito da interação entre os fatores trituração (A) e tempo (C) sobre o rendimento. Pode ser observado na FIGURA 3a que a trituração do resíduo

influenciou de modo a diminuir o rendimento, independente do tempo utilizado, dentro da faixa estudada. Entretanto pode-se observar que no maior tempo utilizado, o efeito foi mais expressivo, esta diminuição do rendimento pode ser explicada pela formação de emulsão durante o processo de trituração e posteriormente durante a cocção. Quanto ao efeito de interação da trituração com a rotação (FIGURA 3e) é possível verificar o mesmo comportamento, porém na maior rotação a margem de rendimento apresenta-se um pouco superior a de menor rotação devido à diferença de força ×g aplicada. Esta interação foi uma das menos significativas juntamente com a trituração e vácuo (FIGURA 3b) sendo que o efeito da interação entre a trituração e o vácuo sobre o rendimento, ocasionou uma diminuição deste, independentemente da utilização ou não de vácuo, demonstrando assim como que a trituração juntamente com os demais efeitos tem forte influência no rendimento.Isto é devido a formação de emulsão na própria etapa, que pode se intensificar com a temperatura de cocção, demonstrado pela diminuição mais expressiva quando interage com o menor nível de pressão, que corresponde a uma temperatura maior de cocção.

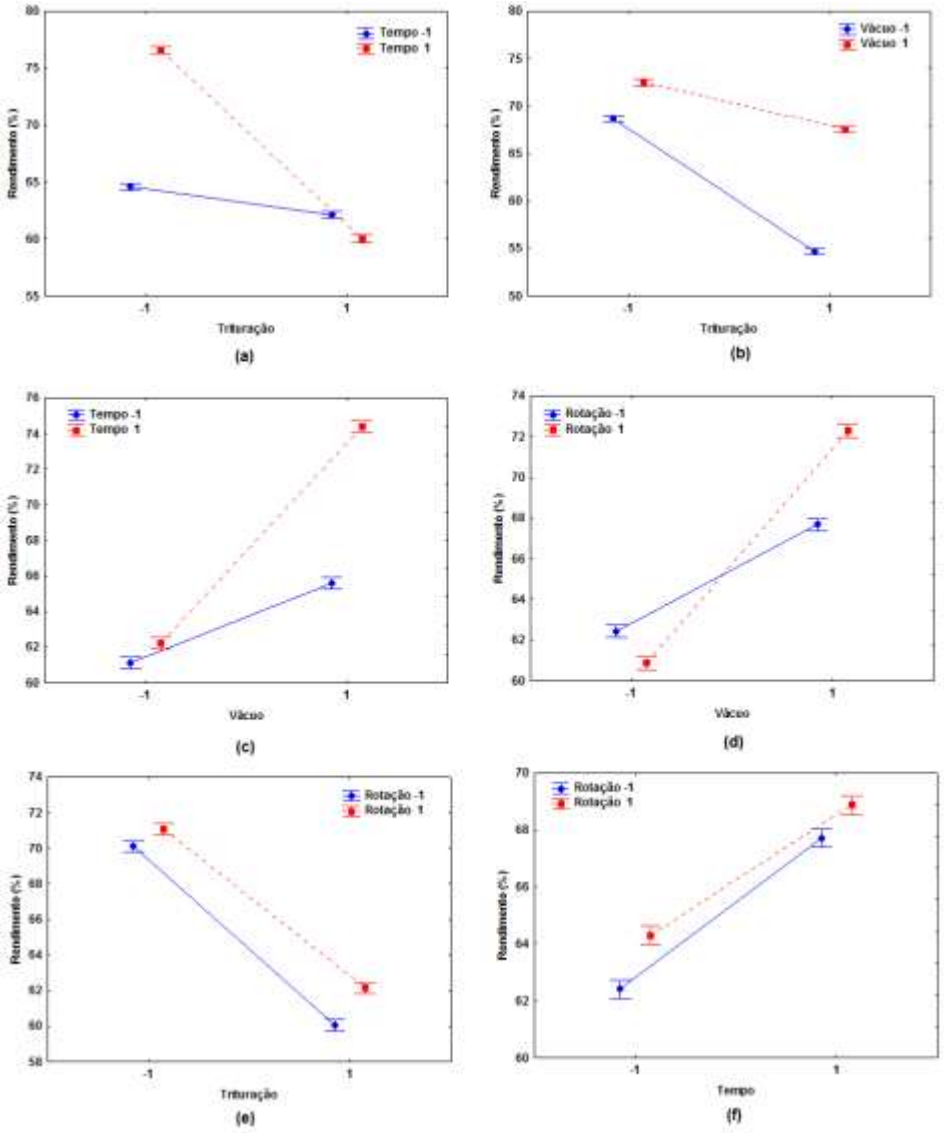

Figura 3: Gráfico dos efeitos de interação para a resposta rendimento (%R) do óleo bruto extraído de carpa.

O procedimento realizado sob vácuo aumentou o rendimento quando este interagiu com o tempo e a rotação, possivelmente pelo favorecimento da coagulação das proteínas e a quebra das membranas celulares. A força ×g empregada favoreceu a separação da fração sólida e líquida, sendo que o maior tempo e maior rotação quando interagindo com vácuo demonstraram maior significância, da mesma forma que pode ser observado ao interagir o fator tempo com rotação.

A FIGURA 4 apresenta os cubos de resposta dos experimentos para a resposta rendimento (%R), onde as arestas representam as variáveis e seus respectivos níveis, e nos vértices são apresentadas as respostas teóricas obtidas pela análise estatística. Observa-se

que a região de trabalho onde se obteve os maiores rendimentos foi onde não ocorreu trituração do resíduo (nível -1), no maior tempo (nível +1), maior rotação (nível +1) e sob vácuo (nível +1).

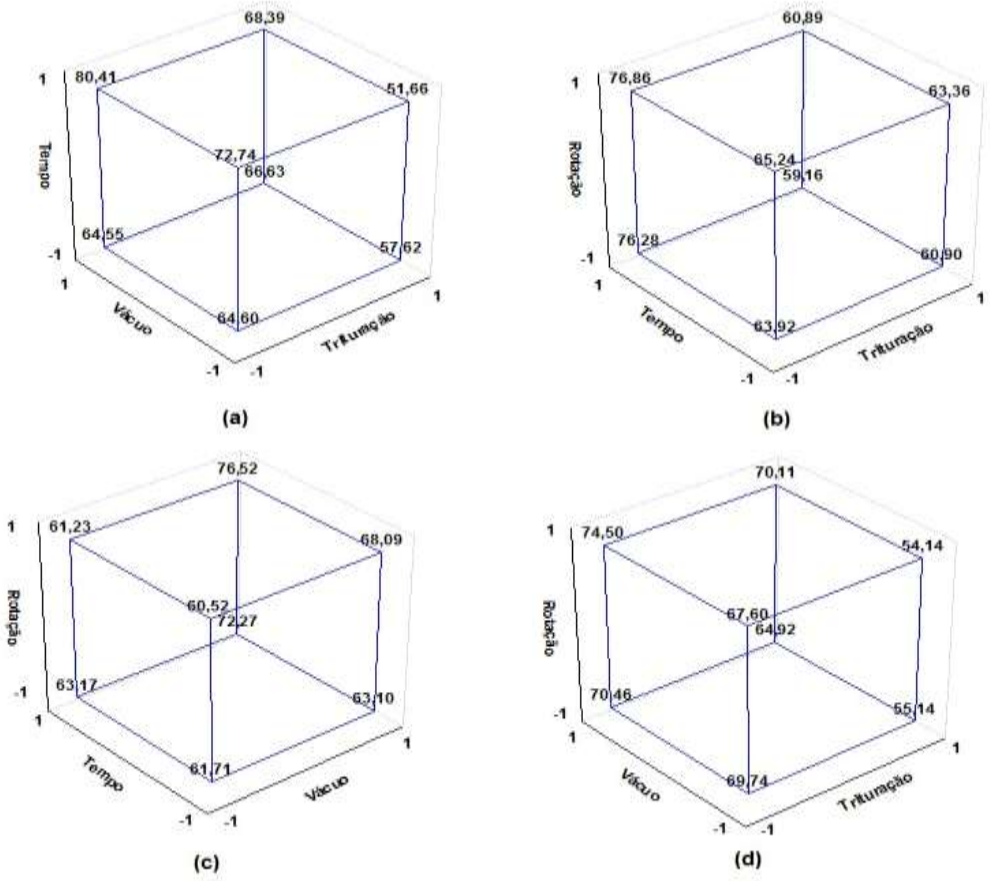

Figura4: Cubo de resposta para a resposta rendimento (%R) do óleo bruto extraído de carpa.

A FIGURA 5 apresenta o gráfico de Pareto para a resposta percentagem de ácidos graxos livres (%AGL) do óleo bruto extraído de carpa.

Observa-se na FIGURA 5 que para a resposta %AGL, os efeitos principais trituração (A), tempo (C) e rotação (D) foram significativos (P≤0,05), assim como as interações AC, AD, BC, BD e CD, sendo que o efeito principal (B) e a interação (AB) não foram significativos

Na FIGURA 6, que apresenta os efeitos principais dos fatores estudados na forma codificada na percentagem de ácidos graxos livres (%AGL) do óleo extraído, pode-se observar que o efeito principal vácuo (B) e a interação (AB) não foram significativos para a

resposta %AGL, já os demais efeitos principais e suas interações foram significativos sendo que a interação (CD) apresentou maior significância.

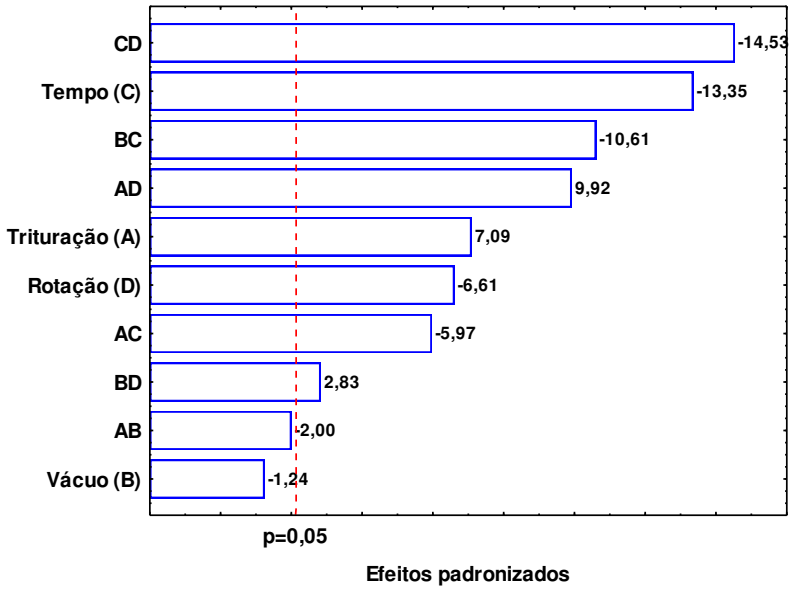

Figura 5: Gráfico de Pareto para a resposta %AGL do óleo bruto extraído de carpa.

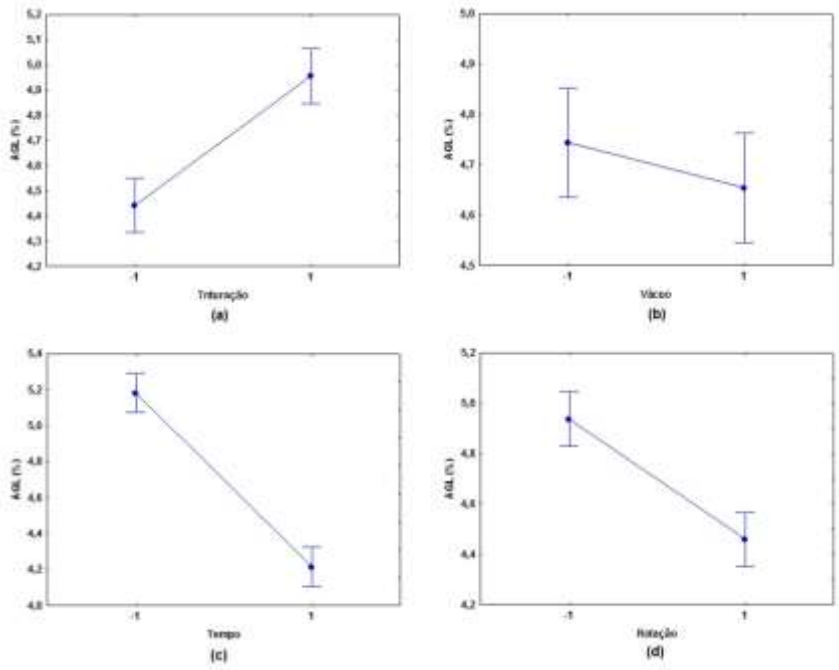

Figura 6: Gráfico dos efeitos principais para a resposta %AGL do óleo bruto extraído de carpa.

Considerando que o fator tempo (C) apresentou significância quanto ao rendimento do óleo extraído, justifica-se que as interações que envolvem este fator tenha apresentado significância na resposta % AGL. Este fato pode ser explicado, pois quanto maior a quantidade de óleo extraído, este apresenta menor probabilidade de sofrer transformações químicas que pequenas quantidades quando expostas ao calor.

Na FIGURA 6 pode-se observar que para as condições onde o resíduo não foi triturado, o índice de AGL permaneceu baixo em relação aos resíduos triturados, pois durante o processo podem ter ocorrido transformações físico-químicas ocasionando a liberação de AGL. O processo quando realizado sob vácuo ocasiona menor contato do resíduo com o oxigênio, diminuindo a possibilidade de ocorrer transformações químicas. No maior tempo (C) e na maior rotação (D), a quantidade de óleo extraída dificultou a ocorrência de transformações físico-químicas suficientes ao ponto de aumentar os AGL.

A FIGURA 7 apresenta os efeitos das interações dos fatores estudados sobre a percentagem de ácidos graxos livres (%AGL) do óleo extraído.

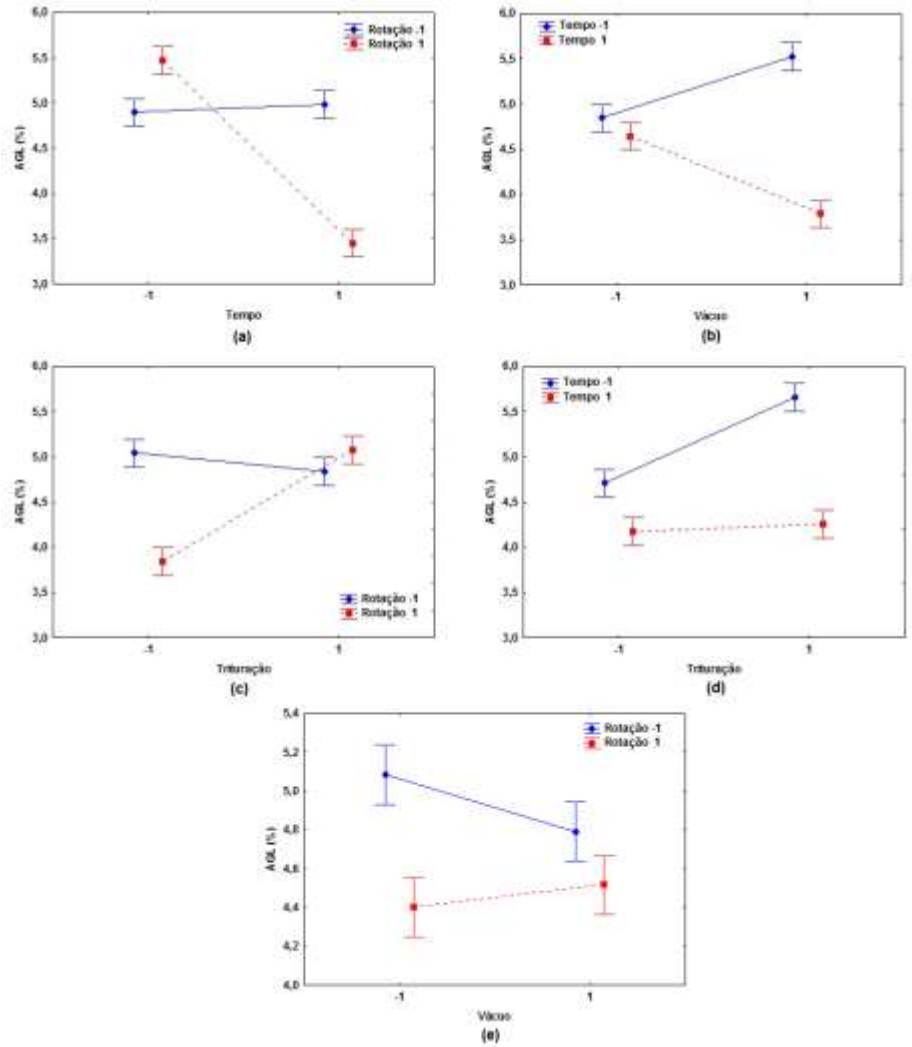

Figura 7: Gráfico dos efeitos de interação da %AGL do óleo bruto extraído de carpa.

Na FIGURA 7, quando foi utilizado a maior rotação (D) e o maior tempo (C), o percentual de AGL (%AGL) foi menor, ratificando que, a quantidade de óleo extraída não permitiu transformações suficientes ao ponto de aumentar os AGL. Desta forma relacionando a resposta rendimento das interações dos fatores (BC) para a resposta %AGL pode-se afirmar o mesmo fenômeno. A interação AD (FIGURA 7c) mostra que a trituração provoca um aumento na %AGL quando utilizada a maior rotação, isto ocorre provavelmente pela ação da agitação e das forças de cisalhamento que podem causar um aumento de temperatura, concomitante com a ruptura de cadeias, liberando assim AGL.

O efeito mais pronunciado ocorreu na maior rotação, embora a trituração cause um efeito negativo no rendimento, desta forma pode-se afirmar que a maior parte da liberação de AGL, se deu na trituração, o que pode ser observado na interação AC (FIGURA 7d) onde a quantidade de óleo extraído do resíduo triturado foi menor no maior tempo. Dentre as interações para a resposta AGL, a interação (BD) foi a menos significativa, porém o uso do vácuo colaborou para um efeito mais pronunciado na menor rotação onde o rendimento foi menor, provavelmente pela pouca exposição de oxigênio com o produto.

A FIGURA 8 apresenta os cubos de resposta para percentual de AGL (%AGL), onde as arestas representam as variáveis e seus respectivos níveis, e nos vértices são apresentadas as respostas teóricas obtidas pela análise estatística.

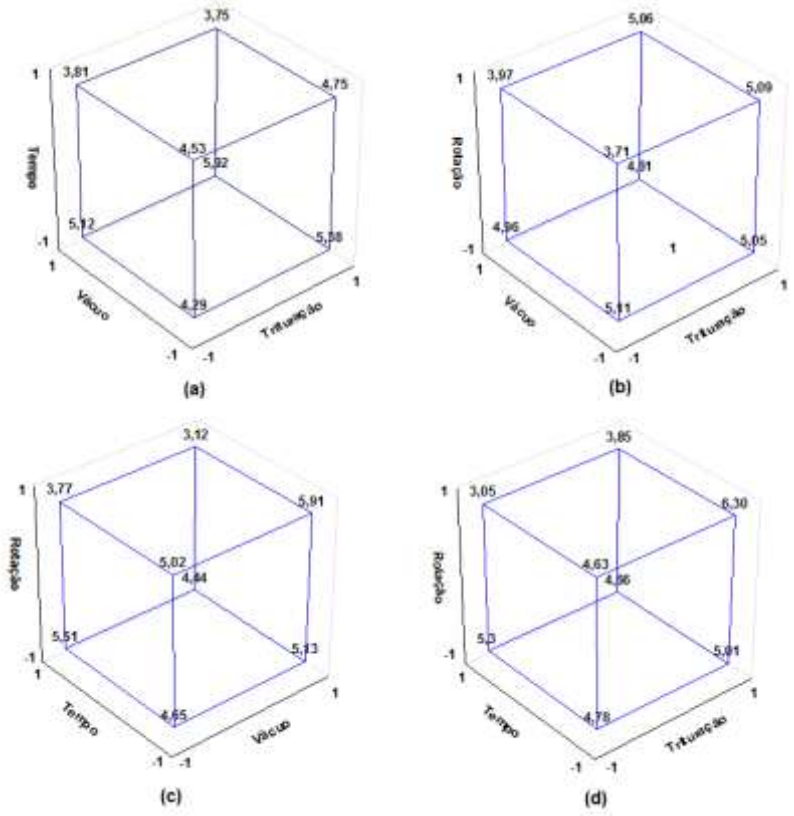

Figura 8: Cubo de resposta para a resposta %AGL do óleo bruto extraído de carpa.

Na FIGURA 8 é possível observar que a melhor região de trabalho apresenta-se no maior tempo (nível +1) e maior rotação (nível +1), o vácuo (nível +1) teve grande influência para manter o percentual de AGL baixo. Os maiores índices ocorreram onde o resíduo foi triturado (nível +1).

As análises cromatográficas foram realizadas nos experimentos que apresentaram maiores rendimentos, isto é, experimentos nº 5, nº 7, nº 13 e nº 16 da matriz de planejamento experimental fatorial (TABELA 2). Sendo que estes apresentaram percentuais de rendimento de 74, 78, 80 e 82% respectivamente.

A TABELA 3 apresenta o perfil graxo (%) dos óleos brutos, proveniente dos experimentos nº 5, nº 7, nº 13 e nº 16.

Tabela 3: Perfil graxo dos óleos obtidos nos experimentos de maior rendimento para óleo de resíduo de carpa.

Ácidos graxos	Experimento nº 5	Experimento nº 7	Experimento nº 13	Experimento nº 16
C12:0	-	0,22±0,01[a]	-	-

C14:0	2,55±0,16[a]	3,70±0,17[a]	2,91±0,23[a]	3,73±0,01[a]
C15:0	-	1,14±0,06[a]	0,89±0,09[a]	1,13±0,02[a]
C16:1	6,46±0,25[a]	7,44±0,21[a]	7,00±0,27[a]	7,86±0,03[a]
C16:0	21,86±0,28[a]	20,08±0,28[a]	19,63±0,29[a]	21,77±0,43[a]
C17:0	-	0,59±0,05[a]	0,79±0,04[a]	-
C18:2	8,86±0,19[a]	7,21±0,12[a]	10,70±0,07[a]	7,50±0,08[a]
C18:1c+C18:3	39,98±1,31[a]	37,28±1,12[a]	38,19±1,17[a]	39,0±0,70[a]
C18:1t	3,97±0,16[a]	3,16±0,11[a]	-	-
C18:0	7,01±0,16[a]	4,49±0,03[a]	6,13±0,11[a]	6,27±0,06[a]
C20:4 (AA)	1,86±0,06[a]	1,74±0,04[a]	1,53±0,02[a]	1,77±0,02[a]
C20:5 (EPA)	1,94±0,05[a]	2,91±0,02[a]	1,99±0,01[a]	2,67±0,01[a]
C20:3	-	0,52±0,03[a]	-	-
C20:1	-	1,62±0,06[a]	1,88±0,04[a]	1,99±0,04[a]
C20:0	-	-	-	-
C22:6ω3 (DHA)	2,06±0,02[a]	1,97±0,03[a]	1,67±0,01[a]	2,12±0,02[a]
C22:5	-	0,40±0,12[a]	0,69±0,03[a]	-
Total (%)	96.55±1,21[a]	90,85±1,55[a]	94,00±0,96[a]	95,80±1,05[a]
Σni**	3,45	6,15	6,00	4,22

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

Na TABELA 3 observa-se que, os maiores percentuais de ácidos graxos identificados nos óleos de carpa são C18:1+C18:3 (oléico e linolênico), C16:0 (palmítico), C16:1 (palmitoléico), C18:2 (linoléico), C18:0 (esteárico), constituindo aproximadamente 85% dos óleos brutos.

Os peixes requerem EPA e DHA e ácido araquidônico (AA), pois o alongamento e capacidade de dessaturação do ácido α-linolênico (18:3) são insuficientes para satisfazer as necessidades dos mesmos [17]. Na TABELA 3, observa-se que os conteúdos de DHA e de AA nos óleos provenientes dos experimentos são maiores que os citados por Crexi et al. [9], de 1,24%, 1,20% respectivamente. Porém, o conteúdo de EPA é menor que o citado pela autora (3,82%). A causa para esta variação nos resultados observados é devido, possivelmente à alimentação destes peixes. As variações na composição de ácidos graxos podem estar relacionadas por mudanças nos hábitos nutricionais dos peixes [3,7,10].

A TABELA 4 apresenta a classe de lipídios nos óleos brutos de carpa obtidos através do processo termomecânico.

Tabela 4: Classe de lipídios nos óleos brutos para os experimentos obtidos no maior rendimento.

Ácidos Graxos	Experimento nº 5	Experimento nº 7	Experimento nº 13	Experimento nº 16
∑AGS (%)	31,42	30,22	30,35	32,9
∑AGPI (%)	65,13	64,25	63,65	62,88
EPA + DHA (%)	4,00	4,88	3,66	4,79
∑NI (%)	3,45	6,15	6,00	4,22

∑ AGS: somatório de saturados; ∑ AGPI somatório de poliinsaturados; EPA + DHA: C20:5 + C22:6.

O ácido palmítico foi o ácido graxo saturado (AGS) mais abundante. Em geral, o conteúdo de AGS (<30%) nos peixes é relativamente baixo, com exceção de certas espécies. Crexi et al. [9] ao extrair óleo de carpa pelo processo termomecânico e ensilagem ácida encontrou em torno de 28,9%, sendo que nos quatro experimentos mais adequados os valores de AGS ficaram em torno de 31,2% (TABELA 4). O ácido oléico foi o ácido graxo monoinsaturado (AGM) encontrado em maior abundância nos óleos provenientes dos experimentos.

Utilizando as melhores condições estudadas no planejamento experimental, foram realizados dois tratamentos para extração de óleo, tendo como matéria-prima resíduos de anchoita (*Engraulis anchoita).*

A TABELA 5 apresenta o perfil graxo (%) do óleo bruto extraído a partir de resíduos de anchoita. Constituindo em torno de 87,5% do óleo, os ácidos graxos mais encontrados no óleo de anchoita são C14:0 (mirístico), C16:1 (palmitoléico), C16:0 (palmítico), C18:1+C18:3 (oléico e linolênico), C18:0 (esteárico), EPA e DHA (TABELA 5).

Assim como foi observado no óleo de carpa, os AGS mais encontrados no óleo de anchoita são o ácido palmítico (C16:0), seguido pelo ácido mirístico (C14:0) e pelo esteárico (C18:0).

Tabela 5: Perfil graxo do óleo de anchoita extraído em tempos de 20 e 30 min de processo.

Ácidos graxos	Anchoita (20 min de extração)	Anchoita (30 min de extração)
C12:0	-	-
C14:0	6,69±0,34ª	8,35±0,2ª

C15:0	0,56±0,09[a]	-
C16:1	5,60±0,08[a]	6,99±0,13[a]
C16:0	24,38±1,08[a]	25,98±0,54[a]
C17:0	0,44±0,03[a]	-
C18:2	1,44±0,10[a]	1,79±0,05[a]
C18:1c+C18:3	12,58±0,26[a]	14,29±0,27[a]
C18:1t	2,25±0,29[a]	2,09±0,02[a]
C18:0	4,05±0,17[a]	4,09±0,10[a]
C20:4 (AA)	0,49±0,00[a]	-
C20:5 (EPA)	7,92±0,08[a]	8,04±0,08[a]
C20:3	-	-
C20:1	-	-
C20:0	0,79±0,01[a]	0,70±0,02[a]
C22:6ω3 (DHA)	24,71±0,02[a]	21,42±0,11[a]
C22:5	0,84±0,05[a]	0,83±0,08[a]
Total (%)	92,43±1,36[a]	94,58±0,51[a]
Σni**	7,57	5,42

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

A TABELA 6 apresenta a classe de lipídios no óleo bruto extraído a partir de resíduos de anchoita através do processo termomecânico Nesta tabela pode-se observar que o total de AGS ficou nem torno de 38%, valor superior ao óleo de carpa que apresentou um percentual em torno de 31,2%. O ∑ AGPI foi inferior ao encontrado no óleo de carpa, porém a quantidade média de EPA+DHA (31%) foi em torno de sete vezes maior que o de carpa. Este valor é muito superior ao encontrado no óleo de corvina (11,5%), um pouco superior ao óleo de sardinha (25-30%) e inferior ao óleo de albacore (36,7%), valores estes da literatura [8,18].

Tabela 6: Classe de lipídios no óleo bruto extraído de resíduos de anchoita.

Acidos Graxos	Anchoita (20 min de extração)	Anchoita (30 min de extração)
∑AGS (%)	36,91	39,12
∑AGPI (%)	55,83	55,45
EPA+DHA (%)	32,63	29,46
NI (%)	7,57	5,42

∑ AGS: somatório de saturados; ∑ AGPI somatório de poli-insaturados; EPA + DHA C20:5 + C22:6.

3.3 Caracterização do material sólido

O material sólido resultante dos processos termomecânicos na melhor condição considerada a partir da resposta rendimento (experimento nº 16) e na condição semelhante ao processo utilizado na indústria, apresentaram valores de umidade de 57,2±1,0% e 63,7±1,2%, proteína 17,9±0,9% e 24,2±1,1% e cinzas 10,0±0,3 e 3,0±0,5, respectivamente. Já o percentual de lipídios foi de 14,8±1,2% para o experimento nº 16, e 9,0±1,5% para o processo tradicional de extração.

O resultado obtido para solubilidade protéica em meio aquoso da farinha de pescado para o processo tradicional apresentou um valor de 41,8±2,0%, já em meio ácido a solubilidade protéica foi de 48,6±1,7%. Na melhor condição estudada, a solubilidade protéica da farinha em água foi de 60,2±1,3% e em meio ácido de 62,4±1,8%, demonstrando dessa forma, que o processo realizado nas condições estabelecidas no planejamento experimental promoveu menor desnaturação da proteína, produzindo uma farinha de melhor qualidade funcional.

4. CONCLUSÕES

Para a extração do óleo bruto de resíduos de carpa, através do processo termomecânico de obtenção de farinha observou-se, através de análise estatística, que para um maior rendimento e menores percentuais de AGL do óleo obtido, os resíduos não devem ser triturados e a extração deve ser feita sob vácuo de 700 mmHg. O melhor tempo de extração foi de 30 min e a centrifugação de 10000 ×g.

Os maiores conteúdos de ácidos graxos identificados nos óleos de carpa obtidos nos experimentos foram palmítico, palmitoléico, esteárico, oléico, linoléico, e linolênico, constituindo aproximadamente 85% dos óleos. O teor de AGS foi em torno de 31,2%, sendo o palmítico o ácido graxo saturado (AGS) mais abundante. Os conteúdos de AGPI dos óleos obtidos variaram de 62,9% a 65,1%

Na extração de óleo de anchoita, não houve diferença significativa (P≤0,05) para os diferentes tempos de extração. Os ácidos graxos mais encontrados no óleo de anchoita foram mirístico, palmítico, palmitoléico, esteárico oléico e linolênico, estes constituiram em torno de 87,5% do óleo. O somatório de AGPI foi em torno de 55,5%, sendo que o valor de EPA+DHA foi aproximadamente 31,0%. Desta forma foi possível verificar que as condições estabelecidas

anteriormente, para a extração de óleo de resíduos de anchoita pelo processo termomecânico de obtenção de farinha, preservaram as características do óleo.

O resíduo sólido após a extração, na condição de maior rendimento, apresentou 57,2±1,0% de umidade, proteína 17,9±0,9% e cinzas 10,0±0,3. O percentual de lipídios foi de 14,8±1,2% e as solubilidades protéica em água e em meio ácido foram de 60,2±1,3% e 62,4±1,8%, respectivamente.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] AOAC. **Official Methods of Analysis.** (16th ed). Arligton, Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemists, 1995.

[2] AOCS. AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Official and Tentative Methods of AmericanOil Chemists' Society**, 3rd edn. Champaig, IL, USA, AOCS, 1980.

[3] ARTS, M. T.; ACKMAN, R. G; HOLUB, B. J. Essential fatty acids in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 58, p.122-137, 2001.

[4] ARVANITOYANNIS, I. S.; KASSAVETI, A. Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 43, p. 726-745, 2008.

[5] BERTOLDI, F. C. **Efeito do Lactobacillus caseisubsp. casei ATCC 393 na redução do sabor amargo da carne escura de atum**. 61p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, 2003.

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

[7] BORLONGAN, I. G.; BENITEZ, L. V. Lipids and fatty acid composition of milkfish (*Chanoschanos Forsskal*) grown in freshwater and seawater. **Aquaculture**, v. 104, p. 79-89, 1992.

[8] BRODY, J. **Fisheries by-products technology**. The AviPublishing, 18, 1965.

[9] CREXI, V. T.; MONTE, M. L.; SOUZA-SOARES, L. A.; PINTO, L. A. A. Production and refinement of oil from carp (*Cyprinus carpio*) viscera. **Food Chemistry**, v. 119, p. 145-150, 2010.

[10] de SILVA, S. S.; GUNASEKERA, R. M.; AUSTIN, C. M. Changes in fatty acid profile of hybrid red tilapia *Oreochromis mossambicus* X. O. niloticus, subjected to short-term

starvation and comparison with changes in seawater raised fish. **Aquaculture**, v. 153, p. 273-290, 1997.

[11] FELTES, M. M. C.; PITOL, L. O.; CORREIA, J. F. G.; GRIMALDI, R.; BLOCK, J. M.; NINOW, J. L. Incorporation of medium chain fatty acids into fish oil triglycerides by chemical and enzymatic interesterification. **Grasas y Aceites**, v. 60, n. 2, p.168-176, 2009.

[12] FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The state of world fisheries and aquaculture**. 2010. Disponível em: http://www.globefish.org/fish-oil-november-2009.html. Acesso em 05 maio. 2012.

[13] FOURNIER, V.; DESTAILLATS, F.; HUG, B.; GOLAY, P. A., JOFFRE, F.; JUANEDA, P. Quantification of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid geometrical isomers formed during fish oil deodorization by gas–liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1154, p. 353-359, 2007.

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

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

[16] METCALFE, L. D..; SCHIMITZ, A. A.; PELKA, J. R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 38, p. 510, 1966.

[17] MILLER, M. R.; NICHOLS, P. D.; CATER, C. G. Replacement of fish oil with thraustochytrid Schizochytrium sp. L oil in Atlantic salmon parr (*Salmosalar* L) diets. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 148, p. 382-392, 2007.

[18] MONTE, M. L.; PAIM, R. M.; RIZZI, J.; TAVARES, J. L. S.; PINTO, L. A. A. Obtenção de óleo de pescado com alto valor agregado a partir do aproveitamento de resíduos de corvina e anchoita. In: **XIX Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ**, 2012, Búzios - RJ.

[19] MORR, C. V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J. E.;REGENSTEIN, J. E.; VAN BUREN, J. P.; KILARA, A.; LEWIS, B. A.; MANGINO, M. E. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**, v. 50, n. 6, p. 1715-1718, 1985.

[20] PESSATTI, M. L. **Aproveitamento dos sub-produtos do pescado**. Itajaí, Brasil, MAPA/UNIVALI, 2001. 130p.

[21] WINDSOR, M.; BARLOW, S. **Introducion a los subproductos de pesqueria**. Zaragoza, ,España, Editorial Acríbia. p. 4-35; p. 84-97; p. 180-201, 1984.