



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

MARIANA LARA MENEGAZZO

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIODIESEL OBTIDO VIA  
ROTA ETÍLICA A PARTIR DE ÓLEO BRUTO DE RESÍDUOS DE  
PESCADO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
AMBIENTAL

**DOURADOS/MS  
MARÇO/2012**

**MARIANA LARA MENEGAZZO**

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIODIESEL OBTIDO VIA  
ROTA ETÍLICA A PARTIR DE ÓLEO BRUTO DE RESÍDUOS DE  
PESCADO**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. GUSTAVO GRACIANO FONSECA**

Dissertação de mestrado submetida ao programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, como um dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia na área de concentração em Tecnologia Ambiental.

**DOURADOS/MS  
MARÇO/2012**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD**

597.0981 Menegazzo, Mariana Lara.  
M541p Produção e caracterização de biodiesel obtido via rota etílica a partir de óleo bruto de resíduos de pescado / Mariana Lara Menegazzo. – Dourados, MS : UFGD, 2012.  
103 f.


Orientador: Prof. Dr. Gustavo Graciano Fonseca.  
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados.


1. Peixe – Produção de óleo. 2. Biodiesel. 3. Resíduos de pescado. I. Título.

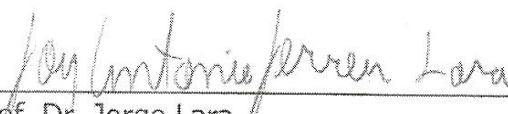


## Termo de Aprovação

Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer APROVADO, para a dissertação intitulada: “**Produção e Caracterização de Biodiesel Obtido Via Rota Etílica à Partir de Óleo Bruto de Resíduos de Pescados**”, de autoria de Mariana Lara Menegazzo, apresentada ao Programa de Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Gustavo Graciano Fonseca  
(Orientador-UFGD)  
Presidente da Banca Examinadora

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Pierre Correia Martins  
Membro Examinador (UFGD)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Jorge Lara  
Membro Examinador (EMBRAPA PANTANAL)

Dourados/MS, 30 de março de 2012.

ENERGIA E OBJETIVIDADE!!!

## AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por sempre iluminar meu caminho;

Ao **papito** Márcio e **mãe Eudinéia**, por sempre incentivarem os estudos em nossa família e apoio eterno; Ao meu irmão **Miguel** e minha afilhada **Renatinha** que me animam a estudar continuamente!

Ao meu marido **Cleber Wilian** por me trazer até aqui!

Aos super amigos **Cinthia, Ligia, Keurison, Perla, Marcelo e Maria Eugenia** por alegrarem a minha vida, pela amizade inimaginável e contribuição aos trabalhos acadêmicos e não acadêmicos;

Ao **grupo de pesquisa**, por fornecerem material para o meu trabalho e muitas vezes me auxiliar para produzir grandes quantidades de óleo e por darem continuidade aos trabalhos;

Ao **Prof. Dr. Gustavo Graciano Fonseca (ggf)**, pela orientação, incentivo e colaboração na realização deste trabalho e mais ainda por contribuir para ao meu crescimento acadêmico, profissional e pessoal;

Aos companheiros do mestrado, **Turma 2010 e Turma 2011**; Aos técnicos do laboratório, **Priscilla, Klerisson e Marcão** por auxiliarem nas análises e nos materiais;

Ao frigorífico **Mar & Terra** por disponibilizar o pescado para o trabalho;

Aos amigos **Rogério e André** da Biocar pelas análises e projetos;

Aos meus amigos e parceiros, **Reginaldo, José Neves, Cássia, Aretuza e Rosilene** por aceitarem e participarem da minha vida acadêmica-profissional;

Os meus sinceros agradecimentos, a todos aqueles que contribuíram diretamente e indiretamente para a realização deste trabalho.

## LISTA DE ABREVIATURAS

AGL.....	Ácidos graxos livres
ANP.....	Agencia Nacional do Petróleo, Gas Natural e Biocombustíveis
ANVISA.....	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
C6 .....	ácido capróico
C8 .....	ácido caprílico
C10 .....	ácido cáprico
C12 .....	ácido laurico
C14 .....	ácido mirístico
C16 .....	ácido palmítico
C16:1(n7).....	ácido palmitoléico
C17 .....	ácido margárico
C17:1(n8).....	ácido margaroléico
C18 .....	ácido esteárico
C18:1(n9).....	ácido oléico
C18:1(n7).....	ácido vascênico
C18:1(n6).....	<i>cis6. cis9</i> - ácido octadecadienóico
C18:2(n6).....	ácido linoléico
C18:3(n6).....	ácido linolênico
C20 .....	ácido araquídico
C20:1(n11).....	ácido gadoléico
C20:1(n7).....	<i>cis11</i> - ácido eicosenóico
C22 .....	ácido behênico
C22:1(n9).....	ácido erúico
C24 .....	ácido lignocérico
CCD .....	Cromatografia em camada delgada
CMS .....	Carne mecanicamente separada
CNPE .....	Conselho Nacional de Política Energética
DHA .....	Ácido docosa-hexaenóico
DOU .....	Diário Oficial da União
EPA.....	Ácido eicosapentaenóico
FAO.....	<i>Food and Agriculture Organization</i>

min. .... Minutos  
PEAD ..... Polietileno de alta densidade  
TG ..... Triglicerídeo  
 $\omega$  ..... Omega



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 3.1.</b> Classificação dos óleos origem e obtenção.....	21
<b>Tabela 4.1.</b> Refino do óleo de pescado – Condições operacionais .....	39
<b>Tabela 4.2.</b> Caracterização dos óleos brutos de pescado.....	41
<b>Tabela 4.3.</b> Caracterização dos óleos de pescado bruto e refinado de tilápia do Nilo.....	46
<b>Tabela 4.4.</b> Caracterização dos óleos de pescado bruto e refinado de pintado híbrido.....	46
<b>Tabela 4.5.</b> Composição de ácidos graxos para óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido .....	52
<b>Tabela 4.6.</b> Avaliação da qualidade do óleo de tilápia do Nilo.....	65
<b>Tabela 4.7.</b> Avaliação da qualidade do óleo de pintado híbrido .....	65
<b>Tabela 4.8.</b> Caracterização dos óleos bruto de tilápia do Nilo e de pintado híbrido.....	83
<b>Tabela 4.9.</b> Rendimentos do biodiesel etílico para tilápia do Nilo e pintado híbrido.....	86
<b>Tabela 4.10.</b> Rendimentos do biodiesel metílico para tilápia do Nilo e pintado híbrido.....	87
<b>Tabela 4.11.</b> Caracterização dos biodieseis etílicos de tilápia do Nilo e pintado híbrido.....	90
<b>Tabela 4.12.</b> Caracterização dos biodieseis metílicos de tilápia do Nilo e pintado híbrido .....	91

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 4.1.</b> Fluxograma do processo de extração de óleo bruto de pescado..	37
<b>Figura 4.2.</b> Comportamento do óleo de pescado durante o refino para os parâmetros de qualidade. ....	47
<b>Figura 4.3.</b> Comportamento do óleo de pescado durante o refino para os parâmetros de identidade. ....	48
<b>Figura 4.4.</b> Teor de lipídios durante o processamento do óleo.....	50
<b>Figura 4.5. a)</b> Cocção da gordura de pescado em banho-maria; <b>b)</b> óleo de tilápia do Nilo; <b>c)</b> óleo de pintado híbrido. ....	63
<b>Figura 4.6.</b> Variação de AGL durante o armazenamento do óleo de tilápia do Nilo e pintado híbrido .....	66
<b>Figura 4.7.</b> Variação do Índice de Peróxido durante o armazenamento do óleo de tilápia do Nilo e pintado híbrido .....	68
<b>Figura 4.8.</b> Variação dos Índices de Iodo, de Saponificação, de Refração e densidade durante o armazenamento dos óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido. ....	70
<b>Figura 4.9.</b> Variação do teor de lipídios totais durante o armazenamento dos óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido .....	72
<b>Figura 4.10.</b> Rendimentos de biodiesel etílico e metílico de tilápia do Nilo e pintado híbrido .....	86

## Resumo

**MENEGAZZO, Mariana Lara;** Produção e caracterização de biodiesel obtido via rota etílica a partir de óleo bruto de resíduos de pescado. **Dissertação (mestrado) 2011;** A busca por aproveitamento de resíduos e por fontes de energia renováveis tem-se tornado peça-chave, haja vista a utilização de subprodutos e coprodutos da industrialização. Este trabalho está diretamente relacionado à estas questões através do aproveitamento dos resíduos gordurosos extraídos da produção de concentrado protéico de carne mecanicamente separada. Foram estudados os resíduos gordurosos de tilápia do Nilo e pintado híbrido, peixes com forte presença regional. Durante a elaboração de concentrado protéico de pescado, há um agrupamento das proteínas e remoção de impurezas e resíduos gordurosos, quando estes resíduos são aquecidos a baixa temperatura, se liquefazem na forma de óleo bruto de pescados de alta qualidade, visto que os processos de rancidez hidrolítica e oxidativa ainda não se estabeleceram e são confirmados pelos baixos índices de acidez, ácidos graxos livre, índice de peróxido e umidade. A composição em ácidos graxos dos óleos de pescado apresentaram forte presença de ácido oléico, 31,5% seguido de palmítico (25,54%) para tilápia do Nilo e para o óleo de pintado híbrido as maiores presenças foram de ácido oléico com 27,84% e ácido palmítico 22,74%. Observou-se que para o óleo de pintado híbrido a presença de Omega 3 foi de 10%. Quando estes óleos brutos passaram por processos de refino químico com degomagem, neutralização, lavagem, secagem, clarificação e filtração, sua qualidade foi impactada, de forma mínima, como mostrado pelo índice de peróxido que teve um acréscimo, entretanto sua identidade não foi alterada significativamente como constatada pelos índices de iodo, saponificação e refração e pela análise cromatográfica. No estudo realizado com os óleos brutos de pescados para verificar seu comportamento durante estocagem por 180 dias a baixa temperatura (-18°C), verificou-se um comportamento semelhante para ambos os óleos e após 105 dias os óleos iniciaram um processo de degradação chegando a um teor de ácidos graxos livres abaixo de 1,5% e índice de peróxido não excedeu 6 meq/kg, tornando este óleo ainda dentro dos padrões estabelecidos pela ANVISA quando comparados com óleos vegetais. A produção de biodiesel a partir de óleos brutos de pescados ofereceu resultados satisfatórios quando utilizado etanol e KOH como agentes da reação de transesterificação. A melhor reação ocorreu com razão molar de 1:6 (óleo:álcool) e 0,5% de catalisador tanto para tilápia do Nilo como pintado híbrido. Os rendimentos para biodiesel de tilápia do Nilo foram maiores, chegando a 92%, enquanto que para biodiesel de pintado híbrido, não ultrapassou 84%. Quanto a constatação da reação de transesterificação do biodiesel, utilizou-se 2 métodos diferentes para detectar esta ocorrência sendo, cromatografia em camada delgada e teor de óleo no biodiesel, métodos amplamente utilizados nas indústrias de biodiesel. A qualidade do biodiesel foi determinada para os parâmetros de acidez, peróxido, iodo, refração e umidade, sendo que alguns desses parâmetros estão previstos nas normas de qualidade para biodiesel da ANP e em todos os experimentos realizados, os biodieseis se mantiveram dentro do padrão estabelecido.

**Palavras-chave:** lipídios, pescados de água doce, resíduos, biocombustível.

## Abstract

**Menegazzo, Mariana Lara**, Production and characterization of ethyl biodiesel obtained from fish waste. Master Thesis 2011.

The search for waste recovery and renewable energy sources has become a key player in several studies both in public and private entities, given the use of co-products in industry and academic research. This work is directly related to these issues mainly by the use of grease extracted from the production of protein concentrate mechanically separated meat for use as biofuel. We studied fatty residues of Nile tilapia and painted fish with a strong regional presence. These residual low temperature when heated, is in the form of oil liquefied raw fish of high quality, since processes hydrolytic and oxidative rancidity of not yet been established, as confirmed by low acidity, FFA, peroxide and moisture and fatty acid composition, with a strong presence of oleic acid (31.5%) followed by palmitic (25.54%) for Nile tilapia to the oil already painted the major presence of oleic acid were also with 27.84% palmitic acid and 22.74%. When these crude oils have undergone chemical refining processes, their quality has been affected, even if it is minimal, since the peroxide had an increase, though his identity was not significantly altered by the observed iodine value, saponification and refraction and the chromatographic analysis suffered slight changes. A study of crude oils of fish to determine their behavior during storage at low temperature, there was a similar behavior and 105 days after the oil began a process of degradation and FFA were below 1.5% and the peroxide does not exceeded 6 mEq / kg, making this oil still within the standards established by ANVISA compared with vegetable oils. The production of biodiesel from crude oils of fish gave excellent results when used ethanol and KOH as agents of the transesterification reaction. The best response occurred with molar ratio of 1:6 (oil: alcohol) and 0.5% catalyst for both Nile tilapia as painted. Yields for biodiesel Nile tilapia were higher, reaching 92%, while for biodiesel painted, did not exceed 84%. When the transesterification reaction of biodiesel, we used two different methods to detect this occurrence is, thin layer chromatography and fractions of oil into biodiesel, methods widely used in industries such as biodiesel, besides the drastic change in color in the opening minutes of the reaction. When the quality of biodiesel, these were characterized in acidity, peroxide, iodine, refraction and moisture, and some of these parameters are set quality standards for biodiesel and the ANP in all the experiments biodiesel were within the standard.

**Keywords:** oil, fresh waterfish, waste, biofuel.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
Resumo.....	ix
Abstract.....	x
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2 OBJETIVO GERAL.....	15
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1 PESCADOS DE ÁGUA DOCE.....	16
3.2 INDUSTRIALIZAÇÃO DO PESCADO.....	18
3.3 ÓLEO DE PESCADO.....	20
3.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ÓLEOS.....	22
3.5 REFINO DOS ÓLEOS.....	24
3.6 BIODIESEL.....	26
4 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO.....	30
4.1 ARTIGO 1 - PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS ÓLEOS BRUTO E REFINADO OBTIDOS A PARTIR DE COPRODUTOS DO PROCESSAMENTO DOS PESCADOS TILÁPIA E PINTADO HÍBRIDO.....	30
4.2 ARTIGO 2 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS OLEOS DE TILÁPIA DO NILO E PINTADO HÍBRIDO DURANTE ARMAZENAMENTO A BAIXA TEMPERATURA.....	59
4.3 ARTIGO 3 - PRODUÇÃO DE BIODIESEL VIA ROTAS ETÍLICA E METÍLICA A PARTIR DE ÓLEOS BRUTOS DE PESCADOS.....	76
5 CONCLUSÕES GERAIS.....	99
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100

## 1 INTRODUCAO GERAL

O resíduo gerado pelas indústrias de pescado representa entre 50 e 70% da matéria-prima e o aproveitamento deste material é necessário para a redução do impacto ambiental gerado pelo seu descarte. O aproveitamento dos resíduos está sendo uma prática corrente nos diversos setores produtivos brasileiros (SUCASAS, 2011).

Estes resíduos podem ser destinados ao consumo humano sob a forma de aparas comestíveis e podem ser utilizados para produção de concentrados protéicos e farinhas de peixe. Os resíduos que não possuem qualidade para um destino nobre podem ser utilizados para produção de silagem ácida de pescado, como fertilizante ou como ingrediente para ração animal. Uma alternativa para o aproveitamento destes resíduos, principalmente oriundos da filetagem de pescados, é a obtenção da carne mecanicamente separada (CMS), com a qual se pode elaborar uma série de produtos, e.g. concentrado protéico, surimi e salsicha (NEIVA, 2006; FELTES et al., 2010).

Os óleos de pescado extraídos por processos convencionais são utilizados na alimentação animal, visto que seu baixo custo e alta qualidade nutricional não afetam o desempenho produtivo quando comparadas àquelas formuladas com alimentos convencionais. Podem ainda serem utilizados na elaboração de tintas e solventes e para produção do biodiesel, que pode ser uma fonte de energia alternativa, visto que sua obtenção se dá a partir de fontes renováveis, com a produção de menor quantidade de poluentes que o diesel do petróleo (FUKUDA et al., 2001). Por sua vez, o óleo de pescado obtido durante a produção de concentrado protéico a partir de CMS apresenta alta qualidade, podendo ser utilizado para consumo humano, quando manipulado adequadamente (MENEGAZZO et al., 2010).

O biodiesel é um combustível proveniente de fontes renováveis, como óleos vegetais, gorduras animais ou biomassa microbiana, incitados por um catalisador que reagem com o álcool metílico ou etílico. Existem diferentes espécies de oleaginosas no Brasil das quais se pode produzir o biodiesel, entre elas mamona, dendê, girassol, babaçu, soja e algodão.

Esse combustível destaca-se por ter diversas vantagens em relação ao diesel convencional, como ser mais seguro em relação ao armazenamento e transportes, renovável, não tóxico e biodegradável, além de conter quantidades insignificantes de enxofre e ter maior lubrificidade, o que diminui a poluição ambiental e aumenta a vida útil dos motores diesel, respectivamente. Os benefícios ambientais com o uso do biodiesel podem gerar vantagens econômicas para o país, enquadrando-o também no mercado de carbono (LIMA, 2004).

Desde 1º de janeiro de 2010, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 5% de biodiesel. Esta regra foi estabelecida pela Resolução nº 6/2009 do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), publicada no Diário Oficial da União (DOU) em 26 de outubro de 2009, que aumentou de 4% para 5% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel. A contínua elevação do percentual de adição de biodiesel ao diesel demonstra o sucesso do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel e da experiência acumulada pelo Brasil na produção e no uso em larga escala de biocombustíveis (ANP, 2011). A extensão do uso de biodiesel no mercado brasileiro e mundial assegura grande oportunidade para o setor agroindustrial.

Para garantir a qualidade do biodiesel é necessário estabelecer padrões que fixem teores limites dos contaminantes que possam prejudicar a qualidade das emissões da queima, bem como o desempenho e a integridade do motor e a segurança no transporte e no manuseio. Devem ser monitoradas também possíveis degradações do produto durante o processo de estocagem (LOBO et al., 2009). As especificações para biodiesel no Brasil são reguladas pela Resolução ANP 7, de 19 de março de 2008, e são menos restritivas que a

Norma Europeia, para permitir a produção do biodiesel com base em diversas matérias primas.

Atualmente existem 65 plantas produtoras de biodiesel autorizadas pela ANP para operação no país, correspondendo a uma capacidade de produção total autorizada de 18.977,95 m<sup>3</sup>/dia. Destas 65 plantas, 61 possuem autorização para comercialização do biodiesel, correspondendo a 18.050,25 m<sup>3</sup>/dia de capacidade autorizada para comercialização. Há ainda 10 novas plantas de biodiesel autorizadas para construção e 7 plantas de biodiesel autorizadas para ampliação de capacidade. Com a finalização das obras e posterior autorização para operação, a capacidade total autorizada poderá ser aumentada em 4.627,79 m<sup>3</sup>/dia (ANP, 2012). Segundo o boletim mensal de janeiro de 2012 publicado pela ANP, as principais matérias primas utilizadas para produção de biodiesel foram óleo de soja (71,13%), gordura bovina (18,66%). As fontes vegetais ficaram em 76,85%, gorduras animais em 19,07% e outras matérias graxas em 4,08%. Esses dados mostram que ainda se tem mercado para expansão e para utilização de gorduras e óleos de origem animal, a destacar o óleo de pescado.

O óleo de pescado é usado basicamente em curtumes, na fabricação de tintas e vernizes, como lubrificante, impermeabilizante, ou seja, são comercializados como produtos de pouco valor agregado, porém reconhecidos mundialmente como nobres e de alto valor fisiológico para o corpo humano, pois apresentam, além dos ácidos graxos essenciais (AUGUSTO-RUIZ et al., 1997) sendo de grande importância que o óleo mantenha suas qualidades e tenha maior tempo de estocagem.



## **2 OBJETIVO GERAL**

O presente trabalho visou a obtenção de óleo bruto de pescados (tilápia do Nilo e pintado híbrido) e avaliação de métodos para utilização e armazenamento destes óleos como refino químico, biodiesel e estocagem a baixa temperatura, para verificar as oportunidades e desafios que o óleo de pescado apresenta.

### **2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Os objetivos específicos foram:

- Desenvolver metodologia alternativa para extração de óleo bruto de pescado;
- Avaliar a qualidade do óleo bruto de pescado;
- Estudar e avaliar a metodologia de refino químico para óleos brutos de pescado;
- Avaliar a qualidade do óleo bruto de pescados após o refino químico;
- Avaliar a qualidade e a identidade do óleo bruto de pescado durante 180 dias de armazenado a baixa temperatura;
- Estudar a metodologia de transesterificação etílica e metílica do óleo de resíduos de pescado utilizando hidróxido de potássio como catalisador;
- Caracterizar os biodieseis obtidos.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 PESCADOS DE ÁGUA DOCE

O pescado de água doce é de extrema importância na dieta alimentar de inúmeros grupos populacionais brasileiros, possuindo diversos componentes com significativo valor nutricional, como as proteínas e lipídios (RAMOS FILHO, 2008). O pescado é rico em micronutrientes, minerais, ácidos graxos essenciais e proteínas, os quais proporcionam vários efeitos benéficos sobre importantes fatores fisiológicos, representando um valioso complemento em dietas pobres em tais nutrientes (ELVEVOLL et al., 2006).

A pesca de água doce tem sido baseada em cerca de 70 a 80 espécies de peixes distribuídas nas seguintes famílias: *Ageneiosidae*, *Anostomidae*, *Arapaimidae*, *Atherinidae*, *Callichthyidae*, *Characidae*, *Cichlidae*, *Clupeidae*, *Curimatidae*, *Cynodontidae*, *Cyprinidae*, *Doradidae*, *Engraulidae*, *Erythrinidae*, *Gymnotidae*, *Hemiodontidae*, *Hermiodidae*, *Hypophthalmidae*, *Loricariidae*, *Osteoglossidae*, *Pimelodidae*, *Potamotrygonidae*, *Prochilodontidae*, *Rhamphichthyidae*, *Sciaenidae*, *Serrasalminidae*, *Soleidae* e *Sternopygidae* que são comercializados em praticamente todas as bacias hidrográficas no Brasil (BRASIL, 2005; HILSDORF et al., 2006, RAMOS FILHO, et al., 2008;). Sendo os de maior presença na região da Grande Dourados a Tilápia do Nilo e o Pintado Híbrido.

A tilápia foi o primeiro peixe a ser criado em cativeiro. Há mais de dois mil anos antes de Cristo os egípcios cultivavam tilápias em tanques ornamentais visando o consumo em ocasiões especiais. No Brasil, entretanto, os primeiros registros da piscicultura datam da década de 30, quando foram feitas as experiências iniciais para obter a desova de espécies nativas em cativeiro. As tilápias são espécies oportunistas, que apresentam uma grande capacidade de adaptação aos ambientes lênticos. É classificada taxonomicamente na classe *Osteichthyes*, superordem *Teleostei*, ordem *Perciformes* e família *Cichlidae*. Apresentam coloração cinza azulada, corpo curto e alto, cabeça e caudas pequenas, e listras verticais na nadadeira caudal.

A Tilápia é a espécie mais produzida em cativeiro no Brasil (AB-TILÁPIA, 2008).

O pintado e seu híbrido, *Pseudoplatystoma corruscans* e *P. fasciatus*, são espécies da Família Pimelodidae, encontrado freqüentemente nas Bacias dos Rios Paraguai-Uruguai e São Francisco. Apresenta ótima aceitação de mercado, devido à excelente palatabilidade e ausência de espinhos intramusculares em sua carne, além de poder atingir em um ano, peso duas vezes maior que o das espécies produzidas atualmente (GONÇALVES e CARNEIRO, 2003). *P. fasciatus*, seus sinônimos, surubim-cachara, é um peixe carnívoro, com colorido similar ao de *P. coruscans*, apresenta faixas verticais escuras, irregulares, distribuídas pelo corpo, com comprimento cerca de 140 centímetros.

A região da Grande Dourados, região possui um total de 1.063,71 ha de lâmina d'água, o que corresponde a 60,6% do Estado, com a presença de 217 piscicultores, cerca de 40,6% dos produtores de Mato Grosso do Sul (BRASIL, 2004). Sendo então, responsável entre 2001 e 2002 por 62,02% do total de peixe produzido em todo o Estado (BRASIL, 2004) e por 39,39% entre 1998 e 1999 (MATO GROSSO DO SUL, 1999). Como principais elementos da cadeia produtiva da piscicultura na região, podem ser mencionados um frigorífico especializado em espécies nativas com inspeção federal, uma cooperativa de produtores de peixes, uma fábrica de ração, e entreposto de pescados no município de Dourados, que iniciou seu planejamento, com recursos provenientes da Secretaria Especial da Pesca e Aqüicultura (SEAP/PR).

À medida que a produção aqüícola aumenta no estado, cresce também o desafio de se atingir o desenvolvimento sustentável na aqüicultura, desta forma, os sistemas produtivos tem buscado um equilíbrio entre os aspectos ambientais, econômicos e sociais (Adesulu e Mustapha, 2000). Em consonância com essa crescente demanda, a obtenção de óleo bruto a partir de resíduo de pescado pode agregar valor ao material e trazer vantagens econômicas para as indústrias, além de minimizar o impacto ambiental.

### 3.2 INDUSTRIALIZAÇÃO DO PESCADO

O pescado é um dos alimentos mais completos em termos de quantidade e qualidade de nutrientes, sendo que em aproximadamente 100 g de pescado há mais de 50% das proteínas recomendadas para ingestão diária pela *Food and Agriculture Organization* (FAO), entre 10-20% de minerais, vitaminas hidrossolúveis e lipossolúveis. As proteínas são de elevado valor biológico e contam com uma digestibilidade superior a 80%. O conteúdo lipídico é muito variável, dependendo principalmente da espécie, do ciclo de maturação sexual, da disponibilidade de alimentos e dos hábitos alimentares do peixe (OGAWA e MAIA, 1999; CÓRSER et al., 2000).

O potencial do Brasil para o desenvolvimento da aquicultura é imenso, uma vez que é constituído por 8.400 km de costa marítima e 5.500.000 hectares de reservatórios de água doce. O país conta com aproximadamente 12% da água doce disponível no planeta, clima extremamente favorável para o crescimento dos organismos cultivados, mão de obra abundante e terras disponíveis ainda relativamente baratas na maior parte do país (BRASIL, 2010; SUCASAS, 2011). Entretanto, o consumo de pescado no país ainda é pequeno. Segundo Sary et al. (2009), o consumo médio de pescado no Brasil em 2004 foi de 5,6 kg/habitante/ano e de acordo com a FAO (2011) atualmente estes valores não chegam a 9 kg/habitante/ano, o que está bem abaixo dos índices observados em países desenvolvidos como Japão, Espanha e Inglaterra, com valores de 41,7, 29,9 e 16,5 kg/habitante/ano, respectivamente.

A comercialização do pescado pode ser *in natura* ou industrializada. *In natura* é o pescado recém-capturado e adquirido pelo consumidor ainda em estado cru. A industrialização é o processamento do pescado com métodos mais elaborados de manuseio e preservação, como filetagem, salga, defumação, embutimento, enlatamento, fermentação, além do preparo de pasta, farinha, óleo e polpa, matéria prima para *fishburgers* e concentrados proteicos (OGAWA e MAIA, 1999; OETTERER, 2003; FELTES et al., 2010).

Os resíduos gerados no beneficiamento do pescado (cabeça, vísceras, nadadeira, cauda, coluna vertebral, barbatana, escamas e restos de carne) podem representar acima de 50% da matéria prima utilizada, variando conforme as espécies e o processamento (NUNES, 2001; PESSATTI, 2001; ARRUDA, 2007; FELTES et al., 2010). Os resíduos da indústria de pescados apresentam uma composição rica em compostos orgânicos e inorgânicos. A disposição inadequada destes materiais, como o descarte direto no ambiente, gera impactos ambientais negativos (SILVA e CAMARGO, 2002; SEIBEL e SOARES, 2003). Contudo, conceitos de minimização, recuperação, aproveitamento de coprodutos e bioconversão de resíduos têm sido cada vez mais aplicados e voltados para a sustentabilidade das cadeias produtivas, sendo que diversos estudos vêm sendo realizados na última década com este enfoque (ZHANG et al., 2006; PELIZER et al., 2007; SOUZA et al., 2007; BORGHESI et al., 2008; FERRAZ DE ARRUDA et al., 2009).

O aproveitamento das aparas de pescado é grande. Coprodutos como a carne mecanicamente separada (CMS), obtidos através da separação de carne e ossos, devem ser encarados como agregadores de valor ao pescado, pois são partes que contêm o mesmo sabor e as mesmas qualidades nutritivas que o filé. Além disso, a extração da CMS pode aumentar o rendimento de carne entre 10% e 20% no processamento (NEIVA, 2006; SARY et al., 2009).

A CMS de pescado pode ser obtida de uma única espécie ou de mistura de espécies de peixes com características sensoriais semelhantes. A produção de CMS em larga escala permite a elaboração de produtos de alto valor agregado, que podem atingir determinados segmentos do mercado. A transformação da CMS em produtos mais simples tem atendido à necessidade social de demanda por proteína de origem animal de qualidade (NEIVA, 2006; MENEGAZZO et al., 2010).

Quando a CMS é submetida a processos de lavagem para remoção parcial ou total das proteínas sarcoplasmáticas, pigmentos, enzimas, sangue, lipídios e componentes flavorizantes, obtém-se um concentrado protéico úmido, que após a adição de crioprotetores é chamado surimi, o que resulta no

aumento da estabilidade, na melhoria da qualidade e na manutenção das características funcionais do alimento (SARY et al., 2009). Os resíduos gordurosos extraídos deste processamento podem ser transformados em óleo de peixe através de aquecimento a baixa temperatura e filtração para remoção de impurezas e traços de umidade (MENEGAZZO et al., 2010).

### 3.3 ÓLEO DE PESCADO

Os óleos, independente de sua origem, são líquidos à temperatura ambiente, compostos principalmente de triglicerídeos (três ácidos graxos unidos à molécula de glicerol) e uma proporção menor de ácidos graxos livres, fosfatídios, ceras, hidrocarbonetos, vitaminas, esteróis, pigmentos e traços de metais (OETERRER, 2006).

A definição de óleo comestível e óleos virgens segundo o *Codex Alimentarius* (1999) - na sua normativa CODEX STAN 19-1981 *Codex Standard for Edible Fats and Oils not Covered by Individual Standards* é:

- “Óleo comestível é composto de glicerídeos de ácidos graxos, de origem vegetal, animal, podendo conter pequenas quantidades de outros lípidios, tais como fosfatídios, constituintes não saponificáveis e ácidos graxos livres presentes naturalmente na gordura ou óleo. As gorduras de origem animal devem ser produzidas a partir de animais de boa saúde no momento do abate para estarem aptas para o consumo humano
- “Gorduras e óleos virgens: são compostos de glicerídeos de ácidos graxos obtidos sem alterar a natureza do óleo, por meio de processos mecânicos, como por exemplo, prensagem ou aplicação de calor. Podem ser purificados somente por lavagem com água, decantação, filtração e centrifugação”.

Segundo Parente (2003) Os óleos podem ser classificados em quatro categorias, com distintas origens e processos de obtenção, conforme mostrado na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Classificação dos óleos origem e obtenção

<b>Matéria prima</b>	<b>Origem</b>	<b>Obtenção</b>
Óleos e gorduras de origem animal	Matadouros, frigoríficos, curtumes	Extração com água e vapor
Óleos e gorduras de origem vegetal	Agricultura temporária e permanente	Extração mecânica, por solvente ou mista.
Óleos residuais de frituras	Cocções comerciais e industriais	Acumulações e coletas
Matérias graxas de esgotos	Águas residuais	Em fase de pesquisa

Há diversas maneiras de se obter o óleo de pescado, como por exemplo, a partir de ensilagem ácida ou fermentada, da produção de farinha e do processamento de concentrado proteico. Este óleo bruto apresenta impurezas e outros compostos como ácidos graxos livres, mono e diglicerídios, fosfatídios, esteróides, vitaminas, hidrocarbonetos, pigmentos, carboidratos, proteínas e seus produtos de degradação, que pode torná-lo inadequado ao consumo humano (MORAIS et al., 2001). Algumas dessas operações de extração de óleo de pescado fornecem um óleo bruto de baixa qualidade, sendo necessário um processo de refino antes de sua utilização para consumo humano (CREXI et al., 2009) ou mesmo como combustível.

O óleo de pescado contém os mesmos tipos de ácidos graxos que outros óleos e gorduras, diferindo apenas em seu conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (AUGUSTO-RUIZ et al., 1997; MORETO e FETT, 1998; MORAIS et al., 2001). A composição do óleo de pescado depende da espécie, dieta, idade, sexo, tamanho, temperatura do ambiente, estação do ano e localização geográfica.

No Brasil, este óleo é usado basicamente em curtumes, na fabricação de tintas e vernizes, como lubrificante, impermeabilizante e outros (AUGUSTO-RUIZ et al., 1997), entretanto seu emprego poderia ser ampliado com o enriquecimento em alimentos, a suplementação nutricional e o uso como matéria prima para biodiesel.

### **3.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ÓLEOS**

A estabilidade oxidativa de óleos e gorduras é a resistência apresentada pelos componentes lipídicos à reação de oxidação. A rancificação é a principal causa responsável pela degradação de óleos e gorduras. A qualidade dos mesmos ou produtos que os contém é afetada por este fenômeno, sendo este, o fator de deterioração mais importante neste tipo de produto. A rancidez é caracterizada pela formação de produtos sensorialmente detectáveis. Ocasiona a deterioração de sabor e odor, mudanças na coloração do produto, inativação de vitaminas e conseqüente redução do valor nutritivo, entre outros (BARRERA-ARELLANO, 1993).

A rancidez pode ser classificada como hidrolítica e oxidativa (SHERWIN, 1978; BARRERA-ARELLANO, 1993; MORETO e FETT, 1998):

- Rancidez hidrolítica: ocorre na presença de umidade devido à ação de enzimas lipases, que estão presentes em sementes oleaginosas e alimentos, ou são produzidas por microorganismos que catalisam a reação de hidrólise, liberando ácidos graxos livres. Outra forma de ocorrência “não enzimática” é através de processos de fritura, em que a hidrólise se dá em altas temperaturas, produzindo ácidos graxos livres.
- Rancidez oxidativa: sua reação é desencadeada devido a alguns fatores, dentre os quais se destacam: a ação de enzimas lipoxigenases, luz, temperatura, metais e aeração. No que se refere à qualidade, a rancidez oxidativa é a mais importante em óleos e gorduras, pois a deterioração produz sabores e odores desagradáveis em óleos comestíveis e em alimentos contendo óleos ou gorduras.



A deterioração do óleo causada pela rancidez produz sabores, odores e coloração desagradáveis. O processo de oxidação de lipídios, que ocorre na região insaturada do ácido graxo, propicia a produção de peróxidos, que podem se decompor em produtos secundários (aldeídos, alcoóis, ácidos, etc.), formando compostos estáveis, responsáveis pela deterioração do produto e alteração de suas propriedades físicas e químicas (ARAÚJO, 1994; MORETO e FETT, 1998).

Os parâmetros que determinam a qualidade e a identidade do óleo são índice de acidez, ácidos graxos livre, índice de peróxido, umidade, índice de iodo, índice de saponificação, índice de refração e lipídios totais.

A determinação da acidez fornece um dado importante na avaliação do estado de conservação dos óleos (MORETTO e FETT, 1998). Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons hidrogênio. A decomposição dos glicerídios é acelerada por aquecimento e pela luz, sendo a rancidez quase sempre acompanhada pela formação de ácidos graxos livres. A determinação da acidez pode fornecer um dado importante na avaliação do estado de conservação do óleo. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons hidrogênio (Lutz, 1998).

O Índice de peróxido é um dos métodos mais utilizados para medir o estado de oxidação de óleos e gorduras. Como os peróxidos são os primeiros compostos formados quando uma gordura deteriora, toda gordura oxidada dá resultado positivo nos testes de peróxidos (Lutz, 1998).

O índice de iodo é um método utilizado para determinar o grau de insaturação de um óleo ou gordura e para controlar alguns processamentos. Este índice é baseado no fato de que o iodo e outros halogênios se adicionam numa dupla ligação da cadeia insaturada dos ácidos graxos. O índice de saponificação é definido como o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para neutralizar os ácidos graxos resultantes da hidrólise

completa de 1 g de amostra. Durante a saponificação é formado sabão. Quanto maior este índice, mais o óleo se presta para fins alimentares. O índice de refração é característico para cada tipo de óleo e está relacionado com o grau de insaturação das cadeias, compostos de oxidação e tratamento térmico (MORETTO e FETT, 1998).

### **3.5 REFINO DOS ÓLEOS**

Para a utilização de óleo extraído de resíduos de pescado para alimentação humana é imprescindível preservar a qualidade da matéria-prima, tendo em vista que a perecibilidade do pescado é maior que a de outras espécies animais. Além disso, sua qualidade está diretamente relacionada aos cuidados na manipulação e conservação do pescado a baixas temperaturas (FELTES et al., 2010).

O método de extração do óleo influencia diretamente na qualidade do óleo. Métodos que utilizam elevadas temperaturas e ácidos, bem como tempos de armazenamento longos e ação de microrganismos, reduzem a qualidade do óleo de pescado, sendo necessário o uso de tratamentos para torná-lo apto para consumo.

O refino do óleo é definido como um conjunto de processos que visam transformar o óleo bruto em óleo apto para consumo, com o objetivo de melhorar a aparência, odor e sabor, por meio da remoção de componentes do óleo, como:

- Substâncias coloidais, proteínas, fosfatídeos e produtos de sua decomposição;
- Ácidos graxos livres e seus sais; ácidos graxos oxidados e polímeros;
- Corantes: clorofila, xantofila, e carotenóides;
- Substâncias voláteis, tais como hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas e ésteres de baixo peso molecular;

- Substâncias inorgânicas, como sais de cálcio e de outros metais, silicatos, fosfatos e outros (MORETTO e FETT, 1998).

O processo de refino pode ser feito por método químico. O refino químico é realizado em quatro etapas: degomagem, neutralização, branqueamento e desodorização, que são necessárias para remover os fosfolipídios, ácidos graxos livres e outras impurezas que afetam a estabilidade do óleo (ERICKSON, 1995; MORETTO e FETT, 1998; MORAIS et al., 2001; CREXI et al., 2007, 2009; MONTE, 2010).

O processo de degomagem tem por finalidade remover do óleo bruto fosfolipídios, proteínas e substâncias coloidais, principalmente para facilitar o armazenamento e transporte do óleo cru; produzir fosfatídios como subproduto e facilitar a etapa subsequente de refino alcalino (MORETTO e FETT, 1998).

A etapa de neutralização, também conhecida como desacidificação ou refino cáustico, é necessária para neutralizar os ácidos graxos livres, indesejáveis do óleo, com solução alcalina de NaOH, KOH, NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. A concentração da solução alcalina para o refino é baseada no conteúdo de ácidos graxos livres do óleo bruto ou degomado (ERICKSON, 1995).

O branqueamento tem por objetivo remover do óleo neutralizado: pigmentação, produtos de oxidação, fosfatídios residuais, traços de metais e sabões residuais (ERICKSON, 1995; MORETTO e FETT, 1998). O óleo branqueado é muito susceptível à oxidação, devido à perda de seus componentes iniciais, sendo aplicável desodorização ou hidrogenação para reduzir os compostos indesejáveis à qualidade do óleo (ERICKSON, 1995; MORETTO e FETT, 1998; MORAIS et al., 2001). Entretanto, antes de realizar a etapa de branqueamento, é necessário que o óleo esteja com reduzido teor de umidade para que o processo seja eficiente.

A última etapa do processo de refino do óleo é a desodorização, que visa à remoção dos odores e sabores indesejáveis. Nesta etapa são removidas substâncias e compostos como aldeídos, cetonas, ácidos graxos oxidados, produtos de decomposição de proteínas, carotenóides, esteróis, fosfatídios,

hidrocarbonetos insaturados, ácidos graxos de cadeia curta e média, ácidos graxos livres e peróxidos (MORETTO e FETT, 1998; MORAIS et al., 2001).

### **3.6 BIODIESEL**

O aproveitamento de óleos e gorduras e seus derivados começou no final do século XIX, quando Rudolph Diesel, inventor do motor à combustão interna, utilizou em seus ensaios óleo de amendoim e petróleo cru (PARENTE, 2003; SUAREZ e MENEGHETTI, 2007). Devido ao baixo custo e alta disponibilidade do petróleo nessa época, este passou a ser o combustível largamente usado nestes motores, aliados aos desenvolvimentos dos motores e a busca por combustíveis com mais eficiência e menor custo.

Os problemas de abastecimento de petróleo no mercado mundial na década de 1930 e na década de 1970 desencadearam o desenvolvimento de alternativas energéticas viáveis para a substituição do combustível fóssil (PARENTE, 2003; SUAREZ e MENEGHETTI, 2007). No Brasil, a resposta ao desabastecimento de petróleo ocorrido nas décadas de 1970 e 1980 foi a criação pelo governo federal do amplamente conhecido PROÁLCOOL e do Plano de Produção de Óleos Vegetais para Fins Carburantes (PRO-ÓLEO) (GOLDEMBERG et al., 2004) . Este último programa previa a regulamentação de uma mistura de 30% de óleo vegetal ou derivado no óleo diesel e uma substituição integral em longo prazo. No final do século XX, o governo federal voltou a discutir o uso de biodiesel e em 2002, a etanolise de óleos vegetais foi considerada como a rota principal para um programa de substituição do diesel de petróleo e lançou o programa PROBIODIESEL.

A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis - ANP, através da lei nº 11097 de 13 de janeiro de 2005 (que dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira) definiu um biocombustível como sendo:

*“Combustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna ou, conforme regulamento, para outro tipo de geração de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil”.*

Já para o biodiesel a definição na mesma lei é:

*“Biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento, para outro tipo de geração de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil”.*

Quimicamente, o biodiesel pode ser definido como um combustível alternativo constituído por ésteres alquílicos de ácidos carboxílicos de cadeia longa, provenientes de fontes renováveis, como gorduras animais, óleos vegetais ou óleos constituintes da biomassa microbiana, que podem ser utilizados diretamente em motores de ignição por compressão (motores do ciclo diesel) (KNOTHE et al., 2005).

O biodiesel é produzido principalmente a partir da reação de transesterificação do óleo com um álcool de cadeia curta em presença de um catalisador alcalino, convertendo os triacilglicerídeos em ésteres. Contudo, outros processos para a produção de biodiesel estão sendo estudados, como a esterificação utilizada em óleos que tem alto teor de acidez, com 3% a 40% de ácidos graxos livres (FFA), craqueamento e pirólise (KNOTHE et al., 2005; MARCHETTI et al., 2008).

### **3.6.1 Metanol versus Etanol**

O metanol e o etanol são os álcoois primários mais produzidos em escala industrial e seus usos nas reações de transesterificação têm sido frequentes. A utilização de metanol nas transesterificações de óleos vegetais

apresenta as seguintes vantagens: o metanol comercial é mais facilmente obtido com baixo teor de água que o etanol; a rota industrial metílica é um processo comum e requer menor consumo energético, sendo mais econômica e com maior produtividade se comparada nas mesmas condições à rota etílica; os rendimentos em ésteres metílicos são obtidos numa maior velocidade reacional e com menor consumo de álcool; e a separação ésteres da glicerina ocorre de maneira espontânea no decorrer da reação (FERREIRA et al., 2006; MEHER et al., 2006).

Por outro lado, a rota metílica possui desvantagens, como a de que o metanol, sendo tradicionalmente obtido de fontes fósseis, não poderia ser prontamente suprido no atual ritmo da produção industrial brasileira, no caso de uma eventual alta na demanda por biodiesel. Além disso, o metanol é um reagente de alta toxicidade. O etanol apresenta como desvantagem possuir uma cadeia mais longa que o metanol, tornando os ésteres etílicos produzidos mais miscíveis à glicerina, prejudicando a separação de fases. Outro inconveniente do etanol é a presença de um maior teor em água, fato prejudicial para o processo de transesterificação, mas que pode ser evitado utilizando-se etanol anidro, cujo processo produtivo industrial brasileiro já está bastante consolidado.

Porém, a grande vantagem da utilização de etanol em reações de transesterificação para a produção de biodiesel no Brasil está na capacidade de produção a preços competitivos a partir de fontes renováveis (MADRAS et al., 2004; KNOTHE et al., 2005; SILVA et al., 2007). Quando produzido via rota etílica, obtém-se um biodiesel “100% verde”, de grande e efetivo apelo ambiental.

### **3.6.2 Catálise básica**

O processo de produção de biodiesel por catálise básica é mais rápido do que o processo por catálise ácida. Além disso, os catalisadores alcalinos são

menos corrosivos que os ácidos, tornando o processo de catálise básica mais atrativo do ponto de vista industrial (KNOTHE et al.,2005).

A transesterificação através da catálise alcalina é o método atualmente mais usado na produção de biodiesel. (SILVA et al., 2006). Porém, a catálise básica gera problemas operacionais quando há presença de água no meio reacional, o que leva à formação de ácidos graxos livres pela hidrólise dos ésteres presentes. Neste caso são formados sabões que, além de consumirem parte do catalisador durante sua formação, acabam gerando emulsões, dificultando a separação dos produtos (ésteres e glicerina) ao final da reação (MA et al., 1999).

## **4 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO**

### **4.1 ARTIGO 1 - PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS ÓLEOS BRUTO E REFINADO OBTIDOS A PARTIR DE COPRODUTOS DO PROCESSAMENTO DOS PESCADOS TILÁPIA E PINTADO HÍBRIDO**

**RESUMO:** Um dos coprodutos do processamento das plantas processadoras de pescados é carne mecanicamente separada (CMS), obtida através de separação mecanizada da parte comestível, gerando partículas de carne isentas de vísceras, ossos e pele. A partir da CMS pode-se obter hambúrguer, embutidos e surimi. O processamento da CMS por lavagens sucessivas resulta no concentrado protéico, que consiste em uma pasta branca, sem odor e sabor, além de resíduos gordurosos, que podem ser destinados para a produção de óleo de pescado. Neste estudo, o óleo bruto foi extraído a partir do aquecimento e filtração da gordura residual do processamento do concentrado proteico de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e pintado híbrido (*Pseudoplatystoma fasciatum*) e refinado através das etapas de degomagem com ácido fosfórico 85%, neutralização com NaOH 20%, lavagem com água quente a 85°C, secagem a 90°C, clarificação com carvão ativado e filtração com terra diatomácea e sulfato de sódio anidro. A qualidade do óleo bruto e refinado foi verificada pelos índices de acidez, ácidos graxos livres, peróxido, iodo, refração, saponificação, umidade, densidade e teor de lipídios. Os resultados obtidos mostram que o refino reduziu o índice de acidez do óleo bruto, porém, favoreceu a oxidação do óleo pelas altas temperaturas empregadas, demonstrado através do aumento do índice de peróxido. De maneira geral não houve alterações na identidade do óleo de pescado.

**PALAVRAS-CHAVE:** óleo, refino químico, pescados, água doce, coprodutos



#### 4.1.1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o mercado de pescados e produtos derivados está em franca expansão e devido a sua biodiversidade aquática, tem despertado o interesse de grandes empresas especializadas na exploração comercial da pesca (SEBRAE, 2008). O país possui 12% da água doce mundial e 10 milhões de hectares de lâmina de água disponíveis para a produção de pescado, provindas dos reservatórios de usinas hidrelétricas (SUCASAS, 2011). No estado de Mato Grosso do Sul, a criação de peixes em cativeiro, tanto em áreas fluviais quanto em tanques escavados, conta com apenas 900 piscicultores que trabalham em 2,5 mil hectares de lâmina de água (SEPROTUR, 2010).

O processamento de pescados gera uma grande quantidade de resíduos que necessitam de tratamento. Em média descarta-se 65% do peso vivo após a retirada do filé (OETTERER et al., 2006; ARRUDA et al., 2006). Os resíduos gerados apresentam uma composição rica em compostos orgânicos e inorgânicos e a disposição inadequada ocasiona impactos ambientais negativos, principalmente as margens de corpos de água ou em aterros não licenciados (SEIBEL e SOARES, 2003; SUCASAS, 2011).

Um dos coprodutos do processamento do pescado é a carne mecanicamente separada (CMS), que é obtida através da separação de carne e ossos por máquinas desossadoras (ou despolpadeiras). Neste processo agrega-se valor ao pescado, pois recupera o máximo possível de carne deixada na carcaça após a filetagem, permitindo ainda utilizar espécies de baixo valor comercial que não podem ser industrializadas devido ao seu tamanho e forma. A extração da CMS pode aumentar o rendimento de carne entre 10% e 20% (NEIVA, 2006; SARY et al., 2009).

Quando a CMS é submetida a lavagens, há a remoção parcial ou total das proteínas sarcoplasmáticas, pigmentos, enzimas, sangue, componentes flavorizantes e resíduos gordurosos, obtendo-se um concentrado proteico úmido que é utilizado para fabricação de hambúrgueres e de embutidos como salsichas (NEIVA, 2006). Os resíduos gordurosos extraídos durante o processamento da CMS para a obtenção de concentrado proteico podem ser transformados em óleo de pescado através de aquecimento a baixa temperatura e filtração para remoção de impurezas e traços de umidade (MENEGAZZO et al., 2010).

Os óleos, independente de sua origem, são líquidos à temperatura ambiente, compostos principalmente de triglicerídios (três ácidos graxos unidos a um glicerol) e uma proporção menor de ácidos graxos livres, fosfatídios, ceras, hidrocarbonetos, vitaminas, esteróis, pigmentos e traços de metais (OETERRER et al., 2006). A composição do óleo de pescado depende da espécie, dieta, idade, sexo, tamanho, temperatura do ambiente, estação do ano e localização geográfica. O óleo de pescado contém os mesmos tipos de ácidos graxos que outros óleos e gorduras, diferindo apenas em seu conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (OGAWA e MAIA, 1999). A presença desses ácidos graxos torna o óleo de pescado susceptível à processos oxidativos, que afetam suas características e seu valor nutricional quando submetidos à diferentes temperaturas e luminosidades durante as etapas de processamento e estocagem (MORETTO e FETT, 1998).

Há diversas maneiras de se obter o óleo de pescado, como por exemplo, a partir de ensilagem ácida ou fermentada, da produção de farinha e do processamento de concentrado proteico. Este óleo bruto apresenta impurezas e outros compostos como ácidos graxos livres, mono e diglicerídios, fosfatídios, esteróides, vitaminas, hidrocarbonetos, pigmentos, carboidratos, proteínas e seus produtos de degradação, que pode torná-lo inadequado ao consumo humano (MORAIS et al., 2001). Algumas dessas operações de extração de óleo de pescado geram um óleo bruto de baixa qualidade, sendo necessário o refino químico antes de sua utilização para consumo humano (CREXI et al., 2009) ou mesmo como combustível.

O óleo obtido deve ser armazenado isento de umidade e livre de sólidos (MORETTO e FETT, 1998). No Brasil é utilizado principalmente para a produção de tintas, vernizes e acabamento de couro (PESSATTI, 2001).

Como o óleo bruto de resíduos (e. g. vísceras) ou coprodutos (e. g. CMS) de pescado contém os mesmos tipos de compostos ou impurezas presentes em outros óleos vegetais ou animais, estas substâncias podem ser removidas pelos mesmos processos (BIMBO e CROWTHER, 1991; MORAIS et al., 2001).

O refino de um óleo tem finalidade de melhorar a aparência, odor e sabor do óleo, através da remoção de diversos compostos que causam escurecimento, sabor de ranço e odores desagradáveis. Os compostos mais importantes para avaliar se o óleo pode ser consumido *in natura* são detectados através do índice de acidez, ácidos graxos livres (AGL), peróxido e umidade. Estes parâmetros mostram o quanto o óleo está susceptível à degradações hidrolíticas e lipídicas ou oxidativas (MORETTO e FETT, 1998). Quanto mais elevado estes indicadores forem, mais impróprio está este óleo para o consumo, sendo necessário realizar-se o refino para purificá-lo e aumentar seu valor agregado.

As oxidações são demonstradas pelos índices de acidez e AGL e pelo índice de peróxido. A acidez confere sabor e textura indesejáveis ao óleo, e seu índice é um indicativo de quanto álcali é necessário para a remoção dos sabões durante o refino (MORETTO e FETT, 1998) e também para que ocorra a reação de transesterificação para produção de biodiesel. O índice de peróxido indica a principal forma de deterioração dos óleos. A formação de peróxido é também responsável pelo desenvolvimento de sabores e principalmente odores desagradáveis, tornando os alimentos impróprios para o consumo, além de provocar alterações que afetarão a qualidade nutricional e a integridade e segurança do alimento, com a formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (RAMALHO e JORGE, 2005).

O método comumente utilizado para melhorar as características do óleo é a refinação química, permitindo o processamento de óleo de qualquer natureza (RITTNER, 1996). Suas etapas podem incluir degomagem, neutralização e lavagem, clarificação (branqueamento e filtração) e desodorização.

Na degomagem são removidos fosfatídeos, proteínas e substâncias coloidais cuja presença poderia interferir nas etapas posteriores de processamento e/ou com a qualidade de óleo refinado a ser produzido. Esta etapa pode ser realizada com água ou ácido, tais como fosfórico e cítrico (MORETTO, FETT, 1998).

A etapa de neutralização ou desacidificação do óleo elimina os ácidos graxos livres, ácidos que não reagiram na etapa de degomagem, produtos de decomposição dos glicerídeos e impurezas através da adição de solução aquosa de álcali em excesso. O álcali mais utilizado é a soda cáustica, por ser mais efetiva na descoloração do que outros álcalis, reduzindo o conteúdo de ácidos graxos livres do óleo neutralizado até níveis entre 0,01-0,03% (NORRIS, 1982; RITTNER, 1996).

A lavagem do óleo neutralizado com água fervente remove sabões dissolvidos, excesso de álcali que não reagiu e alguns resíduos de fosfolipídios (NORRIS, 1982; RITTNER, 1996; CREXI et al., 2009). Para remover qualquer traço de umidade no óleo é necessário realizar uma etapa de secagem anterior a etapa de branqueamento. Esta secagem é realizada somente com aquecimento e vácuo, até que a umidade seja reduzida a um teor de 0,1% (MORAIS et al., 2001; MONTE, 2010).

O branqueamento remove e/ou destrói pigmentos, produtos de oxidação e metais que conferem cor ao óleo, como o uso de materiais adsorventes, tais como carvão ativado ou terras ativadas (ZANOTTA, 1999; PEDROSO et al., 1997; CREXI et al., 2005). Após o branqueamento, deve-se filtrar o óleo com terra diatomácea para agregar mais valor ao óleo. A desodorização do óleo promove uma remoção de sabores e odores indesejáveis (MORETTO e FETT,

1998) e confere ao óleo um teor de ácidos graxos livres menor do que 0,02-0,04%, torna-se praticamente inodoro e insípido, com estabilidade oxidativa máxima, através de uma destilação em corrente de vapor com pressão reduzida e pressão elevada (CREXI et al., 2009; MONTE, 2010).

O objetivo deste trabalho foi produzir e caracterizar óleos bruto e refinado obtidos durante o processamento das CMS de duas espécies de pescado (tilápia do Nilo e pintado híbrido) para a produção de concentrados proteicos, bem como caracterizar os óleos obtidos em cada etapa do refino químico.

## **4.1.2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1.2.1 Produção de óleo bruto de pescado**

#### **4.1.2.1.1 Matérias primas**

As matérias primas utilizadas para a obtenção dos óleos brutos de pescado foram os concentrados proteicos produzidos a partir das CMSs dos pescados tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e pintado híbrido (*Pseudoplatystoma fasciatum*). As CMSs foram produzidas e gentilmente cedidas pela indústria Mar & Terra Comércio e Indústria de Pescados, localizada em Itaporã, MS. A CMS foi produzida no diâmetro de partícula de 3 mm, utilizando-se uma despoldadeira modelo 694 (Baader, Alemanha), operando a 6°C na entrada e 10°C na saída, 24h após o abate. A CMS foi mantida a -18°C por até 2 meses.

#### **4.1.2.1.2 Concentrado proteico de CMS**

Após o descongelamento, a CMS foi lavada em pH alcalino utilizando-se bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) a 0,25% e peneirada. Nesse processo utilizou-se a proporção 1:4 (sólido:líquido) de CMS e água para as lavagens. A solução

foi manualmente homogeneizada durante 5 minutos a  $6,5 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ , passando por um período de 20 minutos de descanso. A seguir removeu-se manualmente o resíduo gorduroso sobrenadante e peneirou-se a solução obtendo-se uma pasta. Cada série foi executada três vezes. A última lavagem foi realizada com bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) a 0,25% e solução de cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ) a 0,3%. O concentrado proteico obtido foi destinado a outras aplicações.

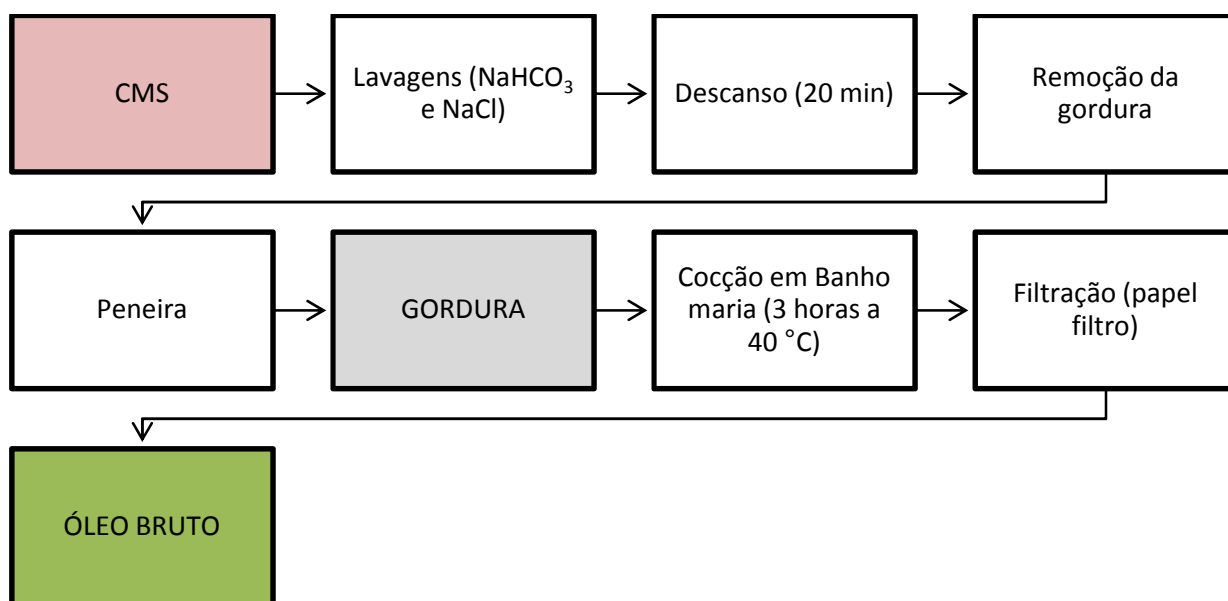
#### **4.1.2.1.3 Resíduos gordurosos**

A gordura obtida em cada uma das três etapas do processo de obtenção de concentrado proteico de CMS foi acondicionada em recipientes plásticos, lacrada e mantida a  $-18^{\circ}\text{C}$  por no máximo 3 meses após sua extração.

#### **4.1.2.1.4 Produção de óleo bruto de pescado**

A gordura removida da CMS passou por um processamento hidrotérmico, através de cocção/aquecimento em banho-maria a  $40^{\circ}\text{C}$  durante 3 horas. Neste período, enquanto ocorria à liquefação da gordura, procedia-se com a retirada do óleo sobrenadante. O óleo removido foi imediatamente filtrado em papel filtro e a borra restante descartada. O óleo bruto obtido foi acondicionado em recipientes plásticos e imediatamente caracterizado ou destinado ao refino químico.

A Figura 4.1 mostra o fluxograma de processo para a extração de óleo bruto de pescado.



**Figura 4.1.** Fluxograma do processo de extração de óleo bruto de pescado

#### 4.1.2.2 Refino químico do óleo bruto de pescado

O refino químico do óleo de pescado foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Moraes et al. (2001), com algumas adaptações, conforme a Tabela 4.1. Nas diferentes etapas do processo (degomagem, neutralização, lavagem, secagem, clarificação e filtração) utilizou-se um rotaevaporador com aquecimento e agitação e um balão revestido com papel alumínio para evitar contato com iluminação externa. O funil de decantação utilizado na etapa de lavagem e o funil de Büchner também foram revestidos.

#### 4.1.2.3 Caracterização dos óleos de pescado obtidos

Para determinar a qualidade dos óleos obtidos realizou-se sua caracterização de acordo com as metodologias descritas pela AOCS (1998) de índice de acidez (IA), % de ácidos graxos livres (AGL), índice de peróxido (IP), índice de saponificação (IS), índice de iodo - método Wijs (II), índice de

refração a 40°C (IR), densidade e umidade (Karl Fischer®). O teor de lipídios totais foi determinado segundo o método descrito por Bligh e Dyer (1959).

Os ésteres metílicos foram obtidos conforme metodologia descrita por Hartman e Lago (1973). No processo de transesterificação, o material extraído foi homogeneizado e aproximadamente 5 mL da amostra foram transferidos para tubo de ensaio com tampa rosqueável. Ao tubo se adicionou ainda 5 mL de NaOH metanólico, aquecendo-o por imersão em água a 65-70°C por 15 min. À solução quente adicionou-se 10 mL do reagente de esterificação (solução de cloreto de amônia e ácido sulfúrico em metanol). Em seguida retornou-se para o aquecimento por 10 min. Após o resfriamento à temperatura ambiente, adicionou-se 2 mL de éter de petróleo e completou-se o volume com solução saturada de cloreto de sódio.

A determinação da composição de ácidos graxos presentes no óleo bruto foi realizada através de cromatógrafo gasoso com detector de ionização de chama (Konic, modelo HRGC 4000A), em coluna cromatográfica de sílica fundida-CP Sil 88 Tailor Made FAME (Chrompak). A cromatografia gasosa foi realizada conforme AOCS (1998) - métodos Ce 1-62; Ce 1b-89; Ce 1c-89. A temperatura da coluna programada na faixa de 180 °C a 225°C, com taxa de aquecimento de 1°C por minuto, enquanto que a temperatura do detector e do injetor foi fixada em 300°C. A vazão do gás de arraste (hidrogênio) foi de 0,5 mL/min. O padrão utilizado foi o éster metílico do ácido 1-decanóico. A identificação e quantificação dos ácidos graxos foi obtida por comparação do tempo de retenção utilizado e a área de pico dos ácidos graxos desconhecidos, com o padrão.



**Tabela 4.1.** Refino do óleo de pescado – Condições operacionais

<b>Etapa</b>	<b>Configuração</b>	<b>Reagente e Soluções</b>
Degomagem	Rotaevaporador <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Vácuo: 440 mmHg</li> <li>▪ Temperatura: 85 ± 5°C</li> <li>▪ Tempo: 50 minutos</li> <li>▪ Rotação: 180 rpm</li> </ul>	Acido fosfórico 85% - 1%p/p massa de óleo
Neutralização	Rotaevaporador <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Vácuo: 420 mmHg</li> <li>▪ Temperatura: 80 ± 5°C</li> <li>▪ Tempo: 20 minutos</li> <li>▪ Rotação: 180 rpm</li> </ul>	Solução de NaOH 20% - excesso de 4% em relação ao índice de acidez.
Lavagem	Rotaevaporador. <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Temperatura: 95 °C</li> <li>▪ Tempo: 5 minutos</li> <li>▪ 2 repetições</li> </ul> Funil de decantação: 15 minutos	Adição de água a 90 °C – 10%p/p/ massa de óleo
Secagem	Rotaevaporador <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Vácuo: 410 mmHg</li> <li>▪ Temperatura: 70 ± 5°C</li> <li>▪ Tempo: 15 minutos</li> <li>▪ Rotação: 180 rpm</li> </ul>	-
Clarificação	Rotaevaporador <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Vácuo: 410 mmHg</li> <li>▪ Temperatura: 70 ± 5°C</li> <li>▪ Tempo: 30 minutos</li> <li>▪ Rotação: 180 rpm</li> </ul> Filtração: Funil vácuo com papel filtro	Adição de carvão ativado 5% p/p massa de óleo
Filtração	Filtração: Funil simples	Terra diatomácea Celite, sulfato de sódio anidro

### **4.1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **4.1.3.1 Produção e caracterização do óleo bruto de pescado**

Durante o processo de obtenção de concentrado proteico a partir de CMS de pescado foi possível obter rendimentos de extração de óleo de  $42,5 \pm 2,5\%$  para tilápia do Nilo e de  $22,5 \pm 1\%$  para pintado híbrido. Observou-se que a utilização de 20 minutos de descanso possibilitou rendimentos de extração 10% e 5,5% maiores do que quando realizada com 10 e 15 minutos de descanso, conforme reportado em estudo anterior (Menegazzo et al., 2010). O tempo de descanso maior apresentou um melhor rendimento visto que o maior tempo de contato entre a gordura e carne, associado à baixa temperatura, permite que a gordura se desprenda e flocule, permitindo sua remoção manual. Porém cabe ressaltar que no presente estudo utilizou-se 3 lavagens e consequentemente 3 etapas de remoção de gordura, contra 2 lavagens do estudo anterior, o que confere uma possibilidade maior de extração. Quando o processo foi realizado com 2 lavagens e 20 minutos de descanso o rendimento de óleo foi bastante próximo aquele realizado com 3 lavagens e 20 minutos de descanso (40,2%), o que indica que a variável de maior efeito sobre a extração foi o tempo de descanso entre as lavagens.

Utilizando-se outros métodos de produção e extração, foram reportados rendimentos de óleo de 8,7 e 6,8%, obtidos a partir de silagens ácida e fermentada de resíduos de tilápia do Nilo, respectivamente, realizadas entre 27 e 30°C. Já o rendimento de óleo proveniente da produção de farinha oscilou entre 15 e 30%, dependendo do tamanho e do sistema de produção do peixe do qual os resíduos foram obtidos, empregando-se o processo termomecânico de extração (cozimento a  $110 \pm 10^\circ\text{C}$  por 1,5h, prensagem, mistura das frações e centrifugação a 80°C) (VIDOTTI e GONÇALVES, 2006). Na obtenção de óleo de vísceras de carpa foram obtidos rendimentos de 10% e 11% nos processos de silagem ácida e de produção de farinha, respectivamente. O primeiro processo foi realizado a 50°C e o segundo a 95°C (CREXI et al., 2009). Assim, é possível que somado ao método de obtenção e extração da gordura, a

temperatura influencia de maneira positiva na liberação dos óleos de pescado, entretanto sua qualidade pode ser comprometida.

A etapa de filtração permite a obtenção de um óleo com reduzidos teores de impurezas sólidas e de umidade (MORAIS et al, 2001; CREXI et al., 2009; CUNHA et al, 2009). Neste trabalho utilizou-se filtração simples e obtiveram-se óleos de qualidade e com rendimentos elevados. Esta etapa de filtragem é conhecida como pré-limpeza e pode ser realizada em sistema de filtração com bomba a vácuo, ou com filtração simples em tecidos ou algodão (MORETTO e FETT, 1998).

A Tabela 4.2 mostra os resultados da caracterização dos óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido obtidos de acordo com metodologia proposta.

**Tabela 4.2.** Caracterização dos óleos brutos de pescado.

<b>Parâmetro</b>	<b>Tilápia do Nilo</b>	<b>Pintado híbrido</b>	<b>ANVISA (1999)*</b>
<b>Acidez (mgKOH/g)</b>	0,41 ± 0,02	0,30 ± 0,005	-
<b>AGL (% ac. Oléico)</b>	0,20 ± 0,01	0,15 ± 0,01	5,0
<b>Peróxido (meq/kg)</b>	2,41 ± 0,24	5,91 ± 0,040	10
<b>Iodo (cg de I<sub>2</sub>/g)</b>	85,58 ± 0,99	82,38 ± 0,54	50 - 60
<b>Refração (a.u.)</b>	1,4633	1,4672	-
<b>Saponificação (mgKOH/g)</b>	194,99 ± 1,45	212,29 ± 19,13	190 - 209
<b>Umidade (%)</b>	0,101 ± 0,010	0,116 ± 0,030	-
<b>Densidade (g/cm<sup>3</sup>)</b>	0,9271 ± 0,004	0,9348 ± 0,001	-
<b>Lipídios Totais (%)</b>	96,76 ± 2,61	95,052 ± 0,209	-

AGL: ácidos graxos livres

\*ANVISA 1999 – dados referentes a óleos brutos vegetais, especificamente azeite de dendê.

Percebe-se que qualidade dos óleos estudados foi mantida durante a extração, haja vista que os índices de AGL e peróxido (Tabela 4.2) situam-se bem abaixo dos valores críticos indicados pela legislação da ANVISA (BRASIL, 1999) para óleos brutos vegetais. Nesta legislação, para o azeite de dendê deve conter no máximo 5% de AGL e 10 meq/kg para peróxido. Para cada tipo de óleo vegetal ou animal, há padrões estabelecidos para cada parâmetro de qualidade e identidade do óleo.

Para óleos de pescado, a Legislação Brasileira normatiza os óleos de fígado de bacalhau e de fígado de cação (BRASIL, 1995), que diferem do óleo

em estudo, principalmente pelo seu habitat, o índice de acidez dos óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido se encontram abaixo do recomendado dos óleos de fígado de bacalhau e fígado de cação (1,2 e 2,8 mg KOH/g respectivamente).

Comparando-se os resultados aqui obtidos com os de Vidotti e Gonçalves (2006) que avaliaram o óleo de resíduos de tilápia do Nilo proveniente dos processos de silagens química e biológica e de produção de farinha, percebe-se que os mesmos foram melhores, visto que estes autores obtiveram índice de AGL de 3,66, 5,67 e 2,45% e índice de peróxido médio de 4,68, 0,67 e 6,80 meq/kg respectivamente, exceto pelo índice de peróxido do óleo de resíduos de tilápia do Nilo proveniente da silagem biológica, que foi inferior ao detectado neste trabalho, originária do processo de produção de concentrado protéico ( $2,41 \pm 0,24$  meq/kg, Tabela 4.2), possivelmente devido a utilização de temperatura baixa (27 a 30°C) para realização da silagem.

Com relação ao óleo extraído de vísceras de carpa pelos processos de silagem ácida e de produção de farinha, Crexi et al. (2009) caracterizam um óleo cujos parâmetros de qualidade índice de AGL e índice de peróxido indicavam que este encontrava-se em estágio intermediário de degradação devido principalmente ao método de extração com temperaturas média/alta. Estes autores reportaram índices de AGL de 3,35 e 6,63% e índices de peróxido de 3,38 e 3,68 meq/kg, respectivamente. Já para um óleo obtido a partir da industrialização da farinha mista dos pescados castanha, corvina e pescada, peixes típicos de regiões frias e costeiras, Cunha et al. (2009) obtiveram índices de AGL e de peróxido na faixa de 1,6% e 2,1 meq/kg respectivamente.

Para a tilápia do Nilo, os parâmetros de identidade do óleo obtidos foram semelhantes aqueles previamente reportados por outros autores. Enquanto Vidotti e Gonçalves (2006) mediram índices de iodo de 87 cg de I<sub>2</sub>/g e de saponificação de 197 mgKOH/g, Santos (2006) encontrou um índice de iodo de 88,1 cg de I<sub>2</sub>/g. Estes valores são muito semelhantes aos encontrados neste trabalho para o óleo obtido durante o processamento da CMS de tilápia do Nilo

para a obtenção de concentrado proteico. Isto possivelmente se deve ao fato de que em todos estes casos a tilápia do Nilo tenha sido proveniente de criações, onde a alimentação dos peixes, e. g., não diferente tanto quanto aquela encontrada pelos peixes selvagens.

Estas diferenças entre espécies e sistemas de produção e captura torna-se nítida ao compararem-se os índices de iodo do óleo de tilápia com os de outros pescados. Cunha et al. (2009) obtiveram um índice de iodo de 133 Cg de  $I_2/g$  para um óleo misto. Apesar de este óleo ter sido obtido a partir dos resíduos de várias espécies, todas elas eram provenientes de águas litorâneas, o que está relacionado à maior presença de instaurações neste óleo.

Os índices de refração encontrados para tilápia do Nilo e pintado híbrido (1,4633 e 1,4672 respectivamente), apesar de aparentemente próximos, são específicos para cada tipo de óleo, e isto está relacionado ao comprimento das cadeias carbônicas e das insaturações dos ácidos graxos. Assim este índice é um bom indicativo do estágio de oxidação, como demonstrado por Jorge et al. (2005) para óleos de soja que sofreram efeitos de fritura. Neste estudo demonstrou-se que o índice de refração aumentou significativamente de 1,4673 para 1,4685 com a fritura. O mesmo ocorreu para os óleos de milho e girassol estudados por estes autores.

Os índices de saponificação da tilápia do Nilo e pintado híbrido (194 e 212 mgKOH/g, respectivamente) são semelhantes ao reportados pelo Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (1998) para os diversos tipos de óleos animais, sendo este índice de 190 mgKOH/g para gordura frango e 202 mgKOH/g para sebo bovino. Estes dados indicam que quanto maior o índice de saponificação, menor o peso molecular dos ácidos graxos presentes em uma amostra. Desta forma os valores obtidos sugerem que a composição de ácidos graxos destes óleos tenha um número intermediário de átomos de carbono. Segundo Moretto e Fett (1998), quanto mais alto for o índice de saponificação mais o óleo é indicado para fins alimentares, dando como exemplo o óleo de soja, com índice de saponificação entre 180 e 200 mgKOH/g (BRASIL, 1995).

Sob este aspecto tanto o óleo de tilápia do Nilo quanto o de pintado híbrido são desejáveis para fins alimentares.

A baixa umidade presente nos óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido (0,101 e 0,116%, respectivamente) não tem influência direta na ocorrência de reações de hidrólise de ácidos graxos, i. e., haverá um aumento da vida útil deste óleo sem que ocorra sua degradação devido a presença de água e reações de saponificação, o que tornaria o óleo impróprio para consumo caso a umidade se encontrasse em maiores porcentagens.

A densidade para os óleos e gorduras é tanto menor quanto maior foi seu peso molecular (MORETTO e FETT 1998). Este parâmetro se manteve constante. De acordo com ANVISA Brasil, (1999) a densidade para óleo de fígado de cação varia entre 0,908 a 0,927 e de fígado de bacalhau de 0,918 a 0,927, sendo que ambas as espécies de água salgada. Os valores encontrados neste trabalho estão acima destes valores reportados, entretanto, ressalta-se que estas características são típicas de cada óleo e os valores estipulados pela legislação são para óleos de pescados marinhos.

A partir da definição de óleo comestível pelo *Codex Alimentarius* (1999) e da caracterização dos óleos realizada neste trabalho, pode-se concluir que os óleos de tilápia do Nilo e de pintado híbrido se enquadram nas categorias de óleos comestíveis, entretanto como óleo virgem não poderia ser classificado visto que há a utilização de agentes químicos ( $\text{NaHCO}_3$  e  $\text{NaCl}$ ) e resfriamento durante a extração da gordura.

#### **4.1.3.2 Refino químico e caracterização do óleo refinado de pescado**

Os refinamentos dos óleos de tilápia do Nilo e de pintado híbrido ocorreram de maneira idêntica e contínua, com as etapas de degomagem, neutralização, lavagem, secagem, clarificação e filtração (MORAIS et al., 2001). Esta metodologia foi adaptada de trabalhos anteriores (NORRIS et al., 1982; HARTMAN e ESTEVES, 1991) e tem sido bastante empregada para óleos de

pescado (CREXI et al., 2009; CUNHA et al., 2009). Os dados das Tabelas 4.3 e 4.4 mostram uma melhora na qualidade do óleo (índices de acidez, AGL e peróxido) em algumas etapas do refino, apesar da identidade do óleo ter sido preservada (iodo, refração, saponificação e densidade). A Figura 4.2 mostra as variações ocorridas durante o processamento dos óleos para os parâmetros de qualidade, enquanto a Figura 4.3 mostra o comportamento dos óleos em relação aos parâmetros de identidade.

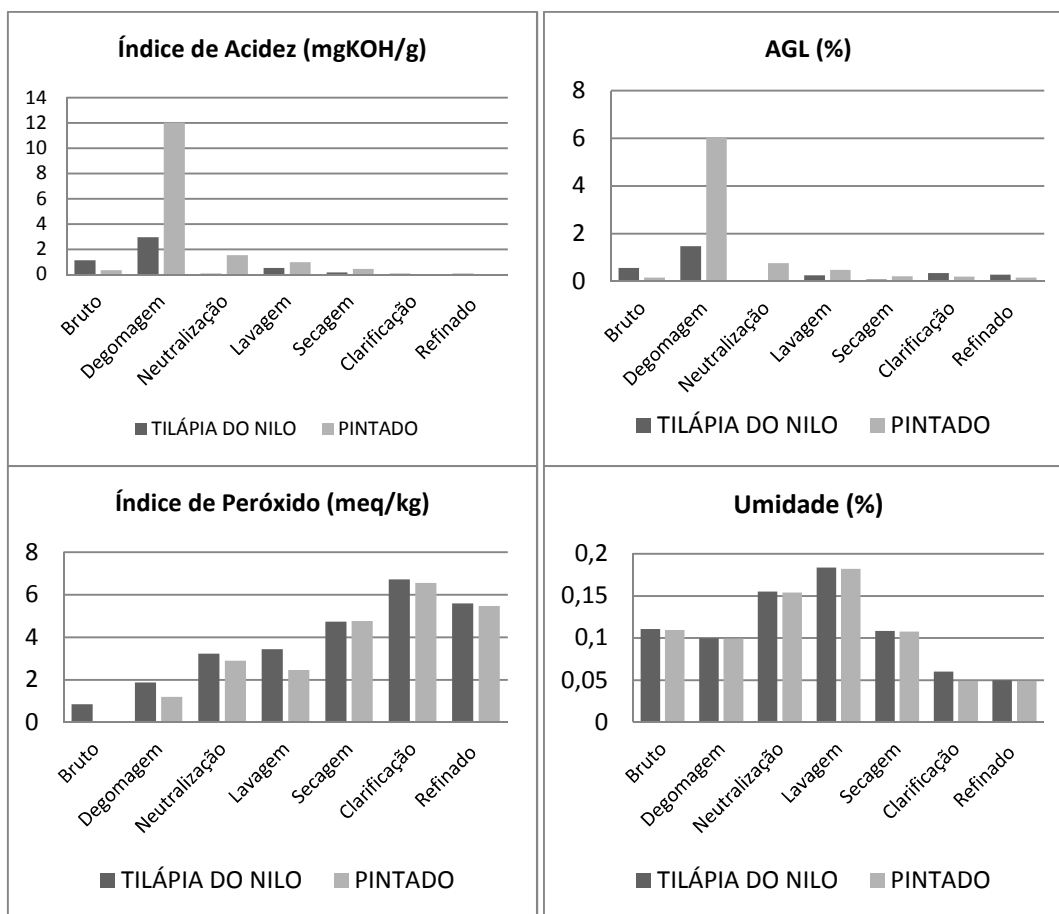
**Tabela 4.3.** Caracterização dos óleos de pescado bruto e refinado de tilápia do Nilo

Parâmetro	Bruto	Degomagem	Neutralização	Lavagem	Secagem	Clarificação	Refinado
Acidez (mgKOH/g)	1,12 ± 0,40	2,96 ± 0,86	0,06 ± 0,02	0,52 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,058 ± 0,02
AGL (% ac. oléico)	0,56 ± 0,20	1,48 ± 0,43	0,03 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0,29 ± 0,01
Peróxido (meq/kg)	0,85 ± 0,22	1,88 ± 0,41	3,23 ± 0,80	3,44 ± 1,04	4,74 ± 0,53	6,72 ± 1,27	5,60 ± 1,06
Iodo (Cg de I <sub>2</sub> /g)	84,54 ± 0,99	84,66 ± 1,04	83,52 ± 2,21	83,34 ± 1,88	83,43 ± 1,28	83,19 ± 0,18	82,42 ± 0,15
Refração	1,4633 ± 0,0007	1,4635 ± 0,0005	1,4635 ± 0,0005	1,4633 ± 0,0003	1,4633 ± 0,0002	1,463015 ± 0,0004	1,4630 ± 0,0003
Saponificação (mgKOH/g)	194,96 ± 1,45	192,72 ± 1,43	192,44 ± 1,43	191,75 ± 1,50	192,17 ± 1,43	195,74 ± 1,61	193,59 ± 1,59
Umidade (%)	0,1106 ± 0,0154	0,0999 ± 0,0007	0,1554 ± 0,0057	0,1837 ± 0,0209	0,1085 ± 0,0076	0,0601 ± 0,0157	0,0501 ± 0,0131
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	0,9272 ± 0,0014	0,9270 ± 0,0004	0,9269 ± 0,0004	0,9275 ± 0,0004	0,9274 ± 0,0004	0,9293 ± 0,0005	0,9284 ± 0,0004
Lipídios Totais (%)	94,77 ± 2,62	93,21 ± 1,49	93,14 ± 2,37	93,33 ± 4,53	92,69 ± 3,41	92,13 ± 2,14	91,29 ± 2,12

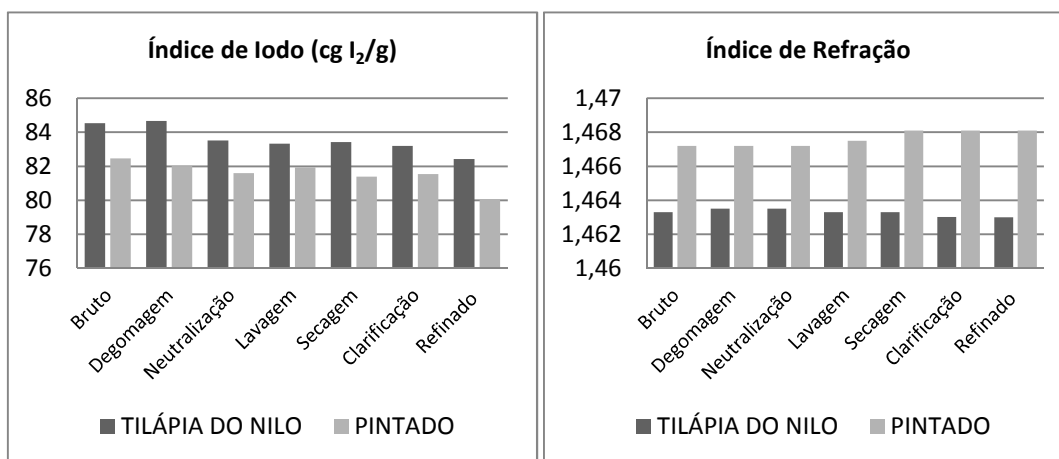
**Tabela 4.4.** Caracterização dos óleos de pescado bruto e refinado de pintado híbrido

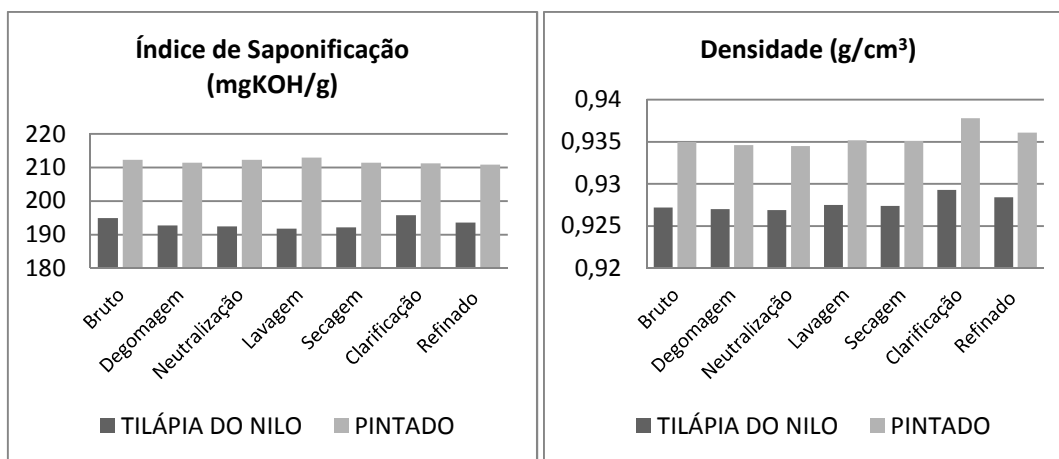
Parâmetro	Bruto	Degomagem	Neutralização	Lavagem	Secagem	Clarificação	Refinado
Acidez (mgKOH/g)	0,34 ± 0,003	12,02 ± 2,90	1,54 ± 0,73	0,98 ± 0,40	0,45 ± 0,28	0,042 ± 0,13	0,034 ± 0,17
AGL (% ac. oléico)	0,17 ± 0,007	6,01 ± 1,45	0,77 ± 0,36	0,49 ± 0,20	0,22 ± 0,14	0,020 ± 0,12	0,017 ± 0,09
Peróxido (meq/kg)	0,00 ± 0,00	1,19 ± 0,33	2,90 ± 0,57	2,46 ± 0,44	4,76 ± 1,56	6,56 ± 1,34	5,48 ± 1,18
Iodo (Cg de I <sub>2</sub> /g)	82,46 ± 0,00	82,02 ± 2,72	81,59 ± 0,70	81,94 ± 0,13	81,40 ± 1,98	81,54 ± 0,33	80,04 ± 0,31
Refração	1,4672 ± 0,0007	1,4672 ± 0,0007	1,4672 ± 0,0007	1,4675 ± 0,0005	1,4681 ± 0,0001	1,4681 ± 0,0001	1,4681 ± 0,0001
Saponificação (mgKOH/g)	212,30 ± 19,13	211,43 ± 32,74	212,31 ± 5,43	212,96 ± 4,74	211,40 ± 10,91	211,25 ± 1,79	210,85 ± 1,72
Umidade (%)	0,1098 ± 0,0001	0,0992 ± 0,0001	0,1543 ± 0,0002	0,1824 ± 0,0002	0,1078 ± 0,0001	0,04938 ± 0,0006	0,0491 ± 0,0002
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	0,9350 ± 0,0008	0,9346 ± 0,0008	0,9345 ± 0,0008	0,9352 ± 0,0008	0,9351 ± 0,0008	0,9378 ± 0,0014	0,9361 ± 0,0008
Lipídios Totais (%)	93,05 ± 0,21	92,06 ± 0,21	90,57 ± 0,20	90,69 ± 0,19	90,61 ± 0,19	90,02 ± 1,19	89,87 ± 0,19





**Figura 4.2.** Comportamento dos óleos de pescado durante o refino para os parâmetros de qualidade.





**Figura 4.3.** Comportamento dos óleos de pescado durante o refino para os parâmetros de identidade.

Os óleos brutos de pescado apresentado nas Tabelas 4.3 e 4.4 e Figura 4.2 são de qualidade satisfatória, haja vista os baixos índices de acidez e de peróxido tanto para tilápia do Nilo como para pintado híbrido (AGL - 0,56 e 0,17% e IP 0,85 e 0 meq/kg respectivamente). Estes valores são bastante inferiores aqueles obtidos por Crexi et al. (2009) para óleos obtidos por ensilagem ou extraído de farinha de pescados (AGL - 5,5% e 2,8 meq/g e 4,8% e 3,5 meq/kg respectivamente).

Durante a etapa de degomagem, o aumento da acidez era esperado devido ao ácido fosfórico, que pode não ter reagido completamente e à presença de ácidos graxos livres. Contudo ao longo do refino a acidez diminuiu expressivamente. O aumento do índice de peróxido foi devido principalmente à temperatura utilizada durante este processo (80°C). As alterações no índice de acidez também foram observadas por Morais et al. (2001) com AGL em 7,2% e Crexi et al. (2007, 2009) com 6,2% para etapa de degomagem. Entretanto os óleos brutos analisados por estes autores se encontravam com valores elevados tanto para acidez quanto para peróxido. Esta etapa inicial de refino do óleo não produziu alterações impactantes nas cadeias carbônicas para modificar a identidade do óleo.

A etapa de neutralização do óleo foi satisfatória, pois neutralizou os AGL, reduzindo a acidez consideravelmente (97 e 87% para tilápia do Nilo e

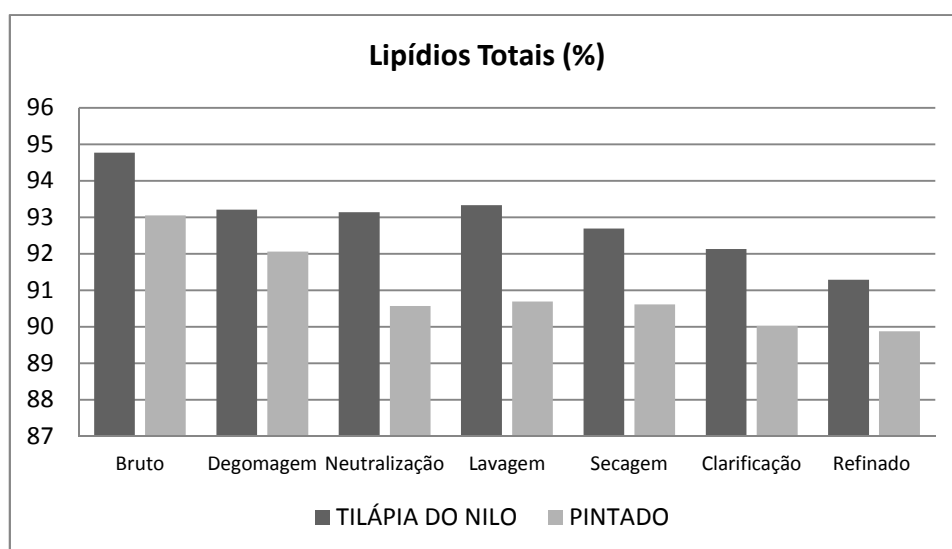
pintado híbrido, respectivamente). Entretanto isto ocasionou o aumento dos índices de peróxidos, pois a temperatura ainda estava elevada. Morais et al. (2001) estudaram diferentes configurações de processo para esta etapa e em todos os ensaios, o IP aumentou como era esperado. Nesta etapa os índices de iodo e saponificação foram ligeiramente afetados, mas não comprometeram a identidade do óleo. Estas alterações também ocorreram com outros autores (HARTMAN e ESTEVES, 1991; MORAIS et al, 2001; CREXI et al, 2007, 2009; CUNHA et al, 2009).

A lavagem e a secagem do óleo removem impurezas (borras e sabões) e umidade como constatado com o decréscimo da umidade na etapa de neutralização a secagem. Alguns autores realizaram duas ou três etapas de lavagem para garantir a completa remoção de impurezas. Esta operação é importante para preparar o óleo para a etapa de branqueamento. Cabe salientar que a umidade está diretamente relacionada à acidez: quanto maior a umidade, maior a tendência de ocorrência de hidrólise de ácidos graxos, ocasionando rancidez hidrolítica no óleo, caracterizada por odor e sabor mais conhecidos como ranço (NORRIS, 1982; HARTMAN e ESTEVES, 1991; MORETTO e FETT, 1998).

A etapa de clarificação com carvão ativado foi realizada para remover ainda mais substâncias que conferem cor e odor ao óleo, como pigmentos, compostos oxidados, AGL e metais (MORAIS et al., 2001). Não foram observadas diferenças expressivas na caracterização entre óleos clarificado e filtrado, como mostrado nas Tabelas 4.3 e 4.4. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Morais et al. (2001), Crexi et al. (2007, 2009) e Cunha et al. (2009) para óleo de pescado e Paucar-Menacho et al. (2007) para óleo de arroz e não produziram alterações representativas na identidade do óleo.

O teor de lipídios teve reduções em algumas etapas de refino dos óleos (Figura 4.4). Este fato deve-se à remoção de outros compostos lipídicos, como fosfatídios, ceras e colesterol. Em relação aos valores dos II, IS, IR e densidade, verificou-se nas Tabelas 4.3 e 4.4 e Figura 4.3 que nos óleos bruto

e refinado não houve alteração expressiva nestes valores. Estes dados são relacionados, respectivamente, ao grau de insaturação e ao peso molecular dos ácidos graxos esterificados ao glicerol. Desta maneira, as etapas utilizadas no refino degomagem, neutralização e branqueamento não afetam a composição de ácidos graxos do óleo, conforme reportado na literatura em estudos de refino (MORAIS et al. 2001; CREXI et al., 2007, 2009; CUNHA et al. 2009; MONTE, 2010).



**Figura 4.4.** Teor de lipídios durante o processamento do óleo

Comparando-se os óleos brutos e refinados das duas espécies de pescado estudadas, percebe-se apesar da baixa umidade e de que mesmo estando o índice de acidez acima de 0,1 mgKOH/g e o de peróxido abaixo de 2 meq/kg, estes óleos estariam aptos para serem utilizado em outros processos mesmo sem refino completo. Somente clarificação e filtração mostraram-se adequados para remoção de impureza e alguns compostos.

Neste estudo observou-se que a identidade foi preservada para os óleos refinados de acordo com a metodologia proposta por Morais et al., (2001), utilizada por diversos autores ( CREXI, 2005; 2009; CUNHA 2009; MONTE, 2010). Contudo isto não foi observado para os parâmetros de qualidade, conforme esperado, visto que houve um aumento expressivo e.g. do índice de peróxido. Destaca-se que em todos os estudos anteriores com óleos de

pescados reportados acima, os óleos já se encontravam em estado inicial de oxidação, diferentemente das amostras estudadas neste trabalho, indicando que a metodologia de refino químico não deve ser aplicado à óleos de ótima qualidade.

Para tornar o óleo bruto de pescado apto para consumo humano, sem que o mesmo passe por algum tratamento que envolva altas temperaturas e adição de produtos químicos, uma centrifugação em alta rotação bastaria. A adição de um antioxidante ao óleo bruto poderia ainda ajudar a aumentar sua vida útil e conservar sua identidade.

Os óleos de pescado diferem entre si pelo tamanho de suas cadeias carbônicas e tipos de ácidos graxos constituintes, podendo ser saturados, monoinsaturados e poliinsaturados (MORETO e FETT, 1998). Estas características são determinadas através da composição em ácidos graxos, realizada através de cromatografia gasosa. Na Tabela 4.5 é apresentado um perfil cromatográfico detalhado para cada ácido graxo constituinte dos óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido.

**Tabela 4.5.** Composição de ácidos graxos para óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido.

Ácido Graxo	Óleo de tilápia do Nilo (%)		Óleo de Pintado híbrido (%)	
	Óleo bruto	Óleo refinado	Óleo bruto	Óleo refinado
Láurico (C:12)	0,04	0,04	-	-
Ác. Mirístico (C14:0)	2,97	2,69	1,38	1,27
Ác. Pentadecanóico (C15:0)	0,22	0,2	0,26	0,26
Ác. Palmítico (C16:0)	25,54	21,6	22,74	20,39
Ác. Heptadecanóico (C17:0)	0,22	0,74	0,15	0,53
Ác. Esteárico (C18:0)	7,24	7,01	6,73	6,54
Ác. Araquídico (C20:0)	0,16	0,29	0,25	0,27
Ác. Heneicosanóico (C21:0)	1,02	1,02	-	-
Ác. Behênico (C22:0)	0,46	0,34	0,21	0,20
Tricosanoico (C23:0)	1,13	0,79	0,84	0,78
Ác. Lignocérico (C24:0)	0,04	0,04	-	-
Ác. Miristoleico (C14:1)	0,21	0,21	0,07	0,06
Ac. Pentadecenóico (C15:1)	-	-	0,30	0,36
Ác. Palmitoleico (C16:1)	7,13	7,54	3,95	4,03
Ác. Oléico (C18:1n9c)	31,50	30,02	27,87	28,04
Ác. cis-Heptadecenóico (C17:1)	-	-	0,11	0,12
Ác. cis-Eicosenóico (C20:1)	1,98	2,59	1,11	1,15
Ác. Erucico (C22:1n9)	0,71	0,72	-	-
Ác. Nervônico (C24:1)	0,08	0,08	0,14	0,16
Ác. Linoléico (C18:2n6c)	13,73	14,73	18,38	18,84
Ác. Gama Linolênico (C18:3n6)	1,11	1,9	0,28	0,34
Ác. Linolênico (C18:3n3)	0,09	0,12	1,27	1,38
Ác. Cis-Eicosadienóico (C20:2)	0,68	0,67	0,50	0,50
Ác. Cis-Eicosatrienóico (C20:3n6)	0,06	0,05	0,92	0,91
Ác. Docosadienóico (C22:2n6)	0,30	0,22	-	-
Ác. cis-Eicosapentaenóico (C20:5n3)	0,16	0,28	1,60	1,60
Ác. cis-Docosahexaenóico (C22:6n3)	2,58	3,02	9,31	9,45
Ác. Elaidico (C18:1n9t)	0,47	0,47	0,10	0,10
Somatório de ácidos graxos saturados	39,04	34,76	32,56	30,24
Somatório de Ácidos graxos insaturados	60,79	62,62	65,91	67,04

Dados de literatura referentes à composição de ácidos graxos presentes em peixes indicam que os teores de ácidos graxos essenciais, comumente conhecidos como  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6 não são predominantes em pescados de água doce. Isto se confirma através dos dados obtidos na Tabela 4.5 para as duas espécies de água doce estudadas neste trabalho. EPA e DHA para óleo de tilápia do Nilo foram 0,16 e 2,48%, respectivamente, enquanto que para o óleo de pintado híbrido esses valores foram maiores, 1,60 e 9,31%, respectivamente. Esses ácidos graxos destacam-se devido aos benefícios que proporcionam à saúde humana, sendo atualmente utilizados na formulação de alimentos e suplementos dietéticos (Zhong et al., 2007). Os óleos de pescado marítimo costumam ter 30% de EPA e DHA (PACHIONNI, 1999), valores bem acima daqueles verificados neste estudo.

Esta composição de ácidos graxos explica o parâmetro de índice de iodo, que está relacionado com o grau de insaturações. Conforme a Tabela 4.3 e Tabela 4.4, observa-se um valor de índice de iodo reduzido tanto para o óleo de tilápia do Nilo quanto para o óleo de pintado híbrido, devido a baixa concentração de ácidos graxos insaturados.

Destaca-se o estudo realizado por Ramos Filho et al. (2008) para 4 espécies de pescados de água doce da região do pantanal sul-mato-grossense (pintado híbrido, pintado híbrido, pacu e dourado), em que mostrou-se a predominância do ácido oléico (C18:1 $\omega$ -9), seguida de ácido palmítico (C16:0) e em menor proporção de ácido esteárico (C18:0). Além disso, Andrade et al. (1995) encontraram em filés de dourado valores de 9,76% para ácido oléico; 39,44% para ácido palmítico e 9,25% para ácido esteárico enquanto Luzia et al. (2003) mostraram predominância do ácido palmítico em tilápia 35,9% e curimatá 28,9%.

O valor energético de todos os ácidos graxos é praticamente igual, existindo, porém, diferenças quanto ao efeito fisiológico. O ácido linoléico (C18:2  $\omega$ -6) predominante em óleos de milho, girassol e soja, e o alfa linolênico (C18:3  $\omega$ -3) em óleos de linhaça, canola, colza e em peixes, são ácidos graxos essenciais, pertencentes a série  $\omega$ -6 e  $\omega$ -3, respectivamente, e promotores da

diminuição dos níveis de triacilgliceróis e colesterol sanguíneos reduzindo os riscos de moléstias cardiovasculares (BELDA; POUCHET-CAMPOS, 1991; WHELAN; RUST, 2006). Esses ácidos graxos foram encontrados principalmente para o óleo de pintado híbrido, corroborando com o estudo realizado por Ramos filho (2008). Apesar de estudos terem reportado que em peixes de água doce contenham teores relativamente baixos de EPA e DHA, possuem níveis de polinsaturados da família ômega-3 mais baixos que peixes marinhos (ÇELIK et al., 2005; RASOARAHONA et al., 2005; SIDHU, 2003; STEFFENS, 1997).

A composição lipídica dos pescados estudados mostrou variação na composição de ácidos graxos, provavelmente decorrente de vários fatores como genética, tamanho, sexo, estágio reprodutivo, alimentação, fatores ambientais, temperatura e estação do ano (ACKMAN, 1967; OGAWA, 1999; LUZIA et al., 2003; FERREIRA et al., 2007).

No refino do óleo de pescado, não houve influência da temperatura, exposição à luz, oxigênio atmosférico para que houvesse quebra das cadeias carbônicas e das insaturações presentes nos ácidos graxos, visto que estes parâmetros permaneceram constantes, da mesma forma que as proporções de saturações/insaturações se mantiveram semelhantes para os óleos bruto e refinado (Tabela 4.5).

#### **4.1.4 CONCLUSÕES**

- O método para a obtenção de óleos a partir de resíduos gordurosos do processamento de CMS de tilápia do Nilo e pintado híbrido para a obtenção de concentrado proteico produziu resultados satisfatórios, como rendimento elevado (para o óleo tilápia do Nilo), características superiores às recomendadas pela legislação sem que houvesse alteração da identidade e da qualidade.
- Comparando os óleos de pescados de água doce estudados, estes apresentam dois parâmetros de identidade bastante diferentes para



saponificação e densidade, que possivelmente esteja relacionado com o peso molecular dos ácidos graxos presentes.

- Os parâmetros de identidade do óleo tiveram reações diferentes ao longo do refino químico. Possivelmente ocorreram pequenas quebras de algumas cadeias carbônicas como demonstrada pelo aumento no índice de peróxido e leve diminuição do índice de iodo. Os índices de saponificação, refração e densidade sofreram ligeiras alterações, sem alterar a identidade dos óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido.
- A composição em ácidos graxos para óleo bruto e refinado mostraram que as alterações foram tênues e não afetaram a identidade do óleo, principalmente mantendo as insaturações das frações de ácidos graxos essenciais ( $\omega$ -3 e  $\omega$ -6), que se apresentaram elevadas para pescados de água doce, devido principalmente ao *habitat* e a alimentação.

#### 4.1.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>1</sup>

ACKMAN, R.G. Characteristics of the fatty acid composition and biochemistry of some fresh-water fish oils and lipids in comparison with marine oils and lipids. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.22, p.907-922, 1967.

AOCS - American Oil Chemists Society. **Official and Tentative Methods of American Oil Chemists, Society**.4 ed. USA, 1998.

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

BIMBO, A.P.; CROWTHER, J.B. Fish Oils: Processing Beyond Crude Oil. **Infofish International**, p. 20-24, 1991.

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

---

<sup>1</sup> Estas e as demais referências encontram-se de acordo com as Normas do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da UFGD.

BRASIL, Portaria nº 19, de 15 de março de 1995 **Estabelece critérios para o Complemento Nutricional e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, 16 de março de 1995.

BRASIL. Resolução nº 482 – ANVISA de 23 de Setembro de 1999. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais**. Diário Oficial da União, Brasília, 24 de Setembro de 1999.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. São Paulo: Sindirações/Anfal. Campinas CBNA/SDR/MA. 371p., 1998.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION JOINT WHO/FAO. "Standard for named vegetable oils" e "Standard for fats and oils not covered by individual standards". Alinorm 99/17.Rome, 1999.

CREXI, V. T. et al. Refino de óleos de corvina (*Micropogonias furnieri*) provenientes dos processos de ensilagem ácida e termomecânico de farinha. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, (66)1, p. 50-56, 2007.

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

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

CUNHA, D. C.; CREXI, V. T.; PINTO, L. A. A. "Winterização" de óleo de pescado via solvente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol.29, n.1, pp. 207-213, 2009.

FELTES, M. M. C. et al. Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 6, 2010.

FERREIRA, M. W. et al. Efeito dos métodos de cocção sobre a composição química e perfil lipídico de filés de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus). **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 798-803, 2007.

HARTMAN, L.; ESTEVES, W. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais**. São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia (Série Tecnologia Agroindustrial, 13), 169 p., 1981.

JORGE, N.; et al. Alterações físico-químicas dos óleos de girassol, milho e soja em frituras. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 6, 2005.

LUZIA, L.A. et al. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. **Food Chemistry**, Champaign, v. 83, n. 1, p. 93-97, 2003.

MENEGAZZO, M. L. et al. Obtenção de óleo a partir do processamento de surimi de CMS de tilápia do Nilo. In: 7º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, 2010. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, 2010.

MONTE, M.L. Estudo cinético do branqueamento do óleo de carpa (*Cyprinus carpio L.*). Rio Grande: Universidade Federal do Rio Grande, Dissertação de mestrado – 2010.

MORAIS M.M. et al. Estudo do processo de refino do óleo de pescado. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, p. 23-33. 2001.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos vegetais e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela, 150 p., 1998.

NEIVA, C. R. P. Aplicação da tecnologia de carne mecanicamente separada - CMS na indústria de pescado. **Instituto de Pesca - APTA – SAA**, 2006.

NORRIS, F. A. Refining and Bleaching. In: **Bailey's Industrial and Fat Products**. John Wiley & Sons, 4th ed., v. 2, p. 253-314, 1982.

NUNES, S. B. **Estabelecimento de um plano de análise de perigo e pontos críticos de controle (APPCC) para peixe-sapo (*Lophius piscatorius*) eviscerado e congelado**. 2001. 121p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

OETTERER, M., REGITANO-D'ARCE, M.A.B., SPOTO, M.H.F. **Fundamentos de Ciência de Tecnologia de Alimentos**. Manole, 632p, 2006.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca**. São Paulo: Livraria Varela, 430p, 1999.

PAUCAR-MENACHO, L. et al. Refino de óleo de farelo de arroz (*Oryza sativa L.*) em condições brandas para preservação do Y-orizanol. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p.10-20, 2007.

PEDROSO, A.M. et al. Processos de Clarificação de Óleo de Pescado. **Revista Vetor**, Rio Grande, n. 7, p. 71-80, 1997.

RAMALHO, V. C; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.10, n.2, p.240-245, 2005.

RAMOS FILHO, M. M. et al. Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira de Mato Grosso do Sul. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 2, 2008.

RITTNER, H. **Óleo de Palma: processamento e utilização**. 1ª ed, p.151-207, 1996

SANTOS, F.F. et al. Produção de Biodiesel a Partir do Óleo Extraído das Vísceras de Peixe. In: III Congresso de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel. Lavras. 2006. **Anais...** Lavras, 2006.

SARY, C. et al. Influência da lavagem da carne mecanicamente separada de tilápia sobre a composição e aceitação de seus produtos. **Rev Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.**, Curitiba, v. 7, n. 4, p. 423-432, 2009.

SEBRAE. **Aquicultura e pesca: tilápias**. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, 2008.

SEIBEL, N. F.; SOARES, L. A. de S. Produção de silagem química com resíduos de pescado marinho. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.6, n.2, p.333-337, 2003.

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

ZANOTTA, P.A. **Ensaio cinéticos de branqueamento de óleo de soja**. 1999,. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1999

## 4.2 ARTIGO 2 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS OLEOS DE TILÁPIA DO NILO E PINTADO HÍBRIDO DURANTE ARMAZENAMENTO A BAIXA TEMPERATURA

### RESUMO

Os óleos representam um dos principais produtos extraídos de plantas e animais. Dois terços desta produção são utilizados em produtos alimentícios. Os lipídios são fontes de energia de grande importância para a indústria, na produção de ácidos graxos, glicerina, biodiesel, além de inúmeras outras aplicações. O óleo de pescado contém os mesmos tipos de ácidos graxos que outros óleos e gorduras, diferindo apenas em seu conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa. Neste estudo, o óleo foi extraído a partir do aquecimento a baixa temperatura e filtração do resíduo gorduroso do processamento do concentrado proteico de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e pintado híbrido (*Pseudoplatystoma fasciatum*) e estudados quanto variação da estabilidade hidrolítica e oxidativa desses óleos através da avaliação quinzenal dos parâmetros de qualidade e identidade dos óleos durante 180 dias armazenados em garrafas plásticas de PEAD e em freezer a -18°C. Os resultados obtidos demonstraram que as condições de armazenamento mantiveram a qualidade do óleo por um período de 105 dias e após este tempo, iniciou-se um processo lento, mas crescente de degradação hidrolítica e oxidativa do óleo, alcançando acidez de  $0,82 \pm 0,04$  e  $1,34 \pm 0,07$  % e índice de peróxido de  $4,89 \pm 0,03$  e  $3,24 \pm 0,05$  meq/Kg para óleo de tilápia do Nilo e óleo de pintado híbrido e alterações na identidade do óleo, entretanto, os índices de iodo, saponificação, refração e densidade continuaram dentro do intervalo característico baseado na legislação para óleos vegetais e óleos de fígado de cação e fígado de bacalhau, visto que ainda não há normatização para óleos de pescados de água doce.

**Palavras-chave:** óleo, estocagem, pescados, água doce, tempo

#### **4.2.1 INTRODUÇÃO**

A demanda e o consumo de peixes de água doce e salgada têm aumentado devido a seus benefícios nutricionais, como o alto teor do ácido graxo poliinsaturado ômega 3, bem como de proteínas de boa qualidade e seu baixo teor de colesterol. Esses benefícios resultam em uma maior participação dos mesmos no mercado de alimentos. Uma das maneiras de consumir esses ácidos graxos insaturados, que são benéficos a saúde, é através de óleos de pescados encapsulados ou a retirada das frações essenciais e incluindo-as em outros alimentos (FELTES et al., 2010). É necessário realizar estudos para comprovar a condição nutricional, qualidade e identidade dos óleos para garantir sua durabilidade e validade.

A composição do óleo de pescado varia dependendo da espécie, dieta, idade, sexo, tamanho, temperatura do ambiente, estação do ano e localização geográfica. O óleo de pescado contém os mesmos tipos de ácidos graxos que outros óleos e gorduras, diferindo apenas em seu conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (AUGUSTO-RUIZ et al., 1997; OGAWA e MAIA, 1999). A composição corporal do peixe é um fiel reflexo da dieta consumida pelo animal (VISENTAINER et al., 2005).

No Brasil, este óleo é usado basicamente em curtumes, na fabricação de tintas e vernizes, como lubrificante, impermeabilizante, ou seja, são comercializados como produtos de baixo valor agregado, porém reconhecidos mundialmente como produtos nobres e de alto valor fisiológico para o corpo humano, estes apresentam, além dos ácidos graxos essenciais, proteína de alta qualidade, ótima digestibilidade e baixo teor calórico, porém, não são sintetizados pelo nosso corpo e devem ser obtidos a partir da dieta (AUGUSTO-RUIZ et al., 1997).

Para a utilização de óleo extraído de resíduos de pescados para alimentação humana, é imprescindível tomar cuidados com a qualidade da matéria-prima, tendo em vista que, a perecibilidade do tecido dos peixes é maior que a de outras espécies animais; além disso, a qualidade está

diretamente relacionada aos cuidados na manipulação e conservação do peixe a baixas temperaturas, em toda a cadeia produtiva (FELTES et al., 2010).

O método convencional para a obtenção industrial de óleo envolve as etapas de cozimento, prensagem e/ou filtração e centrifugação do material. O cozimento da massa é essencial para a liberação da água e do óleo do material, composto de sólidos solúveis e óleo bruto (FELTES et al., 2010). Neste método o óleo bruto apresenta impurezas e outros compostos como ácidos graxos livres, mono e diglicerídios, fosfatídios, esteróides, vitaminas, hidrocarbonetos, pigmentos, carboidratos, proteínas e seus produtos de degradação, que pode torná-lo inadequado ao consumo humano (MORAIS et al., 2001), fornecendo um óleo bruto de baixa qualidade, sendo necessário um processo de tratamento e/ou refino antes de sua utilização para consumo humano (CREXI et al, 2009).

Um método alternativo para extração de óleo de pescado é através do aproveitamento dos resíduos gordurosos extraídos durante o processamento da CMS para a obtenção de concentrado proteico, que são transformados em óleo de pescado através de aquecimento a baixa temperatura e filtração para remoção de impurezas e traços de umidade (MENEZZO et al., 2010).

A presença de ácidos graxos de cadeias médias e longas e com insaturações torna o óleo de pescado susceptível a processos oxidativos que afetam suas características e seu valor nutricional quando submetidos a diferentes temperaturas e luminosidade durante as etapas de processamento e estocagem (MORETTO e FETT, 1998). Os óleos na presença de oxigênio, luz, calor, umidade e metais são muito instáveis, sofrendo inúmeras reações de degradação (hidrólise e oxidação de ácidos graxos), o que dificulta a sua conservação, fazendo com que o seu processo de armazenamento seja fundamental para a manutenção de sua qualidade (GUIMARÃES et al., 2008).

As principais alterações químicas que ocorrem nos óleos vegetais e animais são por processos químicos como a auto-oxidação, a polimerização térmica ou a oxidação térmica, que podem ser acelerados pelo calor, luz (foto-

oxidação), ionização, traços de metais ou catalisadores (MORETO e FETT, 1998; MALLÉGOL et al., 2000) e são demonstrados pelos índices de acidez, ácidos graxos livres e peróxido. De acordo com Lima e Gonçalves (1994), Ramesh (1995) e Moreto e Fett (1998) a elevação dos índices de acidez, AGL e de peróxido demonstra o aumento da oxidação térmica e lipídica, formando ácidos graxos livre e hidroperóxidos que podem comprometer o aroma, cor e sabor dos óleos, culminando no processo de rancificação do óleo.

É de grande importância que o óleo mantenha suas qualidades nutricionais e tenha maior tempo de estocagem. Uma pesquisa dessa natureza poderá contribuir na correta orientação quanto ao armazenamento correto dos óleos de pescado de água doce consequentemente uma melhoria da qualidade e uma maior confiabilidade nas propriedades dos óleos.

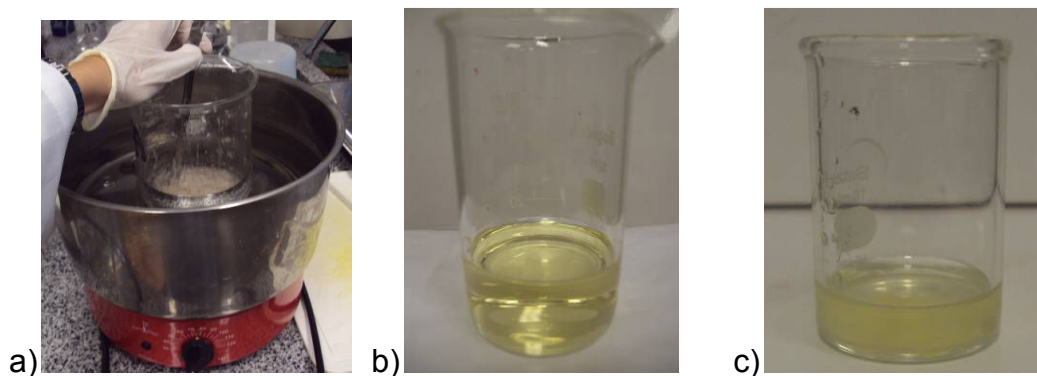
O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade e identidade dos óleos de tilápia do Nilo e de pintado híbrido durante 180 dias com estocagem em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$  em garrafas plásticas de PEAD.

## **4.2.2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.2.2.1 Óleo bruto de pescado**

A gordura removida do processamento da CMS para obtenção de concentrado protéico sofreu um processamento hidrotérmico, através de cocção/aquecimento em banho-maria a  $40^{\circ}\text{C}$  durante 3 horas (Figura 4.5a). Neste período, enquanto ocorria à liquefação da gordura, procedia-se com a retirada do óleo sobrenadante. O óleo removido foi imediatamente filtrado em papel filtro e a borra restante foi descartada. O óleo bruto (Figura 4.5b - óleo de tilápia do Nilo e Figura 4.5c - óleo de pintado híbrido) obtido foi acondicionado em recipientes plásticos (PEAD), armazenadas em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$  e procedeu-se a primeira caracterização do óleo. Estes procedimentos foram realizados a partir de CMSs de tilápia do Nilo e pintado híbrido.





**Figura 4.5. a)** Cocção da gordura de peixe em banho-maria; **b)** óleo de tilápia do Nilo; **c)** óleo de tilápia híbrida.

#### **4.2.2.2 Avaliação do óleo bruto de peixe durante 180 dias**

Para conhecer o comportamento dos óleos bruto de peixes, estes foram acondicionados em recipientes plásticos (PEAD), hermeticamente fechados, envolvidos com papel alumínio para evitar fotodegradação e armazenados em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$ . O intervalo de tempo entre cada avaliação é de 15 dias, sendo que cada amostra estava armazenada em frascos individuais não havendo comprometimento da amostra seguinte.

#### **4.2.2.3 Caracterização dos óleos de peixe obtidos**

Para verificar a qualidade dos óleos obtidos realizou-se sua caracterização de acordo com as metodologias descritas pela AOCS (1998) de índice de acidez (IA), % de AGL (ácidos graxos livres), índice de peróxido (IP), índice de saponificação (IS), índice de iodo - método Wijs (II), índice de refração a  $40^{\circ}\text{C}$  (IR), densidade e umidade (Karl Fischer®). O conteúdo de lipídios totais foi determinado segundo o método descrito por Bligh e Dyer (1959).

## **4.2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.2.3.1 Avaliação da qualidade do óleo bruto de pescado**

Os óleos brutos de pescados obtidos de resíduos gordurosos do processamento de concentrado proteico são de qualidade satisfatória, constatado pelos baixos índices de acidez, AGL, peróxido e umidade observados nas Tabelas 4.6 e 4.7 para tilápia do Nilo e pintado híbrido respectivamente no tempo zero.

A qualidade do óleo bruto no tempo zero foi preservada principalmente pelo método de extração utilizado, baixa temperatura e incidência luminosa, não afetando o óleo de modo a aumentar a rancidez e oxidação. Os parâmetros de identidade do óleo tilápia do Nilo observados na Tabela 4.6 são semelhantes aos valores reportados por Vidotti e Gonçalves (2006) e Santos (2006), o óleo de pintado híbrido, verificado na Tabelas 4.7, tem suas características semelhantes ao encontrado por outro este autor em outros estudos (Menegazzo et al., 2010).

**Tabela 4.6.** Avaliação da qualidade do óleo de tilápia do Nilo

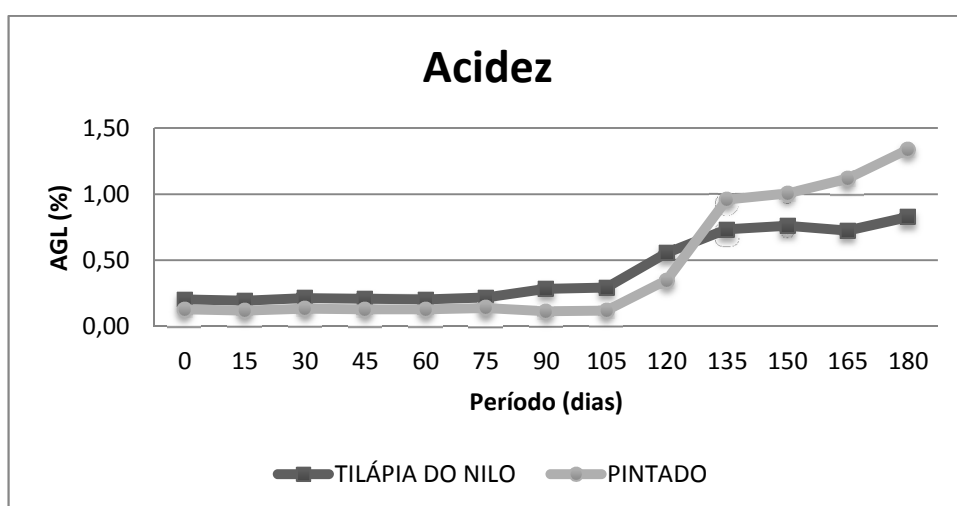
Tempo	IA	AGL	IP	II	IR	IS	DENSIDADE	UMIDADE	LIPÍDIOS TOTAIS
0	0,41 ± 0,02	0,20 ± 0,02	0,46 ± 0,04	84,07 ± 1,02	1,4654	196,60 ± 3,55	0,9273	0,1262	97,82 ± 0,98
15	0,39 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,47 ± 0,02	79,11 ± 1,45	1,4644	199,15 ± 2,81	0,9269	0,1277	97,72 ± 1,27
30	0,43 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,64 ± 0,02	79,80 ± 2,01	1,4643	198,12 ± 1,96	0,9273	0,1301	97,28 ± 2,01
45	0,42 ± 0,03	0,21 ± 0,03	0,65 ± 0,01	79,21 ± 1,33	1,4643	197,35 ± 1,34	0,9277	0,1245	97,33 ± 1,55
60	0,41 ± 0,02	0,20 ± 0,02	0,72 ± 0,03	79,45 ± 2,02	1,4640	199,19 ± 2,45	0,9272	0,1238	96,42 ± 1,22
75	0,44 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,80 ± 0,04	79,03 ± 2,76	1,4645	201,63 ± 4,02	0,9279	0,1262	96,17 ± 3,02
90	0,57 ± 0,02	0,28 ± 0,01	0,83 ± 0,01	78,42 ± 1,78	1,4644	201,40 ± 1,56	0,9281	0,1276	96,52 ± 1,67
105	0,59 ± 0,01	0,29 ± 0,03	0,84 ± 0,02	78,13 ± 2,32	1,4644	200,31 ± 1,22	0,9280	0,1163	96,35 ± 1,93
120	1,11 ± 0,05	0,55 ± 0,02	2,18 ± 0,07	78,99 ± 1,93	1,4643	201,70 ± 2,85	0,9279	0,1113	95,24 ± 2,14
135	1,47 ± 0,04	0,73 ± 0,04	2,31 ± 0,05	78,07 ± 1,07	1,4645	206,96 ± 2,77	0,9282	0,1267	95,44 ± 1,66
150	1,52 ± 0,03	0,76 ± 0,04	2,82 ± 0,02	78,67 ± 2,86	1,4644	206,65 ± 1,89	0,9283	0,1412	95,23 ± 2,43
165	1,45 ± 0,04	0,72 ± 0,03	3,89 ± 0,02	77,27 ± 1,63	1,4644	212,65 ± 1,98	0,9285	0,1491	95,25 ± 1,64
180	1,67 ± 0,04	0,82 ± 0,04	4,89 ± 0,07	72,59 ± 2,78	1,4641	217,75 ± 3,09	0,9288	0,1591	92,25 ± 2,75

**Tabela 4.7.** Avaliação da qualidade do óleo de pintado híbrido

Tempo	IA	AGL	IP	II	IR	IS	DENSIDADE	UMIDADE	LIPÍDIOS TOTAIS
0	0,26 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,29 ± 0,01	82,76 ± 1,56	1,4672	211,23 ± 2,78	0,9351	0,1174	97,87 ± 2,45
15	0,24 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,39 ± 0,02	81,48 ± 2,12	1,4670	211,83 ± 3,54	0,9351	0,1236	97,72 ± 1,27
30	0,27 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,40 ± 0,03	81,83 ± 1,98	1,4669	213,04 ± 2,45	0,9348	0,1214	97,47 ± 2,01
45	0,26 ± 0,02	0,13 ± 0,03	0,43 ± 0,02	81,59 ± 1,34	1,4669	212,21 ± 2,12	0,9347	0,1258	97,01 ± 1,78
60	0,26 ± 0,03	0,13 ± 0,01	0,45 ± 0,01	82,19 ± 2,01	1,4669	211,79 ± 1,52	0,9353	0,1250	96,71 ± 1,33
75	0,28 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,56 ± 0,03	81,59 ± 1,72	1,4670	210,92 ± 3,41	0,9349	0,1274	96,71 ± 2,21
90	0,23 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,78 ± 0,02	81,83 ± 1,47	1,4670	218,80 ± 1,73	0,9345	0,1291	96,3 ± 1,23
105	0,24 ± 0,01	0,12 ± 0,01	1,09 ± 0,04	80,47 ± 1,39	1,4670	219,45 ± 2,05	0,9344	0,1274	96,61 ± 1,03
120	0,70 ± 0,02	0,35 ± 0,01	1,36 ± 0,02	81,36 ± 1,73	1,4670	219,89 ± 1,79	0,9351	0,1324	95,97 ± 1,01
135	1,92 ± 0,04	0,96 ± 0,02	1,44 ± 0,01	81,36 ± 2,05	1,4671	218,04 ± 3,04	0,9350	0,1356	95,93 ± 1,12
150	2,01 ± 0,03	1,01 ± 0,03	2,00 ± 0,05	81,03 ± 3,01	1,4670	221,34 ± 1,92	0,9357	0,1466	95,42 ± 1,67
165	2,23 ± 0,03	1,12 ± 0,03	2,42 ± 0,06	79,59 ± 2,96	1,4670	225,83 ± 3,32	0,9360	0,1406	94,43 ± 1,07
180	2,67 ± 0,03	1,34 ± 0,03	3,42 ± 0,05	74,59 ± 3,18	1,4668	229,83 ± 5,01	0,9368	0,1511	92,13 ± 2,73

Durante o armazenamento, principalmente por longos períodos, o óleo pode sofrer alterações significativas em sua qualidade e identidade, por reações de hidrólise e oxidação, ocasionando prejuízos aos consumidores devido aos efeitos tóxicos causados pela ingestão de produtos oxidados (BOBBIO e BOBBIO, 1992; MORETTO e FETT, 1998). Estas alterações são verificadas através de todos os parâmetros mensurados neste trabalho, tanto para os de qualidade como de identidade do óleo como demonstrado nas Tabelas 4.6 e 4.7 para óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido respectivamente.

O índice de acidez dos óleos no presente estudo alcançaram, ao final dos 180 dias, valores não superiores a 3 mgKOH/g. A acidez, observada pelo índice de AGL sofreu variação ao longo do tempo, isso mostra que houve leve impacto na qualidade do óleo, ocorrendo algumas reações de hidrólise durante o armazenamento, conforme pode ser verificado na Figura 4.6. Para ambos os óleos ocorreu um súbito acréscimo a partir de 105 dias de armazenagem, sendo que o óleo de pintado híbrido alcançou o máximo de 1,34% enquanto o óleo de tilápia do Nilo apresentou estabilização da acidez a partir de 135 dias, atingindo um máximo de 1,34%.



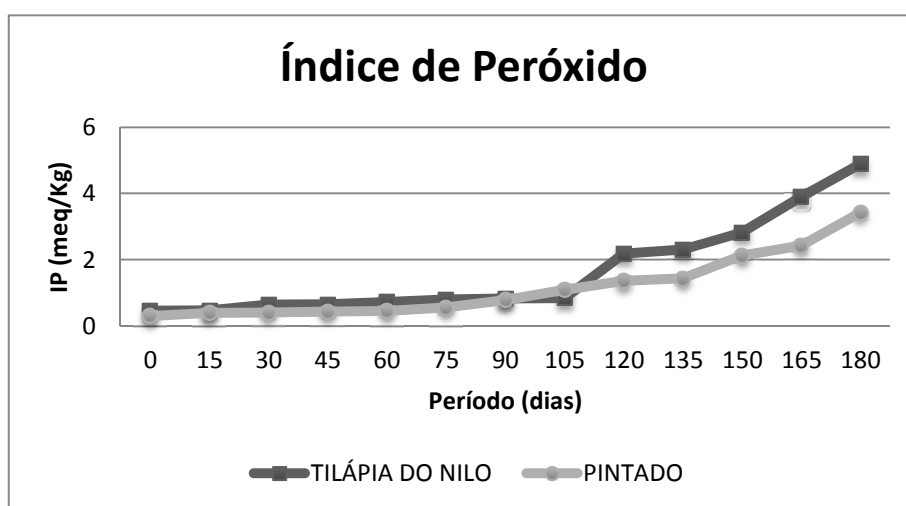
**Figura 4.6.** Variação de AGL durante o armazenamento do óleo de tilápia do Nilo e pintado híbrido

No estudo realizado por Boran et al (2006), avaliou-se diversos óleos de pescados, extraídos pelo método de Soxlet e armazenados em temperaturas diferentes (4 e -18 °C) e constatou-se que houve variação tanto para qualidade do óleo como identidade, entretanto, óleos armazenados a temperatura de -18°C sofreram alterações em menor intensidade. Para os índices de acidez, este autor encontrou valores crescentes durante o período de armazenamento e aos 150 dias, a acidez estava entre 9 e 15 mgKOH/g para os diversos tipos de óleos de pescado analisados. Em estudo realizado por Pacheco e Regitano-D'arce (2005) para óleo de peixe encapsulado armazenado durante 12 meses em diferentes materiais, a variação da acidez (AGL) foi entre 0,15 a 0,33% e houve oscilações da acidez ao longo do tempo para todas as embalagens analisadas. O óleo utilizado para estes experimentos foram previamente tratados, ou seja, refinados, visto que são óleos comercializados para consumo humano. Os resultados demonstrados pelos autores acima citados confirmam com os encontrados neste estudo de que há variação na qualidade do óleo, mesmo sendo refinado.

Fatores como umidade e material da embalagem de armazenamento, são decisivos para manutenção da qualidade do óleo e neste estudo, a presença de água no óleo estava a valores inferiores a 0,15% e o material de armazenamento do óleo em PEAD, resistente a baixas temperaturas, flexível, excelente resistência química e a água, não retém cheiros ou sabor, com grande aplicabilidade como embalagens de sucos, água e outros alimentos permitiu a ocorrência, em baixa escala, da quebra, através da hidrólise de ácidos graxos, no entanto, quando comparado com a legislação vigente para óleos vegetais (BRASIL, 1999), especificamente o azeite de dendê, tem-se AGL em 0,3% para refinado e 5,0% para óleo bruto, comparando-se com óleos de pescado marinho, a legislação brasileira normatiza os óleos de fígado de bacalhau e de fígado de cação (BRASIL, 1995), com IA em 1,2 e 2,8 mg KOH/g respectivamente. Segundo o *Codex Alimentarius* (1999) para óleos diversos, o índice de acidez é de 0,6 mgKOH/g para óleos refinados e 4,0 mgKOH/g para óleos virgens e óleos obtidos a partir de processos mecânicos, por exemplo expelindo ou prensagem, e a aplicação de calor apenas, podem ser purificado

somente por lavagem com água, decantação, filtração e centrifugação, estando o óleo deste estudo abaixo destes valores recomendados por diversas entidades normativas.

O estado de oxidação do óleo foi mensurado através do índice de peróxido, que retrata a formação de compostos peróxidos no óleo, sendo afetado principalmente pela exposição à luminosidade, oxigênio atmosférico, altas temperaturas e presença de alguns contaminantes como metais (MORETO e FETT, 1998). Neste estudo, tomou-se cuidado para evitar a incidência dos fatores citados, entretanto, é sabido que o PEAD tem certa permeabilidade a oxigênio, tendo o óleo de pescado sofrido alterações devido a estes fatores, conforme Figura 4.7.



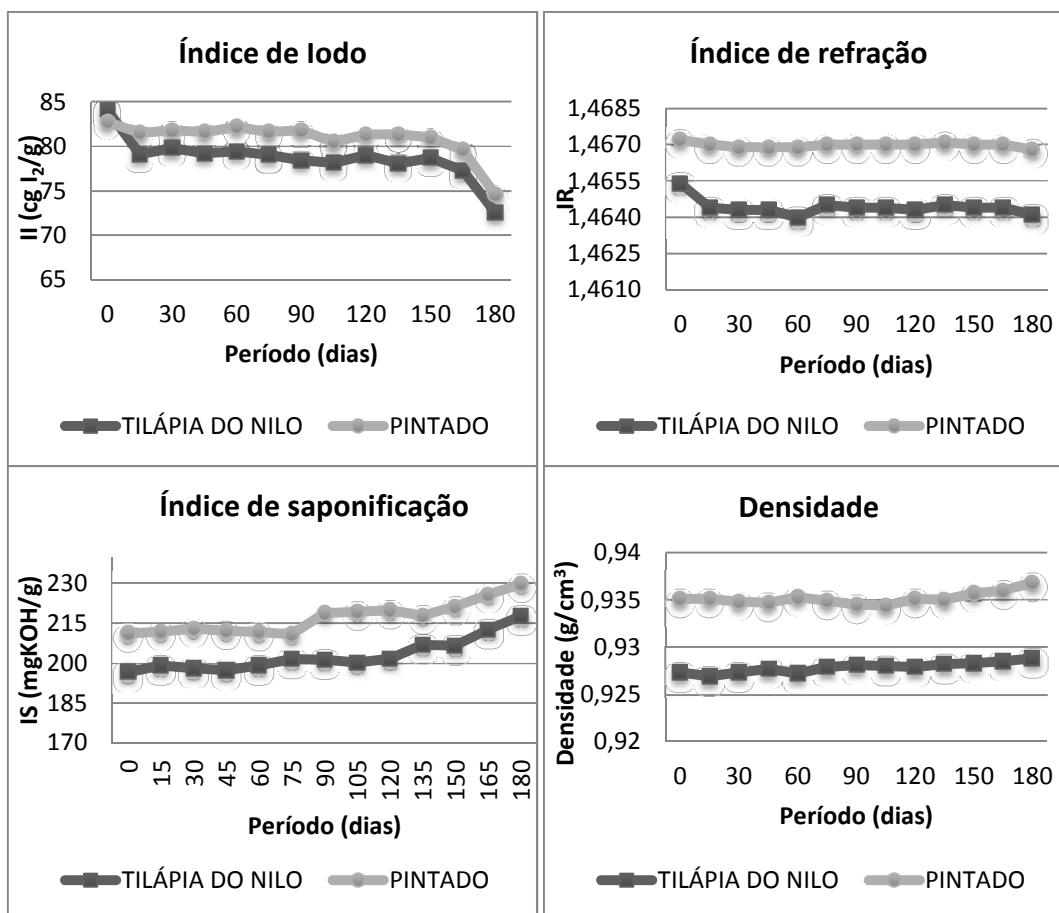
**Figura 4.7.** Variação do Índice de Peróxido durante o armazenamento do óleo de tilápia do Nilo e pintado híbrido

No estudo de Boran et al (2006), a extração de óleo pelo método Soxlet faz com que o IP dos óleos por eles estudados (IP maiores que 3 meq/kg) seja maior do que o observado neste estudo (IP inferior a 0,5 meq/kg), visto que este método utiliza solventes e altas temperaturas. O método de extração do óleo é decisivo para a garantia de qualidade, visto que altas temperaturas utilizadas para a produção de óleo como coproduto da produção de farinha ocasionam valores iniciais de degradação como 3,68 meq/kg (CREXI et al., 2009) e 2,1 meq/kg (CUNHA, 2009) para óleo de víscera de carpa e óleo misto de pescados marinhos, respectivamente.

Em estudos realizados por Boran et al (2006), Verma et al (1995), Simeonidou et al (1997) a temperatura e tempo de armazenamento contribui significativamente para o aumento do IP, observando valores acima de 10 meq/kg e alguns casos 20 meq/kg mesmo com temperaturas inferiores a -18°C e tempo superiores a 180 dias. Pacheco e Regitano-D'arce (2005) observaram valores decrescentes para IP durante o armazenamento, visto que os mesmos foram tratados com óleos refinados e temperatura ambiente, este decaimento possivelmente ocorreu devido a formação de outros compostos secundários.

Os óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido, tiveram comportamento semelhantes entre si, ao completarem 105 dias de armazenamento, tiveram um acréscimo significativo e crescente no IP, análogo ao ocorrido para AGL. No entanto, ao final do experimento, os valores encontrados para IP foram expressivamente abaixo do recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil, na resolução nº 482 de 1999, que é de 10 meq/kg peróxido e segundo *Codex Alimentarius* (1999) está estabelecido IP em 10 meq/kg, como máximo, para qualquer óleo, inclusive refinado, e para óleo bruto virgem 15 meq/kg. De acordo com Huss (1988), a aceitabilidade limite para o IP de óleo de pescado bruto está entre 7 e 8 meq/kg, tornando o óleo em estudo adequado para ser consumido mesmo por período longo de armazenamento.

A hidrólise e oxidação de ácidos graxos provocam quebra nas cadeias carbônicas, formando ácidos graxos livres, ácidos ou aldeídos e cetonas, como os produtos finais (MORETO e FETT, 1998). Esses compostos formados interferem na identidade do óleo, retratados através dos seus índices de iodo, saponificação, refração e densidade, como demonstrado nas Tabelas 4.6 e 4.7 e na Figura 4.8.



**Figura 4.8.** Variação dos Índices de Iodo, de Saponificação, de Refração e densidade durante o armazenamento dos óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido.

O índice de iodo retrata o grau de insaturação do óleo, sendo afetado pela oxidação com a quebra das cadeias carbônicas e quanto maior o índice de iodo, maior o número de insaturações presentes no óleo (MORETO e FETT, 1998, MORAIS et al., 2001; MAIA 2006), sendo maior a probabilidade da amostra ser considerada como um óleo do que uma gordura, pois é sabido de que os óleos possuem um maior grau de insaturação do que as gorduras, o que justifica de serem sólidas à temperatura ambiente (MORETO e FETT, 1998; MAIA, 2006), neste estudo, óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido à temperatura ambiente se apresentaram líquidos, como visto na Figura 4.5.

Neste estudo, houve uma redução de 13% para o óleo de tilápia do Nilo e 10% para óleo de pintado híbrido no II. Estes valores estão próximos aos encontrados por Boran et al. (2006) com variação entre 9 e 12% para os



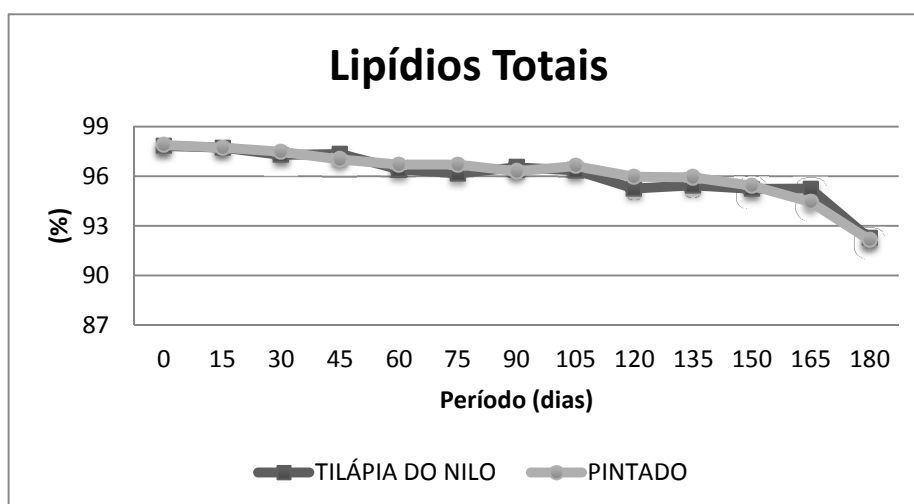
diferentes óleos de pescados e temperaturas de armazenamento, com melhores resultados para temperatura de armazenamento de  $-18^{\circ}\text{C}$ . Na Legislação Brasileira para óleos vegetais há uma faixa de padronização ou intervalo característico para o II em até 23 unidades (cg de  $\text{I}_2/\text{g}$ ), e.g. óleo de amendoim intervalo característico de II 80 a 106 cg de  $\text{I}_2/\text{g}$  e azeite de dendê com II de 50 a 60 cg  $\text{I}_2/\text{g}$ , no presente estudo essa variação ficou em 12 unidades para óleo de tilápia do Nilo e 8 unidades para o óleo de pintado híbrido, podendo ser considerada como aceitável essa modificação dentro dos padrões brasileiros porque o grau de insaturação pode variar sazonalmente ou em função de diferentes processamentos do óleo (BRASIL, 1999).

Os óleos possuem capacidade de refringência distinta e conforme sua natureza e pureza desviam, com maior ou menor intensidade, os raios luminosos. O IR de um óleo aumenta com o comprimento da cadeia carbônica e com o grau de insaturação dos ácidos graxos constituintes dos triglicerídeos (MORETTO e FETT, 1998). No presente estudo houve um suave decréscimo do IR, o que era esperado visto que houve quebra nas cadeias carbônicas pela hidrólise dos ácidos graxos com a formação de AGL e quebra de insaturações demonstrada pela diminuição do índice de iodo dos óleos.

Para o índice de saponificação ocorreu o oposto do II. Com a quebra das cadeias carbônicas gerando AGL, diminui-se o peso molecular dos ácidos graxos conseqüentemente aumentando o IS, os acréscimos foram de 10% para óleo de tilápia do Nilo e 9% para o óleo de pintado híbrido. Esta situação era esperada em função do aumento do índice de acidez e AGL, assim como ocorreu no estudo de Boran et al (2006) houve aumento no IS para todas as amostras de óleos, temperaturas e tempos de armazenamento, sendo a menor variação para a temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ . Quanto maior o índice de saponificação menor será o peso molecular do ácido graxo e mais se presta para fins alimentares (MORETTO e FETT, 1998), entretanto o aumento do IS para os óleos deste estudo foram ocasionados por reações de hidrólise e oxidação, mas inicialmente, no tempo zero, estes óleos poderiam ser destinados ao consumo humano.

A densidade para os óleos e gorduras é tanto menor quanto maior foi seu peso molecular (MORETTO e FETT 1998). Assim como para II, IR e IS era esperado um acréscimo na densidade. De acordo com ANVISA, BRASIL(1995) a densidade para óleo de fígado de cação varia entre 0,908 a 0,927 e de fígado de bacalhau de 0,918 a 0,927, estando o óleo de tilápia do Nilo dentro desta faixa e o óleo de pintado híbrido acima, isso pode ser justificado pelo maior índice de saponificação do óleo de pintado híbrido. O aumento da umidade, verificado nas Tabelas 4.6 e 4.7 para óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido, respectivamente, também contribuiu para a variação da densidade, além da proporcionar ambiente favorável à quebra das cadeias carbônicas.

Com relação ao teor de lipídios totais, caracterizados pelo método Bligh e Dyer (1959), conforme demonstrado nas Tabelas 4.6 e 4.7 e na Figura 4.9 houve uma redução máxima de 6% para ambos os óleos deste estudo. Esse decréscimo possivelmente deve-se a degradação sofrida pelo óleo durante o armazenamento, formando compostos que não são detectáveis pelo método aplicado.



**Figura 4.9.** Variação do teor de lipídios totais durante o armazenamento dos óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido

Para o óleo de pescado de água doce, ainda não há nada na Legislação Brasileira que normatize parâmetros de qualidade e identidade do óleo, sendo necessário recorrer a referências para outros óleos de pescados e ao *Codex*

*Alimentarius*, principalmente para validar se a amostra está apta a consumo humano quando a padrões de qualidade e aceitabilidade.

#### 4.2.4 CONCLUSÕES

- Os óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido mostraram uma qualidade inicial satisfatória, desempenho justificado pelo método para a obtenção de óleos a partir de resíduos gordurosos do processamento de CMS. As características de qualidade são superiores àquelas recomendadas pela Legislação Brasileira, inclusive para óleos refinados.
- A performance de qualidade dos óleos de pescado durante o tempo de armazenamento foram satisfatórias visto que somente após 105 dias ocorreu significativo processo de rancidez hidrolítica e oxidativa (observados pelo índice de acidez, índice de ácidos graxos livres e índice de peróxido) e estes processos não afetaram expressivamente a identidade do óleo, mantendo-o dentro do intervalo característico, assim como é observado por outros óleos vegetais.
- Os óleos de pescados tilapia do Nilo e pintado híbrido permaneceram dentro dos limites estabelecidos pela ANVISA para óleos vegetais e óleo de fígado de cação quanto aos parâmetros de qualidade, mesmo durante o longo período de armazenamento.

#### 4.2.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOCS (American Oil Chemists' Society) **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**.Champaign: AOCS, 1993.

AUGUSTO-RUIZ, W. et al. Processos de clarificação de óleo de pescado. **Revista Vetor**, Rio Grande -RS, v.7, p.10-11 1997.

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

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos**. São Paulo: Varela, , p.39-50, 1992.

BORAN, G., K., HIKMET, BORAN, M. Changes in the quality of fish oils due to storage temperature and time. **Food Chemistry**, 2006.

BRASIL, **Portaria nº 19, de 15 de março de 1995 Estabelece critérios para o Complemento Nutricional e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, 16 de março de 1995.

BRASIL. Resolução nº 482 - ANVISA de 23 de Setembro de 1999. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais**. Diário Oficial da União, Brasília, 24 de Setembro de 1999.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION JOINT WHO/FAO. **Standard for named vegetable oils e Standard for fats and oils not covered by individual standards** Alinorm 99/17. Roma, 1999.

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

CUNHA, D. C.; CREXI, V. T.; PINTO, L. A. A. "Winterização" de óleo de pescado via solvente. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 29, n.1, p. 207-213, 2009.

FELTES, M. M. C. et al. Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 6, 2010.

GUIMARAES, L. G. L.; CARDOSO, M. G.; ZACARONI, L. M.; LIMA, R. K.; PIMENTEL, F. A.; MORAIS, A. R. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf). **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1476-1480, 2008.

HUSS, H. H. **Fresh fish quality and quality changes**. Roma: FAO, 1988

LIMA, J.; GOLÇALVES, L. A. G. Parâmetros de avaliação da qualidade de óleo de soja utilizado para fritura. **Química Nova**, v. 17, n.5, p. 392-296, 1994.

MAIA, E.L. Material Didático Teórico. **Tecnologia do Pescado I**, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

MALLÉGOL, J.; LEMAIRE, J.; GARDETTE, J. L. Drier Influence in the curing of linseed oil. **Progress in Organic Coatings**, London, v. 39, n. 2, p. 107-113, 2000.

MENEGAZZO, M. L.; LUCAS, B. F.; FONSECA, G. G. Obtenção e caracterização de óleo de pescado pintado híbrido. In: II Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais . 2011, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu, 2011.

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

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos vegetais e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela, 1998.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca**. São Paulo: Livraria Varela, , 430p. 1999.

PACHECO, S. G. A.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Estabilidade oxidativa de óleo de peixe encapsulado em diferentes tipos de embalagem em condição ambiente. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 4, 2009.

RAMESH, M. Microwave treatment of groundnut (*Arachis hypogaea*): Extractability and quality of oil and its relation to lipase and lipoxygenase activity. **Lebensmittel - Wissenschaft und Technologie**, v. 28, n.1, p.96-99, 1995.

SANTOS, F.F. et al. Produção de Biodiesel a Partir do Óleo Extraído das Vísceras de Peixe. In: III Congresso de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel. 2006. Lavras. **Anais...**Lavras, 2006.

Simeonidou, S., Govaris, A., Varelziz, K. .Effect of frozen storage on the quality of whole fish and fillets of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) and Mediterranean Hake (*Merluccius mediterraneus*).**Lebensm Unters Forsch A**, 204, 405–410, 1997

VERMA, J. K. et al. Effects of frozen storage on lipid freshness parameters and some functional properties of oil sardine (*Sardinella longiceps*) Mince. **Food Research International**, v. 28, n. 1, p. 87-90, 1995

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

VISENTAINER, J. V. et al. Relação entre teores de colesterol em filés de tilápias e níveis de óleo de linhaça na ração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, 2005.

### **4.3 ARTIGO 3 - PRODUÇÃO DE BIODIESEL VIA ROTAS ETÍLICA E METÍLICA A PARTIR DE ÓLEOS BRUTOS DE PESCADOS**

#### **RESUMO**

A maior parte de toda a energia consumida no mundo provém de fontes não renováveis como petróleo, do carvão e do gás natural. Essas fontes são limitadas e com previsão de esgotamento no futuro, necessitando de fontes alternativas de energia para suprir esta demanda. Os óleos vegetais ou gorduras animais se apresentam como substitutos visto que estão sendo amplamente utilizados como matéria-prima para a obtenção de biodiesel. Atualmente o biodiesel é produzido pelo processo de transesterificação, cuja realização é relativamente simples, promovendo a obtenção de um combustível com propriedades similares às do óleo diesel. Os óleos de pescados se apresentam como alternativa para a produção de biodiesel visto suas propriedades favoráveis a reação de transesterificação. No presente estudo, realizou-se a reação de transesterificação para o óleo de tilápia do Nilo e pintado híbrido utilizando com catalisador o hidróxido de potássio (KOH) nas proporções de 0,5; 1,0 e 1,5% e como álcool etanol e metanol nas razões molares de 1:6 e 1:9. Os melhores rendimentos, acima de 89%, foram para as reações que com metanol 1:6 e 0,5% de KOH tanto para tilápia do Nilo como pintado híbrido, entretanto, a mesma reação com etanol proporcionou resultados satisfatórios (rendimentos superiores a 85%). Com relação à qualidade do biodiesel, não foi detectado diferença significativa entre as características do óleo e do biodiesel, verificado através dos índices de acidez, AGL, peróxido, iodo e umidade.

**Palavras-chave:** óleo, biodiesel, pescados, água doce

#### **4.3.1 INTRODUÇÃO**

O óleo de peixe é atualmente classificado como um produto de baixo valor agregado, é hidrofóbico e apresenta uma coloração amarelo – avermelhada, contém os mesmos tipos de ácidos graxos que outros óleos e

gorduras, diferindo apenas em sua composição de ácidos graxos saturados, mono e poliinsaturados de cadeia longa (OETTERER et al., 2006).

No Brasil, este óleo é usado basicamente em curtumes, na fabricação de tintas e vernizes, como lubrificante, impermeabilizante, sendo comercializados como produtos de baixo valor agregado, porém reconhecidos mundialmente como produtos nobres e de alto valor fisiológico para o corpo humano, estes apresentam, além dos ácidos graxos essenciais, proteína de alta qualidade e ótima digestibilidade (AUGUSTO RUIZ et al., 1997; CREXI et al., 2009).

A conversão do óleo obtido a biodiesel é uma alternativa interesse no campo de combustíveis alternativos, principalmente à grande extensão territorial que pode ser ocupada com a aquicultura (FELTES et al., 2010).

O biodiesel é definido pela ANP em sua Resolução N° 42 de dezembro de 2004, como um combustível composto de alquil-ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou de gorduras animais. Trata-se de uma fonte de energia da biomassa com potencial de expansão nos próximos anos, que surge como uma alternativa de diminuição da dependência dos derivados de petróleo.

A perspectiva do Brasil se consolidar como o principal supridor mundial de combustíveis renováveis de elevado conteúdo energético, é viável graças à sua dimensão continental localizada numa área tropical, e por possuir abundantes recursos hídricos, além de imensas áreas desocupadas (HOLANDA, 2004). O que se busca hoje é estabelecer um pacto entre as nações pela integração energética, a partir da produção e do uso de combustíveis renováveis (OLIVEIRA et al., 2004).

Em cada estado e região do país está sendo avaliado o desenvolvimento das cadeias produtivas dos diferentes óleos para a produção de biodiesel. Para a região Norte: dendê, babaçu, soja e gordura animal; para o Nordeste: babaçu, soja, mamona, dendê, algodão, coco, gordura animal e óleo de peixe; para o Centro-Oeste: soja, mamona, algodão, girassol, dendê, gordura animal; para o Sul: soja, colza, girassol, algodão, gordura animal e óleos de peixes; e,

para o Sudeste: soja, mamona, algodão, girassol, gordura animal e óleos de peixes (PARENTE, 2003).

De um modo geral, ésteres de ácidos graxos podem ser produzidos a partir de qualquer tipo de óleo, porém nem todo óleo pode ser utilizado como matéria-prima para a produção de biodiesel, pois podem apresentar propriedades indesejáveis que são transferidas para o biodiesel. Sendo assim, a viabilidade da utilização de cada matéria-prima dependerá de suas respectivas competitividades técnica, econômica e sócio-ambiental (PARENTE, 2003) e estrutura molecular (KNOTHE et al., 2005).

Os óleos vegetais ocupam uma posição proeminente no desenvolvimento de combustíveis alternativos embora atualmente ainda haja problemas associados ao seu uso direto em motores do ciclo Diesel (MEHER et al., 2006), sendo:

- A ocorrência de excesso de depósitos de carbono no motor;
- A obstrução nos filtros de óleo e bicos injetores;
- A diluição parcial do combustível no lubrificante; e
- O comprometimento da durabilidade do motor, com um subsequente aumento em seus custos de manutenção (KUCEK, 2004).

A reação de transesterificação resolve essas questões, melhorando a qualidade de ignição, o ponto de fluidez e as propriedades de fluxo (viscosidade e densidade específica), sendo gerado um combustível compatível ao diesel convencional e ainda apresenta as vantagens de um alto poder de lubricidade e menor impacto ambiental.

De acordo com Knothe et al., (2005), para se maximizar a reação de transesterificação, o álcool utilizado deve ser livre de umidade e o conteúdo de AGL do óleo vegetal não deve ultrapassar a 0,5%. A ausência de umidade no meio reagente é importante, porque ela pode proporcionar a hidrólise ácida de



ésteres alquílicos e TG e aumentar a quantidade de AGL, com a subsequente formação de sabão.

Dentre os álcoois empregados na transesterificação de óleos e gorduras, os mais utilizados são metanol e etanol. O metanol é mais amplamente aplicado na produção de biodiesel em escala industrial e, por ser mais reativo, implica em menor temperatura e tempo de reação. O etanol, além de ter produção amplamente consolidada no Brasil, é consideravelmente menos tóxico, renovável e produz biodiesel com maior número de cetano e lubricidade. Uma grande desvantagem do etanol está no fato deste promover uma maior dispersão da glicerina no biodiesel, dificultando a sua separação (RAMOS et al., 2000; RAMOS et al., 2003; SCHUCHARDT et al., 2005).

Para a obtenção de maiores rendimentos na reação de transesterificação costuma-se utilizar excesso de álcool e remoção da glicerina. Para o metanol, a razão molar comumente empregada é de 6:1, enquanto que para o etanol a razão é de 9:1 a 12:1. No ponto de vista econômico e ambiental a produção de biodiesel pela rota metílica é mais econômica e mais produtiva se comparada com a rota etílica. O consumo de metanol é menor e a separação de ésteres metílicos da glicerina é espontânea. Por outro lado, o etanol é menos tóxico e produz biodiesel com maior número de cetano e lubricidade em relação ao metanol e é produzido em grande escala no país, a partir de fontes renováveis (SCHUCHARDT et al., 2005; KNOTHE et al., 2005).

Os catalisadores com álcalis fortes frequentemente são utilizado na reação de transesterificação devido às suas vantagens dominante de menor tempo de reação e menor quantidade de catalisador necessária (CHERNG-YUAN LIN et al., 2006). Esta característica faz também com que o fato dos catalisadores alcalinos serem menos corrosivos que os ácidos, tornando os processos de catálise básica mais atrativos do ponto de vista industrial (SHEEHAM et al., 1998).

Os catalisadores básicos podem ser utilizados os alcóxidos (metóxido de sódio e etóxido de sódio) e hidróxidos de metais alcalinos (hidróxido de

potássio e hidróxido de sódio) (SHEEHAM et al., 1998). O metóxido de sódio é o catalisador mais ativo, conduzindo a rendimentos muito elevados num reduzido tempo de reação (cerca de 30 min.), usualmente utilizado na indústria de biodiesel. No entanto, estes catalisadores são desativados pela água sendo o teor de água no álcool e no óleo deve ser controlado.

O objetivo deste trabalho foi de produzir biodiesel, através de óleo bruto de pescado (tilápia do Nilo e pintado híbrido) utilizando etanol e metanol em duas razões molares (1:6 e 1:9) com hidróxido de potássio como catalisador em diferentes concentrações (0,5; 1,0 e 1,5%) para a reação de transesterificação e de caracterizar o biodiesel obtido.

## **4.3.2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.3.2.1 Óleo bruto de pescado**

Os óleos brutos de pescados obtidos de resíduos gordurosos do processamento de concentrado proteico são de qualidade satisfatória, constatado pelos baixos índices de acidez, ácidos graxos livres e peróxido e umidade, observados na Tabela 4.8 para óleo de tilápia do Nilo e óleo de pintado híbrido respectivamente.

### **4.3.2.2 Produção de biodiesel via rota etílica e metílica de óleo bruto de pescado**

O biodiesel foi obtido através da reação de transesterificação utilizando KOH como catalisador e álcool etílico anidro e álcool metílico. Esta reação é utilizada comumente em testes laboratoriais e escala industrial em fábricas de biodiesel (KNOTHE, 2005).

Foram testadas as razões molares de 1:6 e 1:9 óleo:álcool (etanol e metanol) e catalisador KOH nas proporções de 0,5; 1,0 e 1,5%. A temperatura do sistema foi mantida em 60°C e agitação vigorosa por 1 hora.

O biodiesel passou por decantação em funil de decantação por 24 horas e a glicerina foi removida por gravidade. A primeira lavagem do biodiesel foi realizada com adição de 0,2 ml de HCl para neutralização e com 30 mL de água destilada para desfazer e remover os sabões que se formaram na reação e permaneceram na fase de ésteres, seguindo de mais 2 lavagens com 30 ml de água destilada, até que o pH neutralizasse.

Realizou-se filtração do biodiesel em papel filtro com 2 g de sulfato de sódio anidro e secagem do biodiesel em estufa a 90°C por 1 hora.

#### **4.3.2.3 Conversão para ésteres etílicos e metílicos**

##### **4.3.2.3.1 Cromatografia em camada delgada**

Concomitantemente a produção de biodiesel, realizou-se a análise, utilizando cromatografia em camada delgada (CCD), para se verificar a conversão em ésteres etílicos, a cada 30 minutos. Para isso, as amostras de óleo bruto, biodiesel produzido e biodiesel padrão fornecido pela BIOCAR Indústria de Óleos Vegetais foram aplicados em uma placa cromatográfica contendo sílica como fase estacionária. A fase móvel utilizada na cuba cromatográfica foi uma mistura de hexano e ácido acético na proporção de 9:1, respectivamente. A placa cromatográfica após eluição foi revelada com vapor de iodo e a visualização das manchas dos padrões e dos componentes das amostras foi determinado. A reação de transesterificação foi determinada com base na quantidade de óleo bruto de pescado que entra no processo e também comparado com biodiesel certificado.

#### **4.3.2.3.2 Teor de óleo no biodiesel**

Após a obtenção do biodiesel, o mesmo passou por um sistema de centrifugação a 4000 rpm por 1 minuto adicionando-se 14 mL de metanol a 1,5 mL de biodiesel em frascos e agita-se vigorosamente na centrífuga para verificar a existência de impurezas e frações que não reagiram durante a reação de transesterificação.

Este método de análise por centrifugação determina visualmente a presença de frações que não reagiram e é amplamente utilizado em indústrias de biodiesel como parâmetro para a reação de transesterificação e programação de adição de reagentes e soluções para a produção.

#### **4.3.2.4 Caracterização do biodiesel de pescado**

Para verificar a qualidade dos óleos obtidos realizou-se sua caracterização de acordo com as metodologias descritas pela AOCS (1998) de índice de acidez (IA), % de AGL (ácidos graxos livres), índice de peróxido (IP), índice de iodo - método Wijs (II), densidade e umidade (Karl Fischer®).

### **4.3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **4.3.3.1 Óleo bruto de pescado**

Os óleos brutos de pescados obtidos de resíduos gordurosos do processamento de concentrado proteico são de qualidade satisfatória, constatado pelos baixos índices de acidez, AGL, peróxido e umidade observados na Tabela 4.8 para tilápia do Nilo e pintado híbrido respectivamente.

**Tabela 4.8.** Caracterização dos óleos bruto de tilápia do Nilo e de pintado híbrido

<b>Parâmetro</b>	<b>Tilápia do Nilo</b>	<b>Pintado híbrido</b>
<b>Índice de Acidez (mgKOH/g)</b>	0,41 ± 0,02	0,3 ± 0,03
<b>AGL (%)</b>	0,2 ± 0,02	0,15 ± 0,01
<b>Índice de Peróxido (meq/kg)</b>	0,42 ± 0,04	0,51 ± 0,02
<b>Índice de Iodo (Cg I<sub>2</sub>/g)</b>	85,58 ± 1,67	82,38 ± 2,02
<b>Índice de Refração</b>	1,4653	1,4672
<b>Índice de Saponificação (mgKOH/g)</b>	194,99 ± 3,49	212,29 ± 3,32
<b>Umidade (%)</b>	0,101	0,116
<b>Densidade (g/cm<sup>3</sup>)</b>	0,9271	0,9348

Os óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido nestas condições de qualidade (baixos índices de acidez, AGL, peróxido e umidade) estão aptos para a realização da reação de transesterificação.

A especificação da ANP para o índice de acidez máxima para biodiesel é de 0,8 mgKOH/g, e para se conseguir este valor, é necessário que a matriz, ou seja, o óleo que será transesterificado, tenha um índice de acidez baixo. Neste estudo, o método de extração favoreceu a baixa acidez do óleo, para tilápia do Nilo e pintado híbrido. A baixa umidade também proporciona rendimentos maiores na reação de transesterificação visto que limita a ocorrência de reações concorrentes como hidrólise e saponificação.

Os parâmetros de identidade do óleo (índice de iodo, índice de saponificação, índice de refração e densidade) não têm controle direto sobre a reação de transesterificação de maneira a aumentar ou reduzir seus rendimentos, entretanto definem a qualidade do biodiesel, influenciando em parâmetros como número de cetano, ponto de fusão, ponto de névoa, viscosidade e outros.

As características físico-químicas dos óleos são de extrema importância quando se seleciona uma matéria-prima para a produção de biodiesel, pois são

tidos como parâmetros de qualidade, necessárias para um bom aproveitamento do produto.

#### **4.3.3.2 Produção de biodiesel**

A reação de transesterificação provocou em todos os ensaios realizados para tilápia do Nilo e pintado híbrido, a mudança de coloração antes de 3 minutos do início da reação, tornando-os vermelho/castanho. Algumas pesquisas mostram que a reação de transesterificação é rápida, pois a conversão de ésteres etílicos é próxima a 5-10 minutos de reação, estabilizando no valor máximo após 20-30 minutos (ENCINAR et al., 2002; KNOTHE et al., 2005). No período inicial a reação é muito rápida, existindo um segundo período muito mais longo que o primeiro, no qual a composição evolui vagorosamente até o equilíbrio (SERDARI et al, 1999). O fato do óleo não apresentar grande quantidade de ácidos graxos livres e de umidade favoreceu a formação rápida dos ésteres etílicos e metílicos.

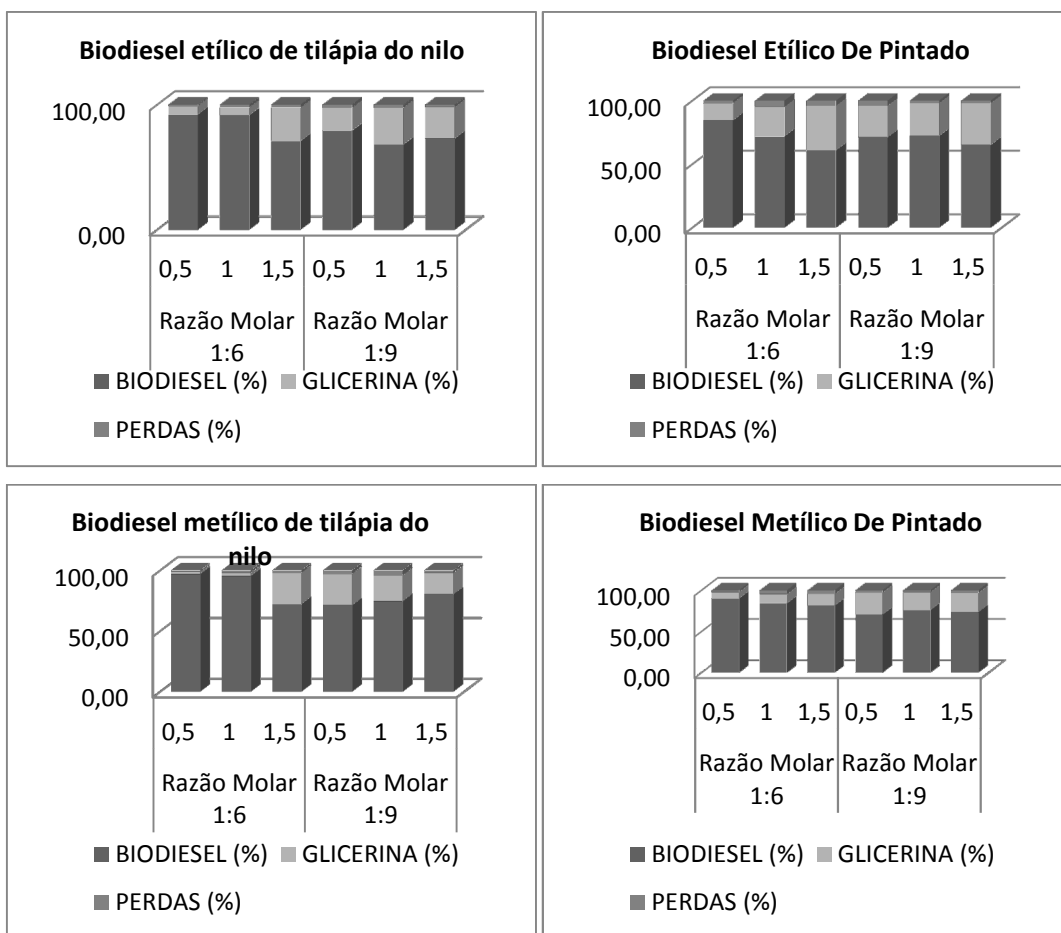
Durante a reação de transesterificação, foram retiradas alíquotas de biodiesel para análise em cromatografia em camada delgada (CCD) constatou-se que em 15 minutos de reação, já era nítido a formação de ésteres, e ao término da reação, comparou-se com biodiesel padrão e certificado, gentilmente cedido pela BIOCAR indústria e comércio de óleos vegetais e detectou-se a completa reação. Esta análise foi realizada qualitativamente e visualmente.

Ao final da reação de transesterificação, observou-se o odor característico do álcool presente na mistura, decorrente da adição excessiva de álcool ao meio reacional para aumentar o rendimento da reação. A separação completa entre as fases biodiesel e glicerina ocorreu após 24h de repouso, a temperatura ambiente e então o biodiesel foi lavado com água destilada e adição de 0,2 mL de HCl para neutralização de álcalis. Esta lavagem é necessária para retirar o excesso de catalisador, impurezas e traços de glicerina. O fator mais importante nesta etapa é a qualidade de separação entre

as duas fases, ou seja, a capacidade de remoção das impurezas do biodiesel. A dificuldade de separação das fases nesta etapa está associada à formação de emulsões, durante a agitação da fase aquosa com a fase orgânica (biodiesel), associada à presença de catalisador, ácidos graxos, sais e glicerina. Após cada processo de lavagem, a quantidade de sabão diminuiu e a fase superior (biodiesel) se tornou mais límpida, indicando a remoção das impurezas. Após o processo de lavagem, transferiu-se o biodiesel para um sistema de filtração com papel filtro e sulfato de sódio anidro e após a filtração levou-o para uma estufa, onde a temperatura foi mantida constante, 90°C, permanecendo durante 1 hora, para remoção de traços de álcool e/ou água ainda presente, constatados pela baixa umidade presente no biodiesel, dentro do padrão recomendado pela ANP em sua Resolução N° 07/2008.

A partir do método de determinação do teor de óleo em biodiesel, que auxilia visualmente na detecção de frações não reagidas na reação de transesterificação, verificou-se que em todos os ensaios realizados foram satisfatórios pois em nenhum dos experimentos notou-se a presença de óleo. Este método é amplamente utilizado durante o processo produtivo em escala industrial, em que se faz continuamente esta avaliação para verificar a necessidade de adição de catalisador e álcool a reação.

Os rendimentos para produção de biodiesel de óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido para ambos os álcoois (etanol e metanol) e as variações de catalisador se encontram na Figura 4.9 e Tabelas 4.9 e 4.10 bem como a formação da glicerina e as perdas do processo.



**Figura 4.9.** Rendimentos de biodiesel etílico e metílico de tilápia do Nilo e pintado híbrido

**Tabela 4.9.** Rendimentos do biodiesel etílico para tilápia do Nilo e pintado híbrido

<b>RENDIMENTOS – BIODIESEL ETÍLICO DE TILÁPIA DO NILO</b>						
	<b>Razão Molar 1:6</b>			<b>Razão Molar 1:9</b>		
	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>
<b>BIODIESEL (%)</b>	92,06 ± 1,43	91,33 ± 1,04	70,85 ± 2,05	79,08 ± 1,79	68,04 ± 2,64	72,87 ± 2,21
<b>GLICERINA (%)</b>	6,76 ± 1,56	6,27 ± 1,20	26,77 ± 2,78	18,31 ± 1,35	29,35 ± 2,86	25,11 ± 1,93
<b>PERDAS (%)</b>	1,18 ± 0,13	2,39 ± 0,55	2,38 ± 0,77	2,61 ± 0,67	2,61 ± 0,54	2,02 ± 0,20
<b>RENDIMENTOS – BIODIESEL ETÍLICO DE PINTADO HÍBRIDO</b>						
	<b>Razão Molar 1:6</b>			<b>Razão Molar 1:9</b>		
	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>
<b>BIODIESEL (%)</b>	84,41 ± 0,71	71,89 ± 1,26	60,92 ± 1,22	71,12 ± 1,02	72,14 ± 1,59	65,04 ± 1,04
<b>GLICERINA (%)</b>	13,53 ± 0,29	23,19 ± 0,51	35,02 ± 0,29	24,83 ± 0,64	25,84 ± 1,84	32,92 ± 0,52
<b>PERDAS (%)</b>	2,06 ± 0,29	4,92 ± 0,28	4,06 ± 0,17	4,05 ± 0,04	2,02 ± 0,26	2,04 ± 0,05



**Tabela 4.10.** Rendimentos do biodiesel metílico para tilápia do Nilo e pintado híbrido

<b>RENDIMENTOS – BIODIESEL METÍLICO DE TILÁPIA DO NILO</b>						
	<b>Razão Molar 1:6</b>			<b>Razão Molar 1:9</b>		
	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>
<b>BIODIESEL (%)</b>	<b>96,97 ± 0,64</b>	<b>95,37 ± 0,58</b>	<b>72,18 ± 1,06</b>	<b>71,26 ± 0,79</b>	<b>74,72 ± 0,45</b>	<b>80,25 ± 0,99</b>
<b>GLICERINA (%)</b>	<b>2,04 ± 0,68</b>	<b>2,59 ± 0,56</b>	<b>25,88 ± 1,09</b>	<b>25,76 ± 0,84</b>	<b>21,22 ± 0,54</b>	<b>17,74 ± 1,07</b>
<b>PERDAS (%)</b>	<b>0,99 ± 0,06</b>	<b>2,04 ± 0,13</b>	<b>1,94 ± 0,10</b>	<b>2,98 ± 0,08</b>	<b>4,06 ± 0,25</b>	<b>2,01 ± 0,10</b>
<b>RENDIMENTOS – BIODIESEL METÍLICO DE PINTADO HÍBRIDO</b>						
	<b>Razão Molar 1:6</b>			<b>Razão Molar 1:9</b>		
	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>
<b>BIODIESEL (%)</b>	<b>90,00 ± 1,07</b>	<b>84,15 ± 0,28</b>	<b>81,43 ± 0,15</b>	<b>70,65 ± 0,59</b>	<b>76,01 ± 0,15</b>	<b>73,61 ± 0,54</b>
<b>GLICERINA (%)</b>	<b>7,94 ± 1,14</b>	<b>11,08 ± 0,23</b>	<b>14,21 ± 0,37</b>	<b>26,65 ± 0,73</b>	<b>21,60 ± 0,21</b>	<b>23,00 ± 0,86</b>
<b>PERDAS (%)</b>	<b>2,06 ± 0,07</b>	<b>4,78 ± 0,13</b>	<b>4,36 ± 0,22</b>	<b>2,70 ± 0,14</b>	<b>2,39 ± 0,19</b>	<b>3,38 ± 0,32</b>

No estudo realizado, os maiores rendimentos foram para as reações com metanol e 0,5% de catalisador, o que era esperado, visto que a baixa acidez e umidade contribuiriam para a realização da reação de maneira eficaz ocorrendo a transesterificação e não houve reações de saponificação e hidrólise, entretanto, para as reações com etanol, os rendimentos foram satisfatórios, e como é sabido, o metanol promove maiores rendimentos nas reações de transesterificação (KNOTHE et al., 2005). O tipo de catalisador e de álcool, as condições reacionais (agitação da mistura, a temperatura e o tempo da reação) e a concentração de impurezas (água) em uma reação de transesterificação determinam a cinética e a qualidade do produto final (HANNA et al., 1991; CANAKCI e GERPEN., 2001; ZAGONEL e RAMOS, 2001). A eficiência da reação de transesterificação está relacionada com a qualidade do óleo utilizado (matéria-prima), ou seja, com os conteúdos de água e de ácidos graxos livres. Estes agentes (água e ácidos graxos livres) são responsáveis pela desativação do catalisador e pela indesejável reação de saponificação e no presente estudo, estes agentes estavam presentes em quantidades reduzidas no óleo.

Na catálise básica, pode ocorrer, como reação paralela, a saponificação, responsável pela redução do rendimento da produção de ésteres (biodiesel) e pela formação de emulsões (sabão) o que dificulta a separação do glicerol

(KNOTHE et al., 2005), entretanto, esta reação foi limitada visto os altos rendimentos para as razões molares 1:6 de metanol e etanol e catalisador em 0,5%. O catalisador básico nas concentrações de, 1,0% e 1,5%, em relação à massa do óleo ativam competitivamente, as reações de saponificação, que ocorre relativamente mais rápida que a reação de transesterificação. Além disso, a mudança da concentração de 0,5 % para 1,5% resultou em decréscimo do rendimento da transesterificação, como verificado na Figura 4.9.

Resultados semelhantes foram obtidos por Azcan e Danisman (2007) que utilizaram óleo de semente de canola como matéria-prima para reação de transesterificação alcalina utilizando aquecimento em microondas sendo 1,0% KOH a concentração de catalisador ótima.

É importante ressaltar que diferentemente dos ésteres metílicos, os ésteres etílicos são estratégicos, pois são oriundos da biomassa (etanol de cana-de-açúcar), o que poderia garantir a auto sustentabilidade com relevância ambiental positiva, o que se justifica o presente trabalho, avaliar as possibilidades para o óleo de pescado, (produzido a partir de coprodutos da industrialização do pescado) ser utilizado como matéria-prima para produção de biodiesel a partir da rota etílica (LIMA et al., 2006), entretanto a rota metanólica ainda é estudada por outros autores (CASTRO, 2009; ANJO et al., 2010; DANTAS et al., 2010; MELO et al., 2010).

A análise da composição química do óleo (tipo de ácidos graxos e respectiva quantidade) influencia na qualidade do biodiesel que pode sofrer variações conforme as estruturas moleculares dos seus ésteres constituintes ou devido à presença de contaminantes oriundos da matéria prima (óleo), do processo de produção ou formados durante a estocagem do biodiesel. As estruturas moleculares dos ésteres podem variar tanto no tamanho da cadeia carbônica, quanto na quantidade e posição de insaturações ou mesmo devido à presença de agrupamentos na cadeia e constitui o primeiro passo para a avaliação sua qualidade do óleo bruto (COSTA NETO et al., 2000).

Após a reação de transesterificação, a proporção relativa de ácidos graxos, característica de cada óleo, é mantida (COSTA NETO et al., 2000) e constata-se uma similaridade nos parâmetros de identidade dos biodieséis de tilápia do Nilo e pintado híbrido com seus respectivos óleos, como mostrado na Tabelas 4.11 e 4.12.

**Tabela 4.11.** Caracterização dos biodieseis etílicos de tilápia do Nilo e pintado híbrido

<b>BIODIESEL ETILICO TILÁPIA DO NILO</b>						
	<b>Razão Molar 1:6</b>			<b>Razão Molar 1:9</b>		
	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>
<b>Índice de Acidez (mgKOH/g)</b>	0,14 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,32 ± 0,02	0,44 ± 0,01	0,33 ± 0,02
<b>AGL (%)</b>	0,07 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,22 ± 0,01	0,17 ± 0,03
<b>Índice de Peróxido (meq/kg)</b>	0,41 ± 0,01	0,45 ± 0,02	0,46 ± 0,01	0,44 ± 0,03	0,41 ± 0,01	0,46 ± 0,01
<b>Índice de Iodo (Cg I2/g)</b>	82,95 ± 0,12	83,11 ± 0,32	83,03 ± 0,22	84,02 ± 0,23	84,25 ± 0,15	83,57 ± 0,21
<b>Umidade (%)</b>	0,0468 ± 0,0038	0,0466 ± 0,0038	0,0467 ± 0,0038	0,0471 ± 0,0030	0,0462 ± 0,0026	0,0467 ± 0,0021
<b>Densidade (g/cm3)</b>	0,8760 ± 0,0169	0,8840 ± 0,0092	0,8800 ± 0,0103	0,8914 ± 0,0105	0,8894 ± 0,0098	0,8862 ± 0,0049
<b>BIODIESEL ETILICO PINTADO HÍBRIDO</b>						
	<b>Razão Molar 1:6</b>			<b>Razão Molar 1:9</b>		
	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>
<b>Índice de Acidez (mgKOH/g)</b>	0,37 ± 0,10	0,46 ± 0,09	0,35 ± 0,10	0,41 ± 0,09	0,29 ± 0,17	0,37 ± 0,22
<b>AGL (%)</b>	0,19 ± 0,05	0,28 ± 0,04	0,17 ± 0,05	0,20 ± 0,05	0,16 ± 0,08	0,18 ± 0,11
<b>Índice de Peróxido (meq/kg)</b>	0,47 ± 0,08	0,46 ± 0,08	0,46 ± 0,07	0,48 ± 0,06	0,41 ± 0,08	0,47 ± 0,04
<b>Índice de Iodo (Cg I2/g)</b>	82,95 ± 0,58	83,11 ± 0,45	83,03 ± 0,68	82,74 ± 0,56	83,19 ± 0,84	83,57 ± 0,45
<b>Umidade (%)</b>	0,0486 ± 0,0034	0,0485 ± 0,0022	0,0485 ± 0,0034	0,0489 ± 0,0027	0,0481 ± 0,0024	0,0485 ± 0,0018
<b>Densidade (g/cm3)</b>	0,8543 ± 0,0169	0,8620 ± 0,0092	0,8582 ± 0,0103	0,8691 ± 0,0105	0,8672 ± 0,0098	0,8641 ± 0,0049

**Tabela 4.12.** Caracterização dos biodieseis metílicos de tilápia do Nilo e pintado híbrido

<b>BIODIESEL METILICO TILÁPIA DO NILO</b>						
	<b>Razão Molar 1:6</b>			<b>Razão Molar 1:9</b>		
	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>
<b>Índice de Acidez (mgKOH/g)</b>	0,23 ± 0,08	0,36 ± 0,06	0,44 ± 0,08	0,46 ± 0,06	0,42 ± 0,16	0,35 ± 0,03
<b>AGL (%)</b>	0,12 ± 0,04	0,18 ± 0,03	0,22 ± 0,04	0,23 ± 0,03	0,21 ± 0,08	0,18 ± 0,02
<b>Índice de Peróxido (meq/kg)</b>	0,31 ± 0,05	0,34 ± 0,06	0,34 ± 0,06	0,33 ± 0,06	0,30 ± 0,07	0,34 ± 0,03
<b>Índice de Iodo (Cg I2/g)</b>	84,60 ± 0,59	84,77 ± 0,59	84,69 ± 0,59	85,38 ± 1,21	85,93 ± 0,46	85,24 ± 0,46
<b>Umidade (%)</b>	0,0421 ± 0,0034	0,0420 ± 0,0044	0,0420 ± 0,0033	0,0424 ± 0,0027	0,0416 ± 0,0024	0,0420 ± 0,0018
<b>Densidade (g/cm3)</b>	0,8609 ± 0,0112	0,8654 ± 0,0090	0,8615 ± 0,0101	0,8726 ± 0,0102	0,8706 ± 0,0096	0,8675 ± 0,0048
<b>BIODIESEL METILICO PINTADO HÍBRIDO</b>						
	<b>Razão Molar 1:6</b>			<b>Razão Molar 1:9</b>		
	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>	<b>0,5</b>	<b>1</b>	<b>1,5</b>
<b>Índice de Acidez (mgKOH/g)</b>	0,35 ± 0,15	0,49 ± 0,10	0,44 ± 0,12	0,25 ± 0,09	0,30 ± 0,14	0,28 ± 0,07
<b>AGL (%)</b>	0,18 ± 0,07	0,24 ± 0,05	0,22 ± 0,06	0,12 ± 0,05	0,14 ± 0,12	0,13 ± 0,04
<b>Índice de Peróxido (meq/kg)</b>	0,37 ± 0,05	0,38 ± 0,08	0,43 ± 0,08	0,45 ± 0,06	0,38 ± 0,09	0,43 ± 0,03
<b>Índice de Iodo (Cg I2/g)</b>	80,90 ± 0,56	81,06 ± 0,57	82,68 ± 0,50	81,54 ± 0,45	81,87 ± 0,42	81,61 ± 0,44
<b>Umidade (%)</b>	0,0448 ± 0,0032	0,0447 ± 0,0031	0,0448 ± 0,0031	0,0451 ± 0,0025	0,0444 ± 0,0022	0,0448 ± 0,0017
<b>Densidade (g/cm3)</b>	0,881 ± 0,0163	0,889 ± 0,0089	0,885 ± 0,0100	0,897 ± 0,0101	0,895 ± 0,0095	0,892 ± 0,0048

O índice de acidez do óleo influencia na reação do biodiesel bem como na qualidade do biodiesel. A presença de AGL no biodiesel afeta o rendimento do combustível e pode provocar danos ao motor. As amostras de biodiesel etílico e metílico apresentaram índice de acidez aceitável para os padrões da ANP. Todas as normas descritas acima estabeleceram limites máximos de acidez de 0,5 mg de KOH/g. No gráfico abaixo, nota-se que a o índice de acidez do recomendado pela Resolução N° 07/2008 da ANP.

O índice de peróxido não foi afetado significativamente pela temperatura da reação de transesterificação, continuando com valores reduzidos, isto quer dizer que o biodiesel não apresenta estágios de oxidação que afetaram sua qualidade e identidade. De fato, dados relatados por diversos autores mostram que as características de qualidade do óleo são conservadas quando da reação (ENCINAR et al., 2002; KNOTHE et al, 2005). Entretanto é necessário acompanhar o estado de oxidação do biodiesel, visto que alterações na qualidade do biodiesel e misturas, como elevação da sua acidez, da sua corrosividade e a formação de produtos indesejáveis (como polímeros e depósitos) foram observadas por Bondioli, (2004) ao longo do tempo de armazenamento.

O índice de iodo indica o grau de insaturação do óleo, McCormick et al, (2007) estudaram a correlação entre o índice de iodo, a densidade, o número de cetano e as emissões de NOx e de material particulado para o biodiesel. Os resultados desses estudos indicaram que quanto maior for índice de iodo do biodiesel, maior será a densidade e menor será o número de cetano, maior as emissões de NOx. Já as emissões de material particulado não são alteradas pela variação do número de iodo do biodiesel. Estudos de Knothe et al., (2005) mostraram que quanto maior for o grau de insaturação ( $I_{2} > 115$ ) de um biodiesel maior será a tendência de ocorrer polimerização e formação de depósitos de “goma” nos motores bem como menor será a estabilidade oxidativa, o que prejudicaria aplicações industriais do biodiesel como lubrificante e como combustível. As normas EN 14214 e ANP 07/2008 adotaram o índice de iodo (método analítico EN ISO 1411) para determinar o

número de insaturações. A ANP solicita o registro do resultado da análise (LÔBO et al., 2009).

O biodiesel produzido com etanol apresenta densidade ligeiramente menor que o biodiesel feito com metanol, devido a presença de um carbono a mais na molécula de biodiesel, porém a diferença é muito pequena (KNOTHE et al., 2005), este padrão foi mantido conforme verificado nas Tabelas 4.11 e 4.12 para o biodiesel etílico sendo de densidade maior que biodiesel metílico para ambos os pescados. A densidade do biodiesel está diretamente ligada com a estrutura molecular, quanto maior o comprimento da cadeia carbônica maior será a densidade, entretanto, este valor decrescerá com aumento de insaturações. A presença de impurezas também poderá influenciar como, por exemplo, o álcool ou substâncias adulterantes. Era esperado que a densidade diminuísse expressivamente, visto que remove a molécula de glicerol, formadora do triéster, para um éster. A Resolução Brasileira e a Norma Européia normatizam os métodos de análise da densidade do biodiesel como os mesmos aplicados aos derivados de petróleo. A norma européia estabelece valores de densidade entre 860 a 900 kg/m<sup>3</sup>, com determinação através dos métodos EN ISO 3675, que utiliza hidrômetros de vidro, e EN ISO 12185, que emprega densímetros digitais (LÔBO et al., 2009). A ANP 07/2008 fixa uma faixa de valores de densidade entre 850a 900 kg/m<sup>3</sup>.

A umidade presente no biodiesel pode promover a hidrólise do éster resultando em ácidos graxos livres, ocasionando corrosão em tanques de estocagem com deposição de sedimentos. No presente estudo, em todos os experimentos, a umidade apresentou teores abaixo de 0,05%. Em caso de armazenamento prolongado, o teor de água deverá ser monitorado pelo biodiesel apresenta certo grau de higroscopicidade. A Resolução Nº 07/2008 da ANP e a EN 14214 adotaram o método colorimétrico (Karl Fischer®) EN ISO 12937 para determinar o teor de água no biodiesel, fixando a concentração máxima aceitável em 500 mg/kg. A Norma Brasileira também indica o método ASTM D6304 (LÔBO et al., 2009).

A baixa qualidade de óleos e derivados como os biodieseis metílicos ou etílicos, pode ocorrer por meio de processos hidrolíticos ou oxidativos resultando em quebras nas cadeias carbônicas e nas insaturações do óleo ou biodiesel, os parâmetros de identidade são afetados. Conforme as Tabelas 4.11 e 4.12, nota-se que a qualidade e identidade do óleo e biodiesel foram preservadas, a temperatura da reação de transesterificação não significativamente esses parâmetros, fator importante para as condições de transporte e estocagem do biodiesel.



#### 4.3.4 CONCLUSÕES

- Os óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido mostraram uma qualidade inicial satisfatória, desempenho justificado pelo método para a obtenção de óleos a partir de resíduos gordurosos do processamento de CMS, tornando-o apto para a reação de transesterificação ocorrer com rendimentos elevados;
- A performance de reação de transesterificação para biodiesel metílico, tanto de tilápia do Nilo como de pintado híbrido, foi maior devido a ação deste álcool na reação;
- A reação de transesterificação com etanol para a tilápia do Nilo, na razão molar de 1:6 e 0,5% de KOH, proporciono resultados acima de 90% e para o pintado híbrido, esta reação foi adequado, pois rendimentos ultrapassaram os 80%;
- A mudança de coloração da reação as análises por CCD indicam que a reação de transesterificação ocorreu nos primeiros 5 minutos de reação e prosseguiu durante o tempo de reação.
- Não foi detectada a presença de frações de óleo e impurezas nos biodieseis pela análise da diluição do biodiesel em metanol e centrifugação, denotando que todo o óleo reagiu formando biodiesel.
- Com relação ao catalisador, nota-se que a utilização em menor quantidade proporcionou resultados satisfatórios para todos os experimentos;
- A qualidade do biodiesel produzido (observados pelos índices de acidez, ácidos graxos livres e peróxido) esta relacionada à qualidade do óleo bruto de pescado;
- Os biodieseis de óleos de tilápia do Nilo e pintado híbrido permaneceram dentro dos limites estabelecidos pela ANP quanto aos parâmetros de qualidade, independente da sua rota se etílica ou metílica.

#### 4.3.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGENCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em 26 nov. 2011.

ANJOS, D. F. et al. Produção de biodiesel a partir da gordura extraída das vísceras do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: **Seminário de Pós-Graduação, Pesquisa, Inovação e Extensão (SEPPIE)**. 2010. São Luís. **Anais...** São Luís, 2010

AUGUSTO-RUIZ, W.; AUGUSTO, M.; SILVEIRA, A.; PEDROSO, M. Processos de clarificação de óleo de pescado. **Revista Vetor**, Rio Grande, v.7, p.10-11 1997.

AZCAN, N.; DANISMAN, A. Alkali catalyzed transesterification of cottonseed oil by microwave irradiation, **Fuel**, v. 86, p. 2639-2644, 2007.

BONDIOLI, P. The preparation of fatty acid esters by means of catalytic reactions. **Top. Catal.**, v. 27, p. 77, 2004.

CANAKCI, M., GERPEN, J. Van. Biodiesel production from oils and fats with high free fatty acids. **Transactions of the ASAE**. v.44, n. 6, p. 1429, 2001.

CASTRO, B. **Otimização das condições da reação de transesterificação e caracterização dos rejeitos dos óleos de fritura e de peixe para obtenção de biodiesel**, 2009. 119 f. Dissertação (Mestrado – Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2009.

CHERNG-YUAN, L.; HSIU-AN, L.; LANG-BANG, H. Fuel Structure and Properties of Biodiesel produced by the Peroxidation Process. **Fuel** v. 85 p. 12-13. 2006.

COSTA NETO, P. R. et al. Utilization of used frying oil for the production of biodiesel. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p.531-537, 2000.

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

DANTAS, M. B; LIMA, A. E. A; ARAÚJO, K. L. G. V. Biodiesel de óleo de peixe: uma alternativa para regiões semi-áridas. In: IV Congresso Brasileiro de mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energética. 2010. João Pessoa. **Anais...** João Pessoa, 2010.

Diário Oficial da Unidao de 20 de Marco de 2008 – Resolução ANP N7 de 19 de março de 2008, disponível em [www.anp.gov.br](http://www.anp.gov.br) acesso em 12 de Novembro de 2011.

- ENCINAR, J. M.; GONZÁLES, J. F.; RODRÍGUEZ, J. J.; TEJEDOR, A. Biodiesel fuels from vegetables oils: Transesterification of *Cynara cardunculus* L. oils with etanol. **Energy & Fuels**, v.19, p.443-450, 2002.
- FELTES, M. M. C. et al. Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 6, 2010.
- HANNA, M. A; et al., Crystallization characteristics of methyl tallowate and its blends with ethanol and diesel fuel. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 68, n. 9, p. 678-679, 1991.
- HOLANDA, A. **Biodiesel e Inclusão Social**. Câmara dos Deputados. Conselho de Altos Estudos e Avaliação Tecnológica. Brasília, 2004.
- KNOTHE G.; VAN GERPEN, J.; KRAHL, J.; **The Biodiesel Handbook**, AOCS Press: Champaign, Illinois, 2005
- KUCEK, K. T. **Otimização da Transesterificação Etilica do Óleo de Soja em Meio Alcalino**. Curitiba, 2004. 123 f. Dissertação Mestrado. Universidade Federal do Paraná, 2004.
- LIMA, A. E. A. et al. **Potencialidade do Óleo de Peixe para Produção de Biodiesel Etilico**, UFPB, 2006.
- LOBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, SERPA, R.. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 32, n. 6, 2009.
- McCORMICK, R. L.; RATCLIFF, M. M.; LAWRENCE, R. Several factors affecting the stability of biodiesel in standard accelerated tests. **Fuel Processing Technology**, v. 88, n. 7, p. 651-657, 2007.
- MEHER, L.C., SAGAr, D. V., NAIK, S.N., Technical aspects of biodiesel production by transesterification - a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 10, p. 248-268, 2006.
- MELO, G. O. et al. Biodiesel de Óleo de Peixe uma Alternativa para Regiões Semi-Áridas. In: IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas, João Pessoa, 2010. **Anais...** João Pessoa, 2010.
- OETTERER, M.; REGITANO D'ARCE, M.A.; SPOTO, M.H.F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, p. 99-134, 2006.
- OLIVEIRA, F. C. C.; SOUZA, A. T. P. C.; DIAS, J. A.; DIAS, S. C. L.; RUBIM, J. C. A escolha da faixa espectral no uso combinado de métodos espectroscópicos e quimiométricos. **Quím. Nova**, v.27, p.218-225, 2004.

PARENTE, E. J. S., **Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado**. Fortaleza: *EUFC*, 2003.

RAMOS, L. P.; COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L. F. S.; ZAGONEL, G. F.; Produção de Biocombustível Alternativo ao Óleo Diesel Através da Transesterificação de Óleo de Soja Usado em Frituras, **Química Nova**, v. 23, p.531-537, 2000.

RAMOS, L. P. et al. Um projeto de sustentabilidade econômica e sócio-ambiental para o Brasil. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 26, p. 28-37, 2003.

SCHUCHARDT, U.F.; SILVA e CLEBER, L. M. **Obtenção de ésteres etílicos a partir da transesterificação do óleo de andiroba com etanol**. UNICAMP. Campinas-SP 2005.

SERDARI, A.; EURIPIDES, L.; STOURNAS, S.; Impact of Esters of Monoand Dicarboxylic Acids on Diesel Fuel Quality **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 38, n.9, p.3543-3548, 1999.

SHEEHAM et al., An Overview of Biodiesel and Petroleum Diesel Life Cycles. **National Renewable Energy Laboratory**, 1998.

ZAGONEL, G. F.; RAMOS, L. P. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleos vegetais. **Revista de Química Industrial**, v.717, n: 17, 2001.

## 5 CONCLUSÕES GERAIS

- Este trabalho desenvolveu uma metodologia para extração de óleo de pescado a partir de resíduos gordurosos do processamento de pescados de água doce (tilápia do Nilo e pintado híbrido), sendo este óleo considerado de excelente qualidade e apto para consumo humano.
- Os parâmetros qualidade e identidade obtidos para ambos os óleos de pescado, como o índice de acidez, AGL, índice de peróxido e índice de iodo foram determinados como sendo dados essenciais no estabelecimento da qualidade de aceitabilidade dos mesmos;
- Quando estes óleos passaram por processos de tratamento através de refino químico, notou-se que sofreram uma ligeira perda de qualidade, não impactando significativamente na sua composição de ácidos graxos e sua identidade e mesmo assim, estes óleos ainda estariam aptos para consumo;
- Para avaliação dos óleos durante armazenamento a  $-18^{\circ}\text{C}$ , confirmou-se que nos óleos de pescados iniciam os processos de degradação hidrolítica e oxidativa a partir de 105 dias, demonstrando sua qualidade e durabilidade, mesmo sem a adição de antioxidantes;
- O biodiesel obtido utilizando-se etanol e KOH mostraram rendimentos elevados para óleo de tilápia do Nilo e satisfatórios para o óleo de pintado híbrido, esta diferença deve-se principalmente as características de identidade de cada óleo;
- As reações de transesterificação ocorreram nos minutos iniciais do e se completou durante o período estabelecido para a reação, de 1 hora, sendo estes confirmados através de cromatografia em camada delgada e teor de óleo e impurezas em biodiesel, métodos estes amplamente utilizados nas indústrias de biodiesel;
- A qualidade dos biodieseis de tilápia do Nilo e pintado híbrido estão dentro dos padrões estabelecidos pela ANP para índice de acidez, umidade, parâmetros estes essenciais para garantir a qualidade do produto. Os outros parâmetros demonstram que as características dos óleos foram mantidas durante a reação.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGENCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em 26 nov. 2011.
- ANP. BOLETIM ESTATÍSTICO DO MÊS DE JANEIRO DE 2012, <Disponível em: <http://www.anp.org.br>>. Acesso em 10 de mar.2012.
- ARAÚJO, J. M. A. **Oxidação de Lipídios**. 1ed. Viçosa: Imprensa Universitária, p. 2-22, 1994.
- ARRUDA, L. F.; BORGHESI, R.; OETTERER, M. Use of fish waste as silage – a review. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.50, n.5, p.879-886, 2007.
- ARRUDA, L.F. **Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) para obtenção de silagem e óleo como subprodutos**. Piracicaba, 2004. 91 p. Dissertação Mestrado - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- AUGUSTO-RUIZ, W. ; AUGUSTO, M. M. ; PEDROSO, M. ; SILVEIRA, A. . Processos de clarificação do óleo de pescado. **Revista Vetor (FURG)**, Rio Grande, RS, v. 7, p. 37-42, 1997.
- BARRERA-ARELLANO, D. Estabilidade em óleos e gorduras. **Óleos e Grãos**. n.6, p. 10-13, 1993.
- BORGHESI, R.; FERRAZ DE ARRUDA, L.; OETTERER, M. Fatty acid composition of acid, biological and enzymatic fish silage. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 26, n. 2, p. 205-212, 2008.
- BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura - MPA. Produção **pesqueira e aquícola**, estatística 2008/2009. Brasília: MPA. 2010. 37 p. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br>>. Acesso em: 12 nov. 2011
- CODEX ALIMENTARIUS .Codex Standards for named vegetable Oils, STAN 19-1981 Codex Standard for Edible Fats and Oils not Covered by Individual Standards. Codex Alimentarius*, Roma, 1999.
- CÓRSER, P. I. et al. Análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición - ALAN**, v. 50, n. 2, 2000.
- CREXI, V. T.; GRUNENVALDT, F. L.; SOUZA-SOARES, L. A.; PINTO, L. A. A. Refino de óleos de corvina (*Micropogonias furnieri*) provenientes dos

processos de ensilagem ácida e termomecânico de farinha. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, (66)1, p. 50-56, 2007

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

ERICKSON, D. R. American Soybean Association, St. Louis, **Missouri and American Oil Chemists' Society**, Champaign, Illinois, p.56-64, 1995.

FAO – Food and Agricultural Organization of the United Nations. **The state of world fisheries and aquaculture 2010**. Rome: Italy, 2011

FELTES, M. M. C., CORREIA, J. F. G., BEIRÃO, L. H., BLOCK, J. M., NINOW, J. L.; SPILLER, V. R. Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 6, 2010.

FERRAZ de ARRUDA, L. BORGHESI, R.; PORTZ, L.; CYRINO, J. E. P.; OETTERER, M. Fish silage in black bass (*Micropterus salmoides*) feed as an alternative to fish meal. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, n. 5, p. 1261-1266, 2009.

FERREIRA, J. R.; CRISTO, C. M. P. N. **O futuro da indústria: biodiesel: coletânea de artigos**. Brasília, DF: MDIC. p. 83-90. 2006.

FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 92, n. 5, p. 405-416. 2001.

GOLDEMBERG, J. ; COELHO, S.T.; PLÍNIO, M. N.; LUCOND, O.. Ethanol learning curve-the Brazilian experience. **Biomass and Bioenergy** 26: 301-304. 2004

KNOTHE G.; VAN GERPEN, J.; KRAHL, J.; **The Biodiesel Handbook**, AOCS Press: Champaign, Illinois, 2005

KUBITZA, F. Produção intensiva de surubins no Projeto Pacu Ltda. e Agropeixe Ltda. In: AQUICULTURA BRASIL 98 - CONGRESSO SUL-AMERICANO DE AQUICULTURA, 1, 1998, Recife. **Anais...** Recife: 1998. p.447.

LIMA, D.G.; et al Diesel-like fuel obtained by pyrolysis of vegetable oils. **Journal of Analytical And Applied Pyrolysis** v. 71, p 987-996. 2004.

LOBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 6, 2009.

MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel Production: a review. **Bioresource Technology**, v. 70, n. 1, p. 1-15, 1999.

MADRAS, G.; KOLLURU, C.; KUMAR, R. Synthesis of biodiesel in supercritical fluids, **Fuel**, v. 83, p. 2029-2033, 2004.

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

MARCHETTI J. M, ERRAZU A. F. Esterification of free fatty acids using sulfuric acid as catalyst in the presence of triglycerides. **Biomass and Bioenergy** v. 32, p. 892-895, 2008.

MEHER, L.C., Sagar, D. V., Naik, S.N., Technical aspects of biodiesel production by transesterification - a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 10, p. 248 - 268, 2006.

MENEGAZZO, M. L.; LUCAS, B. F.; ALCALDE, L. B.; FONSECA, G. G.. Obtenção de óleo a partir do processamento de surimi de CMS de tilápia do Nilo. In: 7º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, 2010. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, 2010.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos vegetais e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela, 1998.

MONTE, M.L. **Estudo cinético do branqueamento do óleo de carpa (*Cyprinus carpio L.*)**. Rio Grande, Universidade Federal do Rio Grande, Dissertação de mestrado - 2010.

NEIVA, C. R. P. Aplicação da tecnologia de carne mecanicamente separada - CMS na indústria de pescado. **Instituto de Pesca - APTA – SAA**, 2006.

NUNES, S. B. **Estabelecimento de um plano de análise de perigo e pontos críticos de controle (APPCC) para peixe-sapo (*Lophius piscatorius*) eviscerado e congelado**. Florianópolis, 2001, UFSC, Dissertação Mestrado, Florianópolis, 2001.

OETTERER, M. **Tecnologia do pescado – da adoção de técnicas de beneficiamento e conservação do pescado de água doce**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2003.

OETTERER, M.; REGITANO D'ARCE, M.A.; SPOTO, M.H.F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 612p., 2006.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de Pesca: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Varela, 429p., 1999.



PARENTE, E. J. S., **Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado**. Fortaleza: EUFC, 2003.

PELIZER, H.L.; PONTIERI, H.M.; MORAES, O.I. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. São Paulo: **Journal of Technology Management & Innovation**, Santiago, v. 2, n. 1, p.118-127, 2007.

PESSATTI, M. L.. **Aproveitamento dos sub-produtos do pescado**. Itajaí: MAPA/UNIVALI, 2001, 27 p.

SARY, C.; FRANCISCO, J. G. P.; DALLABONA, B. R.; MACEDO, R. E. F.; GANECO, L. N.; KIRSCHNIK, P. G. Influencia da lavagem da carne mecanicamente separada de tilápia sobre a composição e aceitação de seus produtos. **Ciência Agrária Ambiental.**, Curitiba, v. 7, n. 4, p. 423-432, 2009 .

SEIBEL, N. F.; SOARES, L. A. de S. Produção de silagem química com resíduos de pescado marinho. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.6, n.2, p.333-337, 2003.

SHERWIN, E. R. Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. **Journal of American Oil Chemists' Society**. v.55, n.11, p.809-814, 1978.

SILVA, G. G. H.; CAMARGO, A. F. M. Valor nutritivo de macrófitas aquáticas flutuantes (*Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Salvinia molesta*) utilizadas no tratamento de efluentes de aquicultura. **Acta Scientiarum**, v.24, n.2, p.519-526, 2002.

SOUZA, L.F.; PERES, A.P.; MARTINS, B.V. **Estudo do desenvolvimento micelial através do cultivo da *Lentinula edodes* em resíduos agroindustriais e de indústrias madeireiras da região de Ponta Grossa - UFTPR**, Ponta Grossa, 2007.

SUAREZ, P.A.Z.; e MENEGHETTI, S.M.P. 70º aniversário do biodiesel em 2007: evolução histórica e situação atual no Brasil. **Química Nova**, v. 30, p. 2068-2071, 2007.

SUCASAS, L. F. A. **Avaliação do resíduo do processamento de pescado para o desenvolvimento de co-produtos visando o incremento da sustentabilidade na cadeia produtiva**. 2011. 164 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

ZHANG, R.; EL-MASHAD, H.M.; HARTMAN, K.; FENGYU, W.; LIU, G.; CHOAT, C.; GAMBLE, P. Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 4, p. 929-935, 2006.